

# 13

## CICLUL CELULAR

Organismele vii sunt compuse din celule, a căror creștere și diviziune necesită succesiunea programată a unor evenimente și procese care formează *ciclul celular*. Unele din aceste procese sunt continue, ca de exemplu sinteza proteinelor sau a lipidelor. Altele, de exemplu sinteza ADN, din contra, sunt procese discontinue și depind de procesul de diviziune celulară. Fiecare ciclu celular cuprinde două perioade dinamic și calitativ distincte: *interfaza* și *mitoza* (fig.13.1). Se accentuează că procesul multiplicării celulare are la origine replicarea ADN-ului cromozomial, replicare care are loc în perioada interfazică S.

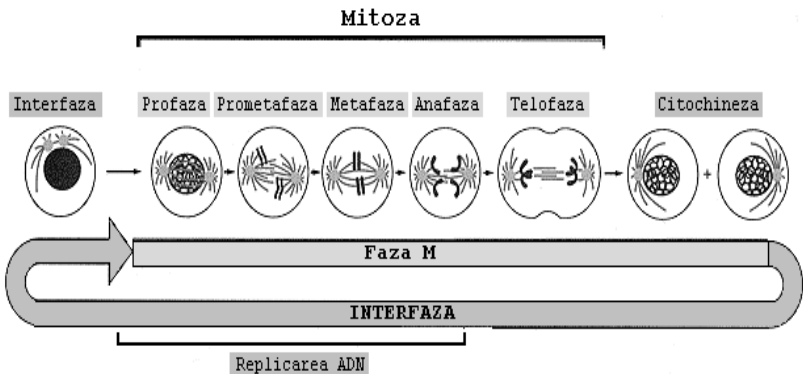


Fig. 13.1. Etapele ciclului celular

## Interfaza

Interfaza ocupă cea mai mare parte din durata ciclului celular (90%), constituie perioada în care celula desfășoară o susținută activitate biosintetică (sinteza de ADN, ARN, proteine), asigurând condițiile necesare realizării diviziunii celulare. În cadrul acestei etape au fost descrise trei perioade distincte:

- **Perioada G1** – perioada presintetică sau postmitotică, se caracterizează prin:
  - intensificarea transcripției și a proteosintezei, procese aproape blocate în perioada mitotică;
  - decondensarea cromatinei – proces important pentru activarea transcripției genelor;
  - reorganizarea nucleolilor;
  - cromozomii sunt monocromatidieni și se caracterizează prin set diploid ( $2n = 2c$ ).
- **Perioada S** – perioada sintetică, se caracterizează prin:
  - replicarea semiconservativă asincronă a moleculelor de ADN;
  - dublarea cantității de ADN ;
  - cromozomi bicromatidieni ( $2n = 4c$ );
  - sinteza simultană de proteine histone și nehistone implicate în sinteza și compactizarea ADN;
  - dublarea centriolilor (fig. 13.2).
- **Perioada G2** – perioada postsintetică sau premitotică – care se caracterizează prin:
  - transcripția și sinteza proteinelor cu aceeași intensitate ca și în G1, asigurându-se condițiile necesare intrării celulei în mitoză.

## Mitoza și citochineza

Diviziunea celulară debutează prin *diviziunea nucleară* sau *mitoza*, se încheie cu *diviziunea citoplasmei* sau *citochineza*.

Mitoza și citochineza ocupă o scurtă perioadă de timp (10%) din durata desfășurării ciclului celular, numită perioada mitotică (M). Mitoza, odată declanșată, este un proces continuu. Dar pentru studiu și descriere, a fost împărțită în patru etape: profaza, metafaza, anafaza și telofaza.

**Profaza.** Se caracterizează prin prezența în nucleu a cromozomilor bicromatidieni ( $2n=4c$ ). Aceste cromatide, unite la nivelul centromerului, reprezintă imaginea citologică a procesului chimic de replicare a ADN-ului. Cromozomii se condensează puternic, se îngroașă și devin vizibili. Pe ambele părți ale centromerilor se maturizează câte un *kinetocor*. La sfârșitul profazei nucleolul dispare iar membrana nucleară disociază. Concomitent se organizează aparatul de diviziune: centriolii se deplasează spre polii opuși ai celulei, se formează fusul de diviziune prin asamblarea microtubulilor.

