

Hormoni koji učestvuju u
homeostazi vode, natrijuma,
kalcijuma i fosfata

Voda i elektroliti su u organizmu raspoređeni u 3 odeljka: intravaskularnom, intersticijalnom i unutarćelijskom.

Nagle promene u sadržaju vode i elektrolita mogu biti životno ugrožavajuće, pa postoje efikasni mehanizmi za njihovo korigovanje.

Hormoni koji učestvuju u regulisanju ravnoteže vode i elektrolita su:

Antidiuretični hormon

Atrijalni natriuretski peptid

Angiotenzin I i II

Aldosteron

Promene u $[Na^+]$ u EĆT aktiviraju mehanizme koji vraćaju nivo vode i Na^+ na fiziološke vrednosti. Aktivira se mehanizam žeđi, što povećava unos vode, ali i sekrecija ADH, koji dovodi do zadržavanja vode na nivou bubrega.

Smanjuje se resorpcije Na^+ u bubrezima usled smanjene produkcije aldosterona (renin-angiotenzin sistem).

Vazokonstriktorno dejstvo angiotenzina II i ADH i vazodilatatorni efekat ANP dovode do promena u veličini ili kapacitetu vaskularnog korita u skladu sa promenama u intravaskularnom volumenu. Time se obezbeđuje odgovarajuća perfuzija tkiva

Zapremina vode i koncentracija elektrolita se održavaju u veoma uskim granicama. Na njih utiču faktori koji održavaju jonske gradijente između pojedinih odeljaka - pasivna difuzija vode i olakšana difuzija jona, kao i njihov aktivni transport.

Konstantnost ćelijskog volumena i osmolaliteta takođe omogućava i osmolalnost ECT, što prevashodno reguliše stepen reapsorpcije vode u bubrezima.

Unos vode je diskontinuiran, što nameće potrebu da u regulisanju volumena telesnih tečnosti učestvuju više mehanizama:

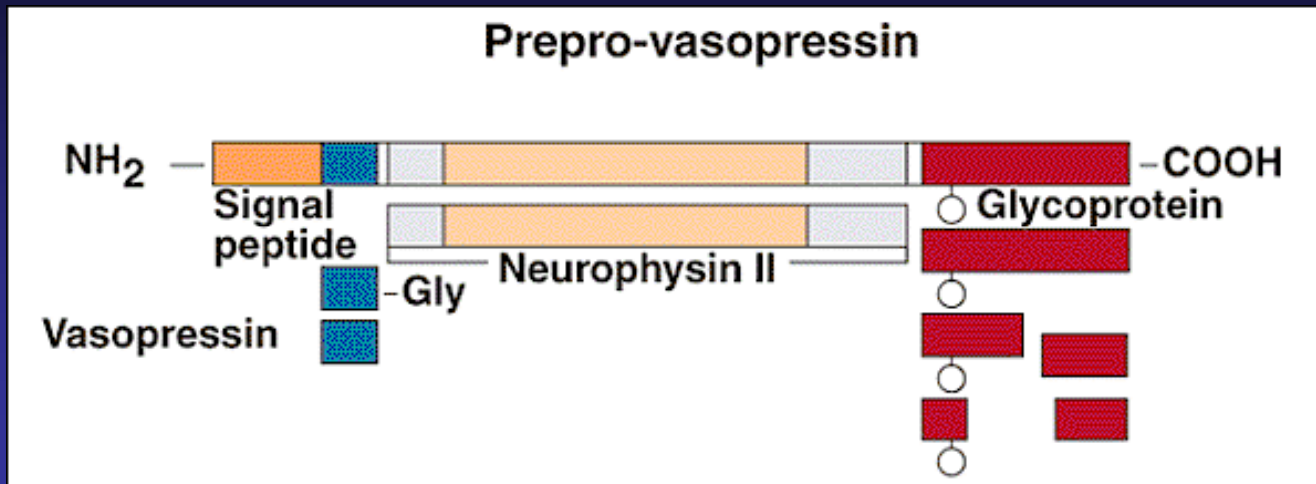
Antidiuretični hormon

Renin-angiotenzin-aldosteron sistem

Atrijalni natriuretski peptidi

Ovi mehanizmi prevashodno deluju na tkivo bubrega i reapsorpciju i izlučivanje ovih materija, čime se održava konstantnim volumen i sadržaj Na^+ u EĆT.

Antidiuretični hormon (arginin-vazopresin)



Peptid koji sadrži 9 AK, nastaje u supraopričkim i paraventrikularnim jedrima hipotalamusa.



Pakuje se u sekretorne granule, i nakon 12-14h stiže do neurohipofize

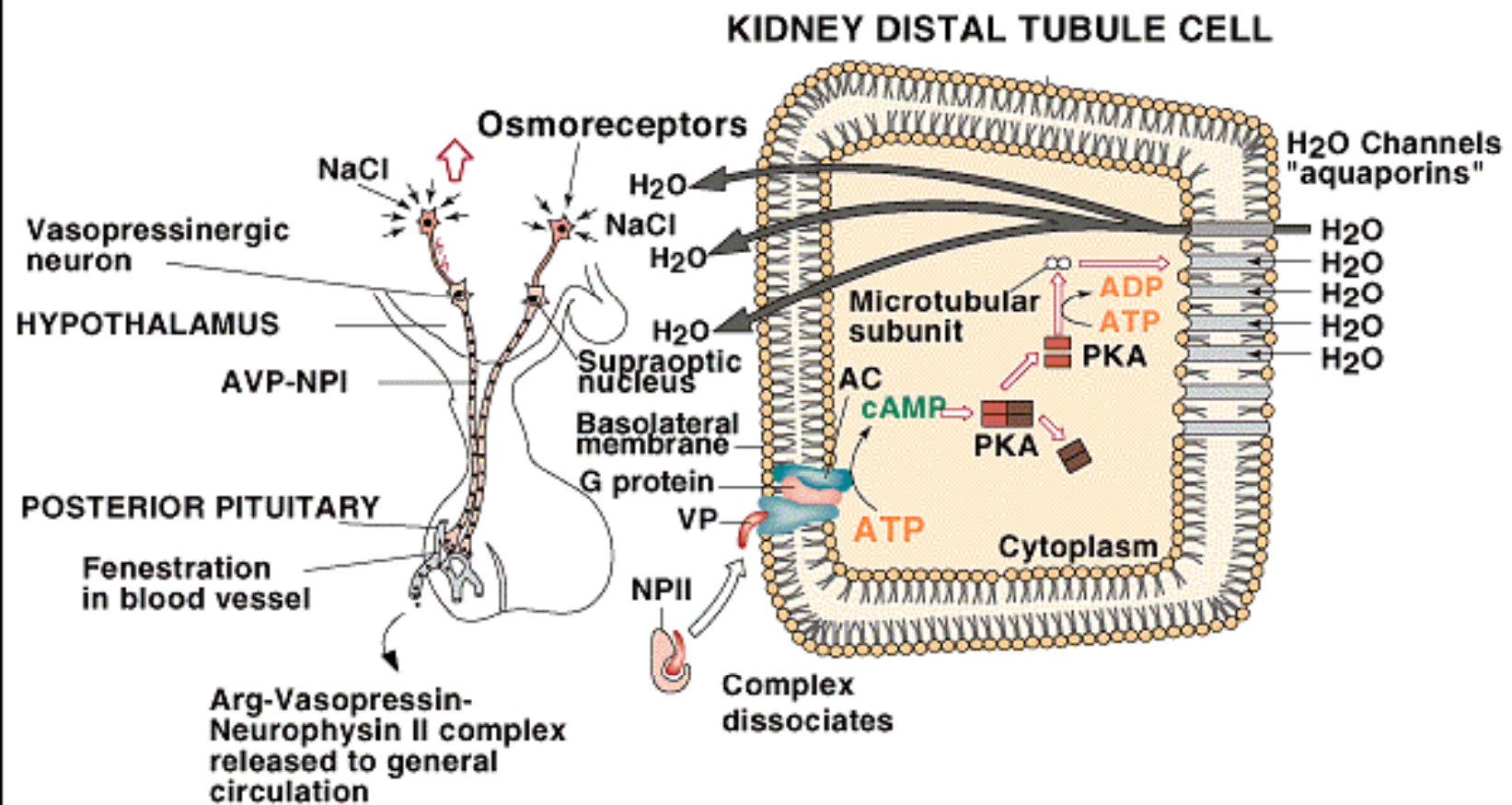
Oslobađa se kao reakcija na nervni impuls Ca^{2+} zavisnom egzocitozom. U plazmi je slobodan

Stimulus za oslobađanje je pre svega promena osmolaliteta plazme (od 282 mOsm/kg na 287 mOsm/kg) što registruju osmoreceptori supraoptičkog i paraventrikularnog jedra, i, verovatno, u okviru sistema karotidne arterije.

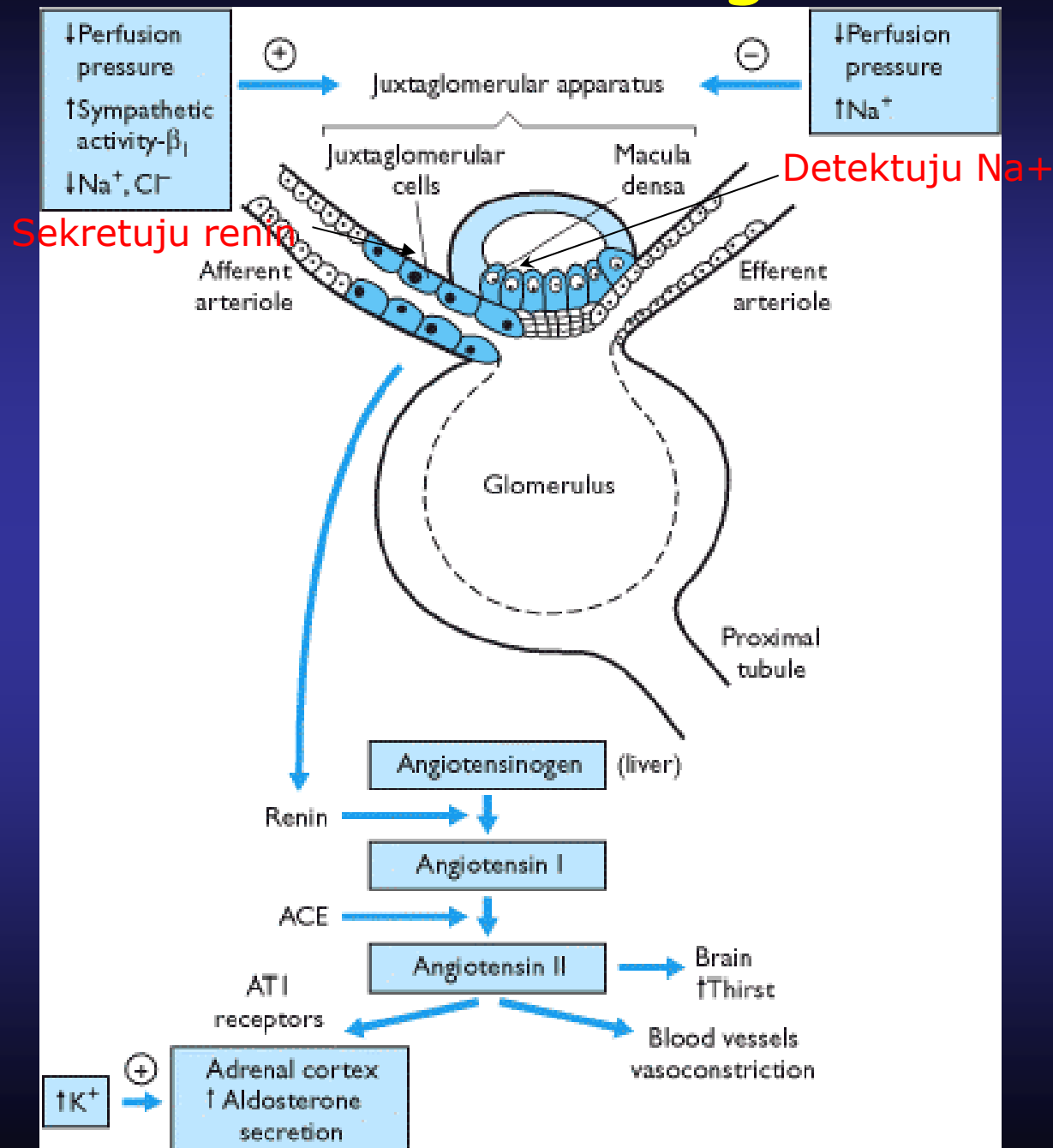
Pored toga, na oslobađanje ADH utiču i hemodinamski faktori – pad srednjeg arterijskog KP ili efektivnog volumena plazme za 10% (baroreceptori u levoj pretkomori i karotidnom sinusu)

