

Αφυδάτωση και διαύγαση

Επειδή κάθε μεγάλο τεμάχιο ιστού περιέχει αρκετό νερό, χρησιμοποιείται ανιούσα σειρά οιοπνευματούχων λουτρών, αρχής γενομένης από οινόπνευμα 50% και σταδιακά μέχρι το απόλυτο οινόπνευμα (100%), ώστε να αφαιρεθεί πλήρως το νερό (**αφυδάτωση/dehydration**). Στην συνέχεια, ο ιστός υφίσταται την επίδραση ξυλόλης, μιας χημικής ουσίας που έχει την ιδιότητα να αναμειγνύεται με την τηγμένη παραφίνη. Η εν λόγω διεργασία χαρακτηρίζεται ως **διαύγαση** (clearing), διότι η ξυλόλη καθιστά τους ιστούς διαφανείς.

Σκηνώση (Embedding)

Για να διακριθούν μεταξύ τους τα αλληλεπικαλυπτόμενα κύτταρα των ιστών και η εξωκυττάρια ουσία, οι ιστοί πρέπει να εγκλειστούν (**σκηνωθούν**) σε κατάλληλο μέσο και εν συνεχεία να κοπούν σε λεπτές φέτες (τομές). Στην φωτομικροσκοπία το σύνηθες υλικό σκηνώσης είναι η παραφίνη. Ο ιστός τοποθετείται σε κατάλληλο δοχείο που περιέχει τηγμένη παραφίνη, μέχρις ότου **διαποτισθεί** πλήρως από αυτήν. Μόλις αυτό συμβεί τοποθετείται μέσα σε μικρό υποδοχέα, καλύπτεται με τηγμένη παραφίνη, που εν συνεχεία αφήνεται να πήξει, σχηματίζοντας έναν κύβο παραφίνης, ο οποίος περιέχει τον ιστό.

Λήψη τομών (Sectioning)

Στη συνέχεια, οι κύβοι με τους ιστούς πλανίζονται ώστε να αφαιρεθεί η περίσσεια του υλικού σκηνώσης και μετά στερεώνονται σε βάση για να κοπούν με ειδικό όργανο που ονομάζεται **μικροτόμος** (microtome). Το εν λόγω όργανο είναι εφοδιασμένο με λεπίδα και βραχίονα, ο οποίος προωθεί τον κύβο του ιστού κατά καθορισμένα ίσα διαστήματα. Προκειμένου για την φωτομικροσκοπία το πάχος κάθε ιστολογικής τομής ανέρχεται σε περίπου 5–10 μm .

Τομές είναι επίσης δυνατόν να ληφθούν από ιστολογικά παρασκευάσματα που υπέστησαν κατάψυξη είτε σε υγρό άζωτο είτε στον υποδοχέα κρυοστάτη ταχείας καταψύξεως. Τα εν λόγω παρασκευάσματα σκηνώνονται με την βοήθεια υλικού σκηνώσης ταχείας καταψύξεως και κόπτονται υπό θερμοκρασίες κάτω του μηδενός με την χρήση προψυγμένου ατσάλινου μαχαιριδίου. Οι τομές τοποθετούνται σε προψυγμένες γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες, αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου και εν συνεχεία βάφονται με ειδικές χρωστικές ουσίες (ή υφίστανται επεξεργασία με ιστοχημικές και ανοσοϊστοχημικές τεχνικές).

Επικόλληση και χρώση (Mounting and staining)

Οι τομές παραφίνης επικολλώνται σε γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες και εν συνεχεία βάφονται με υδατοδιαλυτές χρωστικές, οι οποίες επιτρέπουν την διάκριση των ποικίλων κυτταρικών στοιχείων.

Οι τομές υλικού σκηνωμένου σε παραφίνη που προορίζονται για μελέτη με την συνήθη φωτομικροσκοπία, κόβονται με ανοξειδωτα ατσάλινα μαχαιρία και επικολλώνται σε γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες επιστρωμένες με επικολλητική ουσία. Δεδομένου ότι πολλά στοιχεία των ιστών παρουσιάζουν την ίδια περίπου οπτική πυκνότητα, πρέπει να χρωματιστούν ώστε να καταστούν κατάλληλα για φωτομικροσκοπική εξέταση συνήθως με υδατοδιαλυτές χρωστικές ουσίες. Γι' αυτόν τον λόγο, αφαιρείται πρώτα η παραφίνη από την τομή, εν συνεχεία η τομή ενυδατώνεται και κατόπιν χρωματίζεται. Μετά την χρώση της, η τομή αφυδατώνεται εκ νέου ώστε να καταστεί δυνατή η μόνιμη στερέωση της καλυπτρίδας πάνω στην τομή και στην αντικειμενοφόρο πλάκα με την βοήθεια του κατάλληλου επικαλυπτικού υλικού. Η καλυπτρίδα εκτός του ότι προστατεύει την τομή από φθορές είναι επίσης απαραίτητη για την εξέταση της τομής με το μικροσκόπιο.

Αν και υπάρχουν διάφορα είδη χρώσεων που έχουν επινοηθεί για να αναδείξουν οπτικώς πολλά στοιχεία των κυττάρων και των ιστών, είναι δυνατή η κατάταξή τους σε τρεις κατηγορίες:

- χρώσεις που αντιδιαστέλλουν τα όξινα από τα αλκαλικά στοιχεία του κυττάρου
- ειδικές χρώσεις που αναδεικνύουν τα ινώδη στοιχεία της εξωκυττάριας ουσίας
- μεταλλικά άλατα που καθιζάνουν στους ιστούς, σχηματίζοντας πάνω σε αυτούς μεταλλικές εναποθέσεις.

Η πλέον συχνά χρησιμοποιούμενη χρώση στην ιστολογία είναι η **χρώση της αιματοξυλίνης** και της **ηωσίνης**, συχνά αναφερόμενη στα κείμενα με τα ξενόγλωσσα αρχικά της **H & E**. Η αιματοξυλίνη (hematoxylin) είναι από χημικής απόψεως βάση, η οποία βάφει επιλεκτικώς τα όξινα στοιχεία των κυττάρων με κυανή χροιά. Επειδή τα πλέον όξινα εκ των εν λόγω στοιχείων είναι το DNA και το RNA, ο πυρήνας και περιοχές του κυτταροπλάσματος πλούσιες σε ριβοσώματα βάφονται βαθυκύανες. Αυτά τα στοιχεία χαρακτηρίζονται ως **βασεόφιλα** (basophilic). Η **ηωσίνη** (eosin) είναι οξύ, το οποίο βάφει τα αλκαλικά στοιχεία του κυττάρου με ρόδινο χρώμα. Επειδή πολλά κυτταροπλασματικά στοιχεία έχουν αλκαλικό pH, αρκετές περιοχές του κυτταροπλάσματος βάφονται ροδαλές. Αυτά τα στοιχεία χαρακτηρίζονται ως **οξεόφιλα** (acidophilic). Κατά την προετοιμασία των παρασκευασμάτων για ιστολογική μελέτη, χρησιμοποιούνται και πολλές άλλες χρώσεις (Πίνακας 1–1).

Μόρια μερικών χρωστικών ουσιών, όπως το **κυανούνη της τολουιδίνης** (toluidine blue), πολυμερίζονται μεταξύ τους όταν εκτίθενται σε πυκνές συγκεντρώσεις πολυανιόντων των ιστών. Τα εν λόγω σύμπλοκα έχουν διαφορετικό χρώμα από τα μονομερή μόριά τους. Για παράδειγμα, το κυανούνη της τολουιδίνης βάφει τους ιστούς γαλάζιους, εκτός από εκείνους που είναι πλού-

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-1 Συνήθεις ιστολογικές χρώσεις και χρωστικά αποτελέσματα.

Χρωστική	Χρωστικό αποτέλεσμα
Αιματοξυλίνη	<i>Κυανούν:</i> πυρήνας, όζινες περιοχές του κυτταροπλάσματος, θεμέλια ουσία του χονδρικού ιστού
Ηωσίνη	<i>Ροδαλό:</i> αλκαλικές περιοχές του κυτταροπλάσματος, κολλαγόνες ίνες
Τριχρωματική χρώση (Masson)	<i>Βαθύ κυανούν:</i> πυρήνες <i>Ερυθρό:</i> μυϊκός ιστός, κερατίνη, κυτταρόπλασμα <i>Γαλάζιο:</i> βλέννα, κολλαγόνο
Χρώση ελαστικών ινών κατά Weigert	<i>Κυανούν:</i> ελαστικές ίνες
Χρώση αργύρου	<i>Μελανό:</i> δικτυωτές ίνες
Σιδηρούχος αιματοξυλίνη	<i>Μελανό:</i> εγκάρσια γράμμωση μυϊκών ινών, πυρήνες, ερυθροκύτταρα
Χρώση υπερωδικού οξέος-αντιδραστηρίου του Schiff (PAS)	<i>Ερυθρό μαγεντίας (φούξια):</i> γλυκογόνο και ουσίες πλούσιες σε υδατάνθρακες
Χρώσεις Wright και Giemsa	Χρησιμοποιούνται για τον διαφορικό χρωματισμό κυττάρων του αίματος <i>Ρόδινο:</i> ερυθροκύτταρα, κοκκία ηωσινοφίλων λευκοκυττάρων <i>Ίωδες:</i> πυρήνες λευκοκυττάρων, κοκκία βασεοφίλων λευκοκυττάρων <i>Γαλάζιο:</i> κυτταρόπλασμα μονοκυττάρων και λεμφοκυττάρων

σιοι σε πολυανιόντα (π.χ. η θεμέλια ουσία του χονδρικού ιστού και τα κοκκία των σιτευτικών κυττάρων), τους οποίους βάφει ιώδεις. Ο ιστός ή το κυτταρικό στοιχείο που βάφεται ιώδες με αυτή την χρωστική χαρακτηρίζεται ως **μεταχρωματικό** (metachromatic), ενώ για το κυανούν της τολουϊδίνης λέμε ότι εκδηλώνει **μεταχρωμία** (metachromasia).

Το φωτομικροσκόπιο

Τα σύνθετα μικροσκόπια αποτελούνται από ειδικώς διατεταγμένους φακούς, οι οποίοι επιτρέπουν μεγάλες μεγεθύνσεις καθώς και ευκρινή είδωλα των παρατηρουμένων ιστών.

Το σύγχρονο φωτομικροσκόπιο για να μεγεθύνει μια εικόνα χρησιμοποιεί ειδικά διατεταγμένες συστοιχίες φακών (Εικ. 1-1). Λόγω της χρήσεως περισσοτέρων

του ενός φακών, το εν λόγω όργανο χαρακτηρίζεται ως **σύνθετο μικροσκόπιο** (compound microscope). Την φωτεινή πηγή αποτελεί ηλεκτρικός λαμπτήρας με νήμα βολφραμίου, του οποίου το φως συγκεντρώνεται σε συγκλίνουσα δέσμη από τον **φακό του πυκνωτή** (condenser lens).

Η φωτεινή δέσμη προσπίπτει στο παρασκεύασμα εκ των κάτω και συγκλίνει πάνω σε αυτό. Το φως που διαπερνά το παρασκεύασμα εισέρχεται σε έναν από τους αντικειμενικούς φακούς. Οι εν λόγω φακοί είναι στερεωμένοι πάνω σε περιστρεφόμενο φορέα που βρίσκεται τοποθετημένος αμέσως πάνω από το παρασκεύασμα. Συνήθως ο φορέας φέρει τέσσερις αντικειμενικούς φακούς που εξασφαλίζουν μικρή, μέση, μεγάλη και ελαιοκαταδυτική μεγέθυνση. Γενικώς, στα περισσότερα μικροσκόπια, οι πρώτοι τρεις φακοί μεγεθύνουν 4, 10 και 40 φορές αντιστοίχως και χρησιμοποιούνται χωρίς κεδρέλαιο, ενώ ο ελαιοκαταδυτικός φακός μεγεθύνει την εικόνα 100 φορές.

Η εικόνα που λαμβάνεται με τον αντικειμενικό φακό παραλαμβάνεται και υφίσταται περαιτέρω μεγέθυνση από τους προσοφθάλμιους φακούς του μικροσκοπίου. Συνήθως αυτοί οι φακοί μεγεθύνουν την εικόνα 10 φορές—με τελικές μεγεθύνσεις 40, 100, 400 και 1.000 φορές—και εστιάζουν την προκύπτουσα εικόνα στον αμφιβληστροειδή χιτώνα του οφθαλμού.

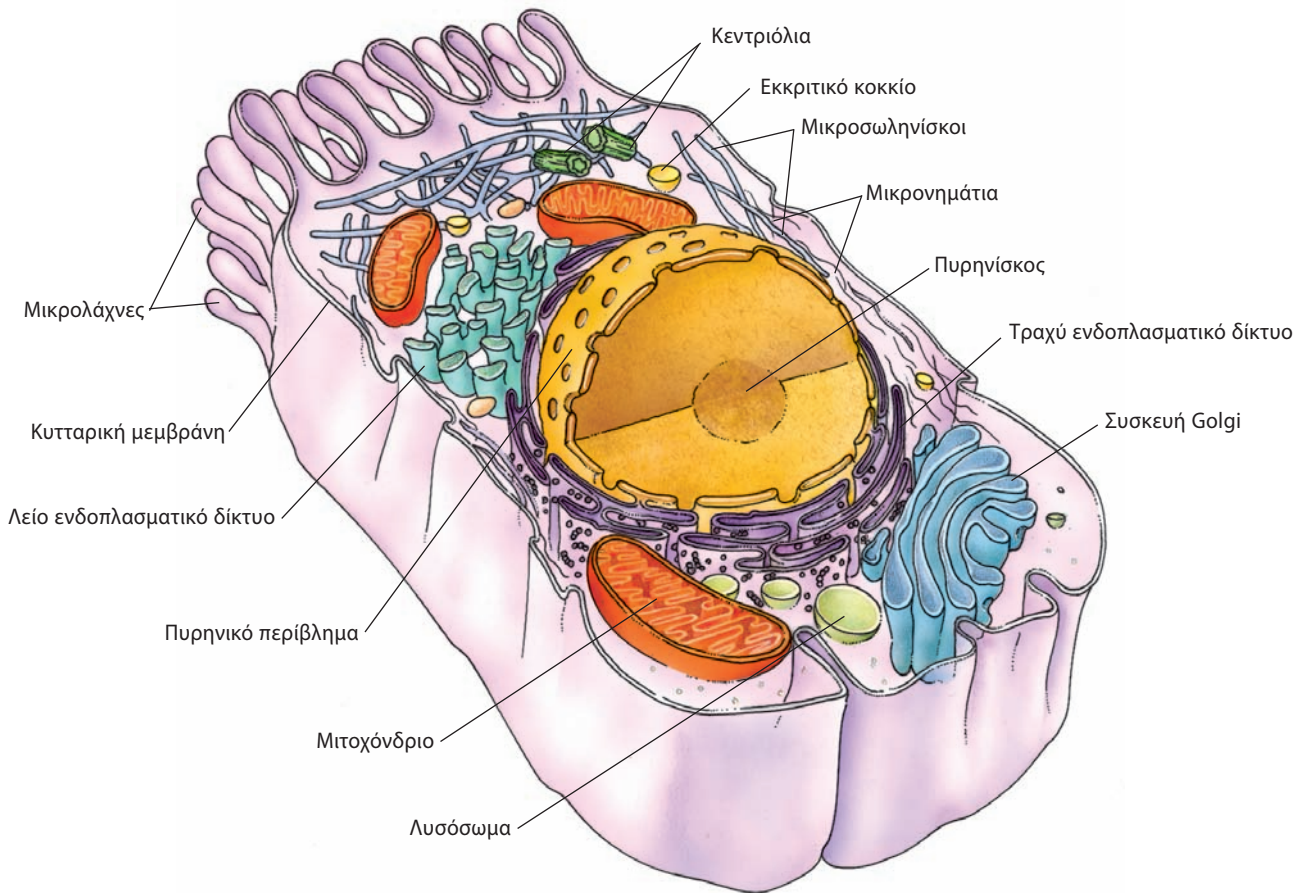
Η εστίαση της εικόνας επιτυγχάνεται με την χρήση κοχλιών που κινούν την φέρουσα το ιστολογικό παρασκεύασμα τράπεζα προς τα άνω ή κάτω. Ο αδρός κοχλίας που επιτελεί την κατά προσέγγιση εστίαση μετακινεί την τράπεζα με μεγαλύτερο βήμα από ό,τι ο μικρομετρικός κοχλίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι η προβαλλόμενη στον αμφιβληστροειδή εικόνα είναι ανεστραμμένη από δεξιά προς τα αριστερά καθώς και από πάνω προς τα κάτω.