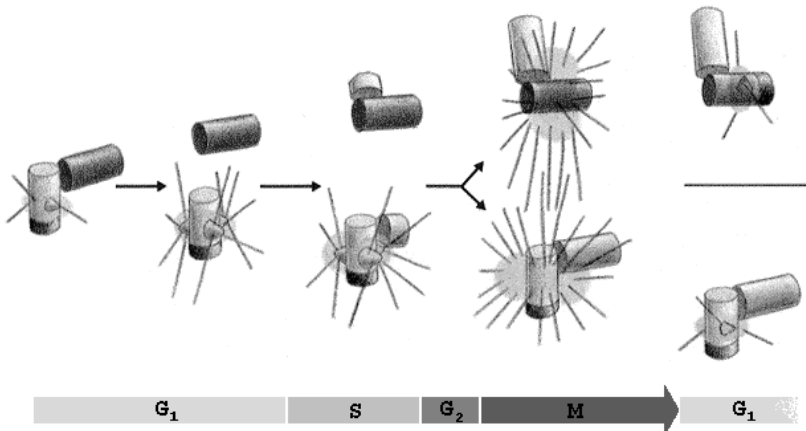


Fig. 13.2. Ciclul centriolilor

### Capitolul 13

**Metafaza.** Firele fusului de diviziune unesc centriolii și cromozomii prin intermediul kinetocorilor. Cromozomii sunt dispuși în plan ecuatorial, formând placa ecuatorială. La această fază cromozomii sunt maximal condensați și prezintă forma optimă pentru studiul citologic.

**Anafaza.** Începe prin clivarea longitudinală a centromerului fiecărui cromozom, separarea celor două cromatide surori și migrarea lor simultană spre polii opuși ai celulei (fig. 13.3). La această fază cromozomii devin monocromatidieni, iar celula are un set tetraploid de cromozomi ( $4n = 4c$ ).

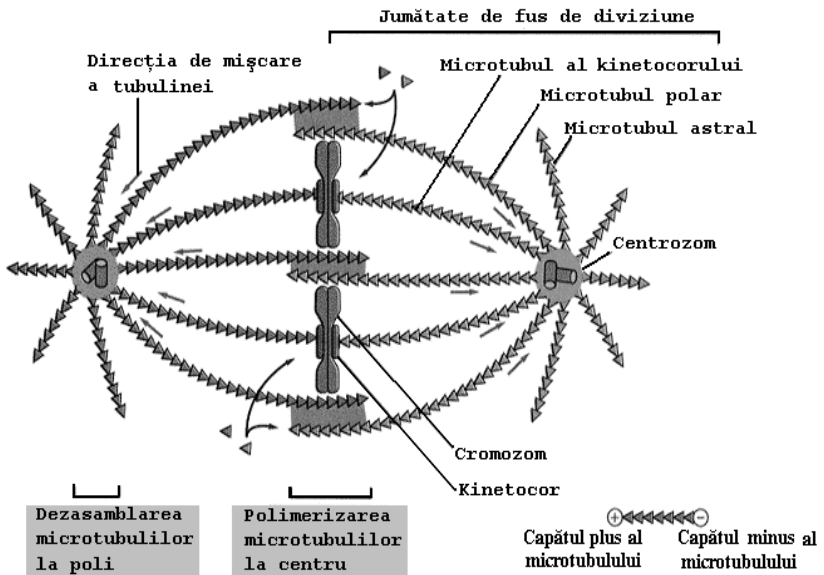


Fig. 13.3. Mecanismul mișcării filamentelor fusului de diviziune

**Telofaza.** În telofază se încheie migrarea cromozomilor fii către polii celulei, fiecare pol conținând  $2n$  cromozomi monocromatidieni (set diploid). Începe decondensarea progresivă a cromozomilor și revenirea la starea cromatinei

interfazice a materialului ereditar. Fibrele fusului acromatic disociază. Se reassemblează membrana nucleară în jurul fiecărui grup de cromozomi. Reapar nucleolii.

