CAPITOLO 1

FONDAMENTI DI FISIOLOGIA

Emile L. Boulpaep e Walter F. Boron

Che cos'è la fisiologia?

La fisiologia è lo studio dinamico della vita. La fisiologia descrive le funzioni "vitali" degli organismi viventi e dei loro organi, cellule e molecole. Per secoli, la disciplina "fisiologia" è stata strettamente interconnessa con la medicina. Sebbene la fisiologia non si occupi propriamente di strutture (come avviene invece per anatomia, istologia e biologia strutturale), le strutture e le funzioni sono collegate in modo inestricabile perché sono le stesse strutture viventi a essere responsabili delle funzioni.

Per alcuni, la fisiologia corrisponde alla definizione della funzione dell'intero organismo (ad esempio, nel caso della fisiologia dell'esercizio fisico). Per molti medici praticanti, la fisiologia può comprendere la funzione di un singolo apparato, come quello cardiovascolare, respiratorio o gastrointestinale. Per altri ancora, essa può incentrarsi su principi cellulari comuni alla funzione di tutti gli organi e i tessuti. Quest'ultimo campo è tradizionalmente chiamato *fisiologia generale*, un temine che è stato attualmente soppiantato da *fisiologia cellulare e molecolare*. Anche se la fisiologia può essere suddivisa in base a diversi gradi di riduzionismo, è anche possibile definire le sue diverse branche. Ad esempio, una branca della fisiologia è la *fisiologia comparativa*, che si incentra sulle differenze e le somiglianze tra le diverse specie. La fisiologia comparativa può trattare tutti i gradi del riduzionismo, dalla molecola all'intero organismo. In modo simile, la *fisiologia medica* si occupa più specificamente di come funziona il corpo umano, il che è correlato con le modalità di funzionamento dei singoli apparati. A sua volta ciò dipende dalla fisiologia delle cellule che compongono tali apparati, il che implica interazioni tra organuli subcellulari e innumerevoli molecole. La fisiologia medica implica, per l'appunto, una visione globale del corpo umano e, per questo motivo, essa comporta una comprensione integrata degli eventi che avvengono a livello di molecole, cellule e organi.

La fisiologia è la madre di diverse scienze biologiche, avendo dato vita a discipline come la biochimica, la biofisica e le neuroscienze, determinando così a sua volta lo sviluppo delle corrispondenti società e riviste scientifiche. Non deve quindi sorprendere che i limiti della fisiologia non siano chiaramente delineati. D'altra parte, la fisiologia ha altresì attributi univoci. Ad esempio, essa è evoluta nei secoli da scienza più qualitativa a scienza più quantitativa e molti dei principali fisiologi si sono formati come chimici, fisici, matematici o ingegneri.

La genomica fisiologica è il collegamento tra l'organo e il gene

Per vivere, il corpo umano necessita non solo che i singoli apparati svolgano i loro compiti, ma anche che essi lavorino "mano nella mano" gli uni con gli altri. Essi devono condividere informazioni e le loro azioni devono essere interdipendenti. Infatti, le cellule di un organo o di un tessuto spesso condividono informazioni e devono agire di concerto per svolgere correttamente le funzioni dell'organo o del tessuto cui esse appartengono. Inoltre, le cellule di un organo spesso devono condividere informazioni con le cellule di un altro organo e prendere decisioni appropriate, oltre che per la salute della singola cellula, anche per quella dell'intero organismo.

Nella maggior parte dei casi, la condivisione di informazioni tra organi e tra cellule avviene a livello di atomi o di molecole e implica meccanismi intracellulari. I messaggeri intracellulari o intercellulari possono essere semplici ioni come H^+ o K^+ o Ca^{2+} oppure possono essere composti chimici più complessi. Una cellula può rilasciare una molecola che può agire su una cellula adiacente oppure entrare nel flusso sanguigno, agendo su cellule più distanti. In altri casi, un neurone, ad esempio, può estendere un assone su una distanza di un centimetro o persino di un metro e modulare rapidamente, attraverso una molecola di neurotrasmettitore, l'attività di un'altra cellula o di un altro organo. Il metodo di comunicazione attraverso cui le cellule e gli organi possono interagire tra loro è quasi sempre molecolare.

Il grande organizzatore, cioè il "capo" che controlla le molecole, le cellule e gli organi e che coordina le loro modalità di interazione è il genoma, insieme con le sue modifiche epigenetiche. Tradizionalmente, la fisiologia si è sempre arrestata, nel suo viaggio riduzionistico, a livello delle cellule e di alcuni organuli subcellulari oltre che delle molecole che li compongono e ne controllano il ruolo funzionale. La disciplina della fisiologia ha lasciato alla biologia molecolare e alla genetica molecolare il compito di occuparsi di come la cellula controlli sé stessa attraverso il DNA. La fisiologia moderna, tuttavia, è ora strettamente interconnessa con la biologia molecolare perché il DNA codifica per le proteine cui i fisiologi sono maggiormente interessati. Infatti, molto spesso, i fisiologi sviluppano meticolosamente strategie eleganti per clonare geni funzionalmente importanti. Talvolta approcci brutali, come quelli correlati con il Progetto Genoma Umano

negli Stati Uniti, consegnano al fisiologo su un piatto d'argento un gene candidato, omologo a un gene implicato in una funzione nota. In altri casi, i biologi molecolari possono clonare un gene che non ha funzioni note e in questo caso, può essere compito del fisiologo determinarne il *ruolo biologico*, cioè la sua *fisiologia*.

La genomica fisiologica (o funzionale) è una nuova branca della fisiologia finalizzata alla comprensione del ruolo funzionale dei geni. Tradizionalmente, l'attività dei fisiologi è stata progressivamente orientata in senso riduzionistico da organo a cellula, a molecola e a gene e uno degli aspetti più affascinanti della genomica fisiologica è che essa ha chiuso il cerchio, correlando direttamente la fisiologia alla biologia molecolare. A tale proposito, uno degli esempi più impressionanti è forse rappresentato dalla produzione di topi knockout in cui la funzione di una molecola viene studiata attraverso la soppressione del gene corrispondente. Tuttavia, la soppressione del gene che codifica per una proteina che, secondo la scienza tradizionale, è molto importante, talvolta non ha alcun effetto evidente oppure ha effetti imprevisti e in questo caso sta al fisiologo, almeno in parte, scoprirne il perché. Fa certamente riflettere considerare che, per comprendere realmente l'impatto funzionale di una modificazione dell'espressione genica in un animale, si deve rivalutare attentamente la totalità della sua fisiologia. Infatti, per individuare la funzione di un prodotto genico, il fisiologo deve ripercorrere i passaggi della via riduzionistica e comprendere in modo integrato la funzione di quel gene a livello di cellule, di organi e dell'intero organismo. Da questo punto di vista, la fisiologia è unica tra le scienze mediche di base perché il suo ambito di applicazione è ampio, trattando di svariati apparati attraverso un punto di vista integrato.

