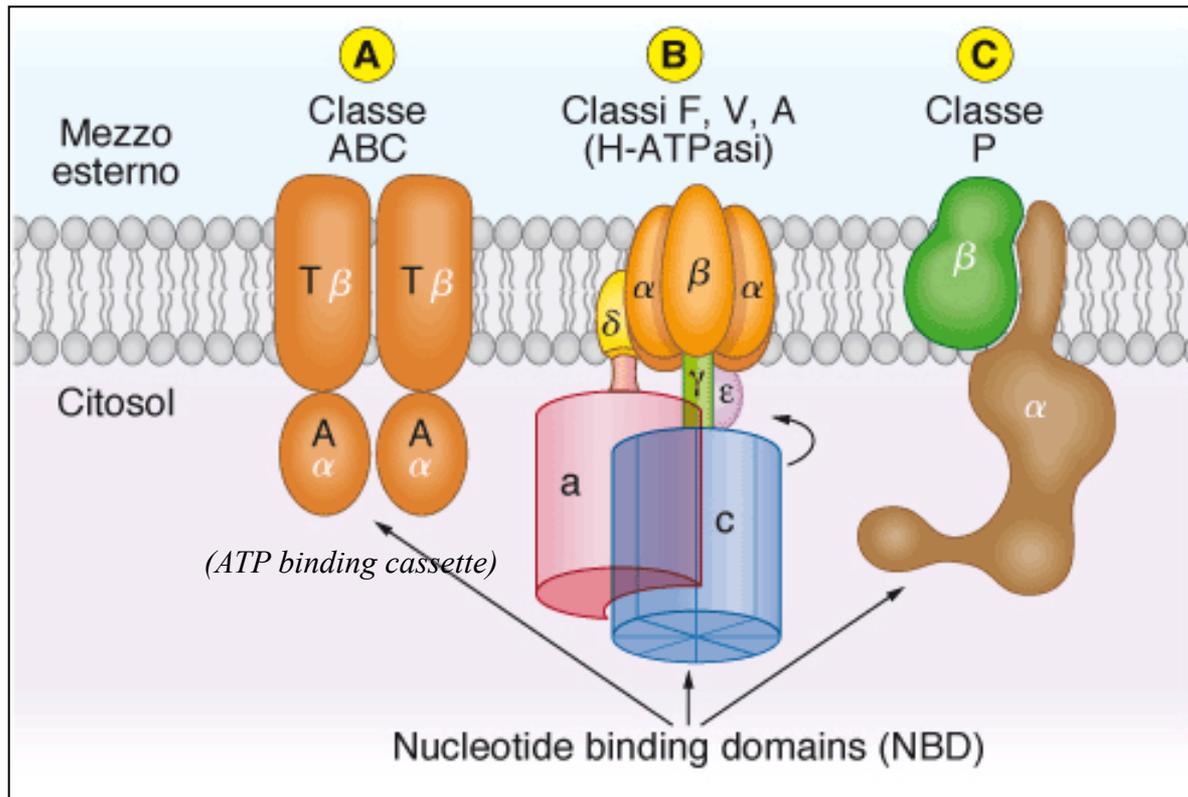


Il trasporto attivo primario: Le classi di proteine di trasporto ATP-dipendenti



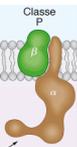
Tutte le cellule viventi spendono continuamente energia chimica per mantenere le concentrazioni ioniche ai due lati della membrana ben lontane dalla condizione di equilibrio

Esempi di trasporto attivo primario



H⁺/K⁺-ATPasi
 secrezione HCl (stomaco)
 riassorbimento HCO₃⁻ (rene)
 assorb. K⁺, escrez. H⁺ (colón distale)

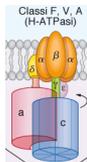
Na⁺/K⁺-ATPasi ubiquitaria
 inibitore: ouabaina
 funzione: housekeeping



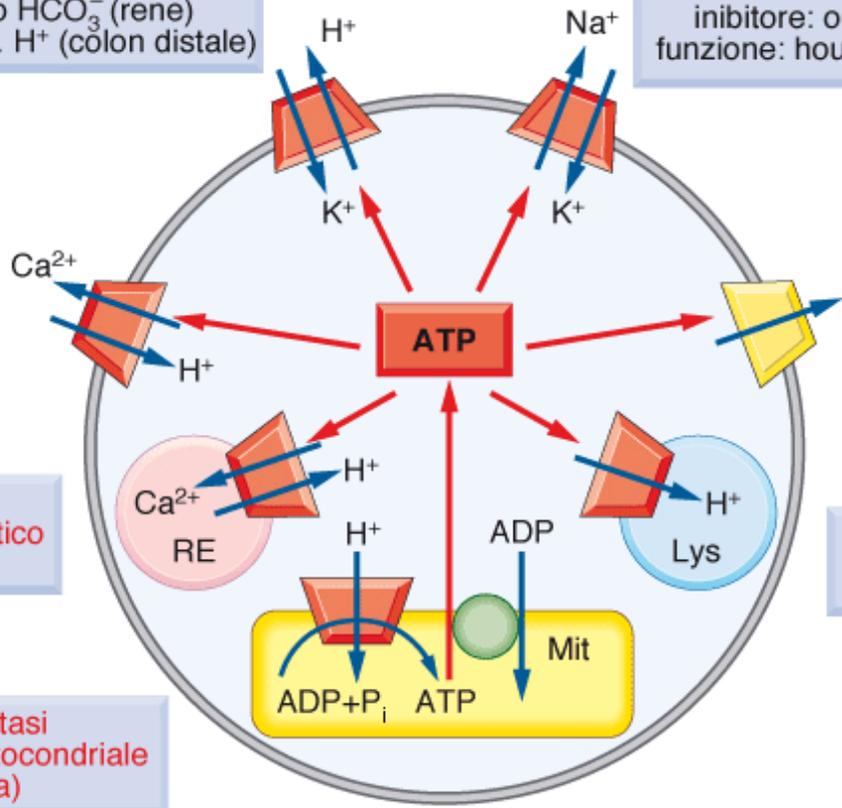
Ca²⁺-ATPasi della membrana plasmatica (PMCA)



Ca²⁺-ATPasi del reticolo endoplasmatico (SERCA)



ATP sintasi (membrana mitocondriale interna)



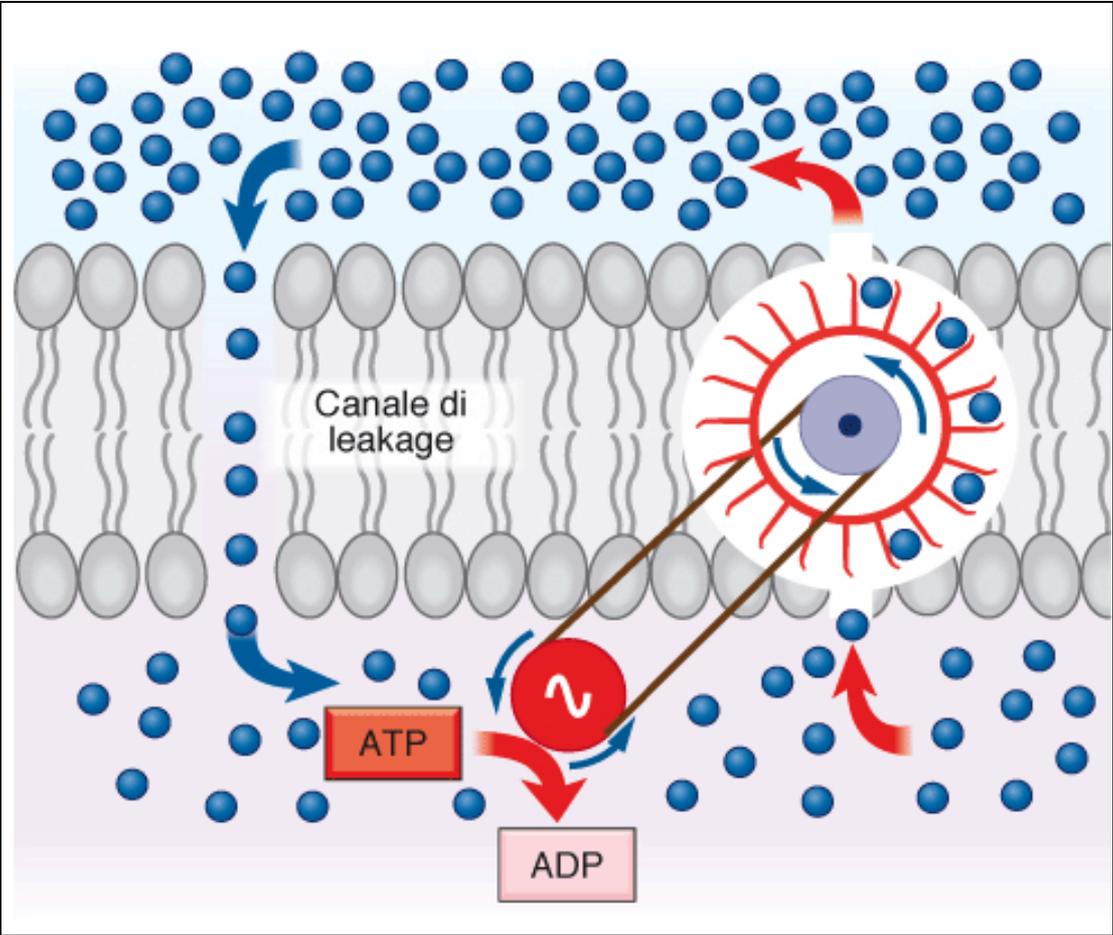
Proteine ABC
 escrezione di farmaci (MDR)
 e ioni Cl⁻ (CFTR)