**Citochineza** definește fenomenul de diviziune, în care are loc separarea masei citoplasmatică în două jumătăți și a organelor citoplasmatică în cele două celule. La celulele animale diviziunea citoplasmatică se realizează prin clivare.

Fiecare celulă fiică moștenește în urma citochinezei un set de componente celulare. Deoarece, cu excepția nucleului, organele celulare nu se pot duplica în absența unei copii preexistente, în celula parentală are loc dublarea constituenților celulari înaintea declanșării citochinezei. Duplicarea organelor celulare se realizează prin mecanisme diferite. Mitocondriile cresc și se divid prin fisiune semiautonom. Aparatul Golgi și RE se fragmentează în vezicule din care vor fi constituite noile organele celulare, în timp ce ribozomii se multiplică prin asamblarea elementelor constituente (ARNr și proteine ribozomale). Se apreciază că celula nu dispune de un mecanism specializat de distribuire a organelor celulare, astfel încât celulele fiice nu sunt identice după conținutul citoplasmatic. Totodată replicarea ADN în interfază și mitoză asigură formarea celulelor identice genetic atât între ele cât și cu celula mamă.

Diviziunea mitotică stă la baza înmulțirii celulelor somatice, asigură creșterea organismului pluricelular, determină biomasa organismului și regenerarea țesuturilor.

## **Reglarea ciclului celular**

**Durata ciclului celular** este variabilă în funcție de specie și tip celular, ba chiar și pentru celulele aceluiași țesut. Există celule în organism care se divid foarte rapid, parcurgând întregul ciclu celular în 8 ore, pe când altele se divid rar, cu ciclul celular de 100 zile sau chiar mai mult. La eucariotele

### *Capitolul 13*

superioare ciclul celular durează 10-25 ore, din care diviziunea celulară durează o oră. Perioada G1 are durata cea mai variabilă, în timp ce perioada S este cea mai constantă pentru un anumit tip celular.

După ce au depășit perioada G1, timpul necesar pentru perioada S și G2, deci până la începutul diviziunii este foarte constant pentru diferite celule. De aceea s-a introdus noțiunea de **punct de restricție (punct R)** pentru momentul imediat, urmat de sfârșitul perioadei G1, care trebuie depășit pentru ca celula să poată parcurge etapele următoare ale ciclului celular (fig. 13.4).

Un **alt punct de restricție** se află spre sfârșitul perioadei G2. Inhibarea sintezei proteinelor în această fază împiedică intrarea celulei în mitoză. Se consideră că o proteinkinază solubilă (o enzimă ce catalizează fosforilarea proteinelor) este activată spre sfârșitul perioadei G2 și acționează asupra proteinelor din lamina nucleară și asupra histonelor H1. Fosforilarea proteinelor din lamina nucleară induce dezamblarea învelișului nuclear, pe când fosforilarea histonelor H1 produce condensarea cromozomilor, fenomen caracteristic mitozei.

#### **Reglarea succesiunii evenimentelor ciclului celular**

Acuratețea proceselor de replicare și segregare a ADN depinde de succesiunea evenimentelor ciclului celular într-o ordine strictă, astfel încât, declanșarea unui nou eveniment să survină doar în urma încheierii complete a evenimentului precedent.

Există mecanisme și factori reglatori, ce controlează trei evenimente cheie ale ciclului celular:

- inițierea sintezei ADN este controlată de complexul **activator al perioadei S;**

- derularea replicării materialului genetic nuclear este controlat de alt *factor* – *semnal de întârziere a perioadei mitotice*;
- declanșarea procesului mitotic, în care are loc segregarea materialului genetic, este dirijată de *factorul de activare a mitozei (M-phase promoting factor: MPF)*.

