

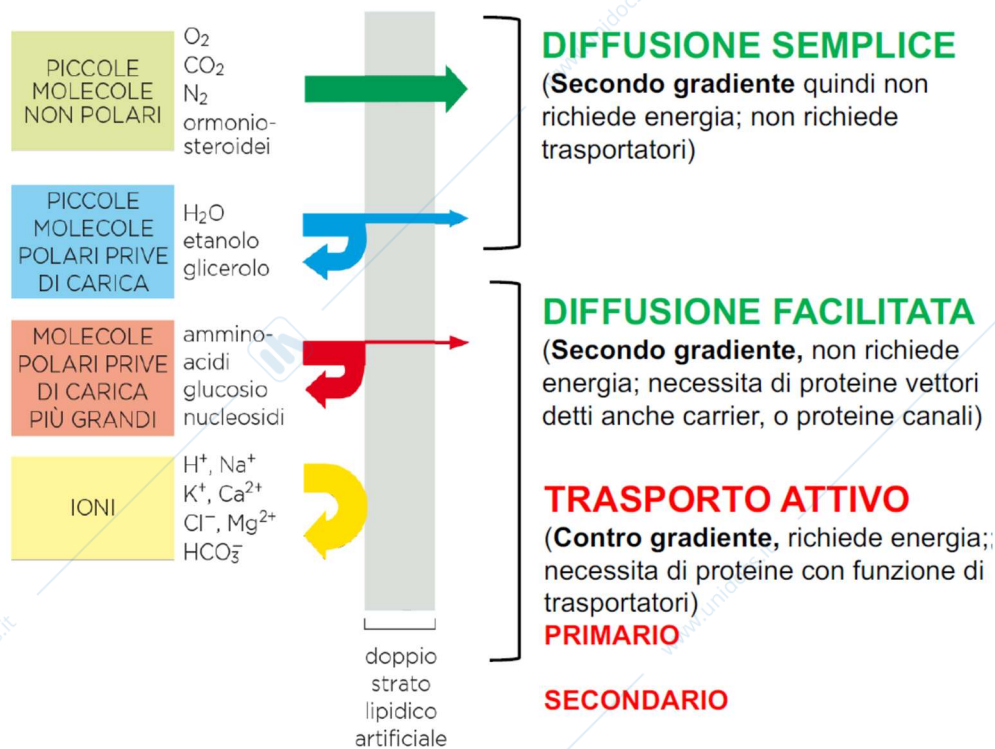
## I MECCANISMI DI TRASPORTO

Per sopravvivere e funzionare correttamente, le cellule devono mantenere un ambiente interno costante molto diverso da quello extracellulare, un processo detto OMEOSTASI. La corretta regolazione del trasporto è dunque essenziale per la cellula.

Le sostanze che vengono trasportate al di qua o al di là della membrana sono in genere piccole molecole organiche, ioni e gas, oppure grandi molecole, come i polipeptidi. Data la differenza di grandezza tra queste molecole, i meccanismi di trasporto si dividono in due grandi classi:

- Il trasporto di piccole molecole, che comprende la DIFFUSIONE SEMPLICE, la DIFFUSIONE FACILITATA e il TRASPORTO ATTIVO
- Il trasporto di grandi molecole, che comprende l'ESOCITOSI, l'ENDOCITOSI, l'ENDOCITOSI MEDIATA DA RECETTORE, la FAGOCITOSI, la PINOCITOSI e la TRANSCITOSI

### TRASPORTO DI PICCOLE MOLECOLE



Il movimento di una piccola molecola priva di carica netta è determinato dal suo GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE: esso è l'entità della differenza di concentrazione di una sostanza ai lati opposti della membrana. tanto più è elevata la differenza di concentrazione, tanto più grande è il gradiente e quindi la forza di spostamento di quella sostanza.

La diffusione semplice e facilitata di una piccola molecola comporta un movimento esoergonico (non richiede energia) e spontaneo, secondo il gradiente di concentrazione dalla concentrazione più elevata a quella più bassa, mentre il trasporto attivo prevede un movimento endoergonico (richiede energia) contro il gradiente di concentrazione.

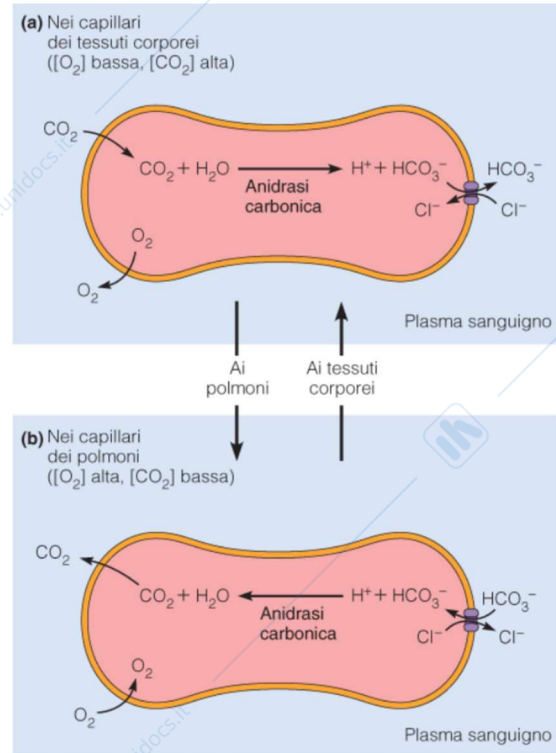
## LA DIFFUSIONE SEMPLICE

Consiste nel movimento netto spontaneo di un soluto da una regione in cui la sua concentrazione è più alta ad una regione in cui la sua concentrazione è più bassa. È l'unico tipo di trasporto che non richiede l'ausilio di altre strutture, come le proteine di trasporto o proteine transmembrana. A causa della natura idrofobica della parte interna della membrana, la diffusione semplice permette il movimento solo a gas, molecole apolari o molecole polari molto piccole (acqua, glicerolo o etanolo). Le molecole cariche, anche se piccole, come gli ioni, non diffondono attraverso la membrana.

Non è importante la distribuzione iniziale delle piccole molecole, la diffusione semplice tende sempre a creare una soluzione uniforme, all'equilibrio, in cui la concentrazione è la stessa in ogni punto.

Un esempio di diffusione semplice è la diffusione dell' $O_2$  e della  $CO_2$  attraverso la membrana plasmatica di un eritrocita, nei capillari dei tessuti corporei e nei capillari dei polmoni. L'ossigeno è in grado di diffondersi molto facilmente nel doppio strato lipidico: queste proprietà permette agli eritrociti all'interno del sistema circolatorio di assumerlo nei polmoni e di liberarlo nei tessuti. Nei capillari dei tessuti, dove la concentrazione dell'ossigeno è bassa, esso viene liberato dall'emoglobina e diffonde dal citoplasma dell'eritrocita nel plasma sanguigno e da qui alle cellule che rivestono le pareti dei capillari. Nei capillari dei polmoni avviene il contrario: l'ossigeno diffonde dai capillari, dove la concentrazione è alta, nel citoplasma degli eritrociti, dove la sua concentrazione è più bassa.

Anche l'anidride carbonica è in grado di diffondersi per diffusione semplice (ossigeno e anidride carbonica attraversano la membrana dell'eritrocita in direzione opposta), ma la maggior parte della  $CO_2$  è trasportata sotto forma di ione bicarbonato.



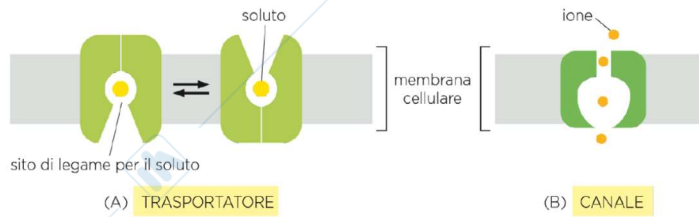
## LA DIFFUSIONE FACILITATA

La maggior parte delle sostanze presenti nelle cellule sono troppo grandi e troppo polari per poter attraversare la membrana per diffusione semplice. Questi soluti possono spostarsi all'interno e all'esterno della cellula solo con l'aiuto di **PROTEINE DI TRASPORTO**. La diffusione facilitata è un processo esoergonico in cui il soluto diffonde secondo il gradiente di concentrazione o elettrochimico (nel caso di ioni).

Tutte le proteine di trasporto coinvolte nella diffusione facilitata sono proteine integrali di membrana che contengono anche molti segmenti transmembrana (la attraversano diverse volte). Queste proteine si dividono in due gruppi:

- Le proteine **CARRIER** si legano a una o più molecole di soluto su un lato della membrana e poi subiscono un cambiamento conformazionale, che determina il trasferimento del soluto sul lato opposto della membrana
- Le proteine **CANALE** formano invece attraverso la membrana dei canali idrofilici che permettono il passaggio dei soluti senza alcun cambiamento conformazionale della stessa proteina. Alcuni di questi canali sono abbastanza grandi e specifici, come i pori. Altri invece sono abbastanza stretti e altamente selettivi, i quali sono coinvolti maggiormente nel passaggio di ioni (canali ionici).