V-ATPasi dei lisosomi

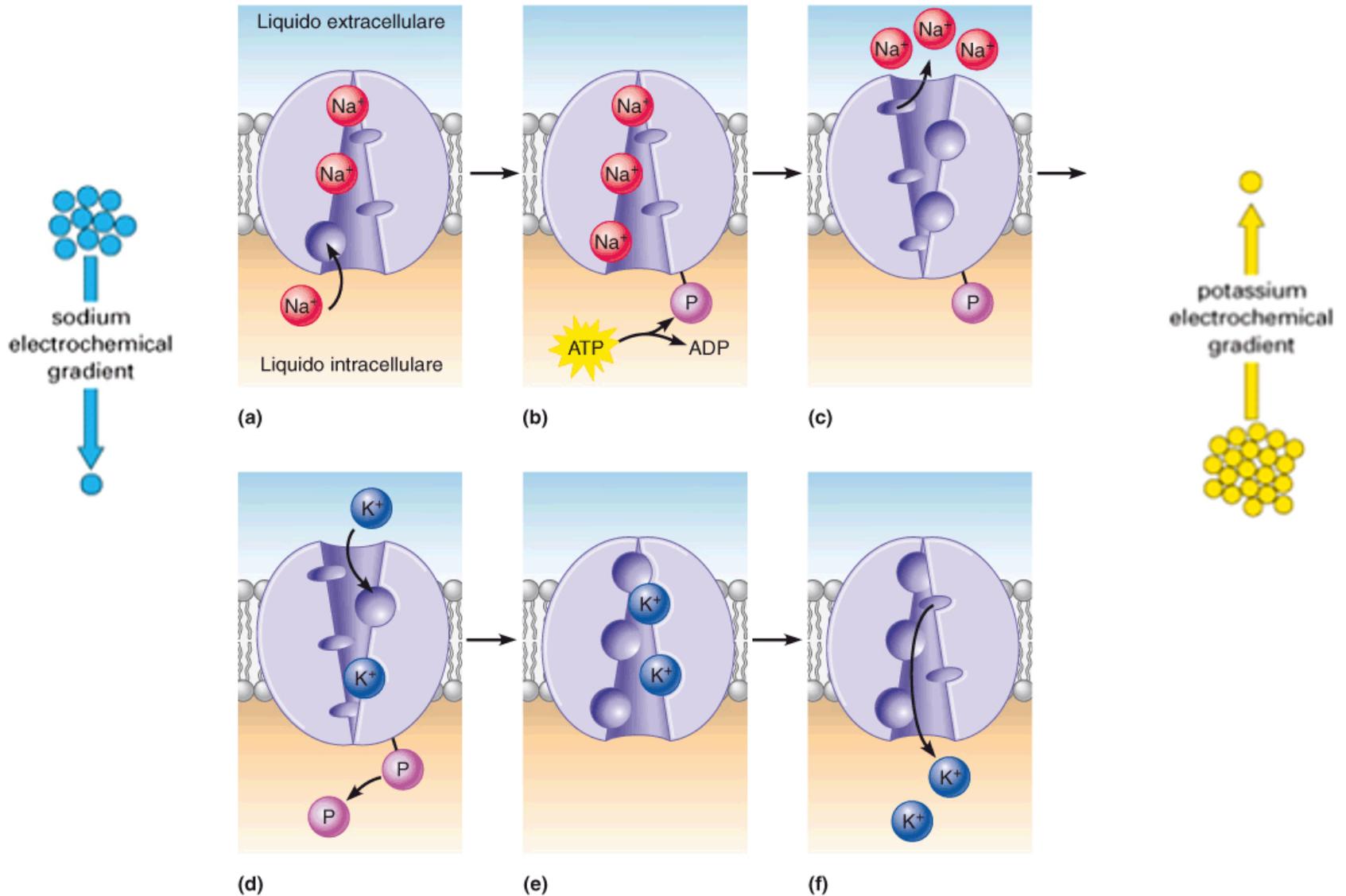


Modello meccanico di trasporto attivo

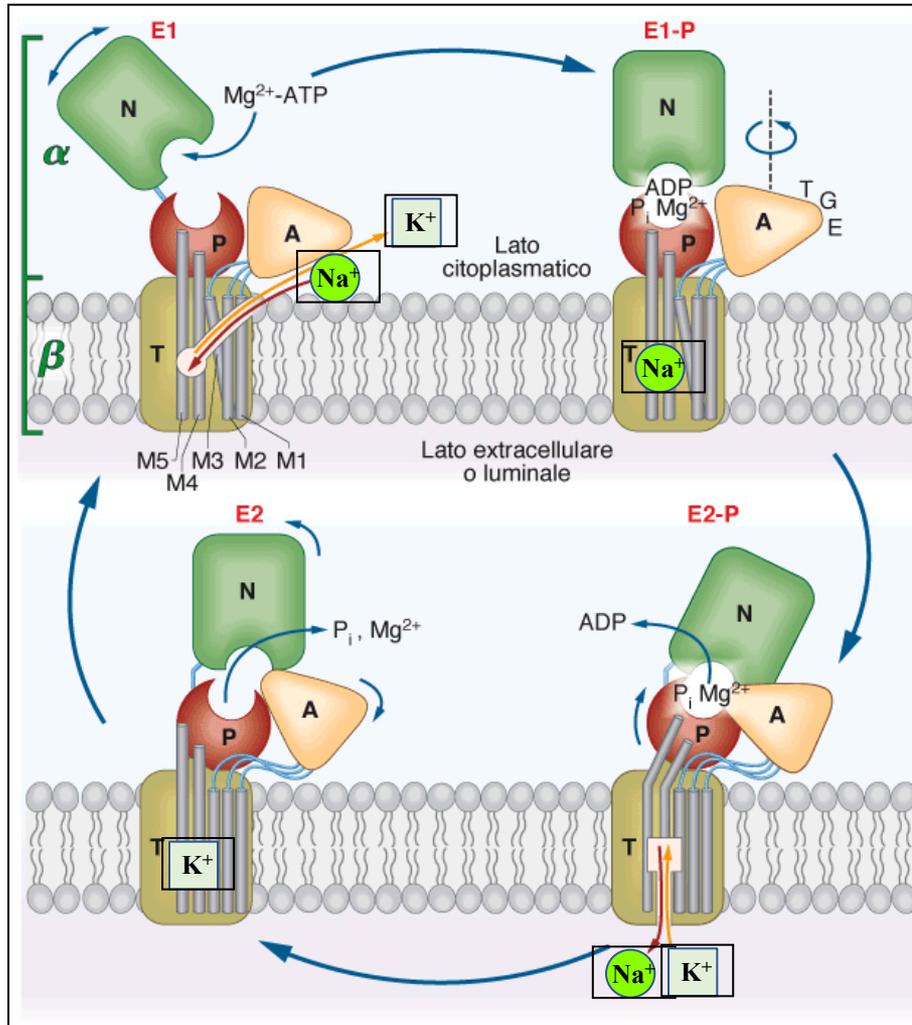


Trasporti attivi primari: Na^+/K^+ -ATPasi

La Na^+/K^+ -ATPasi mantiene i gradienti di Na^+ e K^+ tra l'ambiente intra- ed extra-cellulare



Na⁺/K⁺-ATPasi: modello di funzionamento



Caratteristiche strutturali:

Complesso costituito da almeno 2 subunità:
Alfa (100 KDa);
Beta (45-50 KDa)

Caratteristiche funzionali del trasporto:

- ✓ contro gradiente di concentrazione
- ✓ elevata selettività
- ✓ ATP-dipendente
- ✓ inibito da veleni metabolici e da agenti bloccanti specifici (ouabaina)
- ✓ pompa reogenica (movimento netto di carica) ed elettrogenica (effetto misurabile sul voltaggio di membrana)

Il funzionamento della pompa dipende dal K^+ esterno e dall'ATP

Circa il 25% dell'ATP viene utilizzato per il funzionamento di questa pompa.

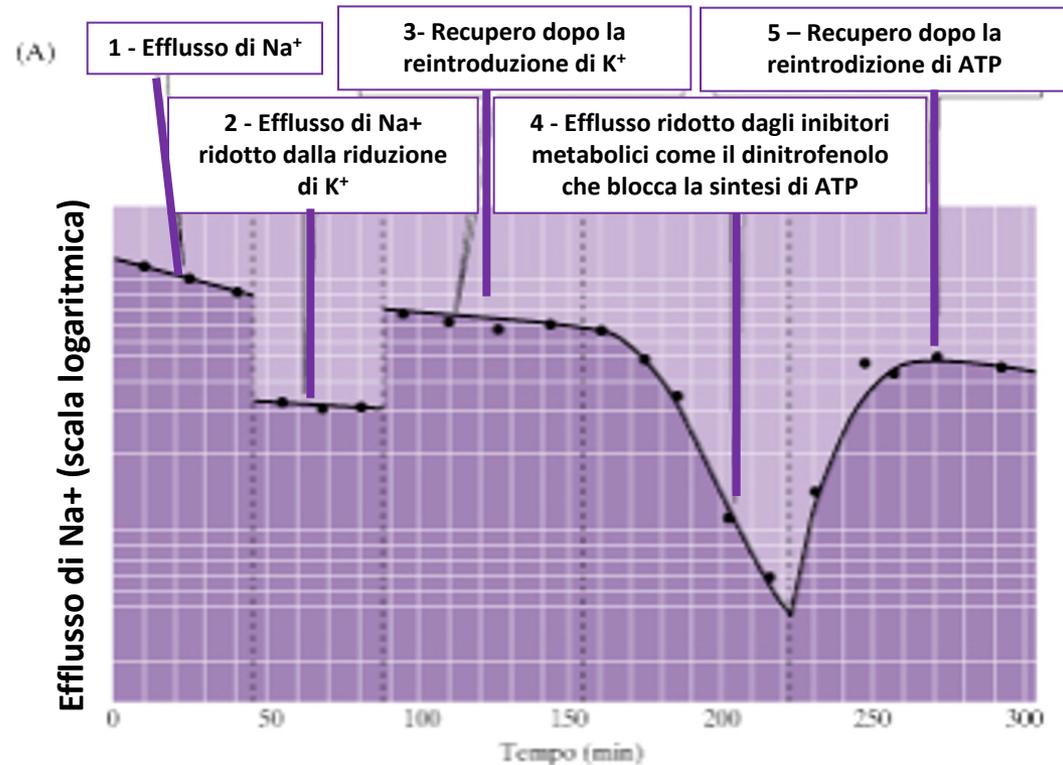
Nei neuroni, questa percentuale può salire fino al 70%

L'attività della pompa è regolata da ormoni:

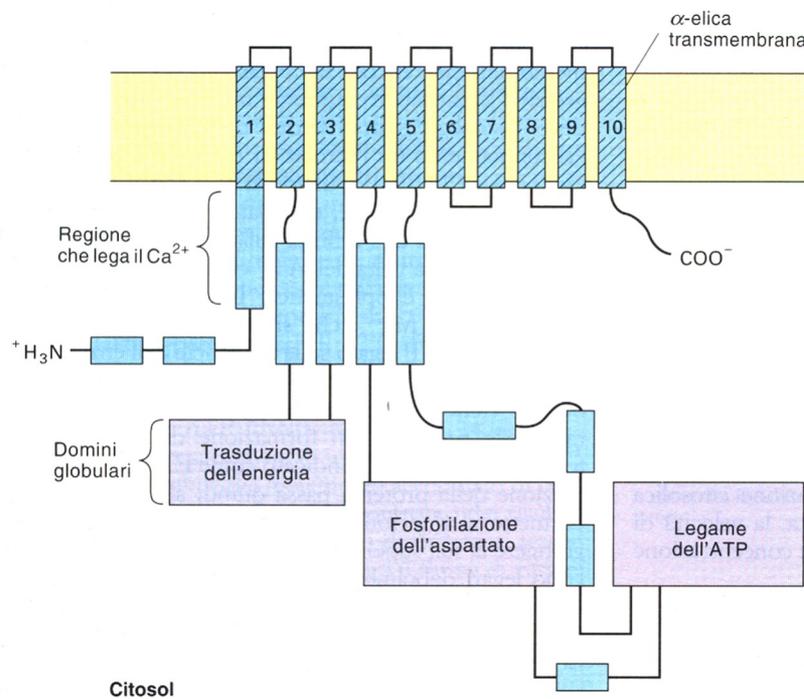
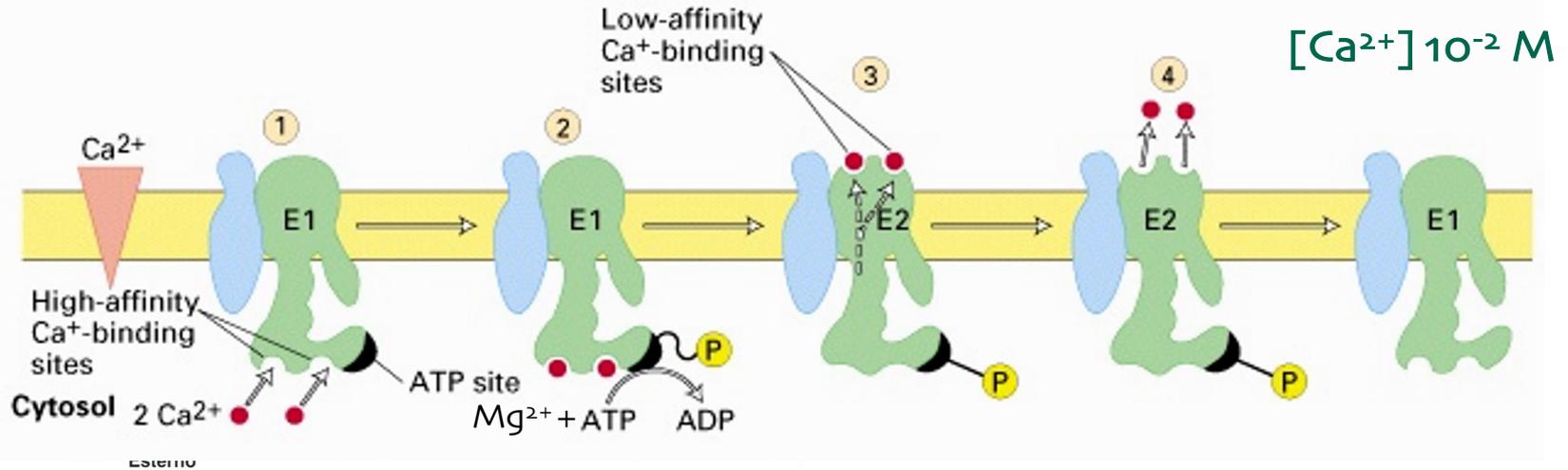
Ormoni tiroidei (vari tessuti, regola la sintesi)