- **Vazopresin – antidiuretski hormon (ADH)**, povećava permeabilnost sabirnih i distalnih uvijenih tubula bubrega, omogućavajući reapsorpciju vode. Nervni impulsi koji pokreću oslobađanje ADH nastaju pod uticajem različitih stimulusa. Povećana osmolalnost plazme je primarni fiziološki stimulus. Promene osmolalnosti plazme se detektuju pomoću osmoreceptora koji se nalaze u hipotalamusu i baroreceptora u srcu i drugim delovima vaskularnog sistema. Osim što utiču na sekreciju ADH osmoreceptori takođe uzrokuju i pojavu osećaja žeđi.
- Postoje dva tipa receptora za ADH koji su označeni sa V1 i V2.
 - **V2 se nalaze samo na površini renalnih epitelnih ćelija.** V2 receptor je povezan sa adenilat ciklazom i **cAMP-om**. cAMP i inhibitori fosfodiesteraze izazivaju iste efekte kao i ADH.
 - **Ekstrarenalni receptori za ADH su V1 tipa.** Vezivanje ADH za ove receptore aktivira fosfolipazu C, koja dovodi do stvaranja IP3 i diacilglicerola, povećanja koncentracije intracelularnog kalcijuma i aktivacije protein kinaze C. Glavni efekat stimulacije V1 receptora je vazokonstrikcija i povećanje perifernog vaskularnog otpora (ovo delovanje je osnova za drugi naziv ovog hormona (vazopresin).

Efekat: resorpcija vode u distalnom tubulu bubrega - vezivanje za V_2 receptore, preko cAMP-a i PKA dovodi do povećane sinteze akvaporina 2, koji gradi kanale za vodu. Tako reapsorbovana voda ulazi u EĆT, a potom u cirkulaciju



Sistem renin-angiotenzin-aldosteron



Najvažniji činilac u održanju konstantnosti volumena EĆT i osmolaliteta, kao i dijametra vaskularnog sistema i stepena perfuzije tkiva.

Može registrovati i vrlo diskretne promene u sadržaju vode i Na^+ .

Renin - angiotenzin- aldosteron sistem

Gubitak volumena vanćelijske tečnosti

Smanjeni perfuzioni pritisak aff. Arteriola (uz glomerularne kapilare)

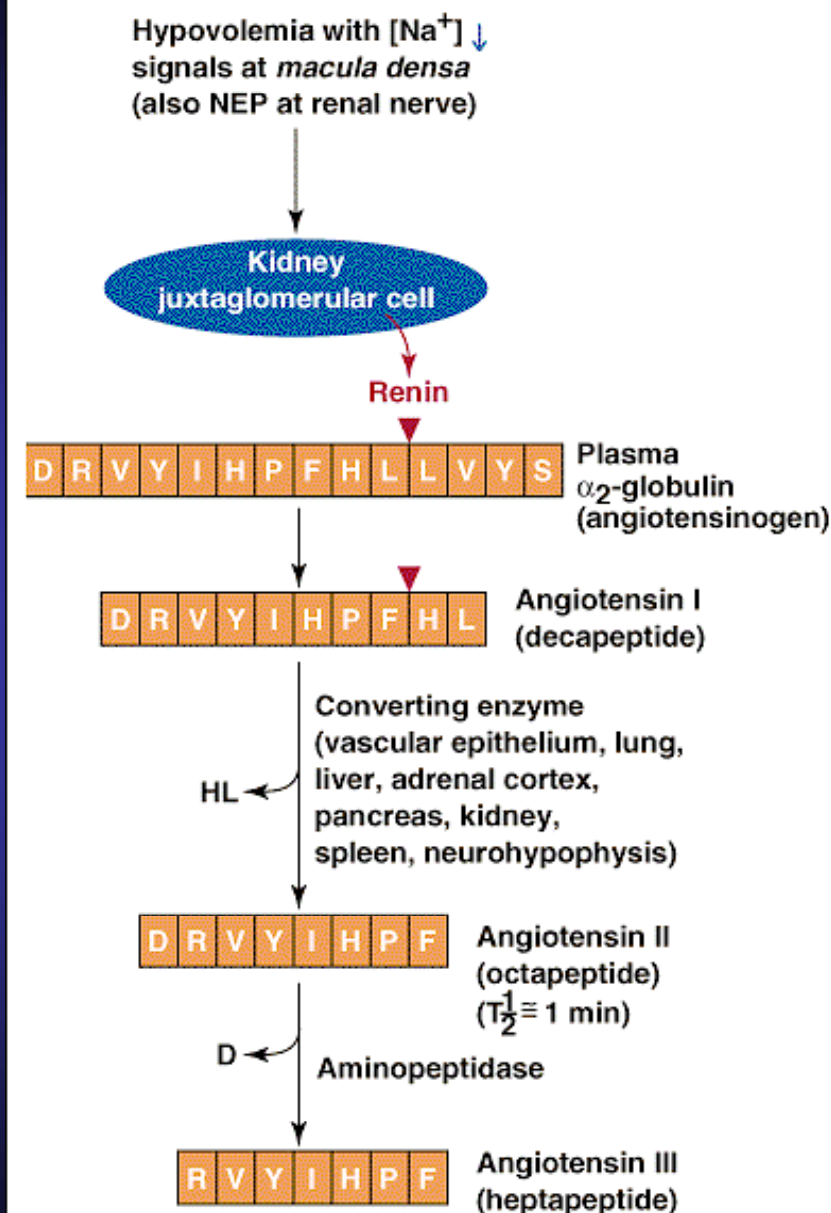
Jukstaglomerularne ćelije- **RENIN** (enzim)

Supstrat za renin je polipeptid **ANGIOTENZINOGEN** koji nastaje u jetri

Nastaje **ANGIOTENZIN I (10AK)** koji je supstrat za angiotenzin konvertujući enzim (**ACE**) u plućima koji ga prevodi u **ANGIOTENZIN II (8AK)**.

ANGIOTENZIN II VRŠI KOREKCIJU VOLUMENA VANĆELIJSKE TEČNOSTI:

1. povećana sekrecija aldosterona (dejstvo na nivou distalnih tubula)
2. vazokonstrikcija
3. direktna resorpcija Na^+ i vode
4. Povećana aktivnost simpatikusa (oslobađanje noradrenalina-vazokostrikcija)



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Angiotenzin II se vezuje za receptore na membrani ćelija u zoni glomerulozi, vaskularnih glatkih mišića i dr.

Aktivacija receptora dovodi do aktivacije fosfolipaze C, i nastaju DAG i IP3, čime se aktiviraju Ca^{2+} kanali na endoplazmatskom retikulumu. DAG i Ca^{2+} aktiviraju PKC, koja fosforiliše ciljne proteine