In alcuni casi, parametri fisiologici importanti, come ad esempio la pressione sanguigna, possono essere controllati da geni differenti. Alcuni polimorfismi di tali geni possono avere un effetto cumulativo che porta a un incremento della pressione sanguigna. Come si possono identificare i polimorfismi genici soggiacenti? Questo complesso problema non si presta immediatamente alle competenze di un fisiologo. Tuttavia, un approccio potrebbe consistere nello studio di una popolazione di persone, o di ceppi di animali, utilizzando strumenti statistici per determinare in una popolazione quali polimorfismi siano correlati con un incremento, ad esempio, della pressione sanguigna. Gli epidemiologi utilizzano similmente strumenti statistici per studiare gli effetti di variazioni di parametri funzionali nelle popolazioni. Tuttavia, anche dopo l'identificazione di varianti di diversi geni, ognuna delle quali contribuisce in piccola parte al valore della pressione sanguigna, il fisiologo svolge altresì un ruolo importante in quanto, attraverso esperimenti controllati, egli può determinare se una particolare variante genetica abbia realmente il potenziale di modulare una specifica funzione (ad esempio, la pressione sanguigna), determinando poi il meccanismo soggiacente.

Le cellule vivono in un *milieu intérieur* altamente protetto

Nelle sue conferenze sui fenomeni della vita, nel 1878, Claude Bernard dissertava sulla costanza della vita, che considerava una proprietà delle forme di vita superiori. Egli suggeriva che gli animali avessero due pe: il *milieu extérieur* che circonda fisicamente l'intero organismo, e il *milieu intérieur*, nel quale vivono i tessuti e le cellule. L'ambiente interno non corrisponde né all'aria né all'acqua in cui vive un organismo ma, nel caso del corpo umano, esso rappresenta un ambiente liquido ben controllato che Bernard chiamava "il liquido organico che circola e bagna tutti gli elementi anatomici dei tessuti, la linfa o il plasma" e corrisponde, in breve, a quello che oggi viene definito il liquido extracellulare. Bernard sosteneva che le funzioni dell'organismo vengano mantenute indipendentemente dall'ambiente interno, in continuo mutamento, che rappresenta invece il *milieu intérieur*, il quale isola gli organi e i tessuti del corpo dalla variabilità delle condizioni fisiche ambientali. Egli descriveva il *milieu intérieur* come se un organismo fosse posto in una serra.

Secondo il concetto di *milieu intérieur* di Bernard, alcuni dei liquidi contenuti nel corpo non sono in realtà affatto dentro il corpo. Ad esempio, il *contenuto* del tratto gastrointestinale, dei dotti sudoripari e dei tubuli renali è al di fuori del corpo ed è in continuità con il *milieu extérieur*.

Bernard paragona un organismo complesso a un insieme di elementi anatomici che convivono nel *milieu intérieur* e nella Sezione II di questo libro, esamineremo la fisiologia di queste cellule e molecole. Nel Capitolo 2, inizierà il nostro viaggio attraverso la fisiologia con una discussione sulla biologia delle cellule viste come i singoli elementi del corpo. Nel Capitolo 3, si discuterà delle interazioni cellulari e di come le cellule comunichino *direttamente* attraverso le gap junction o *indirettamente* attraverso molecole rilasciate nel liquido extracellulare. Una volta rilasciate, queste molecole possono legarsi a recettori di membrana avviando la trasduzione di una cascata di segnali che possono modulare la trascrizione genica, risultando in una risposta genomica e in un'ampia gamma di altre risposte cellulari non genomiche. In alternativa, queste molecole possono legarsi a recettori nel citoplasma o nel nucleo, regolando la trascrizione genica. Nel Capitolo 4, si esaminerà la risposta del nucleo. Nel Capitolo 5, si tratterà di come la membrana plasmatica separi l'interno della cellula dal *milieu intérieur* di Bernard, determinando la composizione del liquido intracellulare. Nella definizione della composizione di tale liquido, la membrana plasmatica stabilisce anche i gradienti ionici e di voltaggio attraverso i suoi compartimenti. Le cellule eccitabili (principalmente cellule nervose e muscolari) possono sfruttare questi gradienti per la trasmissione "elettrica" delle informazioni a lunga distanza. L'"eccitabilità" cellulare, che richiede la percezione di un cambiamento (un segnale) e le sue conseguenze, sarà l'argomento dei Capitoli da 6 a 9. Nella Sezione III, si esaminerà in che modo il sistema nervoso sfrutti l'eccitabilità per elaborare le informazioni.

Un altro concetto sviluppato da Bernard è che la "fixité du milieu intérieur" (cioè la costanza della composizione del liquido extracellulare) è la condizione per una "vita libera e indipendente". Egli spiegava che le differenze funzionali tra gli organi costituiscono una proprietà esclusiva, tipica degli organismi superiori, e che ogni organo contribuisce a "compensare ed equilibrare" le variazioni dell'ambiente esterno. Pertanto, ciascuno dei sistemi discussi nelle Sezioni IV-VIII permette al corpo di vivere all'interno di un ambiente ester-

CAPITOLO 2

ORGANIZZAZIONE FUNZIONALE DELLA CELLULA

Michael J. Caplan

Secondo il giudizio di molti studenti, la disciplina della fisiologia è inscindibilmente correlata con immagini del suo passato. Ad esempio, molti esperimenti della gloriosa storia della fisiologia, come quello di Pavlov sui cani, hanno oltrepassato la pura rinomanza scientifica entrando nel dominio della cultura popolare. Ciò ha generato la convinzione che la fisiologia si occupi esclusivamente dello studio degli animali nella loro interezza e sia dunque un'antica reliquia in questa era di riduzionismo molecolare, il che non è assolutamente vero. Infatti la fisiologia è ed è sempre stata lo studio dei meccanismi omeostatici che permettono a un organismo di sopravvivere malgrado le pressioni, in continua evoluzione, imposte da un ambiente ostile. Questi meccanismi possono essere valutati a diversi livelli di risoluzione.

Sarebbe sicuramente difficile comprendere come funziona il corpo se non si valutassero le funzioni dei suoi organi e le interazioni che permettono loro di influenzare reciprocamente il loro comportamento. Similmente sarebbe difficile comprendere come un organo svolga la sua particolare attività se non si conoscessero le proprietà delle cellule e delle molecole che lo costituiscono.

In questo testo la fisiologia viene presentata in modo moderno, comprendendo le interazioni delle molecole nelle cellule tanto quanto le interazioni degli organi negli organismi. Pertanto, all'inizio è necessario discutere della struttura e delle caratteristiche cellulari. Si discuteranno dapprima le caratteristiche architettoniche e dinamiche di una cellula generica, passando poi a studiare in che modo essa possa adattarsi per svolgere diverse funzioni. Attraverso tali adattamenti, gli organi acquisiscono i sistemi necessari per svolgere i propri compiti metabolici individuali.