Aldosterone (rene, regola la sintesi)

Insulina (aumento attività, sintesi o inserimento in membrana)

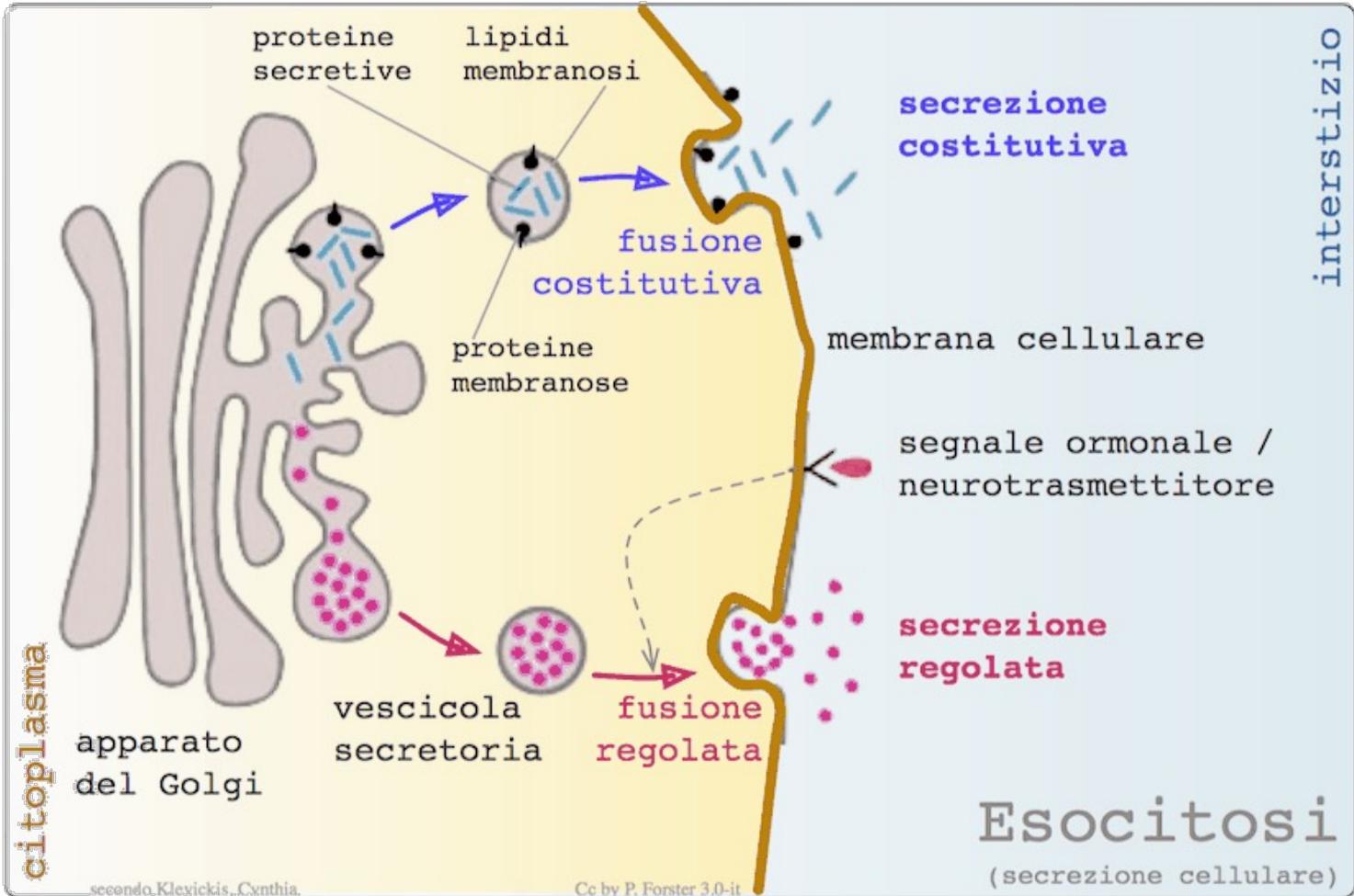


Ca-ATPasi del reticolo sarcoplasmatico

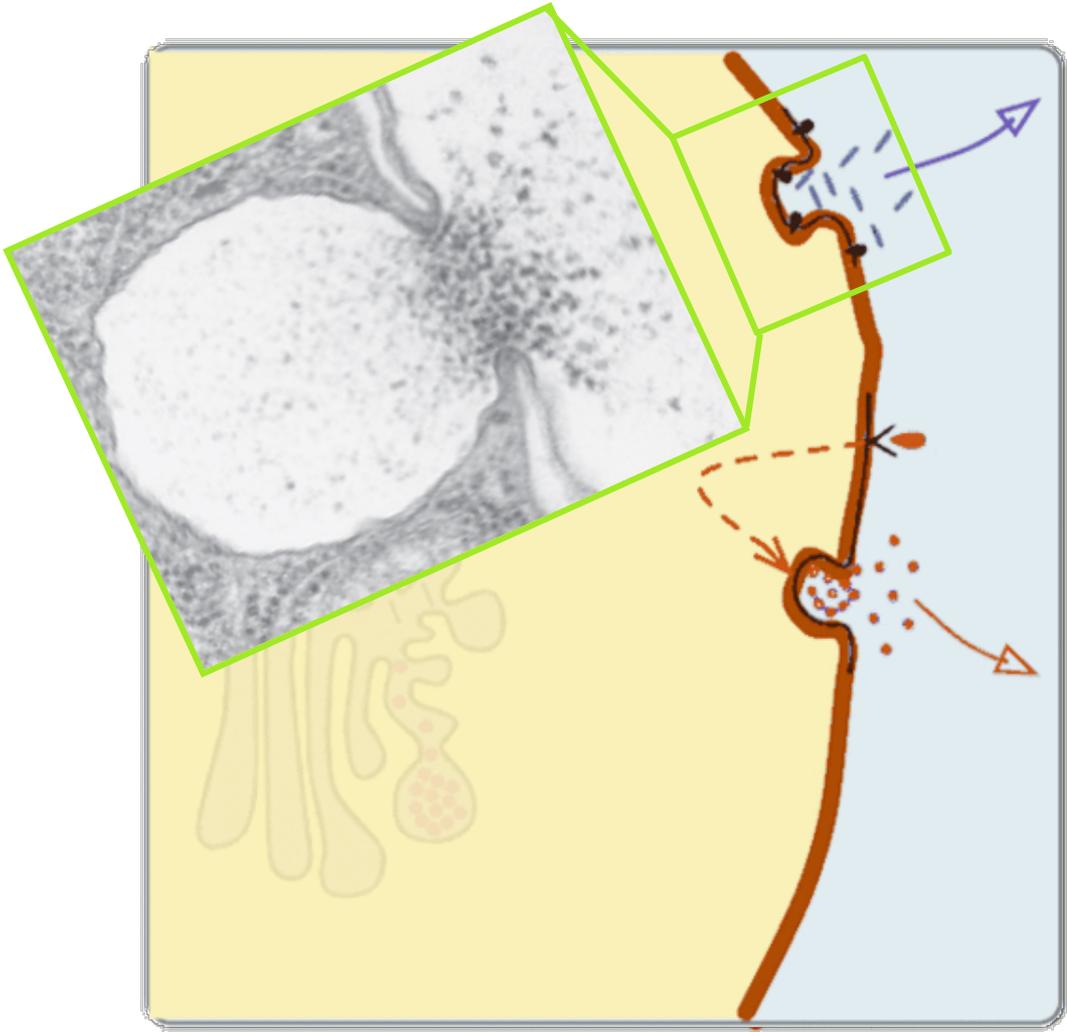


La Ca^{2+} -ATPasi mantiene bassa la concentrazione del calcio nelle cellule ($K_m = 10^{-7} \text{ M}$)