### Factorii de creștere

S-au descris *mitogene* specifice ca: eritropoietina, factorii de creștere ai unor celule (nervilor, fibroblastelor), poliamine (putrescina), hormoni (în special estrogenii). Există și factori tisulari, care inhibă diviziunile celulare cum sunt chalonele (peptide sau glicoproteine) (tab. 13.1).

Tabelul 13.1. Factorii de creștere și acțiunea lor asupra celulelor țintă

FACTORII DE CREȘTERE	ACȚIUNEA ASUPRA CELULELOR ȚINTĂ
Factorul de creștere epidermal – EGF	Stimulează proliferarea mai multor tipuri celulare
Factori de creștere de tip insulenic – IGF1, IGF2	Stimulează proliferarea adipocitelor și a celulelor din țesutul conjunctiv
Factorul de creștere a fibroblaștilor – FGF	Stimulează proliferarea: fibroblaștilor, celulelor endoteliale și mioblaștilor
Factorul de creștere neuronal – NGF	Induce creștere axonală și viabilitatea neuronilor simpatici și senzori
INTERLEUKINA 2 – IL2	Stimulează proliferarea limfocitelor T
INTERLEUKINA 3 – IL3	Stimulează proliferarea celulelor Stem și a majorității celulelor precursorale ale multor celule diferențiate
ERITROPOIETINA	Stimulează proliferarea celulelor precursorale ale eritrocitelor
Factori de stimulare a coloniilor granulocitare – G-CSF	Stimulează proliferarea: celulelor precursorale ale macrofagelor și granulocitelor, neutrofilelor
Factori de stimulare a coloniilor de macrofage – M-CSF	Stimulează proliferarea celulelor precursorale ale macrofagelor și granulocitelor

## Capitolul 13

Competiția celulelor pentru factorii de creștere menține constantă densitatea populației celulare. În momentul în care densitatea populației celulare depășește o valoare prag, concentrația factorilor de creștere scade și în consecință diviziunea celulară este oprită.

### Ciclurile

Descoperirea *ciclurilor* și a *protein-kinazelor* dependente de ciclurile (*cdk*) a permis interpretarea corectă a mecanismelor ce reglează ciclul celular.

Ciclurile reprezintă un grup restrâns de proteine a căror sinteză se realizează într-un mod dependentă de perioadele ciclului celular. Ele activează *cdk*, formând cu acestea complexe ce prezintă activitate kinazică. Pe parcursul formării complexelor, ciclurile induc modificări conformaționale și de locație a cdk ceea ce conferă acestora specificitate în folosirea diferitelor substraturi. Specificitatea activității catalitice a complexelor ciclina /cdk stă la baza parcurgerii de către celulă a ciclului celular.

Evenimentele ce marchează intrarea celulei în perioada mitotică sunt rezultatul fosforilării directe sau indirecte a unor proteine de către MPF. Prin fosforilarea laminelor nucleare, MPF declanșează dezorganizarea membranei nucleare. Fosforilarea histonei H1, proces ce inițiază condensarea cromatinei, este catalizată de proteinkinază, enzimă activată prin fosforilare de către MPF. Se consideră că un mecanism indirect similar de fosforilare stă la baza asamblării fusului de diviziune. Ciclurile și protein-kinazele dependente de ciclurile constituie componentele motorului ciclului celular (fig. 13.4).

Ciclurile se clasifică în trei grupe (fig. 13.5):

1. ciclurile perioadei G1 – ciclurile D și E;
2. ciclurile perioadei S – ciclina A;
3. ciclurile perioadei G2 – ciclina B.



