CITOLOGIA E ISTOLOGIA 2018-19 (proff. Ori e Borello)

Citoscheletro

Funzioni generali:

- Impalcatura dinamica
- Organizzazione organelli
- Morfologia cellulare
- Traffico vescicolare
- Fuso mitotico
- Guida per assoni e per spermatozoi
- Contrazione muscolare
- Comunicazione segnali

- **Microtubuli**:
  - 25nm di diametro
  - sono fondamentali nella formazione del fuso mitotico, partecipano al trasporto cellulare
  - si formano dai centrioli (MicroTubule Organizing Centre), cioè i centrosomi e i corpuscoli basali per ciglia e flagelli.
  - Sono cavi, le pareti sono formate da 13 protofilamenti sfalsati di 0,9 nm costituiti da dimeri di alfa/beta-tubulina alternate, la forma finale è ad elica sinistrorsa
  - i MT presentano una polarità, + all'estremità beta, dove si aggiungono per polimerizzazione i dimeri, – all'estremità alfa, dove si staccano i dimeri e avviene la depolimerizzazione
  - il fenomeno della nucleazione avviene con shift, detto anche treadmilling, perché essendo altamente instabili, sono strutture molto dinamiche che si polimerizzano/depolimerizzano velocemente e di continuo, sempre da – a +
- **Microfilamenti di actina:**
  - 7 nm di diametro
  - formati da monomeri di G-actina (globulare) che polimerizzano a dare microfilamenti
  - sono molto dinamici a formare nuovi legami, il fenomeno del treadmilling spiega proprio l'elevata dinamicità nel polimerizzare e depolimerizzare
  - coadiuvano il trasporto di molecole all'interno del citoplasma grazie a proteine motrici che si muovono lungo di essi
- **Filamenti intermedi**: 10nm di diametro, statici una volta assembleti, non dinamici come MT e Mfa, anche se lasciano spazio al fuso mitotico; si differenziano in 6 classi in base al tessuto di cui fanno parte:
  - *Lamine* (A,B,C) (V classe) in tutte le cellule, non si trovano nel citoscheletro, bensì nel nucleo, al di sotto della membrana nucleare, vanno a formare la lamina nucleare a cui si ancora la cromatina (DNA) tramite proteine linker in siti specifici; fungono sia da sostegno per la membrana nucleare a cui danno la forma (vedi Progeria) e al Dna
  - *Cheratine* nel tessuto epiteliale
  - *Nestine* nei tessuti embrionali nervose (in cellule staminali)
  - *Neurofilamenti*
  - *Desmine*: nel tessuto muscolare
  - *GFAP* nelle cellule gliali e negli astrociti

master COPY

Trasporto

Attraverso la membrana plasmatica avviene il passaggio di molecole, ioni e altro, per mantenere la concentrazione di queste sostanze costante o no in base alle necessità della cellula

Trasporto passivo: senza uso di ATP perché secondo gradiente di concentrazione: da dove ce n'è di più a dove ce n'è di meno

- Diffusione semplice:
  - Per composti apolari come acidi grassi, e piccole molecole apolari (O2, N2, CO2), impermeabili a composti polari e ioni
  - Osmosi, tipo di diff. Semplice per H2O e soluzioni acquose (meccanismi di omeostasi per regolare pressione osmotica)
- Diffusione facilitata: tramite proteine carrier, acquaporine (4 proteine che formano un canale, specifiche in base al tessuto AQP5 per salive e lacrime), possono essere
  - Canali voltaggio-dipendenti: in base alla differenza di potenziale
  - Canali ligando-dipendenti
  - Canali a pressione
  - Uniporto: una molecola in una direzione
  - Cotrasporto: simporto (2+ molecole in una direzione) o antiporto (2+ molecole in 2 direzioni)

Trasporto attivo

Necessita di energia, quindi di ATP, per poter trasportare molecole perché è contro il gradiente di concentrazione; esempi: pompa Na/K, pompa H+

Giunzioni

Adesione cellula-cellula

Proteine di adesione/ recettori adesivi:

- ubiquitarie (in ogni cellula) o tessuto-specifiche
- mediano anche la comunicazione attraverso segnali intracellulari
- In maggior parte transmembrana, collegano i citoscheletri di cellule adiacenti
- Caderine
- Cam
- Tipi di adesione:
  - Comunicanti
  - Occludenti: OCCLUDINE, CLAUDINE (transmembrana multipasso, 4 volte), le cui anse si trovano nella matrice extracellulare, mentre si legano nel dominio citoplasmatico con il citoscheletro (MFactina) grazie alle ZO (zone occludens), in particolare le ZO1 e le ZO2. Si trovano nella parte apicale delle cellule e non permettono il passaggio di nessuna molecola, poste a distanze regolari il legame forte tra le cellule dà stabilità e robustezza al tessuto; NB: in particolare sono importanti nell'epitelio intestinale perché sigillano le zone tra le cellule adiacenti subito sotto i villi intestinali,
  - Aderenti: CADERINE (E negli epiteli e N nei tessuti nervosi) nel dominio extracellulare e le CATENINE (alfa e **beta**) (ma anche le vinculine e le alfa-actinine) nel dominio citoplasmatico e si legano al citoscheletro, con MFa, queste adesioni tra cellule mantengono tessuto compatto per moto coordinato, soprattutto in tessuti sottoposti a stress meccanici (cardiaci e epiteliali)
  - Desmosomi : sottotipo di giunzioni aderenti, hanno una struttura circolare, a bottone, nei tessuti che subiscono stress da stiramento, il core extracelluare, cioè lo spazio tra cellule è di 30-35 nm circa, è più largo rispetto alle altre giunzioni ed è in questo spazio che avviene il

legame tra desmocollina e desmogleina; nella fascia subito sotto la membrana è presente uno strato denso di proteine che legano le desmogleine ai filamenti intermedi nel citoplasma

Membrane e organelli

La membrana plasmatica è semipermeabile, cioè permeabile ma selettiva; dei composti polari fa passare per osmosi H2O e diffusione facilitata piccole molecole (alcol etilico, glicerolo, urea), niente ioni se non attraverso canali e pompe,
temperatura: più è bassa, più la membrana è compatta e rigida, in fase cristallina o gel, più aumenta T più le molecole si muovono in modo disordinato, i fosfo-sfingo lipidi possono muoversi sul doppio strato in vari modi:

- Rotazione intorno al prorpio asse: molto frequente
- Traslazione o spostamento laterale all'interno dello stesso foglietto: molto frequente
- Flip-flop cioè passaggio da uno strato all'altro (raro) perché la testa polare deve entrare nello strato idrofobo delle code

Doppio strato di fosfolipidi o lipidi anfipatici
Spessore tra 5-7nm
Capace di autosaldarsi e di richiudersi intorno a vescicole in soluzione perché la porzione apolare è idrofobica
è asimmetrica
a mosaico fluido: la fluidità viene conferita da molti fattori tra cui: la lunghezza delle code apolari dei fosfolipidi: più sono lunghe più è compatta la membrana perchè aumentano le interazioni idrofobe; inolltre è importante la presenza di doppi legami nelle code, infatti questi ramificano la struttura sennò lineare e la rendono meno impacchettabile tanto da dare alla membrana una consistenza più liquida piuttosto che gelatinosa come sarebbe se ci fossero tutti legami saturi
La varietà di fosfolipidi, la concentrazione diversa di lipidi e proteine e zuccheri rende la membrana molto complessa, ma allo stesso tempo molto adattabile e variegata, differisce non solo da organismo a organismo ma anche da organo a organo

Componenti proteiche:

- integrali o intrinseche:
  - Monotopiche se sporgono solo su una faccia: non è detto che la membrana sia simmetrica anzi, solo il colesterolo è presente in modo simmetrico perché è facilitato nel flip flop
  - Transmembrana se sporgono da entrambe le facce
- e proteine periferiche: trovandosi in superfici sono polari, possono essere staccate dalla membrana con poca forza perché legate con legami deboli tipo a H
- Ancorate ai lipidi, ma esposte sulla superficie

Componenti: 30-50% lipidi, 50-70% proteine, glucidi 1-10% associati a lipidi o proteine
Lipidi di membrana: sono tutti anfipatici con testa polare e code apolari di acidi grassi