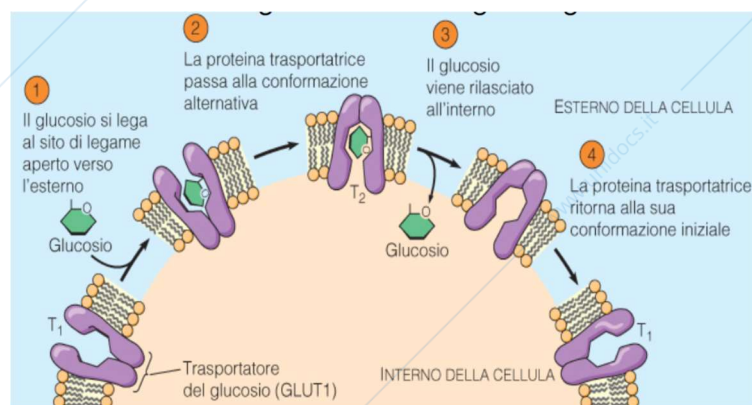
Ovviamente il movimento dei soluti risulta più veloce tramite i canali, in quanto non devono andare in contro ad un complesso cambiamento conformazionale.



Un esempio di diffusione facilitata è il trasporto del GLUCOSIO attraverso la membrana plasmatica di una cellula. Siccome la concentrazione di questa molecola è in genere più elevata nel sangue che nella cellula (la concentrazione del glucosio nel sangue è di circa 3,5-5 mM), il suo trasporto è esoergonico, non richiede dunque energia. Tuttavia è una molecola troppo grande e troppo polare per diffondere da sola nella cellula. Necessita dunque di una proteina di trasporto.

L'eritrocita, come quasi tutte le cellule esposte al flusso sanguigno, è capace di assorbire glucosio mediante diffusione facilitata grazie alla sua bassa concentrazione intracellulare e alla presenza sulla sua membrana plasmatica di una proteina carrier per il glucosio, o TRASPORTATORE DEL GLUCOSIO GLUT1 (glut1 è espresso in tutti i tessuti, dunque è una proteina ubiquitaria). Esso trasporta il glucosio con un meccanismo con conformazione alternativa: i due stati conformazionali sono chiamati T1, con il sito di legame esposto verso la parte esterna della cellula, e T2, con il sito di legame esposto verso l'interno della cellula.

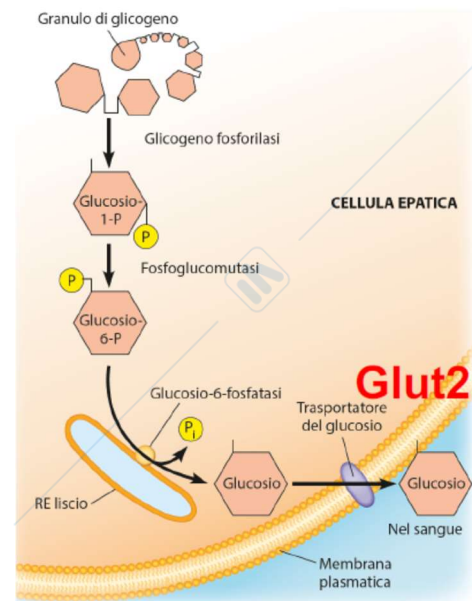
1. Il processo inizia quando una molecola di glucosio collide con una proteina GLUT1 nella conformazione T1 e vi si lega
2. Il legame del glucosio fa sì che GLUT1 passi alla conformazione T2
3. Il cambiamento conformazionale facilita il rilascio del glucosio all'interno della cellula
4. La proteina GLUT1 ritorna alla sua conformazione iniziale T1



La bassa concentrazione intracellulare del glucosio, viene mantenuta perché il glucosio appena entrato viene subito fosforilato a glucosio-6-fosfato da un enzima esochinasi (ATP funge da donatore di un gruppo fosfato): la reazione dell'esochinasi è la prima tappa del metabolismo del glucosio. La fosforilazione ha lo scopo di trattenere il glucosio nella cellula, in quanto GLUT1 non lo riconosce e la membrana plasmatica non possiede una proteina carrier adatta. Inoltre, la fosforilazione permette di mantenere il livello di glucosio libero nella cellula basso, garantendo che l'equilibrio non venga raggiunto e consentendo alla cellula di continuare a importare glucosio.

Nelle cellule muscolari ed epatiche la concentrazione di glucosio libero è mantenuta sempre bassa, in quanto una volta che viene trasportato all'interno della cellula il glucosio viene immagazzinato sotto forma di glicogeno.

Le cellule del fegato, gli epatociti, non solo presentano GLUT1, ma presentano GLUT2. Esso funziona in entrambi i sensi, facendo così uscire glucosio dalla cellula. All'interno degli epatociti le molecole di glicogeno vengono scisse, prima in molecole di glucosio-1-fosfato, e poi in molecole di glucosio-6-fosfato. GLUT2 non è in grado di trasportare questo tipo di molecola. → nel reticolo endoplasmatico liscio è presente un enzima di membrana, con sito catalitico rivolto verso l'esterno, in grado di defosforilare il glucosio-6-fosfato in molecole di glucosio. In questo modo la concentrazione di glucosio nella cellula aumenta e questo mette in moto la proteina carrier GLUT2, rilasciando il glucosio nel flusso ematico.



GLUT2 ha un'affinità molto più elevata di GLUT1: solo quando la concentrazione di glucosio nel sangue è molto alta compete con GLUT1 e trasporta la molecola dall'esterno all'interno. Non sottrae quindi glucosio ai tessuti che si nutrono solo di glucosio. Nella maggior parte dei casi lavora quindi per trasportare glucosio dall'interno all'esterno.

→ Queste proteine di trasporto sono altamente specifiche

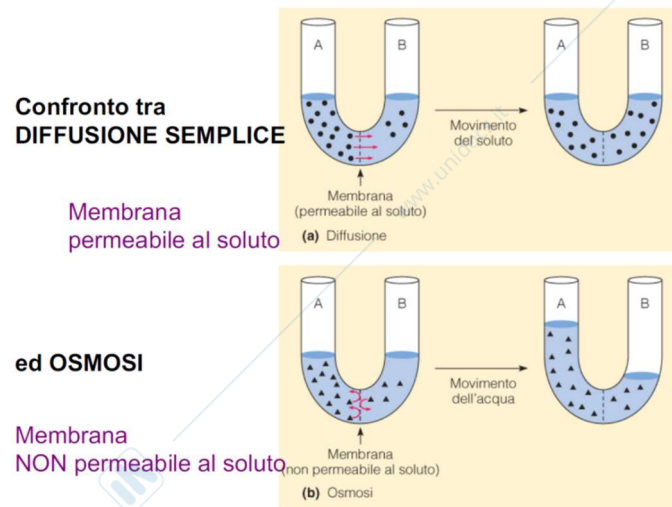
Nel fegato è stoccato un terzo del glicogeno di tutto l'organismo (circa 80-100 g) sotto forma di catene più lunghe e più pesanti rispetto ai muscoli. Il principale ruolo del glicogeno del fegato è quello di mantenere stabili e costanti i livelli di glucosio ematico, pertanto ha un contenuto molto variabile. A differenza del muscolo scheletrico, il glicogeno epatico deve essere immesso nel torrente ematico, poiché rappresenta la principale scorta endogena di carboidrati che può essere sfruttata dai vari tessuti del corpo. Le cellule del fegato sono in grado di defosforilare il glucosio. In questo modo, grazie alla defosforilazione del glicogeno epatico, il fegato può rilasciare glucosio nel torrente ematico, in modo da regolare la glicemia, contrariamente al glicogeno muscolare che non può essere impiegato per lo stesso scopo. Il glucosio è il principale, e in condizioni normali l'unico, substrato adoperato dal cervello e da altri tessuti glucosio-dipendenti. Il peso medio del fegato è di 1,5 kg, con uno stoccaggio approssimativamente di 75-110 g di glicogeno epatico nell'uomo adulto in stato di post-assorbimento. Il fegato presenta in proporzione una maggiore concentrazione di glicogeno rispetto al muscolo scheletrico.

Il glicogeno viene scisso nel fegato a glucosio e poi rilasciato nel circolo sanguigno. Questa riserva dura circa 12 ore (periodo variabile a seconda della saturazione della riserva), trascorse le quali la concentrazione di glucosio nel sangue si abbassa provocando debolezza, svogliatezza, deconcentrazione. Durante il digiuno notturno, il fegato rilascia glucosio nel sangue a causa della mancata assunzione di carboidrati dall'esterno per diverse ore, in sinergia con il rilascio di acidi grassi dal tessuto adiposo, per fornire una fonte di energia ai tessuti. Al termine del digiuno notturno i livelli di glicogeno epatico si riducono notevolmente fino ad arrivare indicativamente attorno ai 20 g. I tessuti che hanno la priorità nel consumo di glucosio sono i cosiddetti tessuti glucosio-dipendenti, che, contrariamente ad altri tessuti corporei, non sono in grado di sfruttare lipidi a scopo energetico. Il tessuto nervoso è citato come uno dei principali tessuti che richiedono glucosio, anche se in condizioni critiche esso è in grado di sfruttare i corpi chetonici, a differenza di altri apparati. Si stima che il cervello in condizioni di riposo consumi circa 0,1 g di glucosio al minuto. Durante l'esercizio, l'impiego di glucosio da parte dei tessuti extramuscolari non cambia di molto.