STRUTTURA DELLE MEMBRANE BIOLOGICHE

La superficie della cellula è definita da una membrana

La composizione chimica dell'ambiente interno della cellula è molto diversa da quella dell'ambiente extracellulare, un'osservazione che si applica sia ai parameci unicellulari che nuotano liberamente in uno stagno di acqua dolce sia ai neuroni densamente impaccati nella corteccia cerebrale umana. I processi biochimici soggiacenti richiedono il mantenimento di un ambiente intracellulare finemente regolato. Il citoplasma è una soluzione straordinariamente complessa che include miriadi di proteine, acidi nucleici, nucleotidi e zuccheri che la cellula sintetizza o accumula con un grande costo metabolico. La cellula spende inoltre moltissima energia per regolare le concentrazioni intracellulari di numerosi ioni. Se non esistesse una barriera che circonda la cellula modulando gli scambi tra spazi intracellulari ed extracellulari, l'esclusiva composizione del citoplasma, conquistata con fatica, andrebbe persa per diffusione in pochi secondi.

La barriera necessaria è rappresentata dalla **membrana plasmatica**, che costituisce la pelle esterna della cellula. La membrana plasmatica è *impermeabile* a grandi molecole come proteine e acidi nucleici, garantendo così la loro ritenzione all'interno del citosol. Essa è *selettivamente permeabile* a piccole molecole come ioni e metaboliti. Il metabolismo della cellula, però, richiede una membrana plasmatica molto più sofisticata di una semplice barriera passiva che permetta a varie sostanze di fuoriuscire a diverse velocità. Frequentemente, la concentrazione di un nutriente nel liquido extracellulare (LEC) è diversi ordini di grandezza inferiore a quella richiesta all'interno della cellula. Se una cellula desidera utilizzare tale sostanza, essa deve quindi essere in grado di *accumularla* contro un gradiente di concentrazione. Un semplice poro nella membrana non può concentrare nulla, ma può solo modulare la velocità alla quale un gradiente viene dissipato. Per svolgere l'impresa più sofisticata di creare un gradiente di concentrazione, la membrana deve essere dotata di un sistema speciale che utilizzi energia metabolica per guidare i movimenti *in salita* delle sostanze (**trasporto attivo**) dentro o fuori la cellula. Sarebbe inoltre utile modulare rapidamente le variazioni della permeabilità della membrana plasmatica in risposta a vari stimoli metabolici. Il trasporto attivo e la capacità di controllare la permeabilità passiva sono alla base di un'ampia gamma di processi fisiologici, dall'eccitabilità elettrica dei neuroni alle funzioni di riassorbimento e secrezione dei reni. Nel Capitolo 5 esploreremo come le cellule trasportino attivamente i soluti attraverso la membrana plasmatica. I meccanismi attraverso i quali la selettività dinamica della membrana plasmatica viene raggiunta, modificata e regolata sono discussi brevemente in seguito in questo capitolo e, in maggiore dettaglio, nel Capitolo 7.

La membrana plasmatica è composta principalmente da fosfolipidi

La nostra comprensione della struttura delle membrane biologiche si basa su studi condotti all'inizio del XX secolo sui globuli rossi, o eritrociti. Gli eritrociti sono privi di nucleo e di altre complicate strutture intracellulari caratteristiche della maggior parte delle cellule animali. Essi sono formati da una membrana plasmatica che circonda un citoplasma ricco in emoglobina. È possibile rompere gli eritrociti e rilasciarne il contenuto citoplasmatico. Si possono quindi recuperare le membrane citoplasmatiche mediante centrifugazione ottenendo una preparazione incredibilmente pura di membrane cellulari per le quali l'analisi biochimica rivela come esse siano composte da due principali costituenti: lipidi e proteine.

I lipidi associati alle membrane plasmatiche degli eritrociti sono per lo più dei **fosfolipidi**. In generale, essi condividono un residuo di **glicerolo**, di cui due gruppi idrossilici sono esterificati con vari **acidi grassi** o **gruppi acilici** (Fig. 2.1*A*), a loro volta composti da un numero variabile di atomi di carbonio, tra cui possono anche essere presenti doppi legami. Per tali fosfolipidi, oltre ai due residui carbossilici esterificati con il glicerolo, un terzo gruppo idrossilico del glicerolo è esterificato con un gruppo **fosfato**, che a sua volta è esterificato con una piccola molecola chiamata **gruppo di testa**. L'identità del gruppo di testa determina il nome oltre a molte delle proprietà dei singoli fosfolipidi. Ad esempio, i fosfolipidi basati sul glicerolo che portano una molecola di etanolamina nel gruppo di testa sono classificati come **fosfatidiletanolamine** (Fig. 2.1*A*).

I fosfolipidi formano strutture complesse in soluzione acquosa

La struttura unica e le proprietà fisico-chimiche di ciascun fosfolipide (Fig. 2.1*B*) sono alla base della formazione delle membrane biologiche, il che spiega molte delle loro importanti proprietà. Gli acidi grassi sono molecole non polari. Le loro lunghe catene di carbonio sono prive di gruppi carichi che faciliterebbero le interazioni con l'acqua, che invece è polare. Di conseguenza, gli acidi grassi si sciolgono poco in acqua, ma lo fanno rapidamente nei solventi organici, per cui sono **idrofobici**. D'altra parte, i gruppi di testa della maggior parte dei fosfolipidi sono elettricamente carichi o polari e interagiscono bene con l'acqua, per cui sono idrosolubili. Essi sono quindi **idrofilici**. Poiché i fosfolipidi combinano teste idrofiliche con code idrofobiche, la loro interazione con l'acqua è chiamata **anfipatica**.

Una volta mescolati con l'acqua, i fosfolipidi si organizzano in strutture che impediscono alle code idrofobiche di entrare in contatto con l'acqua, permettendo al tempo stesso ai gruppi di testa idrofilici di disciogliersi completamente. Quando aggiunti all'acqua in concentrazioni abbastanza basse, i fosfolipidi formano un **monostrato** (Fig. 2.1*C*) alla superficie dell'acqua in corrispondenza dell'interfaccia aria-acqua. Sul piano energetico risulta essere meno costoso per il sistema che le code idrofobiche si sviluppino nel mezzo gassoso piuttosto che esse interagiscano con il solvente.