- **Fosfolipidi**:
  - *glicerofosfatidi*, acidi grassi a 16-18 C di cui uno insaturo, questo piegamento aumenta la fluidità della membrana perché ci sono meno interazioni di van der waals tra le code, e teste polari con colina, serina, etanolammina o inositolo,
  - *sfingomieline* (sfingolipidi esterificati con acido fosforico--> fosfato),
- **Glicolipidi**: le porzioni glucidiche sporgono dalla membrana per stabilizzarla, inoltre partecipano alla difesa immunitaria (legano le proteine che determinano il gruppo sanguigno)
  - i restanti *sfingolipidi* formano un legame glicosidico con un saccaride
  - i *glicosil-diacil-gliceroli* (perché contengono carboidrati) con glicerolo e due lunghe catene di acidi grassi e un legame glicosidico con un saccaride

master COPY

- **Colesterolo**: si intercala tra le catene di acidi grassi dei fosfo e sfingo lipidi, nelle piante ci sono i fitosteroli, è formato da anelli condensati (3 esagonali e 1 pentagonale) che aumentano la rigidità della membrana anche perché il colesterolo si intercala tra le code di acidi grassi con l'unico gruppo polare OH verso le teste polari (è comunque un composto apolare) e provoca la distensione e conseguente allungamento (di quelle insature) delle code irrigidendole; in base alla temperatura , il colesterolo può fluidificare le membrane a T basse e irrigidirle a T alte (anche 37°) ; il colesterolo è necessario per conferire rigidità ad una membrana troppo liquida infatti nelle membrane dei batteri in cui non è presente colesterolo è stata evoluta una parete cellulare esterna alla membrana

Zattere lipidiche: aggregamenti di colesterolo e sfingomielina tra le code dei fosfolipidi in domini particolari (es. se in quella zona precisa deve essere presente una proteina di membrana specifica) e finiti della membrana che acquisiscono maggiore rigidità e maggior spessore (perché il colesterolo distende le code apolari)

Trasporto tramite la membrana: diffusione libera di O2 e CO2, ormoni steroidei (apolari), piccole molecole polari come H2O (anche tramite acquaporine) e urea , ma non è consentito il passaggio a molecole polari grandi e molecole cariche

RETICOLO ENDOPLASMATICO : sistema di endo-membrane simili al doppio-strato fosfolipidico

REL

- **liscio** e con strutture tubulari, più o meno abbondante in base alle cellule
  Contiene enzimi per
  - la **sintesi di lipidi** di membrana tipo (fosfolipidi, steroidi, acidi grassi)
  - la **detossificazione** (il catabolismo di sostanze tossiche nel fegato)
  - come **riserva di Calcio** (ioni Ca++) intracellulare per la contrazione muscolare

RER

- **ruvido** perché presenta di ribosomi sulla superficie
- serve per la **sintesi proteica**, infatti, m-RNA esce dal nucleo, trova il ribosoma nel citosol, comincia la traduzione e viene sintetizzata la proteina, ma un **30% di m-RNA**, e le proteine che sintetizza, segue la **via secretoria** , cioè proteine che devono essere **esocitate** sottoforma di **vescicole** (es. peptidi del S nervoso, ormoni, matrice extracell. e recettori specifici di membrana) e che seguono il percorso dal RER vanno al Golgi e poi le vescicole vengono esocitate nella matrice
- Come funziona? Durante la traduzione nel ribosoma viene inserita una **sequenza** amminoacidica **segnale** che blocca la traduzione (un complesso proteico con SRP e la P54), questa sequenza viene riconosciuta in modo specifico dal **traslocone** che forma dei pori sulla superficie del RER, su cui si innesta il ribosoma, grazie alla peptidasi viene tagliato il legame peptidico che lega il ribosoma al complesso segnale che viene rilasciata e riciclata; a questo punto la traduzione della proteina continua all'interno del RER
- cosa succede alle proteine al RER? Acquisiscono la **struttura terziaria** corretta, se il ripiegamento non è corretto, *misfolded,* si attiva il sistema di controllo qualità, le proteine danneggiate vengono riciclate nei **proteosomi**
  - **Apoptosi cellulare** (morte programmata): se il controllo qualità non funziona, si accumulano peptidi misfolded che intasano il reticolo e lo mandano sotto *stress,* le cellule muoiono
  - Modificazioni nel RER: le proteine subiscono modificazioni nel lume del reticolo sia mentre vengono tradotte (co-traduzionalmente) , sia dopo (post-traduzionalmente):
    - **Glicosilazione**: aggiunta di catene oligosaccaridiche (zuccheri semplici)
    - **Ossidazione:** assumono il folding specifico, ad es. la **cisteina** (amminoacido Cys) ha uno zolfo S che si può legare con un altro S della cisteina creando dei **ponti disolfuro** che creano dei ripiegamenti