Η ποιότητα της εικόνας εξαρτάται όχι μόνον από την μεγεθυντική ικανότητα του φακού αλλά και από την **διαχωριστική ικανότητά** του (resolution)—δηλαδή την ικανότητά του να δείχνει ότι δύο ξεχωριστά αντικείμενα χωρίζονται μεταξύ των από κάποια απόσταση. Η ποιότης κάποιου φακού εξαρτάται από το πόσο η διαχωριστική ικανότητά του προσεγγίζει το θεωρητικό όριο των $0,25 \mu\text{m}$, περιορισμό που καθορίζεται από το μήκος κύματος του ορατού φωτός.

Υπάρχουν αρκετοί τύποι φωτομικροσκοπίων, ανάλογα με τον τύπο του φωτός που χρησιμοποιούν ως φωτεινή πηγή και τον τρόπο με τον οποίο χρησιμοποιούν την εν λόγω πηγή. Εντούτοις, από τους φοιτητές ζητείται μόνον η αναγνώριση εικόνων που έχουν ληφθεί με σύνθετο φωτομικροσκόπιο, ηλεκτρονικό μικροσκόπιο τύπου διελεύσεως και σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Ως εκ τούτου δεν θα περιγραφούν οι υπόλοιποι τύποι μικροσκοπίων.

Ψηφιακές απεικονιστικές τεχνικές

Οι ψηφιακές απεικονιστικές τεχνικές χρησιμοποιούν την τεχνολογία των ηλεκτρονικών υπολογιστών για να καταγράψουν και να επεξεργαστούν ιστολογικές εικόνες.



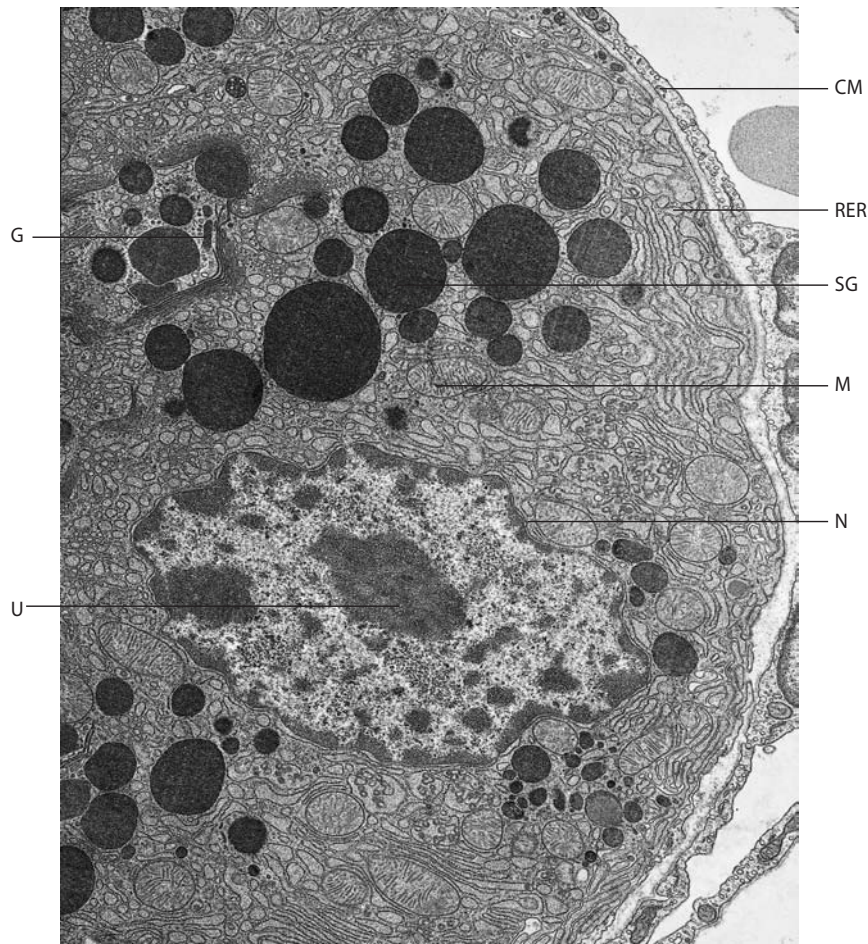
Εικόνα 2-5 Τρισδιάστατη σχηματική απεικόνιση ιδεατού κυττάρου, όπως αυτό φαίνεται με την ηλεκτρονική μικροσκοπία τύπου διελεύσεως. Διακρίνονται ποικίλα όργανα και στοιχεία του κυτταροσκελετού.

Κάθε **μόριο φωσφολιπιδίων** (phospholipid molecule) της λιπιδικής διπλοστιβάδας αποτελείται από μία **πολική κεφαλή** (polar head), η οποία εντοπίζεται στην επιφάνεια της μεμβράνης, και δύο επιμήκειες **μη πολικές** (nonpolar) ακυλολιπιδικές ουρές, οι οποίες συνήθως αποτελούνται από 16–18 άτομα άνθρακα και προβάλλουν προς την κεντρική περιοχή του πλασμαλήμματος (βλ. Εικ. 2–8). Οι μη πολικές λιπαρές ακυλικές ουρές των δύο στιβάδων παρατίθενται αντικρυστά μέσα στην μεμβράνη και σχηματίζουν ασθενείς μη ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ των, εξασφαλίζοντας την συνοχή της διπλοστιβάδας. Επειδή το μόριο του φωσφολιπιδίου αποτελείται από **υδρόφιλη κεφαλή** (hydrophilic head) και **υδρόφοβη ουρά** (hydrophobic tail), το μόριο χαρακτηρίζεται ως **αμφίπολο** (amphipathic).

Οι πολικές κεφαλές αποτελούνται από **γλυκερίνη** (glycerol), στην οποία προσφύεται μια θετικώς φορτισμένη αζωτούχος ομάδα, μέσω αρνητικής φορτισμένης **φωσφορικής ομάδας** (phosphate group). Οι δύο λιπαρές ακυλικές ουρές, από τις οποίες συνήθως μόνον η μία είναι κεκορεσμένη, είναι ομοιοπολικώς συνδεδεμένες με την γλυκερίνη. Στην κυτταρική με-

μβράνη υπάρχουν και άλλες αμφιπαθείς ουσίες, όπως τα **γλυκολιπίδια** (glycolipids) και η **χοληστερόλη** (cholesterol). Οι ακόρεστες λιπαρές ακυλικές ουσίες αυξάνουν την ρευστότητα της μεμβράνης, ενώ η χοληστερόλη την μειώνει (αν και συγκεντρώσεις χοληστερίνης πολύ χαμηλότερες από την φυσιολογική αυξάνουν την ρευστότητα της μεμβράνης). Πράγματι, ορισμένες περιοχές του πλασμαλήμματος είναι τόσο πλούσιες σε γλυκοσφιγγολιπίδια και χοληστερόλη, που σχηματίζουν εξογκώματα στη μεμβράνη. Αυτές οι πεπαχυμένες μικροπεριοχές είναι γνωστές ως **λιπιδικές σχεδίες** (lipid rafts) και προβάλλουν ελαφρώς στο εξωκυττάριο διάστημα. Συχνά, οι λιπιδικές σχεδίες διαθέτουν πρωτεϊνικά συστατικά που συμμετέχουν σε διάφορες διεργασίες σηματοδότησης (θα συζητηθούν στην επόμενη παράγραφο). Επομένως, φαίνεται ότι οι λιπιδικές σχεδίες διευκολύνουν και ενισχύουν την επικοινωνία μεταξύ πολλών και διαφορετικών κυττάρων.

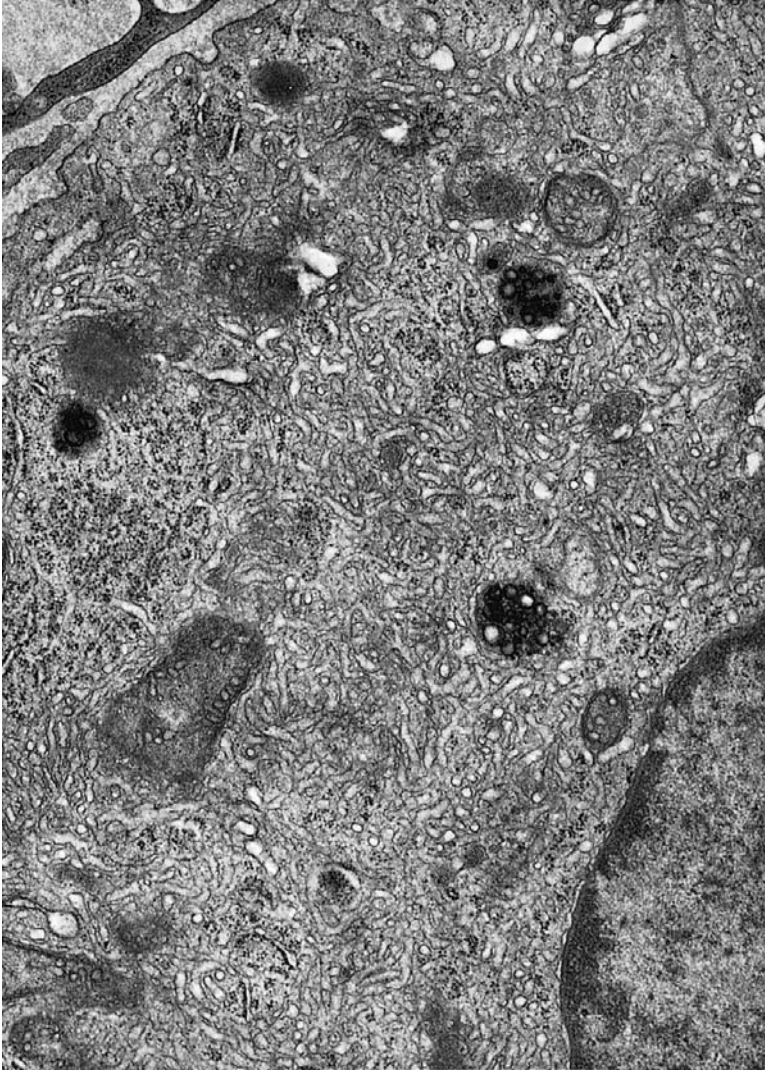
Τα πρωτεϊνικά συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης είτε εκτείνονται σε ολόκληρο το πάχος της διπλοστιβάδας των λιπιδίων ως **ένθετες πρωτεΐνες** (integral proteins), είτε προσφύονται στην κυτταροπλασματική όψη της διπλοστιβάδας των λιπιδίων ως **περιφερικές**



Εικόνα 2-6 Ηλεκτρονική μικρογραφία αδενοκυψελιδικού κυττάρου ουρηθραίου αδένου ποντικού, η οποία απεικονίζει την όψη μερικών οργανιδίων ($\times 11.327$). Μ: μιτοχόνδρια, G: συσκευή Golgi, N: πυρήνας, U: πυρήνιο, SG: εκκριτικά κοκκία, RER: τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο, CM: κυτταρική μεμβράνη. (Από το άρθρο των Parr MB, Ren HP, Kepple L, et al.: *Ultrastructure and morphometry of the urethral glands in normal, castrated, and testosterone-treated castrated mice. Anat. Rec.* 236:449-458, 1993.) Ανατύπωση με άδεια της Wiley-Liss Inc., θυγατρικής της John Wiley & Sons, Inc.



Εικόνα 2-7 Ηλεκτρονική μικρογραφία απεικονίζουσα την θέση επαφής δύο κυττάρων με έκδηλη την τριστιβή δομή των δύο κυτταρικών μεμβρανών ($\times 240.000$). (Από το βιβλίο των Leeson TS, Leeson CR and Papparo AA: *Text/Atlas of Histology*, Philadelphia, WB Saunders, 1988).



Εικόνα 2-13 Ηλεκτρονική μικρογραφία του λείου ενδοπλασματικού δικτύου φλοιού επινεφριδίου ανθρώπου. (Από το βιβλίο των Leeson TS, Leeson CR and Papparo AA: Text/Atlas of Histology. Philadelphia, WB Saunders, 1988).

των αμινοξέων) εδράζεται στο **δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA)** (deoxyribonucleic acid) του πυρήνα. Η εν λόγω πληροφορία **μεταγράφεται** σε μια λωρίδα mRNA, η οποία εγκαταλείπει τον πυρήνα και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα. Ως εκ τούτου, η αλληλουχία των **κωδικίων** (codons) του mRNA αντιπροσωπεύει την αλυσίδα των αμινοξέων, στην οποία αλληλουχία κάθε κωδικίο αποτελείται από τρία διαδοχικά νουκλεοτίδια. Επειδή κάθε τρία διαδοχικά νουκλεοτίδια αποτελούν ένα κωδικίο, είναι απαραίτητη η εκ μέρους του μηχανισμού σύνθεσης πρωτεϊνών αναγνώριση της ενάρξεως και του πέρατος του μηνύματος, διότι σε ενάντια περίπτωση θα συντεθεί ανώμαλη πρωτεΐνη.

Οι τρεις τύποι του RNA ασκούν διαφορετικούς ρόλους στην σύνθεση πρωτεϊνών.

- Το **αγγελιαφόρο RNA** (messenger RNA/mRNA) μεταφέρει τις κωδικοποιημένες οδηγίες που καθορίζουν την αλληλουχία των αμινοξέων.
- Τα **μεταφορικά RNA** (tRNA) σχηματίζουν ομοι-

πολικούς δεσμούς με αμινοξέα σχηματίζοντας **αμινοακυλικά tRNA** (aminoacyl tRNA). Αυτές οι καταλυόμενες από ένζυμα αντιδράσεις είναι ειδικές· τουτέστιν, κάθε tRNA αντιδρά με το δικό του αντίστοιχο αμινοξύ. Κάθε tRNA περιέχει επίσης το **αντικωδικίο** (anticodon), το οποίο αναγνωρίζει το κωδικίο στο mRNA που αντιστοιχεί στο αμινοξύ που μεταφέρει.

- Διάφορα ριβοσωματικά RNA (ribosomal RNA/ rRNA) συνδέονται με μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών, σχηματίζοντας την μικρή και την μεγάλη υπομονάδα των ριβοσωμάτων.

Η σύνθεση πρωτεϊνών (Μετάφραση)

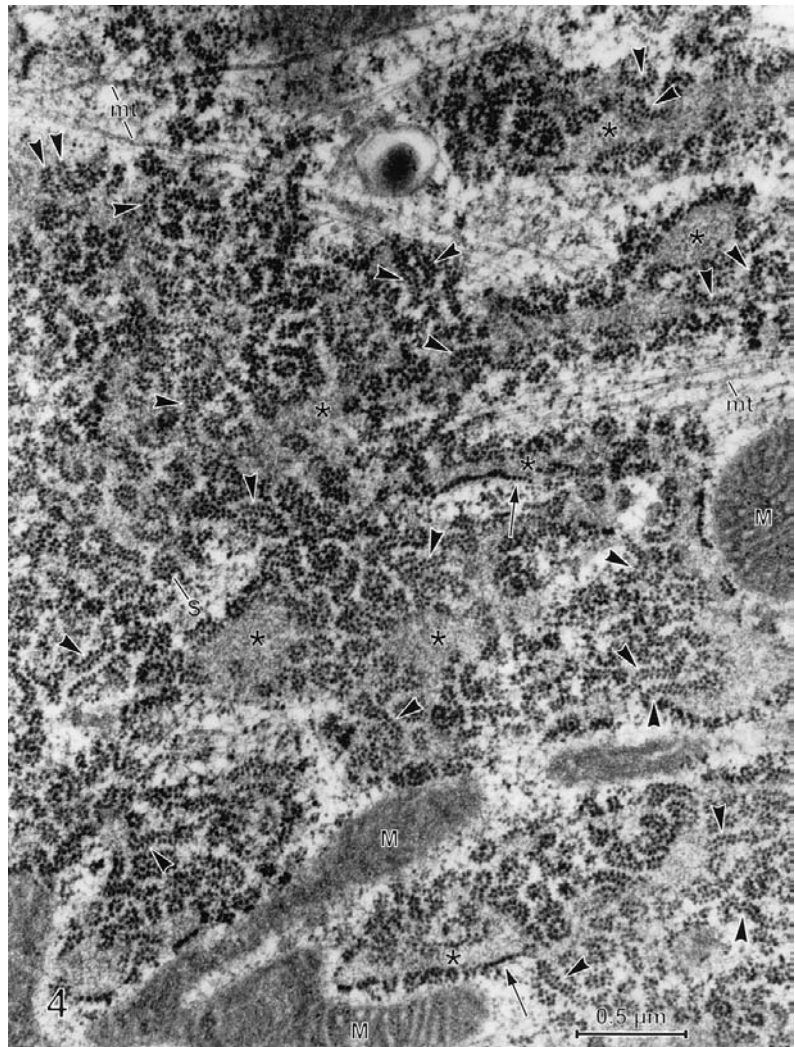
Η σύνθεση πρωτεϊνών (μετάφραση) συμβαίνει στα ριβοσώματα μέσα στην κυτοσόλη ή στην επιφάνεια του τραχέος ενδοπλασματικού δικτύου.

