

THE CONTRIBUTION OF THE ROMANIAN RESEARCHERS TO DISCOVERING THE ULTRASTRUCTURE OF PANCREATIC POROSOMS

MONICA-GABRIELA VATAVU

West University of Timisoara, Faculty of Chemistry, Biology, Geography,
Department of Biology-Chemistry, Pestalozzi 16, Timișoara

*Corresponding author e-mail: monica.vatavu96@e-uvf.ro

Received 15 June 2018; accepted 26 July 2018

ABSTRACT

An important step in the development of biology was the invention of microscopy. So, using the AFM (Atomic Force Microscopy) și TEM (Transmission Electron Microscopy), along with the discovery of the SNARE proteins (Soluble NSF Attachment Protein Receptor) the scientific word was able to discover a new structure in the cellular membrane, named „porosome”. It was discovered that this structure helps the secretory vesicle to dock into the membrane and expel the content outside the cell. Along with the SNARE proteins participate also the Aquaporinele 1 (AQ1) and the calcium channel. Cellular secretion is a mechanism within the cell can communicate with the extracellular medium, send signal molecules, is involved in neurotransmission, the release of hormones and many other metabolic procedures. Researchers in the last 3 decades have opened a new way of understanding and treatment of the diseases responsible for insufficient or excessive secretion, as an example cystic fibrosis. In my paperwork, I would like to evidence the ultrastructure of the porosomes as well as the differences between the porosomes from the different type of cells: neuronal, pancreatic, or Calu-3 cells.

KEY WORDS: *porosom, cellular secretion, vesicle, fusion pore, neurotransmission, hormones*

Secreția celulară este o funcție esențială pentru organismele vii, contribuind la metabolismul normal al acestuia (Ianovici, 2010). Comunicarea intercelulară servește la homeostazie (prin eliberarea de hormoni), transmiterea impulsului nervos, digestie (prin eliberarea de enzime digestive) imunitate (prin eliberarea de histamine). Secreția celulară presupune eliberarea cu ajutorul unor vezicule secretoare, a unor substanțe, produși de metabolism la exteriorul celulei (Crăciun, 2012; Crăciun, 2013; Jena, 2007; Naik et al., 2016; Xia Hou, 2014).

Porosomii s-au dovedit a fi mașini secretoare universale în celule (Anderson, 2006). Descoperirea porosomilor a demonstrat că veziculele

secretoare nu își încorporează membrana proprie în membrana celulară, ci se leagă temporar de aceasta, urmând ca, prin porul de fuziune, să își expulzeze conținutul în afara celulei (Crăciun, 2012; Crăciun, 2013; Jena, 2007; Jena 2014; Naik et al., 2016; Xia Hou, 2014).

De aproximativ 3 decenii, a fost descoperită prezența unor structuri permanente pe membrana celulară, structuri la care se leagă veziculele secretoare și cu ajutorul acestora, își elimină conținutul în exteriorul celulei. Acest por de fuziune a fost numit porosom și astăzi este universal cunoscut faptul că este responsabil pentru secreția celulară (Naik et al., 2016).

Există trei pași prin care secreția celulară se desfășoară: legare (ancorarea veziculei secretoare de membrana celulară), fuziune (fuziunea veziculei cu membrana) eliberare (eliminarea conținutului la exteriorul celulei cu ajutorul porosomilor) (Jena, 2007).

Proteinele SNARE sunt împărțite în două categorii principale: *V-SNAREs* (VAMP)- proteine legate de vezicula secretoare și *T-SNAREs* (SNAP-25 și syntaxin)- proteine încorporate în membrana plasmatică (proteine țintă situate la baza porosomului). Formarea complexului SNARE are loc în prezența Ca^{2+} (Jena, 2007).

1. Compoziția chimică a porosomilor

Prin metoda spectrofotometrică au fost evidențiate circa 40 de proteine diferite în porosomii din neuroni. Pe lângă acestea au fost descoperite o serie de proteine asociate: canal de Ca de tip P / Q, actină, vimentină, factorul sensibil la N-etilmaleimidă (NSF), SNAP-25, sintaxina-1, synaptotagmin-1, subunitatea alfa a GaO care leagă GTP heterotrimeric și CLC-3. Diverse studii au corelat aceste tipuri de proteine asociate cu secreția celulară (Naik et al., 2016).

2. Comparație între structura porosomilor neuronali, ai pancreasului exocrin, ai mucoasei respiratorii

Porosomii sunt formațiuni de natură lipoproteică au forma generală de cupă/ coș de baschet, și cu diametre diferite (în funcție de celulele în care sunt prezenți).

A fost analizată ultrastructura porosomilor în celulele pancreasului exocrin (Crăciun, 2012), în celulele neuronale și în celulele mucoasei respiratorii (Hou et al., 2014).

- Porosomii neuronali sunt numeroși și au rol în neurotransmiterea impulsului nervos: au un diametru de 15nm, fiind compuși din lipoproteine. În compoziția lipoproteinelor intră aprox. 40 proteine diferite, printre care a

fost demonstrată prezența actinei și a lanțului α al tubulinei (Naik et al., 2016; Jena, 2014).

