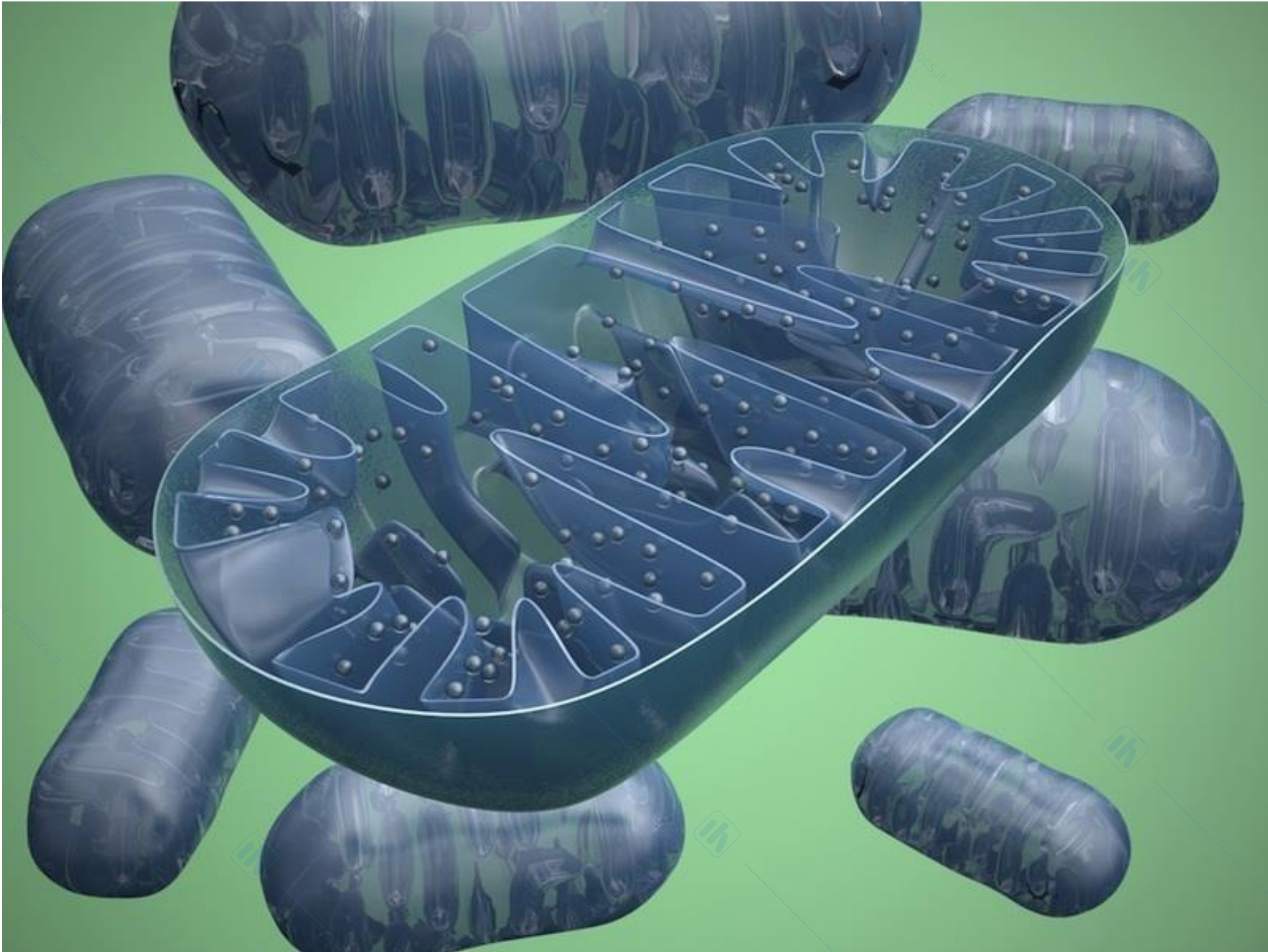


Mitocondri



Origine dei mitocondri

ENDOSIMBIOSI

Mitocondri
Cloroplasti

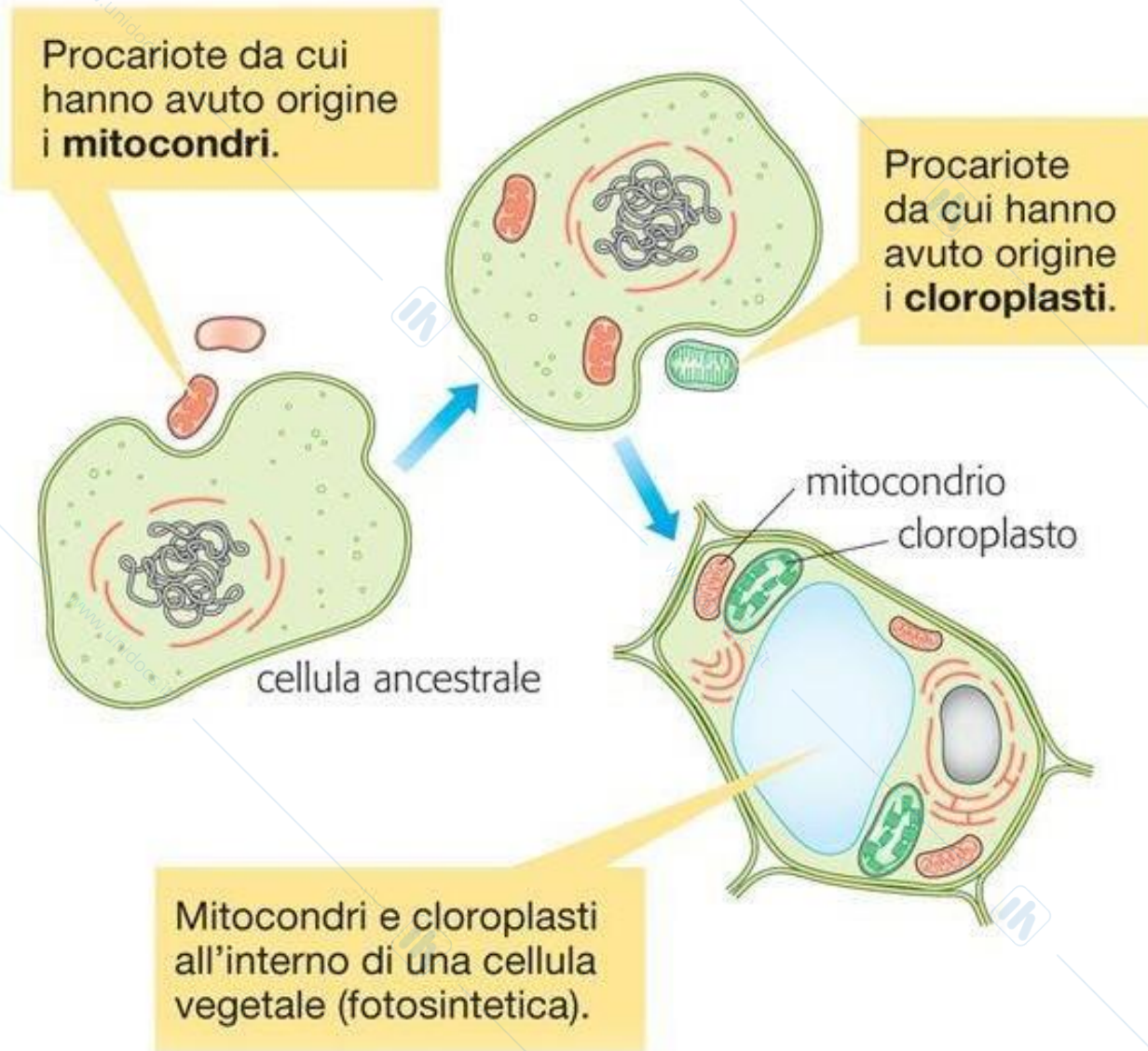


Hanno dimensioni
simili ai batteri



Il processo dell'endosimbiosi ipotizza che **Cellule Eucariotiche Ancestrali** si siano evolute grazie ad una associazione simbiotica con cellule di **Procarioti** aventi migliori capacità nell'utilizzo dei substrati metabolici

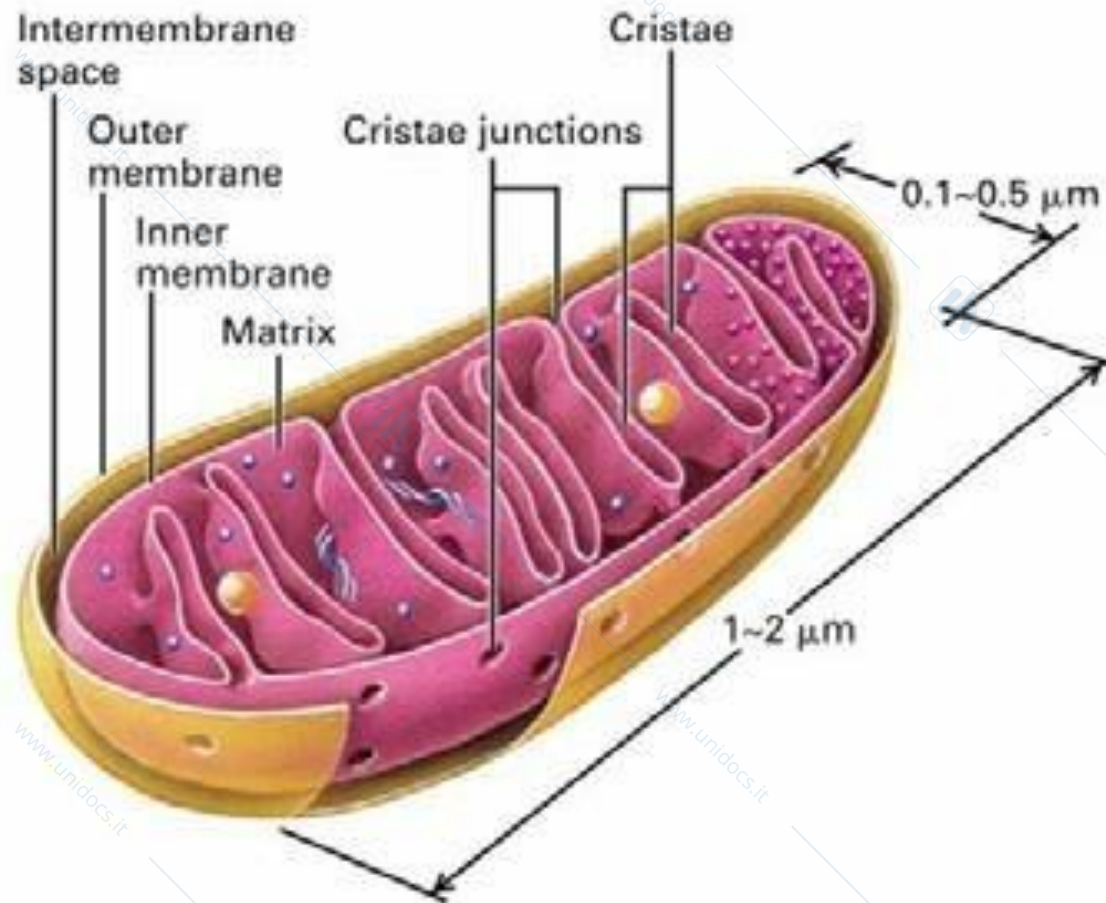
La teoria endosimbiontica



I mitocondri e i cloroplasti derivano da procarioti primitivi entrati all'interno di cellule più grandi con le quali hanno stabilito una relazione simbiotica.

Mitocondri

1 μm = 0,001 mm



Lunghezza 1-2 μm (10 μm max)
Larghezza 0,1-0,5 μm (2 μm max)

- Sia numero che organizzazione morfologica molto varia
- Generalmente da 1000 a 2000 per cellula.
- Numero vario a seconda del tipo cellulare, ad esempio oocita 30,000.
- Elevato numero di mitocondri = elevata richiesta energetica da parte della cellula (molto numerosi nelle fibrocellule muscolari)
- Mitocondri delle cellule epatiche contengono il 30%-35% delle proteine

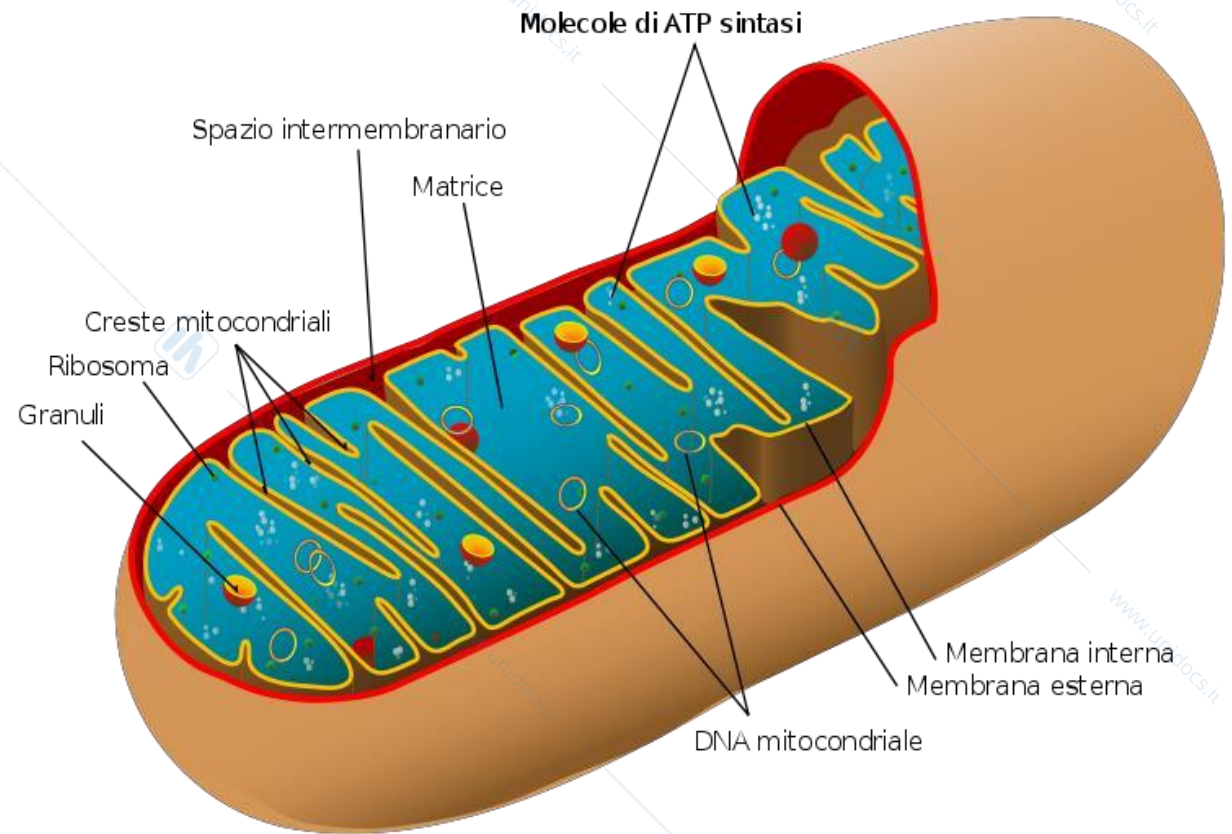
Struttura e componenti

Membrana esterna. Poiché contiene una grossa proteina (chiamata porina) che forma un canale, la membrana esterna è permeabile ad un elevato numero di molecole.

Spazio intermembrana. Contiene parecchi enzimi.

Membrana interna. E' ripiegata in numerose creste che aumentano di molto la sua superficie totale. Essa contiene proteine con tre tipi di funzioni.

Matrice. Contiene una miscela altamente concentrata di centinaia di enzimi. La matrice contiene anche parecchie copie identiche del DNA del genoma mitocondriale, speciali ribosomi mitocondriali, tRNA.



Variazioni morfologiche

Le creste differiscono in lunghezza, forma e numero, a seconda delle richieste energetiche della cellula

Cellule normali

Creste si allungano per metà della matrice

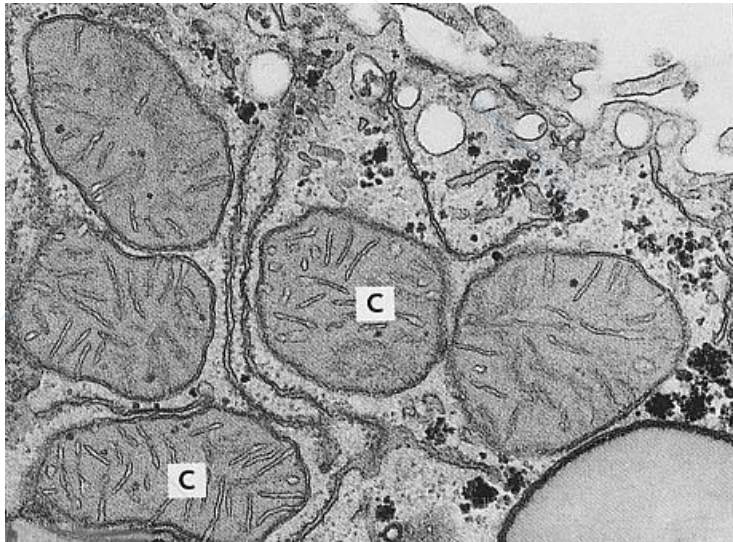
Creste corte in corrispondenza di bassa richiesta energetica

Cellule Muscolari

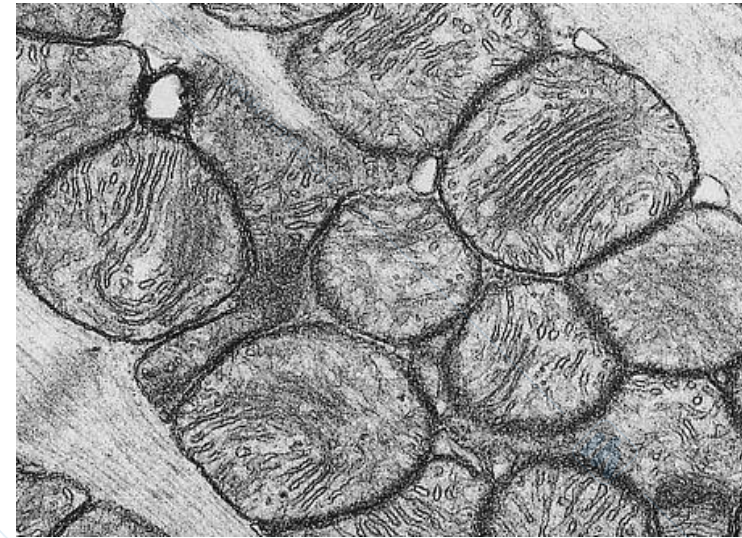
Creste attraversano tutta la matrice

Creste impacchettate molto strette

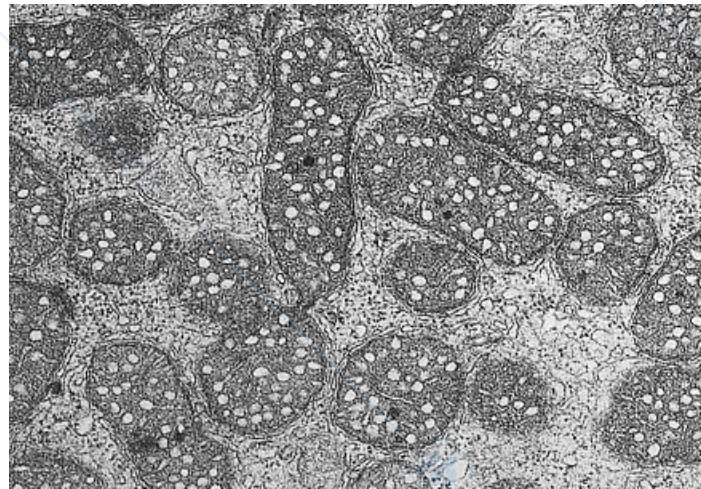
Numero elevato in corrispondenza di elevata richiesta energetica



Mitocondri "Classici"
Criste a ripiani
Attraversano metà della matrice



Mitocondri Attivi
Criste a ripiani strettamente impilate
Attraverso tutta la matrice



Mitocondri delle Cellule Secernenti Steroidi
Criste tubulari o circolari

Composizione chimica

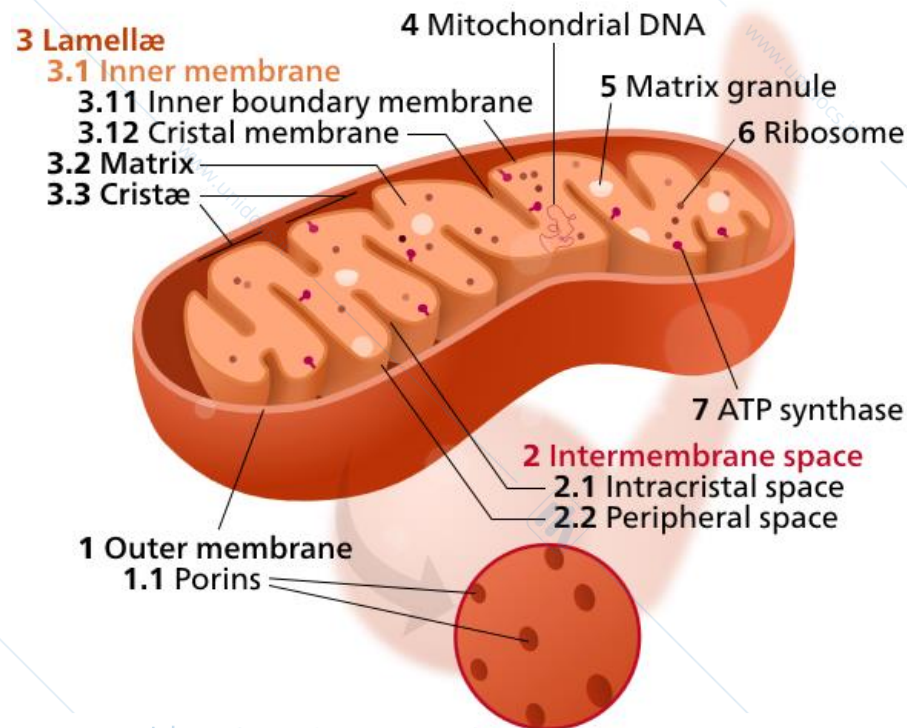
I mitocondri sono composti principalmente da proteine, in misura minore da lipidi e sono presenti in piccola quantità acidi nucleici.

Proteine 65-70%

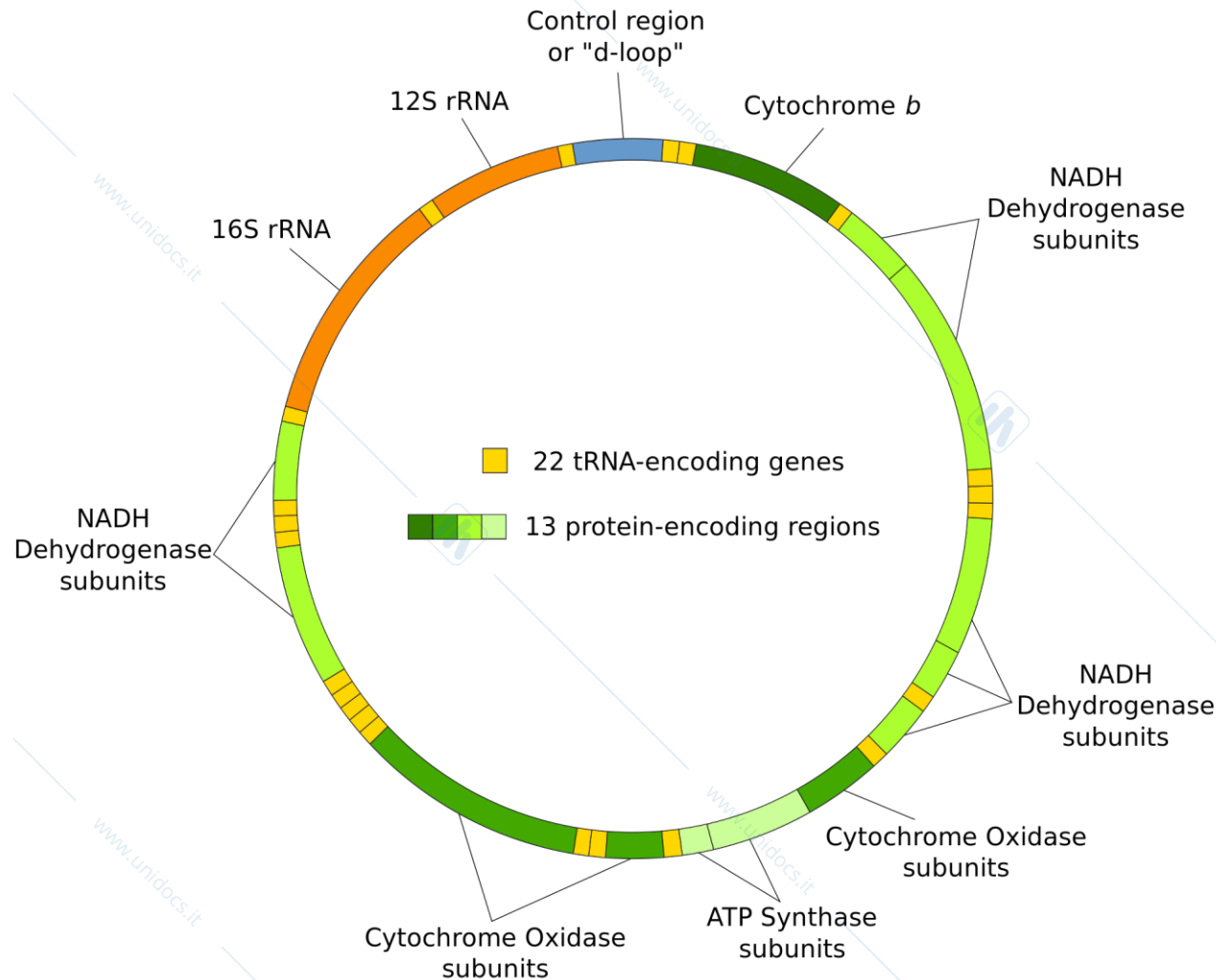
Lipidi 25-30%

RNA-DNA 0,5%

- **Membrana esterna** ha elevata permeabilità ed ha un più alto contenuto lipidico (40-50%)
- **Membrana interna** ha bassa permeabilità ed ha un basso contenuto lipidico (20%).
Composizione molecolare simile alla membrana batterica



DNA Mitochondriale

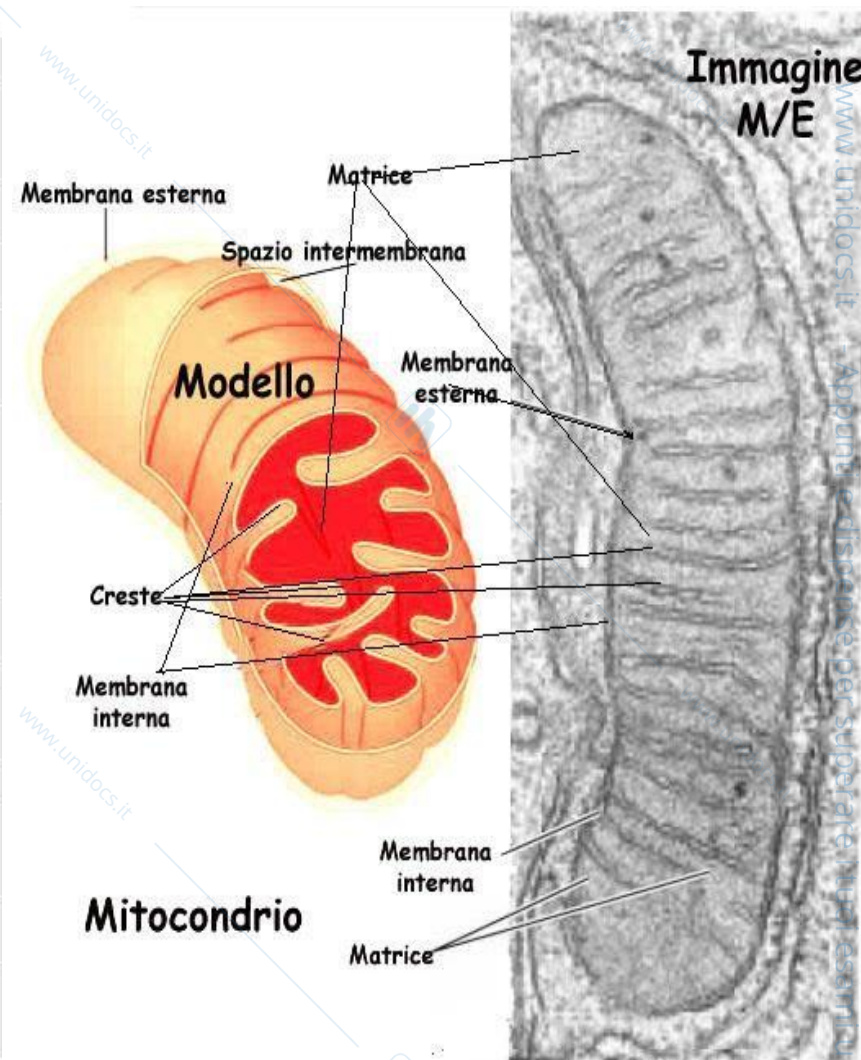


Nell'uomo il DNA mitocondriale consta di circa **16500** paia di basi e **37 geni** (che codificano per **13 polipeptidi** sintetizzati dal ribosoma mitocondriale, **22 tRNA e 2 rRNA**), coinvolti nella produzione di proteine necessarie alla respirazione cellulare.

Ogni mitocondrio nell'uomo porta circa dieci copie del genoma mitocondriale associate in regioni nucleoli multiple. Comunque molte proteine presenti nei mitocondri sono codificate dal DNA nucleare: si ritiene che alcune di esse facessero parte in origine del mtDNA e durante l'evoluzione siano state trasferite nel nucleo.