ESOCITOSI

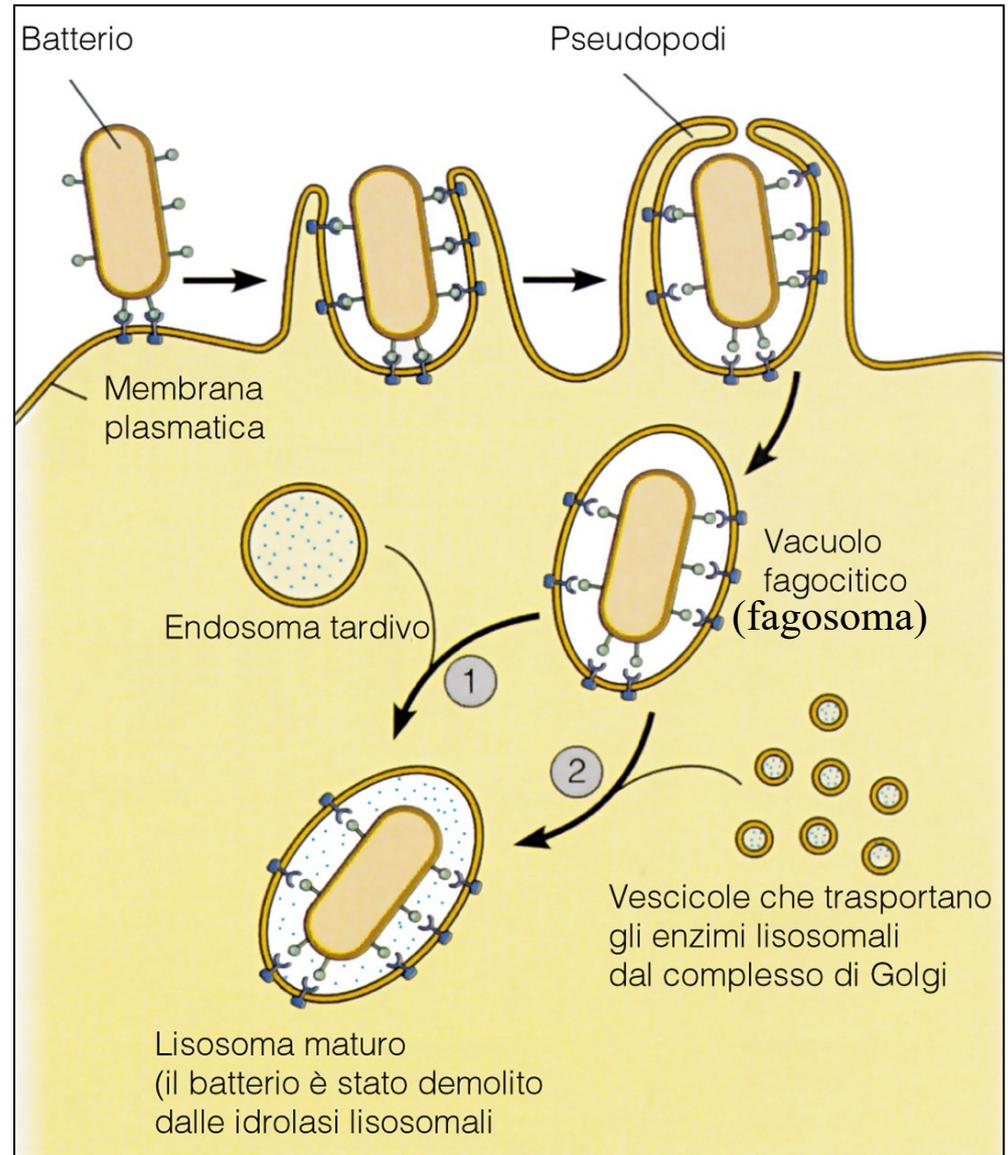


ESOCITOSI



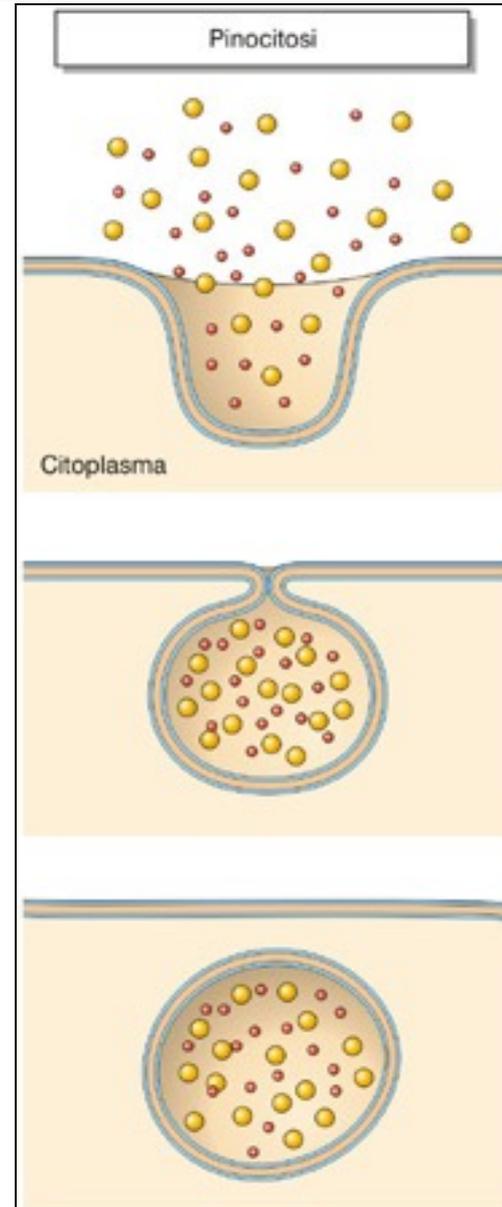
ENDOCITOSI: fagocitosi, pinocitosi e endocitosi mediata da recettore