In concentrazioni maggiori, i fosfolipidi si assemblano in **micelle** in cui i gruppi di testa idrofilici formano la superficie di queste piccole sfere, mentre le code idrofobiche puntano verso il centro. In questa geometria, le code sono protette dal

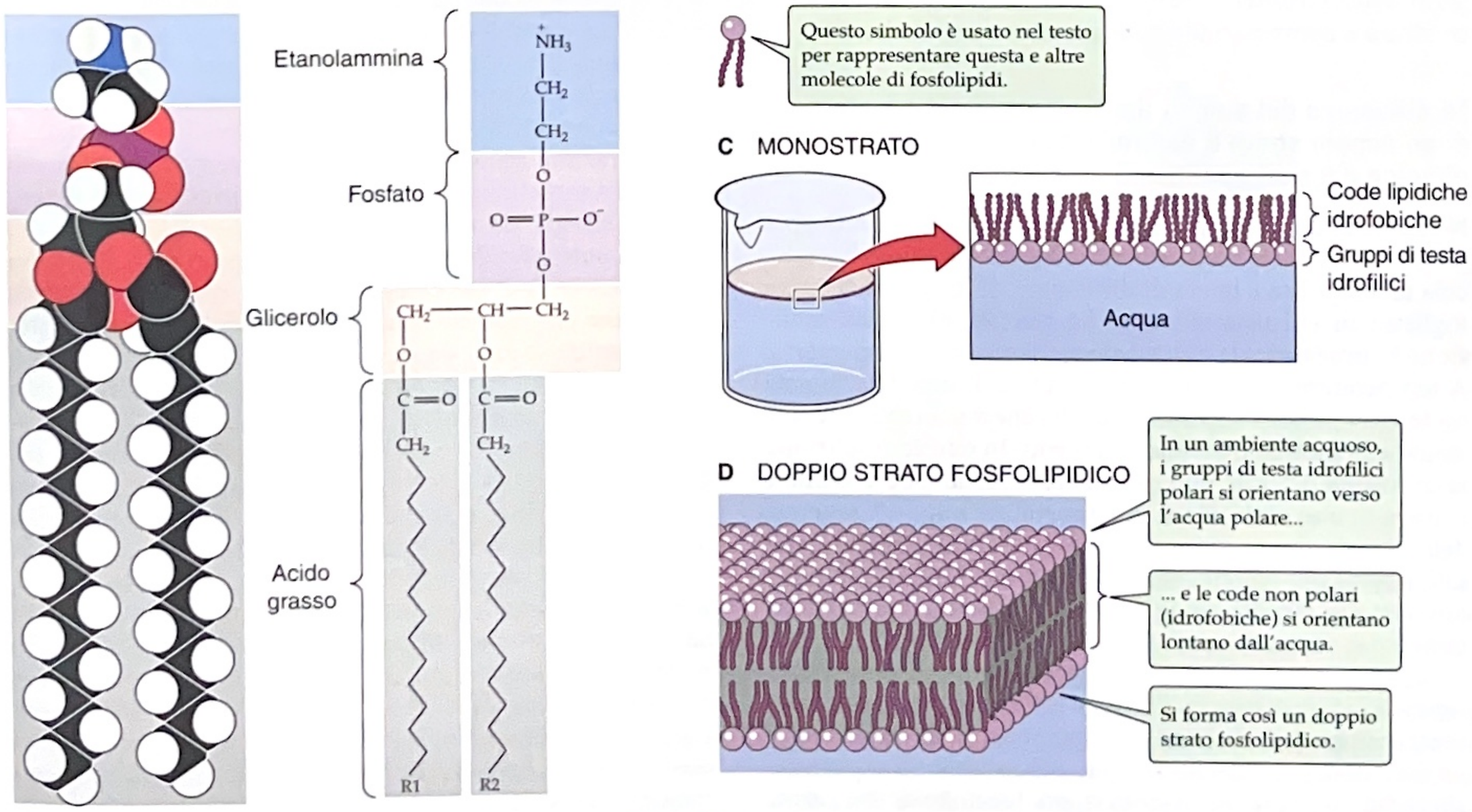


Figura 2.1 Fosfolipidi.

contatto con l'acqua mentre esse sono in grado di partecipare a interazioni energeticamente favorevoli tra di loro. A concentrazioni ancora superiori, i fosfolipidi formano spontaneamente un **doppio strato** (Fig. 2.1*D*). In queste strutture, le molecole monomeriche si organizzano in due fogli paralleli o **foglietti** in cui le code sono rivolte le une verso le altre. I gruppi di testa idrofilici formano le superfici del doppio strato mentre le code idrofobiche formano il centro del bilayer. Le superfici idrofiliche isolano le code idrofobiche dal contatto con il solvente, lasciandole libere di associarsi soltanto le une con le altre.

Le caratteristiche fisiche del doppio strato lipidico dipendono principalmente dalla composizione chimica delle molecole di fosfolipidi che lo costituiscono. Ad esempio, lo spessore del doppio strato è determinato dalla lunghezza delle catene laterali di acidi grassi. I fosfolipidi diesadecanoici (le cui catene di acidi grassi sono lunghe ognuna 16 atomi di carbonio) producono doppi strati spessi 2,47 nm; i fosfolipidi ditetradecanoici (con acidi grassi di 14 atomi di carbonio) generano doppi strati di 2,3 nm. Allo stesso modo, la natura dei gruppi di testa determina quanto densamente impaccate siano le molecole di fosfolipidi adiacenti in ciascun foglietto della membrana.

I detergenti possono dissolvere le membrane fosfolipidiche perché, come gli stessi fosfolipidi, sono anfipatici. Essi posseggono gruppi di testa molto idrofilici e code idrofobiche e sono idrosolubili a concentrazioni molto superiori a quelle dei fosfolipidi. Quando mescolate insieme in soluzione acquosa, le molecole di detergente e i fosfolipidi interagiscono attraverso le loro code idrofobiche e i complessi che ne risultano sono idrosolubili, sia come dimeri individuali sia sotto forma di micelle miste. Pertanto, l'aggiunta di concentrazioni sufficienti di detergente al doppio strato fosfolipidico disgrega le membrane e dissolve i lipidi. I detergenti sono strumenti estremamente utili nelle ricerche su struttura e composizione delle membrane lipidiche.

La diffusione dei singoli lipidi all'interno del foglietto di un doppio strato è determinata dalla composizione chimica dei suoi costituenti

Nonostante il suo aspetto altamente organizzato, un doppio strato fosfolipidico è una struttura fluida. Una singola molecola fosfolipidica è libera di diffondere all'interno dell'intero foglietto in cui essa si trova. La velocità di questa diffusione bidimensionale dipende fortemente dalla temperatura. A temperature elevate, l'energia termica di una determinata molecola lipidica è superiore a quella che tenderebbe a tenere insieme le molecole di lipidi adiacenti. In queste condizioni, la diffusione laterale può procedere rapidamente e il lipide si trova in uno **stato di sol**. A temperature inferiori, l'energia dell'interazione supera quella termica e i fosfolipidi, quindi, diffondono più lentamente perché manca loro l'energia per liberarsi dai contatti con le molecole vicine. Questo comportamento è piuttosto tipico dello **stato di gel**.