Tab. I Localizzazione dei principali enzimi mitocondriali

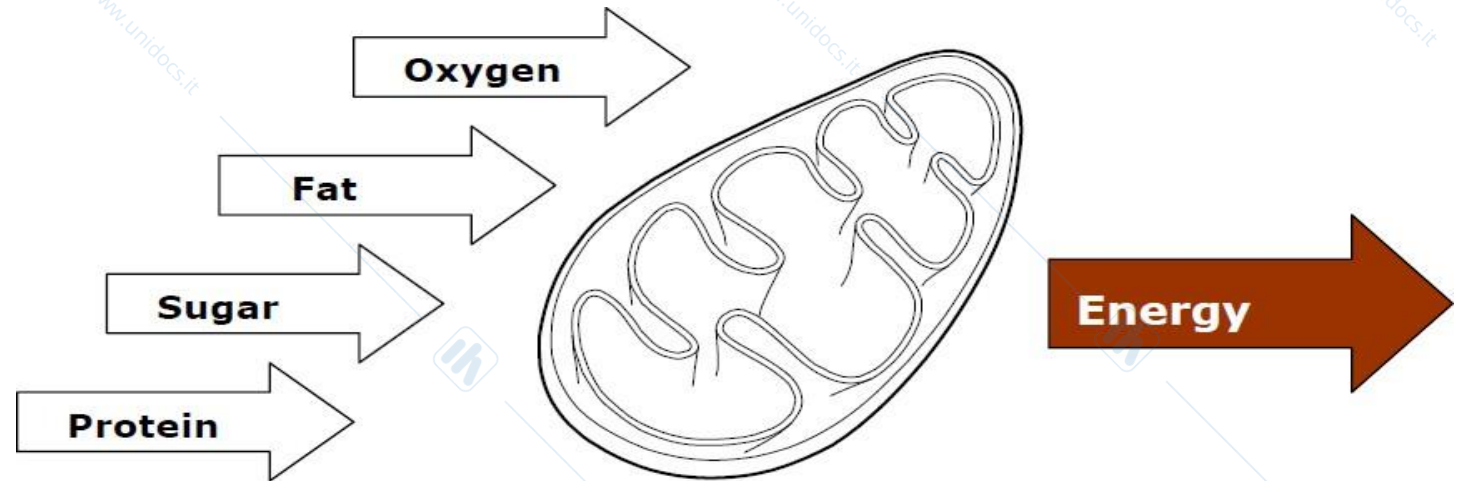
MEMBRANA ESTERNA	SPAZIO INTERMEMBRANA	MEMBRANA INTERNA	MATRICE
citocromo b_5	adenilato-chinasi	catena respiratoria (complessi I-IV)	piruvato-deidrogenasi
citocromo b_5 riduttasi	nucleoside-difosfochinasi	citocromo c	citrato-sintetasi
monoammino-ossidasi	solfito-ossidasi	ubichinone	aconitasi
chinurenina-idrossilasi	AIF (fattore che induce l'apoptosi)	tutti i carrier mitocondriali	isocitrato-deidrogenasi
colina-fosfotransferasi	superossido-dismutasi	flavoproteine trasferenti elettroni	fumarasi
glicerolo-fosfato-aciltransferasi	endonucleasi G	ATP-sintetasi	α -chetoglutarato-deidrogenasi
nucleoside-difosfochinasi	nucleoside-difosfochinasi	β -idrossibutirrato-deidrogenasi	malato-deidrogenasi
carnitina-palmitil-transferasi I		carnitina-palmitil-transferasi II	enzimi dell'ossidazione degli acidi grassi
sistema di sintesi e allungamento degli acidi grassi legati ad acil-CoA		sistema di allungamento degli acidi grassi	glutammato-deidrogenasi
GTPasi			ornitina-transcarbamilasi
TOM (traslocasi della membrana esterna)		TIM (traslocasi della membrana interna)	



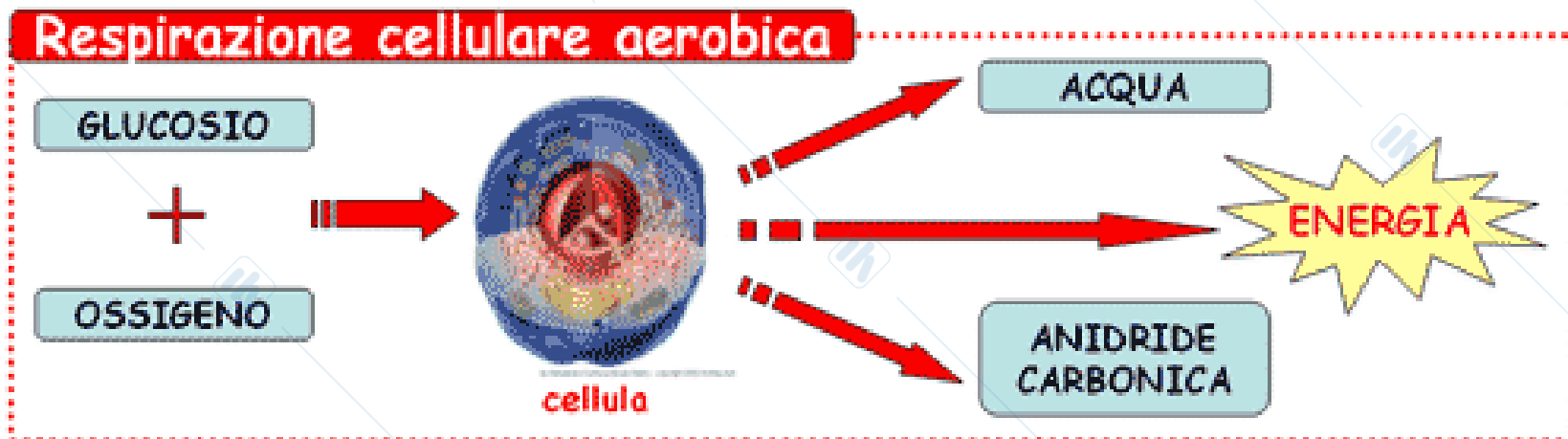


MITOCHONDRIA
THE CELL'S POWER HOUSE

Funzione dei mitocondri

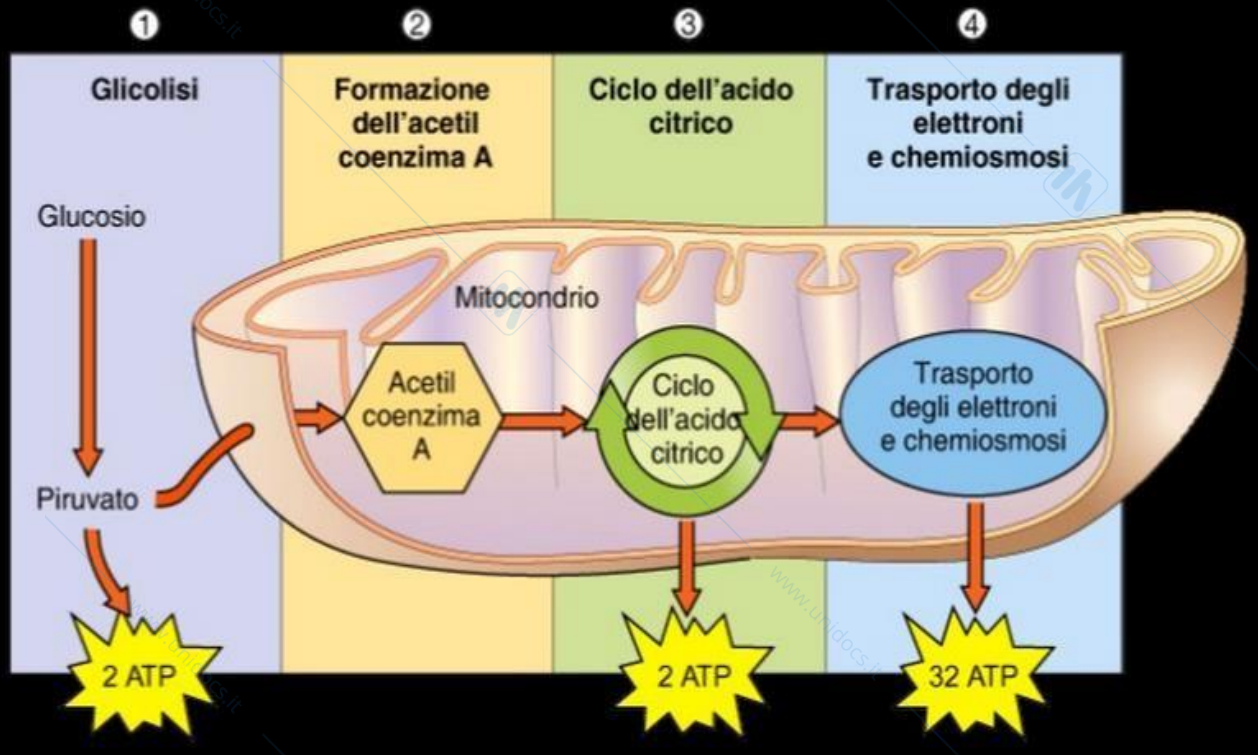


Carboidrati, **aminoacidi** e **acidi grassi** introdotti come alimento dentro le cellule vengono assorbiti dai mitocondri che li *ossidano* fino ad CO_2 e H_2O , e utilizzano l'energia ricavata per convertire adenosin-difosfato (ADP) in adenosin-trifosfato (**ATP**) mediante l'aggiunta di fosfato inorganico, ricostituendo così la tipica molecola responsabile dei trasferimenti di energia del mondo vivente.



Lo schema tipico della respirazione cellulare si può suddividere in 4 fasi:

Funzione dei Mitochondri



La respirazione cellulare è l'insieme dei processi metabolici con cui le cellule ottengono **energia** attraverso la scomposizione dei nutrienti in molecole più semplici.

- Glicolisi
- Decarbossilazione del Piruvato
- Ciclo di Krebs
- Fosforilazione Ossidativa

Dal punto di vista fisiologico i mitocondri sono degli apparati la cui funzione è quella di recuperare l'energia contenuta negli alimenti, per mezzo di un ciclo biosintetico detto "Ciclo di Krebs" e della "Catena Respiratoria".

Per mezzo della fosforilazione, l'energia recuperata viene conservata come ATP.

Il ciclo dell'acido tricarbossilico (TCA cycle), noto anche come *ciclo dell'acido citrico* o **ciclo di Krebs**, rappresenta il destino metabolico comune a tutte le molecole catabolizzate dai mitocondri: acidi grassi, chetoni, carboidrati e aminoacidi.

Il primo carburante del TCA è l'acetil-CoA, il quale proviene dal piruvato (prodotto della glicolisi o del catabolismo di alcuni aminoacidi) o dalla β -ossidazione degli acidi grassi.

L'acetil-CoA catabolizzato nel TCA cycle viene ossidato ad anidride carbonica (2CO_2) e in questo processo produce dei cofattori ridotti (3 molecole di NADH e 1 di FADH_2), che saranno fonte di elettroni per la catena di trasporto della fosforilazione ossidativa.

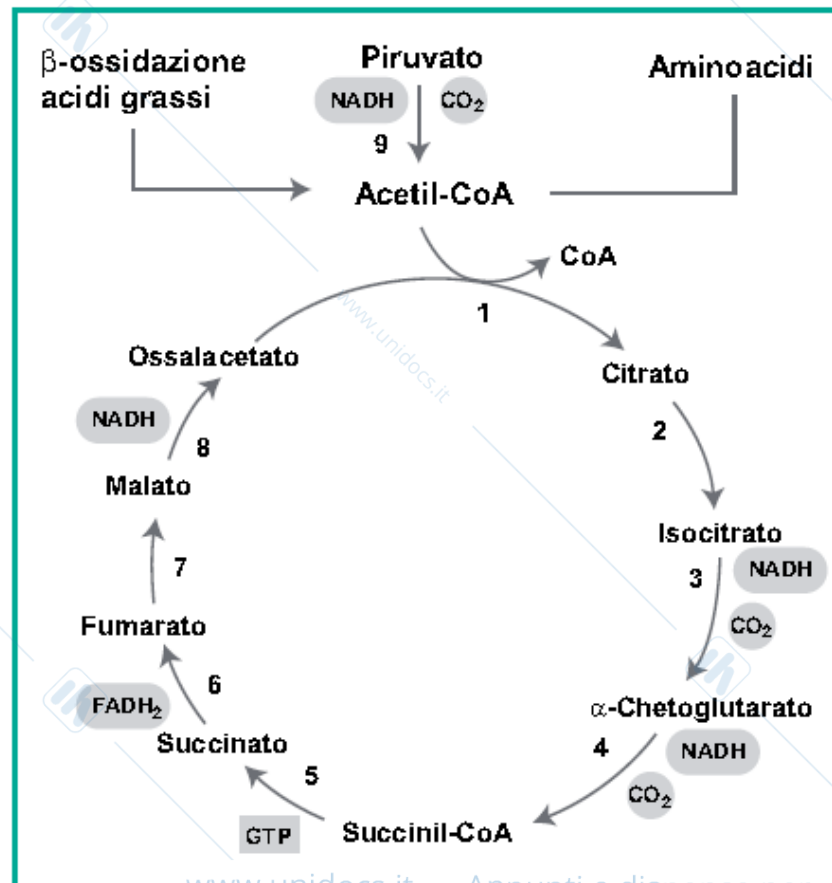


Fig. 7.3 Ciclo dell'acido tricarbossilico (TCA) con l'ingresso dell'acetil-CoA proveniente da acidi grassi, carboidrati, aminoacidi e le reazioni che portano alla produzione dei ridotti equivalenti (NADH, FADH_2), fosforilazione a livello del substrato (GTP), o decarbossilazione (CO_2). La resa netta di una tornata del ciclo è di 2CO_2 , 1GTP, 3NADH + H^+ 1 FADH_2 . Gli enzimi coinvolti: 1) citrato sintetasi; 2) aconitasi; 3) isocitrato deidrogenasi NAD-dipendente; 4) α -chetoglutarato deidrogenasi; 5) succinil-CoA sintetasi; 6) succinato deidrogenasi; 7) fumarasi; 8) malato deidrogenasi. Il piruvato entra nel TCA attraverso il complesso della piruvato deidrogenasi (PDC)

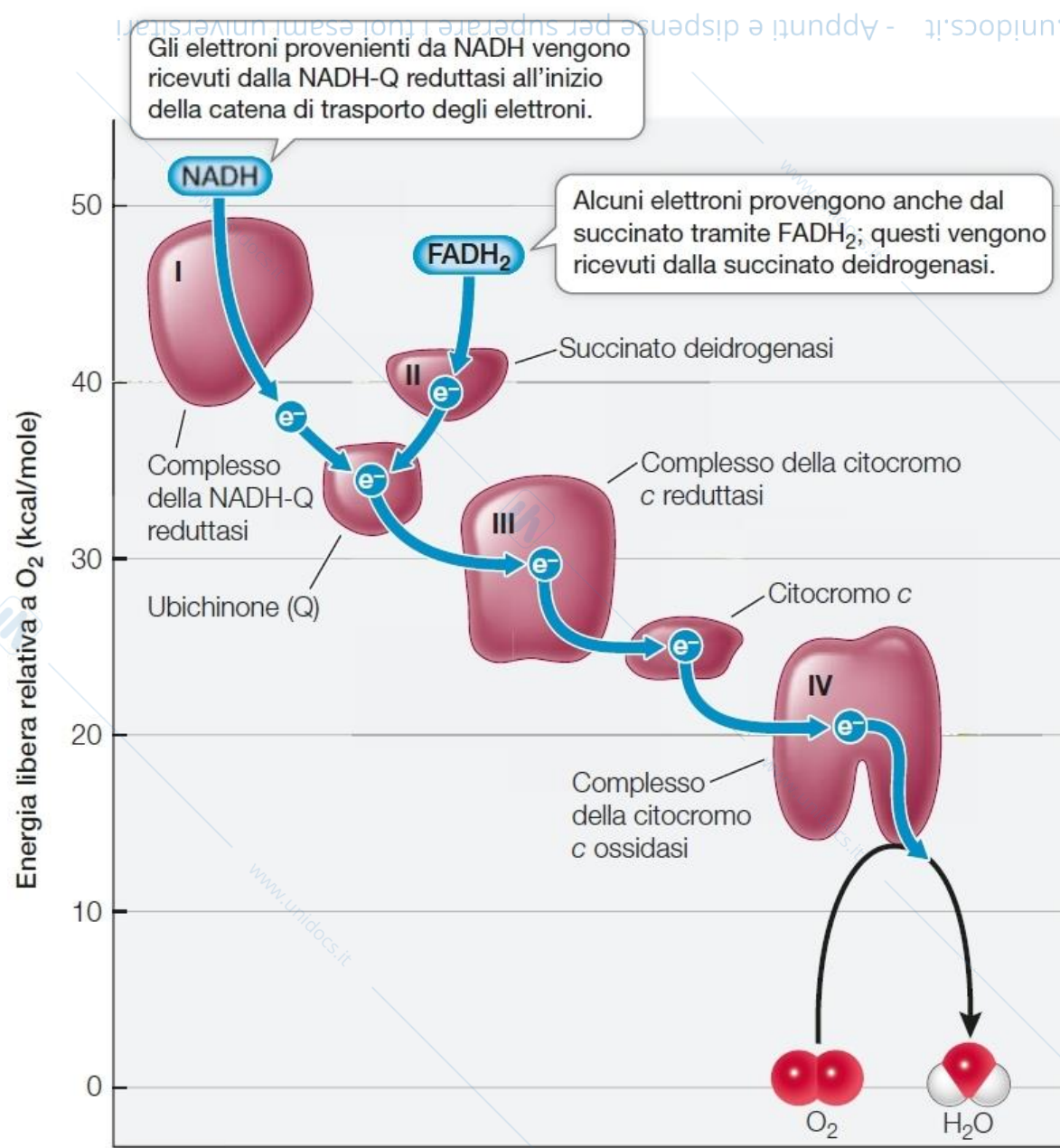
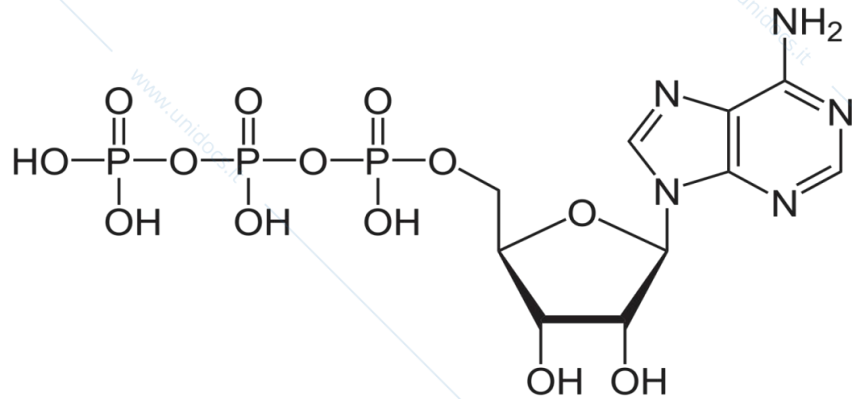


Figura 9.7 L'ossidazione di NADH e FADH₂ nella catena respiratoria

Gli elettroni provenienti da NADH e FADH₂ procedono lungo la catena respiratoria, una serie di complessi proteici presenti nella membrana mitocondriale interna che comprendono trasportatori di elettroni ed enzimi. I trasportatori di elettroni assorbono energia libera quando si riducono e la cedono ossidandosi. Questa illustrazione mostra le variazioni dell'energia libera standard lungo la catena respiratoria.

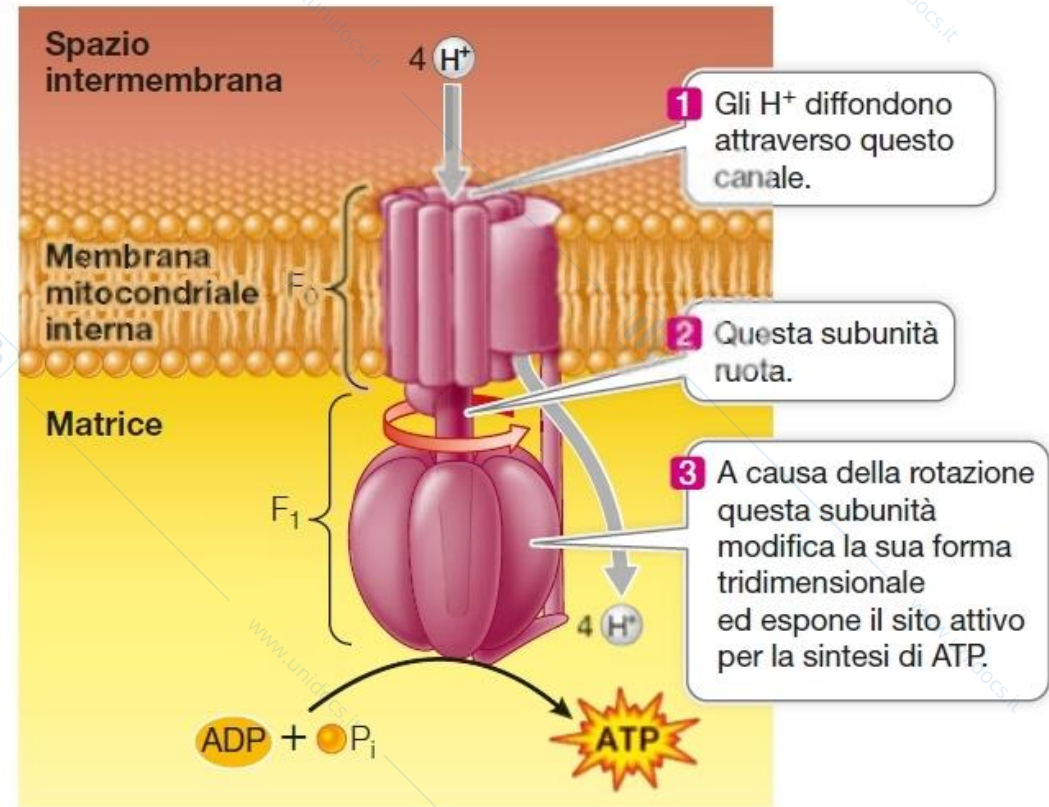
ATP

Adenosina trifosfato

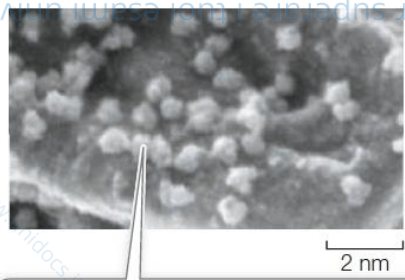
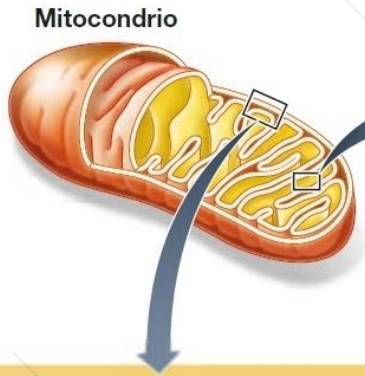


La funzione principale dei mitocondri nelle cellule eucariotiche è la produzione di adenosintrifosfato (ATP). Questa molecola fornisce l'energia richiesta per la costruzione e il mantenimento delle cellule (e degli organismi che esse compongono) donando uno o due gruppi fosforici e rilasciando, quindi, molecole di adenosindifosfato (ADP) ovvero adenosinmonofosfato (AMP), rispettivamente. Le riserve di energia, sotto forma di ATP, non sono infinite nell'organismo e devono perciò essere risintetizzate di continuo dai mitocondri attraverso il metabolismo di substrati come carboidrati lipidi e proteine

(A) La struttura dell'ATP sintasi



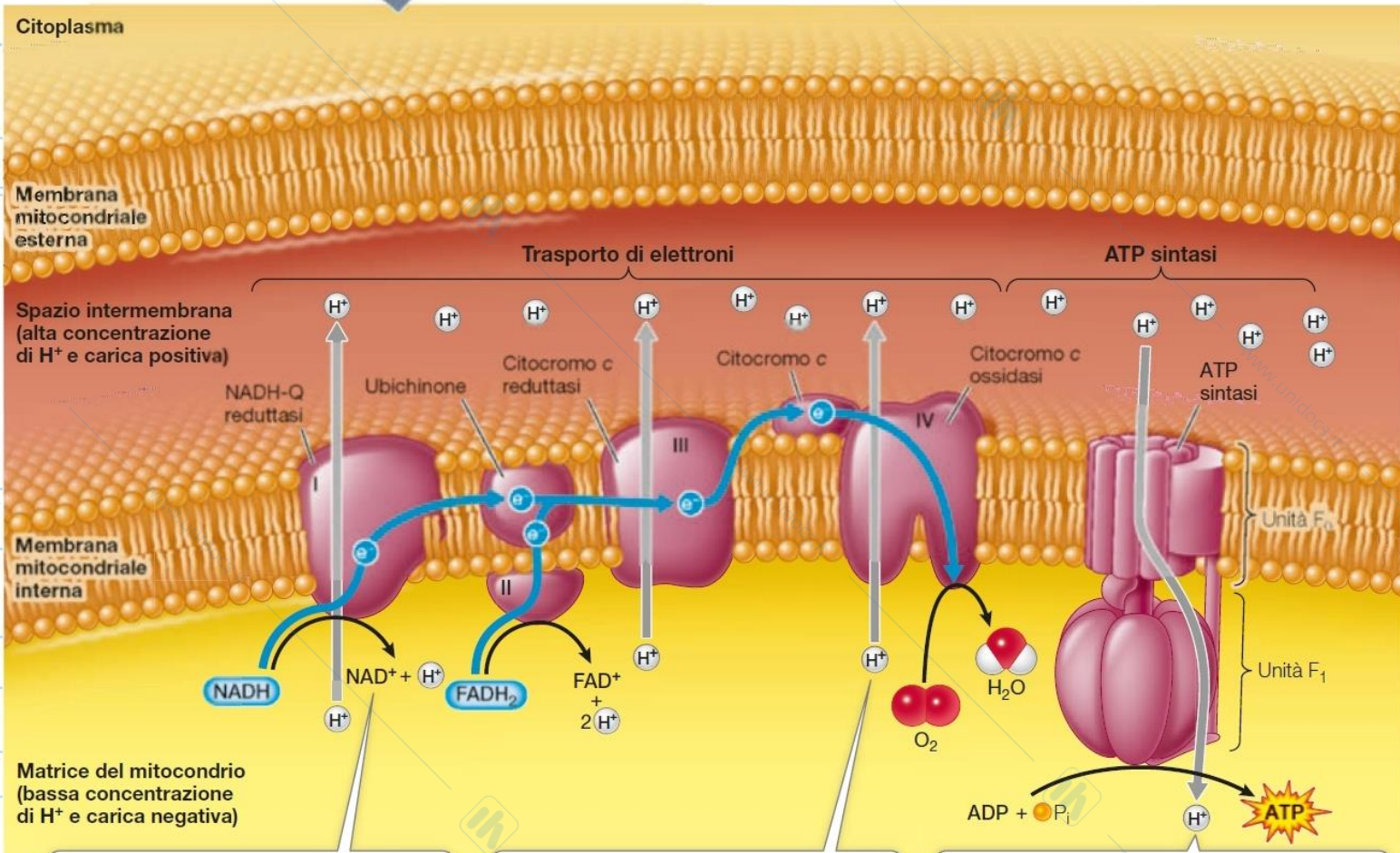
La chemiosmosi converte l'energia potenziale di un gradiente di concentrazione protonica in energia chimica nell'ATP



Un'immagine della membrana mitocondriale interna a forte ingrandimento. Le unità F_1 dell'ATP sintasi, qui unite ad altre proteine a formare i complessi, si proiettano all'interno della matrice mitocondriale e catalizzano la sintesi di ATP.

Figura 9.8 La catena respiratoria e l'ATP sintasi producono ATP tramite il meccanismo della chemiosmosi

Quando gli elettroni passano attraverso i complessi delle proteine transmembrana della catena respiratoria, i protoni vengono trasferiti dalla matrice mitocondriale allo spazio intermembrana. Quando i protoni ritornano nella matrice avviene la sintesi dell'ATP.



1 Gli elettroni (trasportati da NADH e $FADH_2$) provenienti dalla glicolisi e dal ciclo dell'acido citrico alimentano i trasportatori di elettroni della membrana mitocondriale interna, i quali trasferiscono i protoni al di fuori della matrice fino nello spazio intermembrana.

2 Il trasferimento di protoni crea un disequilibrio di H^+ (e quindi una differenza di carica) tra lo spazio intermembrana e la matrice. Questo disequilibrio corrisponde alla forza motrice protonica.

3 La forza motrice protonica spinge i protoni nella matrice attraverso il canale per H^+ dell'ATP sintasi (l'unità F_0). Tale movimento di protoni viene accoppiato alla formazione di ATP nell'unità F_1 .