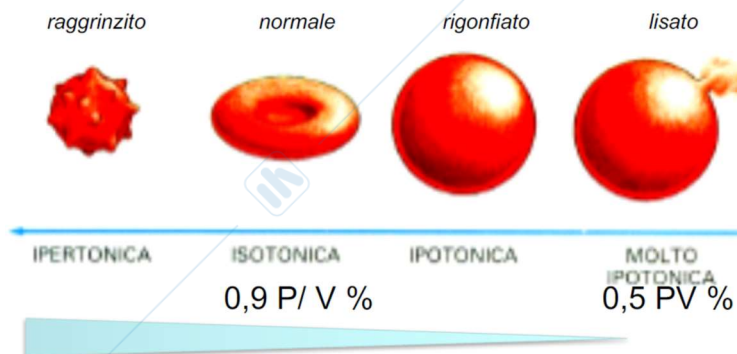
## CONFRONTO TRA DIFFUSIONE SEMPLICE ED OSMOSI

L'osmosi è la diffusione dell'acqua attraverso una membrana selettivamente permeabile.

Poiché la maggior parte dei soluti non può attraversare le membrane cellulari per diffusione, l'acqua tende ad attraversare le membrane in risposta alle differenze di concentrazione dei soluti ai due lati della membrana. L'acqua in particolare tende a diffondere dal lato della membrana dove c'è una concentrazione di soluto più bassa verso il lato dove la concentrazione di soluto è più alta. Questa diffusione dell'acqua in risposta alle concentrazioni di soluto, definita OSMOSI, la si può osservare quando una membrana selettivamente permeabile separa due compartimenti, uno dei quali contiene un soluto che non può attraversare la membrana. L'acqua passerà attraverso la membrana per cercare di equilibrare le concentrazioni dei soluti su entrambi i lati della membrana.



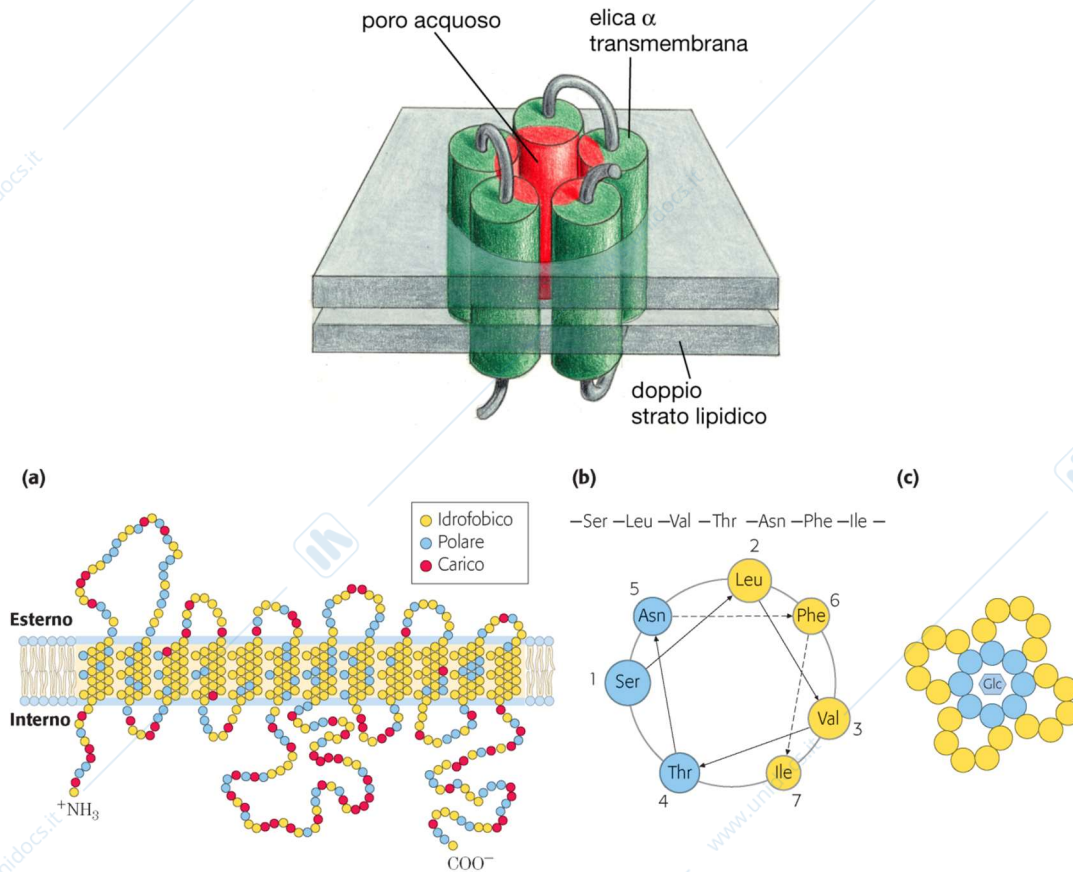
Una soluzione con una concentrazione del soluto più alta di quella esistente all'interno di una cellula viene definita SOLUZIONE IPERTONICA, mentre una soluzione con una concentrazione del soluto più bassa di quella all'interno della cellula viene indicata come SOLUZIONE IPOTONICA. Le soluzioni ipertoniche provocano la diffusione delle molecole d'acqua al di fuori della cellula, disidratandola. Le soluzioni ipotoniche, al contrario, causano la diffusione dell'acqua all'interno della cellula, aumentandone la pressione interna. Una soluzione con la stessa concentrazione di soluto che si ha nella cellula è detta SOLUZIONE ISOTONICA: il flusso netto dell'acqua sarà zero. Siccome le nostre cellule non presentano una membrana rigida (come le cellule vegetali), hanno sempre bisogno di mantenere un certo equilibrio, una condizione isotonica.



Come fanno le molecole d'acqua a spostarsi attraverso la membrana (la membrana è semi-permeabile all'acqua, poche molecole riescono a passare da sole, e lo fanno con difficoltà)?

Le molecole di acqua si spostano da una parte all'altra della membrana attraverso le ACQUA PORINE (riprendere la struttura dell'acqua-porina): maggiore è la quantità di acqua-porine, maggiore è il flusso di acqua. Ovviamente il poro non è molto ampio, passa solo una molecola d'acqua alla volta.

Attraverso le acqua-porine non passano gli ioni: questo perché sono sempre trasportati sotto forma di molecole idratate, ricoperte da molecole d'acqua (il quale determina un ingombro sferico eccessivo) e dunque il poro risulta troppo stretto. In più all'interno delle alfa eliche del poro sono presenti delle asparagine (?) le quali hanno il compito di non permettere il passaggio a protoni, come per esempio gli ioni potassio.



Di solito la concentrazione dei soluti è più alta all'interno della cellula. Questo è dovuto alle elevate concentrazioni di ioni e delle piccole molecole organiche, richieste per le normali funzioni cellulari, sia al grande numero di macromolecole disciolte nel citosol. Di conseguenza la maggior parte delle cellule sono ipertoniche rispetto al loro ambiente circostante e l'acqua tenderà a passare all'interno attraverso la membrana plasmatica, causando il rigonfiamento della cellula. In che modo la cellula risolve questo problema?

Le cellule risolvono questo problema pompando fuori continuamente e attivamente ioni inorganici, riducendo così l'osmolarità intracellulare e rendendo minima la differenza di concentrazione del soluto tra la cellula e il suo ambiente  $\rightarrow \text{POMPA Na}^+ / \text{K}^+$

## TRASPORTO ATTIVO

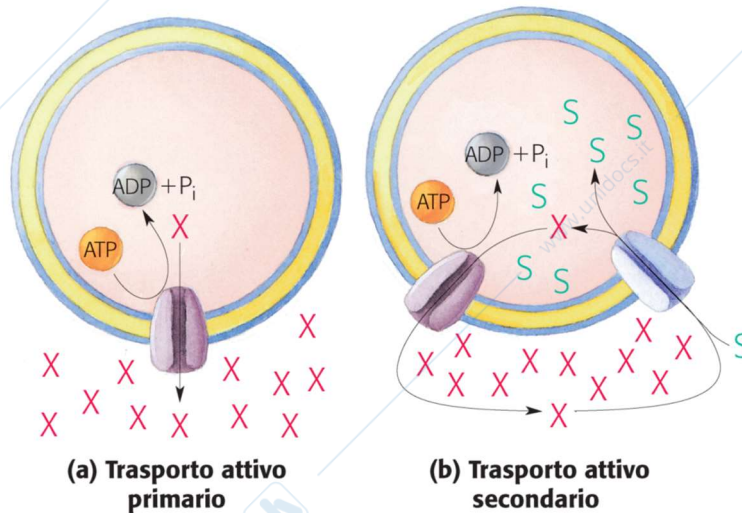
La diffusione semplice e facilitata costituiscono un importante meccanismo per accelerare il passaggio delle sostanze attraverso le membrane cellulari, ma rendono conto soltanto del trasporto delle molecole verso l'equilibrio, cioè secondo gradiente di concentrazione.