FAGOCITOSI

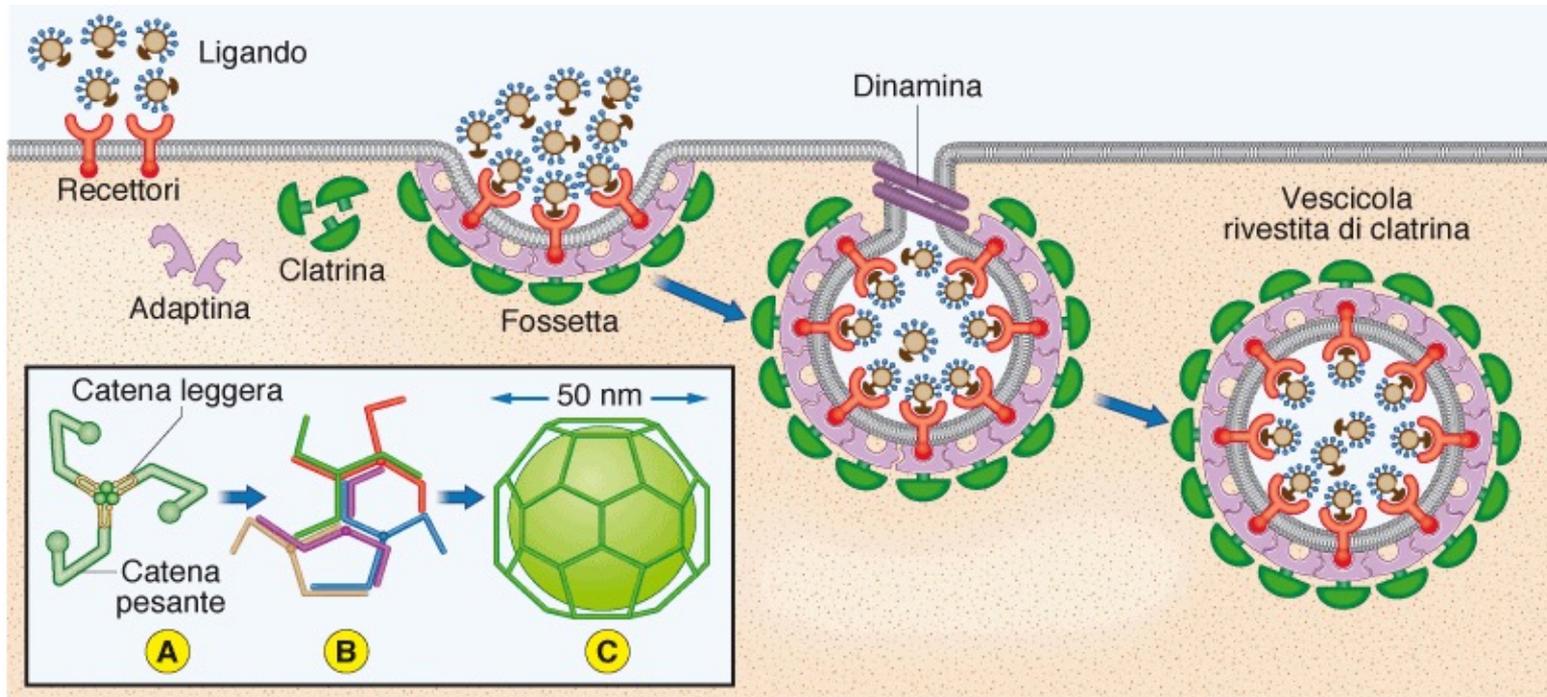


ENDOCITOSI: fagocitosi, pinocitosi e endocitosi mediata da recettore

PINOCITOSI

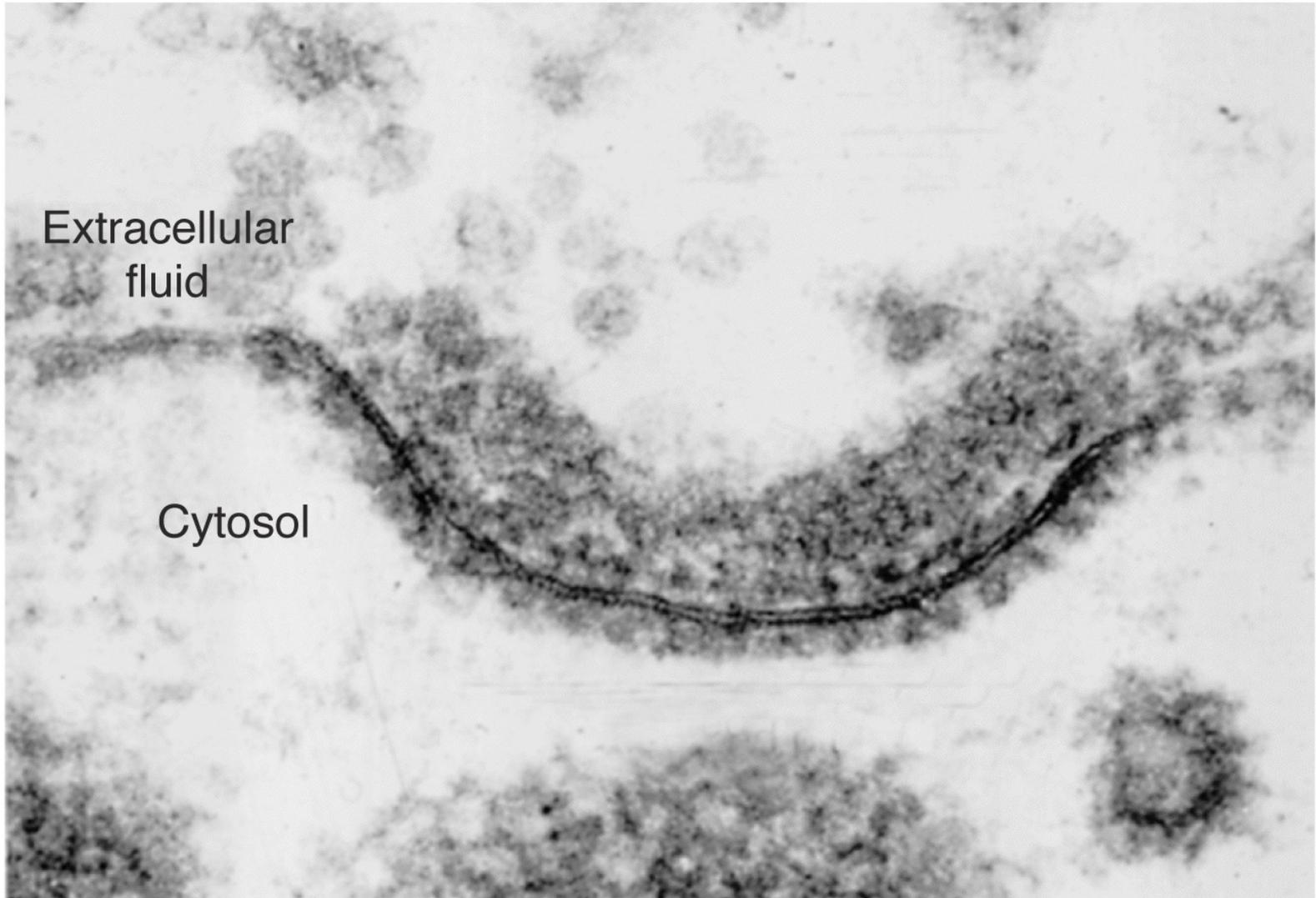


Endocitosi mediata da recettore



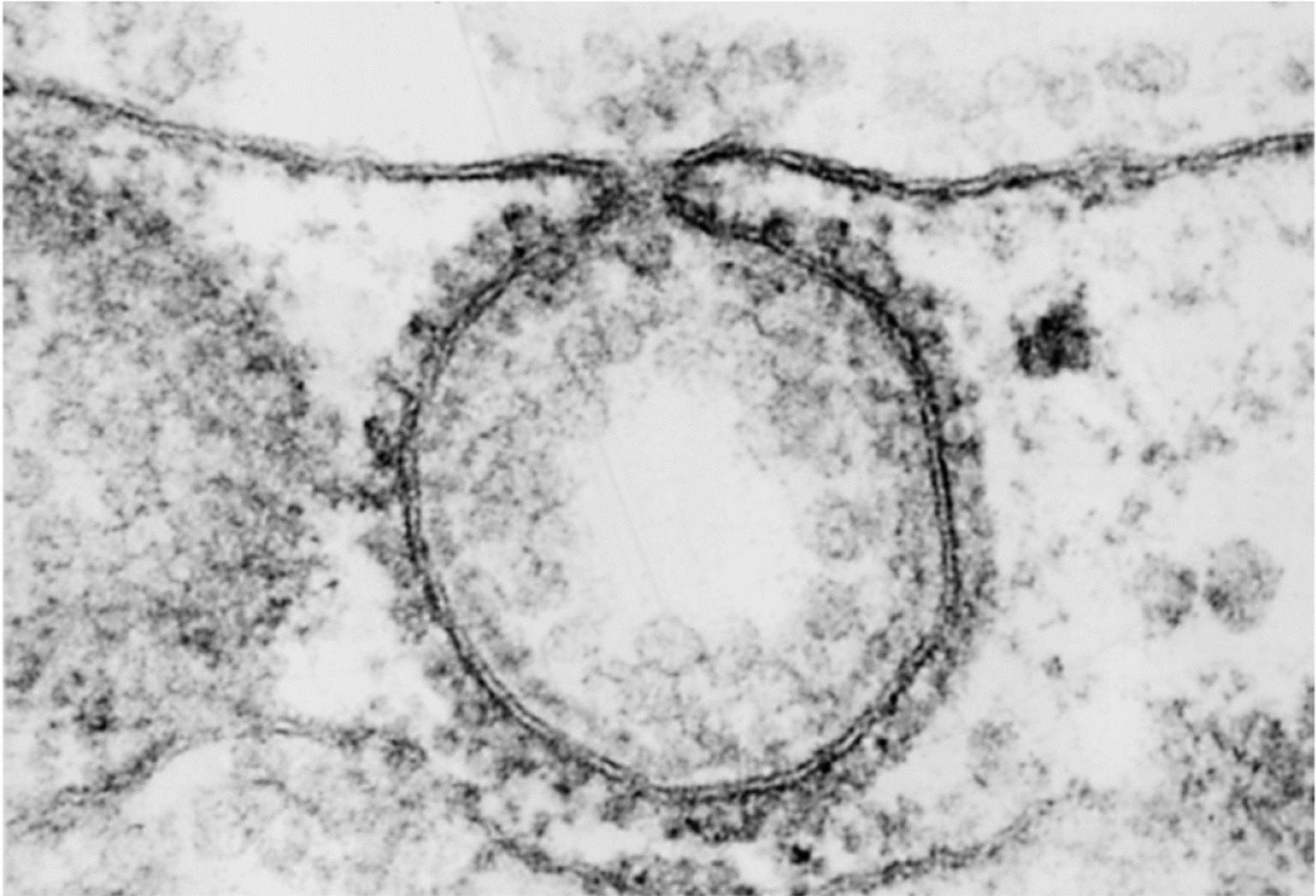
Endocitosi mediata da recettore

(b) Coated pit

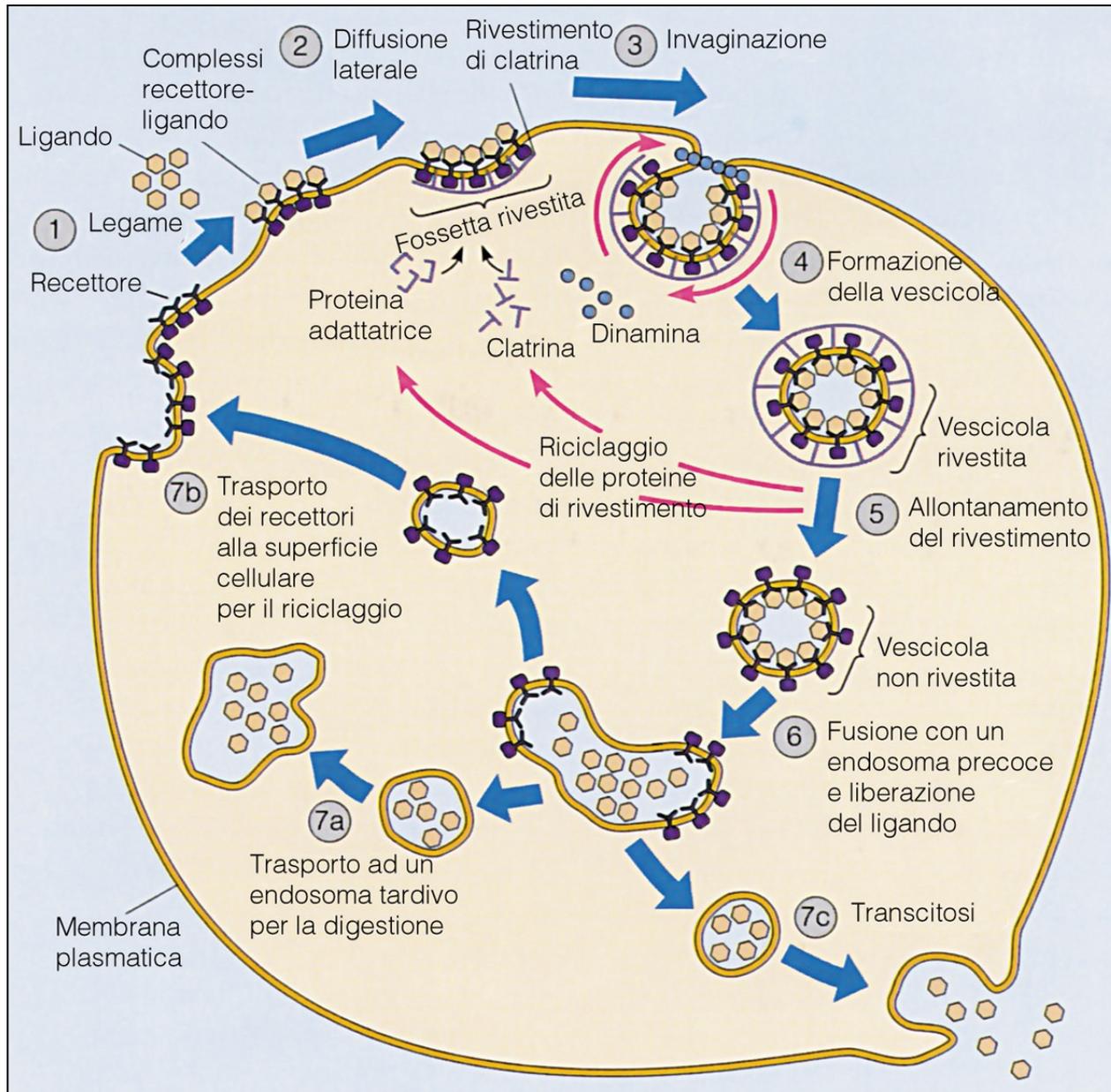


Endocitosi mediata da recettore

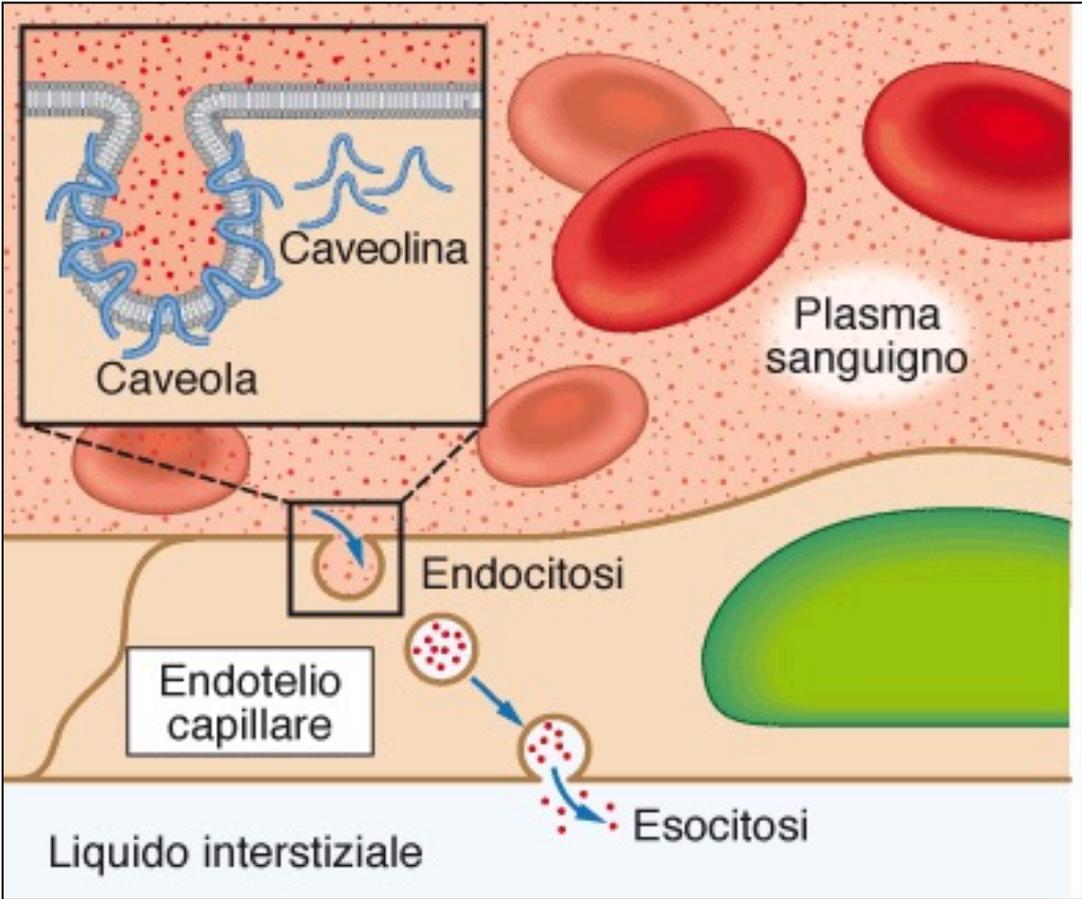
(c) Coated vesicle



10 Å

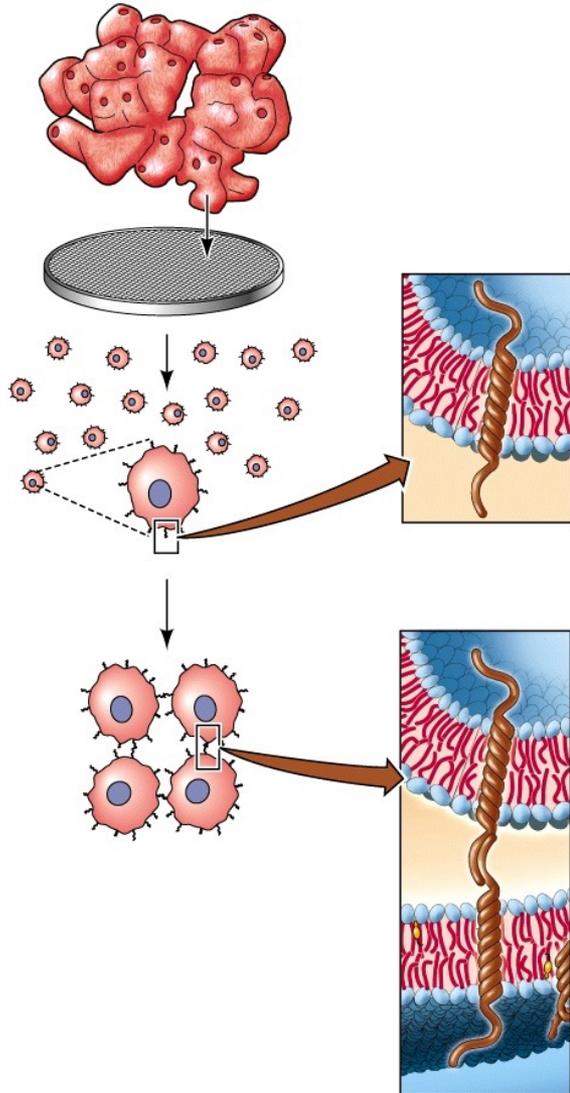


Transcitosi

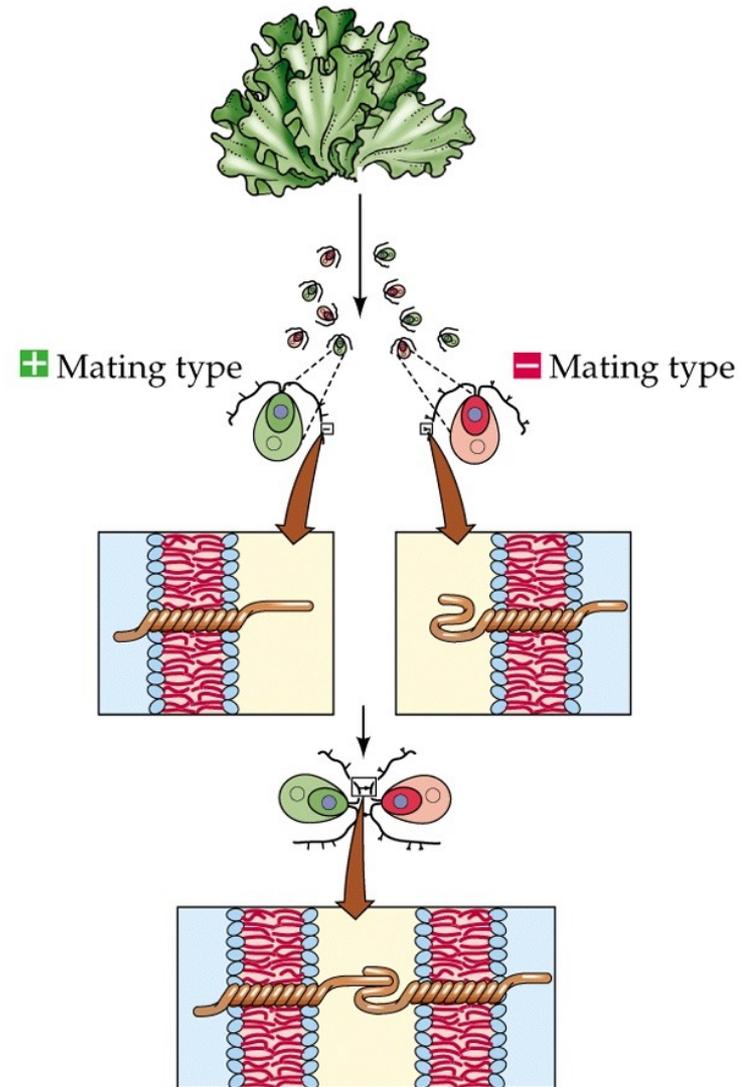