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

Fosforilazione ossidativa

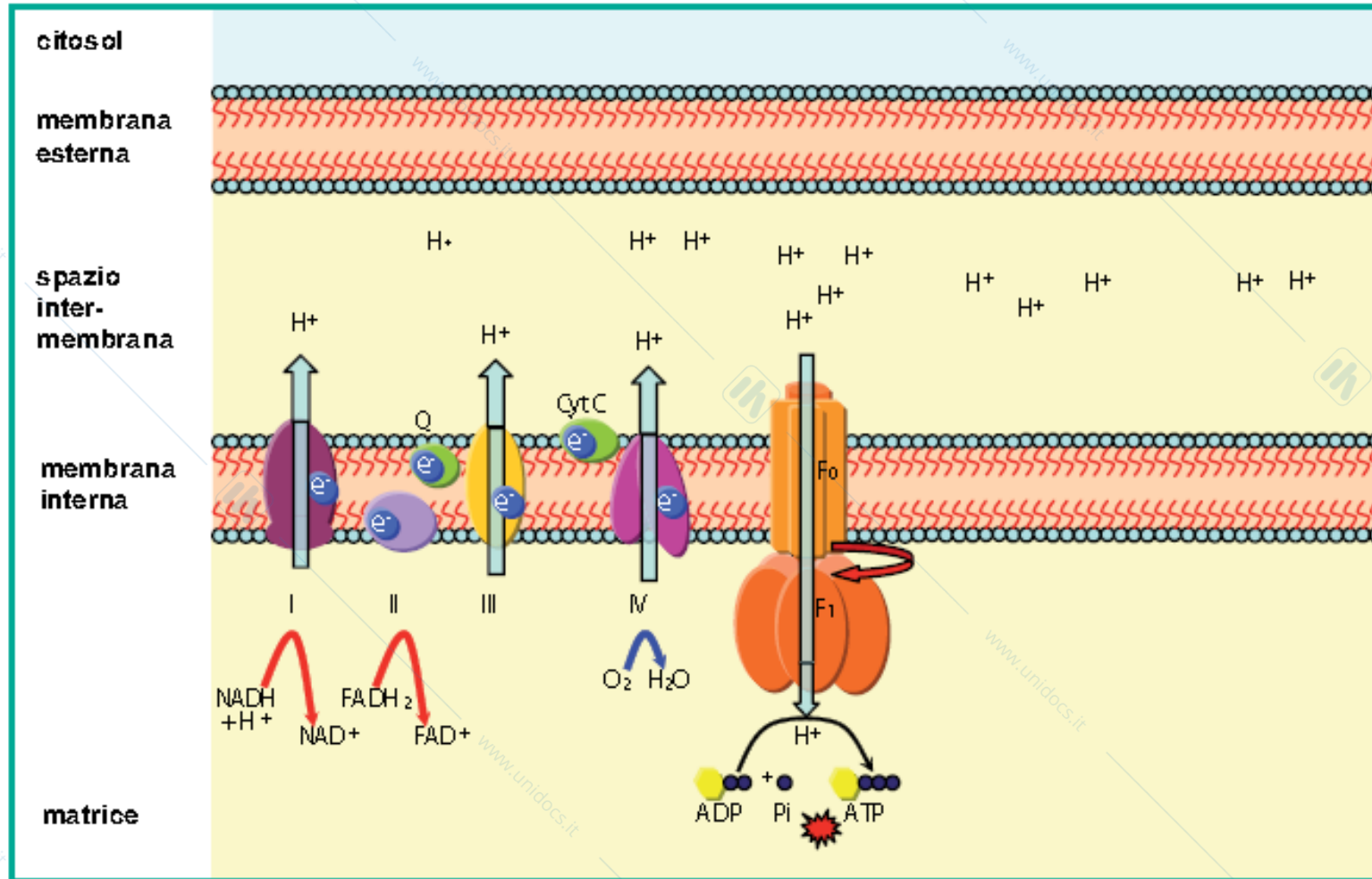
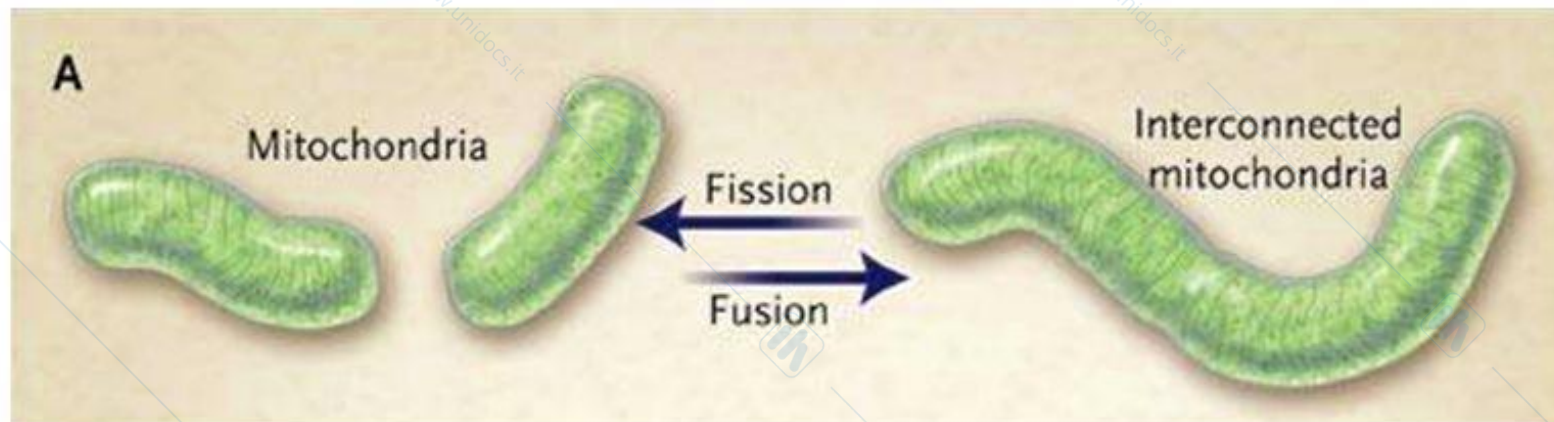


Fig.7.4 Schema della fosforilazione dell'ADP ad ATP a cavallo della membrana interna mitocondriale. Al passaggio degli elettroni (e^-) sui complessi enzimatici I, III e IV, i protoni (H^+) vengono pompati dalla matrice allo spazio inter-membranale, generando così un potenziale di membrana elettrochimico. Questa forza proton-motrice guida la fosforilazione dell'ADP. Il ritorno dei protoni verso la matrice attraverso la pompa ATP-sintetasi (V complesso) è accoppiato alla sintesi di ATP. Il meccanismo chemiosmotico che associa una reazione esoergonica (la catena di trasporto degli elettroni) a una reazione endoergonica (la produzione di ATP) non è efficiente al 100% e parte dell'energia è dissipata sotto forma di calore [1]

Fusione e Fissione



Fusione

necessaria a distribuire il mtDNA alla popolazione di mitocondri, mantenimento di organelli funzionali

Fissione

distribuire gli organelli a tutti i distretti della cellula, segregazione dei contenuti (mitocondri sani e impoveriti), generazione di variabilità nei fenotipi dei mitocondri per rispondere a necessità diverse nei vari distretti cellulari

Aging

Mitochondrial fusion



Mitochondrial fission



Increased mtDNA mutations
Increased ROS generation
Enhanced oxidative damage
Reduced ATP levels



Altered mitochondrial dynamics

Defective mitophagy

Mitochondrial damage



Mitochondrial dysfunction

Age-related disorders

- Metabolic syndrome
- Neurodegenerative disease
- Cardiac disease
- Cancer

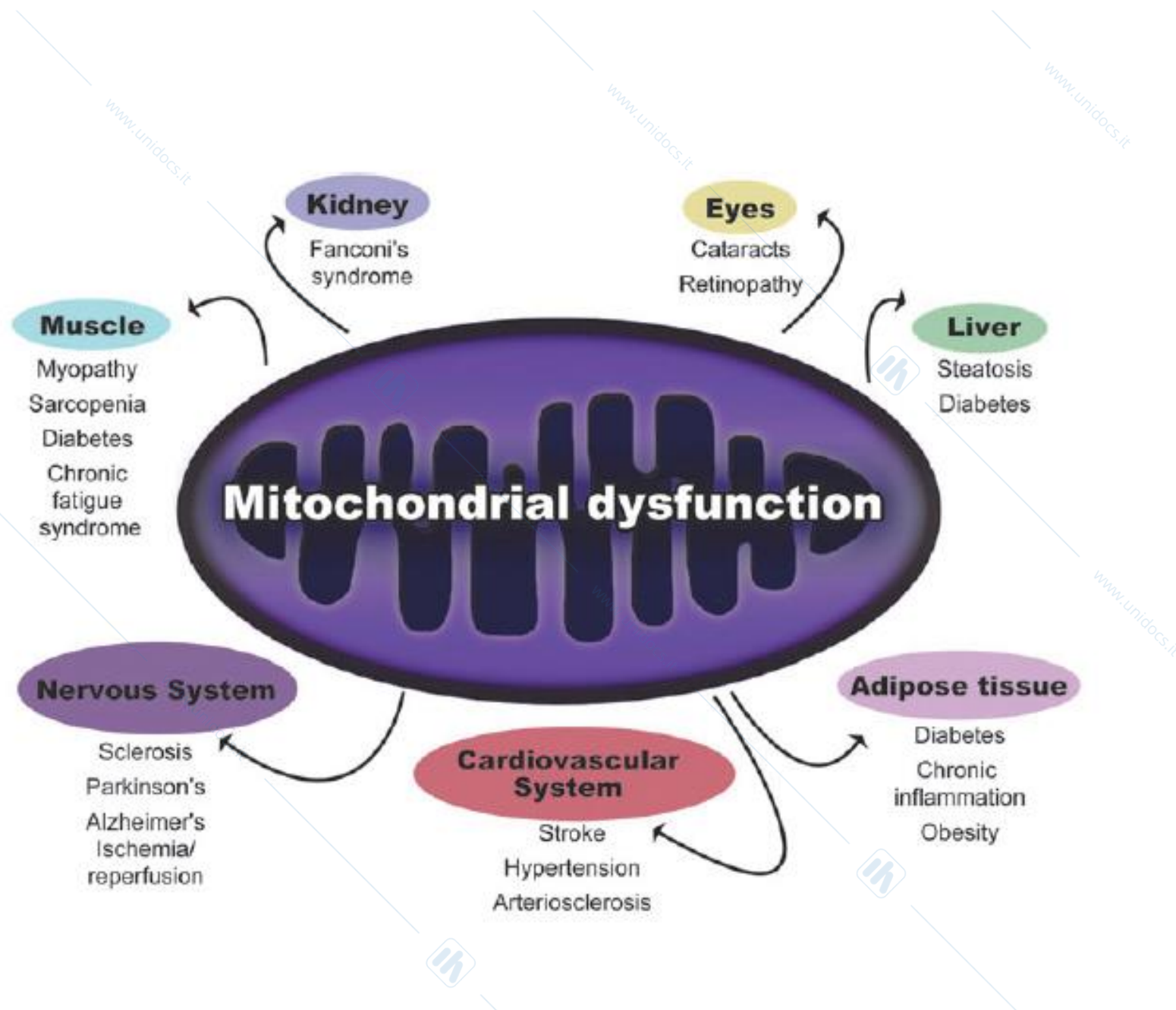
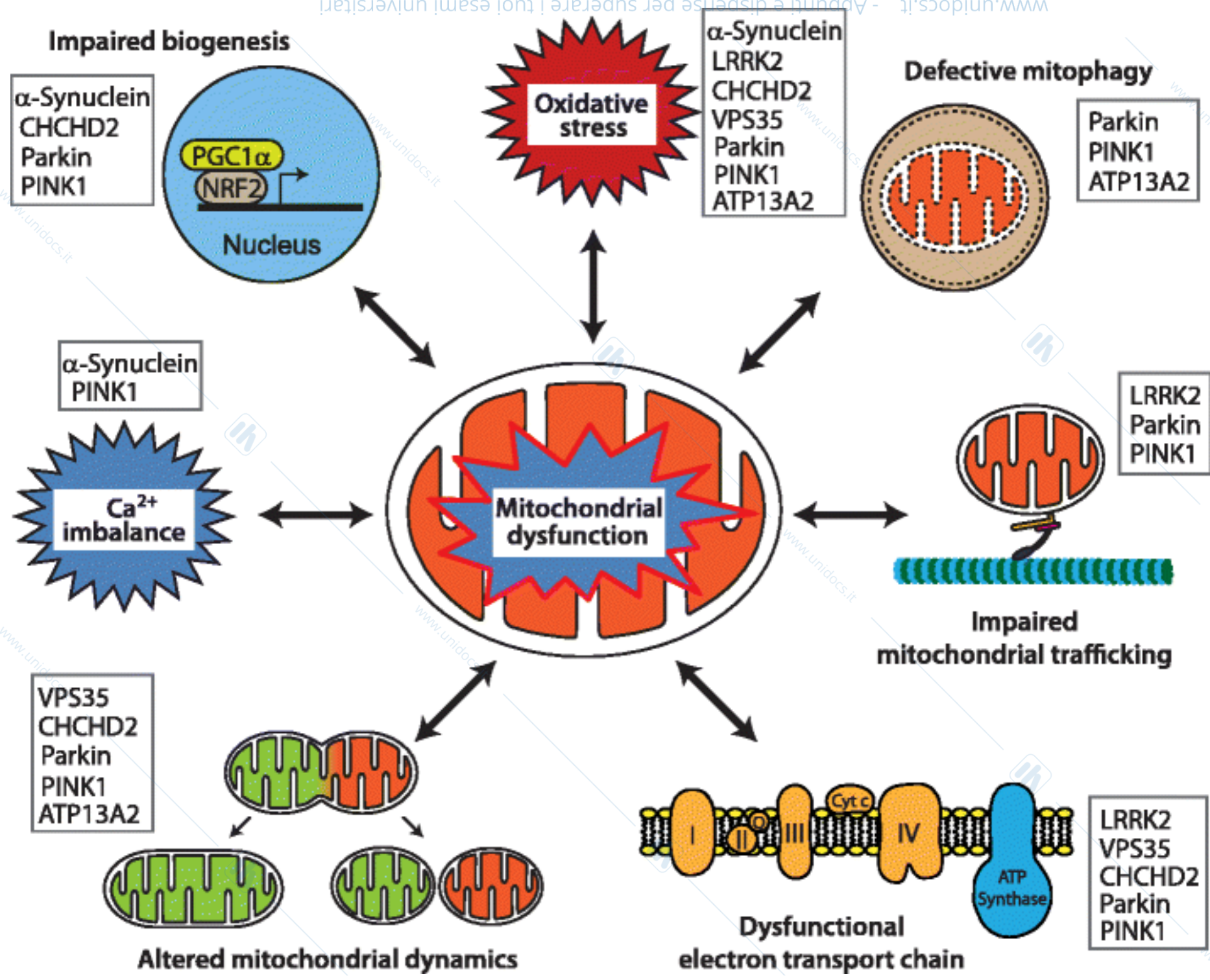


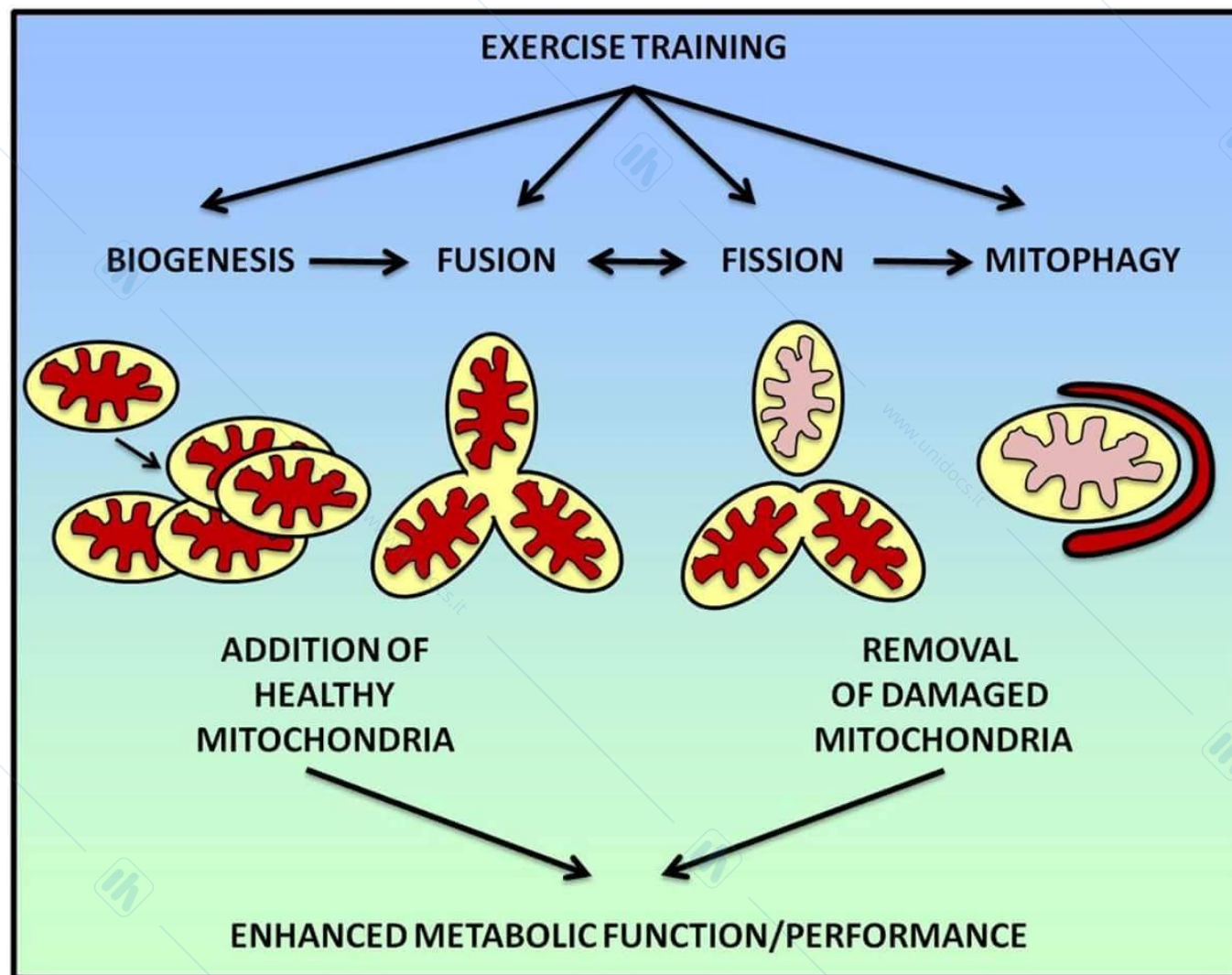
FIG. 2. Mitochondrial dysfunction promotes diseases. Impaired mitochondrial metabolism has been correlated to many diseases. The organs with higher energetic requirements have been found to be most altered by mitochondrial dysfunction. To see this illustration in color, the reader is referred to the web version of this article at www.liebertpub.com/ars



BENEFICI DELL'ESERCIZIO FISICO SUI MITOCONDRI

- L'esercizio fisico promuove la biogenesi, fusione, fissione e mitofagia mitocondriale.

Ciò porta alla formazione di nuovi mitocondri e la rimozione di quelli danneggiati / disfunzionali, migliorando così la funzionalità metabolica.



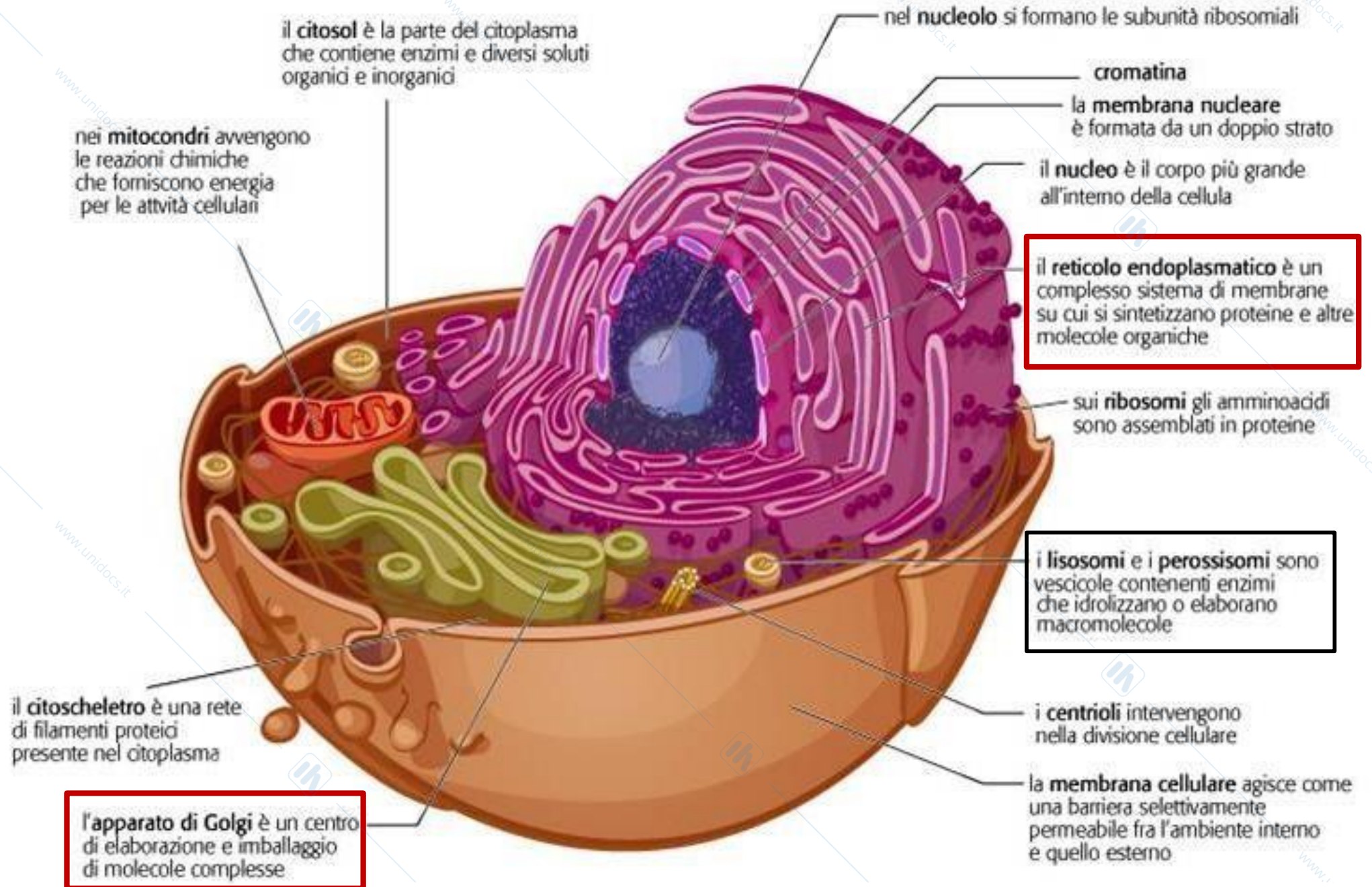
Yan et al. "Exercise training-induced Regulation of Mitochondrial Quality"

Exerc Sport Sci Rev. 2012 July ; 40(3): 159-164.

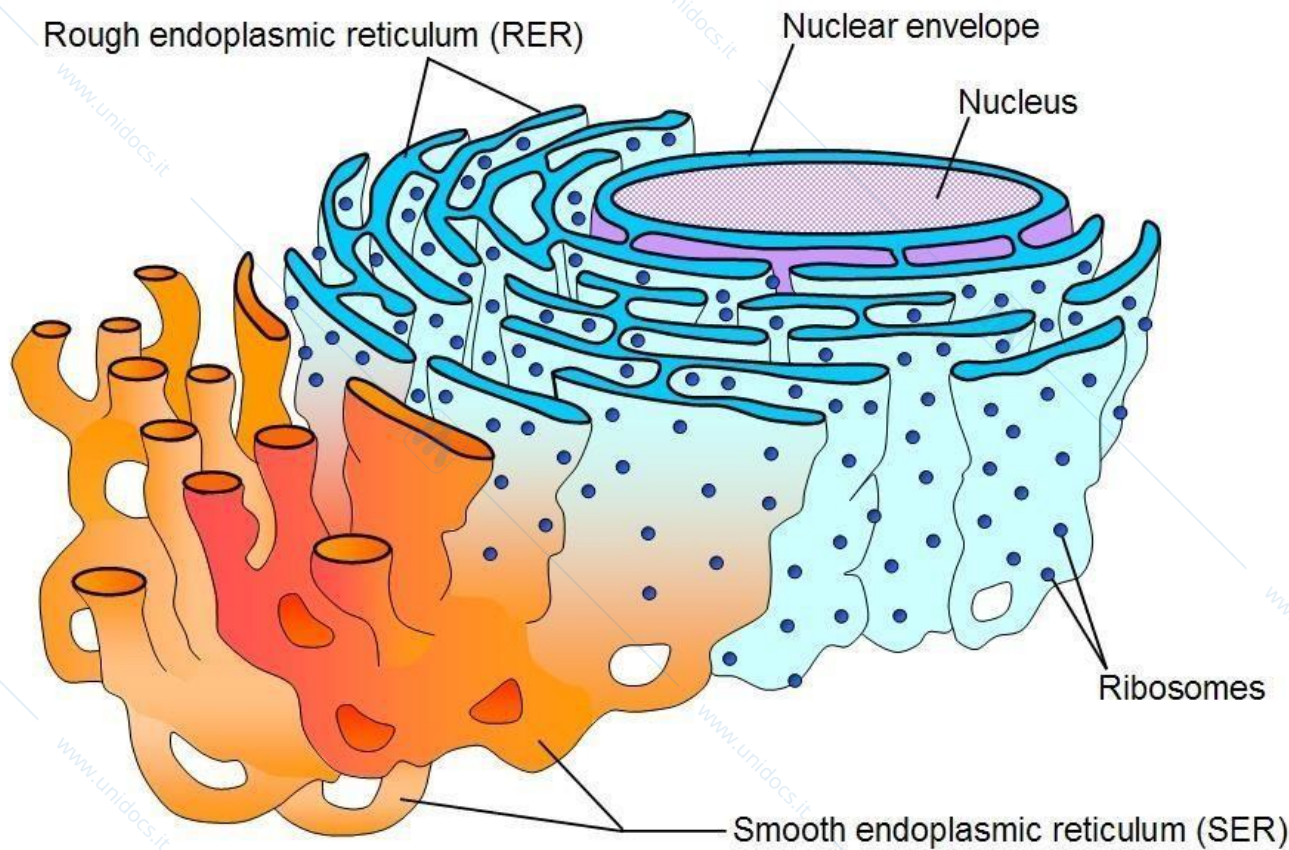
RETICOLO ENDOPLASMatico LISCIO, APPARATO DEL GOLGI, LISOSOMI E PEROSSISOMI

La Cellula Eucariotica

5-100 μm



Reticolo Endoplasmatico (RE): Struttura



Estesa RETE interconnessa di:

- **canalicoli o canali membranosi**
- **cisterne**
- **vescicole**

Tra i diversi compartimenti nelle cellule eucariotiche, le cisterne del RE rappresentano il complesso più esteso (50-90% della totalità delle membrane)

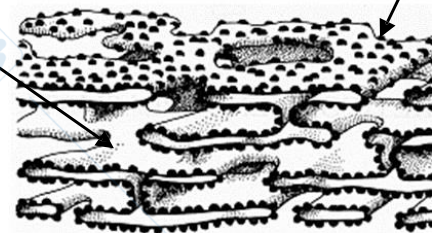
Il RE si suddivide in:

- Reticolo Endoplasmatico Ruvido (RER)
- Reticolo Endoplasmatico Liscio (REL)

cisterne

RIBOSOMI

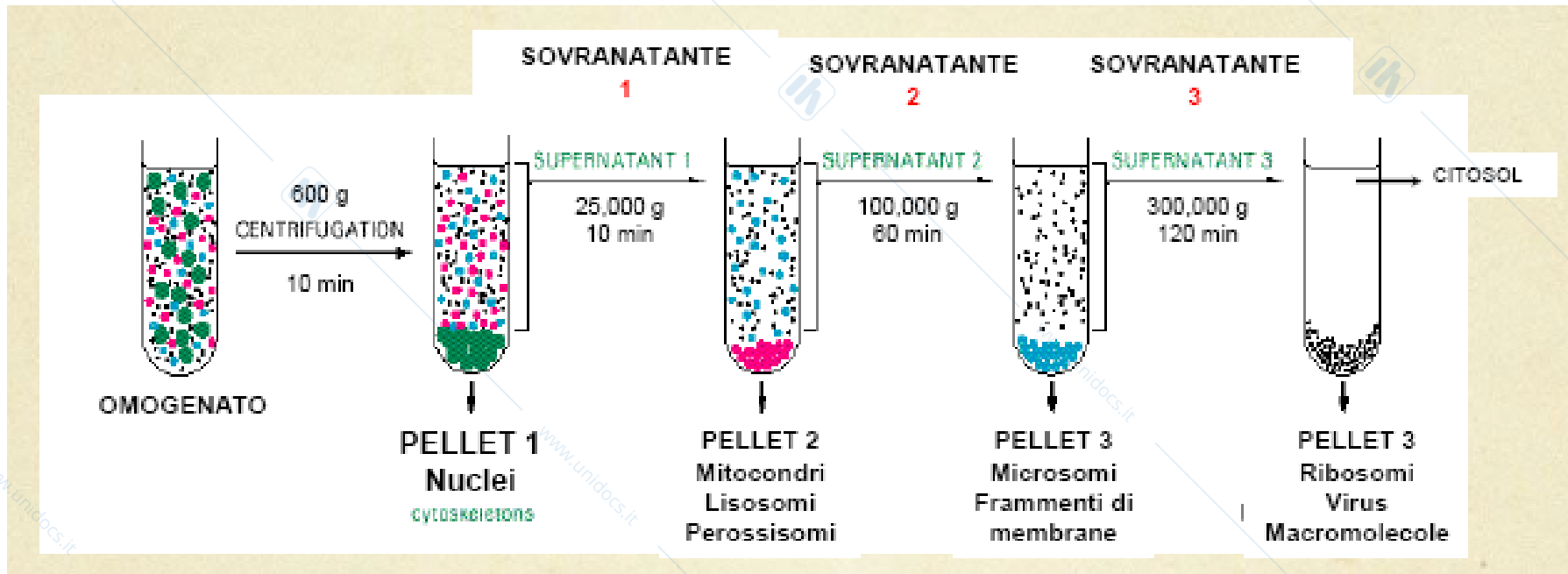
canalicoli



Le membrane del RE possono essere **isolate** da estratti cellulari attraverso:

Centrifugazione differenziale

Tecnica usata per il **frazionamento cellulare** centrifugando un campione cellulare per tempi brevi ed a velocità modeste, ottenendo la sedimentazione progressiva degli organelli, in dipendenza della densità e/o dimensioni (dai più densi e grandi ai meno densi e piccoli)