Come fa una sostanza che deve essere trasportata contro gradiente? Questa situazione richiede il **TRASPORTO ATTIVO**, processo che differisce dalla diffusione facilitata per un aspetto molto importante: il trasporto attivo determina il movimento dei soluti **CONTRO GRADIENTE**, allontanando i soluti dall'equilibrio. Esso richiede sempre un apporto di energia.

Il trasporto attivo ha tre principali funzioni. Rende possibile l'assorbimento di sostanze nutritive essenziali dall'ambiente o dai liquidi circostanti, anche quando le loro concentrazioni all'interno della cellula sono alte. Permette a varie sostanze, come i prodotti di secrezione e i materiali di rifiuto, di essere rimosse dalla cellula o dall'organello, anche quando la concentrazione esterna è più elevata rispetto all'interno. Infine, consente alla cellula di mantenere le concentrazioni intracellulari di ioni inorganici specifici, tra cui K, Na, Ca e H, in una condizione di costante squilibrio. → siccome la diffusione facilitata e semplice funzionano solo quando c'è uno squilibrio di concentrazione, senza il trasporto attivo non esisterebbe la vita.

Inoltre, per entrambi i tipi di diffusione il soluto si può spostare nell'una e nell'altra direzione, essendo completamente condizionati dal gradiente di concentrazione. Il trasporto attivo invece possiede una **DIREZIONALITA' INTRINSECA**. Un sistema di trasporto attivo che trasporta un soluto attraverso una membrana, in genere non trasporterà quel soluto nella direzione opposta. Tutta via, solo in alcuni casi questo è reso possibile, in funzione dell'ambiente cellulare.

I due meccanismi del trasporto attivo differiscono principalmente per la fonte di energia utilizzata. Essi possono essere **PRIMARIO** o **SECONDARIO**.

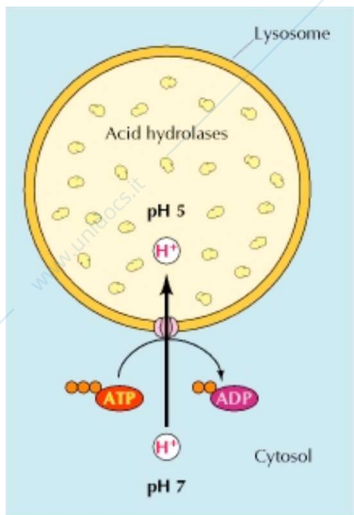


## TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO

Nel TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO (o diretto) l'accumulo delle molecole di soluto o di ioni su un lato della membrana viene accoppiato direttamente a una reazione chimica esoergonica, generalmente l'idrolisi dell'ATP. Le proteine di trasporto attivate direttamente dall'idrolisi dell'ATP sono chiamate *ATPasi* di trasporto o *pompe ATPasi*. (utilizzano ATP come forma di energia)

→TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO: esempi

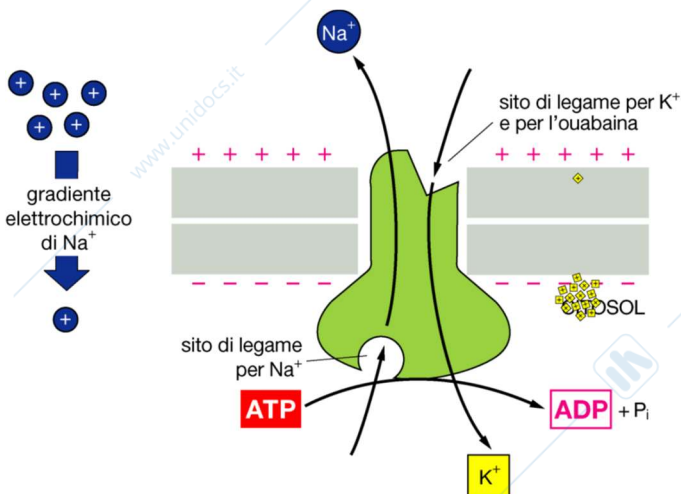
### POMPA PROTONICA DI H<sup>+</sup>



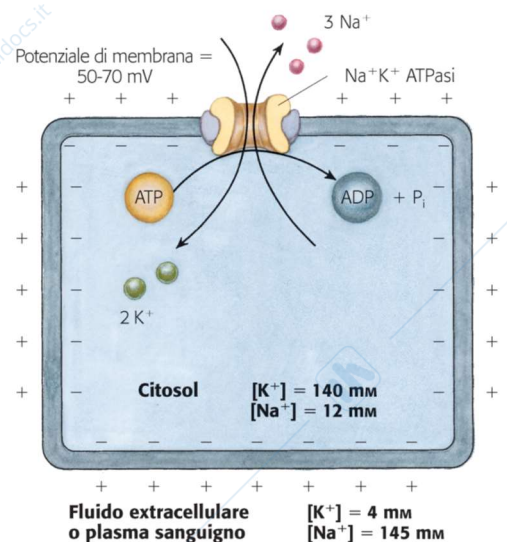
I lisosomi sono degli organelli all'interno delle cellule, che contengono le idrolasi acide. Questi enzimi funzionano perché nel lisosoma è mantenuto un pH acido di 5 (nella cellula il pH è 7). Come fa il pH ad essere mantenuto basso?

Nella membrana del lisosoma è presente una particolare proteina, la POMPA PROTONICA, la quale, consumando direttamente ATP, trasporta contro gradiente ioni H<sup>+</sup> all'interno dell'organello.

### POMPA SODIO/POTASSIO (Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup>)



↑  
gradiente  
elettrochimico  
di K<sup>+</sup>



La pompa sodio/potassio è un enzima che trasporta in maniera attiva, contro gradiente, ioni potassio verso l'interno della cellula (dove già sono più concentrati) e ioni sodio verso l'esterno della cellula (dove già sono più concentrati). Essa ha quattro ruoli molto importanti:

- È in grado di mantenere il potenziale di membrana
- È importante nel processo di trasmissione degli impulsi nervosi
- Controlla il volume cellulare
- Indirettamente, facilita/aiuta nel trasporto contro gradiente di altre sostanze, come zuccheri, ioni e amminoacidi

Il trasporto attivo è usato per portare una sostanza da una zona in cui è poco concentrata verso una zona in cui la sua concentrazione è maggiore (ossia contro il gradiente di concentrazione). A tale scopo, sono necessari carrier (trasportatori) enzimatici (quindi di natura proteica) che consumano energia sotto forma di ATP. Per questo motivo, la pompa sodio-potassio è anche definita  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasi.

Per ogni molecola di ATP utilizzata dalla pompa sodio-potassio, vengono esportati tre ioni sodio e importati due ioni potassio; esiste quindi un'esportazione netta di una singola carica positiva per ogni ciclo di pompa.

Questo fa sì che all'interno della cellula le particelle negative (anioni) siano normalmente presenti in concentrazioni maggiori rispetto all'esterno.

#### → POTENZIALE DI MEMBRANA

Ma da dove deriva il potenziale di membrana? → Nei liquidi corporei, all'interno e all'esterno delle cellule, molte sostanze sono disciolte sotto forma di ioni. Gli elettroliti sono particelle che una volta disciolte in soluzione acquosa acquisiscono una carica elettrica. I vari elettroliti non sono distribuiti equamente, ma presentano differenti concentrazioni nei liquidi intracellulari e in quelli extracellulari.

Nel liquido intracellulare il catione (ione positivo) più rappresentato è il potassio ( $\text{K}^+$ ); nel liquido extracellulare il catione più rappresentato è il sodio ( $\text{Na}^+$ ).

Pertanto, tra l'interno e l'esterno della cellula, ossia a cavallo della membrana citoplasmatica, si ha una differenza di cariche elettriche che è chiamata potenziale di membrana. Questa differenza di potenziale tra ambiente intracellulare ed ambiente extracellulare è pari a circa  $-70 \text{ mV}$ .