EFEKTI: sekrecija aldosterona, vazokonstrikcija

RENIN: proteaza, visoko specifična za angiotenzinogen

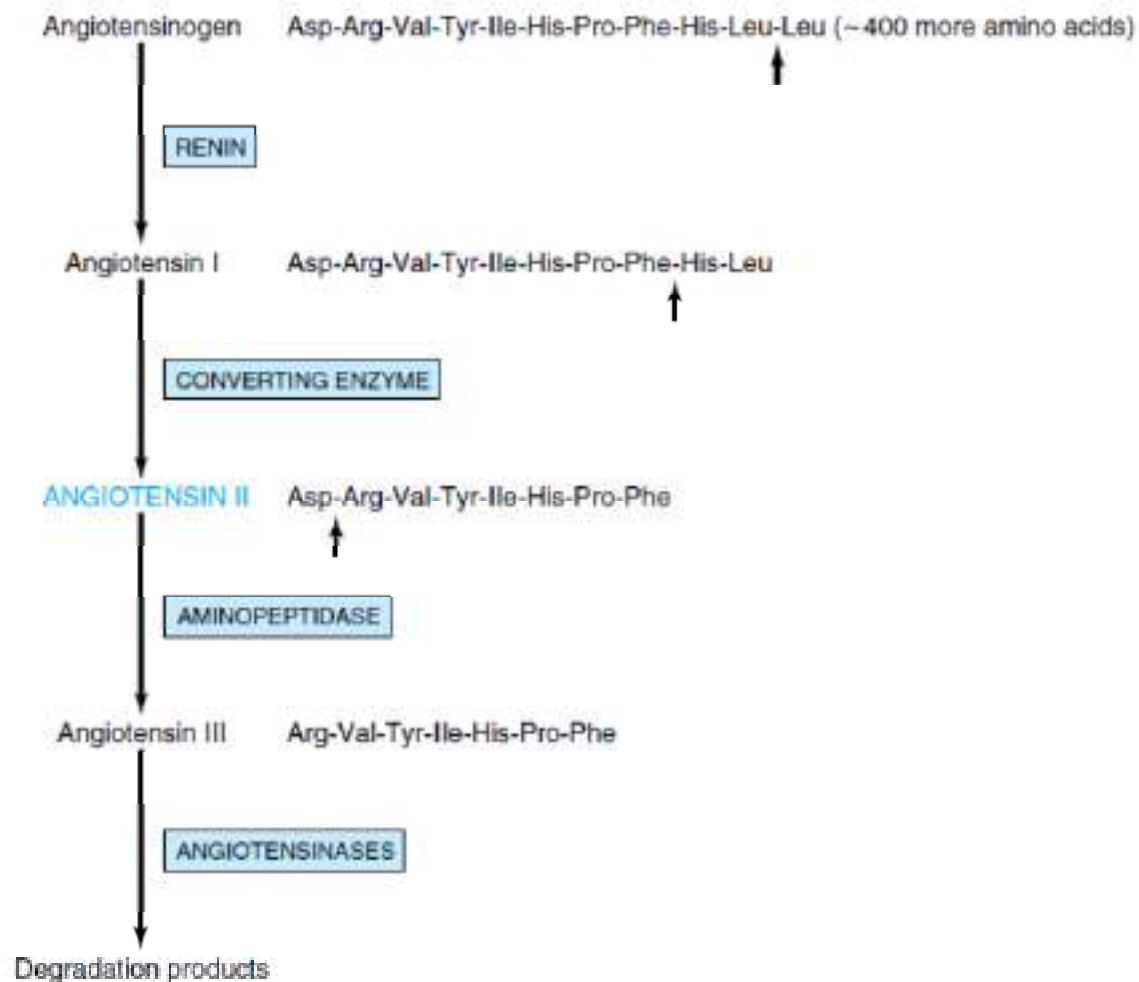
Prorenin-preproenzim

ANGIOTENZINOGEN: α_2 globulin, 14AK sa NH2 kraja sadrži sekvencu angiotenzina I

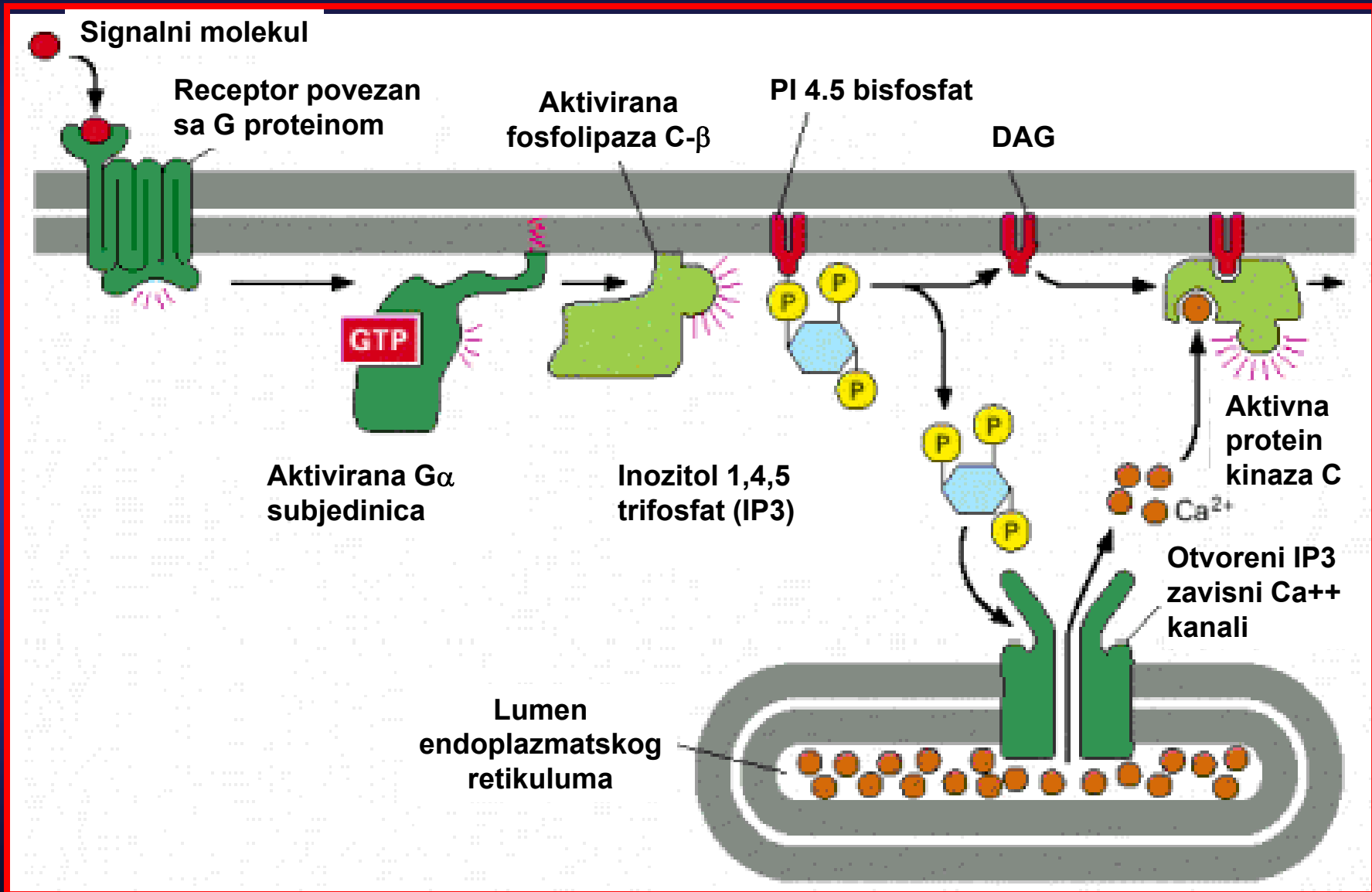
ACE: peptidaza, seče AK sa COOH kraja angiotenzina I. U višoj koncentraciji je prisutan u endotelnim ćelijama plućnih kapilara

ANGIOTENZINI: angiotenzinII se vezuje za receptore na plazma membrani glomeruloznih ćelija, korteksa nadbubrega, glatkih mišićnih ćelija kapilara

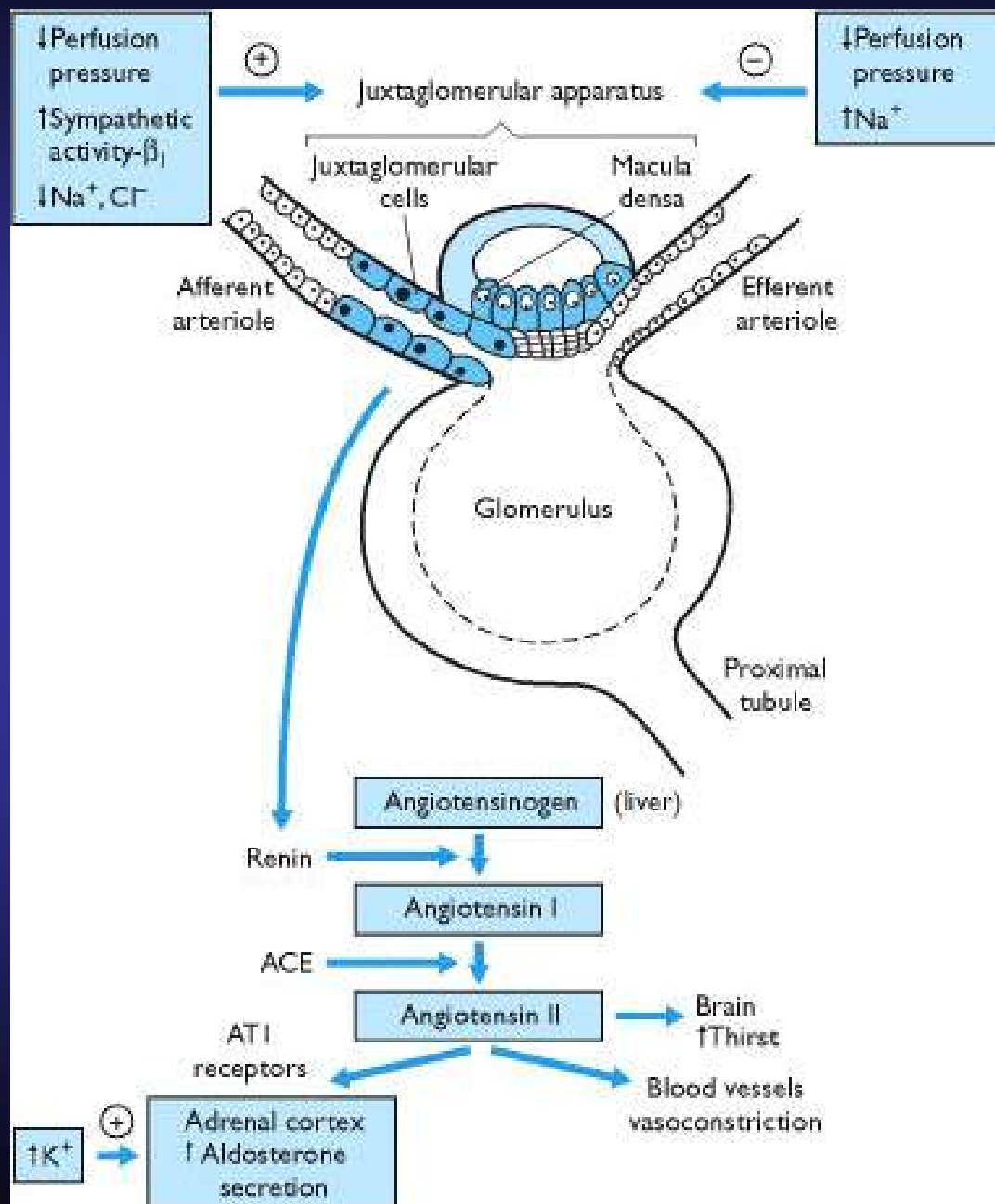
aktivacija- preko G proteina i fosfolipaze C- PIP2