Τα απαιτούμενα στοιχεία για αυτή την διεργασία είναι:

- Μία ταινία του αγγελιαφόρου RNA (**mRNA**).
- Μεταφορικά RNA (**tRNA**), καθένα από τα οποία μεταφέρει ένα αμινοξύ και διαθέτει το αντικωδικίο, το οποίο αναγνωρίζει το κωδικίο του mRNA που κωδικοποιεί το συγκεκριμένο αμινοξύ.
- Μικρή και μεγάλη **υπομονάδα ριβοσώματος** (ribosomal subunits).

Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ο χρόνος που απαιτείται για την σύνθεση μιας πρωτεΐνης αποτελούμενης από 400 αμινοξέα ανέρχεται σε περίπου 20 δευτερόλεπτα. Επειδή μία απλή λωρίδα mRNA μπορεί να μεταφράζεται ταυτόχρονα από μέχρι και 15 ριβοσώματα, μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα είναι δυνατόν να συντεθεί μεγάλος αριθμός πρωτεϊνικών μορίων. Η εν λόγω συνάθροιση mRNA-συμπλέγματος ριβοσωμάτων, η οποία συνήθως έχει ελικοειδή μορφή ή μορφή επιμήκους φουρκέτας, ονομάζεται **πολυριβόσωμα** (polyribosome) ή **πολύσωμα** (polysome) (Εικ. 2–14).

Εικόνα 2–14 Ηλεκτρονική μικρογραφία καθηλωμένου πολυσωματίου. (Από το άρθρο των Christensen AK, Bourne CM: Shape of large bound polysomes in cultured fibroblasts and thyroid epithelial cells. *Anat Rec* 255:116–129, 1999. Copyright ©1999. Reprinted by permission of Wiley-Liss, Inc, a subsidiary of John Wiley & Sons, Inc.) Ανατύπωση με άδεια της Wiley-Liss Inc., θυγατρικής της John Wiley & Sons, Inc.



Σύνθεση πρωτεϊνών της κυττοσόλης

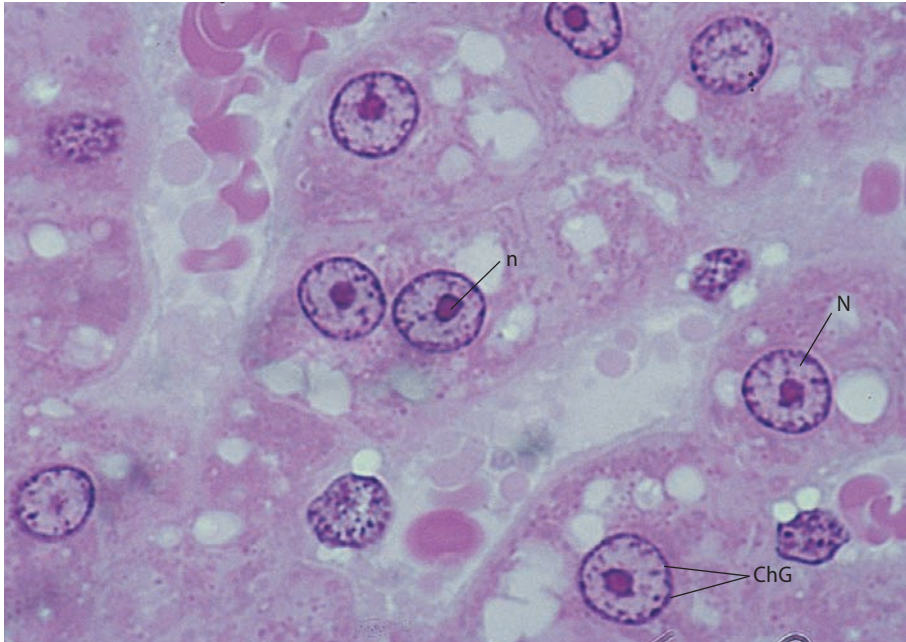
Η διεργασία της συνθέσεως πρωτεϊνών στην κυττοσόλη απεικονίζεται σχηματικώς στην Εικ. 2–15.

ΒΗΜΑ 1

- Η διεργασία αρχίζει όταν η Π θέση της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος καταλαμβάνεται από το **εναρκτήριο tRNA** (initiator tRNA), του οποίου το **αντικωδικίο** αναγνωρίζει το τριπλό **κωδικίο AUG**, που κωδικοποιεί για το αμινοξύ **μεθειονίνη**.
- Ένα **mRNA** συνδέεται με την μικρή υπομονάδα.
- Η μικρή υπομονάδα βοηθά το αντικωδικίο του μορίου του tRNA να αναγνωρίσει το **αρχικό κωδικίο AUG** στο mRNA μόριο. Αυτό το βήμα λειτουργεί ως βήμα καταγραφής, ώστε τα επόμενα τρία νουκλεοτίδια του μορίου του mRNA να μπορούν να αναγνωρισθούν ως το επόμενο κωδικίο.

ΒΗΜΑ 2

- Η μεγάλη υπομονάδα του ριβοσώματος συνδέεται με την μικρή υπομονάδα και το ριβόσωμα κινείται



Εικόνα 3-1 Πυρήνες κυττάρων. Φωτομικρογραφία ($\times 1.323$). Τυπικά κύτταρα, καθένα από τα οποία περιέχει ένα σφαιρικό πυρήνα (N). Παρατηρήστε τα κοκκία της χρωματίνης (ChG) και τον πυρήνικο (n).

εξειδικευμένη περιοχή του τραχείος ενδοπλασματικού δικτύου (βλ. Εικ. 3-2 και 3-3). Η κυτταροπλασματική επιφάνειά της περιβάλλεται από λεπτό και χαλαρό δίκτυο ενδιάμεσων νηματίων **βιμεντίνης** (vimentin). Η κυτταροπλασματική επιφάνειά της συνήθως διαθέτει ριβοσώματα, τα οποία συνθέτουν με έντονο ρυθμό διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που προορίζονται για την εξωτερική και την εσωτερική πυρηνική μεμβράνη.

Οι πυρηνικοί πόροι

Οι πυρηνικοί πόροι αποτελούν διακοπές του πυρηνικού περιβλήματος, όπου η εσωτερική συνδέεται με την εξωτερική πυρηνική μεμβράνη, σχηματίζοντας θέσεις όπου μπορεί να υπάρξει επικοινωνία μεταξύ πυρήνα και κυτταροπλάσματος.

Σε ορισμένες θέσεις της επιφάνειας του πυρηνικού περιβλήματος, η εξωτερική και η εσωτερική πυρηνική μεμβράνη συνδέονται μεταξύ των σχηματίζοντας ανοίγματα, γνωστά ως **πυρηνικοί πόροι** (nuclear pores), που επιτρέπουν την επικοινωνία μεταξύ του πυρηνικού διαμερίσματος και του κυτταροπλάσματος (Εικ. 3-4). Ο αριθμός των πυρηνικών πόρων ποικίλλει από λίγες δεκάδες έως μερικές χιλιάδες, σχετιζόμενος άμεσα με την μεταβολική δραστηριότητα του κυττάρου.

Η υψηλής ευκρίνειας ηλεκτρονική μικροσκοπία έδειξε ότι κάθε πυρηνικός πόρος περιβάλλεται από μη μεμβρανικές δομές εντοπιζόμενες στην περιφέρειά του. Οι εν λόγω δομές και ο πόρος ονομάζονται **σύμπλεγμα του πυρηνικού πόρου** (nuclear pore complex), το οποίο ελέγχει επιλεκτικά την διέλευση ουσιών μέσω του πόρου (Εικ. 3-5). Πρόσφατα δεδομένα απέδειξαν ότι καθένα από τα συμπλέγματα των πυρηνικών πόρων

επικοινωνεί με τα άλλα μέσω του πυρηνικού πετάλου και ορισμένων ινών συνδεουσών τους πόρους.

Σύμπλεγμα του πυρηνικού πόρου

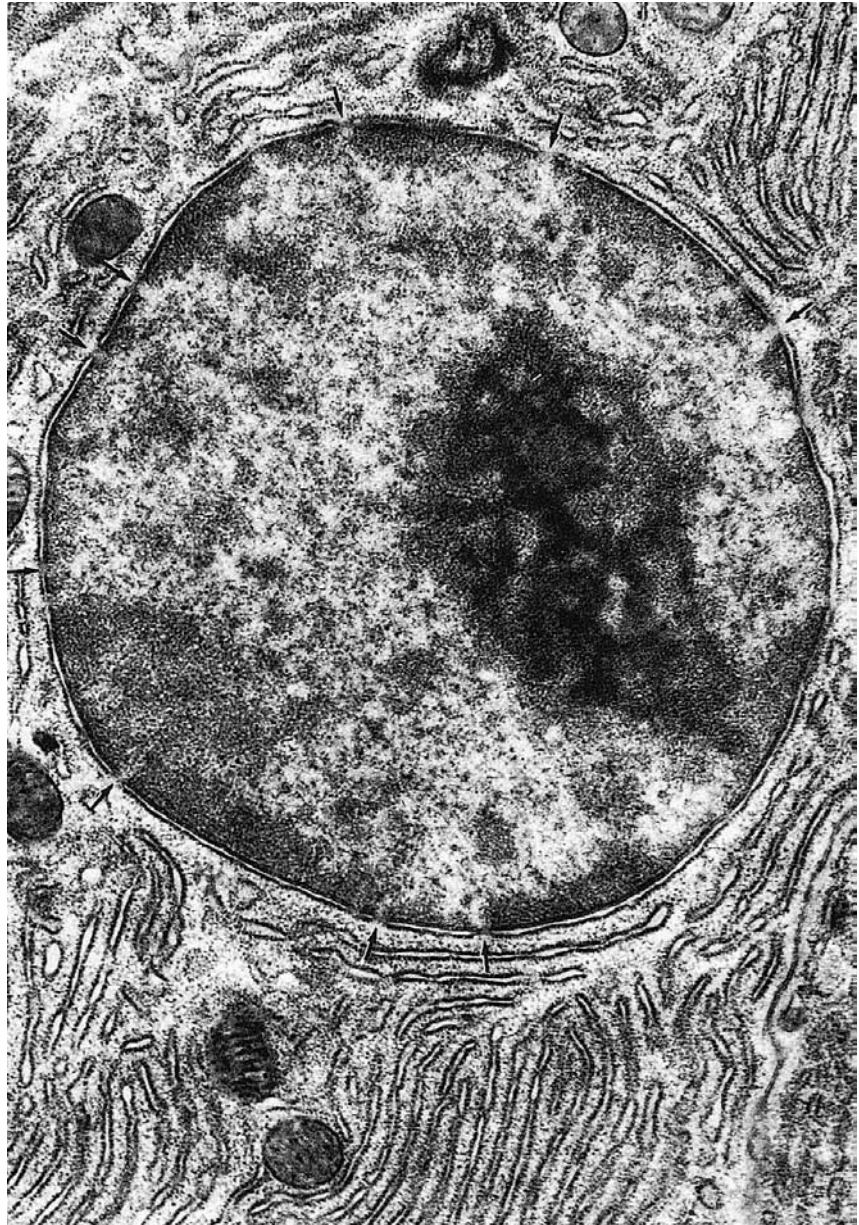
Το σύμπλεγμα του πυρηνικού πόρου αποτελείται από τον πυρηνικό πόρο και τις συνδεδεμένες με αυτόν γλυκοπρωτεΐνες.

Το σύμπλεγμα του πυρηνικού πόρου (nuclear pore complex) έχει διάμετρο περίπου 100–125 nm και εκτείνεται από τη μια πυρηνική μεμβράνη μέχρι την άλλη. Αποτελείται από εκατό διαφορετικές πρωτεΐνες περίπου, οι οποίες καλούνται συνολικά νουκλεοπορίνες (nucleoporins) και διατάσσονται σε τρεις επιστιβαζόμενες δακτυλιοειδείς σειρές πρωτεϊνών, καθεμία από τις οποίες παρουσιάζει οκταπλή συμμετρία και οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με μια σειρά ακτίνων διατεταγμένων κατακόρυφα. Επιπροσθέτως, το σύμπλεγμα του πυρηνικού πόρου διαθέτει κυτταροπλασματικές ίνες, ένα μεταφορέα και έναν πυρηνικό κάλαθο (Εικ. 3-6).

Ο **κυτταροπλασματικός δακτύλιος** (cytoplasmic ring), αποτελούμενος από οκτώ υπομονάδες, εντοπίζεται στο χείλος της κυτταροπλασματικής όψευς του πυρηνικού πόρου. Κάθε υπομονάδα διαθέτει μια **νηματώδη ίνα**, η οποία πιστεύεται ότι αποτελεί Ran - δεσμευτική πρωτεΐνη (μια οικογένεια πρωτεϊνών δεσμευουσών τριφωσφορική γουανοσίνη [GTP]) που εκτείνεται στο κυτταρόπλασμα. Έχει υποστηριχθεί ότι αυτές οι ίνες μπορεί να μεσολαβήσουν για την είσοδο ουσιών στον πυρήνα, μέσω του συμπλέγματος του πυρηνικού πόρου, μετακινώντας κατά μήκος τους υποστρώματα προς την κατεύθυνση του κέντρου του πόρου.

Ο **ακτινωτός δακτύλιος του αυλού** (μέσος δα-

Εικόνα 3-2 Πυρήνας κυττάρου. Ηλεκτρονική μικρογραφία ($\times 16.762$). Παρατηρήστε τον σκιερό στα ηλεκτρόνια πυρηνίσκο, την περιφερικώς εντοπιζόμενη σκιερή ετεροχρωματίνη, και την διαυγή ευχρωματίνη. Το πυρηνικό περίβλημα αποτελείται από μια εσωτερική και μια εξωτερική πυρηνική μεμβράνη που διακόπτονται από τους πυρηνικούς πόρους (βέλη). (Από το βιβλίο του Fawcett DW: *The Cell*. Philadelphia, W.B. Saunders, 1981).



κτύλιος) (luminal spoke ring/middle ring) αποτελείται από ένα σύνολο οκτώ διαμεμβρανικών πρωτεϊνών που προβάλλουν τόσο μέσα στον αυλό του πυρηνικού πόρου όσο και στην περιπυρηνική δεξαμενή. Οι εν λόγω ακτινοειδείς πρωτεΐνες πιθανόν προσδένουν τα γλυκοπρωτεϊνικά στοιχεία του συμπλέγματος του πυρηνικού πόρου στο χείλος του πυρηνικού πόρου.

Το κέντρο του μέσου δακτυλίου καταλαμβάνεται από μια κλεψυδροειδή δομή, γνωστή ως **κεντρικό βύσμα** (central plug), η οποία παλαιότερα ονομαζόταν **μεταφορέας** (transporter), συζευγμένη με τις ακτινοειδείς πρωτεΐνες του μέσου δακτυλίου. Σημειώτεον ότι η παρουσία του μεταγωγέα (κεντρικό πώμα, central plug) δεν είναι γενικώς αποδεκτή επειδή μερικοί ερευνητές

τον θεωρούν υλικό μεταφερόμενο προς ή από τον πυρήνα. Ως εκ τούτου δεν απεικονίζεται στο σχεδιογράφημα της Εικ. 3-7. Πιστεύεται ότι ο κεντρικός αυλός του μέσου δακτυλίου είναι φυλασσόμενος διάυλος, ο οποίος περιορίζει την παθητική διάχυση μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του πυρηνοπλάσματος. Σχετίζεται με επιπρόσθετα πρωτεϊνικά συμπλέγματα που υποβοηθούν την ρυθμισμένη μεταφορά ουσιών μέσω του συμπλέγματος του πυρηνικού πόρου.

Στο χείλος της πυρηνοπλασματικής άποψης του πυρηνικού πόρου εντοπίζεται ένας **πυρηνικός/πυρηνοπλασματικός δακτύλιος** (nuclear ring/nucleoplasmic ring), ανάλογος προς τον κυτταροπλασματικό δακτύλιο, ο οποίος βοηθά την εξαγωγή μερικών τύπων RNA.