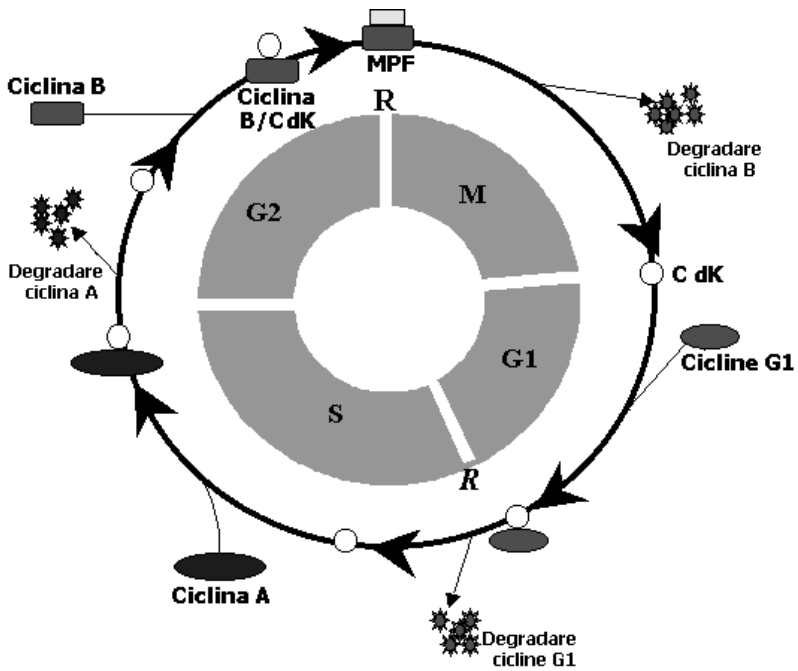


Fig. 13.4. Reglarea ciclului celular

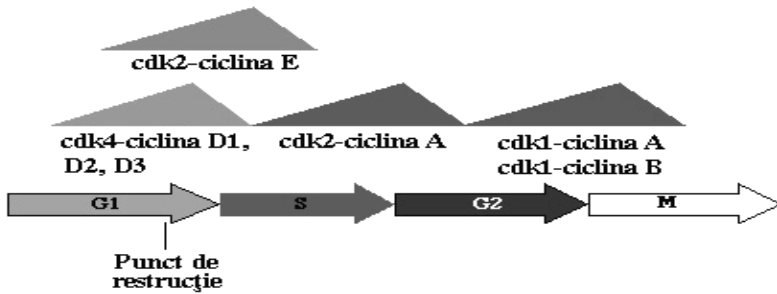


Fig. 13.5. Activitatea ciclinelor în ciclul celular

## Gene implicate în controlul ciclului celular

Organismele multicelulare și-au dezvoltat sisteme complexe de comunicare între celulele care le alcătuiesc. Prin intermediul acestor sisteme se asigură reglarea dezvoltării și organizării țesuturilor, controlul creșterii și proliferării, coordonarea activității celulelor, țesuturilor și organelor. Sunt descrise două clase principale de gene care codifică proteine implicate în reglarea ciclului celular: protooncogenele și genele supresoare de tumori (antioncogene).

**Protooncogenele** reprezintă o clasă eterogenă de secvențe de ADN, aflate în celulele normale, ale căror funcții se exercită în cadrul proceselor de creștere, proliferare și diferențiere celulară. Acestea codifică factori de creștere, receptori ai factorilor de creștere, ciclina și alți mitogeni. Protooncogenele sunt active în celulele embrionare, iar la adult – doar în celulele țesuturilor proliferative (celulele epiteliale, celulele hematopoezei). Prin mutații, eveniment accidental, protooncogenele se pot transforma în oncogene (de ex., c-bcl, c-myc, c-ras, c-jun etc.). Oncogena este, deci, forma anormală, activată, a unei protooncogene, care se caracterizează prin capacitatea de a induce și/sau promova proliferarea anormală (în exces) – caracter specific celulelor canceroase.

**Genele supresoare de tumori (GST)** au roluri cruciale în fiziologia celulelor. Producția lor proteici alcătuiesc rețele de semnalizare intracelulare cu funcții diametral opuse celor pe care le îndeplinesc rețelele formate din proteinele codificate de protooncogene. GST funcționează inhibând proliferarea și diferențierea celulară. Unele GST codifică factori proteici ce controlează replicarea și reparația ADN și stopează intrarea celulei în mitoză atât timp cât aceste procese nu iau sfârșit. Pierderea sau inactivarea GST (de ex., prin hipermetilarea unor secvențe ADN reglatoare ale unor unități transcripționale)

conferă celulelor capacitatea proliferării autonome (de ex., p53, Rb).