La membrana cellulare è in grado di mantenere il potenziale di membrana:

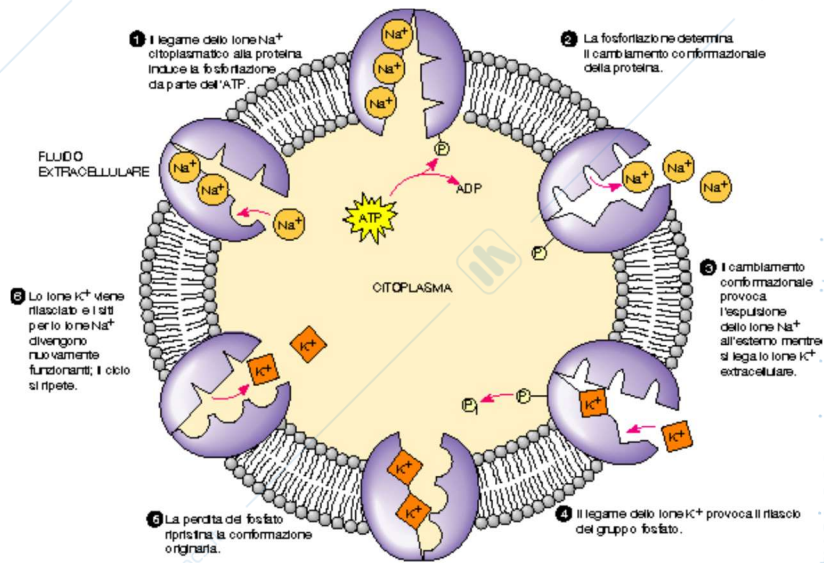
- comportandosi come una barriera selettiva di permeabilità, risultando ad esempio 50-100 volte più permeabile al  $\text{K}^+$  che al  $\text{Na}^+$ ; pertanto, gli ioni sodio, una volta espulsi, hanno una forte tendenza a rimanere fuori dalla cellula
- sfruttando il lavoro della pompa sodio-potassio, che espelle continuamente sodio e contemporaneamente immette potassio nella cellula.

La presenza di un potenziale di membrana risulta essenziale per conferire alle cellule nervose e muscolari la proprietà di eccitabilità.

#### → COME FUNZIONA LA POMPA SODIO/POTASSIO

La pompa sodio/potassio è una proteina allosterica, con due stati conformazionali alternativi, denominati E1 ed E2. La conformazione E1 è aperta verso l'interno della cellula e ha un'alta affinità con gli ioni sodio (presenta tre siti attivi specifici per questa molecola), mentre E2 è aperta verso l'esterno della cellula e ha un'alta affinità con gli ioni potassio (presenta due siti attivi specifici per questa molecola). La fosforilazione della pompa da parte dell'ATP innesca il cambiamento conformazionale di E1 in E2, mentre la defosforilazione, innesca il cambiamento conformazionale di E2 in E1.

1. Tre ioni sodio si legano a E1 dall'interno della cellula
2. Il legame del sodio ai siti attivi, attiva la fosforilazione della proteina da parte dell'ATP (viene rilasciata ADP)
3. La pompa cambia la sua conformazione da E1 a E2: vengono rilasciati i tre ioni sodio all'esterno della cellula
4. Due ioni potassio si legano a E2 dall'esterno della cellula
5. Il legame del potassio ai siti attivi, attiva la defosforilazione della proteina
6. La pompa cambia la sua conformazione da E2 a E1: vengono rilasciati i due ioni potassio all'interno della cellula e la pompa torna allo stato iniziale



### → ALTRE FUNZIONI DELLA POMPA SODIO POTASSIO

Trasmissione dell'Impulso nervoso → Gli impulsi nervosi, che permettono ad esempio a un muscolo di contrarsi, sono segnali di natura elettrochimica. L'impulso nervoso viene generato e trasmesso dal repentino cambiamento del potenziale di membrana. Tale cambiamento dipende:

- dall'apertura di appositi canali di membrana che fanno entrare il sodio
- dalla chiusura di appositi canali di membrana che fanno uscire il potassio

In questo modo si ha un aumento del numero di cariche positive all'interno della cellula, rispetto alle condizioni di riposo. Dato che la concentrazione di cariche positive all'interno della cellula aumenta, il potenziale di membrana si inverte bruscamente (si parla di depolarizzazione della membrana) diventando positivo (passa da  $-70\text{mV}$  a  $+35\text{mV}$ ). Pochi istanti dopo le proteine canale per il sodio si richiudono, mentre quelle per il potassio - che nel frattempo erano chiuse - si riaprono; quindi, grazie all'azione della pompa sodio-potassio, vengono ristabilite le condizioni di riposo. Questo processo è detto ripolarizzazione della membrana. Tutti questi processi si realizzano in pochi millesimi di secondo (2-4 msec).

Volume Cellulare → L'azione della pompa sodio-potassio è importante anche per regolare il volume cellulare. La pompa sodio potassio aiuta infatti a mantenere le giuste concentrazioni di ioni all'interno della cellula. Si tratta di un processo essenziale per la vita, poiché, qualora entrasse troppo sodio nella cellula, questa si gonfierebbe fino a scoppiare. Quando la cellula inizia a gonfiarsi, la pompa sodio-potassio si iper-attiva per ripristinare le concentrazioni ottimali di  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  all'interno della cellula. La pompa trasferirà quindi all'esterno un numero ancora più elevato di ioni sodio e, per effetto osmotico, anche acqua.

### → LA SUA FUNZIONE PIU' IMPORTANTE

Nel trasporto secondario, il trasporto di una determinata sostanza è reso possibile dal trasporto primario di un'altra. Mentre il trasporto primario richiede energia, nel trasporto secondario si sfrutta la differenza di potenziale elettrochimico creata dai trasportatori primari che pompano ioni al di fuori della cellula.

Ad esempio, la differenza di potenziale elettrochimico creata dalla pompa sodio-potassio (trasporto primario) fornisce la forza motrice per diversi trasportatori attivi secondari di membrana, che:

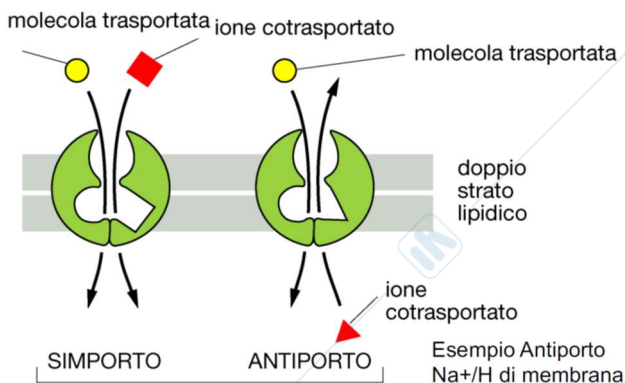
- importano glucosio, aminoacidi e altri nutrienti nella cellula sfruttando il gradiente del sodio (co-trasporto)
- esportano calcio e idrogeno sfruttando il gradiente del sodio (contro-trasporto o antitrasporto)

Nel co-transporto, è necessario un meccanismo di accoppiamento che consenta al sodio esterno alla cellula di trascinare con sé un'altra sostanza durante il suo ingresso; ciò si realizza grazie ad apposite proteine trasportatrici presenti nella membrana cellulare. Nell'antitransporto, l'energia degli ioni sodio che si muovono verso l'interno consente il trasporto di un'altra sostanza verso l'esterno della cellula, sfruttando sempre proteine trasportatrici che si estendono dalla superficie esterna della membrana cellulare (dove legano il sodio) a quella interna (dove legano la sostanza da espellere).

--- Questo concetto lo riprendo più avanti... prima vado a definire il trasporto attivo secondario. ---

## TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO

Il TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO (o indiretto) dipende invece dal trasporto simultaneo di due soluti (trasporto accoppiato), in cui il movimento di un soluto secondo gradiente attiva il movimento dell'altro soluto contro il suo gradiente. Questo processo di trasporto duplice può essere descritto sia come SIMPORTO sia come ANTIPIORTO, a seconda che i due soluti si muovano nella stessa direzione o in direzione opposta. (non utilizzano l'ATP come fonte di energia, ma sfruttano la differenza di energia potenziale creata dal trasporto attivo primario).



Il trasporto attivo secondario consiste nel trasporto contro gradiente di una molecola o ione (come il glucosio). Questo movimento non viene attivato da una molecola di ATP, ma dal trasporto di una molecola secondo il suo gradiente di concentrazione (come lo ione sodio).

→TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO: esempi

### SIMPORTO SODIO/GLUCOSIO (Na<sup>+</sup>/glucosio)

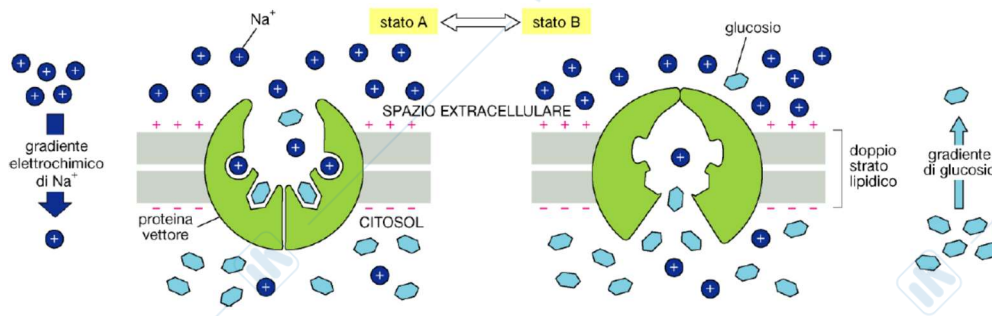
Benchè la maggior parte del trasporto del glucosio avvenga nell'organismo mediante diffusione facilitata (GLUT1 e GLUT2 per esempio), le cellule epiteliali presenti nell'intestino e nei reni contengono delle proteine di trasporto che le rendono capaci di assumere glucosio e altri amminoacidi, anche quando le loro concentrazioni esterne sono molto più basse di quelle interne.