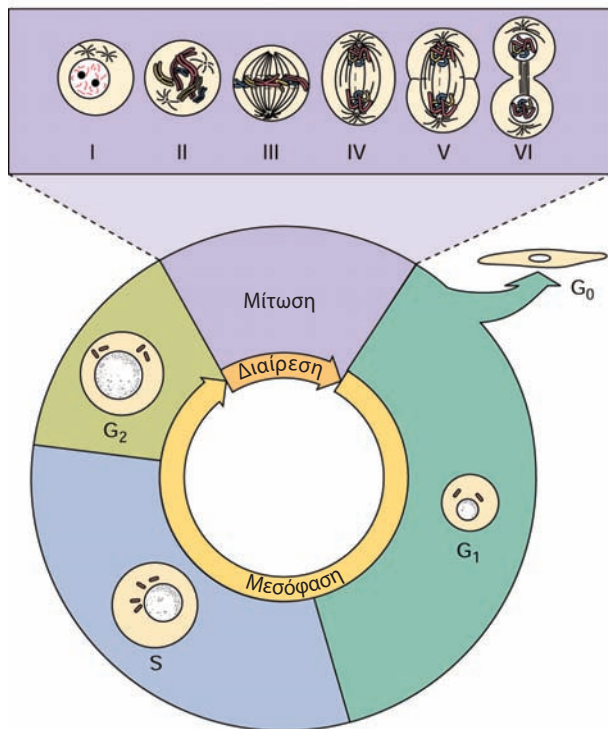
κινασών μέσω πρωτεϊνών ρυθμιζουσών τον κυτταρικό κύκλο, η τροποποίηση μικρών RNA που τροποποιούν προ-RNA, η συνάθροιση RNP, η συμμετοχή στην εξαγωγή ουσιών από τον πυρήνα καθώς επίσης η άσκηση ρόλου στην γήρανση.

Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Ο κυτταρικός κύκλος αποτελεί μια σειρά ενδοκυτταρίων γεγονότων, τα οποία προετοιμάζουν το κύτταρο για διαίρεση σε δύο θυγατρικά κύτταρα.

Ο κυτταρικός κύκλος (cell cycle) διαιρείται σε δύο μείζονα γεγονότα: τη **μίτωση** (mitosis), δηλαδή τη βραχεία χρονική περίοδο, κατά την οποία το κύτταρο επιτελεί τη διαίρεση του πυρήνα και του κυτταροπλάσμάτος του, προκειμένου να δημιουργηθούν δύο **θυγατρικά κύτταρα** (daughter cells), και τη **μεσόφαση** (interphase), μια μακρότερη χρονική περίοδο, κατά την οποία το κύτταρο αυξάνει το μέγεθος και το περιεχόμενό του και αναδιπλασιάζει το γενετικό του υλικό (Εικ. 3–12). Μπορεί κανείς να θεωρήσει ότι

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ



Εικόνα 3–12 Σχηματική απεικόνιση κυτταρικού κύκλου σε εντόνως διαιρούμενα κύτταρα. Τα μη υφιστάμενα διαίρεση κύτταρα, όπως οι νευρώνες, εγκαταλείπουν τον κύκλο εισερχόμενα στην φάση G_0 (φάση αναπαύσεως). Άλλα κύτταρα, όπως π.χ. τα λεμφοκύτταρα, μπορεί να επιστρέψουν στον κυτταρικό κύκλο.

ο κυτταρικός κύκλος αρχίζει με την ολοκλήρωση του σταδίου της τελόφασης κατά τη μίτωση, μετά το οποίο το κύτταρο εισέρχεται στη μεσόφαση. Η μεσόφαση διαιρείται σε τρεις φάσεις:

- τη **φάση πρώτου διαστήματος** (G_1 , gap 1 phase), οπότε αρχίζει η σύνθεση των μακρομορίων που είναι απαραίτητα για τον αναδιπλασιασμό του DNA,
- τη **φάση σύνθεσης** (**S**, synthetic phase), οπότε αναδιπλασιάζεται το DNA,
- τη **φάση δεύτερου διαστήματος** (G_2 , gap 2 phase), οπότε το κύτταρο προετοιμάζεται για τη μίτωση.

Τα κύτταρα, τα οποία καθίστανται εντόνως διαφοροποιημένα μετά το τελευταίο μιτωτικό συμβάν, μπορεί να παύσουν να υφίστανται μιώσεις είτε μονίμως (π.χ. νευρώνες, μυϊκά κύτταρα) είτε προσωρινώς (π.χ. περιφερικά λεμφοκύτταρα) και να επιστρέψουν στον κυτταρικό κύκλο σε μεταγενέστερη χρονική στιγμή. Τα κύτταρα που έχουν εγκαταλείψει τον κυτταρικό κύκλο λέγεται ότι ευρίσκονται σε φάση αναπαύσεως, την **G_0 φάση** (G_0 [outside] phase) ή την **σταθερή φάση** (stable phase).

Μεσόφαση

Η μεσόφαση, η χρονική περίοδος μεταξύ των μιτώσεων, υποδιαιρείται σε τρεις φάσεις: φάση πρώτου διαστήματος, φάση σύνθεσης και φάση δεύτερου διαστήματος.

Η φάση G_1

Η G_1 φάση (gap 1) είναι η περίοδος της αύξησης του κυττάρου, της σύνθεσης RNA και άλλων γεγονότων προπαρασκευαστικών της επόμενης μίτωσης.

Τα θυγατρικά κύτταρα που σχηματίστηκαν κατά την διάρκεια της μίτωσης εισέρχονται στην **G_1 φάση**. Κατά την διάρκεια αυτής της φάσεως τα κύτταρα συνθέτουν RNA, ρυθμιστικές πρωτεΐνες απαραίτητες για την αντιγραφή του DNA και ένζυμα απαραίτητα για την πραγματοποίηση αυτών των συνθετικών δραστηριοτήτων. Ως εκ τούτου, ο όγκος του κυττάρου, που είχε μειωθεί με την διαίρεση του κυττάρου στα δύο κατά την διάρκεια της μίτωσης, αποκαθίσταται στο κανονικό. Επιπροσθέτως, οι πυρηνίσκοι επανεμφανίζονται κατά την G_1 φάση. Κατ' αυτήν ακριβώς την περίοδο αρχίζουν τα κεντριόλια τον διπλασιασμό τους, ο οποίος θα ολοκληρωθεί κατά την **φάση G_2** .

Οι παράγοντες που ωθούν το κύτταρο να εισέλθει στον κυτταρικό κύκλο μπορεί να είναι (1) μια μηχανική δύναμη (π.χ. η διάταση λείου μυός), (2) βλάβη του ιστού (π.χ. ισχαιμία) και (3) κυτταρικός θάνατος. Όλα αυτά τα γεγονότα προκαλούν την απελευθέρωση λιγκασών από σηματοδοτικά κύτταρα στον επηρεασμένο ιστό. Συχνά οι εν λόγω λιγκάσες είναι αυξητικοί παράγοντες, οι οποίοι εμμέσως επάγουν την έκφραση **πρωτοογκογονιδίων** (protooncogenes), γονιδίων που

είναι υπεύθυνα για τον έλεγχο των οδών πολλαπλασιασμού του κυττάρου.

Προφανώς η έκφραση πρωτοογκογονιδίων πρέπει να ρυθμίζεται πολύ αυστηρά, ώστε να αποφευχθεί ανεπιθύμητος και ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός κυττάρων. Στην πραγματικότητα, μεταλλάξεις των πρωτοογκογονιδίων, που δίνουν την δυνατότητα στο κύτταρο να διαφύγει τον έλεγχο και να διαιρεθεί κατά αχαλίνωτο τρόπο, ευθύνονται για πολλούς καρκίνους. Τέτοια μεταλλαγμένα πρωτοογκογονίδια είναι γνωστά ως **ογκογονίδια** (oncogenes).

Λιγκασίες σχεδιασμένες να επάγουν πολλαπλασιασμό συνδέονται με υποδεκτικές πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφανείας του κυττάρου-στόχου και ενεργοποιούν μια από τις **σηματοδοτικές οδούς μεταγωγής** (signal transduction pathways) που περιγράφονται στο Κεφάλαιο 2. Ως εκ τούτου, εξωκυττάρια σήματα, τα οποία γίνονται δεκτά στην επιφάνεια του κυττάρου, μετατρέπονται σε ενδοκυττάρια γεγονότα, εκ των οποίων τα περισσότερα περιλαμβάνουν την αλληλοδιαδοχική ενεργοποίηση μιας σειράς κυτταροπλασματικών **πρωτεϊνικών κινάσων** (protein kinases). Οι εν λόγω κινάσες ενεργοποιούν μια σειρά ενδοπυρηνικών **μεταγραφικών παραγόντων** (transcription factors), οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση πρωτοογκογονιδίων, με αποτέλεσμα την διαίρεση του κυττάρου.

Η ικανότητα του κυττάρου να εισέρχεται και να προχωρεί στον κυτταρικό κύκλο ελέγχεται από την παρουσία και τις αλληλεπιδράσεις μιας ομάδας συγγενών πρωτεϊνών που είναι γνωστές ως **κυκλίνες** (cyclins) με ειδικές **κινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνες** (CDKs) (cyclin-dependent kinases). Τοιουτοτρόπως:

- Η κυκλίνη D, που συντίθεται κατά την **πρώιμη G₁** φάση, συνδέεται με την CDK4 καθώς και με την CDK6. Επιπροσθέτως, κατά την **όψιμη G₁ φάση** συντίθεται κυκλίνη E που συνδέεται με την CDK2. Τα εν λόγω τρία συμπλέγματα, μέσω άλλων μεσολαβητών, επιτρέπουν στο κύτταρο να εισέλθει και να προχωρήσει μέσω της **φάσης S**.
- Η κυκλίνη A συνδέεται με την CDK2 και την CDK1, τα δε εν λόγω συμπλέγματα επιτρέπουν στο κύτταρο να εγκαταλείψει την **S φάση** και να εισέλθει στην **G₂ φάση**, καθώς επίσης να επαγάγει τον σχηματισμό της κυκλίνης B.
- Η κυκλίνη B συνδέεται με την CDK1, το δε εν λόγω σύμπλεγμα επιτρέπει στο κύτταρο να εγκαταλείψει την **G₂ φάση** και να εισέλθει στην **M φάση**.

Μόλις οι κυκλίνες ασκήσουν τις ειδικές λειτουργίες τους, εισέρχονται στην οδό της ουμπικιτίνης - πρωτεοσωμάτων, όπου αποδομούνται στα συστατικά μόριά τους. Το κύτταρο διαθέτει επίσης μηχανισμούς ποιοτικού ελέγχου, γνωστούς ως **σημεία ελέγχου** (check points), ώστε να αποτρέψει την πρώιμη μετάβαση από την μία φάση στην άλλη. Τα εν λόγω σημεία ελέγχου εξασφαλίζουν την λεπτομερή ολοκλήρωση θεμελιωδών

γεγονότων, όπως η επαρκής κυτταρική αύξηση, η ορθή σύνθεση DNA και ο σωστός διαχωρισμός των χρωματισωμάτων, πριν επιτραπεί στο κύτταρο να εγκαταλείψει την τωρινή φάση του κυτταρικού κύκλου του. Το κύτταρο αντιμετωπίζει τέτοιες καθυστερήσεις στην διέλευσή του μέσω του κυτταρικού κύκλου, ενεργοποιώντας ανασταλτικές οδούς και/ή καταστέλλοντας ενεργοποιητικές οδούς.

Οι πραγματικοί μηχανισμοί ελέγχου είναι πολύ πιο πολύπλοκοι και συμμετέχουν περισσότερο από ό,τι δείχνουν τα στάδια που μόλις περιγράφηκαν. Για παράδειγμα, φαίνεται ότι ο πυρηνίσκος ασκεί ρυθμιστικό ρόλο στον κυτταρικό κύκλο αδρανοποιώντας ορισμένες πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα την αναστολή της λειτουργίας των. Η πλήρης περιγραφή της διαδοχικής σειράς των εν λόγω σταδίων εκφεύγει του σκοπού του παρόντος βιβλίου. (Για περισσότερες πληροφορίες βλέπε τα σχετικά συγγράμματα κυτταρικής βιολογίας, καθώς και την πρόσφατη βιβλιογραφία περί του κυτταρικού κύκλου.)

Η φάση S

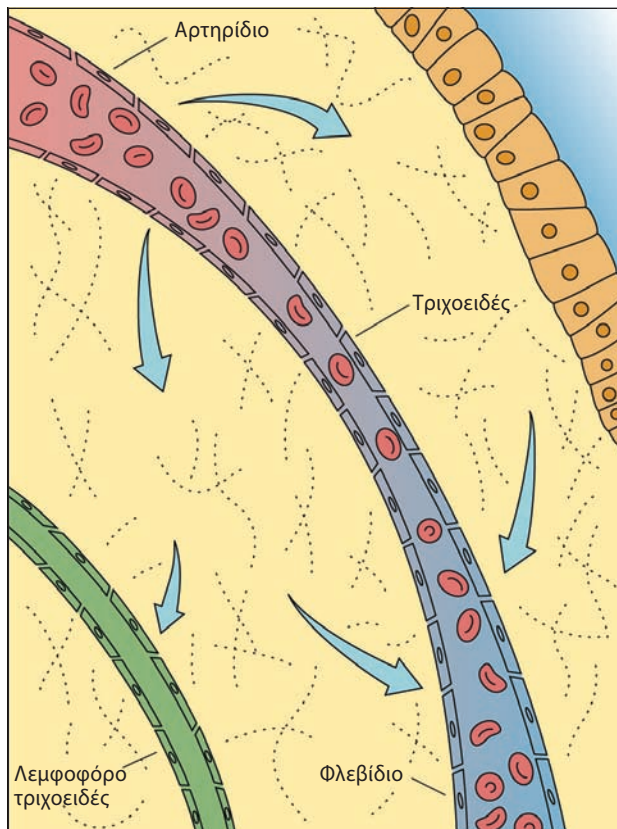
Η σύνθεση του DNA συμβαίνει κατά την διάρκεια της φάσης S.

Κατά την διάρκεια της **φάσης S**, την συνθετική φάση του κυτταρικού κύκλου, το γονιδίωμα διπλασιάζεται. Όλες οι απαραίτητες νουκλεοπρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένων των ιστονών, εισάγονται και ενσωματώνονται στο μόριο του DNA, σχηματίζοντας το χρωματινικό υλικό. Το κύτταρο περιέχει πλέον διπλάσια από την συνήθη ποσότητα DNA. Η ποσότητα του DNA που υπάρχει στα αυτοσωματικά και στα γεννητικά κύτταρα επίσης ποικίλλει. Τα αυτοσωματικά κύτταρα περιέχουν την διπλοειδή (2n) ποσότητα DNA πριν από την συνθετική (S) φάση του κυτταρικού κύκλου, οπότε η (2n) ποσότητα του DNA διπλασιάζεται (4n) καθώς το κύτταρο προετοιμάζεται για την κυτταρική διαίρεση. Αντιθέτως, τα παραχθέντα με μειωτική διαίρεση γεννητικά κύτταρα διαθέτουν απλοειδή (1n) αριθμό χρωματισωμάτων, καθώς επίσης και απλοειδή (1n) ποσότητα DNA.

Η φάση G₂

Η G₂ φάση είναι η περίοδος μεταξύ του τέλους της σύνθεσης του DNA και της αρχής της μίτωσης.

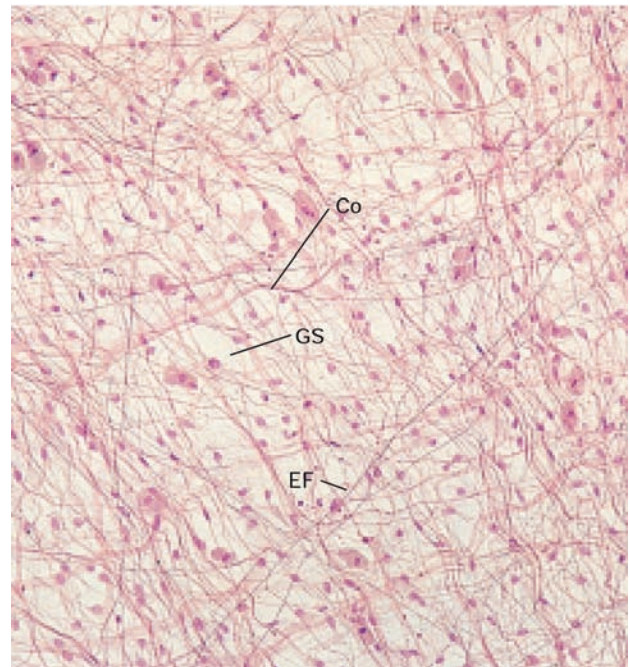
Κατά την **φάση G₂** (G₂ phase) συντίθεται RNA και πρωτεΐνες απαραίτητες για την κυτταρική διαίρεση. Επίσης αποθηκεύεται η ενέργεια που απαιτείται για την πραγματοποίηση της μίτωσης. Επιπροσθέτως, συντίθεται τουμπουλίνη για να συναρμολογηθεί σε μικροσωληνίσκους απαραίτητους για την μίτωση, ελέγχεται η αντιγραφή του DNA για πιθανά σφάλματα και καθένα από αυτά τα σφάλματα διορθώνεται.