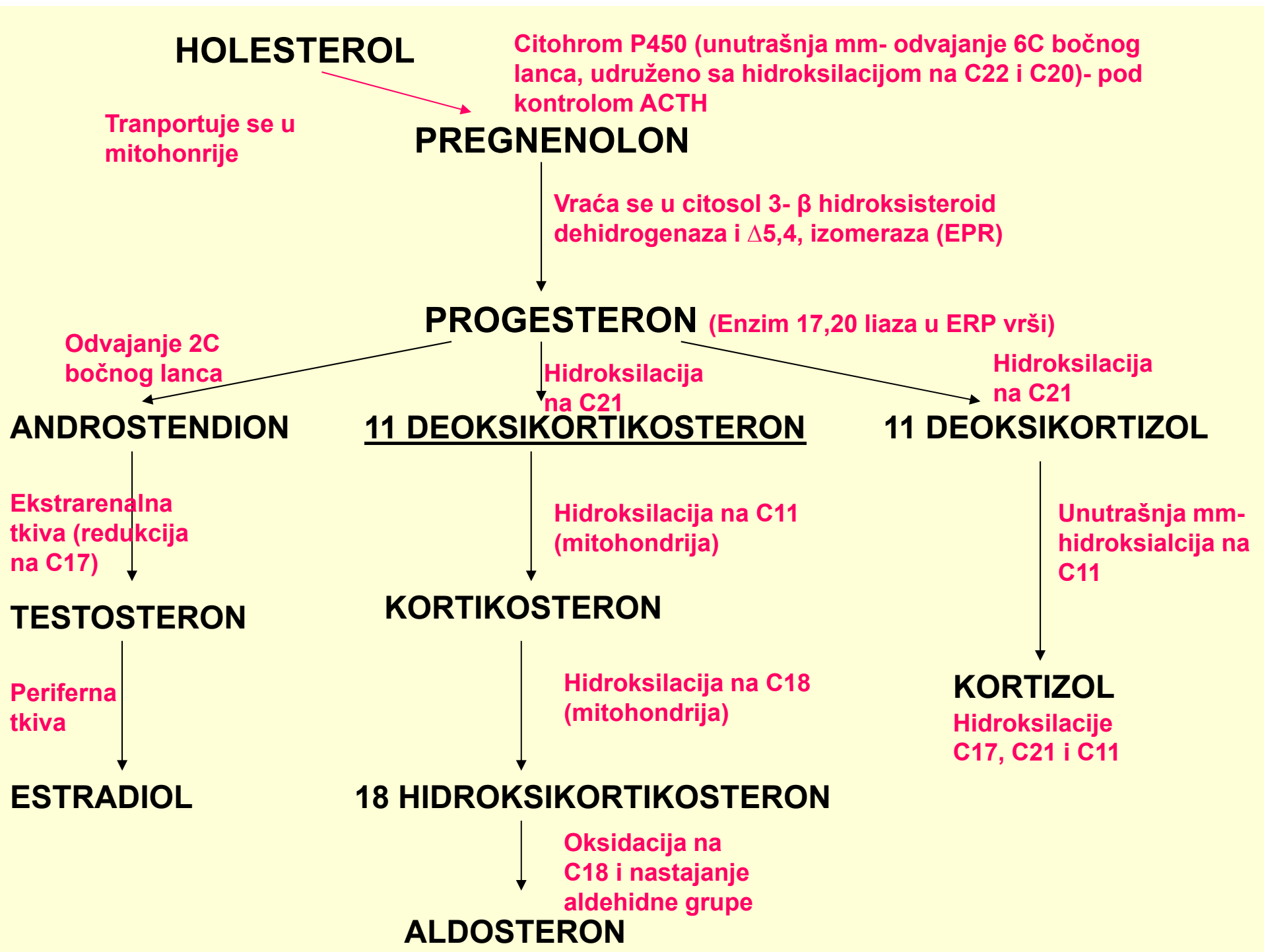


Fosfatidil inozitolna kaskada



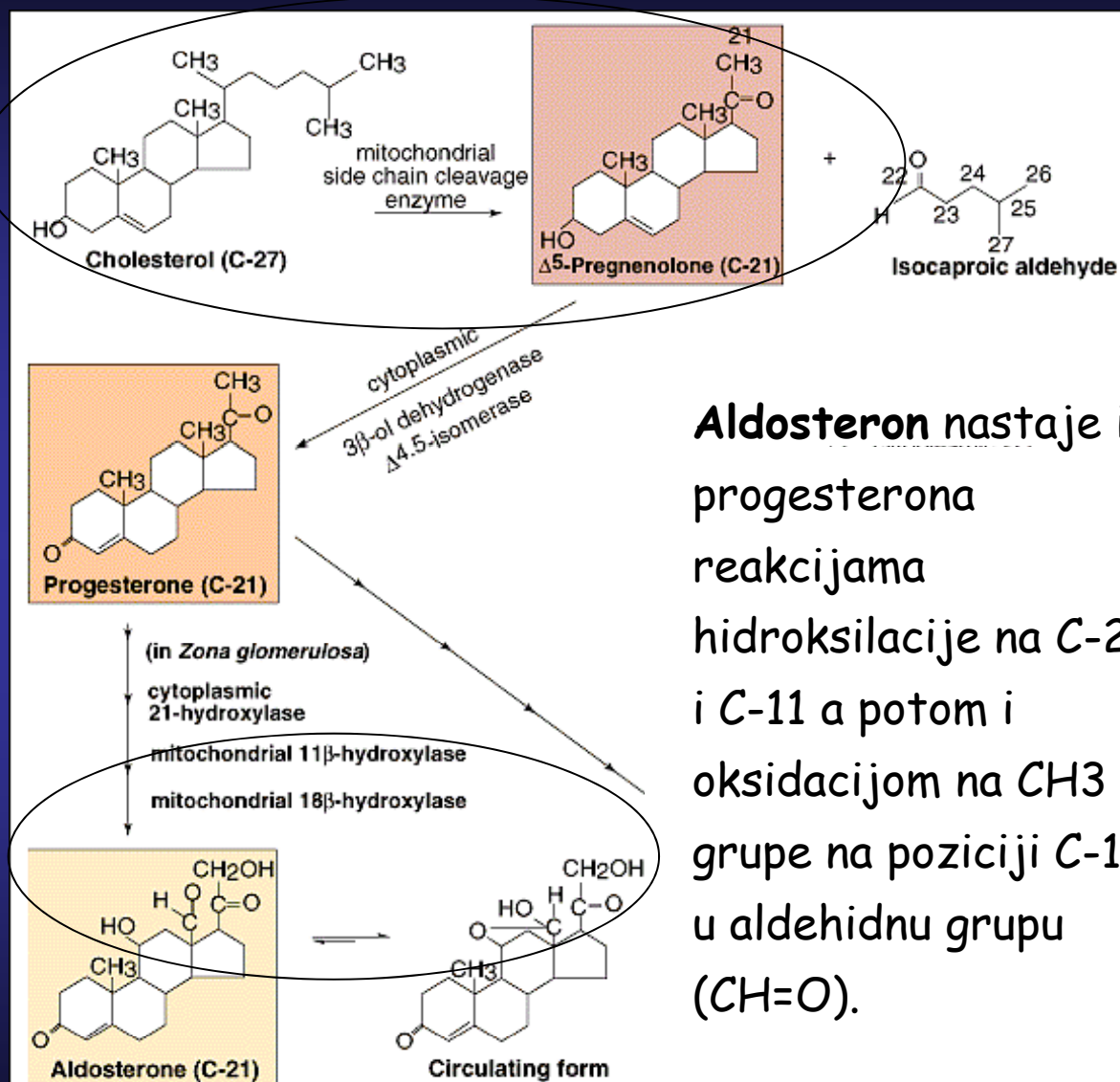
Kontrola sekrecija aldosterona





Aldosteron

Glavni stimulus
za sintezu
aldosterona
jeste
angiotenzin II

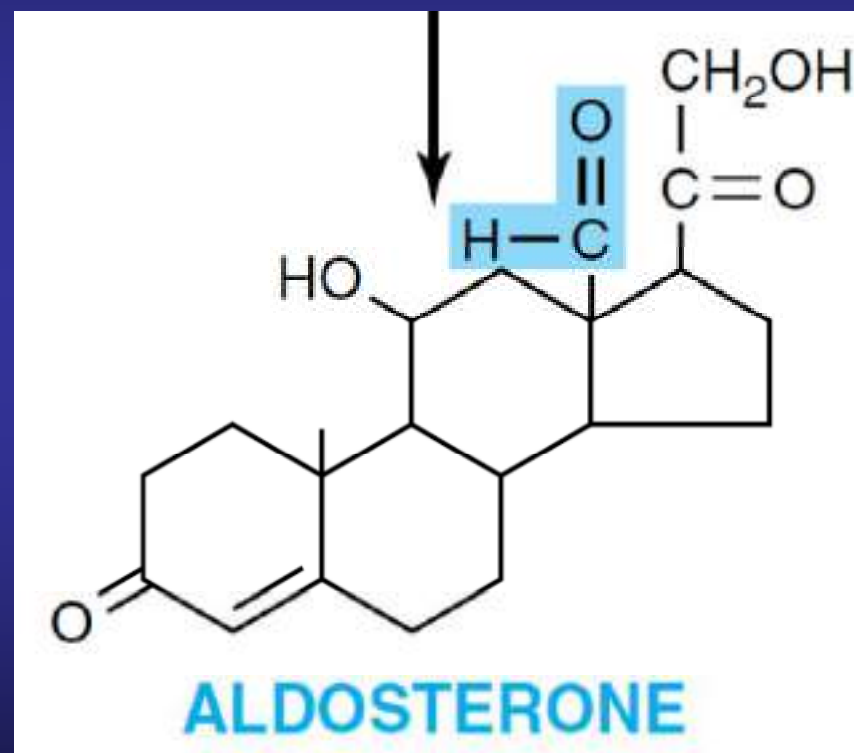


Aldosteron nastaje iz
progesterona
reakcijama
hidroksilacije na C-21
i C-11 a potom i
oksidacijom na CH₃
grupe na poziciji C-18
u aldehydnu grupu
(CH=O).

Strukturne karakteristike biološki aktivnog mineralokortikoida

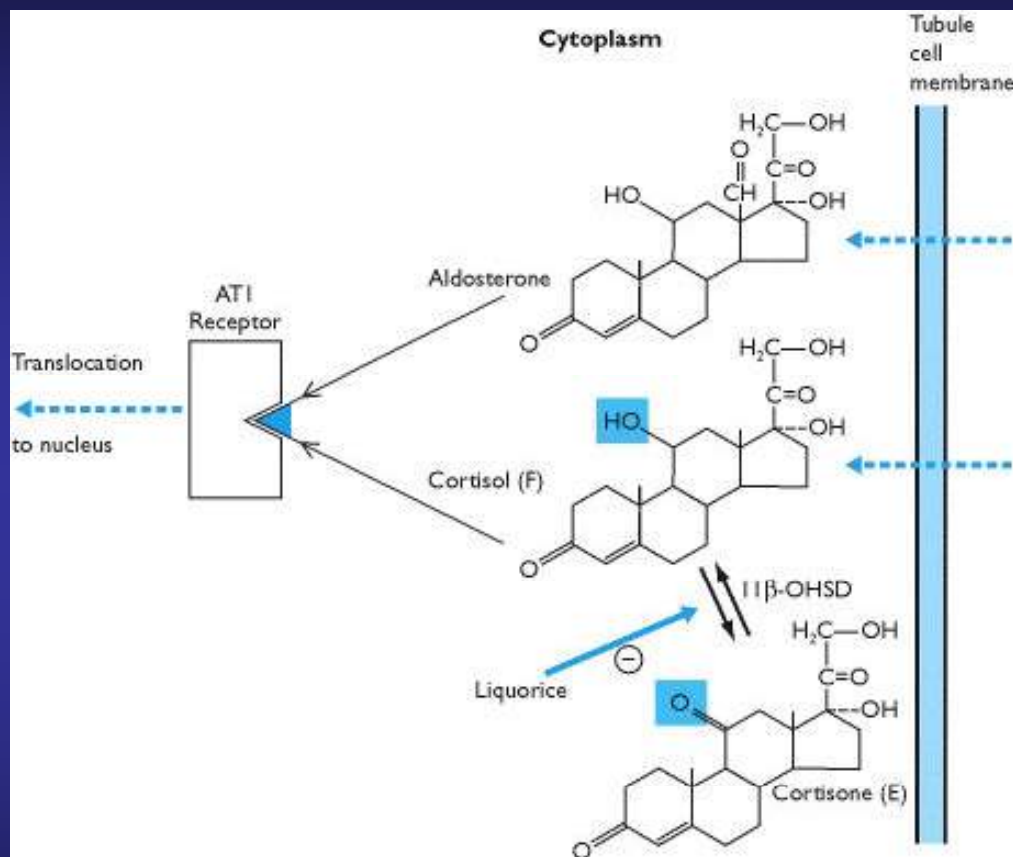
Mnoge empirijske studije su pokazale da je biološku aktivnost mineralokortikoida poseduju jedinjenja koja imaju:

- 21 ugljenikov atom
- Sadrže bočni lanac $-CO-CH_2OH$ vezan za C-17.
- Poseduju dvogubu vezu između C-4 i C-5 (nekada se označava kao Δ^4)
- Poseduju keto grupu ($-C=O$) na C-3 prstena A,
- Za mineralokortikoide je specifična OH grupa na C-21 a prisustvo OH grupe na C-11 i C-17 čije prisustvo smanjuje aktivnost mineralokortikoida



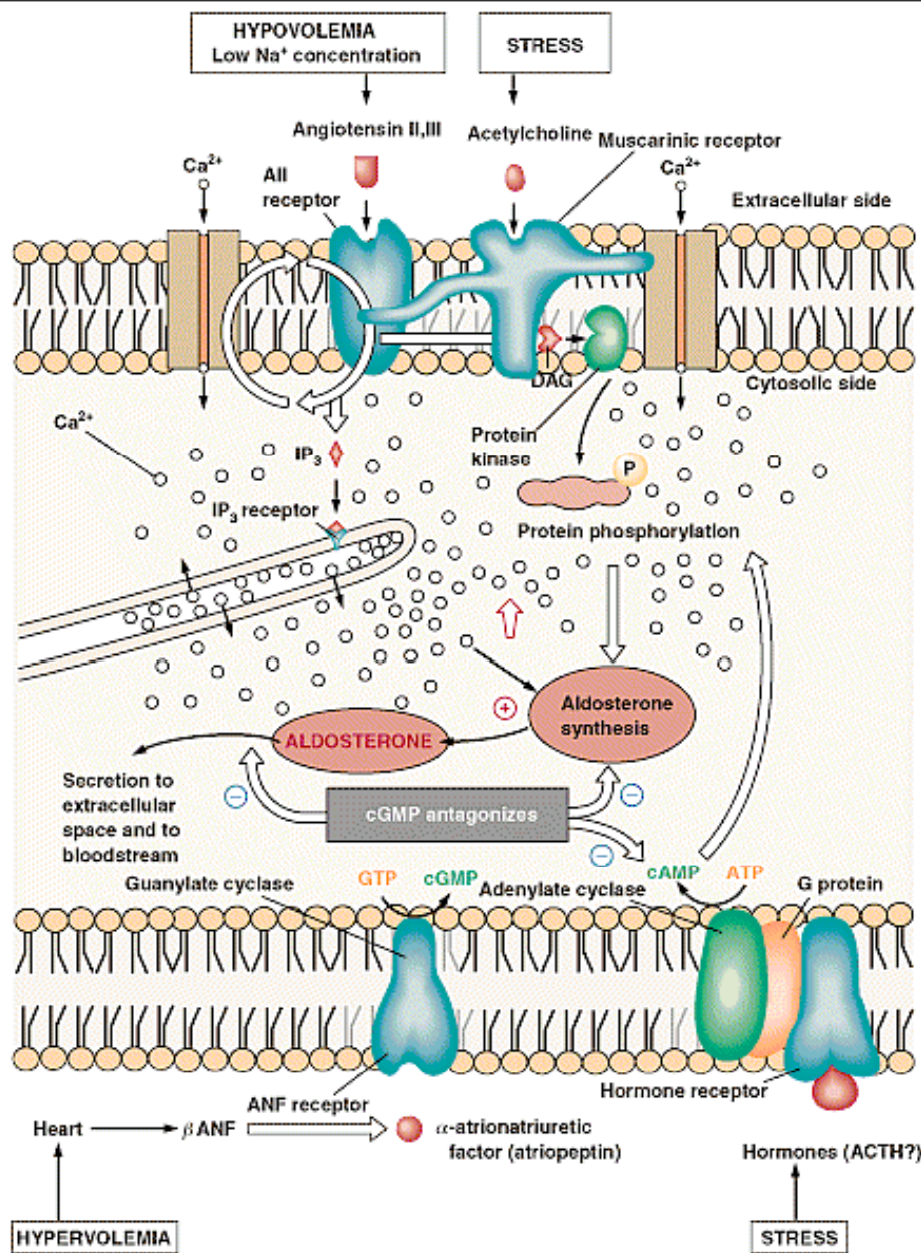
Receptori za kortizol i aldosteron u bubregu

Koncentracija kortizola u serumu je oko 100 puta viša od koncentracije aldosterona ali kortizol normalno ne intereaguje sa aldosteronskim receptorima obzirom da se kortizol brzo metaboliše u inaktivni kortizon delovanjem enzima 11β -hidroksisteroid dehidrogenaze (11β -OHSD) tip 2. (i ako im je afinitet prema receptoru AT1 približno isti).



Kortizol, prisutan u višku, može da saturiše aktivnost 11β -OHSD i tada reaguje sa aldosteronskim receptorom.

Aldosteron



Dejstvom aldosterona dolazi do sinteze proteina koji utiču na kretanje Na⁺, K⁺, Mg²⁺ i vode kroz membrane

ALDOSTERON- Najpotentiji mineralokortikoid

Specifični receptori u citosolu i u nukleusu

U plazmi, nema specifični transportni protein već se vezuje za albumin

Hormon + Re = vezivanje za DNK- aktivacija gena- sinteza proteina koji utiču na fluks Na^+ , K^+ , Mg^{++} i vode. Mogući mehanizmi su:

1. **TEORIJA PERMEAZA**- povećana aktivnost Na^+ kanala na luminalnoj membrani distalnih tubula što vodi povećanju pasivnog protoka Na^+ iz urina u ćelije
2. **ENERGETSKA TEORIJA**- indukuje sintezu enzima (npr. citrat sintaze) koji povećavaju protok kroz ciklus trikarboksilnih kiselina i povećavaju ulaz elektrona u respiratorni lanac, čine se povećava produkcija ATP-a koji potom omogućava povećanje aktivnog transporta jona
3. **Novosintetisani proteini** u ciljnim ćelijama povećavaju aktivnost Na/K pumpe (na bazolateralnoj membrani ćelija distalnih tubula) ili sintezu novih pumpi

Primarni efekat aldosterona je povećana aktivnost Na^+ kanala na luminalnoj membrani a povećana aktivnost Na/K pumpe i produkcija ATP-a su sekundarni efekti

Receptori za aldosteron:

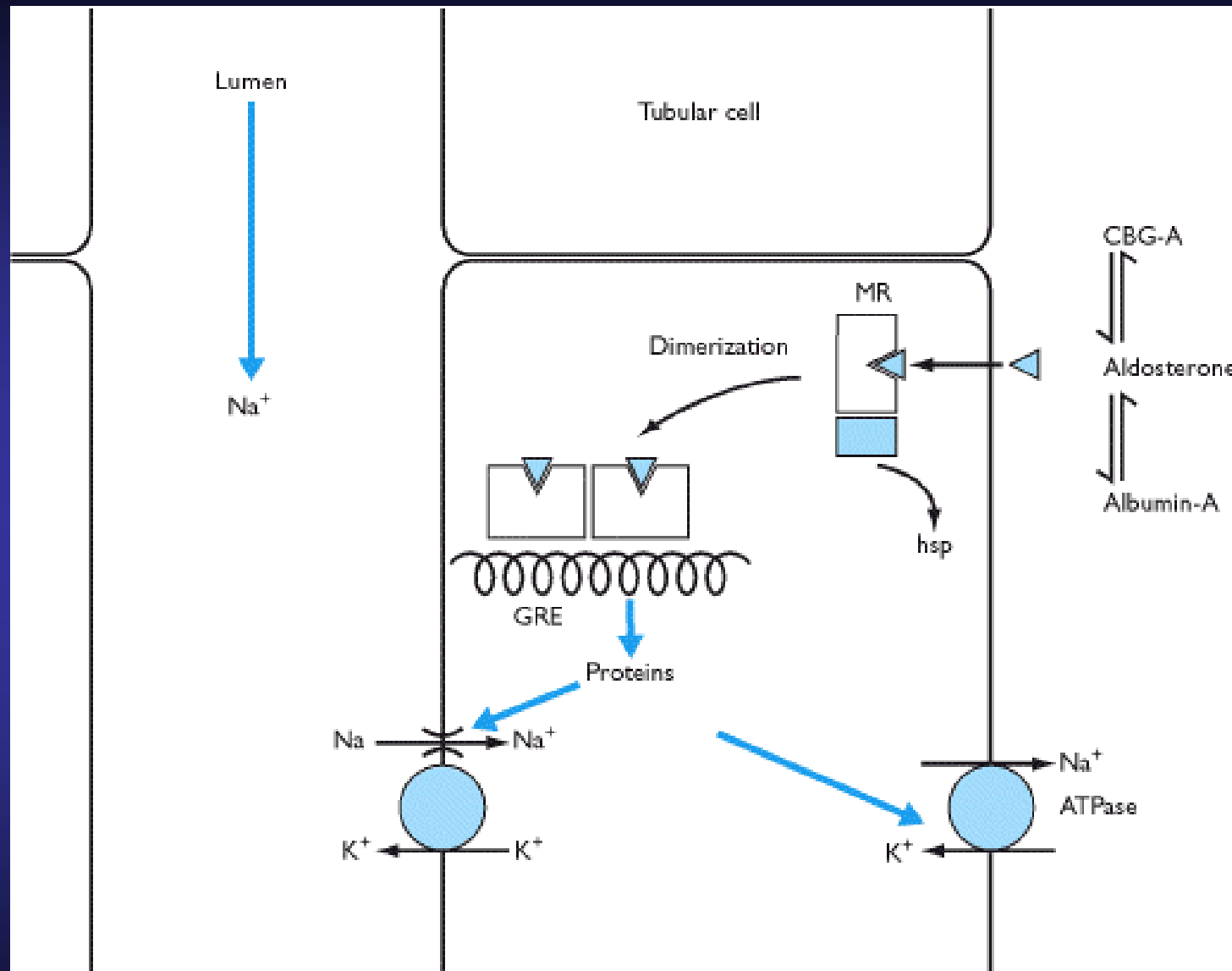
Tip I, II- veliki afinitet

Tip III- manji afinitet

Tip I- za mineralokortikoide

Tip II- za glukokortikoide

Efekti aldosterona u bubregu



Sinteza proteina pod dejstvom aldosterona uključuje faktore koji regulišu luminalne Na⁺ kanale i komponente Na⁺/K⁺ ATPaze.

Kontrola oslobađanja aldosterona iz korteksa nadbubrega

Uloga renin angiotenzin sistema:

Angiotenzin II stimuliše oslobađanja aldosterona. Kada se snizi nivo aldosterona u cirkulaciji, smanjuje se i njegova razgradnja u jetri.

Uloga simpatikusa:

Neuralna kontrola oslobađanja aldosterona obuhvata pritisak karotidne arterije, bol, emocije (anksioznost, bes) i svaku vrstu stresa.

Uloga baroreceptora:

Povećanje pritiska unutar karotidne arterije, snižava nivo aldosterona.