La temperatura alla quale il doppio strato della membrana passa dalla fase di gel a quella di sol (e viceversa) viene definita **temperatura di transizione**. La temperatura di transizione è un'altra caratteristica che dipende dal modello di organizzazione dei fosfolipidi nel doppio strato. I fosfolipidi con catene lunghe e sature di acidi grassi possono interagire tra di loro. Di conseguenza, una discreta quantità di energia termica è necessaria per superare le loro interazioni permettendone la diffusione. Non è sorprendente infatti notare che questi doppi strati hanno temperature di transizione relativamente alte. Ad esempio, la temperatura di transizione della fosfatidilcolina dioctadecanoica (che include due catene di acidi grassi da 18 atomi di carbonio, completamente sature) è di 55,5 °C. Invece, i fosfolipidi che hanno catene di acidi grassi più corte o doppi legami (che introducono delle pieghe) non possono allinearsi gli uni accanto agli altri, il che non consente loro di interagire e richiede una quantità considerevolmente inferiore di energia per partecipare alla diffusione. Ad esempio, riducendo la lunghezza della catena carboniosa da 18 a 14, la temperatura di transizione scenderà a 23 °C. Se si mantiene tale lunghezza a 18 atomi di carbonio, l'introduzione di un doppio legame (che rende le catene di acidi grassi monoinsature), ridurrà notevolmente la temperatura di transizione.

Mescolando altri tipi di molecole lipidiche nei doppi strati fosfolipidici, si può alterare marcatamente la fluidità della membrana. I fosfolipidi *basati sul glicerolo*, i più comuni lipidi della membrana, includono le fosfatidiletanolamine precedentemente descritte (Fig. 2.1*A*), nonché i **fosfatidilinositoli** (Fig. 2.2*A*), le **fosfatidilserine** (Fig. 2.2*B*) e le **fosfatidilcoline** (Fig. 2.2*C*). La seconda classe principale di lipidi di membrana, gli **sfingolipidi** (derivati della *sfingosina*) comprende tre sottogruppi: le **sfingomieline** (Fig. 2.2*D*), i **glicosfingolipidi** come i galattocerebrosidi (Fig. 2.2*E*) e i **gangliosidi** (non presenti nella figura). Il colesterolo (Fig. 2.2*F*) è un altro importante lipide della membrana. Poiché queste altre molecole non hanno esattamente la stessa organizzazione dei fosfolipidi basati sul glicerolo, esse partecipano in gradi diversi alle interazioni molecolari con le catene laterali dei fosfolipidi. La presenza di questi lipidi alternativi modifica la forza delle interazioni il che a sua volta impedisce alle molecole lipidiche di diffondere. Di conseguenza, la membrana ha fluidità e temperatura di transizione differenti. Questo comportamento è caratteristico soprattutto della molecola del colesterolo, il cui rigido anello steroideo si lega, immobilizzandolo parzialmente, alle catene laterali di acidi grassi. A concentrazioni modeste, quindi, il colesterolo riduce la fluidità della membrana. Tuttavia, quando presente in concentrazioni elevate, esso può impedire ai fosfolipidi di interagire tra loro, aumentando la fluidità e riducendo la temperatura di transizione gel-sol. Questo aspetto è rilevante perché le membrane plasmatiche delle cellule animali possono contenere quantità sostanziali di colesterolo.

I doppi strati composti da numerosi lipidi diversi non subiscono la transizione da gel a sol a una singola temperatura ben definita. Viceversa l'interconversione avviene più gradualmente in un intervallo di temperatura definito dalla composizione della miscela. All'interno di questo intervallo di transizione tra doppi strati costituiti da componenti multipli, la membrana può dividersi in zone di diversa composizione. I fosfolipidi con acidi grassi saturi a catena lunga aderiranno gli uni agli altri piuttosto strettamente, formando regioni con proprietà simili a gel. I fosfolipidi provvisti invece di acidi grassi insaturi a catena corta saranno esclusi da queste regioni e migreranno in regioni simili a sol. Possono quindi esistere "laghi" lipidici provvisti di proprietà fisiche marcatamente differenti situati fianco a fianco nel piano di una membrana. Pertanto, le stesse forze termodinamiche che formano

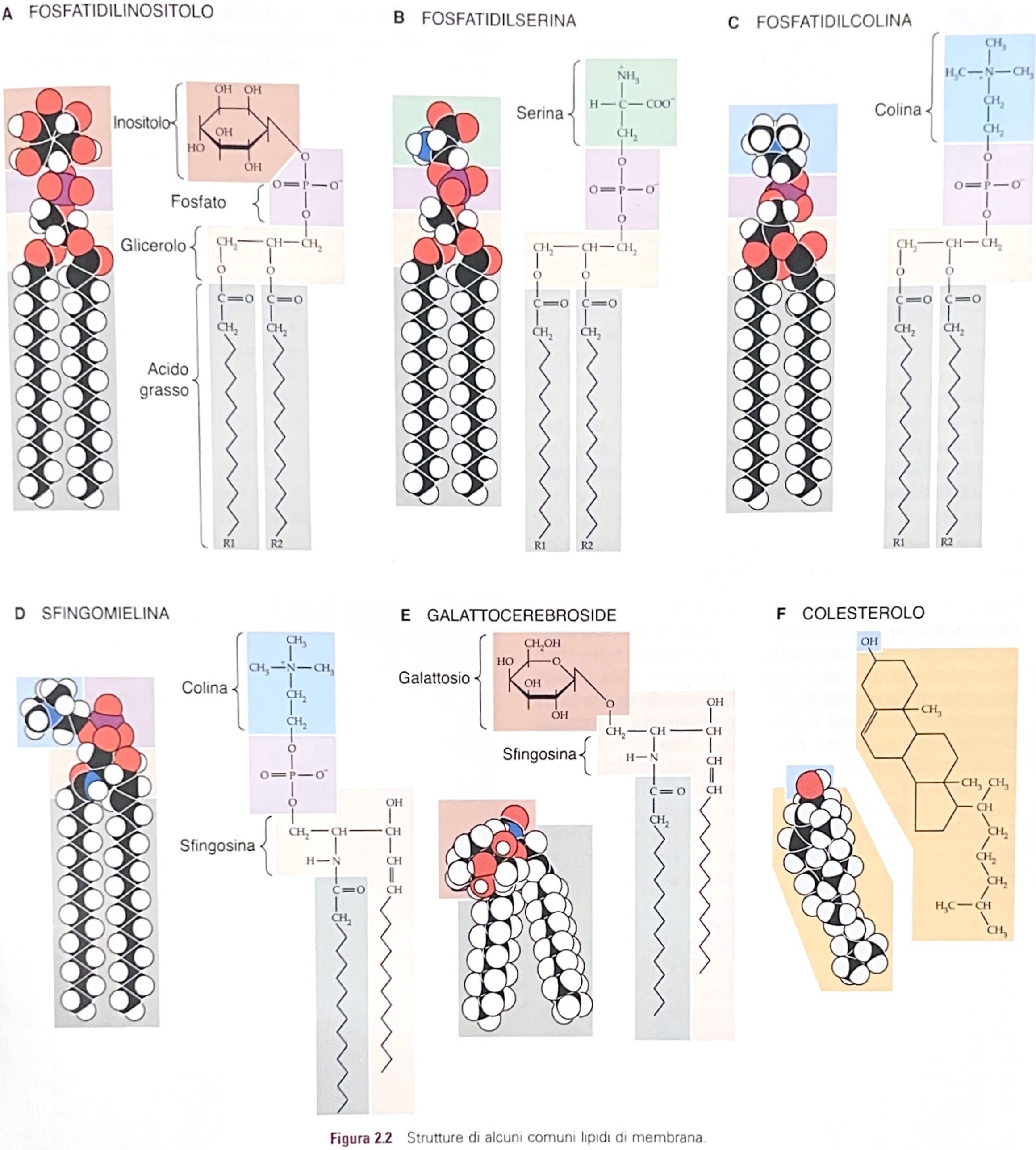


Figura 2.2 Strutture di alcuni comuni lipidi di membrana.

l'elegante struttura a doppio strato possono ripartire i lipidi in domini distinti all'interno del doppio strato. Come discuteremo in seguito, la segregazione di questi "laghi" lipidici nel piano della membrana può essere importante per smistare le proteine di membrana in diverse parti della cellula.