Adesione cellulare

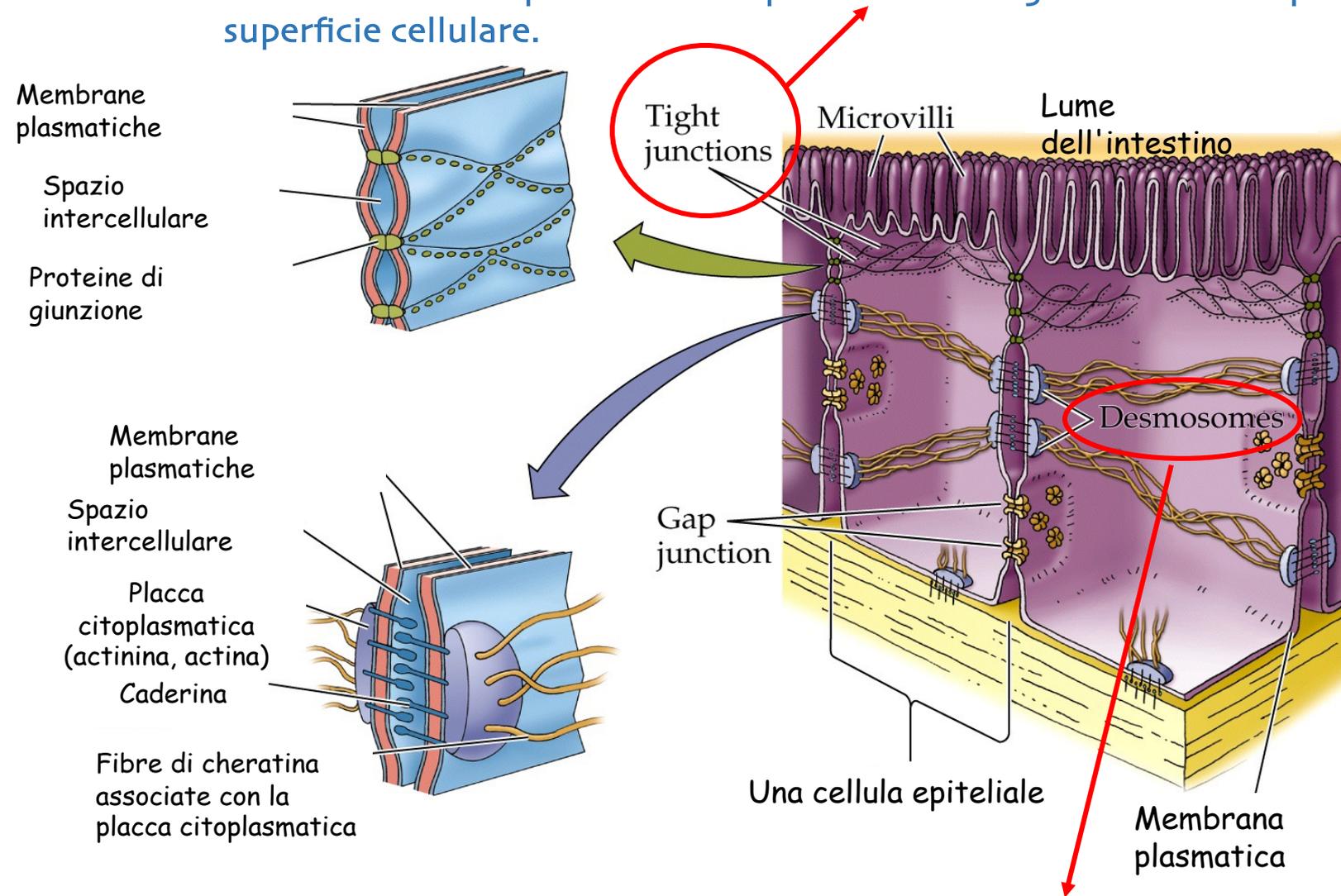
Legame omotipico



Legame eterotipico



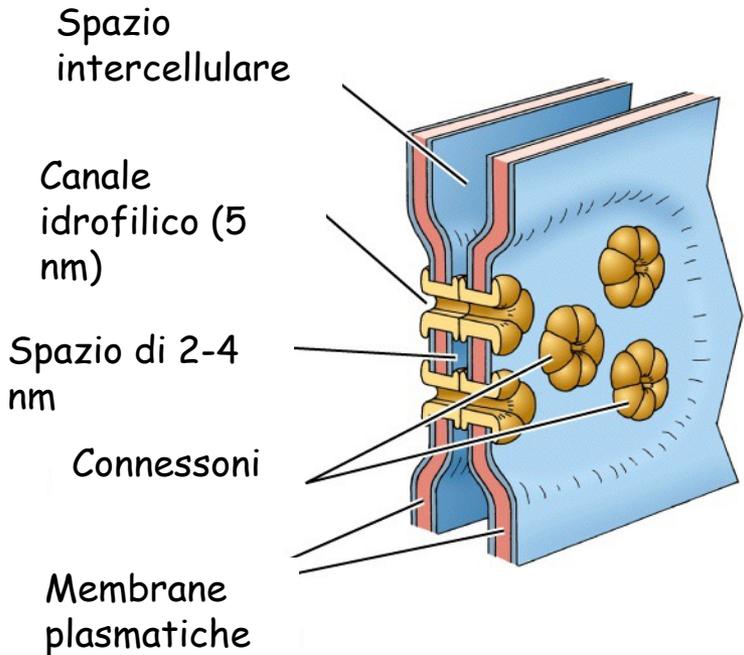
Le giunzioni strette (Tight Junctions) prevengono il passaggio di molecole attraverso lo spazio circostante alle cellule e definiscono regioni funzionali della membrana plasmatica impedendo la migrazione delle proteine sulla superficie cellulare.



I desmosomi permettono alle cellule di aderire fortemente le une alle altre.

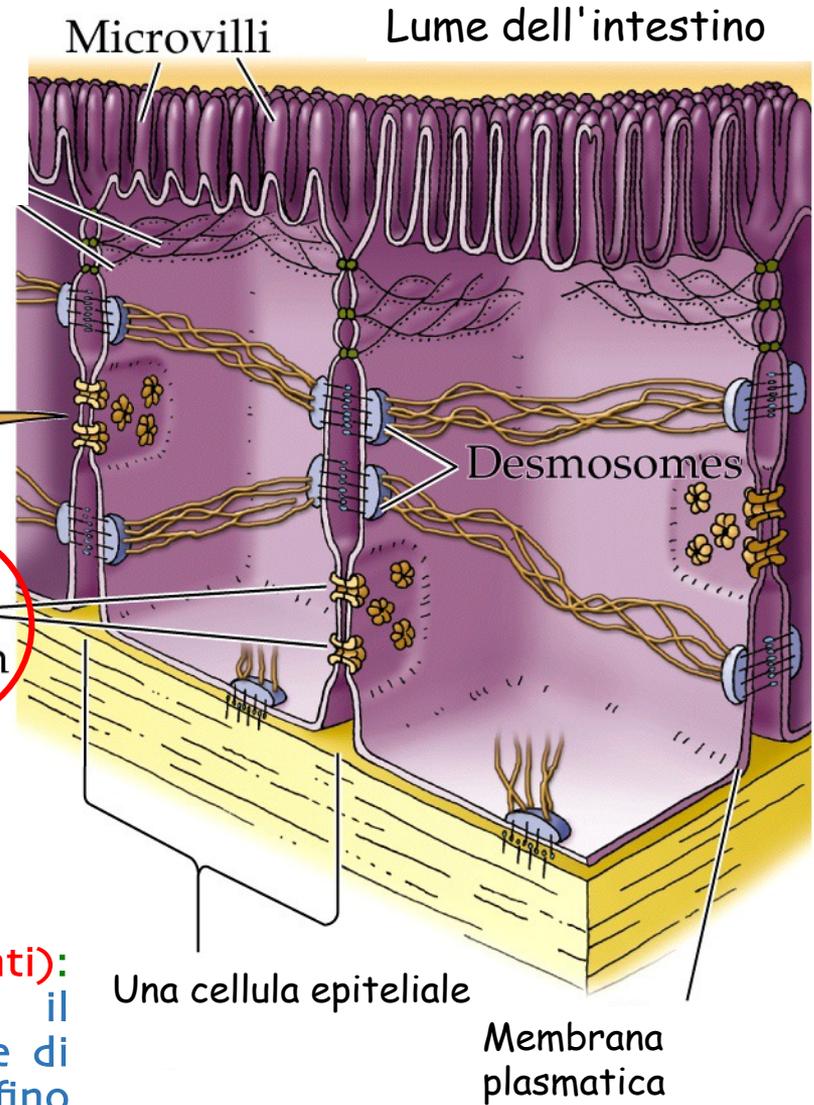
SI: ioni, amminoacidi, zuccheri, nucleotidi