Questo processo endergonico è reso possibile dal simultaneo passaggio degli ioni sodio, che è esoergonico grazie al notevole gradiente elettrochimico dello ione mantenuto tale attraverso la membrana plasmatica delle cellule epiteliali dalla pompa sodio/potassio.

lo ione sodio viene trasportato all'interno della cellula per diffusione facilitata secondo gradiente, e trasportata all'esterno della cellula per trasporto attivo primario contro gradiente (pompa sodio potassio).

**Proprio per questo motivo lo ione co-transportato è generalmente il sodio: esso può sfruttare sia il gradiente di concentrazione chimico che il gradiente elettrico.**

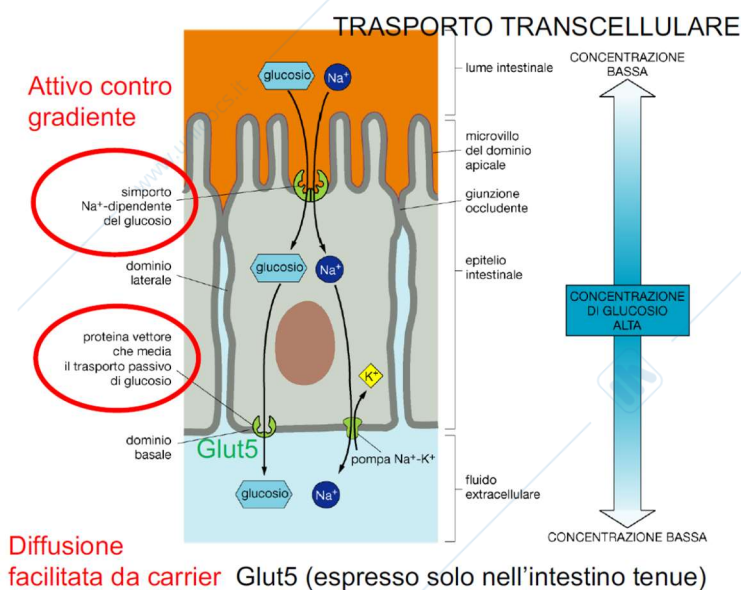
Il glucosio è meno concentrato all'esterno e più concentrato all'interno: per questo motivo è trasportato contro gradiente. Il sodio è più concentrato all'esterno e meno concentrato all'interno: per questo motivo è trasportato secondo gradiente. → due ioni sodio co-transportano una molecola di glucosio:



- il processo di trasporto inizia quando due ioni sodio si legano al sito attivo della proteina di trasporto per simporto, rivolta verso l'esterno
- il legame del sodio permette il legame del glucosio e il successivo cambiamento conformazionale della proteina
- il simporto si apre verso l'interno
- i due ioni sodio vengono rilasciati all'interno, ma vengono subito espulsi all'esterno mediante la pompa sodio/potassio
- la perdita dei due ioni sodio permette la liberazione della molecola di glucosio
- la liberazione della molecola di glucosio permette il ritorno allo stato iniziale della proteina di trasporto

Nel caso del co-transporto o simporto, le due molecole si trovano dalla stessa parte della cellula, vengono trasportate insieme e nella stessa direzione. Nel caso dell'ANTIORTO, le due molecole si trovano dalle parti opposte della membrana: prima viene trasportata la molecola secondo gradiente, poi la molecola contro gradiente nella direzione opposta.

--- entrambi i tipi di trasportatori del glucosio, l'uniporto GLUT e il simporto sodio/glucosio, si possono trovare nella stessa cellula. Le cellule dell'intestino tenue possono presentare un simporto sodio/glucosio sul versante intestinale, e sul lato basale presentare un trasportatore GLUT→



Trasporto transcellulare: ciò che si trova nel lume dell'intestino tenue deve essere assorbito dalla cellula e riversato nel flusso sanguigno. Ovviamente questo tipo di trasporto esiste perché le molecole ingerite devono essere selezionate dalla cellula (vengono assorbite solo quelle utili).

La concentrazione di sodio è mantenuta bassa grazie alla pompa sodio/potassio. Questo permette il trasporto simposio del glucosio (ma vale anche per altre molecole come gli amminoacidi): il glucosio viene trasportato contro gradiente sfruttando il trasporto passivo facilitato del sodio. Una volta entrato nella cellula, il glucosio viene trasportato per diffusione facilitata nel flusso sanguigno.

Per quale motivo i due trasportatori sono disposti in questo modo? → il percorso che deve compiere il glucosio deve essere ben scandito: il glucosio può solo entrare dalla regione apicale ed uscire dalla zona basale (si viene a creare una sorta di flusso).

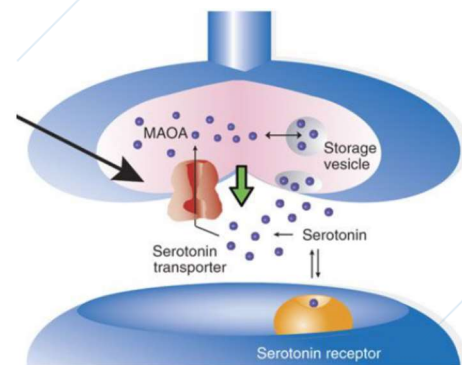
**IMPORTANTE:** le cellule epiteliali sono definite cellule polarizzate, in quanto presentano una membrana plasmatica altamente specializzata → la zona apicale svolge una funzione e presenta un certo tipo di proteine, la zona basale svolge una funzione diversa e presenta un altro certo tipo di proteine.

Un altro tipo di cellule polarizzate sono i neuroni: svolgono la funzione di ricezione nella regione dendritica, e di trasmissione del segnale elettrico nella regione dell'assone (rilasciano neurotrasmettitori per azionare gli altri neuroni del circuito).

In queste cellule polarizzate non solo sono presenti i meccanismi di produzione e smistamento delle proteine ai vari organelli, ma è presente un elemento in più di complessità che è determinato dalla polarizzazione funzionale della membrana plasmatica

#### COTRASPORTO: SIMPORTO SODIO/SEROTONINA

Nella sinapsi, sono presenti delle vescicole contenenti serotonina, la quale deve essere rilasciata per legarsi al recettore di serotonina di un'altra sinapsi: la serotonina è infatti un neurotrasmettitore. La serotonina che non viene assorbita dal nuovo neurone, non rimane nello spazio sinaptico libera, ma viene trasportata nuovamente nella sinapsi di partenza per non essere sprecata: questo movimento avviene grazie al simporto sodio/serotonina.



Alcuni antidepressivi sono in grado di inibire/bloccare questo movimento di ritorno: agisce facendo in modo che la concentrazione di serotonina rimanga elevata per un tempo maggiore nello spazio tra le due sinapsi. L'effetto dell'antidepressivo è quello di aumentare le funzioni benefiche e positive della serotonina

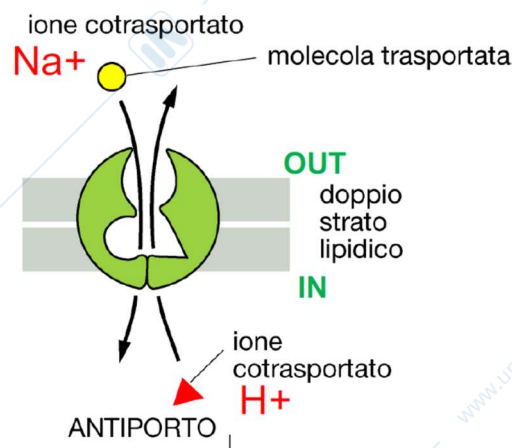
#### COTRASPORTO: SIMPORTO SODIO/DOPAMINA

Essenzialmente funziona come il simporto sodio/serotonina. La cocaina per esempio è in grado di bloccare il movimento di ritorno della dopamina nella sinapsi: viene così "aumentata" la concentrazione di dopamina nello spazio sinaptico → senso di grande euforia

--- Questo tipo di simporto è target di numerosi farmaci e droghe--

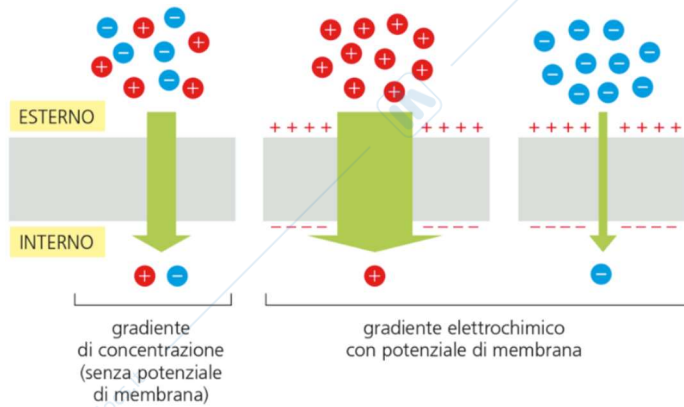
#### ANTIORTO SODIO/IDROGENO ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ )

Esso è localizzato sulla membrana plasmatica e ha la funzione di mantenere il pH citosolico a circa 7,2: trasporta lo ione sodio dall'esterno all'interno della cellula, permettendo il trasporto contro gradiente dello ione idrogeno dall'interno all'esterno della cellula.