Per quanto i fosfolipidi possano diffondere nel piano del doppio strato lipidico della membrana essi tuttavia non sono in grado di diffondere tra foglietti adiacenti (Fig. 2.3). La velocità alla quale i fosfolipidi passano spontaneamente da un foglietto di un doppio strato all'altro è estremamente bassa. Come menzionato sopra, il centro della membrana a doppio strato è formato dalle code di acidi grassi delle molecole fosfolipidiche, rappresentando, pertanto, un ambiente estremamente idrofobico. Perché una molecola fosfolipidica possa spostarsi da un foglietto all'altro, il suo gruppo di testa altamente idrofilico dovrebbe attraversare questo nucleo centrale idrofobico, il che comporterebbe un costo energetico estremamente elevato. Questa limitazione non si applica

CAPITOLO 3

LA TRASDUZIONE DEL SEGNALE

Lloyd Cantley

Gli organismi unicellulari devono anch'essi rispondere a stimoli ambientali, per cui essi hanno sviluppato meccanismi di trasduzione del segnale. L'evoluzione di organismi pluricellulari ha poi richiesto lo sviluppo di meccanismi di **comunicazione tra le cellule** al fine di coordinarne le attività, dall'induzione dello sviluppo embrionale fino all'integrazione delle risposte fisiologiche.

Tutte le cellule ricevono ed elaborano informazioni. I **segnali** esterni come sostanze odoranti, ioni, ormoni, fattori di crescita e neurotrasmettitori possono tutti fungere da **messaggeri chimici** che mediano le interazioni tra cellule vicine o lontane. I segnali extracellulari che non sono di natura chimica (come stimoli luminosi, meccanici o termici) possono anch'essi essere tradotti in messaggeri chimici. La maggior parte di questi ultimi interagisce con specifici **recettori della superficie cellulare**, innescando una cascata di eventi secondari, comprendenti l'attivazione di **sistemi** intracellulari **di secondo messaggero** che mediano la risposta della cellula a un dato stimolo. I messaggeri idrofobici, tuttavia, che comprendono gli ormoni steroidei e alcune vitamine, possono diffondere attraverso la membrana plasmatica interagendo con **recettori citosolici o nucleari**. Le cellule, dunque, possono usare svariate vie di segnalazione intracellulare che possono interagire tra loro per controllare con precisione la propria risposta.

MECCANISMI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

Le cellule possono comunicare tra loro attraverso segnali chimici

Le cellule secernono segnali chimici i quali possono indurre una risposta fisiologica mediante una delle tre seguenti modalità (o con tutte) (Fig. 3.1): entrando in circolo e agendo su tessuti distanti **(endocrina)**, agendo su una cellula dello stesso tessuto **(paracrina)**, o ancora stimolando la cellula stessa che ha rilasciato la sostanza chimica **(autocrina)**. I fattori secreti che sono prodotti dalle cellule di un organo ed entrano in circolo per indurre una risposta in un organo differente vengono chiamati **ormoni** e gli organi che li secernono, come le ghiandole pituitaria, surrenale e tiroide, fanno parte del **sistema endocrino**. Tuttavia, possono produrre ormoni anche molti altri tessuti e cellule non generalmente

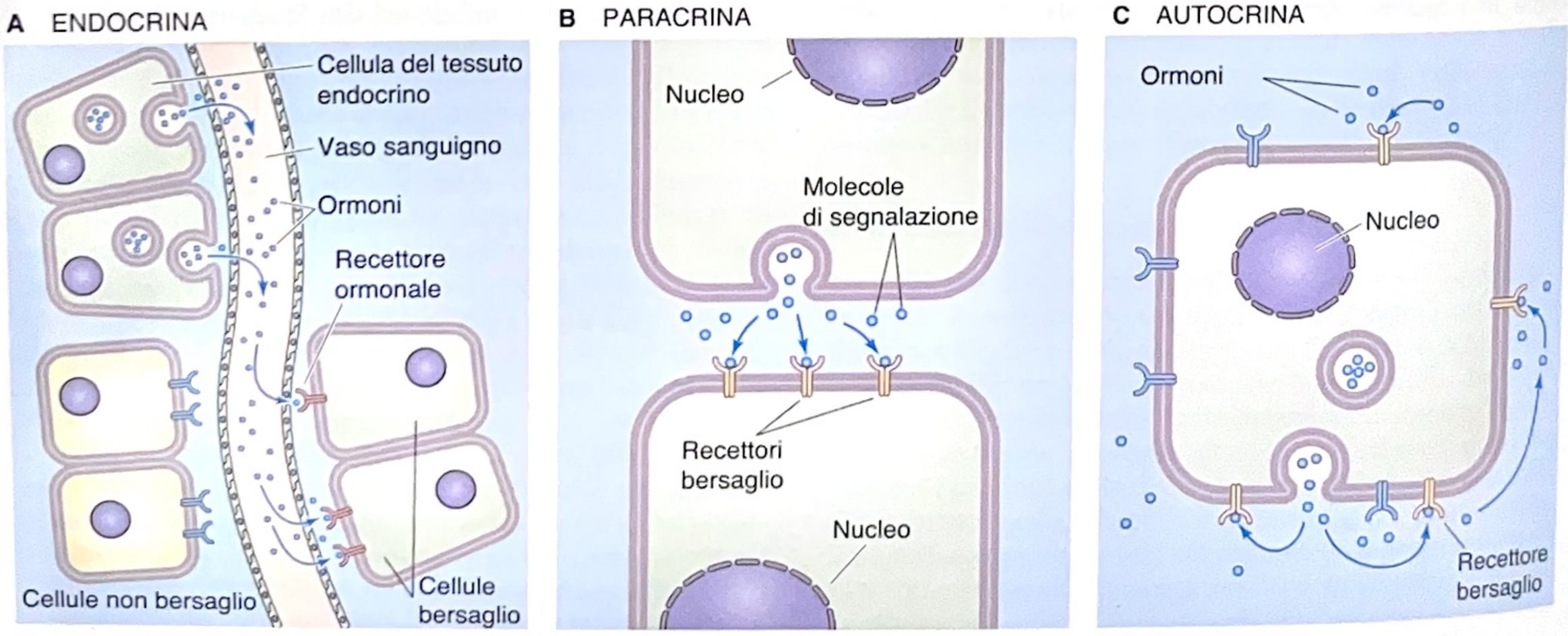


Figura 3.1 Modalità di comunicazione intercellulare.