Εικόνα 4-1 Η ροή του υγρού των ιστών. Υγρό από τα τελούντα υπό υψηλότερη πίεση αρτηριακά άκρα του δικτύου των τριχοειδών αγγείων εισδύει στους χώρους του συνδετικού ιστού και καθίσταται γνωστό ως *εξωκυττάριο υγρό*, το οποίο διηθείται μέσω της θεμέλιας ουσίας. Αρκετό εξωκυττάριο υγρό, αλλά όχι όλο, επιστρέφει στο κυκλοφορικό σύστημα του αίματος μέσω του τελούντος υπό χαμηλή πίεση φλεβικού άκρου του δικτύου των τριχοειδών καθώς και μέσω των φλεβιδίων. Το εξωκυττάριο υγρό που δεν επανεισήλθε στο αιμαγγειακό σύστημα θα εισέλθει στο τελούν υπό ακόμη χαμηλότερη πίεση λεμφικό σύστημα, το οποίο τελικώς θα το διοχετεύσει στο αιμαγγειακό σύστημα.

αρνητικά φορτία τους τα αλληλαπωθούν, γεγονός που τους προσδίδει ολισθηρή σύσταση, όπως διαπιστώνεται από την ολισθηρότητα της βλέννας, του υαλοειδούς σώματος του οφθαλμού και του αρθρικού υγρού.

Όλες εκτός μίας οι κύριες GAG της ECM είναι θειωμένες, καθεμία τους αποτελούμενη από 300 σχεδόν επαναλαμβανόμενες δισακχαριτικές μονάδες (βλέπε Πίνακα 4-1). Στις θειωμένες γλυκοζαμινογλυκάνες περιλαμβάνεται η **θειική κερατάνη**, η **θειική ηπαράνη**, η **ηπαρίνη**, η **θειική-4-χονδροϊτίνη**, η **θειική-6-χονδροϊτίνη** και η **θειική δερματίνη**. Οι εν λόγω γλυκοζαμινογλυκάνες είναι συνήθως συνδεδεμένες ομοιοπολικώς με πρωτεϊνικά μόρια σχηματίζοντας πρωτεογλυκάνες. Η μόνη μη θειωμένη γλυκοζαμινογλυκάνη είναι το **υαλουρονικό οξύ (υαλουρονάνη)**, το οποίο μπορεί να διαθέτει μέχρι 10.000 επαναλαμβανόμενες δισακχαρι-



Εικόνα 4-2 Φωτομικρογραφία χαλαρού συνδετικού ιστού, στην οποία απεικονίζονται κύτταρα, κολλαγόνες ίνες (Co), ελαστικές ίνες (EF) και θεμέλια ουσία (GS). Παρατηρήστε ότι σε αυτόν τον πολύ χαλαρό τύπο του συνδετικού ιστού, οι ίνες, αν και διαπλεκόμενες, παρουσιάζουν σχετικώς τυχαία διάταξη, γεγονός που επιτρέπει τη διάταξη του ιστού προς πάσα κατεύθυνση. Τα κύτταρα του χαλαρού συνδετικού ιστού ανήκουν σε τρεις κυρίως τύπους: σε ινοβλάστες, μακροφάγα και σιτευτικά κύτταρα. Οι ευρείς εξωκυττάριοι χώροι καταλαμβάνονται από θεμέλια ουσία η οποία αποτελείται κυρίως από γλυκοζαμινογλυκάνες και πρωτεογλυκάνες, των οποίων ευμέγεθες συστατικό είναι το αγκρεκανικό σύμπλοκο, μια εντόνως ενυδατωμένη μεγαλομοριακή ουσία. (x132)

τικές μονάδες. Πρόκειται για πελώρια μεγαλομοριακή ουσία (έως 10.000 kDa) η οποία δεν σχηματίζει ομοιοπολικούς δεσμούς με πρωτεϊνικά μόρια (αν και προσφύονται σε αυτήν πρωτεογλυκάνες μέσω συνδετικών πρωτεϊνών). Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι όλες οι γλυκοζαμίνες συντίθενται εντός της συσκευής του Golgi από ένζυμά της, με εξαίρεση το υαλουρονικό οξύ, το οποίο συντίθεται υπό τη μορφή ελεύθερων γραμμικών πολυμερών στην κυτταροπλασματική όψη της κυτταρικής μεμβράνης από υαλουρονοσυνθάσες. Τα εν λόγω ένζυμα αποτελούν δομικής φύσεως πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης που όχι μόνον καταλύουν τον πολυμερισμό αλλά επίσης διευκολύνουν τη μεταφορά των νεοσχηματισμένων μεγαλομορίων προς την ECM. Φαίνεται επίσης ότι αυτή η μεγαλομοριακή ουσία διαθέτει και ενδοκυττάριας λειτουργίες. Μέρους του νεοσχηματιζόμενου υαλουρονικού οξέος ενδοκυττάρωνται από μερικά κύτταρα, ιδιαιτέρως κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, οπότε ασκεί ρόλο, δεδομένου ότι ρυθμίζει τις δραστηριότητες των μικρο-

ΠΙΝΑΚΑΣ 4-1 Τύποι γλυκοζαμινογλυκανών.

Γλυκοζαμινογλυκάνη	Μοριακό βάρος (σε δαλτόνια)	Επαναλαμβανόμενοι δισακχαριτες	Ομοιοπολικός δεσμός με πρωτεΐνη	Εντόπιση στο σώμα
Υαλουρονικό οξύ	10 ⁷ -10 ⁸	D-Γλυκουρονικόξυ-βήτα-1,3-N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνη	Όχι	Μεγάλο μέρος του συνδετικού ιστού, αρθρικό υγρό, χονδρικός ιστός, χόριο δέρματος
Θειική κερατάνη I και II	10.000-30.000	Γαλακτόζο-βήτα-1,4-N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνη-6-SO ₄	Ναι	Κερατοειδής χιτώνας (θειική κερατάνη I), Χόνδρος (θειική κερατάνη II),
Θειική ηπαράνη	15.000-20.000	D-Γλυκουρονικόξυ-βήτα-1,3-N-ακετυλο-γαλακτοζαμίνη L-Ιντουρονικό οξύ-2 ή -SO ₄ -βήτα-1,3-N-ακετυλο-D-γαλακτοζαμίνη	Ναι	Αιμοφόρα αγγεία, πνεύμονες, βασικό πέταλο
Ηπαρίνη (90%) (10%)	15.000-20.000	L-Ιντουρονικόξυ-βήτα-1,4-θειο-D-γλυκοζαμίνη-6-SO ₄ D-Γλυκουρονικόξυ-βήτα-1,4-N-ακετυλογλυκοζαμίνη-6-SO ₄	Όχι	Κοκκία σιτευτικών κυττάρων, ήπαρ, πνεύμονες, δέρμα
Θειική 4-χονδροϊτίνη	10.000-30.000	D-Γλυκουρονικόξυ-βήτα-1,3-N-ακετυλογαλακτοζαμίνη-6-SO ₄	Ναι	Χόνδρος, οστά, κερατοειδής χιτώνας, αιμοφόρα αγγεία
Θειική 6-χονδροϊτίνη	10.000-30.000	D-Γλυκουρονικόξυ-βήτα-1,3-N-ακετυλογαλακτοζαμίνη-6-SO ₄	Ναι	Χόνδρος, βαρθώνεια πηκτή, αιμοφόρα αγγεία
Θειική δερματάνη	10.000-30.000	L-Ιντουρονικόξυ-άλφα-1,3 και N-ακετυλογλυκοζαμίνη-4-SO ₄	Ναι	Καρδιακές βαλβίδες, δέρμα, αιμοφόρα αγγεία

σωληνίσκων κατά τη διάρκεια της μετάφασης και της ανάφασης, γεγονός που διευκολύνει τις κινήσεις των χρωμοσωμάτων. Επιπροσθέτως μπορεί να ρυθμίζουν τις ενδοκυττάρια μετακινήσεις και να επηρεάζουν ειδικές για το κυτταρόπλασμα καθώς και ειδικές για το πυρηνόπλασμα κινήσεις.

Πρωτεογλυκάνες

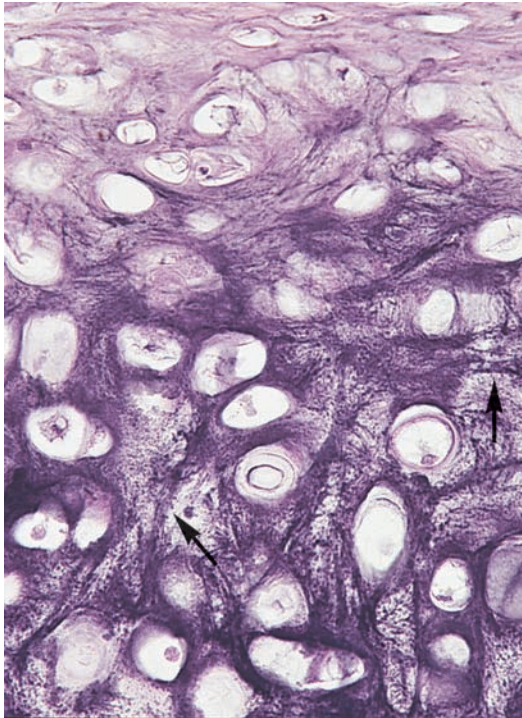
Οι πρωτεογλυκάνες αποτελούν μια οικογένεια μεγαλομοριακών ουσιών. Καθεμιά τους αποτελείται από πρωτεϊνικής σύστασης κεντρική περιοχή προς την οποία είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένες GAG.

Όταν οι θειωμένες γλυκοζαμινογλυκάνες σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς με μια αξονική πρωτεΐνη, απαρτίζουν μια ομάδα μεγαλομοριακών ουσιών που είναι γνωστές ως **πρωτεογλυκάνες**, πολλές από τις οποίες καταλαμβάνουν τεράστιους χώρους. Οι εν λόγω ευμεγέθεις δομές μοιάζουν με βούρτσα καθαρισμού δοκιμαστικών σωλήνων, με την αξονική πρωτεΐνη να

μοιάζει με τον συρμάτινο άξονα της βούρτσας και τις διάφορες θειωμένες γλυκοζαμινογλυκάνες να προβάλλουν από την επιφάνειά της στον τρισδιάστατο χώρο, όπως οι τρίχες της βούρτσας (Εικ. 4-3).

Οι πρωτεογλυκάνες έχουν ποικίλο μέγεθος, κυμαινόμενο από περίπου 50.000 δαλτόνια (**ντεκορίνη** και **βηταγλυκάνη**) μέχρι ακόμη και 3 εκατομμύρια δαλτόνια (**αγγρικήνη**). Οι πρωτεϊνικοί άξονες της πρωτεογλυκάνης παράγονται από το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο (RER), ενώ οι γλυκοζαμινογλυκανικές ομάδες συνδέονται ομοιοπολικά με την πρωτεΐνη στη συσκευή του Golgi. Εν συνεχεία μεταφέρονται στη συσκευή του Golgi, όπου περιεχόμενα ένζυμα συνδέουν ομοιοπολικά τετρασακχαρίτες με τις παράπλευρες σερινικές αλυσίδες της. Κατόπιν συντίθεται η γλυκοζαμινογλυκάνη με την προσθήκη σακχάρων, ενός κάθε φορά. Η θείωση και ο επιμερισμός (αναδιάταξη διαφόρων ομάδων γύρω από τα άτομα του άνθρακα των υδατανθρακικών ομάδων) επιτελούνται επίσης στη συσκευή του Golgi.

Στο υαλουρονικό οξύ προσφύονται πολλές πρωτεογλυκάνες, ιδίως η **αγγρικήνη**, μια μεγαλομοριακή ουσία

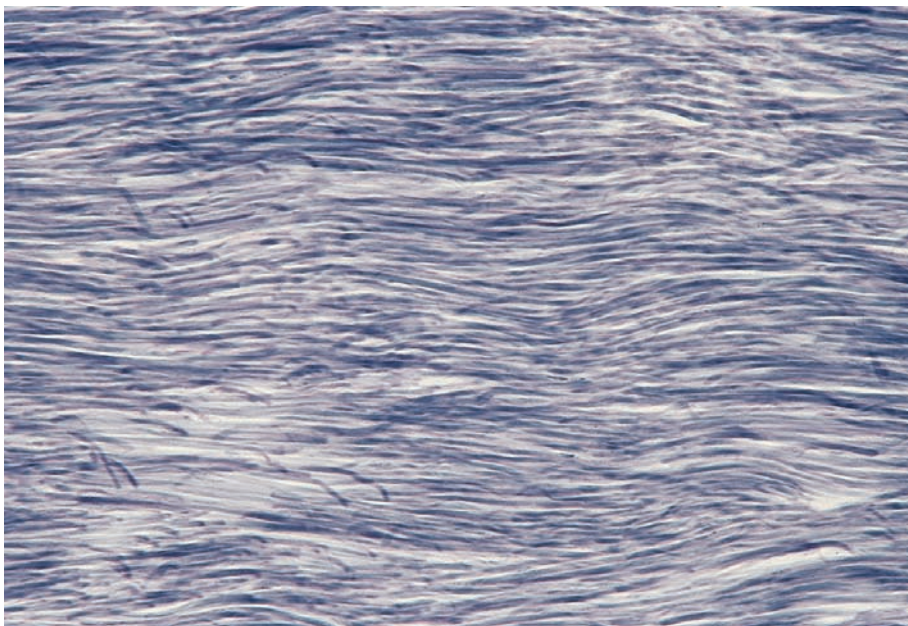


Εικόνα 4-9 Προσέξτε την παρουσία ελαστικών ινών (βέλη) στη θεμέλια ουσία σε αυτή τη φωτομικρογραφία ελαστικού χόνδρου. Τα ευμεγέθη χονδροκύτταρα του ελαστικού χόνδρου καταλαμβάνουν χώρους, γνωστούς ως *κοιλότητες*, εντός της πλούσιας σε πρωτεογλυκάνες θεμέλιας ουσίας. Οι ευμεγέθειες δέσμες των ελαστικών ινών είναι ευδιάκριτες, δείχνουν δε να είναι διατεταγμένες κατά τυχαίο τρόπο. Παρατηρήστε ότι οι παχύτερες ελαστικές ίνες αποτελούνται από λεπτοφυή ινίδια. C, χονδροκύτταρο· P, περιχόνδριο. (x270)

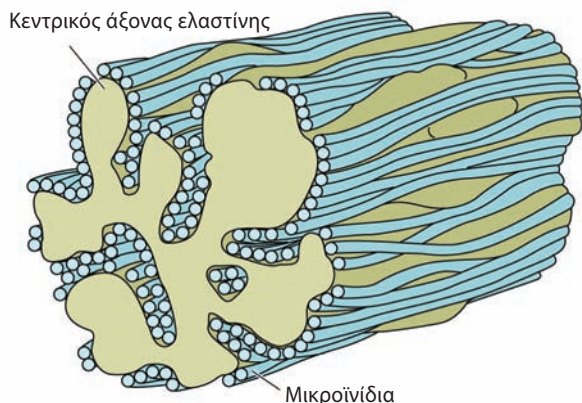
αγγείων. Στην πραγματικότητα, οι ελαστικές ίνες αποτελούν το 50% περίπου του ξηρού βάρους της αορτής.

Οι ελαστικές ίνες παράγονται από ινοβλάστες του συνδετικού ιστού καθώς και από λεία μυϊκά κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων. Αποτελούνται από **ελαστίνη**, **φιμπριλίνη-1** και **φιμπουλίνη-5**, και από κολλαγόνο τύπου VIII.