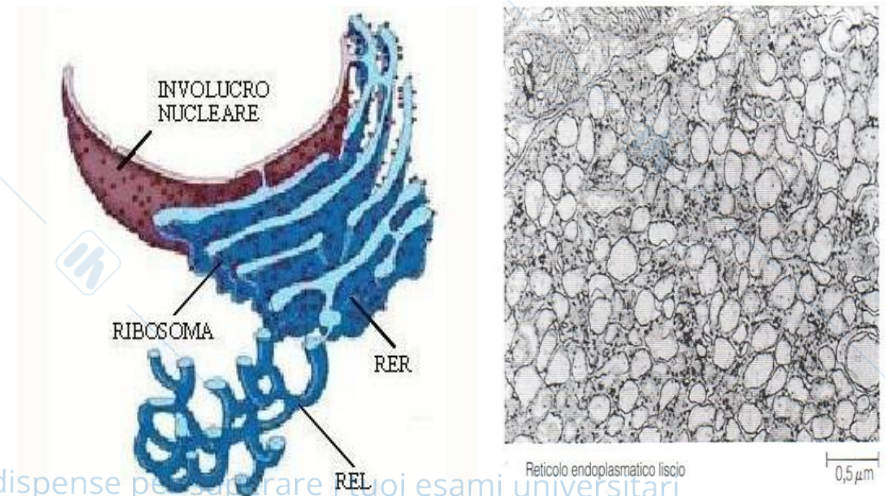
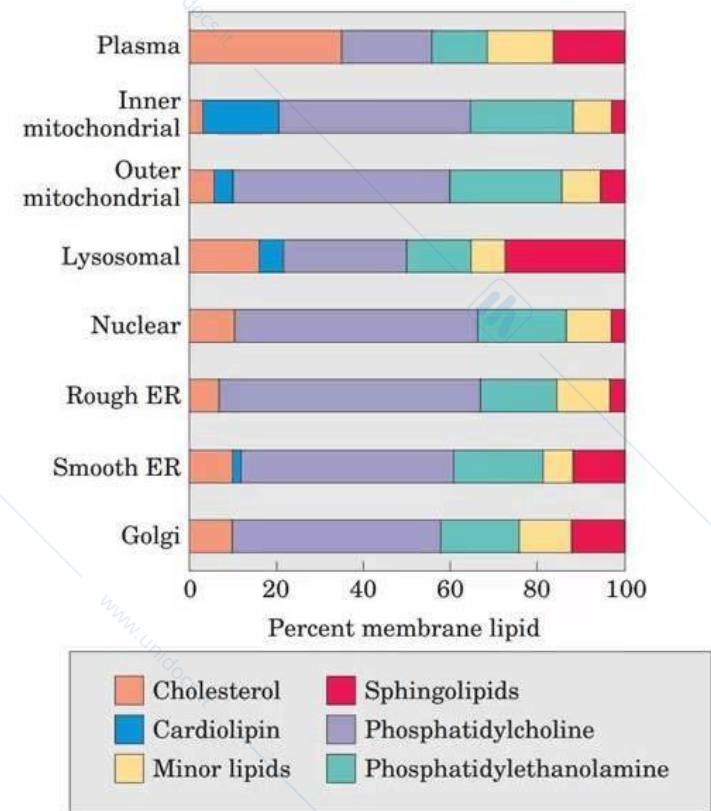


Centrifugazioni ripetute: serie di centrifugazioni opportune da cui si ottengono le principali frazioni sub-cellulari

Nel caso della *frazione microsomiale* (PELLET 3), si possono separare le vescicole del RER da quelle derivanti dal REL. Proprio queste **membrane purificate** vengono utilizzate per identificare la composizione dei due tipi di compartimenti

Reticolo Endoplasmatico Liscio (REL): Composizione

- I **lipidi** costituiscono il 35% della membrana del reticolo (la membrana cellulare ne contiene il 40%) tra questi troviamo il fosfatidilinositolo, i gangliosidi; lipidi meno abbondanti nella membrana cellulare.
- Le **proteine** costituiscono il 65-70% delle membrane del reticolo (la membrana cellulare ne contiene un 60%) e presentano quasi tutte un'attività enzimatica;



Reticolo Endoplasmatico Liscio (REL): Funzioni

Il Reticolo Endoplasmatico Liscio svolge molte funzioni **diverse**:

1. Metabolismo dei carboidrati

Glicogeno (epatociti)

2. Metabolismo dei lipidi

- Produzione degli acidi grassi
- Produzione dei fosfolipidi
- Sintesi degli steroidi

3. Detossificazione

In alcune cellule come gli epatociti svolge funzione detossificante

4. Immagazzinamento del Calcio

Nel tessuto muscolare, una porzione speciale del REL (reticolo sarcoplasmatico)

1. Metabolismo dei carboidrati

METABOLISMO DEL GLICOGENO

DEGRADAZIONE

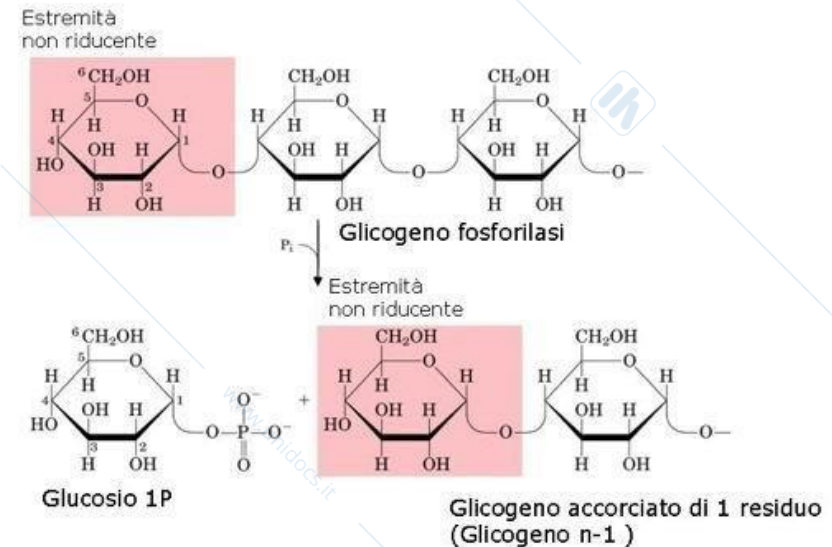
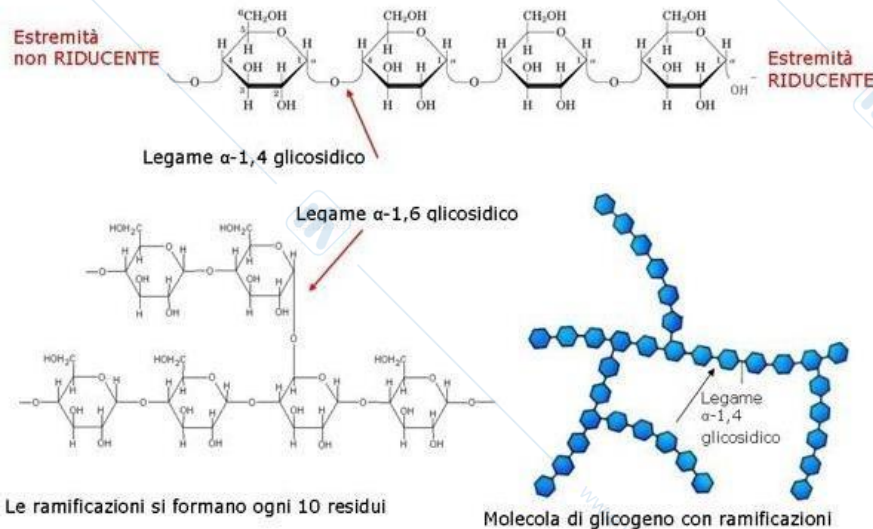
Idrolisi

Glicogeno fosforilasi

Enzima deramificante

Fosfoglucomutasi

1. Rottura dei legami α -1,4 glicosidici con rilascio di glucosio 1-fosfato
2. Rottura dei legami α -1,6 glicosidici
3. **Conversione del glucosio 1-fosfato in glucosio 6-fosfato**



Glucosio 1-fosfato \rightleftharpoons Glucosio-6P

Nel muscolo il glucosio 6-fosfato entra nella glicolisi.

Il fegato invece deve rilasciare il glucosio nel sangue per rifornire gli altri tessuti, attraverso un enzima idrolitico, la **glucosio 6-fosfatasi**, presente solo nel fegato e nel rene

SINTESI

Deposito

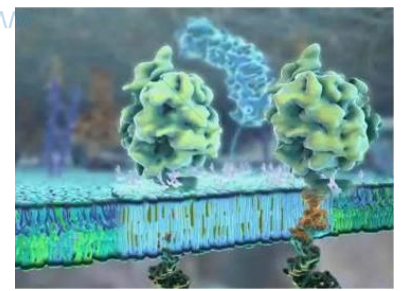
UDP-glucosio fosforilasi

Glicogeno sintasi

Enzima ramificante

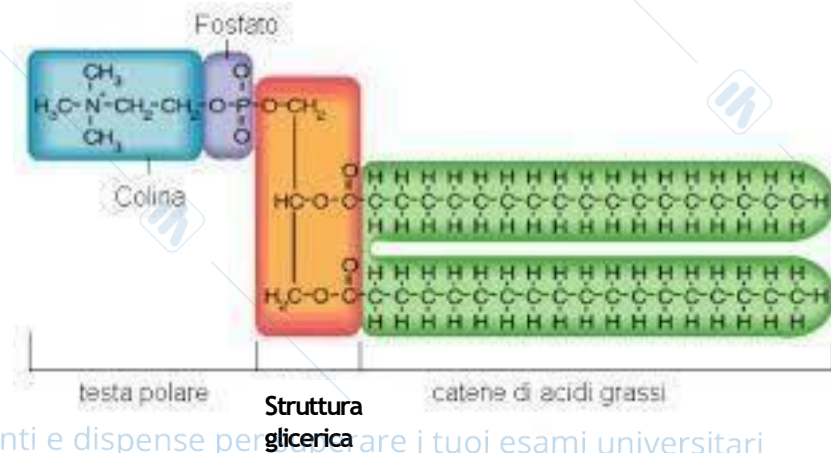
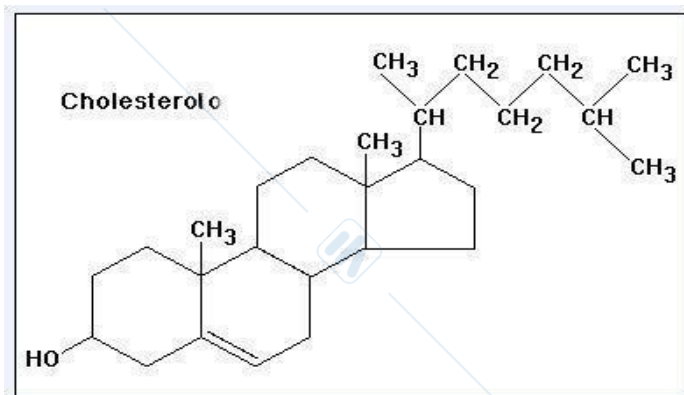
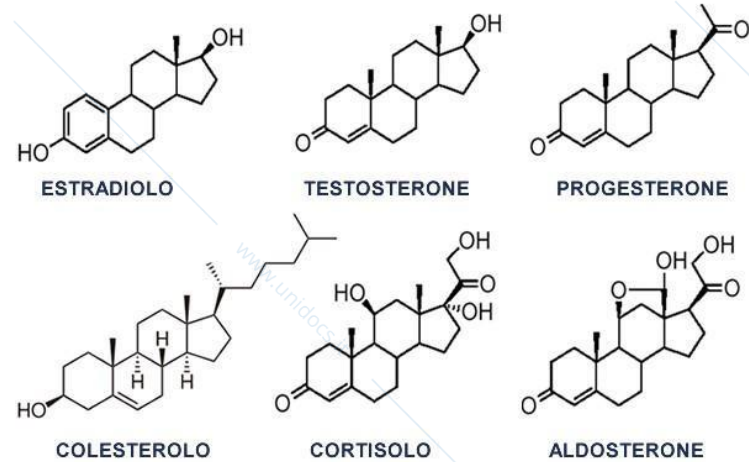
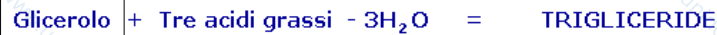
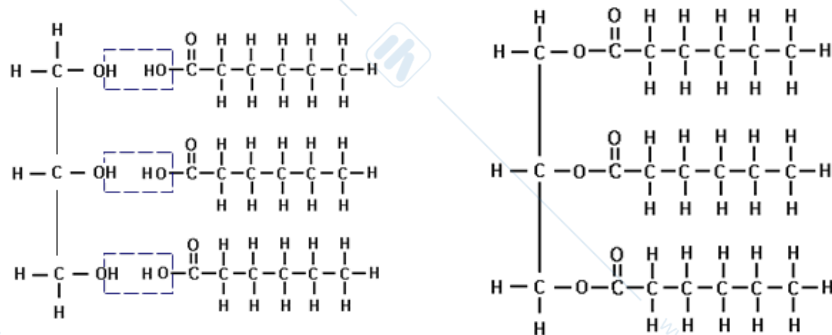
1. Formazione di una forma attivata di glucosio
2. Addizione di unità di glucosio alle estremità non riducenti sulla molecola di glicogeno mediante formazione di legami α -1,4 glicosidici
3. Formazione dei legami α -1,6 glicosidici per creare le ramificazioni

2. Sintesi di molecole lipidiche:



- trigliceridi
- steroidi (colesterolo)
- fosfolipidi

- Importanti componenti delle membrane biologiche (comprese quelle del reticolo stesso)
- Agiscono da messaggeri intracellulari (ormoni)
- Svolgono una funzione strutturale e di riserva di energia



3. Detossificazione

Processo attraverso il quale l'organismo *inattiva* le sostanze tossiche di origine **esterna** o interna. Avviene essenzialmente a livello delle cellule epatiche mediante una serie di reazioni chimiche che seguono 2 meccanismi

I° : una sostanza viene trasformata in un'altra meno tossica o esente da tossicità (es: un gruppo amminico, prodotto dalla degradazione degli aminoacidi viene trasformato in urea)

II° : una sostanza viene modificata in un'altra talvolta altrettanto tossica, ma più semplice da eliminare (es: un composto insolubile in acqua, come alcuni farmaci, subisce modifiche diventando idrosolubile, per poi poter essere eliminato nelle urine)

XENOBIOTICI:

Additivi alimentari, aromatizzanti, coloranti, pesticidi, sottoprodotti della combustione e della clorazione delle acque, inquinanti ambientali, farmaci

Che cosa accade quando un organismo viene esposto ad uno xenobiotico?



Assorbimento
Distribuzione
Metabolismo
Escrezione

ASSORBIMENTO

Avviene attraverso membrane biologiche
Quasi tutti gli xenobiotici sono liposolubili

DISTRIBUZIONE

La distribuzione ai diversi organi avviene attraverso il circolo sanguigno (essenzialmente legati alle proteine plasmatiche). Nei vari distretti possono accumularsi (membrane e tessuto adiposo) ⇒ **EFFETTI TOSSICI** se si supera la soglia di tossicità

METABOLISMO

Reazioni di biotrasformazione per aumentare l'idrosolubilità degli xenobiotici, evitandone l'accumulo negli organismi e favorendone l'escrezione in ambiente acquoso

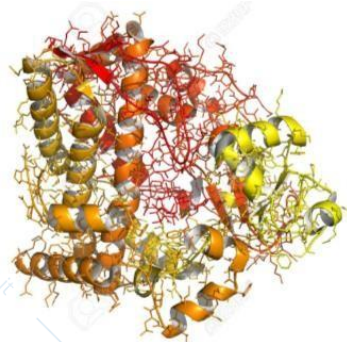
ESCREZIONE

Avviene principalmente attraverso soluzioni acquose

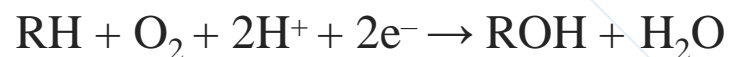
La maggioranza delle reazioni di biotrasformazione degli xenobiotici avviene nel fegato dell'adulto



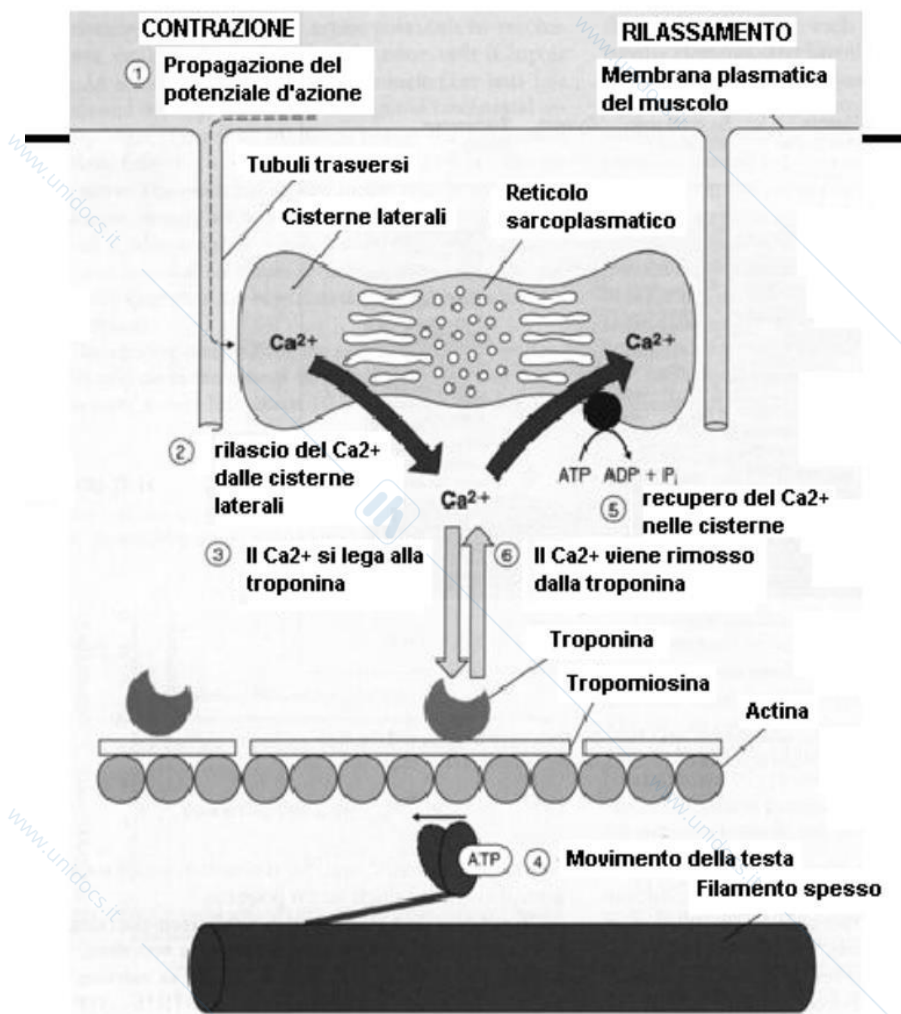
Gli studi sugli organismi in via di sviluppo si sono concentrati per analogia sullo stesso organo e tra i sistemi enzimatici il più studiato è quello del **CITOCROMO P450**



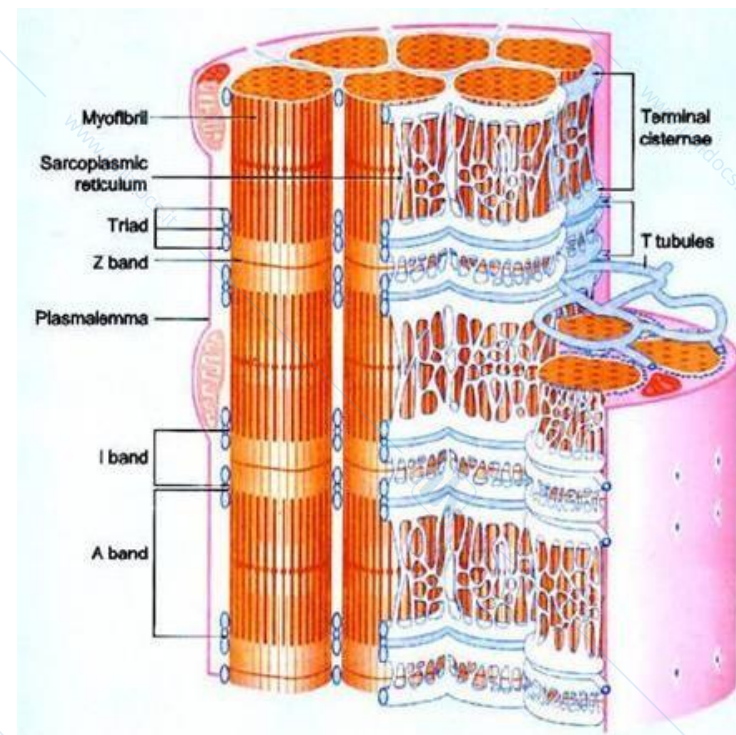
Le reazioni catalizzate dalle isoforme del citocromo P450 sono svariate, ma la più comune è la **REAZIONE DI MONOSSIGENAZIONE**, ossia il trasferimento di un atomo di ossigeno dall'ossigeno molecolare a un substrato organico, con riduzione del secondo atomo di ossigeno ad acqua:



4. Immagazzinamento del Calcio



Il reticolo endoplasmatico liscio situato attorno a ciascun gruppo di miofibrille prende il nome di **reticolo sarcoplasmatico** → molto sviluppato e specializzato, in quanto è il principale deposito di Ca^{2+} intracellulare, fondamentale per la contrazione muscolare

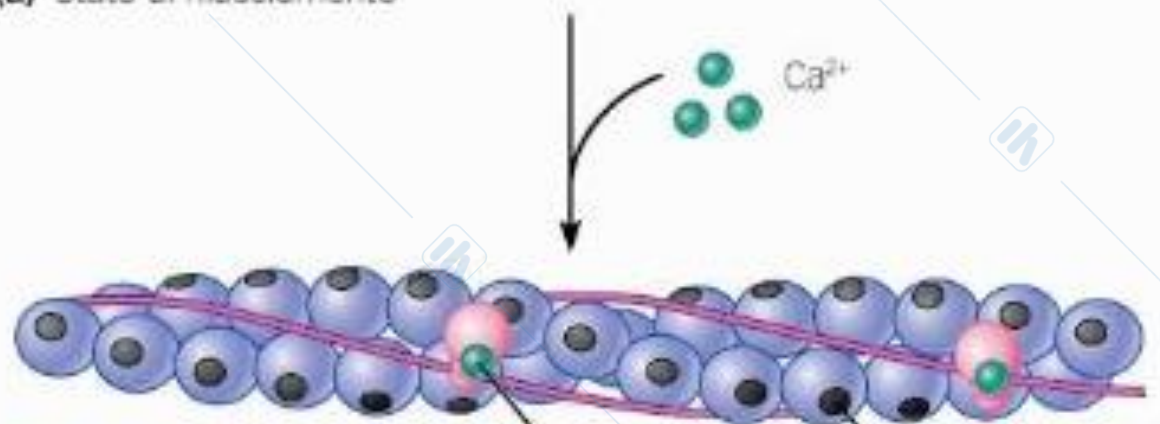


Legate ai filamenti di actina vi sono altre due sostanze, la **troponina** e la **tropomiosina**, che, in *assenza di calcio*, impediscono lo scorrimento dei filamenti di actina su quelli di miosina.

La contrazione muscolare è perciò possibile solo in presenza di **ioni calcio (Ca^{++})**, che bloccano la troponina e la tropomiosina, permettendo così lo scorrimento dei miofilamenti.



(a) Stato di rilasciamento

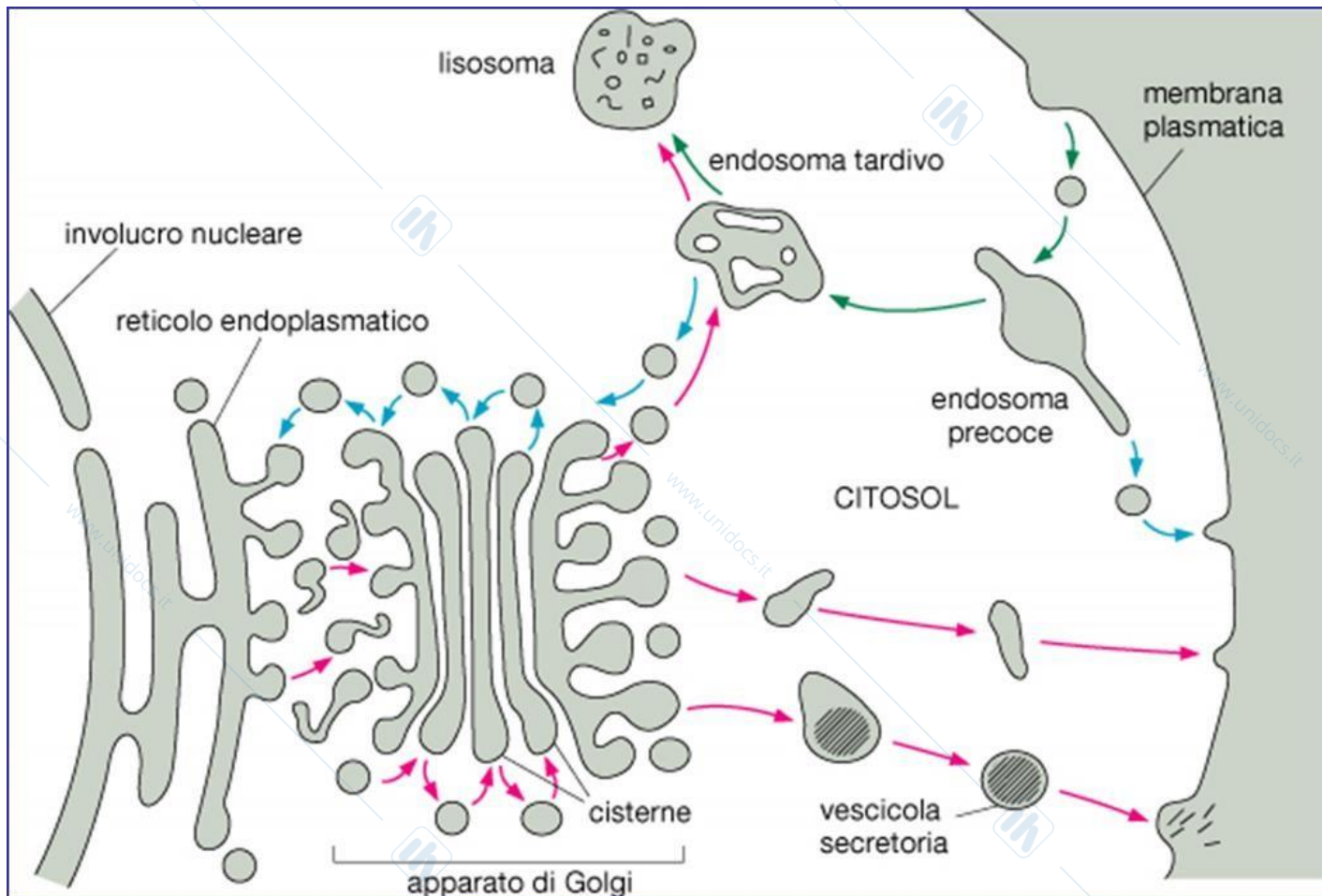


(b) Stato di contrazione

Figura 13.9 Ruolo giocato dalla troponina e dalla tropomiosina nell'accoppiamento eccitazione-contrazione. (a) Nel muscolo rilasciato, la tropomiosina copre i siti dell'actina capaci di legare la miosina, impedendo che avvenga il ciclo dei ponti trasversali. (b) Una volta liberati dal reticolo sarcoplasmatico, gli ioni calcio si legano alla troponina, determinandovi una variazione di conformazione che causa lo spostamento della tropomiosina sul filamento di actina, in modo che i siti che legano la miosina vengano esposti.