- Porosomii celulelor Calu-3 din mucoasa respiratorie (Fig. 2.) au rol în umectarea mucoasei respiratorii, facilitând procesul respiratoriu și protejând împotriva infecțiilor: au un diametru de 100 nm (Hou et al., 2014).
- Porosomii celulelor pancreasului exocrin (Fig. 3.) au rol în secreția de enzime digestive: măsoară în diametru între 100 și 180nm. Conțin două inele: un inel intern (cu diametrul de aprox. 60nm) și un inel extern (cu diametrul de aprox. 176nm) (Craciun & Barbu-Tudoran, 2013).

3. Contribuția cercetătorilor români Constantin Crăciun și Lucian Barbu-Tudoran în descoperirea ultrastructurii porosomilor pancreatici.

Pancreasul exocrin este responsabil pentru secreția de enzime digestive. Cercetătorii români Constantin Craciun și Lucian Barbu-Tudoran au descris ultrastructura porosomilor din pancreasul exocrin. Porosomii celulelor pancreasului exocrin măsoară în diametru între 100 și 180nm. În urma izolării celulelor acinoase pancreatice și vizualizarea lor la TED a fost observată o nouă formațiune la baza porosomului- un cablu de ancorare având dimensiunea cuprinsă între 15-20nm. Studiile acestora au demonstrat că există posibilitatea ca o singură veziculă secretoare să interacționeze cu unu sau mai multe complexe porosomale. Tot aceștia au descoperit o nouă structură: un cablu de ancorare, care ajută vezicula secretoare să se lege temporar de porosom (Craciun & Barbu-Tudoran, 2013).

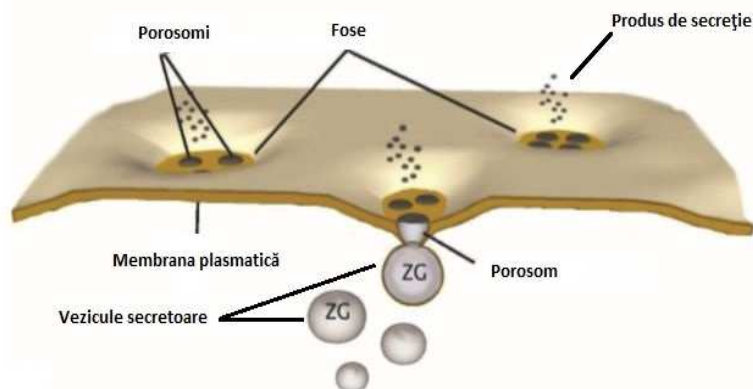


FIG. 1. Diagramă schematică a porosomilor din membrana plasmatică. Veziculele secretoare sunt ancorate la membrana plasmatică și prin intermediul porosomilor își elimină conținutul în mediul extracelular (după Crăciun, 2013)

VĂTAVU: The contribution of the romanian researchers to discovering the ultrastructure of pancreatic porosoms

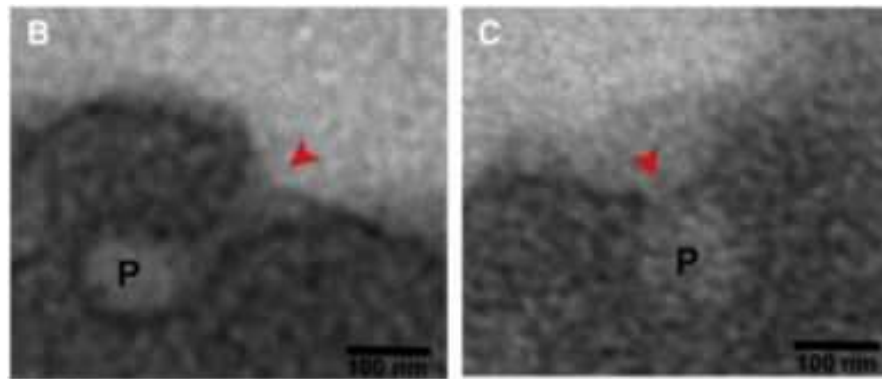


FIG. 2. Imagini de microscopie electronică a celulelor Calu-3.
P-porosom; Se observă cum porul de fuziune se deschide la suprafața celulei(B); Mucusul este eliberat la exteriorul celulei (C); (din Xia Hou, 2014)