- Riserva di **Calcio** (ioni Ca2+): il calcio è un segnale di inizio per la contrazione muscolare, un **mediatore** per le *chinasi* che dipendono dal calcio, e per l'**esocitosi regolata** (ad es. nei segnali neuronali a livello sinaptico)

- vescicole contenenti le proteine cargo sono rivestite da coating (COP1, COP2, clatrina) specifici per essere riconosciute dal cis-Golgi, la membrana vescicolare quando si fonde con il golgi e rilascia il cargo poi viene riciclata per mantenere l'equilibrio

master COPY

APPARATO DI GOLGI

- Cis
- Trans+ TGN
- Le proteine passano attraverso le cisterne o per gemmazione di vescicole o per turnover delle cisterne
- Glicosilazioni di zuccheri **complessi** grazie a enzimi come mannosidasi , galattosintransferasi, molto specifici
- Aggiunta di lipidi
- Formazione di **lisosomi**: le proteine precursori di quelle nei lisosomi vengono prima glicosilate con un Mannosio 6 fosfato (M6P) che funziona per il riconoscimento specifico sul TGN da recettori che richiamano la clatrina che serve per la gemmazione e l'esocitosi (fa il canestrino), giunte sul lisosoma in formazione e rilascia il M6P che viene riciclato; nel lisosoma sono presenti pompe a H per mantenEre l'ambiente acido con pH 5

LISOSOMI

- Organelli dal diametro di 0,2-0,5 micrometri, delimitati da membrana plasmatica
- Contengono al più **40 tipi** (in base al tipo di cellula) di enzimi idrolitici, ovvero le **idrolasi**, acide perché si attaccano alla parte acida degli amminoacidi, e in particolare scindono legami tra le molecole organiche (*proteasi, lipidasi, glicolasi)*
- Funzioni:
  - **Riciclo** di molecole presenti nella cellula che vengono fagocitate
  - **Scissione** dei legami di molecole nutrienti per il metabolismo cellulare
  - Fusione con l'autofagosoma per **autofagia**, quindi digerire/distruggere organelli danneggiati o tossici
- Struttura: sulla membrana presentano:
  - proteine di trasporto come canali o pompe per fare entrare/uscire molecole (anche per endocitosi mediata da recettori)
  - **Pompe protoniche** che mantengono il pH acido intorno a 5, che attiva le idrolasi
  - **Glicoproteine** verso l'interno, cioè proteine che presentano le glicosilazioni verso il lume lisosomiale perché prevengono l'attacco da parte degli enzimi lisosomiali sulla membrana del lisosoma stesso (così non si autodigerisce)= si evidenzia al microscopio elettronico una **lamina glicosilata sul lato interno** del lisosoma
- Origini: gli enzimi lisosomiali provengono dal RER dove vengono glicosilati, poi vanno al cis-Golgi dove vengono ulteriormente glicosilati, ma con un **Mannosio-6-fosfato** (M6P), che viene riconosciuto da un recettore sul TGN e portato al lisosoma dove viene rilasciato quando l'idrolasi entra nel lisosoma
- PATOLOGIE LISOSOMIALI

PEROSSISOMI

- Questi Organelli sono più piccoli dei lisosomi
- funzione principale: **catabolismo degli acidi grassi** ovvero fanno una Ossidazione grazie a l'enzima Ossidasi Il prodotto di scarto è il perossido di idrogeno ovvero l'acqua ossigenata **H2O2**, Questa molecola di scarto tuttavia è nociva per la cellula Perché può facilmente perdere un elettrone E diventare un radicale libero Infatti è grazie alla **catalasi** che il perossido di ossigenoPuò essere xd in una molecola di acqua e un ossigeno.