Uloga jukstaglomerularnog aparata:

Uloga koncentracije kalijuma u plazmi:

količina sekretovanog aldosterona se nalazi pod kontrolom nivoa kalijuma u serumu i verovatno je određena senzorima u karotidnoj arteriji.

Uticaj koncentracije natrijuma u plazmi:

Količina aldosterona u plazmi je obrnuto proporcionalna koncentraciji natrijuma koja je određena veličinom osmotskog pritiska. Aldosteron se više povećava kod malog unosa natrijuma.

Uticaj ACTH:

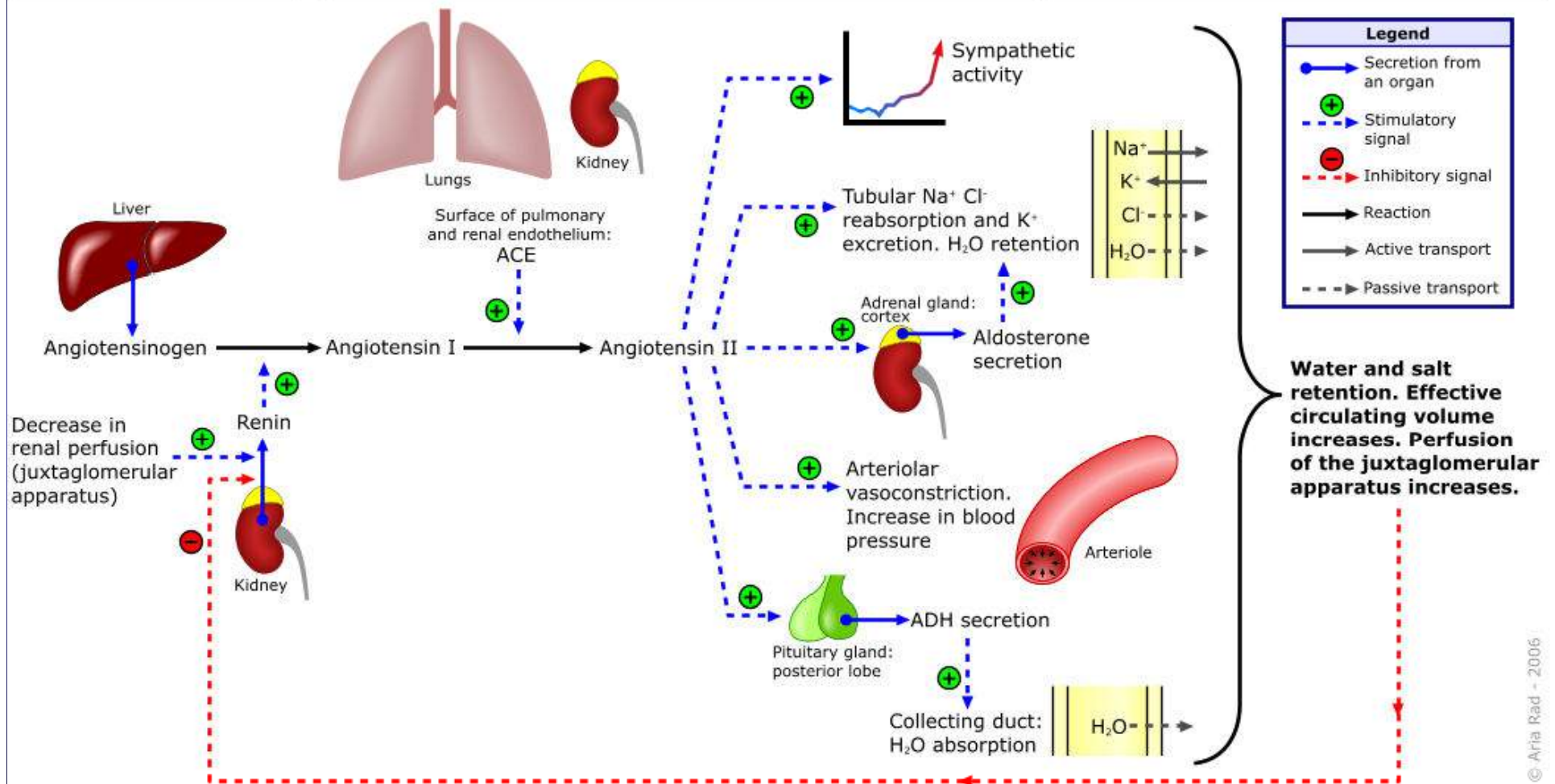
ACTH, peptid hipofize, deluje stimulatивно na sintezu aldosterona, verovatno stimulisanjem sinteze DOC, kao prekursora za sintezu aldosterona.

Koncentracija aldosterona se povećava u uslovima gubitka krvi, trudnoći, endotoksičnom šoku i opekotinama.

Povratna sprega aldosterona:

Ima manje efekta na lučenje aldosterona u odnosu na uticaj koncentracije elektrolita.

Renin-angiotensin-aldosterone system



Poremećaji mineralokortikoida

• **Hipoaldosteronizam.** Uglavnom je udružen sa deficitom glukokortikoida kao posledica insuficijencije nadbubrega. Izolovan hiporeninski hipoaldosteronizam se javlja kod pacijenata sa dijabetes melitusom (oštećena funkcija bubrega). Primenuje se terapija nadoknade, fludrokortizonom.

• **Hiperaldosteronizam.** U 99% slučajeva nastaje kao posledica nekog primarnog uzroka (sekundarni hiperaldosteronizam) a ne kao rezultat povećane sinteze aldosterona. Nekada se javlja u sklopu Cushing sy. Povećana produkcija aldosterona se retko javlja i klinički nije opisana. Javlja se sistemska hipertenzija, hipokalijemija i alkalozna.

Primarni hiperaldosteronizam je najčešće posledica adenoma nadbubrega.

ATRIJALNI NATRIURETSKI PEPTID

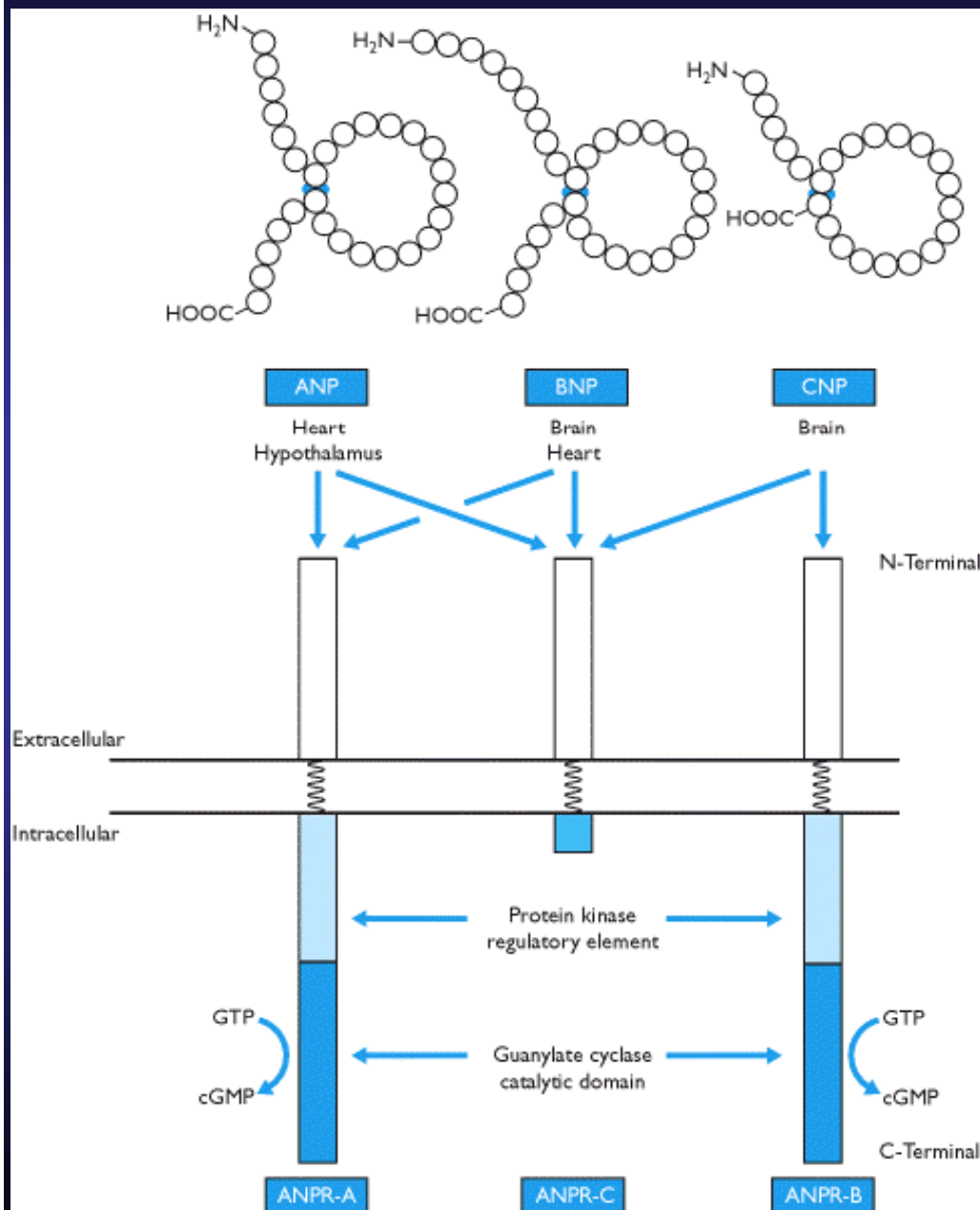
Polipeptid, 28AK

Preprohormon (126AK) u kardiomiocitima desne predkomore se sekretuje kao inaktivni dimer- u plazmi se aktivira u aktivan monomer- uklanja AK sa C i N kraja i nastaje potentniji peptid od 20 AK

Do povećane sekrecije ANP dolazi kod:

1. Povećanja volumena krvi i centralnog venskog pritiska
2. Povećani pritiska, povećana osmolarnost seruma, brzina srčane radnje

Atrijalni natriuretski peptid



Postoje tri natriuretska peptida: atrijalni (ANP), moždani (BNP) i C-tip (CNP). Sastoje se od prstena sa 17 AK sa disulfidnim mostom. Proizvodi su različitih gena.

ANP se sintetiše kao preprohormon u kardiomiocitima desne pretkomore, sekretuje kao dimer i u plazmi prevodi u aktivni monomer.

Signal za sekreciju je povećanje cirkulatornog volumena i centralnog venskog pritiska, potom $\uparrow$ KP, $\uparrow$ osmolaliteta, $\uparrow$ srčane frekvence, i $\uparrow$ kateholamina u plazmi.

Glukokortikoidi takođe $\uparrow$ sintezu ANP.