TRASPORTO VESCICOLARE

E' un processo che permette la comunicazione tra l'interno della cellula con l'esterno mediante vescicole di trasporto, caratterizzato da continuo processo di gemmazione a cui segue un processo di fusione delle stesse vescicole di trasporto



➔ Via Secretoria:

- Biosintesi e traslocazione proteica nella membrana del RE
- Dal RE all'apparato del Golgi
- Dal Golgi alla membrana plasmatica o ai lisosomi,

➔ Via Endocitica

Esistono diversi tipi di proteine di rivestimento dedicate al trasporto vescicolare

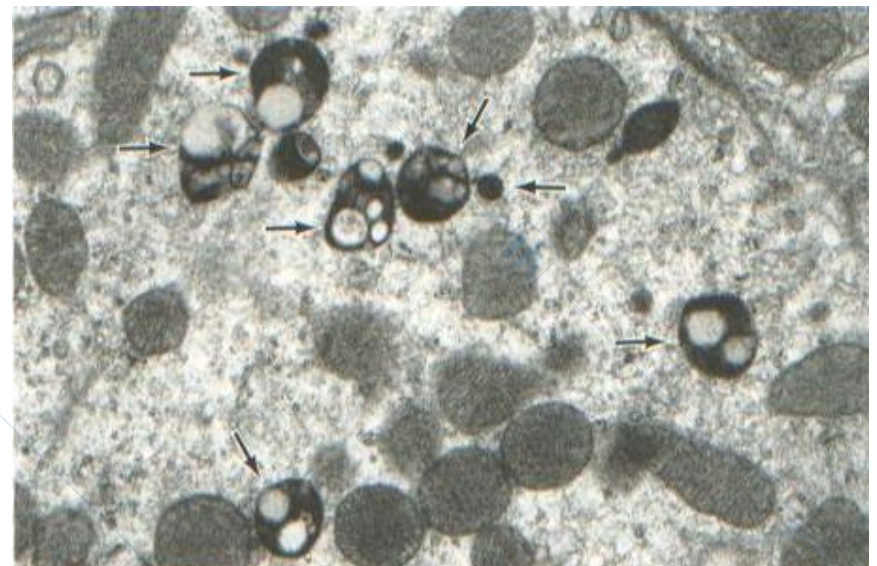
Lisosomi

I Lisosomi sono organuli citoplasmatici, delimitati da membrana, che contengono una serie di enzimi idrolitici in grado di degradare tutti i tipi di polimeri biologici:

- ❖ Proteine
- ❖ Acidi nucleici
- ❖ Lipidi
- ❖ Polisaccaridi

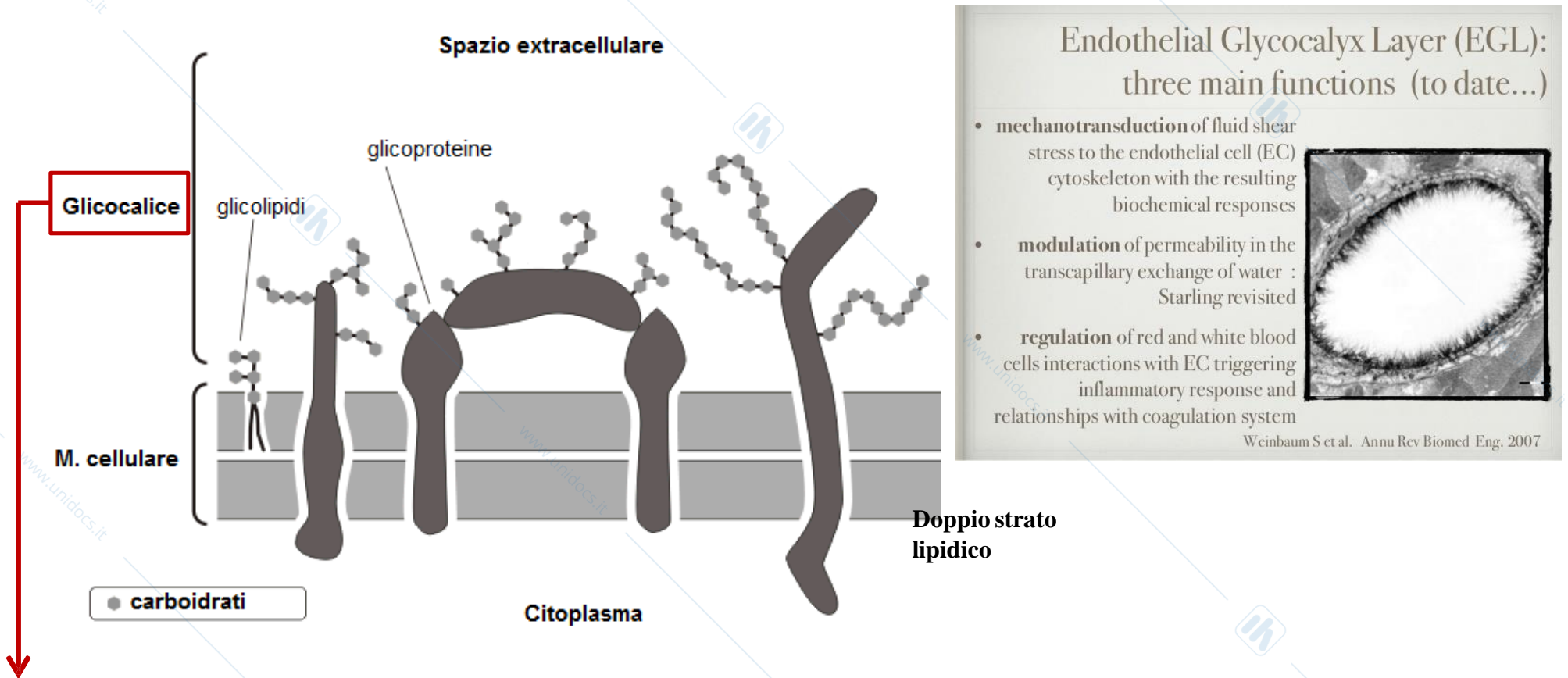
Svolgono la funzione di “sistema digestivo” della cellula, degradando sia materiale trasportato dall'esterno della cellula, che componenti cellulari non più utili

Nella loro forma più semplice appaiono come vacuoli sferici, ma possono presentare *forme e dimensioni* diverse, in relazione ai materiali che trasportano al loro interno per essere degradati



Lisosomi: Struttura

Sono delimitati da una singola **membrana a doppio strato lipidico** in cui le proteine sono incluse come unità globulari individuali

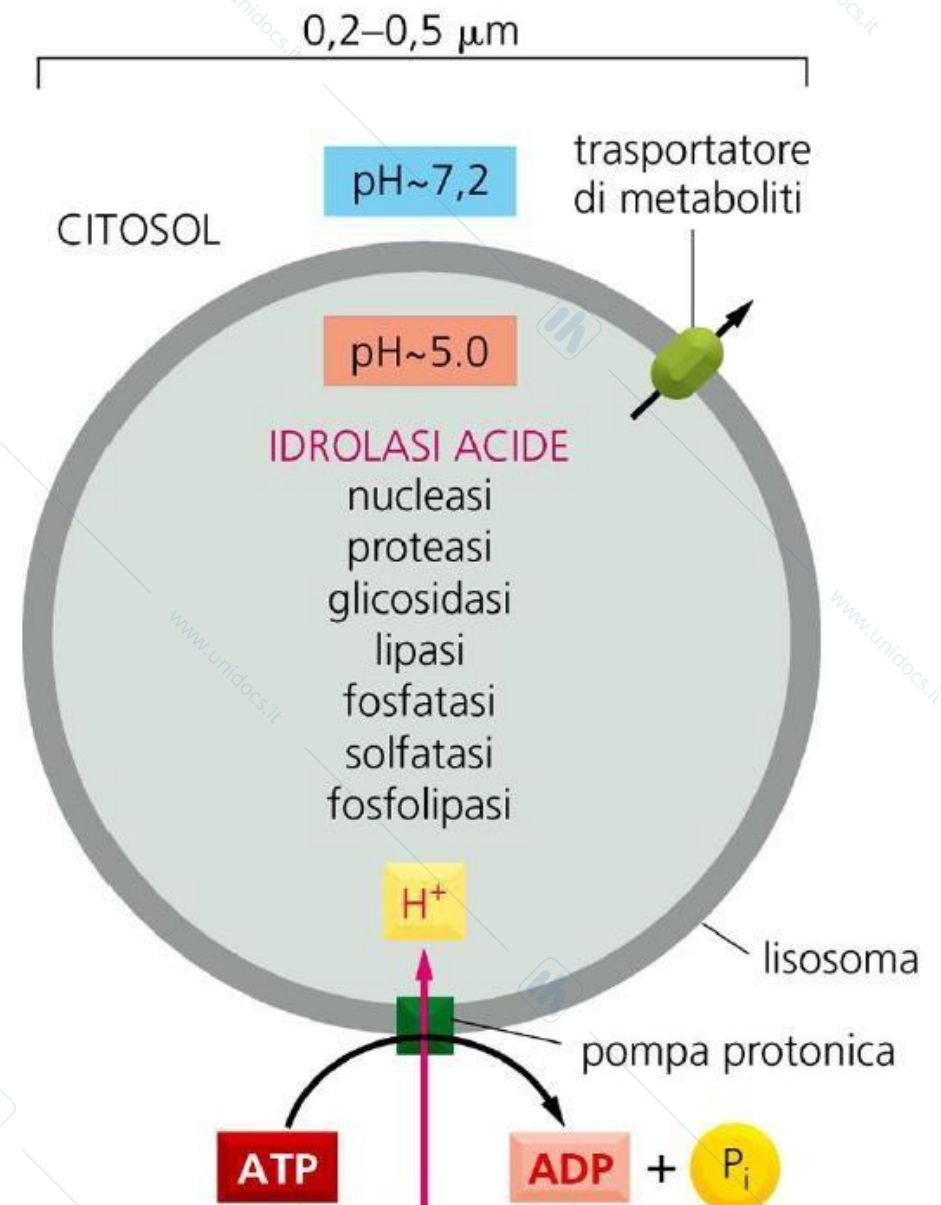


Determina la formazione di una spessa guaina che riveste il perimetro interno e impedisce alla membrana lisosomiale di essere degradata dalle idrolasi acide intraluminali

I lisosomi all'interno

Gli enzimi lisosomiali sono **idrolasi acide**, attive al pH acido dei lisosomi (circa 5), ma non al pH neutro del citoplasma. Questo meccanismo protegge la cellula dalla eventuale rottura della membrana del lisosoma

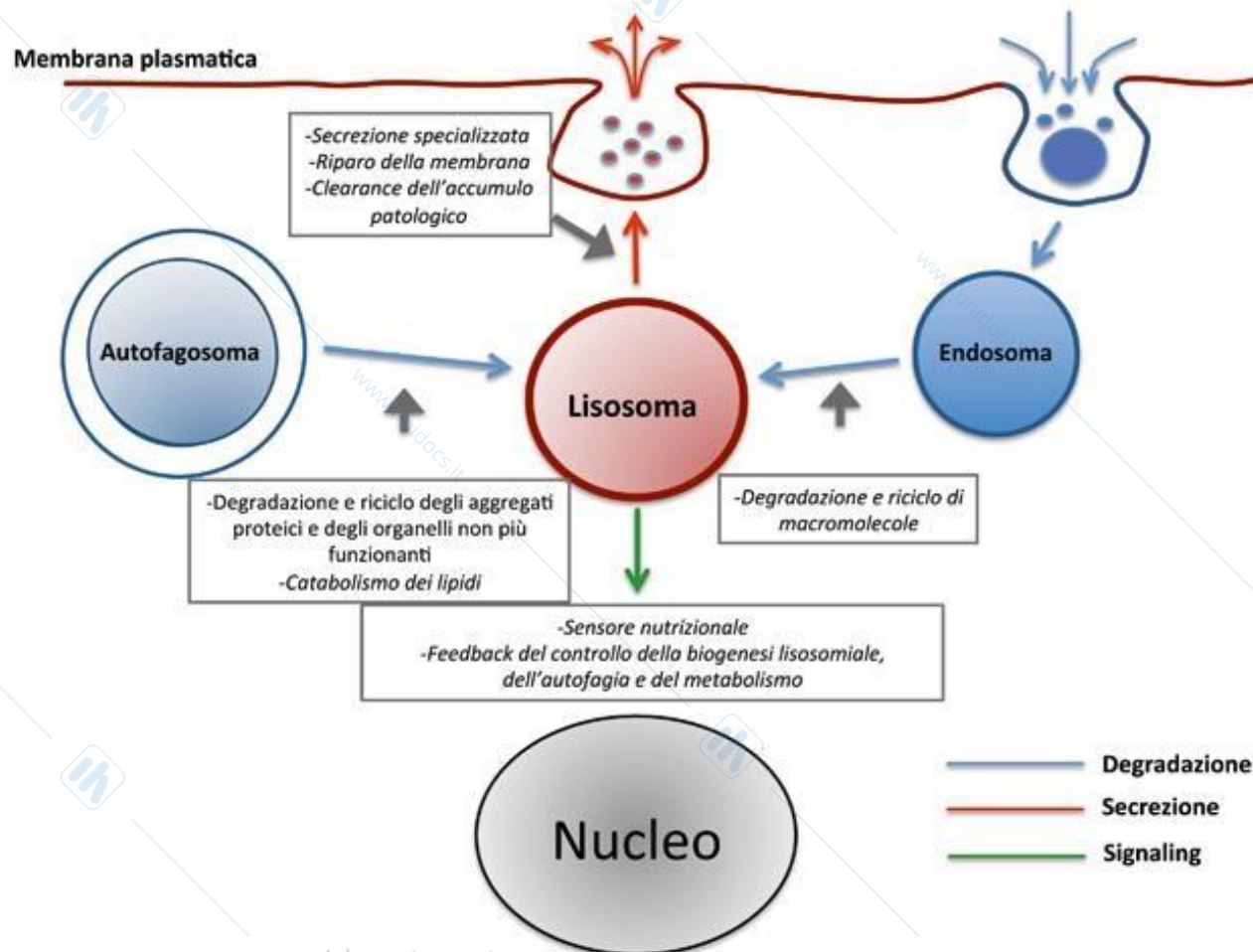
Il **pH acido** nei lisosomi è assicurato dalla presenza nella membrana di una pompa protonica, che trasporta attivamente (mediante idrolisi di ATP) protoni dal citosol nei lisosomi, ottenendo una concentrazione di H^+ circa 100 volte più alta rispetto al citosol



Lisosomi: Funzioni

Le funzioni lisosomiali possono essere schematicamente suddivise in tre tipi principali:

1. **Degradazione lisosoma – mediata**
2. **Secrezione**
3. **Regolazione del segnale cellulare (signaling)**



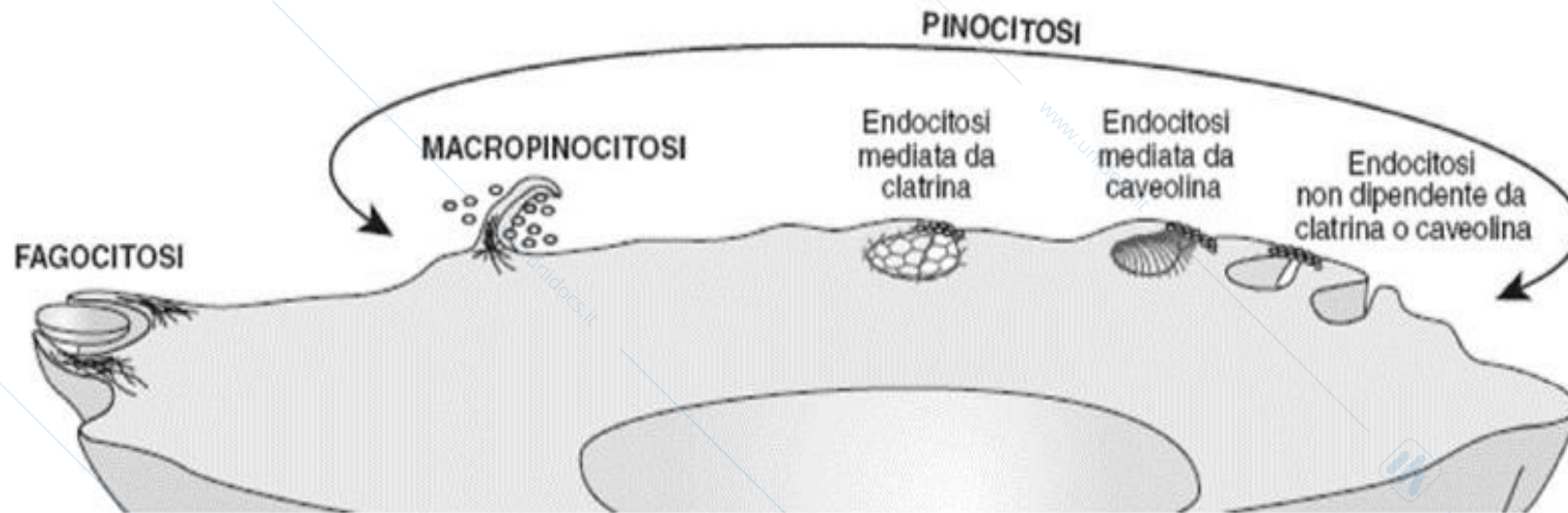
1. Degradazione lisosoma – mediata

I lisosomi sono coinvolti nel processo di degradazione e riciclo di:

- materiale extracellulare → attraverso l'**endocitosi**
- materiale intracellulare → attraverso l'autofagia

Esempi importanti di **endocitosi** sono:

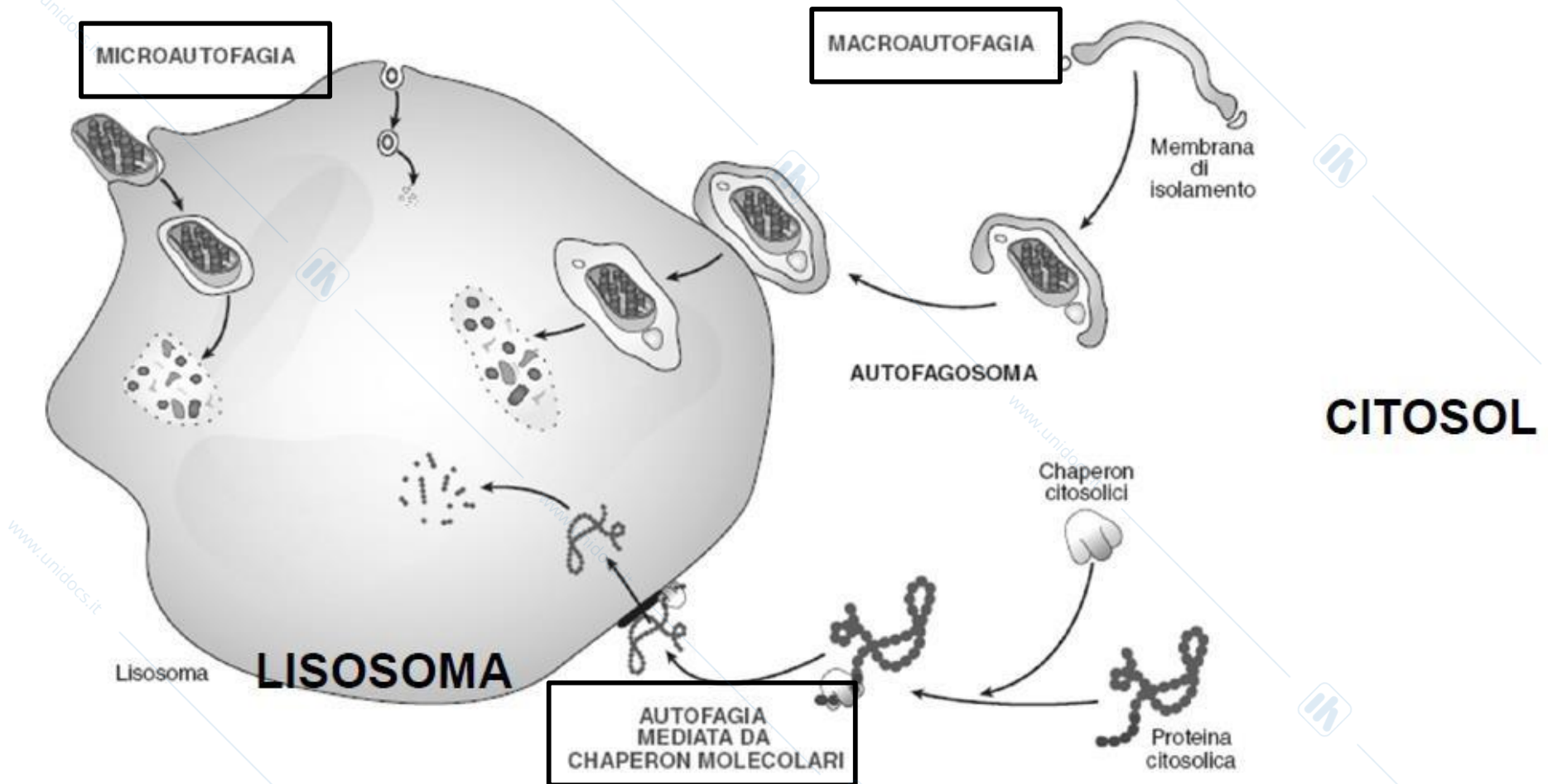
- Fagocitosi
- Macropinocitosi
- Endocitosi clatrina-mediata
- Endocitosi caveolina-mediata
- Endocitosi caveolina e clatrina-indipendente



◆ FIGURA 12.2

Varie modalità di endocitosi. La pinocitosi o endocitosi propriamente detta comprende la macropinocitosi (che è indipendente dalla dinamina), l'endocitosi mediata da clatrina o caveolina (che dipende dalla dinamina) e l'endocitosi che non è mediata né da clatrina né da caveolina (e che può servirsi o meno della dinamina). La fagocitosi è responsabile dell'internalizzazione di materiale particolato tra cui batteri, cellule apoptotiche e detriti cellulari.

I materiali intracellulari raggiungono i lisosomi attraverso il processo di autofagia, un processo catabolico di “autodigestione” che è utilizzato dalle cellule per catturare i propri componenti citoplasmatici destinati alla degradazione e al riciclo

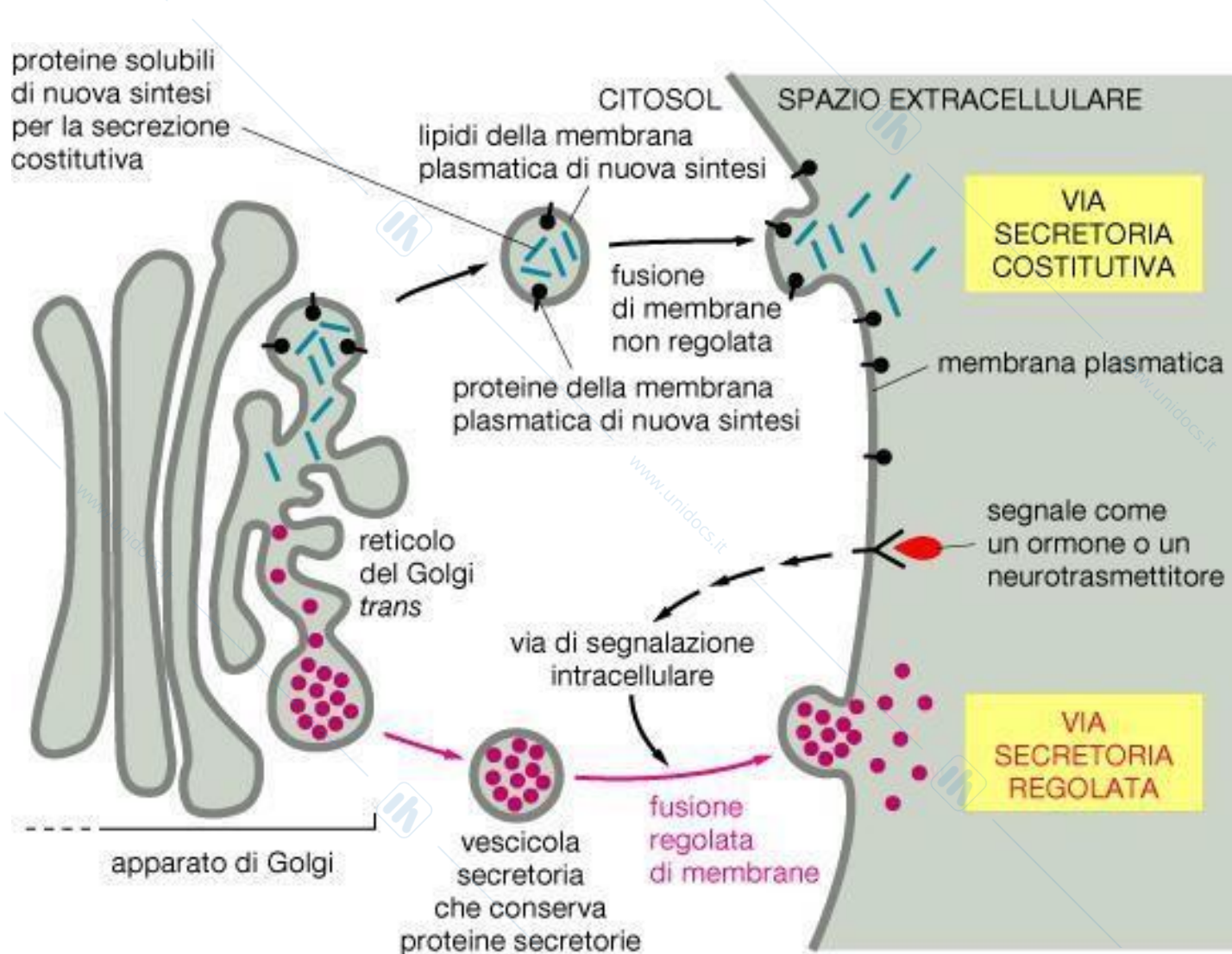


◆ FIGURA 12.13

Modalità diverse di autofagia. La macroautofagia consiste nella degradazione di porzioni di citoplasma e organelli in un organello specifico chiamato autolisosoma. La microautofagia consiste nell'inglobamento diretto da parte dei lisosomi di organelli che saranno poi degradati. Nell'autofagia mediata da chaperon molecolari proteine citosoliche, normalmente non indispensabili, vengono indirizzate, con l'aiuto di chaperon molecolari, ai lisosomi per essere degradate in caso di privazione da nutrienti.

2. Secrezione

I lisosomi possono secernere i loro contenuti nello spazio extracellulare attraverso un processo chiamato **ESOCITOSI LISOSOMIALE**, che può essere rilevata dalla traslocazione di proteine di membrana lisosomiali sulla membrana plasmatica, attraverso la formazione di vescicole



Possono seguire
2 VIE alternative:

1. **Secrezione o esocitosi costitutiva**
2. **Secrezione regolata**

3. Regolazione del segnale cellulare (signaling)

E' ormai evidente che il lisosoma svolge un ruolo importante:

- come *sensore* dei nutrienti cellulari → ampliando la visione dei lisosomi
DA semplici esecutori dello smaltimento dei rifiuti cellulari A sensori regolatori di diverse funzioni cellulari:
 - Progressione del ciclo cellulare
 - Crescita
 - Biosintesi delle macromolecole
 - Autofagia
- nelle *vie di segnalazione* cellulare → complesso macchinario di signaling composto da complessi proteici localizzati sulla superficie lisosomiale, coinvolto nel metabolismo e nella crescita cellulare

Ottobre-Dicembre 2013 • Vol. 43 • N. 172 • Pp. 246-257

FRONTIERE

Il lisosoma: centro di controllo del metabolismo cellulare

Carmine Settembre¹⁻⁴, Alessandro Fraldi¹, Diego L. Medina¹ e Andrea Ballabio¹⁻⁴

¹ Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Napoli

² Dipartimento di Genetica Molecolare e Umana, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA

³ Jan and Dan Duncan Neurological Research Institute, Texas Children's Hospital, Houston, Texas, USA

⁴ Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università "Federico II", Napoli

MALATTIA DA ACCUMULO LISOSOMIALE

Lysosomal Storage Diseases (LSD)

Sono un'eterogenea famiglia di patologie, circa 50, dovute a diversi *deficit enzimatici*:

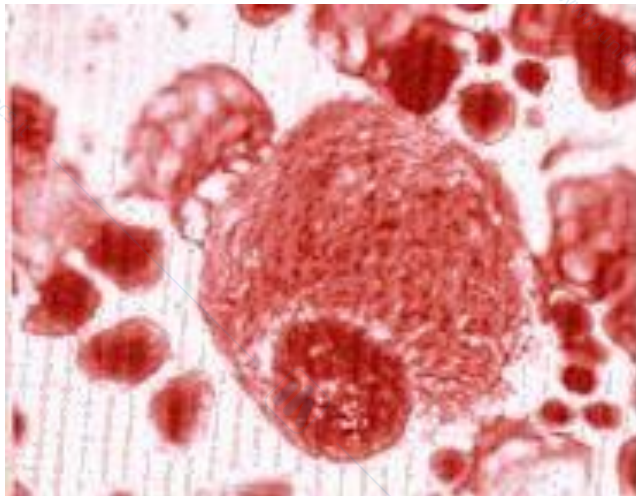
- Assenza totale
- Presenza dell'enzima ma inattivo
- Enzima sintetizzato ma incapace di raggiungere i lisosomi
- Instabilità a pH acido
- Misfolding (malconformazione nella struttura terziaria)
- Difetto nel trasporto

Determinando a livello dei lisosomi l'impossibilità di degradare uno specifico substrato



Accumulo di metaboliti o sostanze nei lisosomi con perdita di funzionalità cellulare:

- Attivazione di una risposta infiammatoria
- Alterato traffico intracellulare di vescicole, membrane e proteine legate alle membrane
- Alterazione dei meccanismi legati all'autofagia



MALATTIA DA ACCUMULO LISOSOMIALE Lysosomal Storage Diseases (LSD)

La **classificazione** delle malattie da accumulo lisosomiale è molto diversificata a seconda degli approcci descrittivi usati.

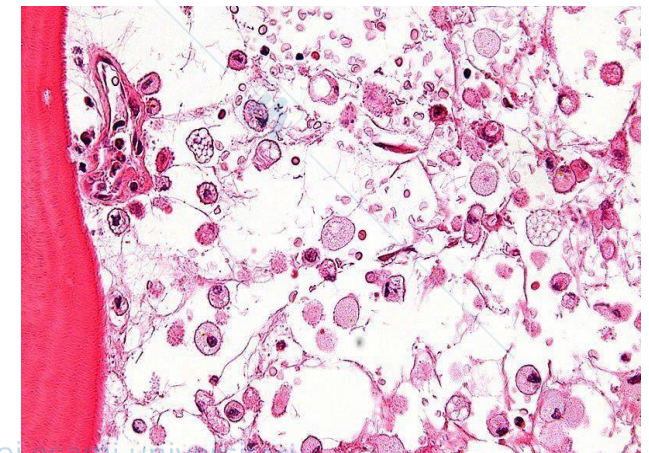
Classificazione standard → Le LSD sono classificate in base alla natura del materiale patologico accumulato. Possono essere suddivise in:

- Malattie da accumulo lipidico (Malattia di Gauchere e Niemann-Pick)
- Disordini da accumulo di glicoproteine
- Mucopolisaccaridosi (inclusa la Sindrome di Hunter e Malattia di Hurler)
- Mucopolipidosi

Classificazione in base al difetto proteico → E' possibile fare una classificazione in base al deficit proteico specifico che causa accumulo:

- Primariamente idrolasi lisosomiali
- Modificazioni post-translazionali di enzimi
- Proteine di trasporto di membrana

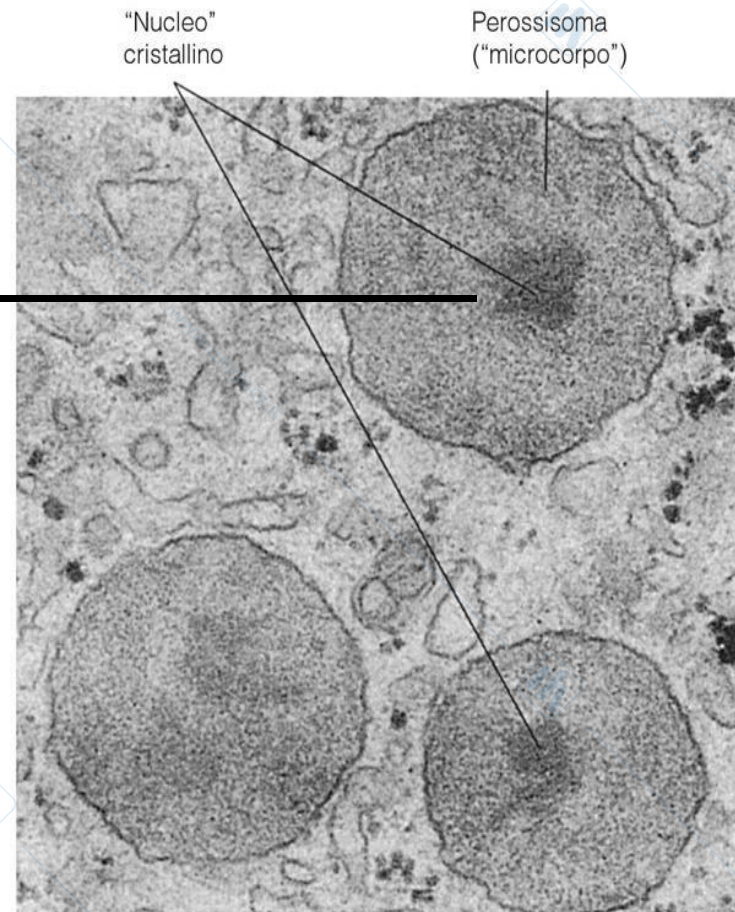
L'incidenza di ciascuna patologia, presa singolarmente, è inferiore a 1:100.000; complessivamente, però, questo gruppo di malattie ha un'incidenza di 1:5000 - 1:10.000.