### Adeziunea celulară

La majoritatea celulelor organismelor vertebrate, formarea adeziunilor intercelulare și celula-matrice este o condiție importantă în depășirea punctului de restricție. După intrarea în perioada sintetică, până la încheierea mitozei, celulele pierd parțial legăturile ce le stabilizează în țesut și se rotunjesc (fig.13.6).

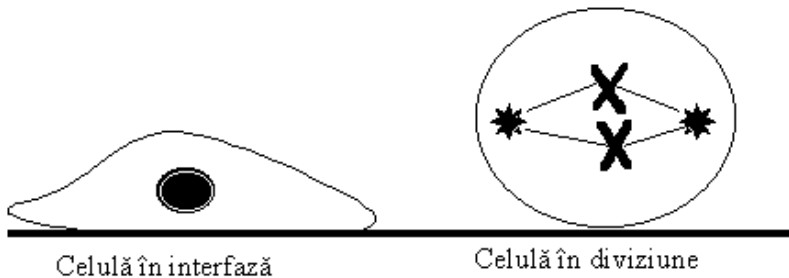


Fig. 13.6. Configurația celulelor în diferite etape ale ciclului celular

S-a constatat că celulele cultivate în suspensie, supuse unei agitări permanente, devin sferice și își pierd capacitatea proliferativă, fenomen numit dependență de ancorare a diviziunii celulare.

### Evoluția celulelor după diviziune

În dependență de perioada ontogenetică și tipul țesutului după diviziune celulele pot avea o evoluție diferită, controlată genetic. Celulele țesuturilor proliferative se divid intens, producând populații noi de celule. Alte celule părăsesc ciclul celular pentru o diferențiere (specializare) terminală și rămân într-o perioadă de activitate metabolică de susținere  $G_0$ . Celulele

### **Capitolul 13**

care și-au epuizat programul de supraviețuire sunt eliminate din țesut prin apoptoză. Pe lângă proliferare și diferențiere, în organism, celulele a căror funcție este epuizată, sunt înlăturate și înlocuite de celule tinere. Procesul de înlăturare este un proces fiziologic și a fost denumit **apoptoză** sau **moarte celulară programată**.

#### **Diferențierea celulară**

Toate celulele unui organism pluricelular pornesc de la o celulă **zigot** cu setul de gene capabil să asigure creșterea și dezvoltarea unui organism complex format din diferite țesuturi. Replicarea ADN și mitoză asigură transmiterea aceleași informații genetice tuturor celulelor care vor rezulta din diviziunea zigotului. În diferite perioade ontogenetice celulele își modifică aspectul, compoziția și ca rezultat – funcțiile. Diferite celule se deosebesc între ele prin setul de proteine necesare pentru activitatea celulei și setul specializat de proteine necesare pentru îndeplinirea unor funcții specifice țesutului dat. De exemplu, în celulele dermului se sintetizează keratină, în eritrocite – hemoglobina, în celulele intestinului – fermenți digestivi, în celulele retinei – opsine etc. Conținutul diferențiat de proteine în diferite celule este determinat de expresia diferențiată a genelor în timp și spațiu. Astfel, diferențierea celulară este determinată de “conectarea” sau “deconectarea” unor gene cu expresie diferențiată în timp și spațiu.

#### **Apoptoza**

Homeostazia tisulară necesită un echilibru între moartea și proliferarea celulară. În general, sinuciderea celulară este activată pentru a elimina selectiv celulele devenite indezirabile (“nedorite”). Acestea pot fi: celule lezate sau senescente (polinucleare acumulate la nivelul situsului inflamator), celule

recunoscute ca străine sau preneoplazice (a căror apoptoză este indusă de celule citotoxice) sau celule care au pierdut contactul cu mediul lor înconjurător (de exemplu, celulele epidermice, care au migrat, în urma unui traumatism în țesutul subcutanat), sau celule în exces care intră în competiție cu alte celule pentru un semnal inhibitor.