## TRASPORTO PASSIVO: DIFFUSIONE FACILITATA mediato da CANALI

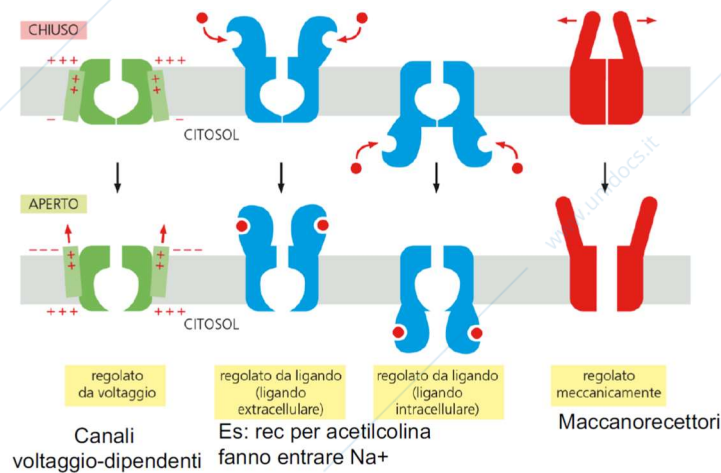
Le membrane sono assolutamente impermeabili per gli ioni. Essi infatti possono essere trasportati attraverso una membrana solo se sono presenti delle proteine di trasporto: le **PROTEINE CANALE**.



Se non ci fosse differenza di potenziale tra l'interno e l'esterno della cellula, il trasporto degli ioni sarebbe influenzato solo dal gradiente di concentrazione. Ma siccome esiste il potenziale di membrana, ed è di circa 70mV, il loro passaggio è influenzato anche da questo fattore.

Il potenziale tende ad essere negativo all'interno della cellula e positivo all'esterno della cellula: per questo motivo ioni con carica positiva (cationi) hanno più facilità ad essere trasportati attraverso la membrana rispetto agli ioni con carica negativa (anioni). È dunque più favorito il catione rispetto all'anione.

Gli ioni vengono trasportati appunto attraverso dei canali ionici, proteine di membrana che possono esistere in due conformazioni diverse: la conformazione chiusa e la conformazione aperta. Questo tipo di proteine non possono esistere solo nella conformazione aperta, in quanto andrebbe ad eliminarsi lo squilibrio elettrochimico prodotto dalla pompa sodio/potassio. Gli amminoacidi presenti all'interno del canale determinano l'alta specificità del canale stesso (solo un tipo di ione può passare)

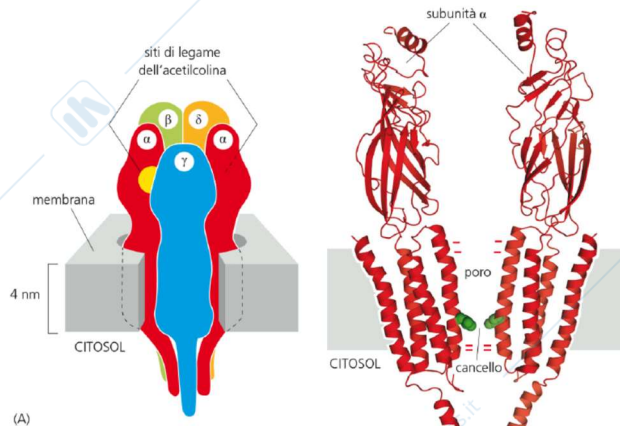


Nel primo caso, con le proteine di membrana denominate canali di voltaggio dipendenti, l'apertura del canale è determinata dal cambio del potenziale tra i due lati della membrana: quando ad esempio un canale regolato da ligando si apre per far entrare tante molecole di sodio, temporaneamente il potenziale della membrana si inverte → questo passaggio attiva il canale voltaggio-dipendente.

Nel secondo e terzo caso l'apertura del canale è influenzata dalla presenza di uno specifico neurotrasmettitore (ligando): quando diminuisce la concentrazione del neurotrasmettitore il canale si chiude.

Nel quarto caso le proteine di membrana possiedono dei recettori tattili: quando stimolati permettono l'apertura del canale.

## MODELLO PER LA STRUTTURA DEL RECETTORE DELL'ACETILCOLINA PRESENTE NEL MUSCOLO SCHELETRICO



Residui carichi negativamente  
determinano la selettività del  
canale per ioni positivi  $\text{Na}^+$

5 leucine occludenti

## TRASPORTO ATTRAVERSO LE MEMBRANE BIOLOGICHE

**Trasporto di  
ioni e piccole  
molecole**

### **SECONDO GRADIENTE**

Diffusione semplice  
Diffusione facilitata

### **CONTRO GRADIENTE**

Trasporto attivo primario  
Trasporto attivo secondario

**Trasporto di  
macromolecole**

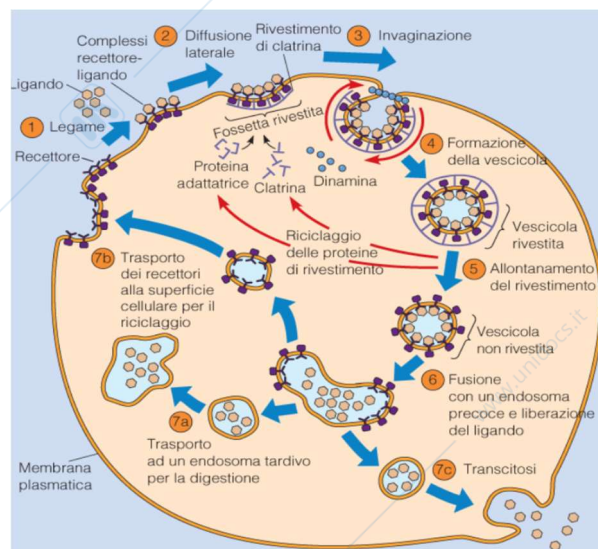
Esocitosi  
Endocitosi  
Endocitosi mediata da recettore  
Transcitosi  
Fagocitosi  
Pinocitosi

## TRASPORTO DI MACROMOLECOLE

### ENDOCITOSI (meccanismo base che avviene in ogni cellula)

(riprendere dagli appunti come si formano le vescicole)

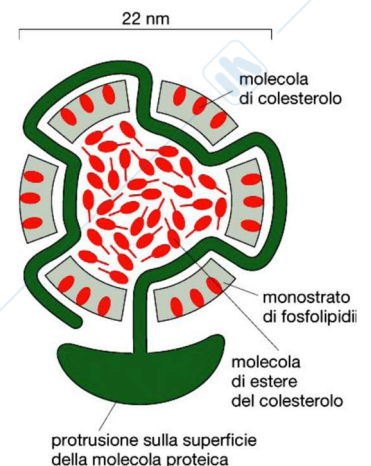
- Il punto di partenza è la membrana plasmatica, la quale presenta dei recettori di cargo. Lo specifico ligando si lega ai recettori: tanto più il ligando è legato al recettore, tanto più i recettori tendono a stare vicini l'uno all'altro.
- Lentamente i ligando-recettori si diffondono lateralmente e iniziano a creare una prima fossetta/invaginazione. Durante la formazione dell'invaginazione, la vescicola viene stabilizzata grazie a proteine adattatrici e alla clatrina. Infine, una volta che la vescicola è formata, si distacca dalla membrana grazie alla proteina dinamina.
- Grazie ad una serie di meccanismi, il rivestimento si distacca dalla vescicola
- La vescicola si lega ad un endosoma precoce: il ligando si stacca dai recettori. A questo punto i recettori devono essere riciclati: l'endosoma secondario si divide in due vescicole, una con all'interno i recettori, una con all'interno il ligando
- La vescicola/endosoma si fonde con un lisosoma. Il pH si abbassa all'interno della vescicola (idrolasi acide). Dalla loro unione si forma l'endosoma secondario, in cui avviene la digestione vera e propria del ligando: vengono scissi nei loro costituenti primari
- I recettori vengono assorbiti nuovamente nella membrana mentre i ligandi digeriti sono rilasciati nella cellula