Perossisomi: Struttura

I **perossisomi** sono organuli cellulari vescicolari semplici, noti anche come **microcorpi** (microbodies), ubiquitari negli eucarioti, separati dal citoplasma da una singola membrana, con un diametro di 0,1-1 μm .

Il nucleo denso e cristallino
contiene circa 50 *enzimi ossidativi*
in grado di trasferire idrogeno da
diverse sostanze e legarlo all'ossigeno
per la formazione di perossido di idrogeno
(acqua ossigenata H_2O_2)



Perossisomi: Biogenesi

L'assemblaggio del perossisoma sembra avvenire in DUE fasi:

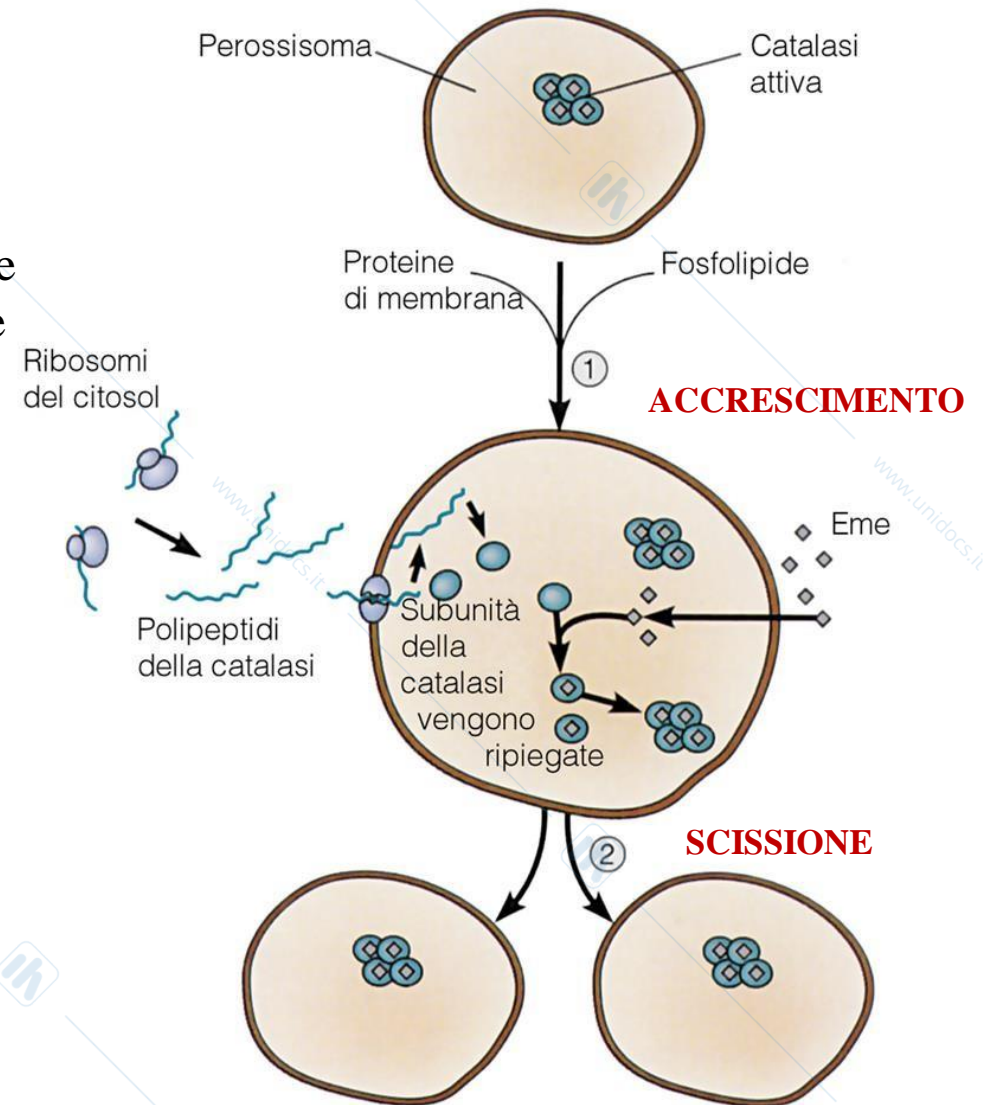
Nella **FASE I**:

- I fosfolipidi sono utilizzati per la sintesi di nuova membrana, determinando un aumento delle dimensioni del microcorpo. Una parte dei lipidi viene sintetizzata direttamente dal perossisoma e una parte proviene dal RE
- Le proteine provengono dai ribosomi liberi nel citosol e maturano nel perossisoma

Proteine e fosfolipidi sono importanti in maniera continuativa

Nella **FASE II**:

Avviene la scissione del perossisoma preesistente ingrandito per l'inserimento di nuovo materiale



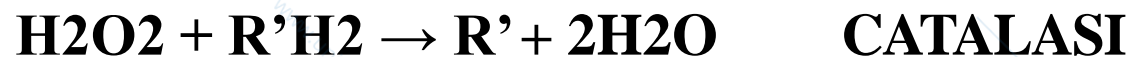
Perossisomi: Funzioni metaboliche

I perossisomi sono considerati *comparti metabolici specializzati*, contenenti enzimi in grado di trasferire idrogeno da diversi substrati organici e legarlo all'ossigeno molecolare per la formazione di perossido di idrogeno (H_2O_2):

Reazione di tipo ossidativo produce perossido di idrogeno (H_2O_2):



Il perossido di idrogeno è altamente reattivo ed ha azione ossidante per cui viene subito eliminato dall'enzima catalasi che catalizza la reazione detta "perossidativa":



I perossisomi inoltre esercitano molte azioni:

- Ossidazione degli acidi grassi a lunga catena (detta β -ossidazione)
- Sintesi del colesterolo e degli acidi biliari nelle cellule epatiche
- Intervengono nel metabolismo degli aminoacidi e delle purine
- Prendono parte al processo di smaltimento dei composti metabolici tossici

Adrenoleucodistrofia (ADL)



- Malattia metabolica rara dei **perossisomi**
- Trasmessa nella maggioranza dei casi attraverso il cromosoma X materno recante la mutazione ai figli maschi
- Compare tra i 4 e 8 anni di età
- I sintomi sono diversi da soggetto a soggetto, ma comunque progressivi:
 - disturbi dell'attenzione
 - iniziale deficit cognitivo
 - iperattività
 - aggressività
 - problemi visivi ed uditivi
 - danni alle ghiandole surrenali
 - perdita di equilibrio e perdita delle funzioni motorie
- Sono state scoperte 476 nuove mutazioni a carico del gene **ABCD1**, responsabili dell'alterazione della proteina ALDP, un trasportatore perossisomale
- Il deficit metabolico che ne consegue impedisce agli acidi grassi a catena molto lunga (VLCFA) di subire il processo di β -ossidazione nei perossisomi, con la conseguenza del loro accumulo nel plasma e nei tessuti

La cellula muscolare e contrazione

La cellula muscolare

Il più vasto tessuto del corpo umano è quello muscolare. Esistono tre tipi di cellule muscolari:

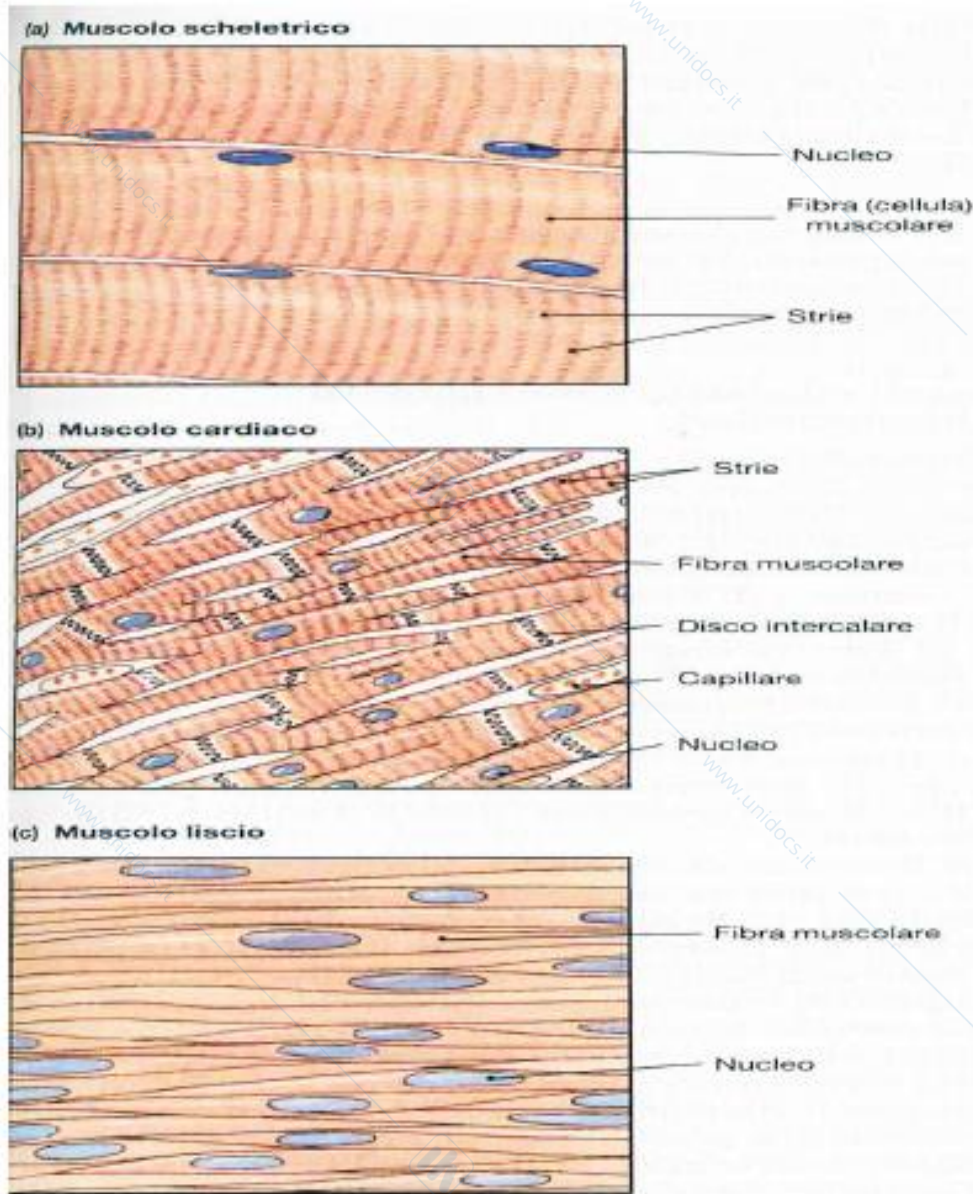
- 1. lisce**
- 2. striate**
- 3. miocardiche.**

Le cellule muscolari lisce sono quelle della cosiddetta muscolatura involontaria (organi interni, vasi sanguigni), hanno forma appiattita e sono mononucleate.

Le cellule muscolari striate sono polinucleate e la loro contrazione è sotto il diretto controllo della volontà: i movimenti degli arti, come il mantenimento del tono posturale, sono assicurati da questo tipo di muscolatura. Per il loro aspetto fusiforme, le cellule striate sono anche denominate fibre e contengono un numero di miofibrille parallele.

Le cellule muscolari del miocardio rappresentano il tessuto contrattile del cuore e sono molto simili alle cellule muscolari striate, sebbene la loro contrazione sia involontaria e regolata da fibre nervose collocate in un'area dell'atrio destro del cuore, cioè il nodo seno-atriale.

Tessuto muscolare scheletrico, cardiaco, liscio

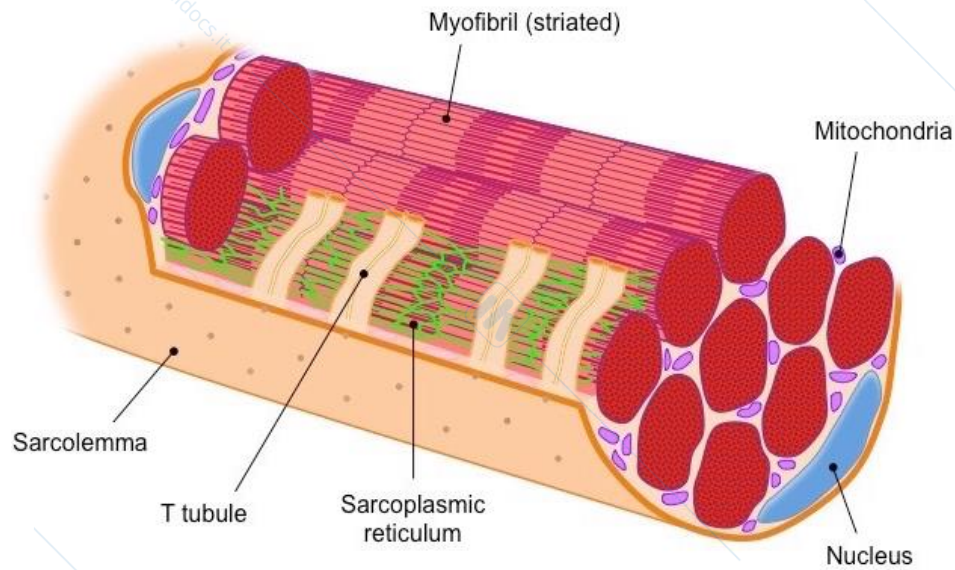


Le fibre muscolari scheletriche sono grandi cellule multinucleate che appaiono striate al microscopio.

Le fibre muscolari cardiache sono cellule striate uninucleate che si ramificano. Si connettono tra loro tramite giunzioni specializzate dette dischi intercalari.

Le fibre muscolari lisce sono cellule uninucleate più piccole che non presentano striature.

Struttura del muscolo scheletrico

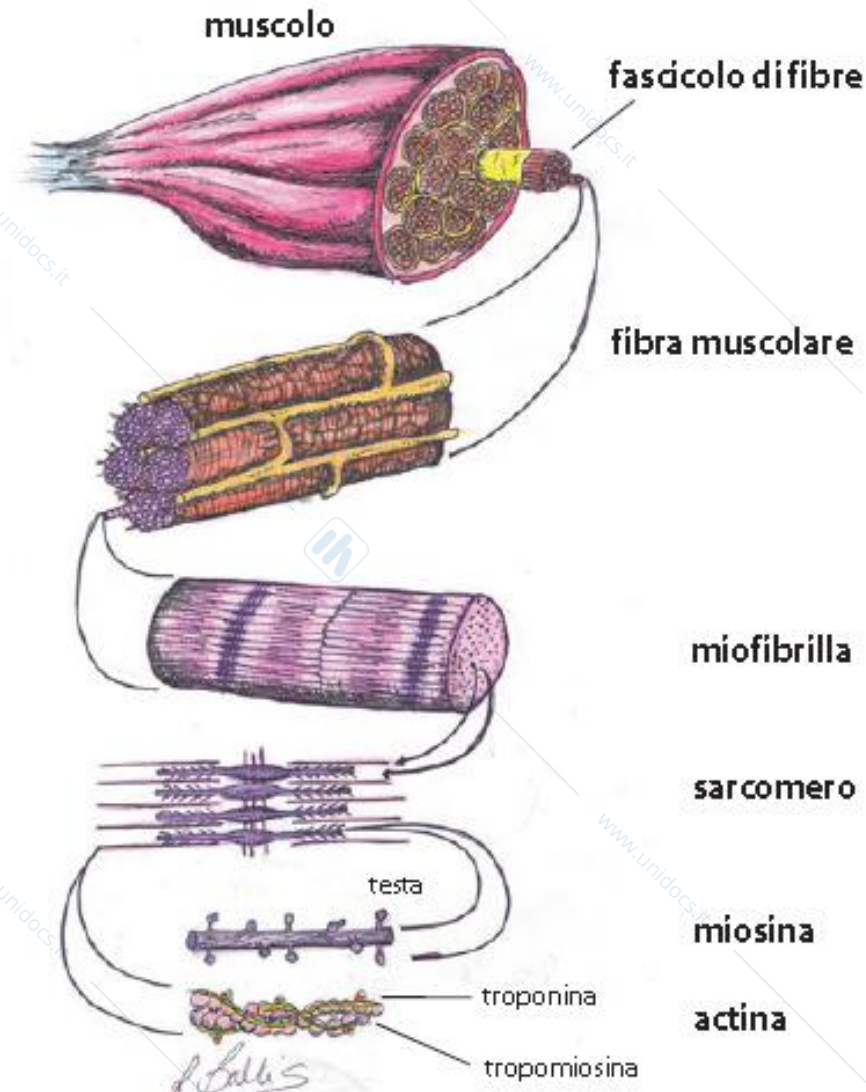


Le fibre muscolari possiedono una membrana cellulare, nota come *sarcolemma*, con i mitocondri disposti tra le miofibrille e lo stesso sarcolemma.

Le cellule muscolari scheletriche sono solitamente molto lunghe potendo disporsi da un capo all'altro del ventre muscolare. Esse possiedono diversi nuclei poiché derivano dalla fusione di numerose cellule singole.

La striatura tipica della muscolatura scheletrica deriva dal susseguirsi delle unità funzionali modulari della contrazione, i *sarcomeri*, apprezzabili all'osservazione di una sezione longitudinale di una miofibrilla.

Dal muscolo all'unità sarcomerica



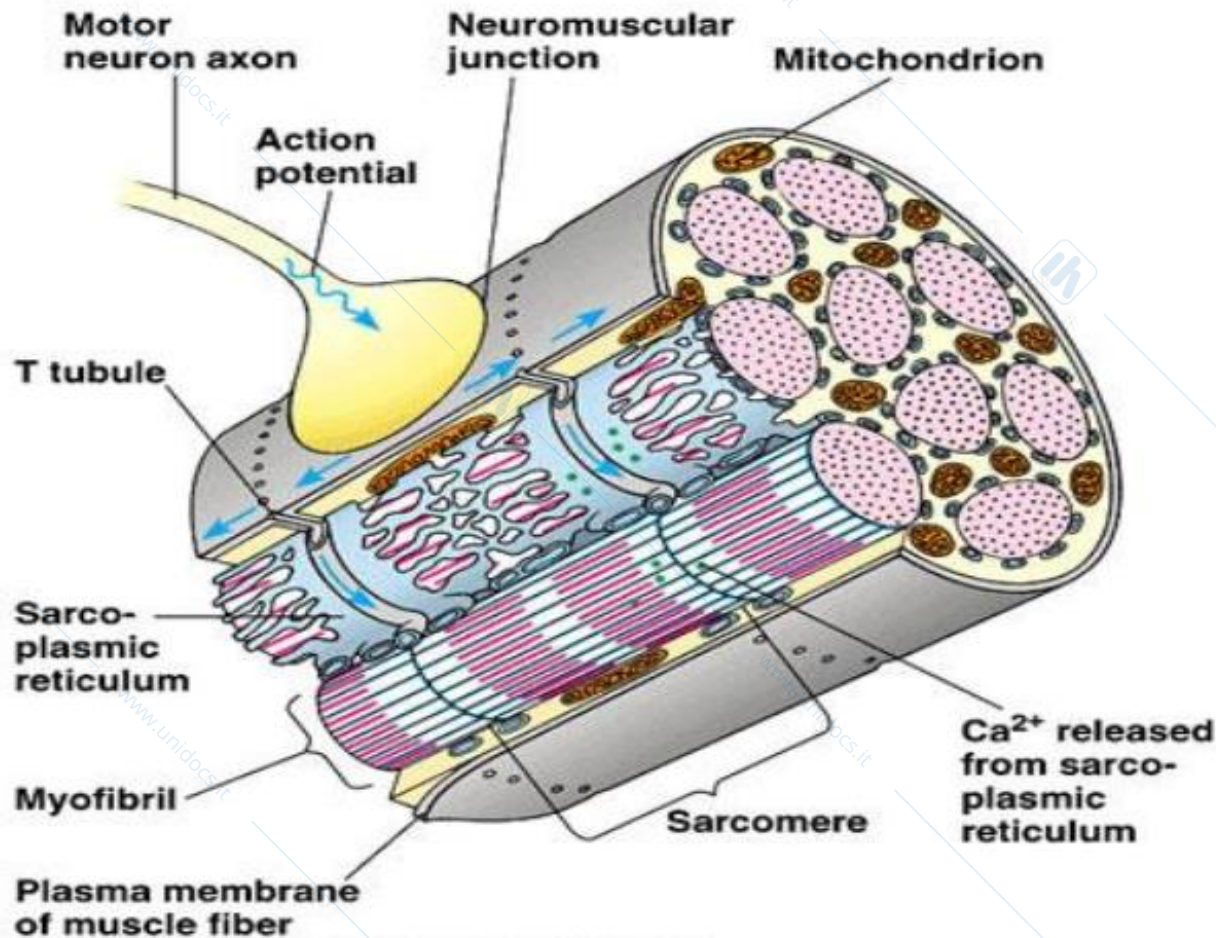
Il muscolo scheletrico è costituito da fasci di fibre muscolari, ognuna delle quali è a sua volta organizzata in cellule contenenti diverse miofibrille.

Le miofibrille presentano una caratteristica struttura striata, con i filamenti spessi di miosina e quelli sottili di actina. I filamenti di actina e miosina si sovrappongono durante la contrazione muscolare, nell'unità funzionale del sarcomero.

Ogni sarcomero è composto da microfilamenti contrattili sottili di una proteina denominata *actina* e microfilamenti contrattili spessi, più grandi dei primi, di un'altra proteina nota come *miosina*. Le strie sarebbero quindi dovute alla parziale sovrapposizione dei filamenti di miosina con quelli actina, che crea delle bande più scure.

Viceversa, in altre aree delle unità sarcomeriche si generano bande più chiare per la sola presenza dei filamenti di actina. Quando la fibra si contrae, i filamenti di miosina e di actina scorrono reciprocamente gli uni sugli altri: la sovrapposizione delle due proteine è maggiore durante la contrazione e la fibra muscolare contratta appare uniformemente più scura e quasi priva di striature.

Miofibrille

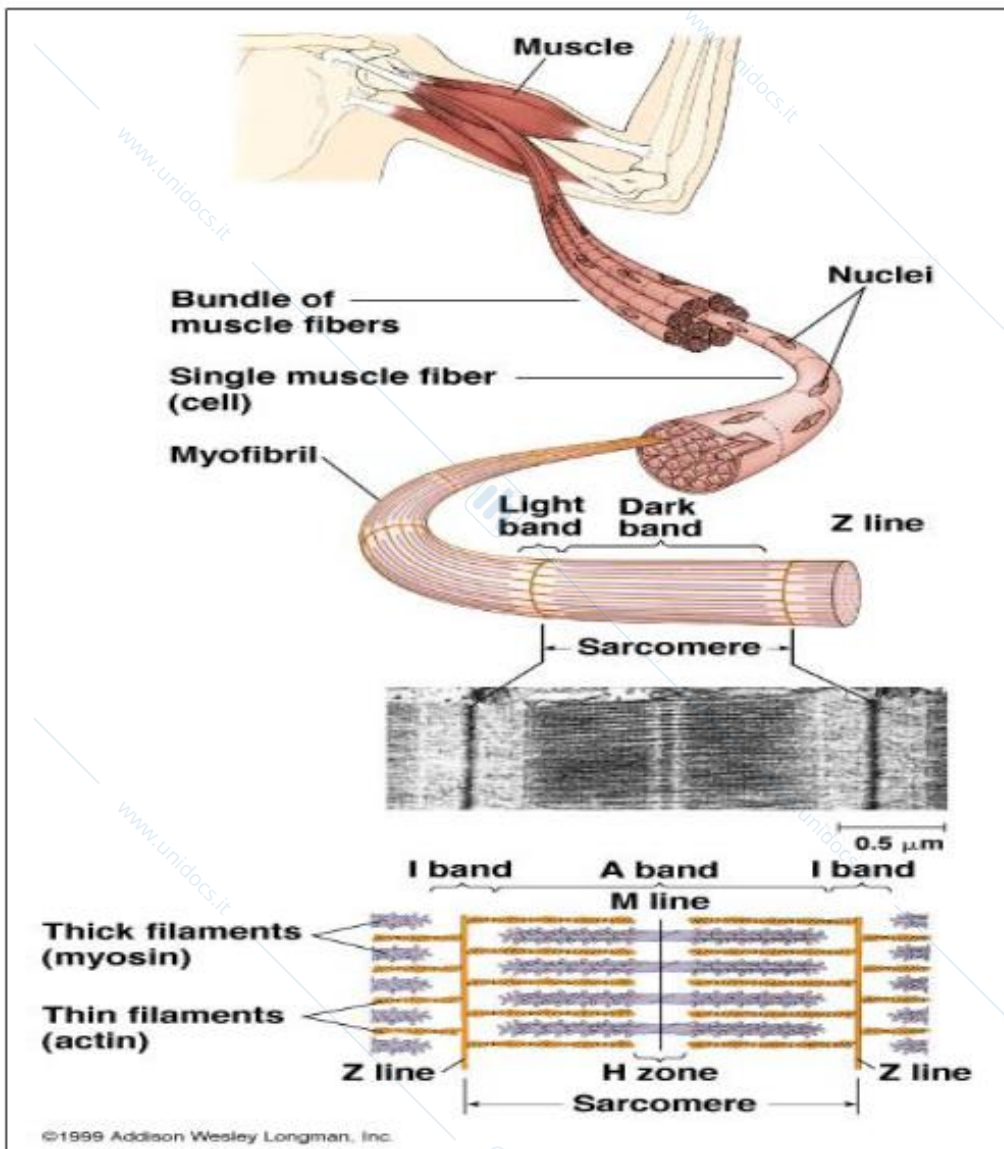


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Ogni fibra muscolare al suo interno è occupata in larga misura dalle miofibrille, organizzate in lunghi fasci longitudinali.

La miofibrilla è circondata dal reticolo sarcoplasmatico, un sistema complesso di vescicole e tubuli: lo scopo di questa struttura è quello di accumulare calcio per dare l'avvio alla contrazione muscolare.

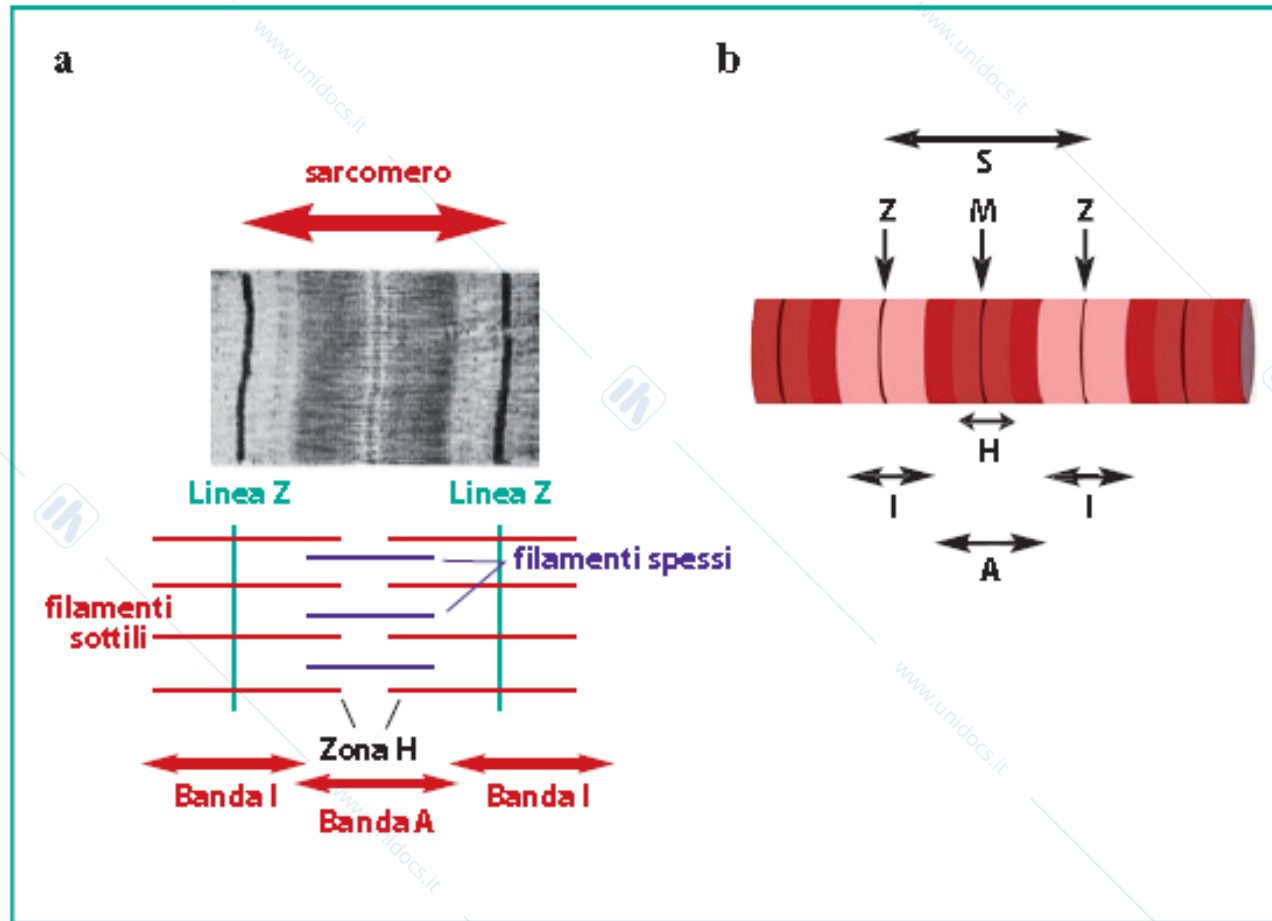
La miofibrilla lungo l'asse maggiore manifesta una striatura dovuta all'alternarsi regolare di bande chiare e scure. Le bande scure sono dette bande A; le bande chiare sono dette bande I; ciascuna banda I è divisa in due da una linea scura detta linea Z; ciascuna banda A è divisa in due da una stria scura detta linea H. Il tratto di miofibrilla compresa tra $1/2$ banda I + banda A + $1/2$ banda I è chiamata **sarcomero**.