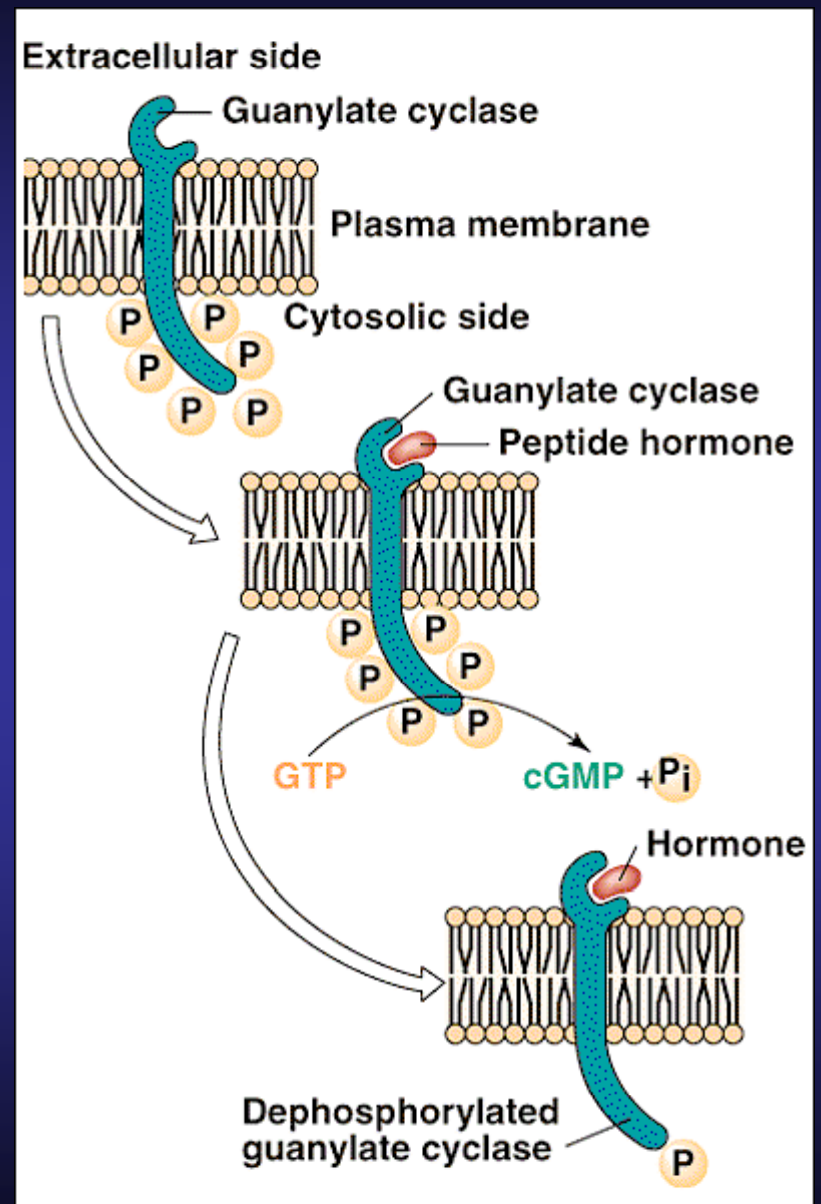
Glavna meta za delovanje ANP je bubrež:

1. Povečava tonus eff. A smanjuje tonus aff. Arteriola
2. Povečava ekskreciju Na (natriureza)
3. Suprimira aktivnost renina (periferna vazodilatacija, natriureza)
4. Direktno na proksimalne tubule- natriureza
5. Indirektno- inhibicijom aktivnost aldosterona
6. Inhibirana sinteza ADH

Model regulacije aktivnosti guanilat ciklaze po vezivanju polipeptidnog hormona

Kao i adenilat ciklaza, i guanilat ciklaza je vezana preko membranskog receptora za specifičan biološki signal.

- Ekstracelularni domen guanilat ciklaze ima ulogu receptora za hormon. On je direktno povezan sa citosolnim domenom preko membranskog domena.
- **Receptor:** Protein sa unutrašnjom guanilat ciklaznom aktivnošću
- Vezivanje ANP za receptor aktivira guanilat ciklazu, katališe stvaranje cGMP koji inhibira sintezu aldosterona direktno i indirektno (smanjeno formiranje cAMP).



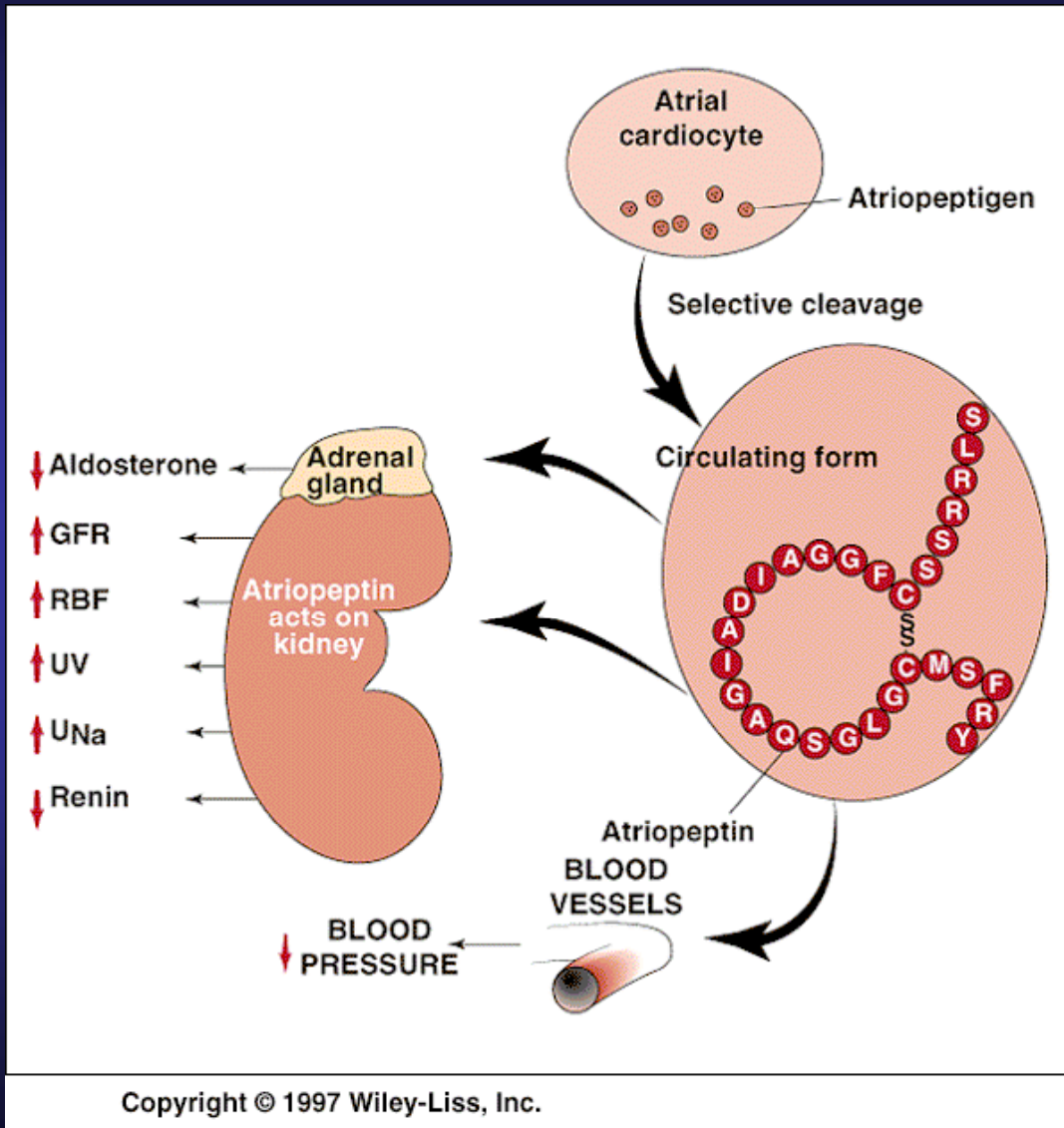
cGMP inhibira sintezu
preformiranog aldosterona

U ciljnim tkivima, cGMP dovodi do
fosforilacije proteina

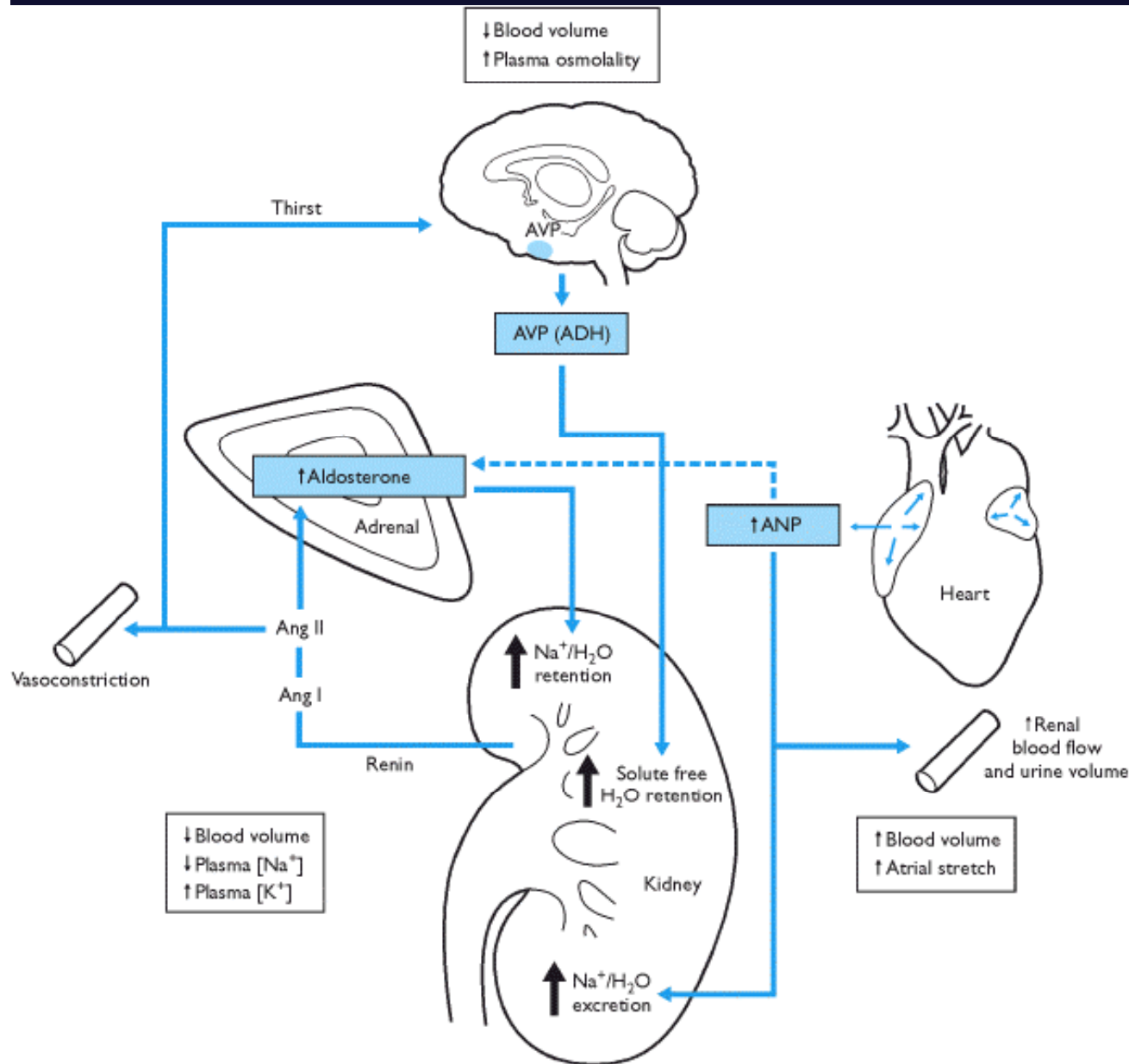
Poznate su 3 klase receptora.
ANPa, ANPb i ANPc