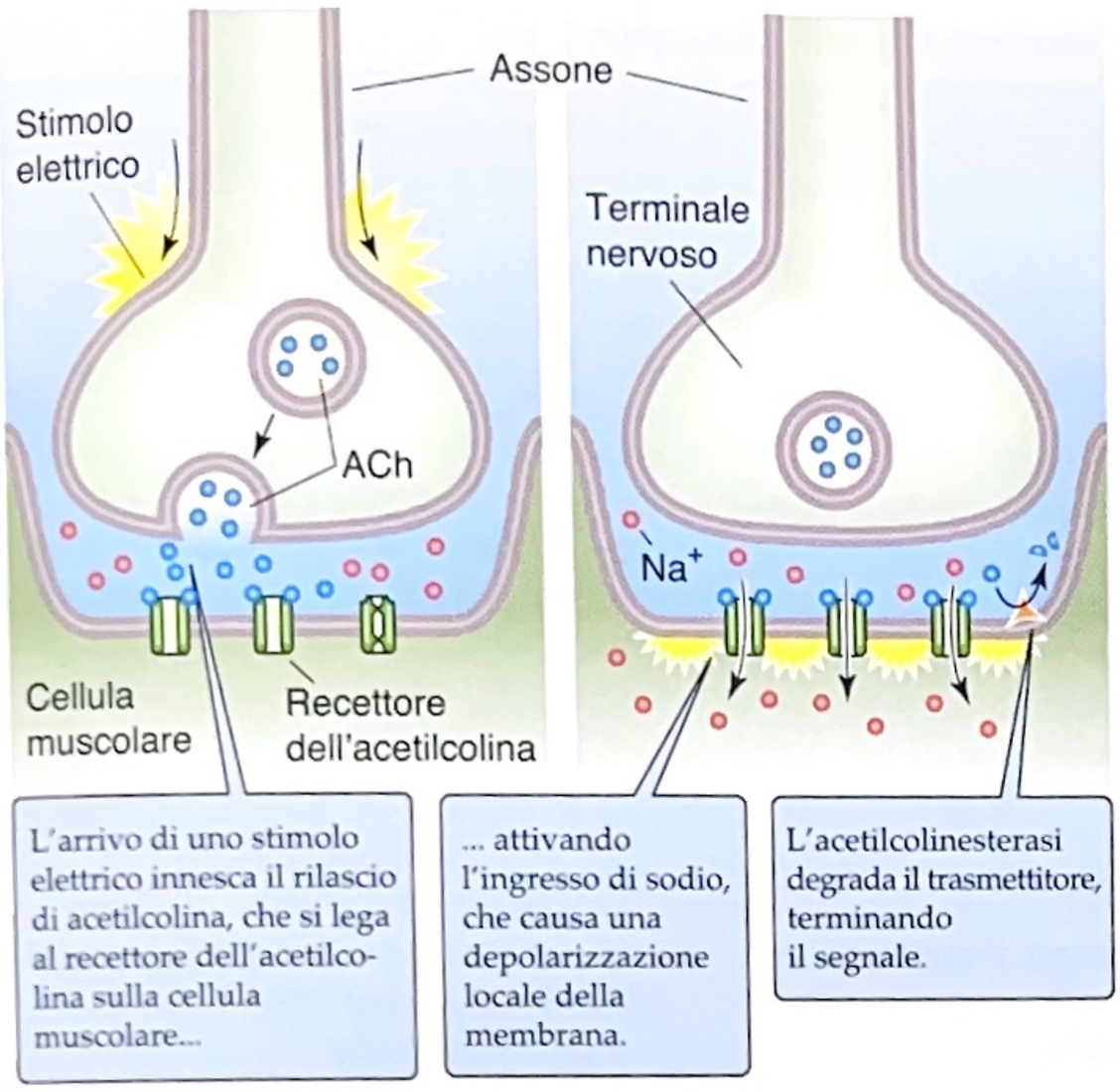


Figura 3.2 Esempio di segnalazione paracrina. Il rilascio di ACh nella giunzione neuromuscolare è una forma di segnalazione paracrina perché il terminale nervoso rilascia una sostanza chimica (ACh) che agisce su una cellula vicina (il muscolo).

ritenuti di natura endocrina. Ad esempio, il rene produce 1,25-diidrossivitamina D_3 e le ghiandole salivari sintetizzano il fattore di crescita nervosa. Infine, i contatti fisici tra cellule, o tra queste e la matrice prodotta da un'altra cellula, possono trasmettere un segnale (definito **iuxtacrino**).

Perché i segnali paracrino e autocrino possano raggiungere i loro bersagli, la loro diffusione deve essere limitata, il che può essere ottenuto tramite una rapida endocitosi del segnale chimico da parte delle cellule vicine, attraverso una sua distruzione da parte di enzimi extracellulari oppure attraverso una sua immobilizzazione da parte della matrice extracellulare. Gli eventi che hanno luogo a livello della giunzione neuromuscolare rappresentano esempi eccellenti di segnalazione paracrina. Quando un impulso elettrico viaggia lungo l'assone e raggiunge il terminale nervoso (Fig. 3.2), esso stimola il rilascio del neurotrasmettitore acetilcolina (ACh). A sua volta, l'ACh attiva temporaneamente un canale cationico attivato da ligando situato sulla membrana della cellula muscolare. Il risultante influsso transitorio di Na^+ causa una modificazione locale del potenziale di membrana (V_m) in senso positivo (depolarizzazione), avviando gli eventi che provocano la propagazione di un potenziale d'azione lungo la cellula muscolare. Il segnale dell'ACh è rapidamente terminato dall'azione dell'acetilcolinesterasi, presente nella fessura sinaptica. Questo enzima degrada l'ACh rilasciata dal neurone.

Segnali chimici solubili interagiscono con le cellule bersaglio legandosi a recettori di superficie o intracellulari

Quattro tipi di sostanze chimiche possono fungere da molecole di segnalazione extracellulare:

1. **ammine**, come l'adrenalina;
2. **peptidi e proteine**, come l'angiotensina II e l'insulina;
3. **steroidi**, tra cui aldosterone, estrogeni e acido retinoico;
4. **altre piccole molecole**, come aminoacidi, nucleotidi, ioni (ad esempio, Ca^{2+}) e gas (ad esempio, ossido nitrico).