NO: proteine, acidi nucleici, polisaccaridi

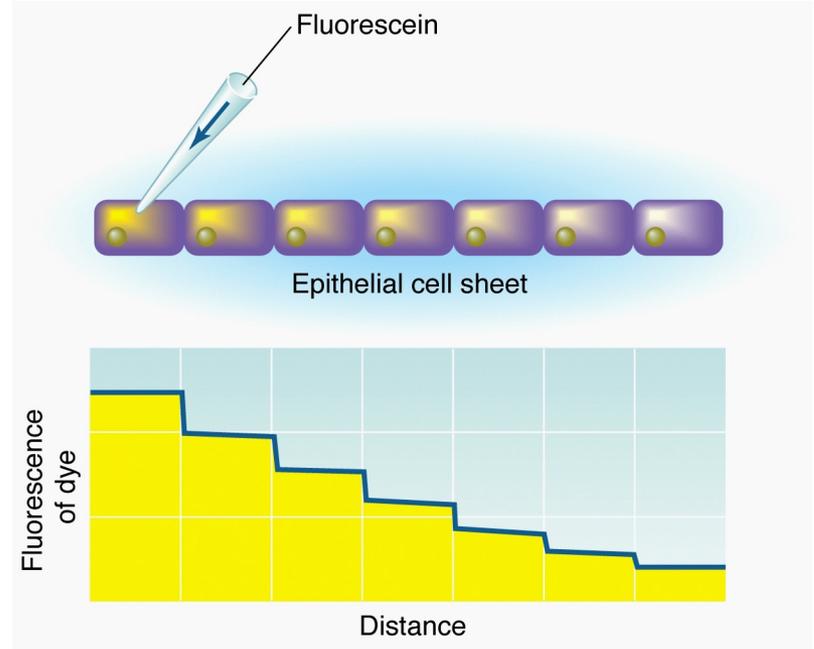


Accoppiamento elettrico e metabolico

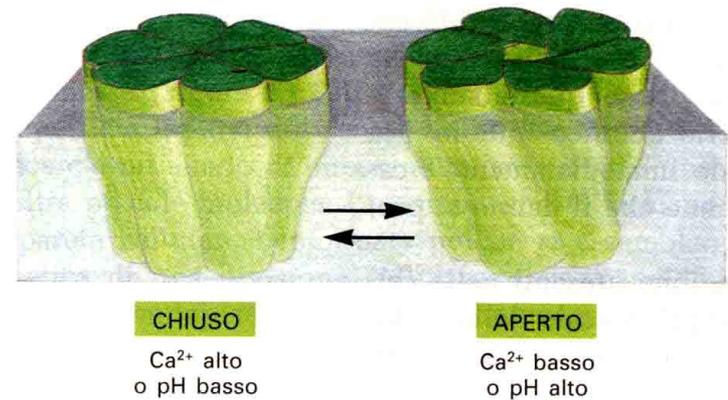
Gap junctions (Giunzioni comunicanti): canali acquosi che permettono il passaggio diretto di ioni inorganici e di piccole molecole idrosolubili (almeno fino a 500 dalton) dal citoplasma di una cellula nel citoplasma di un'altra cellula.



Dimostrazione sperimentale dell'esistenza di gap junctions

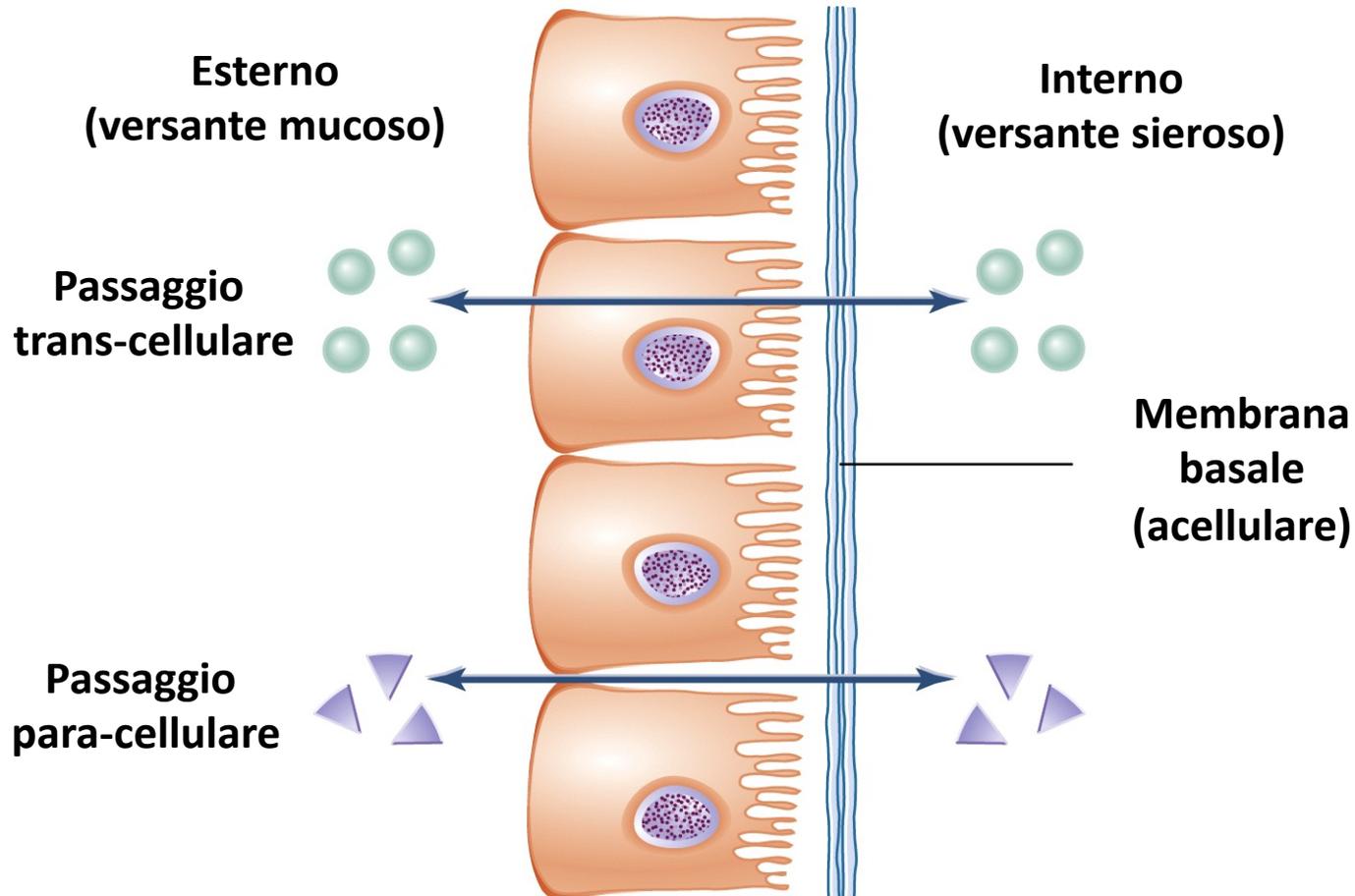


Lo stato di apertura delle gap junctions è altamente regolato



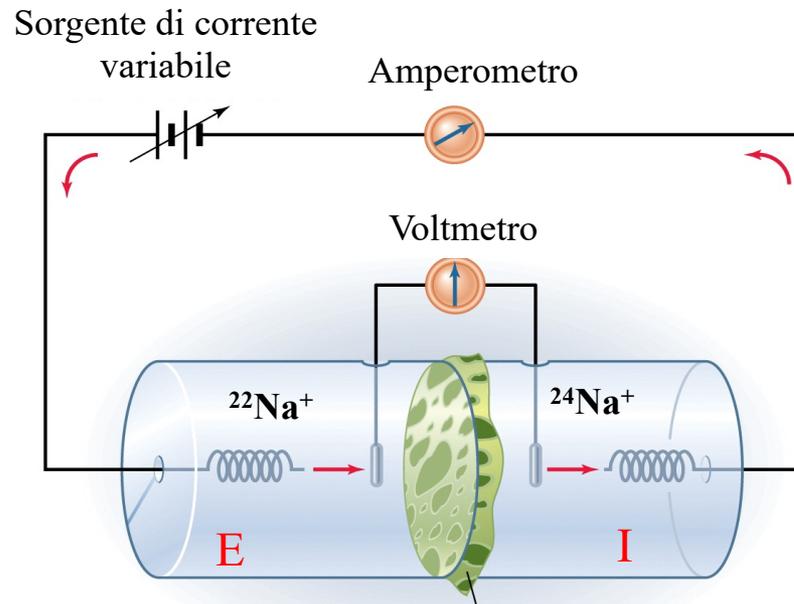
Trasporto epiteliale

- Rivestono tutte le cavità e le superfici corporee: interfaccia tra gli spazi interni dell'organismo e l'ambiente
- Semplice rivestimento (**barriere passive**, non partecipano preferenzialmente al trasporto di acqua e soluti) o **funzione attiva** di regolazione (es: osmoregolazione)



Trasporto attivo di sale (ioni) attraverso un epitelio

Camera di Ussing

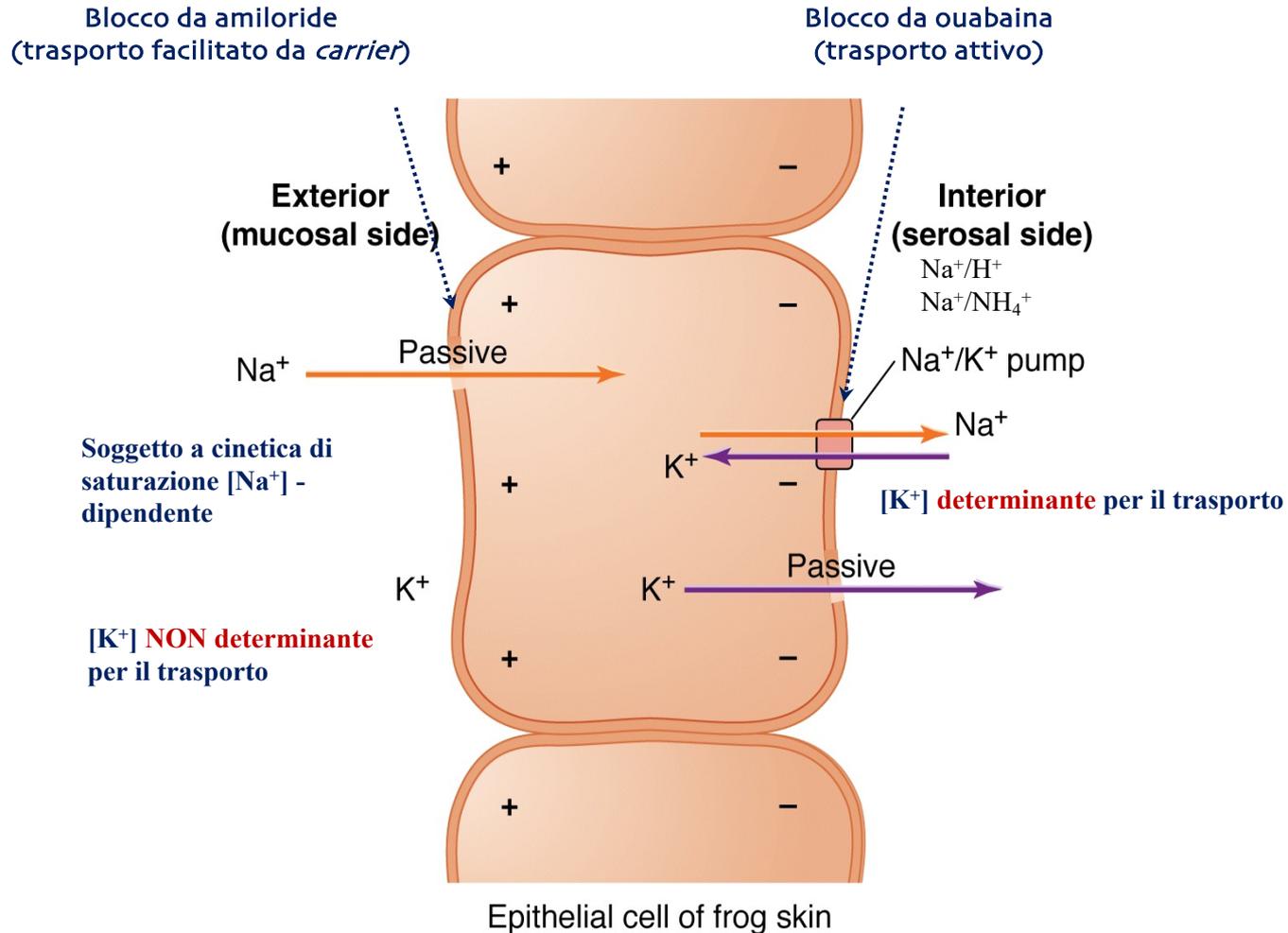


Flusso netto dal compartimento E a quello I

Evidenze sperimentali di un flusso di ioni soggetto a trasporto attivo:

- Avviene in assenza di gradiente di concentrazione e contro un gradiente elettrochimico
- Inibito da inibitori metabolici generali (cianuro, acido iodoacetico) o specifici del trasporto attivo (ouabaina)
- Dipendente dalla T
- Cinetica saturazione
- Specificità chimica (es. trasporto Na^+ ma non Li^+)

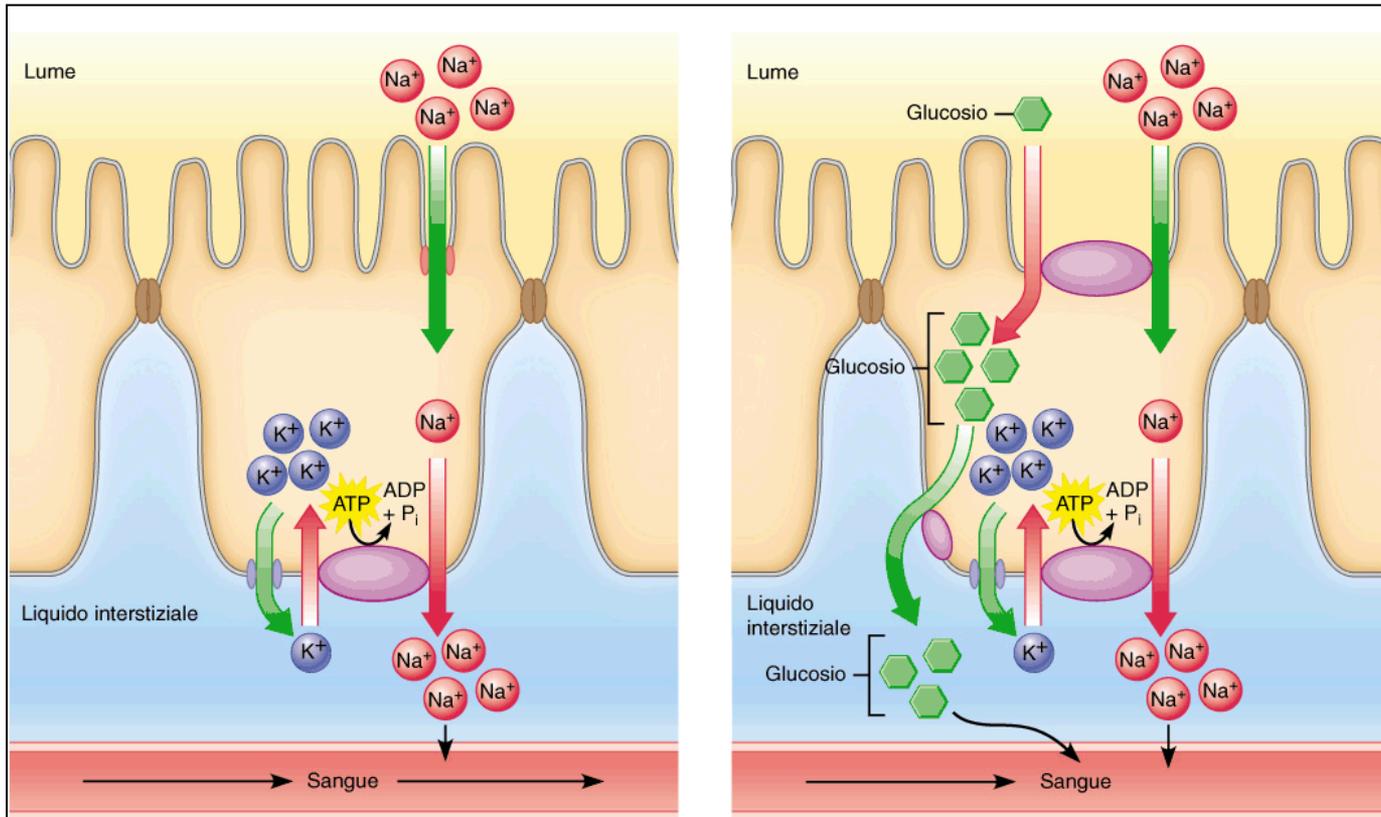
Trasporto attivo di sale (ioni) attraverso un epitelio



Grazie agli esperimenti sulla pelle di rana si è potuto creare un modello generale del trasporto epiteliale di sale

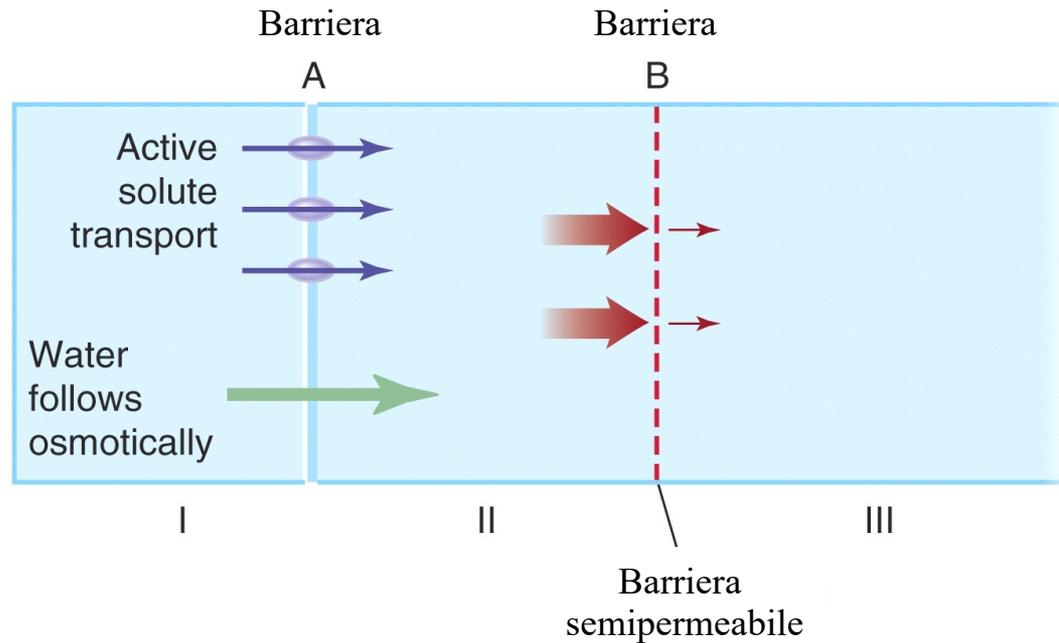
- In misura diversa le giunzioni strette ostruiscono la via paracellulare. Di conseguenza il trasporto transcellulare acquista un'importanza fondamentale nel trasporto epiteliale
- Le porzioni mucosa e sierosa delle membrane cellulari sono funzionalmente diverse sia per la presenza di trasporti attivi che per la permeabilità a diverse specie ioniche
- Il trasporto attivo dei cationi attraverso un epitelio è tipicamente accompagnato dal trasporto (passivo o attivo) degli anioni nella stessa direzione, o dallo scambio con un'altra specie cationica, per minimizzare la generazione di potenziali elettrici
- Il trasporto epiteliale non è limitato al passaggio degli ioni Na^+ e Cl^- ; ci sono epiteli che trasportano H^+ , HCO_3^- , K^+ e altre specie ioniche

Trasporto attivo di ioni e soluti attraverso un epitelio



Trasporto di acqua attraverso un epitelio

L'acqua può attraversare un epitelio anche in assenza, o contro in gradiente di concentrazione!

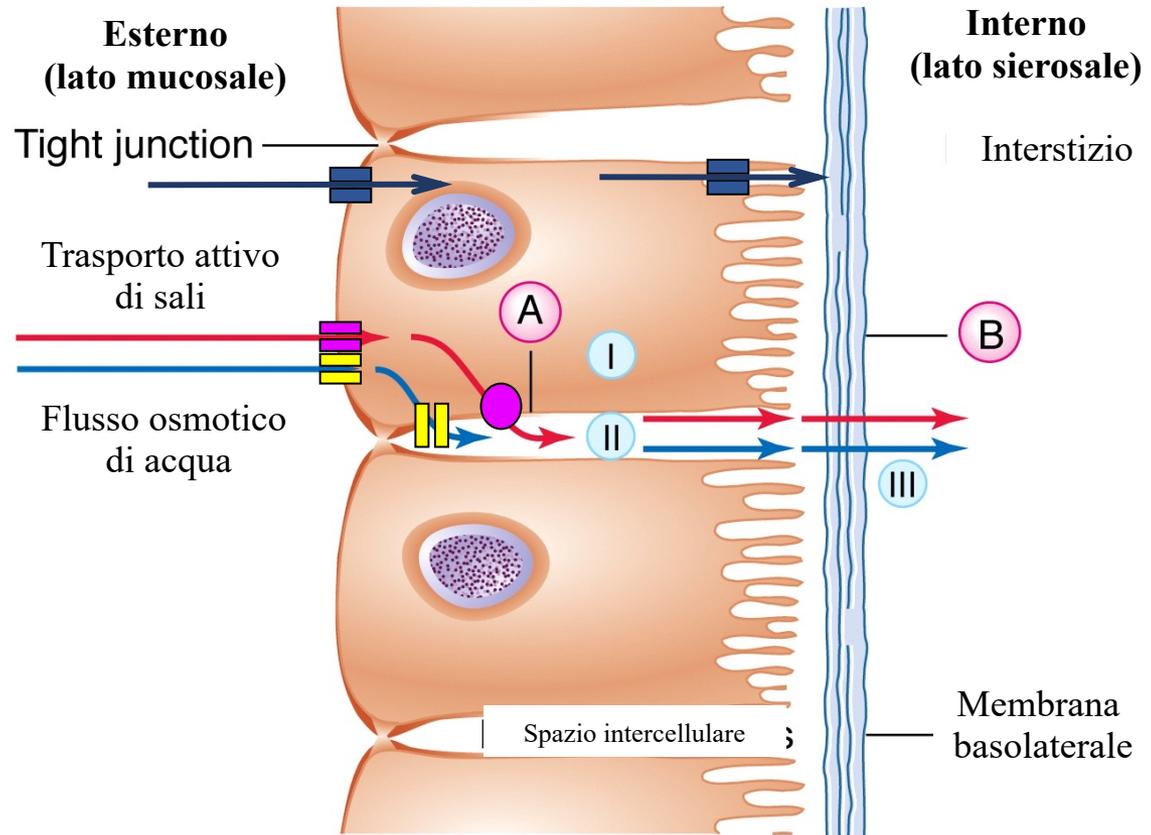


Modello di Curran per il **trasporto osmotico** dell'acqua legato al trasporto di soluto

Trasporto di acqua attraverso un epitelio

Primo riscontro biologico nell'epitelio della cistifellea di mammifero

Ipotesi del gradiente stazionario



■ canali Cl⁻

■ canali/trasportatori Na⁺

● pompa Na⁺/K⁺

■ acquaporine