- Η **ελαστίνη** είναι μια πρωτεΐνη πλούσια σε γλυκίνη, λυσίνη, αλανίνη, βαλίνη και προλίνη, αλλά χωρίς υδροξυλυσίνη. Η ελαστίνη προέρχεται από ένα διαλυτό πρόδρομο πρωτεϊνικό μόριο, την **τροποελαστίνη**, η οποία καθίσταται αδιάλυτη λόγω της σταυροσύνδεσης των καταλοίπων λυσίνης του μορίου μέσω του ενζύμου λυσυλ-οξειδάσης. Με τον τρόπο αυτό, οι αλυσίδες ελαστίνης που σχηματίζονται συγκρατούνται μεταξύ τους κατά τέτοιο τρόπο ώστε τέσσερα μόρια λυσίνης, καθένα εκ των οποίων ανήκει σε διαφορετική αλυσίδα λυσίνης, σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ τους με αποτέλεσμα τον σχηματισμό **διασυνδέσεων δεσμοσίνης**. Οι εν λόγω ρίζες δεσμοσίνης είναι εντόνως παραμορφώσιμες, και προσδίδουν υψηλού βαθμού ελαστικότητα στις ελαστικές ίνες σε τέτοιο βαθμό, ώστε αυτές οι ίνες να μπορούν να εκταθούν μέχρι περίπου το 150% του εν χαλασεί μήκους τους πριν υποστούν ρήξη. Μετά τη διάτασή τους, οι ελαστικές ίνες επανακτούν το μήκος ηρεμίας τους.
- Ο κεντρικός άξονας των ελαστικών ινών αποτελείται από ελαστίνη και περιβάλλεται από έλυτρο εκ **μικροϊνιδίων**, καθένα από τα οποία έχει διάμετρο περίπου 10 nm και αποτελείται από τη γλυκοπρωτεΐνη **φιμπριλίνη-1** (Εικ. 4-11). Κατά τη διάρκεια του σχηματισμού των ελαστικών ινών, σχηματίζονται πρώτα τα μικροϊνίδια, ενώ η ελα-



Εικόνα 4-10 Φωτομικρογραφία πυκνού, κανονικού ελαστικού συνδετικού ιστού. Προσέξτε ότι οι ελαστικές ίνες είναι βραχείες, ότι είναι διατεταγμένες σχεδόν παράλληλα μεταξύ τους, καθώς επίσης ότι τα άκρα τους είναι κάπως ελικοειδή. Σε αντίθεση με τις κολλαγόνες ίνες του πυκνού κανονικού συνδετικού ιστού, στον οποίο τα κολλαγόνα ινίδια και οι ίνες είναι πυκνά διατεταγμένες και παράλληλες μεταξύ τους, αυτές οι ελαστικές ίνες φαίνονται κάπως άτακτα διατεταγμένες. (x270)



Εικόνα 4-11 Σχηματική απεικόνιση ελαστικής ίνας. Τα μικροϊνίδια περιβάλλουν την άμορφη ελαστίνη.

στίνη εναποτίθεται στον χώρο που περιβάλλεται από τα μικροϊνίδια. (Εικ. 4-12). Η διαλυτή τροποελαστίνη, η οποία σχηματίζει χημικούς δεσμούς με τη φιμπριλίνη-1, μετατρέπεται σε **ελαστίνη** από τη δράση της λυσουλ-οξειδάσης.

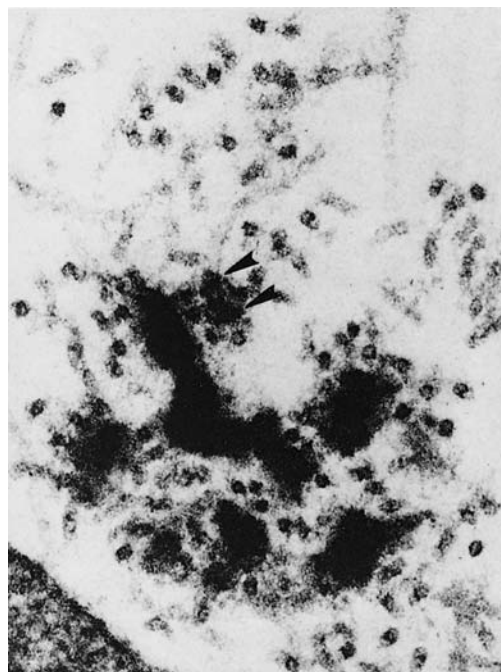
- Τα μόρια ιντεγκρίνης των κυττάρων που συνθέτουν ελαστικές ίνες προσδένονται στη **φιμπουλίνη-5**, μια πρωτεΐνη που εμφανίζει συγγένεια προς τον εαυτό της και προς την τροποελαστίνη και τη φιμπριλίνη-1. Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι η φιμπουλίνη-5 διευκολύνει τον σχηματισμό ελαστικών ινών.
- Έχει επίσης αποδειχθεί ότι το **κολλαγόνο τύπου VIII** σχηματίζει μέρος των ελαστικών ινών. Δεδομένου ότι το κολλαγόνο δεν είναι ελαστικό, θεωρείται ότι το κολλαγόνο τύπου VIII δρα μειώνοντας τον βαθμό έκτασης που επιτρέπεται να υποστούν οι ελαστικές ίνες.

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

Η ακεραιότητα των ελαστικών ινών εξαρτάται από την παρουσία των μικροϊνιδίων. Οι πάσχοντες από το **σύνδρομο Marfan** παρουσιάζουν κάποια γενετική ανωμαλία στο γονίδιο του χρωματοσώματος 15 που κωδικοποιεί για τη φιμπριλίνη· για αυτόν τον λόγο, οι ελαστικές ίνες τους δεν αναπτύσσονται κανονικά. Τα άτομα που παρουσιάζουν σοβαρή προσβολή από αυτό το σύνδρομο κινδυνεύουν να πεθάνουν από ρήξη της αορτής.

ΒΑΣΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ

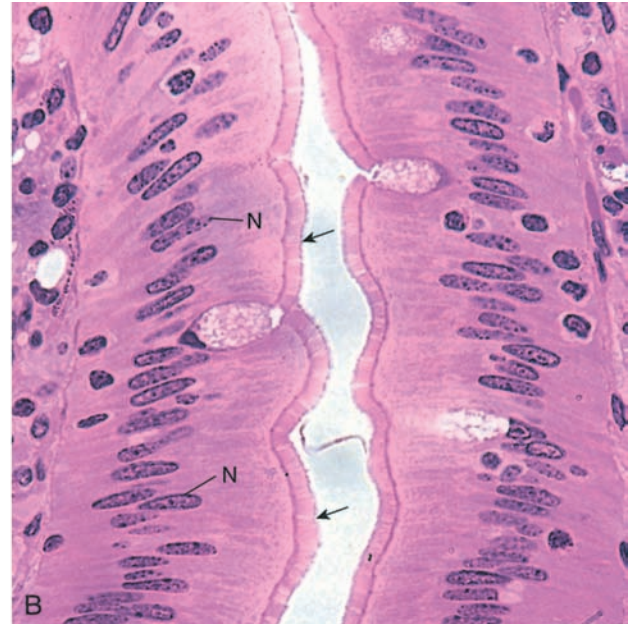
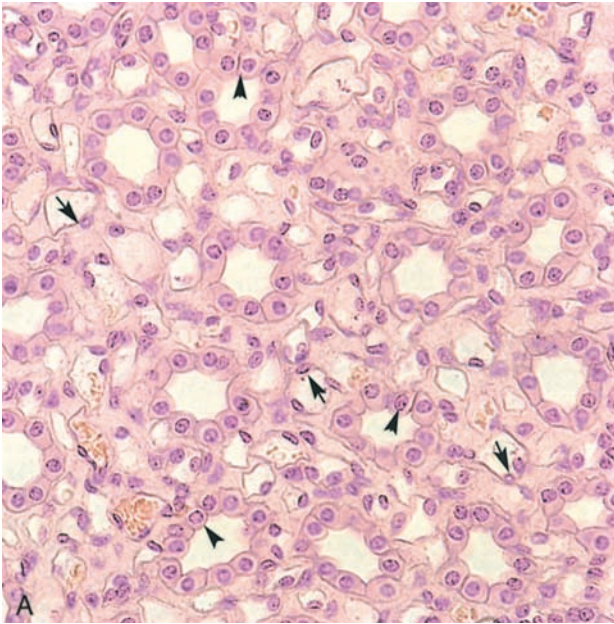
Η βασική μεμβράνη που είναι ορατή με το φωτομικροσκόπιο απεδείχθη με την ηλεκτρονική μικροσκοπία ότι αποτελείται από τον βασικό υμένα και τον δικτυωτό υμένα.



Εικόνα 4-12 Ηλεκτρονική μικρογραφία σχηματισμού ελαστικών ινών. Προσέξτε την παρουσία μικροϊνιδίων τα οποία περιβάλλουν την άμορφη ουσία της ελαστίνης σαν μικρός χώρος που περιφράχθηκε με βραχείς πασσάλους (αιχμές βελών). Τα εν λόγω περιέχοντα φιμπριλίνη μικροϊνίδια παράγονται και εκκρίνονται πρώτα, εν συνεχεία το παράγον κύτταρο -ινοβλάστη του ιδίως συνδετικού ιστού ή κάποιο λείο μυϊκό κύτταρο αιμοφόρου αγγείου- εκκρίνει ελαστίνη μέσα στον χώρο που περικλείεται από τα μικροϊνίδια. (Από Fukuda Y, Ferrans VJ, Crystal RG. Development of elastic fibers of nuchal ligament, aorta, and lung of fetal and postnatal sheep: an ultrastructural and electron microscopic immunohistochemical study. *Am J Anat* 170: 597-629, 1984. Ανατύπωση με άδεια της Wiley-Liss Inc., θυγατρικής της John Wiley & Sons, Inc.)

Η επιφάνεια επαφής μεταξύ του επιθηλίου και του συνδετικού ιστού καταλαμβάνεται από μια στενή, στερούμενη κυττάρων περιοχή, τη **βασική μεμβράνη**, η οποία βάφεται έντονα με τη χρώση PAS καθώς και άλλες ιστολογικές χρώσεις ανιχνεύουσες γλυκοζαμινογλυκάνες. Τα λεία και τα σκελετικά μυϊκά κύτταρα, τα λιποκύτταρα και τα κύτταρα του Schwann περιβάλλονται από το **εξωτερικό πέταλο**, δομή παρόμοια με τη βασική μεμβράνη.

Η βασική μεμβράνη, η οποία είναι ορατή στο οπτικό μικροσκόπιο, ορίζεται καλύτερα μέσω της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, όπου φαίνεται ότι αποτελείται από δύο συστατικά: τον **βασικό υμένα**, που παράγεται από τα επιθηλιακά κύτταρα, και τον **δικτυωτό υμένα**, που σχηματίζεται από κύτταρα του συνδετικού ιστού (Εικ. 4-13).



Εικόνα 5-2 Φωτομικρογραφίες μονοστιβών επιθηλίων. **A**, μονόστιβο πλακώδες επιθήλιο (βέλη). Προσέξτε τη μορφολογία των κυττάρων και των πυρήνων τους. Είναι επίσης παρόν μονόστιβο κυβικό επιθήλιο (αιχμές βελών). Προσέξτε τους στρογγυλούς, κεντρικώς εντοπιζόμενους πυρήνες (x270). **B**, μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο (x540). Παρατηρήστε τους επιμήκεις πυρήνες και την ψηκτροειδή παρυφή (βέλη).

Μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο

Το μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο αποτελείται από μία μόνη στιβάδα υψηλών κυττάρων που έχουν παραλληλεπίπεδο σχήμα.

Τα κύτταρα του **μονοστιβού κυλινδρικού επιθηλίου** (simple columnar epithelium) μοιάζουν πολύ με εκείνα του μονοστιβού κυβικού επιθηλίου όταν παρατηρούνται εκ των άνω, αλλά σε κάθετη (εγκάρσια) τομή έχουν την όψη υψηλών, ορθογωνίων κυττάρων, των οποίων οι ωοειδείς πυρήνες συνήθως βρίσκονται στο ίδιο ύψος στο κατώτερο ήμισυ του κυττάρου (Εικ. 5-2B). Το μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο επενδύει μέγα μέρος του πεπτικού σωλήνα, την χοληδόχο κύστη και τους μεγάλους εκφορητικούς πόρους των αδένων. Το εν λόγω επιθήλιο μπορεί να παρουσιάζει ψηκτροειδή παρυφή ή **μικρολάχνες** (microvilli), στενές δακτυλοειδείς κυτταροπλασματικές προεκβολές που προβάλλουν από την κορυφαία επιφάνεια των κυττάρων, σαν τις τρίχες της ψήκτρας (κν. βούρτσας). Το μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο που επενδύει την κοιλότητα της μήτρας, τον αυλό των ωαγωγών (σαλπίγγων), των εκφορητικών σωληναρίων, των βρόγχων και των παραρρινικών κόλπων είναι κροσσωτό. Σε αυτά τα όργανα, προβάλλουν από την κορυφαία επιφάνεια των κυλινδρικών κυττάρων προς τον αυλό τριχοειδείς δομές, οι **κροσσοί** (cilia).

Πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο

Το πολύστιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο αποτελείται από μερικές στιβάδες κυττάρων. Η επιφανειακή στιβάδα κυττάρων διαθέτει πυρήνες. Το πολύστιβο πλακώδες κερατινοποιημένο επιθήλιο χαρακτηρίζεται από το ότι οι επιφανειακές στιβάδες αποτελούνται από νεκρά, απύρνηνα πλήρη κερατίνης κύτταρα.

Το **πολύστιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο** (stratified squamous nonkeratinized epithelium) είναι παχύ. Επειδή αποτελείται από αρκετές στιβάδες κυττάρων, μόνο η βαθύτερη εφάπτεται στον βασικό υμένα (Εικ. 5-3A). Τα κατώτατα κύτταρα αυτού του επιθηλίου έχουν κυβικό σχήμα, τα κύτταρα των ενδιάμεσων στιβάδων είναι πολύμορφα, ενώ τα κύτταρα που σχηματίζουν την ελεύθερη επιφάνειά του είναι αποπλατυσμένα (πλακώδη), εξ ου και το όνομα «πλακώδες επιθήλιο». Επειδή τα επιφανειακά (επιπολής) κύτταρα περιέχουν πυρήνα (είναι εμπύρνηνα), το εν λόγω επιθήλιο αποκαλείται **μη κερατινοποιημένο επιθήλιο**. Αυτός ο τύπος του επιθηλίου είναι συνήθως εφυγρος και παρατηρείται στο στόμα, στον στοματοφάρυγγα, στον οισοφάγο, στις γνήσιες φωνητικές χορδές και στον κόλπο.

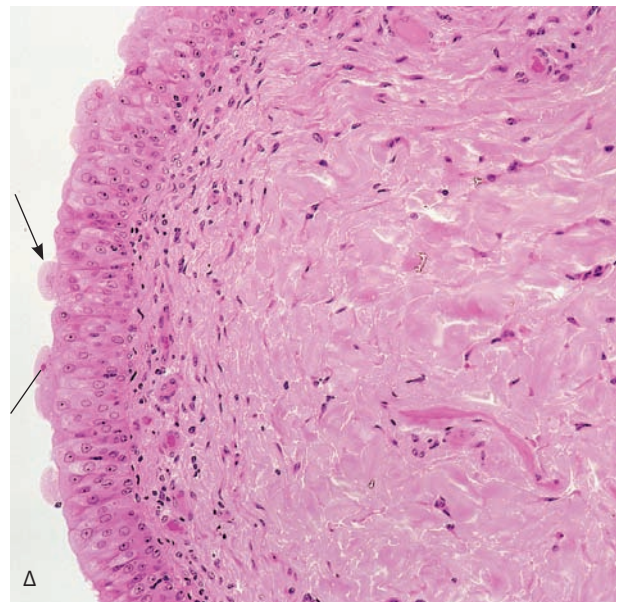
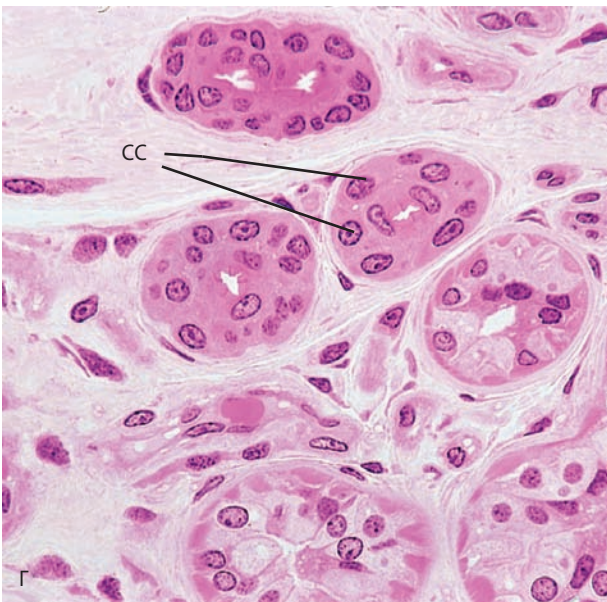
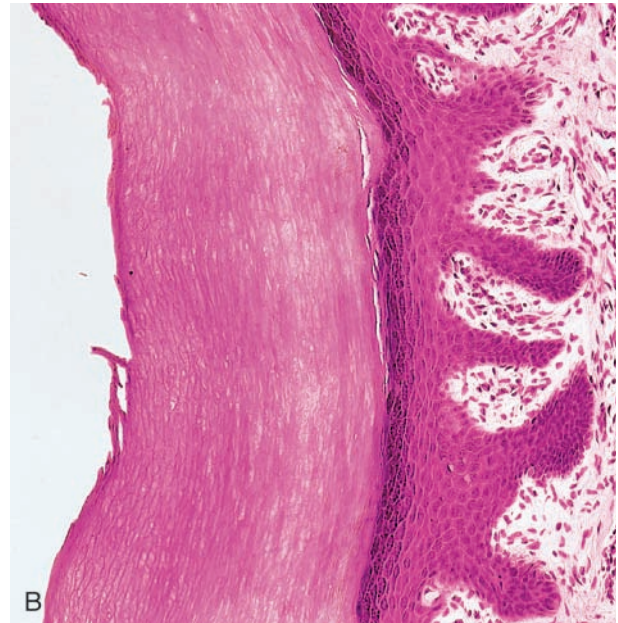
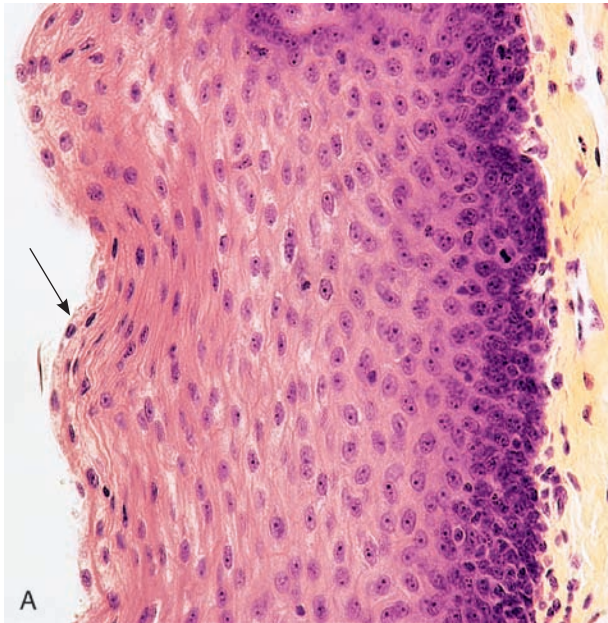
Πολύστιβο πλακώδες (κερατινοποιημένο) επιθήλιο