Sarcomero

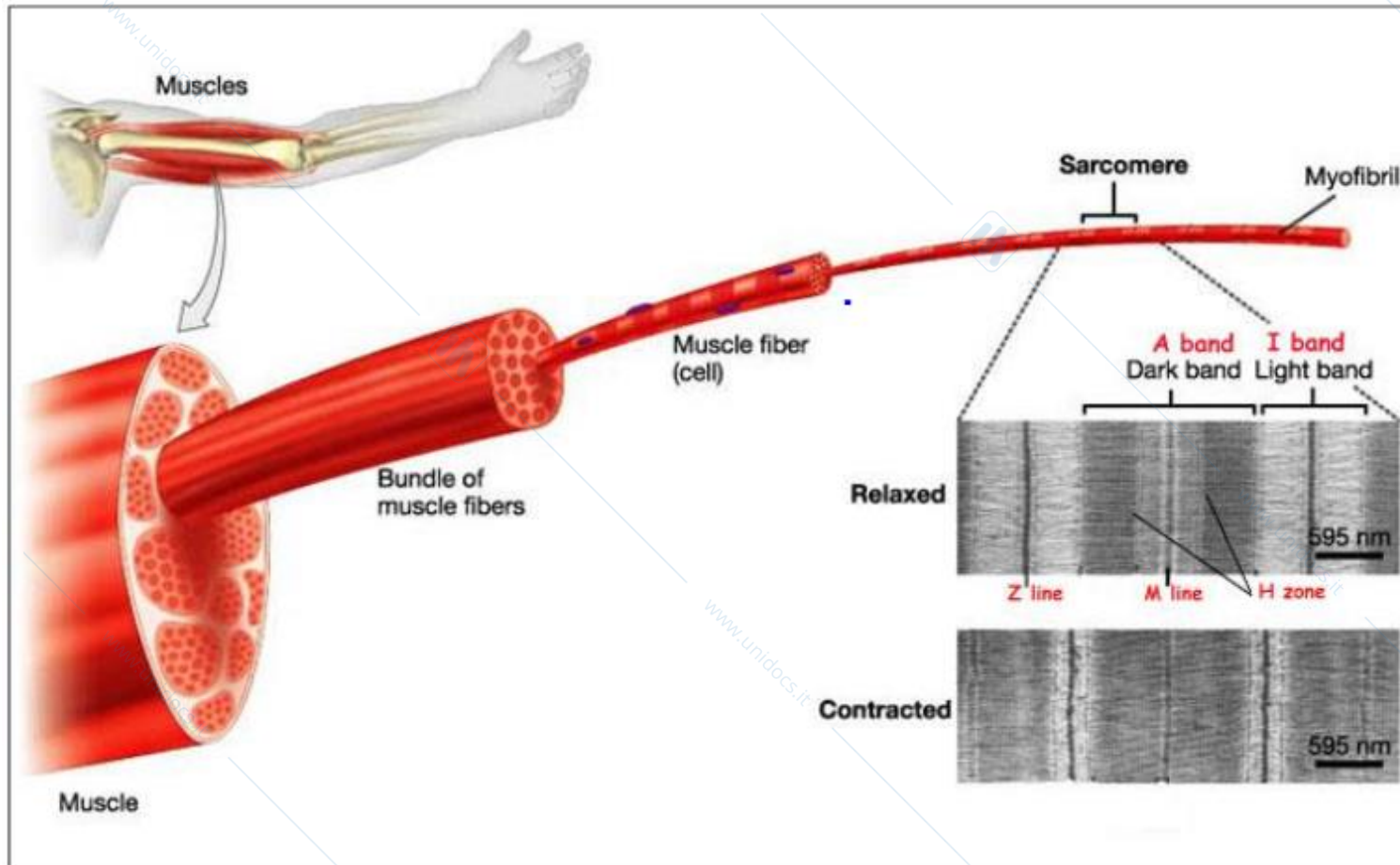
- Il sarcomero rappresenta l'unità funzionale del tessuto muscolare striato.
- Ogni sarcomero al microscopio elettronico appare formato da miofilamenti spessi e sottili. I filamenti spessi sono formati dalla molecola proteica **miosina**, i sottili sono formati dalla molecola proteica **actina**.
- I filamenti spessi si trovano al centro del sarcomero e costituiscono la banda A; i filamenti sottili sono ai poli del sarcomero e costituiscono le bande I che arrivano sino alla linea Z.

L'Unità Sarcomerica



L'unità sarcomerica è delimitata entro due linee Z, alle quali si ancorano i filamenti sottili di actina. Le bande chiare vengono denominate I (dal comportamento "isotropico" della luce polarizzata al suo passaggio attraverso la banda); quelle scure vengono definite A (perché e "anisotropico" il comportamento ottico attraverso queste bande). Sono infine individuate altre zone sarcomeriche rappresentative, quali la zona mediana H e la linea posta al centro di quest'ultima (e quindi al centro dell'intero sarcomero), cioè la linea M

Sarcomero

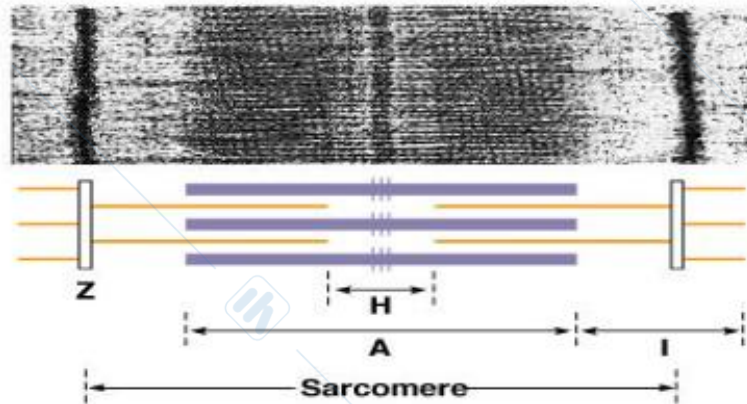


Durante la contrazione il sarcomero si accorcia per l'avvicinamento delle due linee Z. Si ha quindi una riduzione della banda I mentre rimane invariata la banda A.

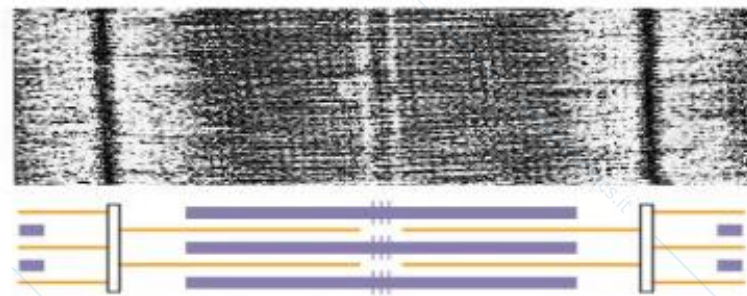
Il sarcomero si può accorciare al massimo per il 50% della sua lunghezza

Sarcomero

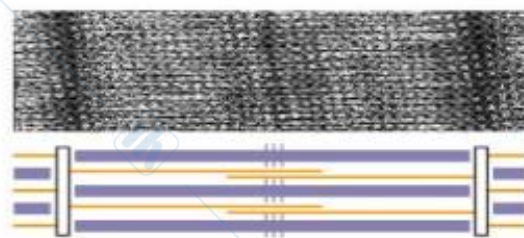
La contrazione è dovuta allo scorrimento dei filamenti sottili sui filamenti spessi



(a) Muscle relaxed (extended)

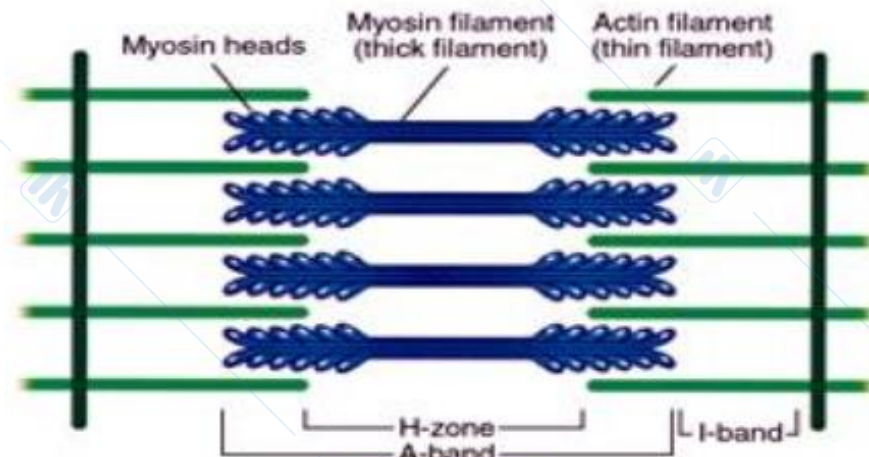


(b) Muscle contracting

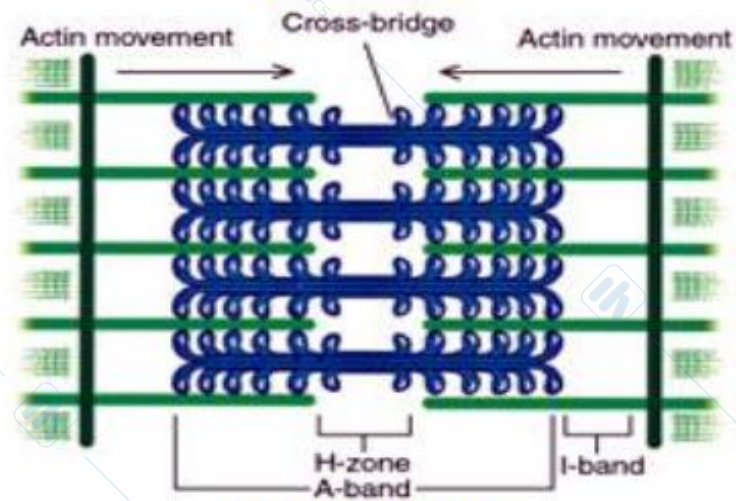


(c) Muscle contracted

©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



RELAXED



CONTRACTED

(a)

Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

Filamento sottile

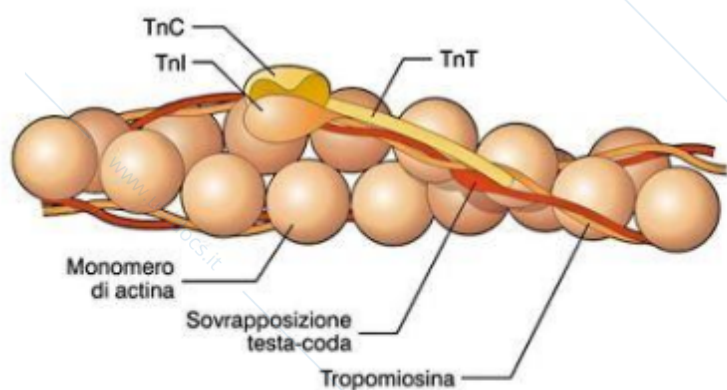
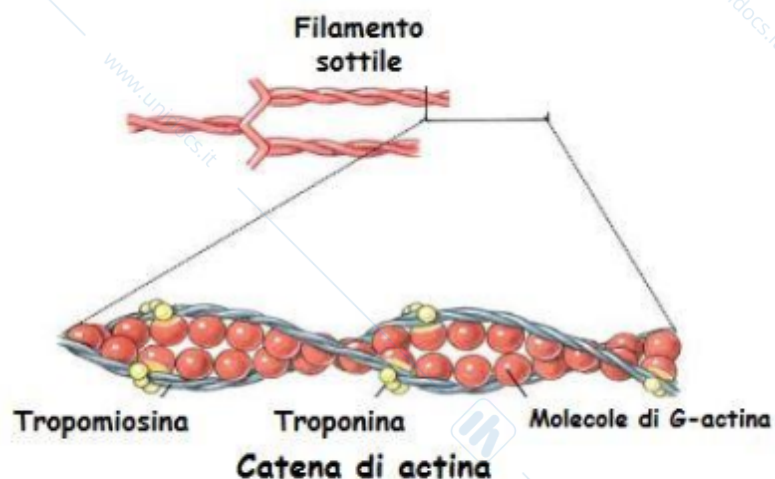
Il filamento sottile è costituito da una doppia elica di F-actina (derivante dalla polimerizzazione della G-actina). A livello della G-actina si trovano i siti di legame per la miosina.

Il filamento di actina è associato a proteine accessorie:

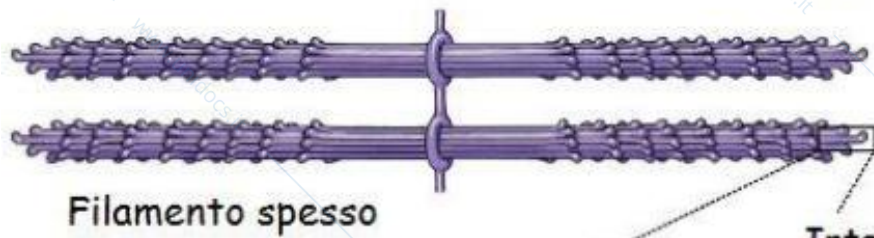
Tropomiosina: Proteina filamentosa, costituita da 2 α eliche, disposta nel solco fra le due eliche di actina.

Troponina, costituita da tre subunità globulari (C, T ed I) disposte ad intervalli regolari (38.5 nm) lungo i filamenti di tropomiosina.

- La troponina C lega Ca^{2+} ,
 - la troponina I inibisce l'ATPasi acto-miosinica
 - la troponina T è responsabile del legame alla tropomiosina
- Il complesso troponina-tropomiosina, in assenza di Ca^{2+} , inibisce l'interazione actina-miosina.



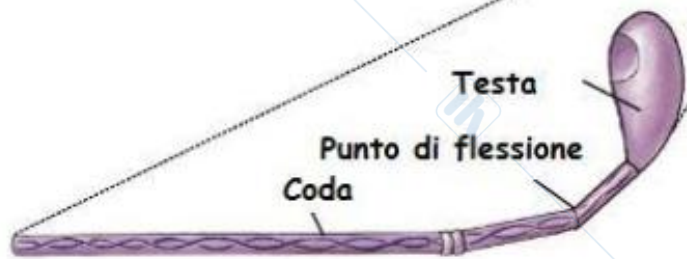
Filamento spesso



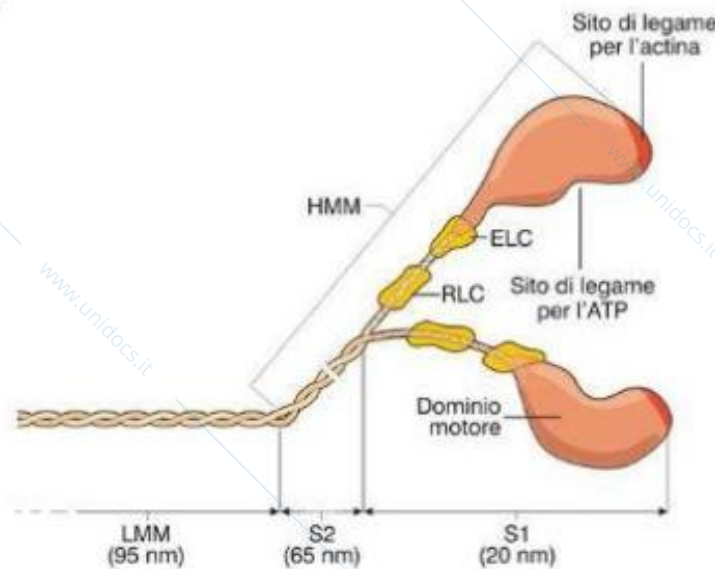
Circa 250 molecole di miosina

Filamento spesso

Interagisce con actina e ATP



Molecola di Miosina

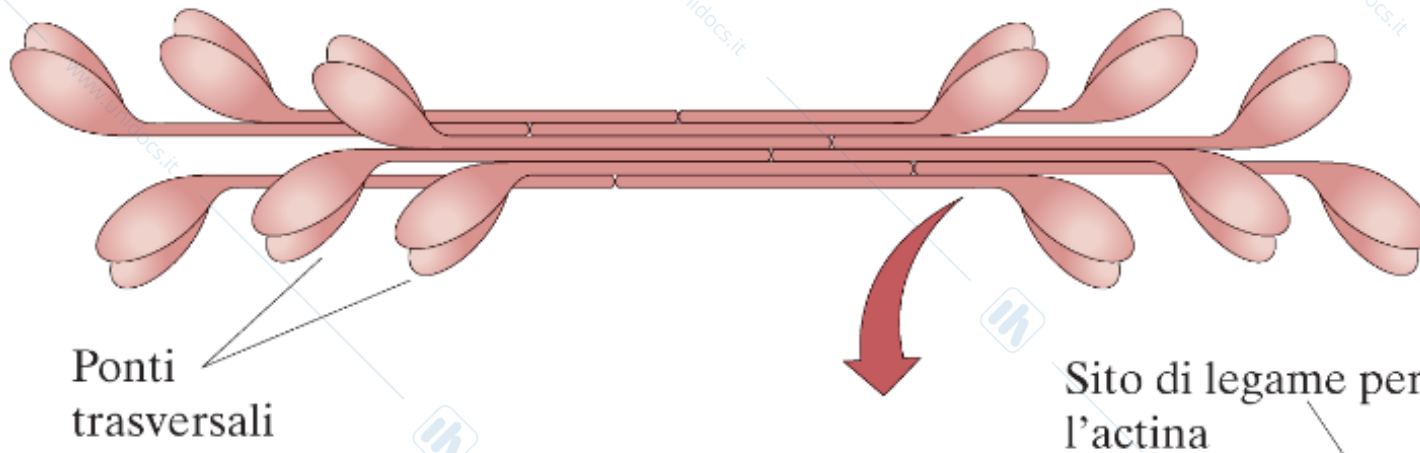


© 2005 edi.ermes milano

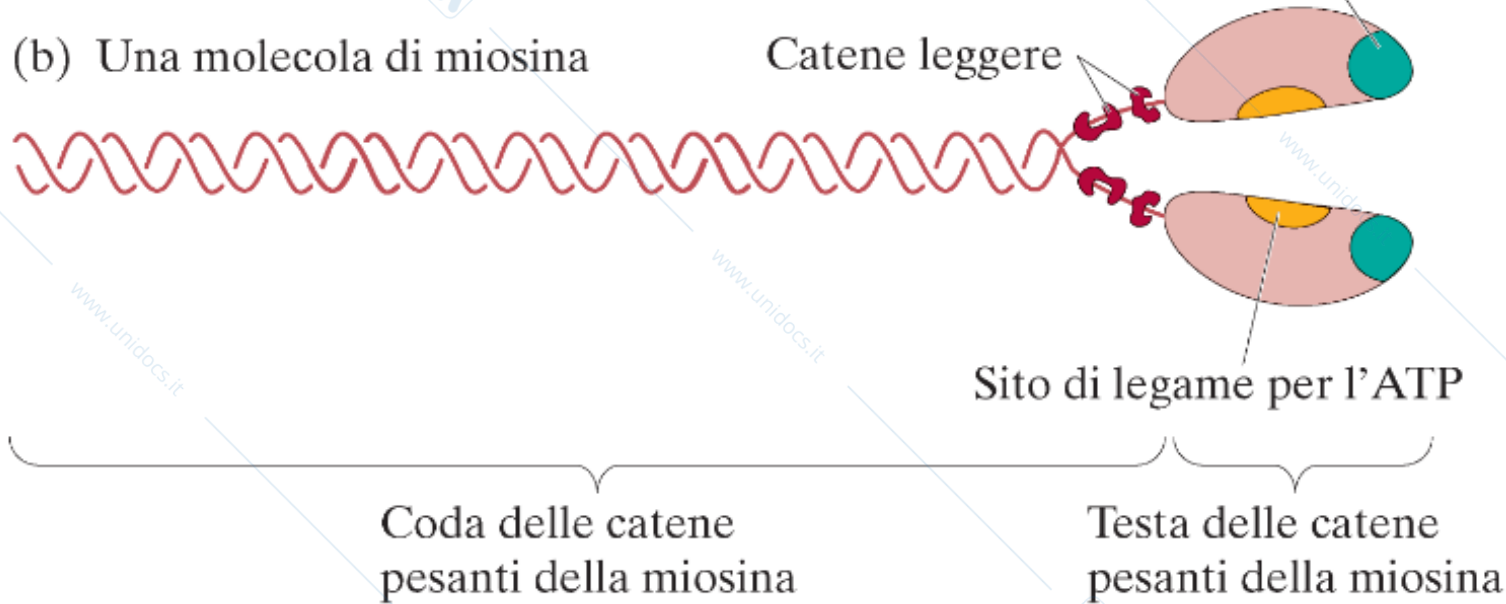
Il filamento spesso è formato da molecole di miosina. La miosina è composta da due catene pesanti di circa 2000 amminoacidi ciascuna. Le estremità N-terminali vanno a formare la regione globulare, dotata di due teste, mentre le code C-terminali si sviluppano come due code intrecciate (due α -eliche superavvolte tra loro). Quattro catene leggere con funzione regolatoria si uniscono alla struttura nella regione di confine tra testa e coda.

Filamento spesso

(a) Le molecole di miosina in un filamento spesso



(b) Una molecola di miosina



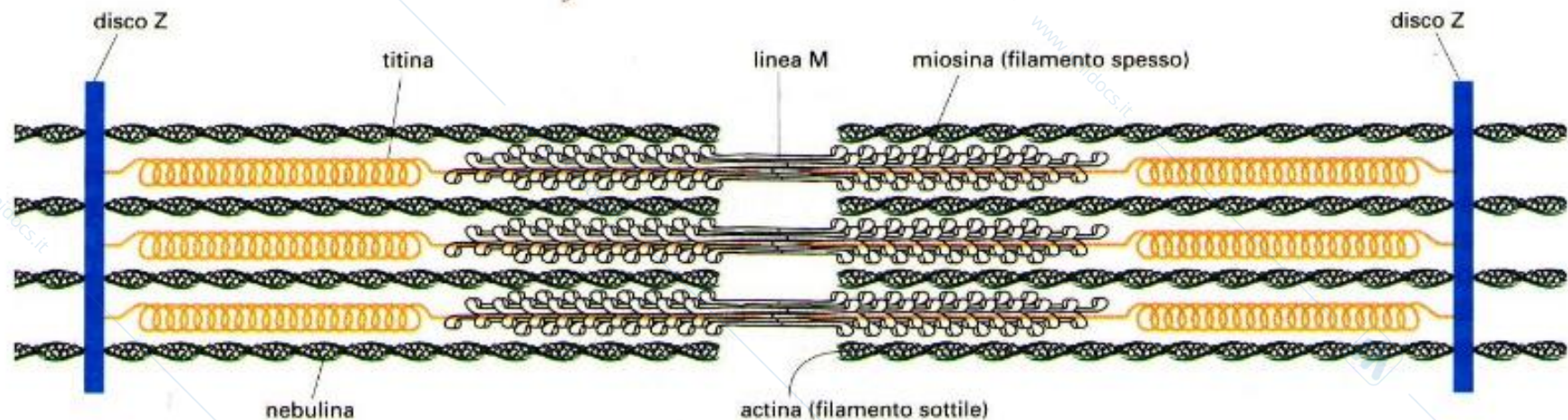
Proteine accessorie della miofibrilla

I filamenti di actina sono ancorati ad estremità del disco Z mediante α -actinina;

Titina: è il polipeptide più grande finora descritto; a forma di molla si estende dai filamenti spessi sino al disco Z; mantiene in posizione centrale al sarcomero i filamenti spessi di miosina (alterazioni della titina provocano la miopatia distale ad esordio adulto tardivo tipo 2 o MD di Markesbery-Griggs-Udd),

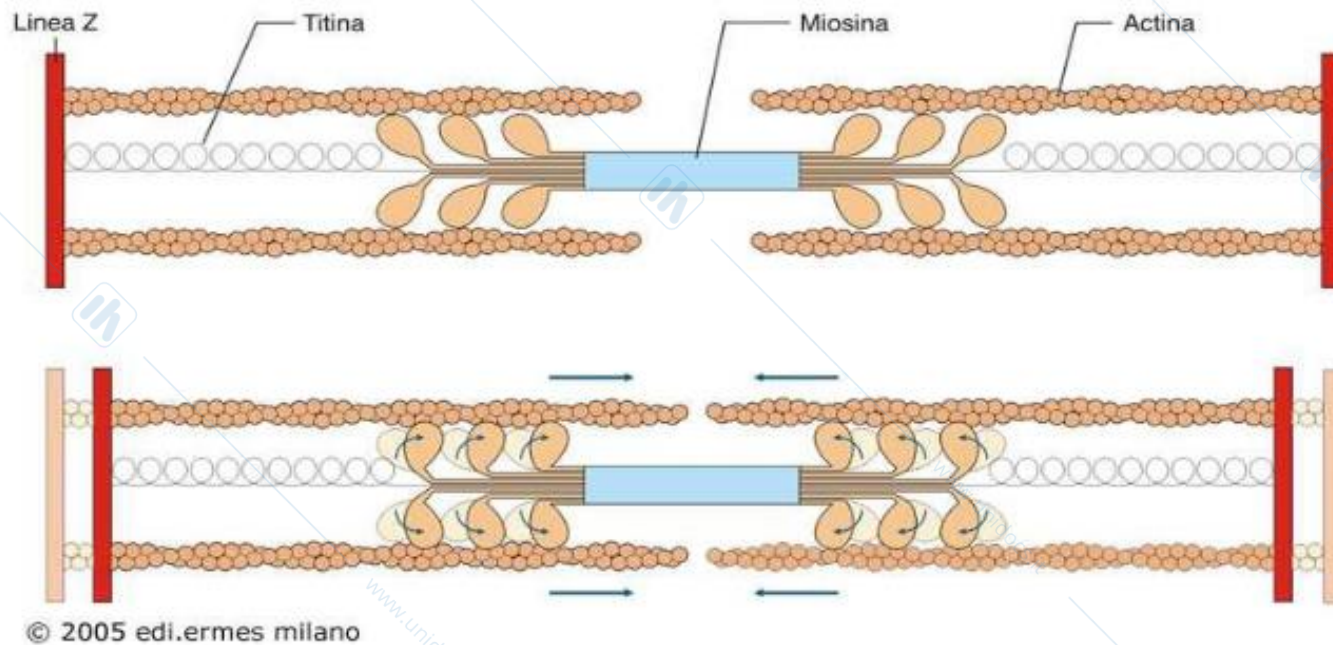
Nebulina: strettamente associata all'actina; interviene nell'assemblaggio dell'actina stessa e nella regolazione della sua lunghezza;

Distrofina: Proteina flessibile e allungata, ancorata alla membrana plasmatica che lega actina; la sua assenza o difetto causa la distrofia muscolare.



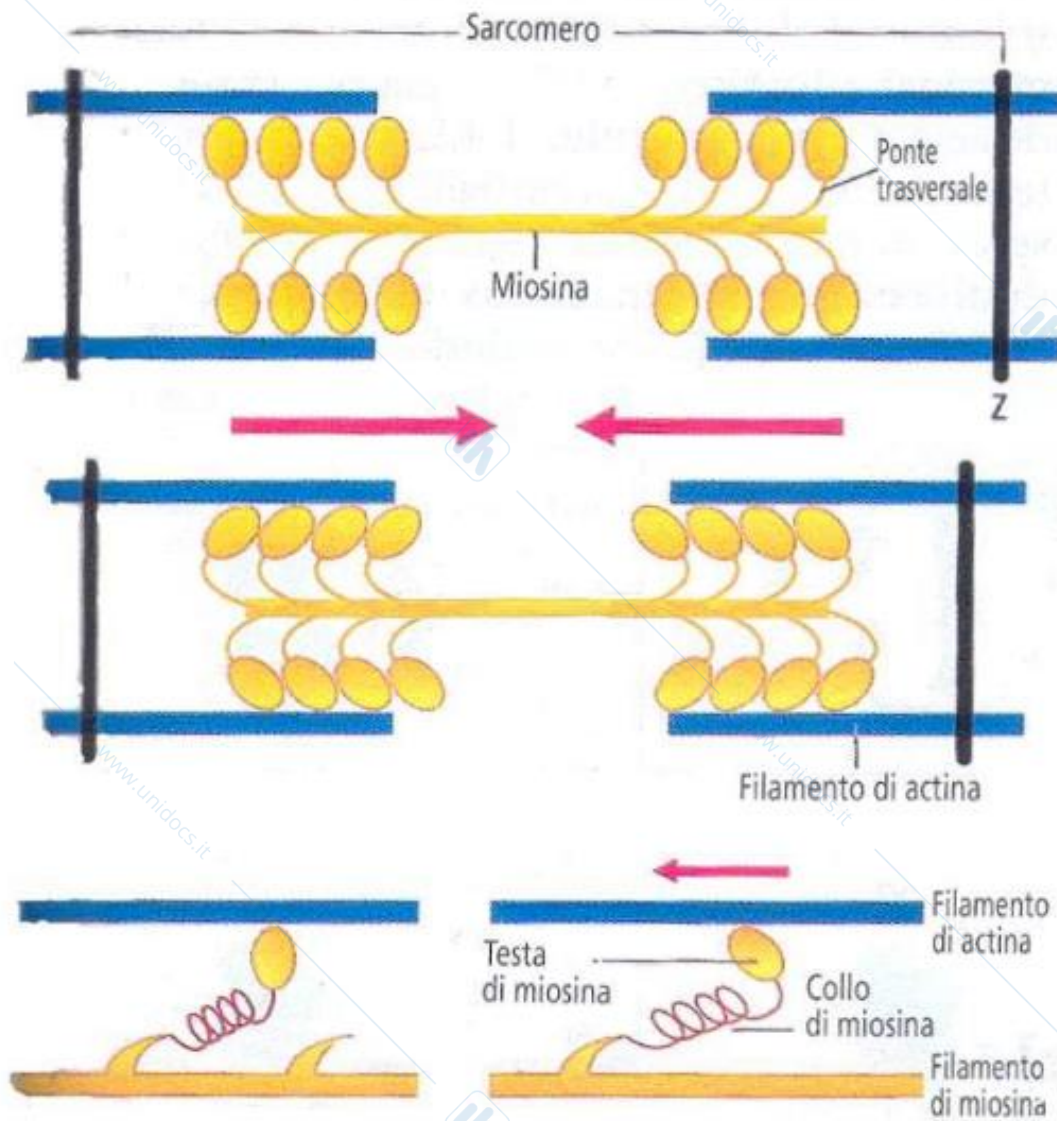
Eventi molecolari durante la contrazione muscolare

- Teoria dello scorrimento dei miofilamenti -



L'accorciamento del sarcomero durante la contrazione muscolare avviene grazie allo scorrimento dei filamenti spessi e sottili l'uno sull'altro. La forza generata dal muscolo dipende dall'azione dei ponti trasversi (*cross-bridge*).