S-a demonstrat că apoptoza are loc în:

- cursul dezvoltării normale a embrionului;
- regresia organelor la larve în timpul metamorfozei;
- pierderea celulelor din spațiul interdigital al mâinii la embrionul uman;
- eliminarea celulelor senescente sau lezate din țesuturi;
- eliminarea celulelor transformate (canceroase);
- în sistemul imun - prin apoptoză se realizează îndepărtarea unor clone limfocitare și selecția altora.

Fiecare celulă primește multiple semnale (hormoni, citokine) prin intermediul receptorilor specifici. Aceste semnale pot induce intrarea celulei în ciclul celular sau în apoptoză. De exemplu, glucocorticoizii sau ionoforul de  $\text{Ca}^{2+}$  induc apoptoza în timocite. Acest proces este inhibat prin activarea protein-kinazei C de către un ester forbol sau de către IL1. Alterarea unui receptor specific ar putea determina apariția unei clone maligne, dezechilibrând această relație între semnalele inductoare și repressoare ale apoptozei și ale proliferării.

Caracteristica esențială a apoptozei este reprezentată de clivajul ADN dublu-catenar la nivelul *linker*-ilor intranucleozomici (fig.13.7).

Modificările din nucleu ce afectează în principal moleculele de ADN, sunt produse în urma activării sau inducției unei endonucleaze care este dependentă de ionii de  $\text{Ca}^{2+}$  și  $\text{Mg}^{2+}$ . Această enzimă este prezentă în mod constitutiv, în unele tipuri de celule (timocitele din cortex), însă ea apare indusă în alte tipuri de celule. Această endonuclează clivează ADN

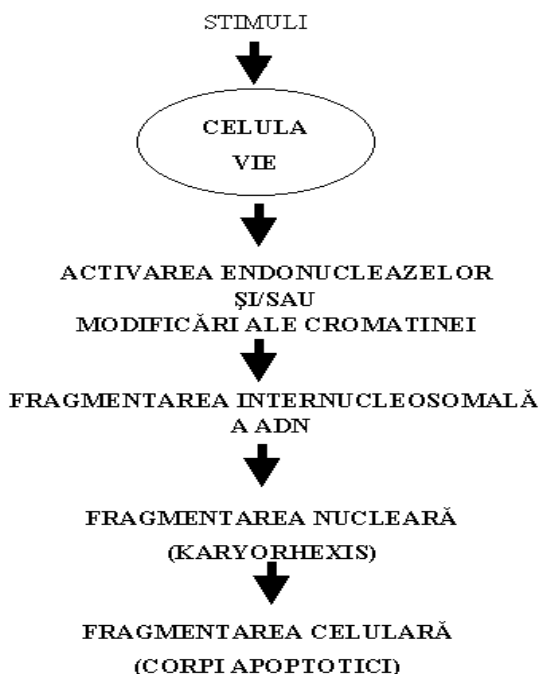


Fig. 13. 7. Schema evenimentelor din apoptoză internucleozomal, dând naștere la o serie de fragmente formate din 180-200 perechi de baze.

După clivarea ADN urmează fragmentarea nucleului urmată de fragmentarea celulei și formarea *corpilor apoptotici*. Aceștia sunt fagocitați de celulele vecine sau de limfocte. Fagocitarea corpilor apoptotici se realizează în urma recunoașterii de către celulele fagocitare a noilor molecule, care sunt expuse pe suprafața membranei corpilor apoptotici (de ex., glicani bogăți în reziduuri de N-acetil- glucozamină). În mecanismul declanșării acestui proces au fost identificate o serie de gene. Din categoria acestor gene s-a demonstrat rolul a două grupuri principale: oncogenele (*myc*, *ras*, *bcl-2*) și unele gene

supresoare ale creșterii tumorale (p53) care pot fi implicate în inițierea sau blocarea apoptozei.