Το πολύστιβο πλακώδες κερατινοποιημένο επιθήλιο χαρακτηρίζεται από το ότι η ελεύθερη επιφάνειά του αποτελείται

από στιβάδες κυττάρων, τα οποία είναι νεκρά, απύρρινα και πλήρη κερατίνης.

Το πολύστιβο πλακώδες κερατινοποιημένο επιθήλιο (stratified squamous keratinized epithelium) μοιάζει με το μη κερατινοποιημένο πολύστιβο πλακώδες επιθή-

λιο, με εξαίρεση το γεγονός ότι οι επιπολής στιβάδες του αποτελούνται από νεκρά κύτταρα, των οποίων οι πυρήνες και το κυτταρόπλασμα έχουν αντικατασταθεί από **κερατίνη** (Εικ. 5-3B). Από αυτό το επιθήλιο αποτελείται η επιδερμίδα του δέρματος, ένα ανθεκτικό επιθήλιο που αντέχει στις τριβές και είναι αδιάβροχο.

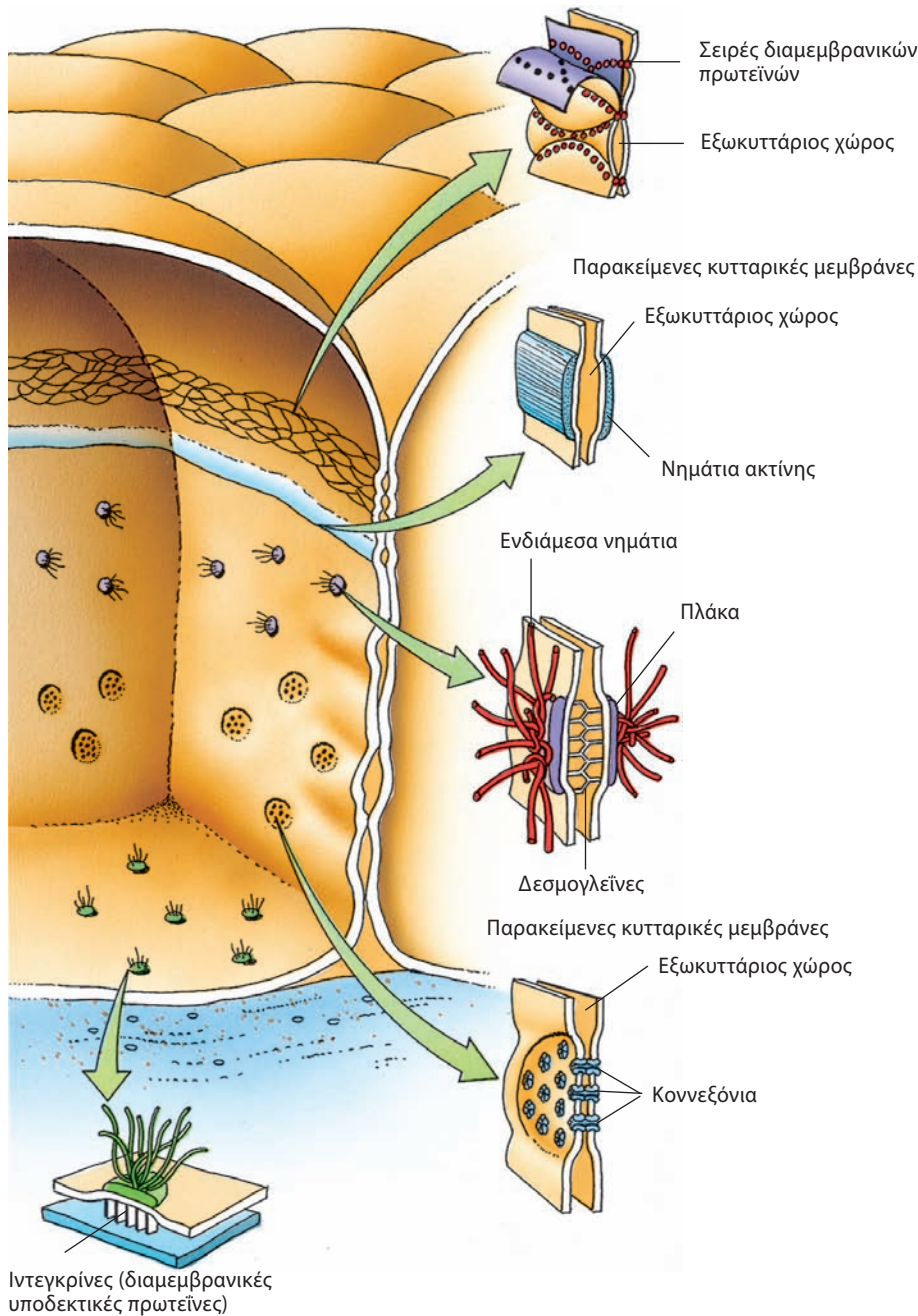


Εικόνα 5-3 Φωτομικρογραφίες πολυστίβων επιθηλίων. **Α:** πολύστιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο. Παρατηρήστε τις πολυάριθμες στιβάδες των κυττάρων και τα αποπλατυσμένα (πλακώδη) εμπύρρινα κύτταρα της κορυφιαίας στιβάδας (βέλος) (x509). **Β:** πολύστιβο πλακώδες κερατινοποιημένο επιθήλιο (x125). **Γ:** πολύστιβο κυβικό επιθήλιο εκφορητικού πόρου ιδρωτοποιού αδένου (x509). **Δ:** μεταβατικό επιθήλιο. Παρατηρήστε ότι τα επιπολής κύτταρα που βλέπουν προς τον αυλό της ουροδόχου κύστεως είναι θολωτά (βέλη), γεγονός που αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα του μεταβατικού επιθηλίου (x125).

βου κυλινδρικού επιθηλίου που επενδύει το έντερο, οι τελικές πλάκες πιστευόταν ότι αποτελούνταν από άμορφη μεσοκυττάρια ουσία. Οριζόντιες τομές μέσω των τελικών πλακών έδειξαν ότι οι εν λόγω πλάκες περιέτρεχαν ολόκληρη της περίμετρο καθενός κυττάρου, μαρτυρώντας ότι αυτά τα κύτταρα προσφύονταν σε όλα τα παρακείμενα κύτταρα. Με την ηλεκτρονική μικροσκοπία διαπιστώθηκε ότι οι τελικές πλάκες στην πραγματικότητα αποτελούνται από πολύπλοκα **συνενωτικά συμπλέγματα** (junctional complexes), τα οποία

διαθέτουν **μόρια κυτταρικής πρόσφυσης** (cell adhesion molecules) που βοηθούν τα παρακείμενα επιθηλιακά κύτταρα να συγκρατούνται μεταξύ τους. Τα συνενωτικά συμπλέγματα διακρίνονται σε τρεις τύπους, οι οποίοι απεικονίζονται σχηματικά στην Εικ. 5-11:

- Οι **αποφρακτικές συνδέσεις** (occluding junctions) έχουν ως λειτουργία τους την σύνδεση των κυττάρων, ώστε να σχηματίζουν αδιάβατο φραγμό, μη επιτρέποντας στις ουσίες να ακολουθήσουν



Αποφρακτικές ζώνες

Εκτείνονται καθ' όλο το μήκος της περιμέτρου του κυττάρου. Δεν επιτρέπουν σε ουσίες να ακολουθήσουν παρακυτταρική οδό για να φθάσουν από τον αυλό στον συνδετικό ιστό

Ζώνες πρόσφυσης

Υπό τις αποφρακτικές ζώνες, Ε-καδερίνες συνδέονται μεταξύ των μέσα στον μεσοκυττάριο χώρο καθώς και με νημάτια ακτίνης ενδοκυτταρίως

Προσφυτικές πλάκες

Με τις πλάκες συνδέονται Ε-καδερίνες. Ενδιάμεσα νημάτια σχηματίζουν αγκύλες σαν φουρκέτες.

Χασματικές συνδέσεις

Αποτελούν συνδέσεις επικοινωνίας μεταξύ κυττάρων, μέσω των οποίων διέρχονται μικρομοριακές ουσίες και ιόντα. Συζευγνύουν μεταβολικώς και ηλεκτρικώς παρακείμενα κύτταρα.

Ημιδεσμοσώματα

Προσφύουν επιθηλιακά κύτταρα στον υποκείμενο βασικό υμένα.

Εικόνα 5-11 Σχηματική απεικόνιση συνενωτικών συμπλεγμάτων, χασματικών συνδέσεων και ημιδεσμοσωμάτων.

μεσοκυττάρια οδό κατά την διέλευσή τους μέσω του επιθηλίου.

- Οι **συνδέσεις αγκυροβολίας** (anchoring junctions) έχουν ως λειτουργία τους την διατήρηση της αλληλοπροσφύσεως των κυττάρων, καθώς και της πρόσφυσης των κυττάρων στον βασικό υμένα τους.
- Οι **συνδέσεις επικοινωνίας** (communicating junctions) έχουν ως λειτουργία τους την διευκόλυνση της μετακίνησης ιόντων και σηματοδοτικών μορίων μεταξύ των κυττάρων, κατ' αυτόν δε τον τρόπο συζευγνύουν παρακείμενα κύτταρα, τόσο από ηλεκτρικής όσο και από μεταβολικής απόψεως.

Τα τρία στοιχεία των συνενωτικών συμπλεγμάτων είναι οι αποφρακτικές ζώνες, οι προσφυτικές ζώνες και τα δεσμοσώματα (προσφυτικά κομβία).

Αποφρακτικές ζώνες

Οι αποφρακτικές ζώνες, που είναι ο μοναδικός τύπος αποφρακτικής σύνδεσης, δεν επιτρέπουν την μετακίνηση μεμβρανικών πρωτεϊνών και έχουν ως λειτουργία τους την αποτροπή της μεσοκυττάριας μετακίνησης υδατοδιαλυτών ουσιών.

Οι αποφρακτικές ζώνες (zonulae occludentes), γνωστές επίσης ως **ερμητικές ή στεγανές συνδέσεις** (tight junctions) εντοπίζονται μεταξύ παρακείμενων κυτταρικών μεμβρανών και αποτελούν την πλέον κορυφαία κείμενη σύνδεση μεταξύ των κυττάρων των επιθηλίων (βλέπε την Εικ. 5-11). Οι εν λόγω συνδέσεις σχηματίζουν μια ζωστήροειδή σύνδεση που περιβάλλει ολόκληρη την περίμετρο του κυττάρου. Οι **προσφυτικές ταινίες** (fasciae adherentes) είναι παρόμοιες συνδέσεις, με τη διαφορά ότι δεν διατρέχουν ολόκληρη την περιφέρεια του κυττάρου" πρόκειται για συγχωνεύσεις που μοιάζουν με κορδέλα, σε σημεία όπου συγχωνεύονται μεταξύ τους τα κύτταρα του ενδοθηλίου των αιμοφόρων αγγείων.

Στις ηλεκτρονικές μικρογραφίες, οι παρακείμενες μεμβράνες συμπλησιάζουν, τα εξωτερικά πέταλά τους συγχωνεύονται, στην συνέχεια αποκλίνουν, για να συγχωνευθούν επανειλημμένως σε πλάτος 0,1-0,3 μm (Εικ. 5-12). Στις θέσεις συγχώνευσης, τα εξωκυττάρια τμήματα των τεσσάρων τύπων διαμεμβρανικών πρωτεϊνών των δύο μεμβρανών, που είναι οι **κλαουδίνες** (claudins), οι **οκκλουδίνες** (occludins), οι **νεκτίνες** (nec-tins) και τα **μόρια πρόσφυσης των συνδέσεων** (JAM, junctional adhesive molecules), αλληλοπροσφύονται σχηματίζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο ταινία που αποφράσσει τον μεσοκυττάριο χώρο. Η ανάλυση με κρυόθραυση των κυτταρικών μεμβρανών στις αποφρακτικές ζώνες δείχνει δαντελωτή διάταξη αναστομωμένων ακρολοφιών, γνωστών ως **ακρολοφιών των στενών συνδέσεων** (tight junction strands), στην P όψη και αντίστοιχου δικτύου αυλάκων (grooves) στην E όψη (Εικ. 5-13). Οι εν λόγω ταινίες στεγανών συνδέσεων είναι τα εξωκυττάρια συστατικά των διαμεμβρανικών

πρωτεϊνών των δύο παρακείμενων μεμβρανών που εφάπτονται η μία στην άλλη προκειμένου να αποφράξουν τον εξωκυττάριο χώρο μεταξύ των δύο κυττάρων.

Μολονότι και οι τέσσερις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες συμβάλλουν τόσο οι οκκλουδίνες όσο και οι κλαουδίνες, φαίνεται ότι οι κλαουδίνες ασκούν πιο ενεργό ρόλο, επειδή είναι οι πρωτεΐνες που πιθανόν αποφράσσουν το μεσοκυττάριο διάστημα σχηματίζοντας τις προαναφερθείσες ακρολοφίες. Ο ρόλος των νεκτινών, των οκκλουδινών και των JAM δεν είναι ακόμη γνωστός. Δεδομένου ότι οι κλαουδίνες δεν εξαρτώνται από το ασβέστιο, οι κλαουδίνες δεν σχηματίζουν ισχυρές συνδέσεις κυττάρων. Ως εκ τούτου, οι επαφές τους χρειάζονται ενίσχυση εκ μέρους **καδερινών** (cadherins) καθώς και εκ μέρους κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών των αποφρακτικών ζωνών, όπως π.χ. οι ZO1, ZO2 και η ZO3. Αυτές οι τέσσερις πρωτεΐνες δεσμεύονται στο κυτταροπλασματικό τμήμα των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών που συμμετέχουν στον σχηματισμό των στεγανών συνδέσεων, καθώς και στα νημάτια ακτίνης του κυτταροσκελετού, παρέχοντας με τον τρόπο αυτό σταθερότητα στη στεγανή σύνδεση.