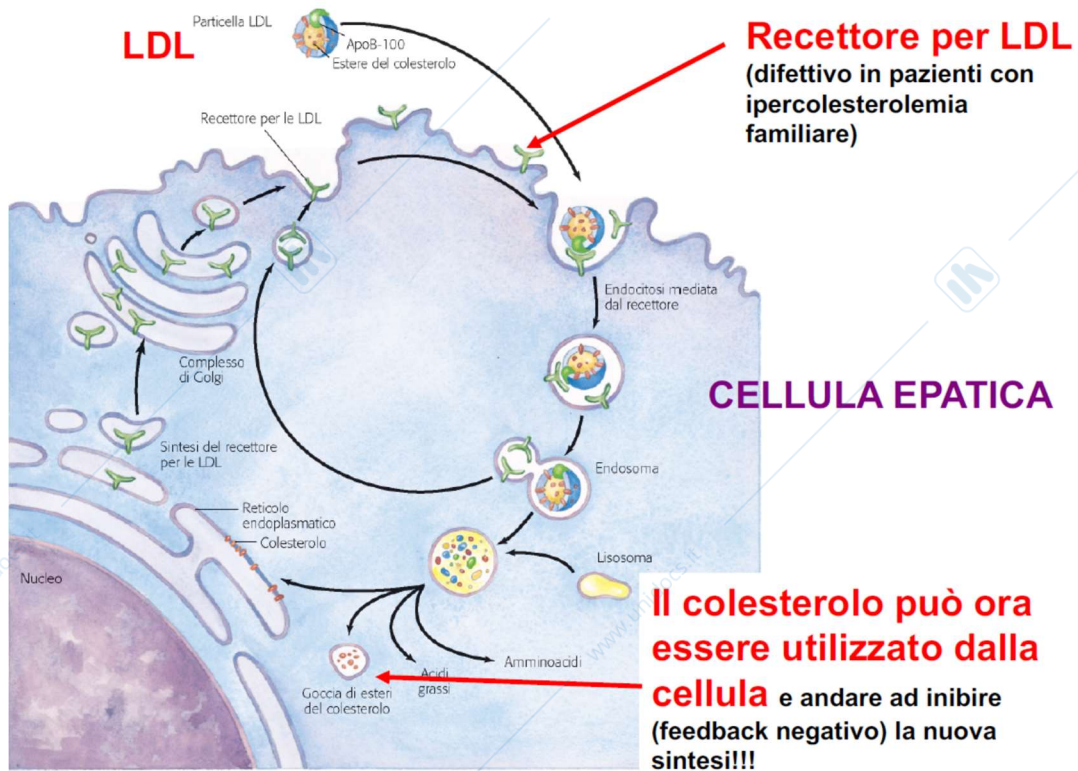


### Esempi di endocitosi →

Con questa modalità viene ad esempio introdotto all'interno della cellula l'LDL (low density lipoprotein): è un particolare macro-complesso, costituito principalmente da proteine e lipidi, in particolare da colesterolo.

Il colesterolo è trasportato nel sangue associato a proteine LDL fino alle cellule epatiche. Ogni LDL contiene 1500 molecole di colesterolo esterificato ad acidi grassi (gruppo ossidrilico OH esterificato con legame ad un acido grasso), al centro, avvolte in un monostrato lipidico formato da fosfolipidi e colesterolo non esterificato (OH). Una singola proteina, l'apo-proteina B-100, organizza la particella e media il legame della LDL con recettori specifici sulla superficie cellulare. L'LDL consente di trasportare il colesterolo in maniera solubile nel sangue.

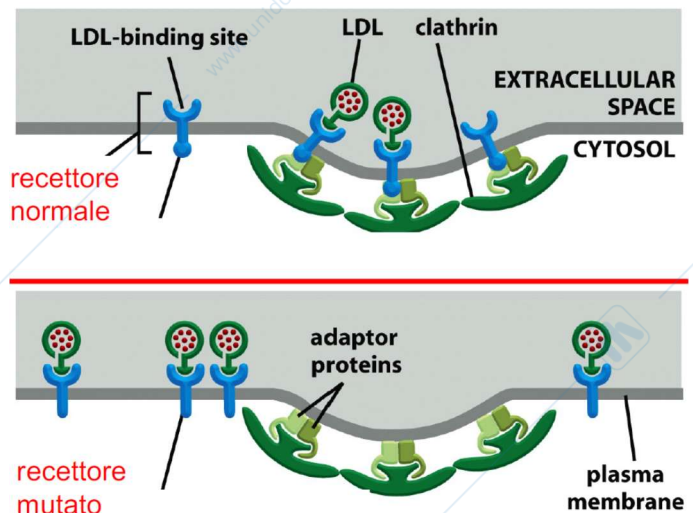




Il colesterolo è importantissimo per la cellula: in parte viene assunto con l'alimentazione, e questo consente di andare ad inibire la nuova sintesi all'interno della cellula (feedback negativo). Se al fegato arrivano numerose molecole di LDL, gli epatociti interrompono la sintesi di nuovo colesterolo (sono le uniche cellule in grado di sintetizzarlo).

Nei pazienti che soffrono di ipercolesterolemia, le LDL non vengono introdotte o vengono introdotte in modo molto poco efficace all'interno delle cellule epatiche, le quali quindi continueranno a produrre nuovo colesterolo.

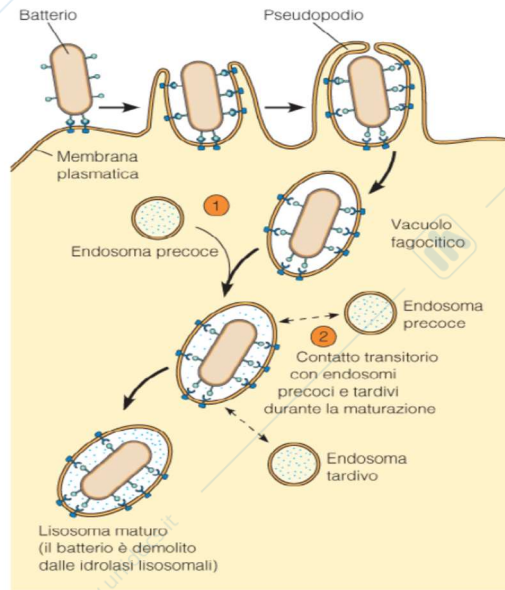
Il problema dell'ipercolesterolemia sta nei recettori dell'LDL. In alcune famiglie (ipercolesterolemia genetica) i recettori dell'LDL sono mutati: esso presenta una regione citosolica che non è in grado di interagire con la clatrina (anche quando è legato al ligando).



# Fagocitosi

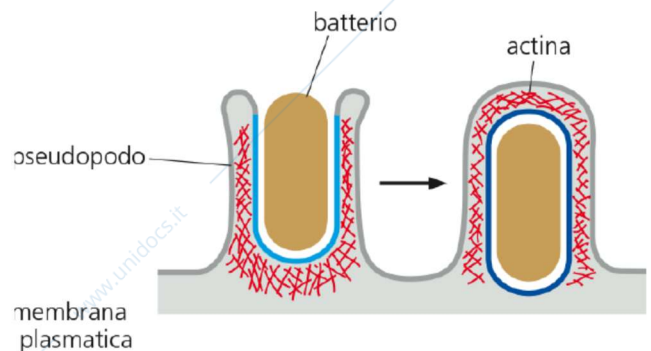
Particelle >0,5µm

Leucociti: macrofagi e neutrofilii (difesa e pulizia)  
 Fibroblasti del tessuto connettivo: collagene (rimodellamento del tessuto)



**Figura 12-14 Fagocitosi.** Le particelle o i microrganismi si legano ai recettori presenti sulla superficie cellulare, provocando l'inizio della fagocitosi. In un processo che comporta la polimerizzazione dell'actina, delle estroflessioni della membrana chiamate *pseudopodi* gradualmente circondano la particella. Alla fine, gli pseudopodi si saldano e inglobano la particella, formando un *vacuolo fagocitico*. Il vacuolo poi ① si fonde con un endosoma precoce o ② stabilisce delle connessioni transitorie (indicate dalle linee tratteggiate) con endosomi precoci e tardivi e matura formando un lisosoma, in cui avviene la digestione del materiale internalizzato.

- ◆ Incorporazione di grossi aggregati insolubili oppure di frammenti di cellule o di cellule intere.
- ◆ A differenza degli altri meccanismi di endocitosi (endocitosi mediata da recettore e pinocitosi), nel nostro corpo la fagocitosi è effettuata generalmente solo dai **fagociti**, che comprendono i *leucociti neutrofilii* del sangue e i *macrofagi* (gli *spazzini* del sangue). Fagocitosi ha **funzione di difesa contro organismi invasori**.
- ◆ Molti eucarioti monocellulari (come le *amebe* e i *protozoi ciliati*), effettuano fagocitosi (meccanismo per acquisire cibo). Anche alcuni animali inferiori, tipo platelminti e spugne, usano la fagocitosi per **funzione nutritiva**.



# PINOCITOSI