- Teoria dello scorrimento dei miofilamenti -



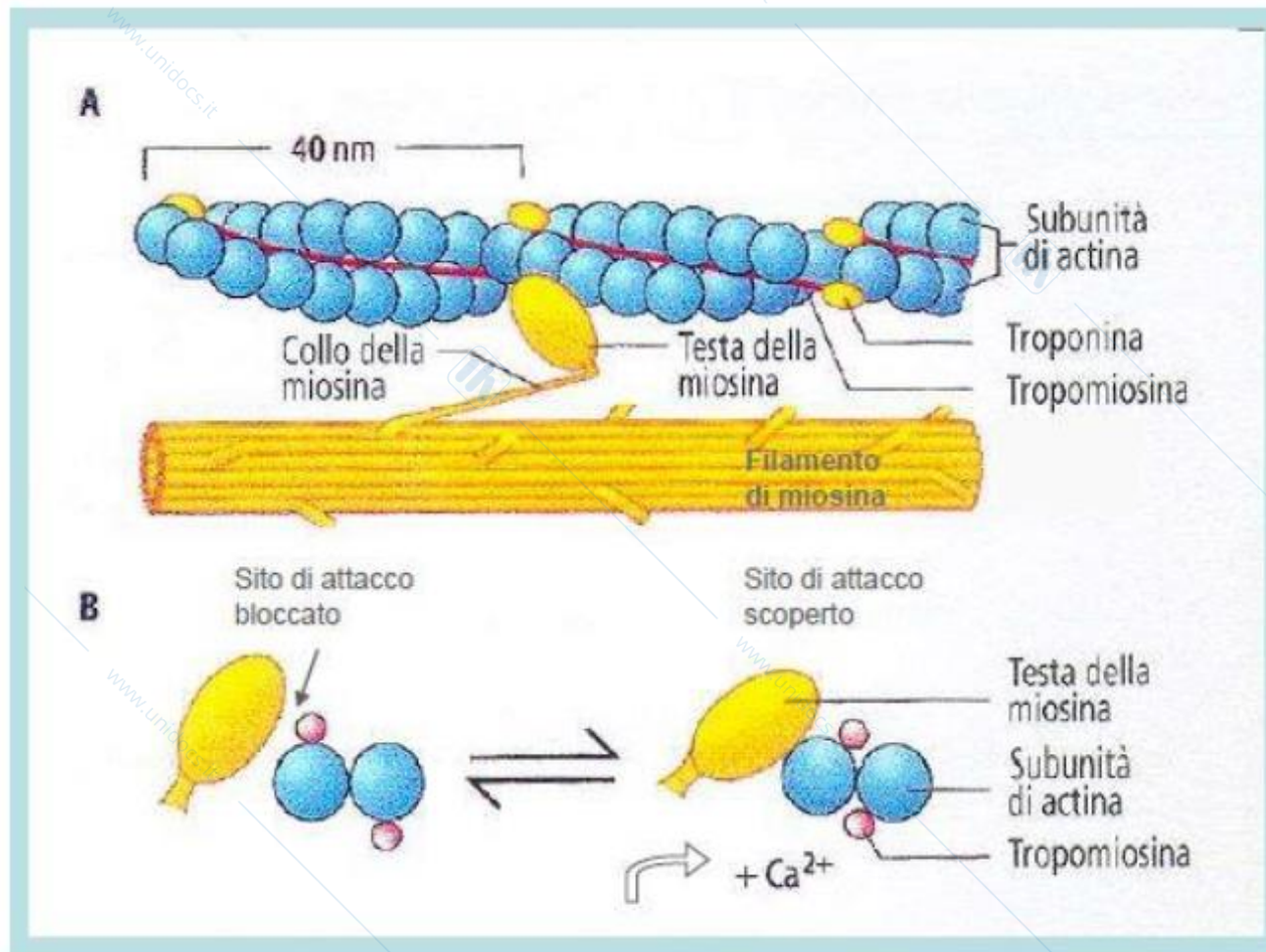
1. Durante la fase di attacco i ponti generano forza, questo a sua volta determina lo scorrimento dei filamenti di actina (avanzamento di 8-12 nm, movimento a remo).

2. Distacco dei ponti ed attacco a nuovi siti di actina.

➤ L'azione ciclica e ripetuta determina l'accorciamento di tutto il muscolo.

➤ La forza muscolare sviluppata dipende dal numero di interazioni che si realizzano.

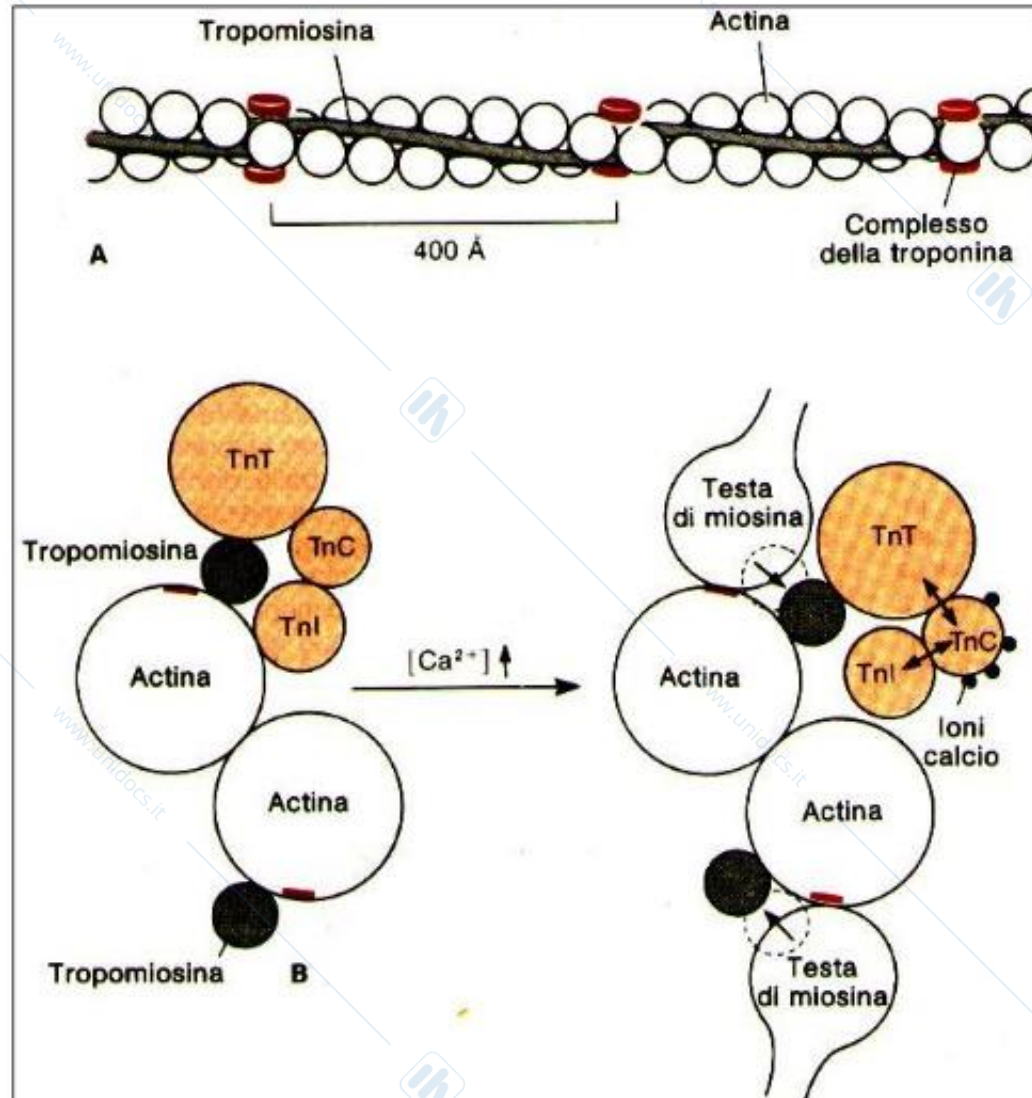
Attivazione della contrazione muscolare da parte del Ca^{2+}



Il segnale di innesco della contrazione muscolare è rappresentato da un incremento della concentrazione intracellulare di Ca^{2+} .

Il legame del Ca^{2+} alla troponina determina un cambiamento conformazionale della troponina che si ripercuote sulla tropomiosina la quale viene postata più profondamente nel solco del doppio filamento di actina, rendendo liberi i siti di attacco dell'actina per la miosina.

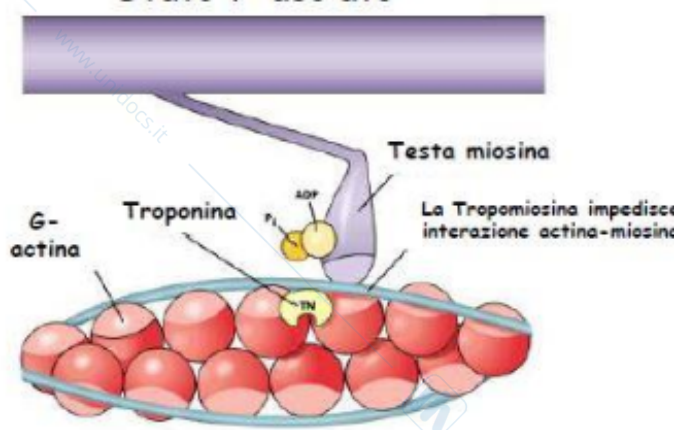
Attivazione della contrazione muscolare da parte del Ca^{2+}



4 ioni Ca^{2+} si legano alla troponina C inducendone un cambiamento conformazionale. In seguito a questa variazione conformazionale la tropomiosina si sposta e scopre il sito sull'actina di legame per la miosina

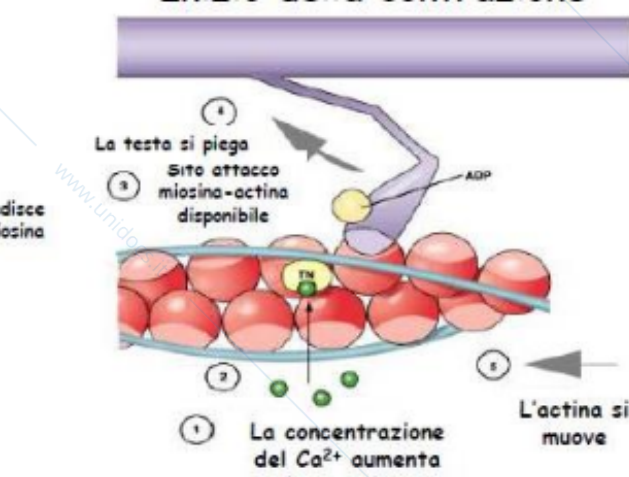
Attivazione della contrazione muscolare da parte del Ca^{2+}

Stato rilasciato



Durante lo stato rilasciato la contrazione è impedita dalla tropomiosina che blocca l'interazione acto-miosinica

Inizio della contrazione



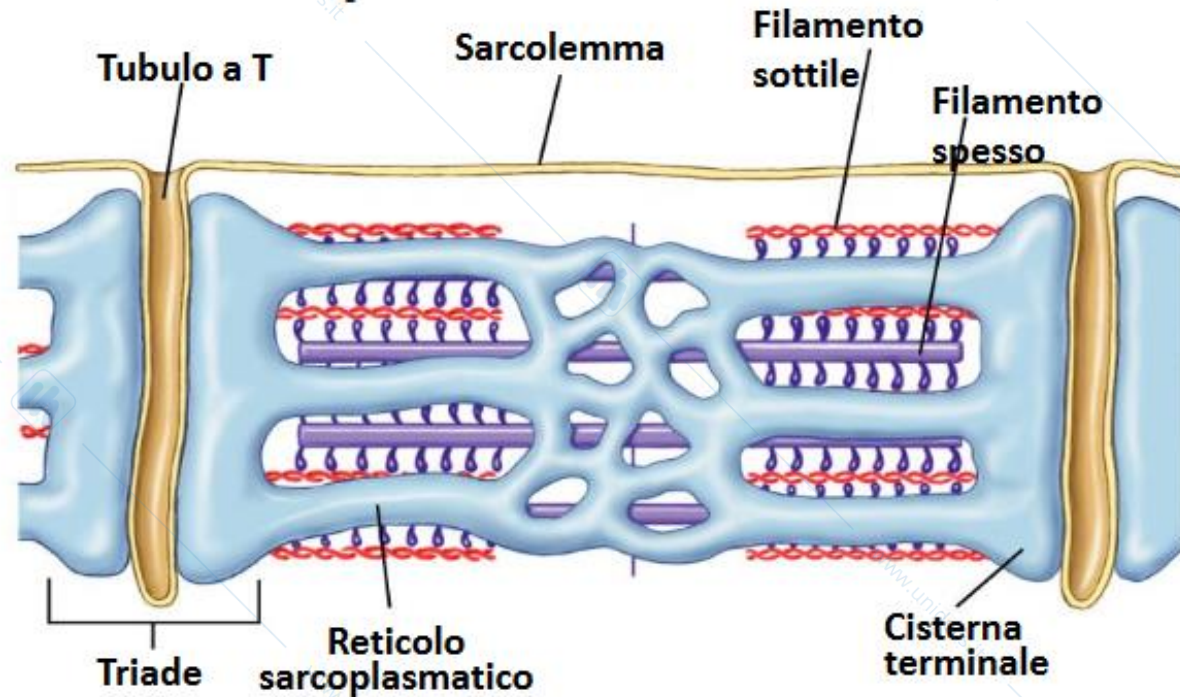
La contrazione è innescata da un incremento della concentrazione di Ca^{2+} , che legandosi alla troponina C determina un cambiamento conformazionale che consente la liberazione dei siti di attacco sull'actina per la miosina.

L'ATPasi miosinica idrolizza l'ATP liberando l'energia necessaria per consentire la rotazione della testa di miosina che spinge l'actina verso il centro del sarcomero.

La testa si stacca, torna alla posizione di partenza e si attacca ad un'altra molecola di actina.

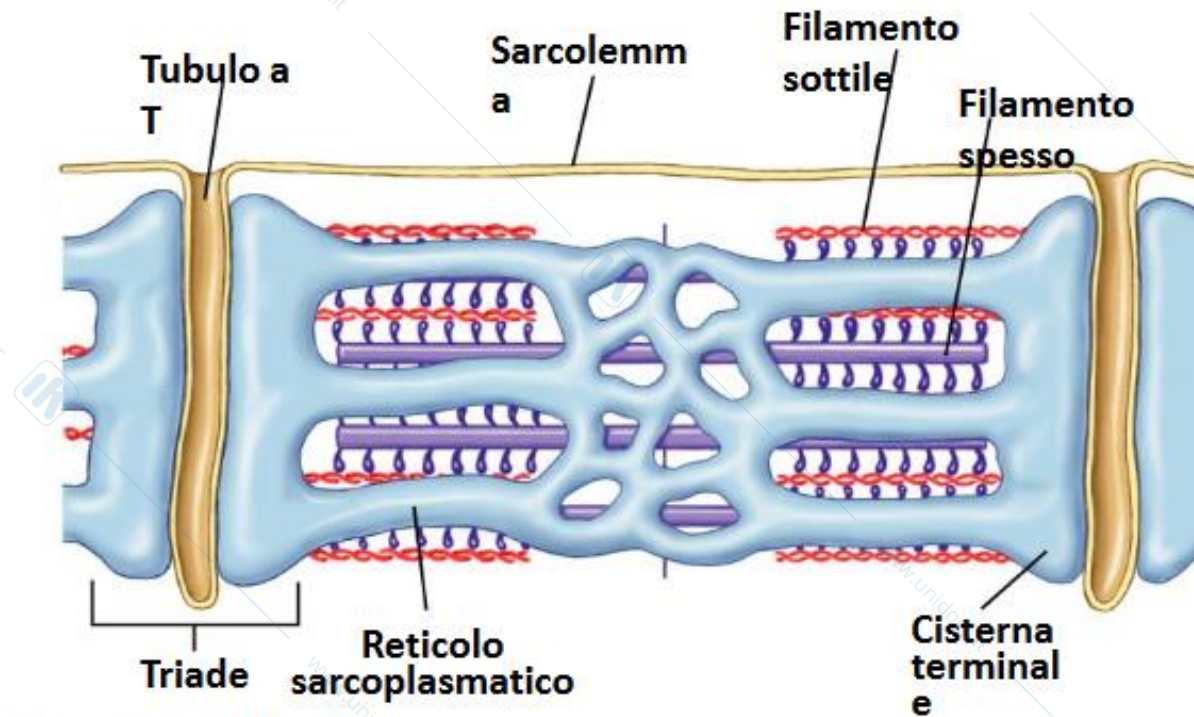
Il ciclo procede per tutta la durata della contrazione.

Da dove arriva il Ca^{2+} per l'innesco della contrazione muscolare?



Il Ca^{2+} necessario per l'innesco della contrazione muscolare deriva dal reticolo endoplasmatico (detto sarcoplasmatico). Esso si estende come un sistema di tubuli, a sviluppo prevalentemente longitudinale, delimitati da membrana, che circonda le miofibrille delle fibrocellule muscolari.

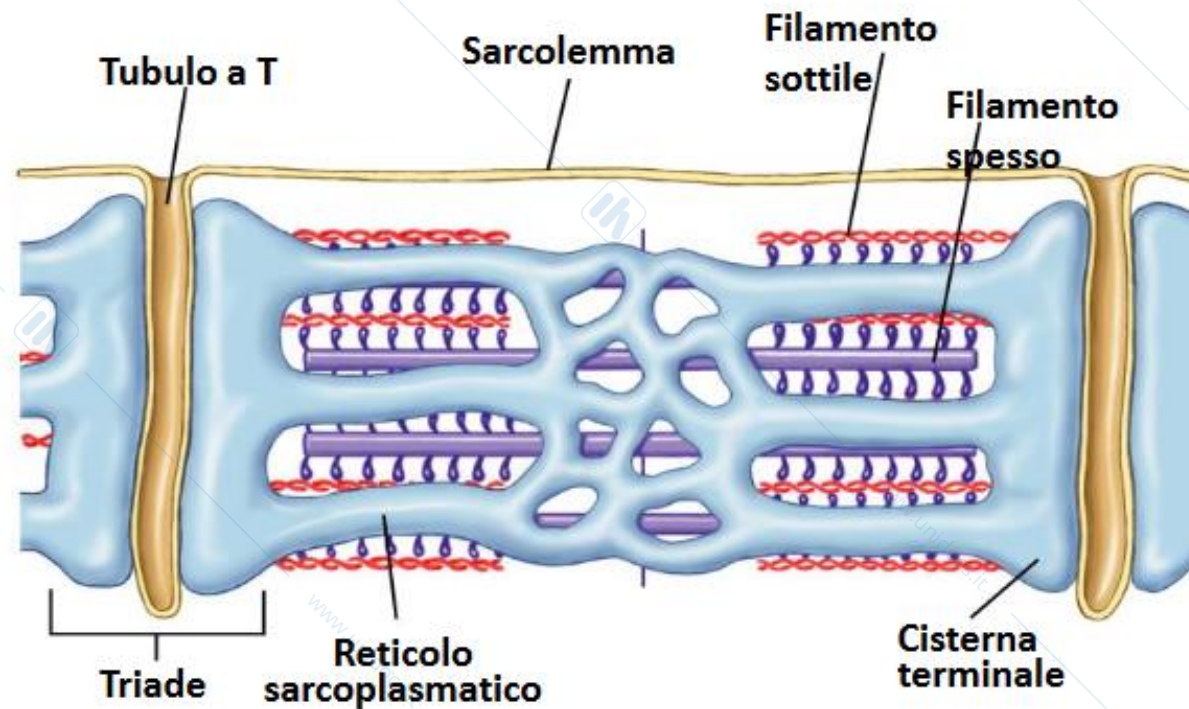
Il reticolo sarcoplasmatico



Il reticolo sarcoplasmatico è composta da:

- il sistema dei tubuli longitudinali, che sono presenti in concomitanza di tutta la banda A del sarcomero, che è composto da tubuli del reticolo sarcoplasmatico allungati e paralleli;
- il sistema a rete, che è formato da piccoli canalicoli intercomunicanti disposti al centro del sistema dei tubuli longitudinali in corrispondenza della banda H;
- le cisterne terminali, ampie dilatazioni sviluppate in senso trasversale dei tubuli longitudinali, che si trovano in prossimità del confine tra la banda A e la banda I.

Il reticolo sarcoplasmatico – la triade

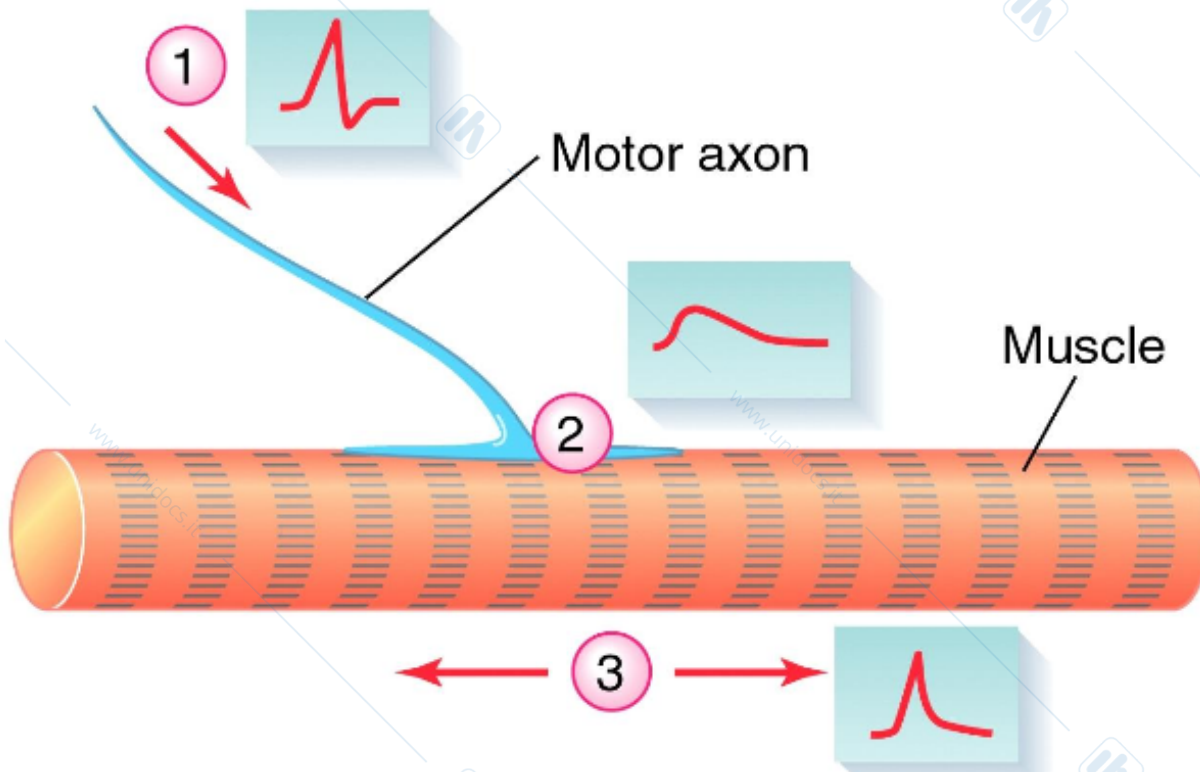


A due cisterne terminali si associa un tubulo T formando la cosiddetta «triade». I tubuli a T sono invaginazioni sottili e anulari del sarcolemma. I tubuli T comunicano con lo spazio extracellulare, mentre le cisterne terminali comunicano con il contenuto del lume del SER.

Ruolo del Ca^{2+} nella contrazione muscolare

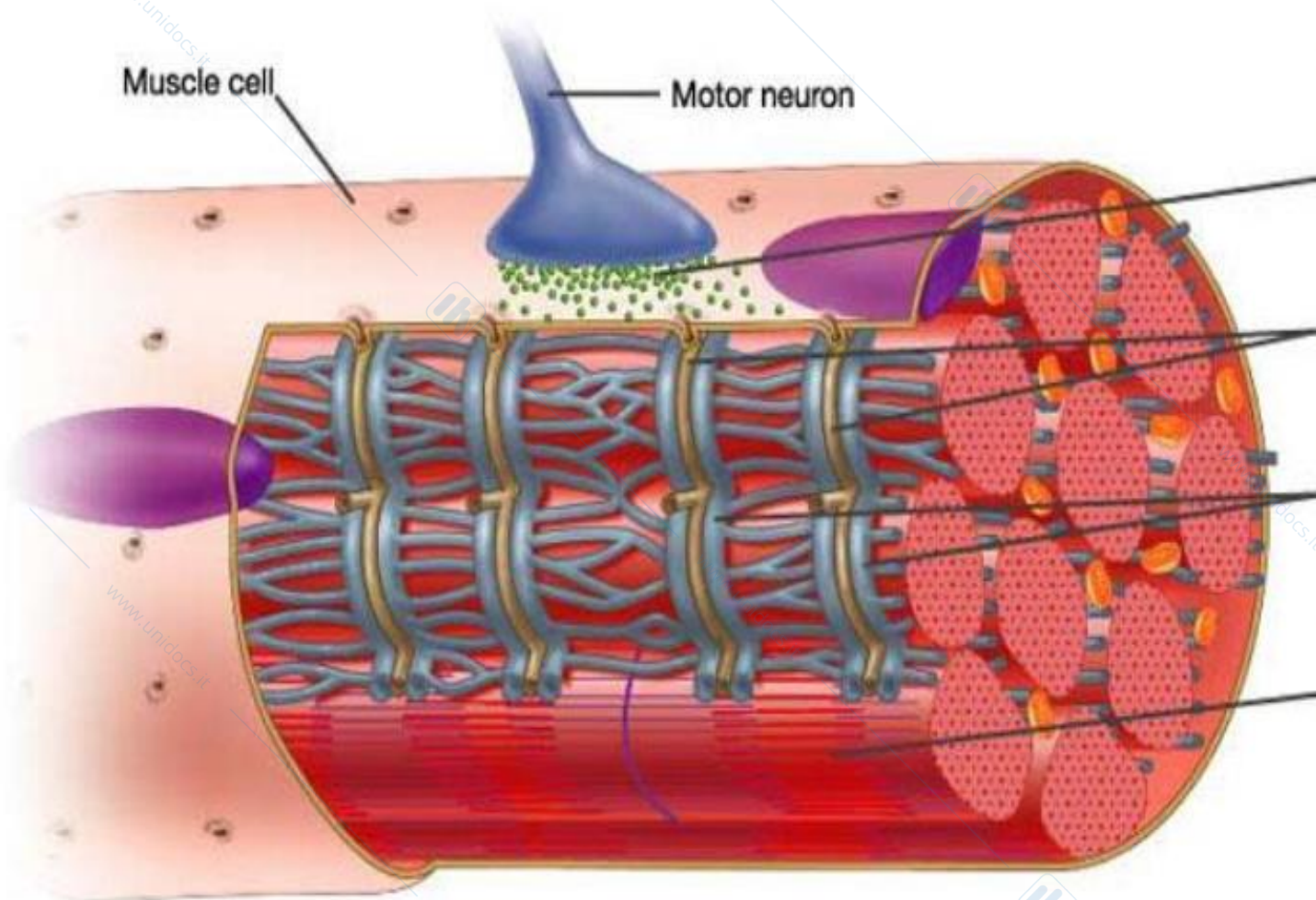
L'incremento della concentrazione intracellulare di Ca^{2+} , che innesca la contrazione muscolare, è determinato dalla stimolazione della fibrocellula muscolare da parte del motoneurone.

Il Ca^{2+} , pertanto, consente di mediare l'accoppiamento tra contrazione muscolare (evento meccanico) ed evento elettrico, ossia il potenziale d'azione della fibrocellula muscolare (accoppiamento eccitazione-contrazione), che a sua volta è innescato dal potenziale di placca a livello della sinapsi neuromuscolare.



L'arrivo del potenziale d'azione nel motoneurone (1) determina a livello della sinapsi neuromuscolare il rilascio di acetilcolina e la genesi del potenziale di placca (2), il quale a sua volta determina l'insorgere del potenziale d'azione nella membrana plasmatica della fibrocellula muscolare (3).

L'incremento della concentrazione intracellulare di Ca^{2+} , che innesca la contrazione muscolare, è determinato dalla stimolazione della fibrocellula muscolare da parte del motoneurone.



- 1) L'arrivo del potenziale d'azione nel motoneurone al bottone sinaptico induce il rilascio di acetilcolina
- 2) Il potenziale d'azione si propaga lungo i tubuli a T
- 3) A livello dei tubuli T l'arrivo del potenziale d'azione apre canali del Ca^{2+} voltaggio dipendenti presenti nella membrana del reticolo sarcoplasmatico
- 4) Il Ca^{2+} è rilasciato dal reticolo sarcoplasmatico nel citosol e, legandosi alla troponina C innesca la contrazione

Ruolo dell'ATP nella contrazione muscolare

L'ATP svolge tre ruoli importanti nella contrazione muscolare:

- 1. Consente il distacco della miosina dall'actina**
- 2. Consente il trasferimento di energia alla testa della Miosina**
- 3. Permette il trasporto attivo del Ca^{2+} nel reticolo sarcoplasmatico**
- 4. Consente la costante attività della $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasi}$ che genera e mantiene i gradienti di concentrazione del Na^+ e del K^+ , fondamentali per la genesi del potenziale d'azione.**