Perché una molecola possa trasmettere un segnale, essa deve legare un **recettore**. La maggior parte dei recettori sono proteine situate sulla superficie cellulare o all'interno della cellula, che legano in modo specifico una molecola di segnalazione (il ligando) e inducono una risposta cellulare interagendo con un effettore. In alcuni casi, il recettore è l'effettore stesso, come nei canali ionici attivati da ligando, che alterano la conduttanza ionica transmembrana in risposta a un segnale extracellulare. Nella maggior parte dei casi, tuttavia, l'interazione del ligando con il suo recettore determina l'associazione del recettore con una o più molecole effettrici intracellulari che, a loro volta, avviano la risposta cellulare. Gli effettori includono enzimi, canali, proteine trasportatrici, elementi contrattili e fattori di trascrizione. La capacità di una cellula o di un tessuto di rispondere a un segnale specifico è dettata dall'insieme dei recettori che essa esprime e dalla catena di reazioni intracellulari avviate dal legame di un qualsiasi ligando al suo recettore. I recettori possono essere suddivisi in cinque categorie in base ai loro meccanismi di trasduzione del segnale (Tab. 3.1).

1. **Canali ionici attivati dal ligando.** Questi recettori/canali ibridi sono proteine integrali di membrana, coinvolte nella segnalazione tra cellule eccitabili elettricamente. Il legame di un neurotrasmettitore come l'ACh al suo recettore – il quale in realtà fa semplicemente parte del canale – determina l'apertura transitoria del canale stesso e quindi altera la permeabilità ionica della cellula.
2. **Recettori accoppiati a proteine G.** Queste proteine integrali della membrana plasmatica determinano indirettamente, attraverso diversi intermediari, l'attivazione o l'inattivazione di effettori a valle, quali enzimi o canali associati alla membrana. Questo gruppo di recettori prende il nome dall'intermediario iniziale, che è un complesso eterotrimerico che lega il GTP, chiamato proteina G.
3. **Recettori catalitici.** Quando attivate da un ligando, queste proteine integrali della membrana plasmatica sono esse stesse degli enzimi oppure fanno parte di un complesso enzimatico. In molti casi, questi recettori sono **chinasi** che aggiungono gruppi fosfato ai loro substrati o **fosfatasi** che rimuovono gruppi fosfato da essi.
4. **Recettori nucleari.** Queste proteine, citosoliche o nucleari, sono fattori di trascrizione attivati da ligando che coniugano segnali extracellulari con la trascrizione genica.
5. **Recettori che vanno incontro a clivaggio.** In risposta al legame con il ligando, alcune proteine transmembrana subiscono una **proteolisi regolata intramembrana** (**RIP**; si veda il Cap. 4), che libera uno o più frammenti del loro dominio citosolico; questi ultimi segnalano una risposta cellulare entrando nel nucleo ove essi modulano l'espressione genica.

Gli eventi di segnalazione attivati dai recettori associati con le membrane possono essere generalmente suddivisi in sei fasi:

Fase 1. **Riconoscimento** del segnale da parte del suo recettore. La stessa molecola di segnalazione può talvolta legarsi a più tipi di recettori. Ad esempio, l'ACh può legarsi ai canali attivati dal ligando e ai recettori accoppiati a proteine G.

TABELLA 3.1 Classificazione dei recettori e delle vie di trasduzione del segnale associate

CLASSE DI RECETTORI	COMPOSIZIONE DEI RECETTORI IN SUBUNITÀ	LIGANDO	VIA DI TRASDUZIONE DEL SEGNALE A VALLE DEL RECETTORE
Canali ionici attivati dal ligando (recettori ionotropici)	Oligomeri eteromerici o omomerici	*Extracellulare*	*Corrente ionica*
		GABA	Cl^- > HCO_3^-
		Glicina	Cl^- > HCO_3^-
		ACh: muscolo	Na^+, K^+, Ca^{2+}
		ACh: nervo	Na^+, K^+, Ca^{2+}
		5-HT	Na^+, K^+
		Glutammato: non-NMDA	Na^+, K^+, Ca^{2+}
		Glutammato: NMDA	Na^+, K^+, Ca^{2+}
		ATP (apertura)	Ca^{2+}, Na^+, Mg^{2+}
		Intracellulare	
		cGMP (vista)	Na^+, K^+
		cAMP (olfatto)	Na^+, K^+
		ATP (chiude il canale)	K^+
		IP_3	Ca^{2+}
		Ca^{2+} o rianodina	Ca^{2+}
Recettori accoppiati a proteine G eterotrimeriche ($\alpha\beta\gamma$)	Singolo polipeptide che attraversa la membrana sette volte	*Piccole molecole di trasmettitore*	*$\beta\gamma$ attivano direttamente l'effettore a valle*
		ACh	L'AChR muscarinico attiva il canale atriale del K^+
		Noradrenalina	
		Peptidi	*α attiva un enzima*
		Ossitocina	Ciclasi che producono nucleotidi ciclici (cAMP, cGMP)
		PTH	
		NPY	Fosfolipasi che producono IP_3 e diacilgliceroli
		Gastrina	
		CCK	Fosfolipasi che producono AA e i suoi metaboliti
		Molecole odorose	
		Alcune citochine, lipidi e molecole correlate	
Recettori catalitici	Polipeptide singolo che attraversa la membrana una volta Possono essere dimerici o dimerizzare dopo l'attivazione	ANP	Guanilato ciclasi recettoriale
		TGF-β	Serina/Treonina chinasi recettoriali
		NGF, EGF, PDGF, FGF, insulina, IGF-1	Tirosin chinasi recettoriale
		IL-3, IL-5, IL-6, EPO, LIF, CNTF, GH, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, GM-CSF	Recettore associato alla tirosin chinasi
		CD45	Tirosin fosfatasi recettoriale
Recettori intracellulari (o nucleari)	Omodimeri di polipeptidi, ognuno con più domini funzionali Eterodimeri di polipeptidi, ognuno con più domini funzionali	*Ormoni steroidei*	Si legano a sequenze regolatrici del DNA e aumentano o riducono direttamente o indirettamente la trascrizione di geni specifici
		Mineralocorticoidi	
		Glucocorticoidi	
		Androgeni	
		Estrogeni	
		Progestinici	
		Altro	
		Ormoni tiroidei	
		Acido retinoico	
		Vitamina D	
		Prostaglandine	
Recettori attivati dalla scissione	Singolo polipeptide che attraversa la membrana una volta	Jagged Delta	Dopo scissione del recettore, il dominio citosolico del recettore si sposta nel nucleo e regola la trascrizione genica

cAMP, adenosina monofosfato ciclico, cGMP, guanosina monofosfato ciclico.

L'interazione di un ligando con il suo recettore coinvolge gli stessi tre tipi di legami deboli non covalenti tipici delle interazioni enzima-substrato. I *legami ionici* si formano tra gruppi di carica opposta. Nelle interazioni di *van der Waals*, un dipolo transitorio in un atomo genera il dipolo opposto nell'atomo adiacente creando quindi un'interazione elettrostatica. Le *interazioni idrofobiche* avvengono tra gruppi non polari.

Fase 2. **Trasduzione** del messaggio extracellulare in un segnale intracellulare o secondo messaggero. L'interazione con il ligando causa una variazione conformazionale nel recettore che innesca le attività catalitiche intrinseche al recettore o causa l'interazione del recettore con enzimi citoplasmatici o di membrana. La conseguenza finale è la produzione di un **secondo messaggero** o l'attivazione di una cascata catalitica.