Unele proto-oncogene (c-bcl-2) blochează specific moartea fiziologică a celulei (apoptoza). Supraexpresia oncogenelor mutante c-ras poate produce același efect blocant, chiar dacă celulele au fost expuse la diferiți factori de creștere, la care ele sunt sensibile și care în condiții normale ar fi condus la moartea lor prin apoptoză. În schimb, gena supresoare a creșterii tumorale, p53, are un efect opus, ea induce apoptoza în celulele susceptibile.

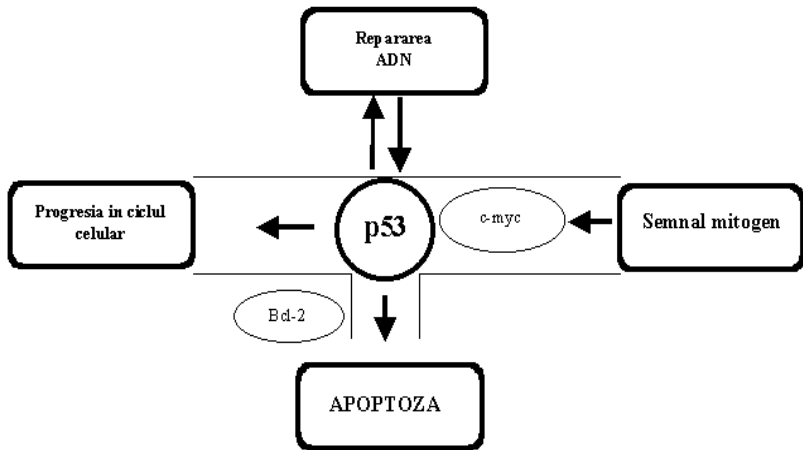


Fig. 13.7. Reglarea apoptozei

### Apoptoza și senescentă

În timpul îmbătrânirii (senescentei), s-a observat în majoritatea organelor o scădere a numărului de celule, ca rezultat al încetinerii ritmului de creștere a celulelor și al eliminării lor prin apoptoză. Acestea ar putea fi consecințe ale unei deficiențe de factori de creștere, a unor anomalii de

### *Capitolul 13*

transmitere a semnalelor inter- și intracelulare și a modificării ciclului celular. Apoptoza intervine în eliminarea celulelor senescente alterate. Dacă apoptoza este perturbată, poate fi antrenată eliminarea celulelor sănătoase și păstrarea celulelor anormale.

Deci, în cursul îmbătrânirii apoptoza ar permite eliminarea celulelor cu funcționare deficitară – apoptoza normală. Mecanismele reglatoare ale apoptozei ar fi activate de către o leziune celulară incompatibilă cu supraviețuirea celulei.

În alt caz, activarea aceluiași mecanisme va avea drept consecință dispariția celulelor normale – apoptoza abuzivă. De exemplu, diminuarea progresivă a sintezei anumitor factori de creștere și/sau de supraviețuire o dată cu vârsta nu ar permite menținerea decât a unei populații celulare din ce în ce mai redusă numeric.

În alte cazuri, mecanismele de control ale apoptozei ar fi ele înseși afectate de îmbătrânire și activarea lor ar putea determina deleția neadecvată a celulelor normale – apoptoză aberantă. Activarea inoportună și/sau disfuncția mecanismului apoptotic ar contribui la moartea celulară în exces, fenomen caracteristic senescenței.

### **Verificarea cunoștințelor:**

1. Definiți noțiunile: ciclu celular, mitoză, interfază, kinetocor, punct de restricție, ciclone, factor de creștere, apoptoză.
2. Care sunt perioadele ciclului celular?
3. Ce procese au loc în interfază?
4. Care este durata ciclului celular?
5. Ce factori controlează evenimentele din interfază?
6. Ce factori induc mitoză?
7. Care este rolul biologic al mitozei?
8. Care este soarta celulelor după diviziune?
9. În ce constă rolul biologic al apoptozei?