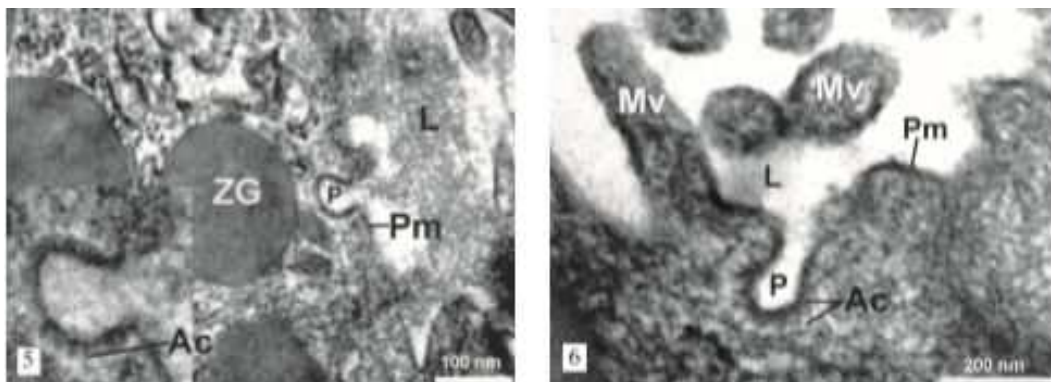


FIG. 3. Imagini de microscopie electronica a celulelor pancreasului exocrin.
Ac- cablu de ancorare; ZG- veziculă secretoare; Pm- membrana plasmatică; L- lumen;
P- porozom; r-inele; sp- spine; Mv- microvili (după Crăciun, 2013)

Comparativ cu celulele neuronale, care pot avea sute de porosomi cu diametrul cuprins între 12 și 15 nm, celulele pancreasului exocrin au porosomi de ordinul zecilor, de diametrul cuprins între 100 și 180nm (Craciun & Barbu-Tudoran, 2013).

Studiile din ultimii 30 de ani au demonstrat existența acestor structuri permanente în membrana plasmatică, cu rol în secreție. Au fost folosite diferite metode: vizualizarea la ME, AFM a microscopului cu imunofluorescență pentru demonstrarea interacțiunilor între veziculele secretoare și porosomi, spectrometria de masă pentru demonstrarea prezenței diferitelor tipuri de proteine (Hou et al., 2014).

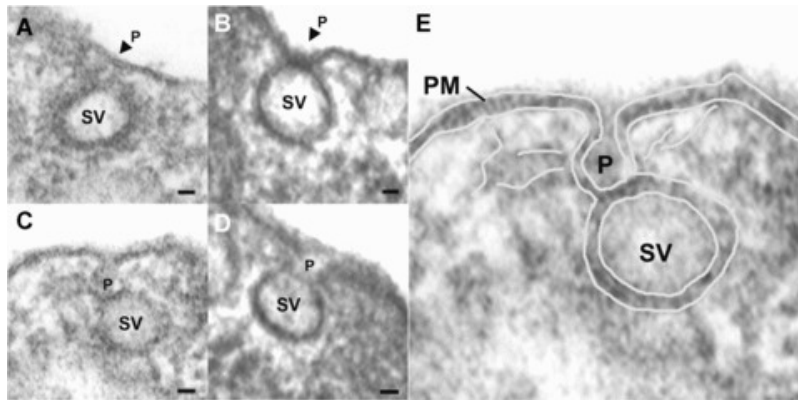


FIG.4. Microfotografiile care confirmă prezența porosomilor de 8-10 nm (P) cu veziculele secretoare (SV) de 40-50 nm la membrana plasmatică a astrocitelor (din Lee et al, 2009).

Cunoașterea funcționării exocitozei poate avea aplicații practice: înțelegerea și tratarea unor boli precum cele neurologice, endocrine, de natură imunitară (stări hiperalergice datorate hipersecreției de histamină), a fibrozei cistice (sinteză excesivă de mucus a celulelor mucoasei respiratorii) și multe altele. Cercetările continuă pentru a avea o mai bună strategie în tratamentul bolilor provocate de secreția excesivă, respectiv a celei insuficiente (Naik et al., 2016; Hou et al., 2014).

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- Anderson LL. 2006. Discovery of the 'porosome'; the universal secretory machinery in cells. *J. Cell. Mol. Med.* 10 (1): 126–31.
- Craciun C., Barbu-Tudoran L. 2013. Identification of new structural elements within 'porosomes' of the exocrine pancreas: A detailed study using high-resolution electron microscopy. *Micron* 44, 137–142.
- Crăciun C. 2013. Porosomes: current concepts of the mechanism of exocytosis. *Acta Endocrinologica*, 9 (4): 605-612.

VĂTAVU: The contribution of the romanian researchers to discovering the ultrastructure of pancreatic porosoms

- Hou X., Lewis K.T., Wua Q., Wangb S., Chena X., Flacka A, Maob G., Taatjesc D.J., Suna F., Jena B.P. 2014. Proteome of the porosome complex in human airway epithelia: Interaction with the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). *J Proteomics*. 96: 82–91.
- Ianovici N. 2010. *Citohistologie și morfoanatomia organelor vegetative*, Ed. Mirton, Timișoara, 385 p.
- Jena BP. 2007. Secretion machinery at the cell plasma membrane. *Curr Opin Struct Biol*, 17, 437– 443.
- Jena BP. 2014. Neuronal Porosome-The Secretory Portal at the Nerve Terminal: It's Structure-Function, Composition, and Reconstitution. *J Mol Struct*. 1073. 187–195.
- Lee JS, Cho WJ, Jeftinija K, Jeftinija S, Jena BP. 2009. Porosome in astrocytes. *J. Cell. Mol. Med*. 13(2):365-372
- Naik A.R., Lewis K.T., Jena B.P. 2016. The neuronal porosome complex in health and disease. *Experimental Biology and Medicine*. 241: 115–130.