Οι ερμητικές συνδέσεις λειτουργούν κατά δύο τρόπους: (1) αποτρέπουν την μετακίνηση μεμβρανικών πρωτεϊνών από την κυτταρική μεμβράνη της κορυφαιάς επιφάνειας προς την κυτταρική μεμβράνη των πλαγίων επιφανειών του κυττάρου (και αντιστρόφως) και (2) συνενώνουν τις κυτταρικές μεμβράνες παρακείμενων κυττάρων, αποκλείοντας την διέλευση υδατοδιαλυτών ουσιών μεταξύ των κυττάρων. Αναλόγως με τον αριθμό και τον τρόπο διάταξης των ακρολοφιών στη ζώνη, μερικές στενές συνδέσεις χαρακτηρίζονται ως "στεγανές", ενώ άλλες ως "διαρρέουσες". Οι εν λόγω όροι αντικατοπτρίζουν την επαρκή διατήρηση, εκ μέρους των κυττάρων, του επιθηλιακού φραγμού μεταξύ δύο παρακείμενων διαμερισμάτων του σώματος.

Προσφυτικές ζώνες

Οι προσφυτικές ζώνες αποτελούν ζωνοειδείς συνδέσεις, οι οποίες βοηθούν την πρόσφυση των παρακείμενων κυττάρων μεταξύ των.

Οι προσφυτικές ή συναπτικές ζώνες (zonulae adherentes) αντιπροσωπεύουν έναν από τους τέσσερις τύπους **συνδέσεων αγκύρωσης** (anchoring junctions) των επιθηλιακών κυττάρων, αποτελούν δε τμήμα των ενωτικών συμπλεγμάτων και εντοπίζονται αμέσως υπό τις αποφρακτικές ζώνες και, όπως εκείνες, περιτρέχουν την περίμετρο του κυττάρου (βλέπε την Εικ. 5-11). Ο μεσοκυττάριος χώρος, πλάτους 15-20 nm, μεταξύ των εξωτερικών πετάλων των δύο παρακείμενων κυτταρικών μεμβρανών, καταλαμβάνεται από τα εξωκυττάρια τμήματα των **καδερινών** (cadherins) (βλέπε Εικ. 5-12). Οι εν λόγω Ca^{2+} -εξαρτώμενες ένθετες πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης αποτελούν **διαμεμβρανικές συνδετικές πρωτεΐνες** (transmembrane linker proteins). Η ενδοκυτταροπλασματική όψη τους

ριορίζει τη διαφυγή υλικού, το οποίο τον διατρέχει, προς τον εξωκυττάριο χώρο.

Οι χασματικές συνδέσεις είναι ρυθμιζόμενες και ως εκ τούτου μπορεί να είναι ανοικτές ή κλειστές. Αν και ο μηχανισμός με τον οποίο ανοίγουν ή κλείνουν παραμένει άγνωστος, έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι η πτώση του pH της κυτοσόλης ή η αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} στην κυτοσόλη προκαλεί σύγκλιση των διαύλων. Αντιθέτως, το υψηλό pH ή η χαμηλή συγκέντρωση Ca^{2+} έχουν ως αποτέλεσμα την διάνοιξη των διαύλων. Επιπροσθέτως, διάφορες χασματικές συνδέσεις διαθέτουν διαφορετικές ιδιότητες με ποικίλη διαβατότητα σε διαφορετικά είδη κυττάρων. Οι χασματικές συνδέσεις ασκούν πολλές, ποικίλης φύσεως λειτουργίες μέσα στο σώμα. Σε αυτές τις λειτουργίες περιλαμβάνεται η από κοινού χρήση, εκ μέρους κυττάρων, ουσιών για τον συντονισμό λειτουργιών, εντός συγκεκριμένου ιστού. Παραδείγματος χάριν, όταν χρειάζεται γλυκόζη στο αίμα, το νευρικό σύστημα επιτάσσει στα ηπατοκύτταρα την εκ μέρους των ενάρξη της αποδόμησης γλυκογόνου. Επειδή δεν επιτελείται διέγερση καθενός ηπατοκυττάρου χωριστά, η εντολή διαχέεται προς άλλα ηπατοκύτταρα μέσω χασματικών ενώσεων, γεγονός που κατ' αυτόν τον τρόπο συντονίζει τα ηπατοκύτταρα. Οι χασματικές συνδέσεις συμβάλλουν επίσης στην ηλεκτρική σύζευξη κυττάρων (π.χ. στον καρδιακό μυ και στα λεία μυϊκά κύτταρα του εντέρου κατά τις περισταλτικές κινήσεις), γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τον συντονισμό των λειτουργιών αυτών των κυττάρων. Οι χασματικές συνδέσεις ασκούν επίσης σημαντική λειτουργία κατά την εμβρυογένεση μέσω της ηλεκτρικής σύζευξης των κυττάρων του αναπτυσσόμενου εμβρύου καθώς επίσης μέσω της κατανομής πληροφοριοδοτικών ουσιών στις ομάδες μεταναστευόντων κυττάρων, τα βοηθούν να τηρήσουν την δέουσα αναπτυξιακή οδό. Οι μεταλλάξεις των γονιδίων που κωδικοποιούν τις κωννεξίνες μπορεί να προκαλέσουν μια X-φυλοσύνδετη μορφή του συνδρόμου Charcot-Marie-Tooth.

Εξειδικεύσεις της Βασικής Επιφάνειας

Στις εξειδικεύσεις της βασικής επιφάνειας περιλαμβάνεται ο βασικός υμένας, οι αναδιπλώσεις της κυτταρικής μεμβράνης και τα ημιδεσμοσώματα.

Η βασική επιφάνεια των επιθηλίων παρουσιάζει τρία σημαντικά χαρακτηριστικά: 1) τον βασικό υμένα, 2) τις αναδιπλώσεις της κυτταρικής μεμβράνης και 3) τα ημιδεσμοσώματα, μέσω των οποίων η βασική κυτταρική μεμβράνη αγκυροβολεί στον βασικό υμένα. Στο όριο μεταξύ του επιθηλίου και του υποκειμένου συνδετικού ιστού παρεμβάλλεται μια εξωκυττάρια υποστηρικτική δομή, εκκρινόμενη από το επιθήλιο, ο **βασικός υμένας** (basal lamina). Η δομή και η μορφή του βασικού υμένα περιγράφονται στο Κεφάλαιο 4.

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Έχουν συσχετισθεί μεταλλάξεις των γονιδίων που ελέγχουν τις κωννεξίνες με την γενετικής βάσεως **μη εντασσόμενη σε σύνδρομο κώφωσης** (nonsyndromic deafness) και με μια δερματοπάθεια, την **ποικίλλουσα ερυθροκερατοδερμία** (erythrokeratoderma variabilis). Επιπροσθέτως, η ελαττωματική μετανάστευση κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας κατά την διάρκεια της ανάπτυξης έχει συσχετισθεί με μεταλλάξεις των γονιδίων των κωννεξινών, με συνέπεια διαμαρτίες των πνευμονικών αγγείων της καρδιάς.
2. Ορισμένες καρδιακές αρρυθμίες (cardiac arrhythmias) αποδίδονται σε ανωμαλίες των χασματοσυνδέσεων. Σε ορισμένα κύτταρα του κοιλιακού μυοκαρδίου, ο **αριθμός των χασματοσυνδετικών πλακών** (gap junction plaques) και οι **κυτταρικές θέσεις** των πλακών αυτών διαφέρουν, σε σύγκριση με τα φυσιολογικά κύτταρα του κοιλιακού μυοκαρδίου. Ειδικότερα, οι χασματοσυνδετικές πλάκες, αντί να βρίσκονται στα άκρα των κυττάρων, εντοπίζονται στις πλευρικές περιοχές της κυτταρικής μεμβράνης.

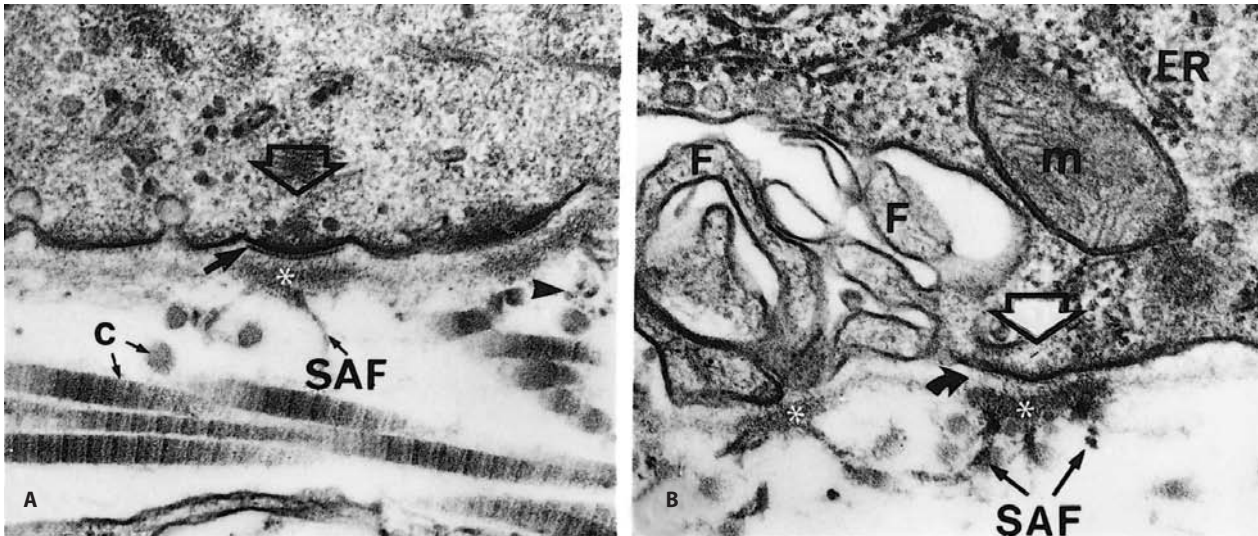
Αναδιπλώσεις της κυτταρικής μεμβράνης

Οι αναδιπλώσεις της κυτταρικής μεμβράνης της βάσεως του κυττάρου αυξάνουν την διατιθέμενη για μεταφορά ουσιών επιφάνεια.

Η βασική επιφάνεια μερικών επιθηλίων, ιδιαιτέρως εκείνων που συμμετέχουν στην μεταφορά ιόντων, παρουσιάζει πολλαπλές αναδιπλώσεις της βασικής κυτταρικής μεμβράνης, οι οποίες αυξάνουν το εμβαδόν του πλασμαλήμματος και διαχωρίζουν το πλούσιο σε μιτοχόνδρια κυτταρόπλασμα της βασικής μοίρας του κυττάρου. Οι εν λόγω αναδιπλώσεις, που αυξάνουν το εμβαδόν της κυτταρικής μεμβράνης, χωρίζουν το κυτταρόπλασμα της βασικής μοίρας του κυττάρου και πολλά μιτοχόνδρια σε δακτυλοειδείς πτυχές. Τα μιτοχόνδρια προμηθεύουν την ενέργεια που απαιτείται για την ενεργητική μεταφορά ιόντων, ώστε να εγκαθιδρυθεί ωσμωτικό πρηνές, που θα εξασφαλίσει την ροή ύδατος μέσω του επιθηλίου, όπως εκείνα των ουροφόρων σωληναρίων του νεφρού. Τα διαμερίσματα των αναδιπλωμένων κυτταρικών μεμβρανών μαζί με την διάταξη των μιτοχονδρίων μέσα στις πτυχές παρουσιάζουν πασσαλοειδή όψη όταν εξετάζονται με το φωτομικροσκόπιο – εξ ου και ο όρος **γραμμωτοί εκφορητικοί πόροι** (striated ducts) για ορισμένους εκφορητικούς πόρους του παγκρέατος και των σιαλογόνων αδένων.

Ημιδεσμοσώματα

Η κυτταρική μεμβράνη της βάσεως του κυττάρου προσφύεται στο υποκείμενο βασικό πέταλο με τα ημιδεσμοσώματα, τα οποία έχουν ισχυρές προσφυτικές ιδιότητες.



Εικόνα 5-16 Ηλεκτρονικές μικρογραφίες ημιδεσμοσωμάτων απεικονίζουσες την σχέση των γραμμωτών ινών αγκυροβολίας (SAF), αποτελούμενων από κολλαγόνο τύπου VII, με το πυκνό πέταλο και το κολλαγόνο τύπου III του δικτυωτού πετάλου. C: Κολλαγόνες ίνες, ER: τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο, F: κυτταρικές προεκβολές. Οι λευκές αιχμές βελών δείχνουν την κυτταροπλασματική όψη των δεσμοσωμάτων. Οι αστερίσκοι δείχνουν πλάκες SAF. (Από το άρθρο των Clermont Y, Xia L, Turner JD, Hermo L: Striated anchoring fibrils-anchoring plaque complexes and their relation to hemidesmosomes of myoepithelial and secretory cells in mammary glands of lactating rats. *Anat Rec* 237:318-325, 1993.). Ανατύπωση με άδεια της Wiley-Liss Inc., θυγατρικής της John Wiley & Sons, Inc.)

Τα **ημιδεσμοσώματα** (hemidesmosomes) απαντούν σε δύο τύπους, τα **κλασικά ημιδεσμοσώματα του τύπου I** (classical, type I hemidesmosomes) και τα **ημιδεσμοσώματα του τύπου II** (type II hemidesmosomes), τα οποία αμφότερα ομοιάζουν με μισό δεσμοσώμα και χρησιμεύουν στη μόνιμη στερέωση, για μεγάλο χρονικό διάστημα, της μεμβράνης της βάσεως του κυττάρου στο βασικό πέταλο (Εικ. 5-16, βλ. Εικ 5-11).

Το **ημιδεσμοσώμα του τύπου I** (type I hemidesmosome) έχει πιο πολύπλοκη δομή από εκείνο του τύπου II και βρίσκεται στις βασικές στιβάδες των πολύστιβων πλακωδών επιθηλίων, καθώς και στις βασικές κυτταρικές μεμβράνες των κυττάρων που περιλαμβάνονται σε ψευδοπολύστιβα επιθήλια. Τα ημιδεσμοσώματα του τύπου I αποτελούνται από πολλά δομικά στοιχεία.

Τα ενδοκυτταρικά συστατικά, αρχίζοντας από το πλασμάλημα, περιλαμβάνουν:

- πλήθος **μορίων ιντεγκρίνης αββ4** (αββ4 integrin molecules), σε στενή γειτνίαση μεταξύ τους,
- **τονονημάτια** (tonofilaments), δηλαδή **διάμεσα νημάτια κερατίνης-5** και **κερατίνης-14** (keratin-5 and keratin-14 intermediate filaments)
- **πρωτεΐνες πλακίνες** (plakin proteins), που περιλαμβάνουν το **αντιγόνο 230 του πομφολυγώδους πεμφιγοειδούς (BP230, bullous pemphigoid antigen 230)** και την **πλεκτίνη** (plectin), οι οποίες δεσμεύονται στα τονονημάτια καθώς και στην κυτταροπλασματική πλευρά των μορίων ιντεγκρίνης αββ4,

- μόρια **ερμπίνης** (erbin) που διευκολύνουν τη δέσμευση των μορίων ιντεγκρίνης αββ4 στο BP230,
- **πρωτεΐνη 151 του συμπλέγματος διαφοροποίησης (CD 151, cluster of differentiation protein 151)** η οποία δεσμεύεται ενδοκυτταρικά στο συστατικό **αβ** των μορίων ιντεγκρίνης και στρατολογεί άλλα μόρια ιντεγκρίνης αββ4 στην περιοχή, προκειμένου να διασφαλισθεί η κατάλληλη συγκέντρωση των εν λόγω μορίων ιντεγκρίνης για τον σχηματισμό του ημιδεσμοσώματος.

Όλες οι παραπάνω δομές από κοινού σχηματίζουν μια πυκνή **ενδοκυτταροπλασματική πλάκα** (intracytoplasmic plaque), η οποία είναι ορατή στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Τα εξωκυττάρια συστατικά, αρχίζοντας από το πλασμάλημα, περιλαμβάνουν:

- τις εξωκυτταρικές δομικές περιοχές των **μορίων ιντεγκρίνης αββ4** (αββ4 integrin molecules),
- το **αντιγόνο 180 του πομφολυγώδους πεμφιγοειδούς (BP180, bullous pemphigoid antigen 180)**, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη (γνωστή και ως **κολλαγόνο τύπου XVII**), της οποίας το ενδοκυτταρικό τμήμα δεσμεύεται στην **ενδοκυτταρική μοίρα** του συστατικού αβ των μορίων ιντεγκρίνης, καθώς και στην **πλεκτίνη** (plectin). Εξωκυτταρικά, δεσμεύεται στην **εξωκυτταρική μοίρα** του συστατικού αβ των μορίων ιντεγκρίνης, καθώς και στη **λαμινίνη** (laminin) και στο **κολλαγόνο τύπου IV** (type IV collagen) του **βασικού πετάλου** (basal lamina).

Τα **ημιδεσμοσώματα του τύπου II** (type II hemidesmo-