Inaktivacija ANP- razgradnjom
peptida delovanjem enzima
neutralne endopeptidaze (NEP)

**Efekat NAF- povećava
glomerularnu filtraciju
inhibira vazokonstrikciju
inhibira sekreciju renina**



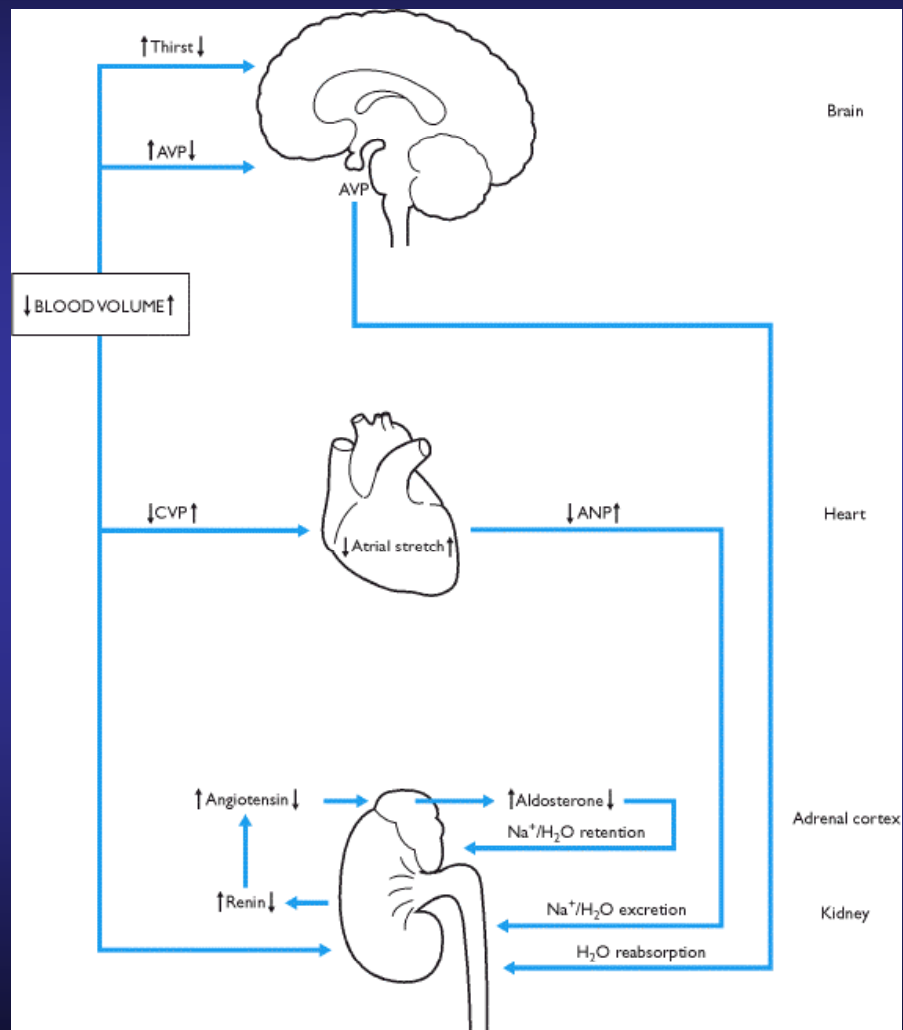
Zajednički efekat aldosterona, AVP-a i ANP-a



Strelice ulevo - $\downarrow$
volumena krvi

Strelice udesno - $\uparrow$
volumena krvi

Udruženo dejstvo ANP-a sa drugim hormonima koji utiču na volumen krvi i krvni pritisak



Sistem **renin/angiotenzin** stimuliše sekreciju aldosterona, i angiotenzin II potencira oslobađanje AVP-a i stimuliše osećaj žeđi.

Sekrecija **vazopresina** je takođe direktno stimulisana osmoreceptorima u hipotalamusu i receptorima zapreminu u kardiovaskularnom sistemu.

ANP se oslobađa kao odgovor na istezanje pretkomora i takođe inhibira sintezu i oslobađanje aldosterona, i inhibira produkciju renina i oslobađanje AVP-a.

Hormoni koji regulišu ravnotežu vode i Na⁺

hormon	najvažniji efekat na metabolizam vode i elektrolita	Tkivo
ADH	↑ resorpcija H ₂ O	Bubreg
aldosteron	↑ resorpcija Na ⁺ ↑ izlučivanje K ⁺	Bubreg, znojne i pljuvačne žlezde, distalni kolon
ANP	↑ izlučivanje Na ⁺ ↑ volumena urina ↓ renin ↓ angiotenzin II ↓ proizvodnja aldosterona	Bubreg Zona glomerulosa
Angiotenzin II	↑ proizvodnja aldosterona ↑ vazokonstrikcija	Zona glomerulosa Otpor perifernih sudova
Angiotenzin III	↑ proizvodnja aldosterona	Zona glomerulosa

BIOHEMIJSKE OSNOVE ORGANIZACIJE ČELIJE

Kompartmentalizacija u ćeliji

Membrane - lipidne strukture koje razdvajaju sadržaj odeljka koji ograničavaju od njegove okoline.

Ćelijska (plazma) membrana odvaja ćeliju od njene okoline.

Organele (jedro, mitohondrije, lizozomi, peroksizomi) - takođe ograničene membranskim sistemom koji razdvaja unutrašnjost organele od citosola. Uloga ovih membrana je da obezbede da se unutar njih prikupe ili koncentruju enzimi ili drugi molekuli koji obezbeđuju odgovarajuće funkcije unutar jednog odeljka u kojem je sredina uglavnom konstantna.

Transporteri i receptori u svakom membranskom sistemu kontrolišu ovu ograničenu sredinu, kao i komunikaciju ćelije ili njenog odeljka sa okolinom.

Svaka od organela je odgovorna za drugačije funkcije i sadrži različite enzime.

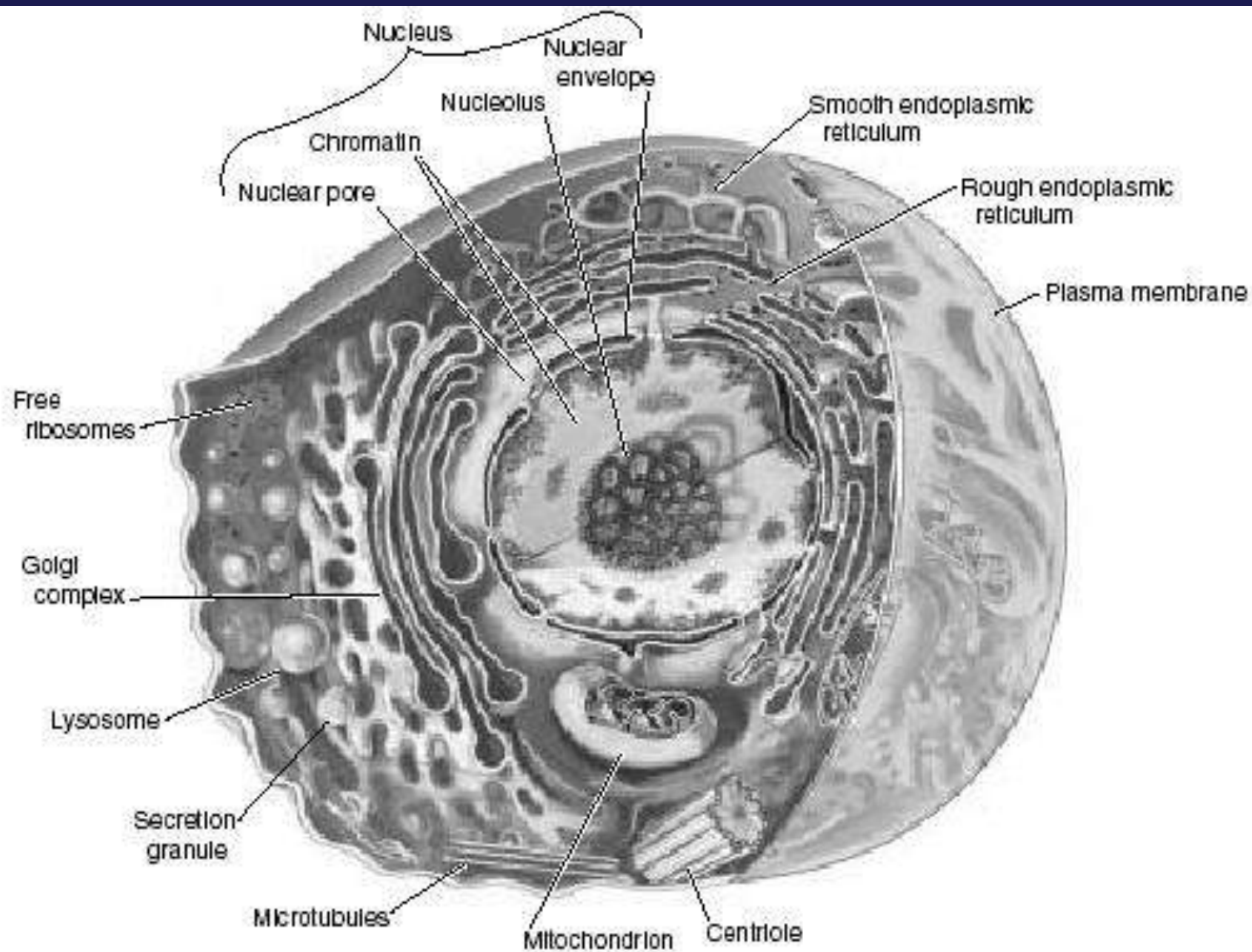
Kompartimentalizacija obezbeđuje da se suprotni metabolički putevi odvijaju u različitim odeljcima. Time se sprečava pojava besmislenih (*futile*) ciklusa.

Ćelije u ljudskom organizmu se međusobno razlikuju. Različiti tipovi ćelija se razlikuju u broju pojedinih organela, ili njihove organele mogu sadržati različite količine nekog enzima, **u skladu sa funkcijom te ćelije.**

Npr., mitohondrije jetre sadrže ključni enzim za sintezu ketonskih tela, ali im nedostaje enzim koji omogućava njihovu razgradnju. U mitohondrijama skeletnih mišića situacija je obrnuta. Tako, enzimski sadržaj organela se može razlikovati između različitih tipova ćelija.

Relativne zapremine koje zapremaju pojedini ćelijski odeljci (hepatocit)

UNUTARĆELIJSKI ODELJAK	PROCENAT UKUPNE ZAPREMINE ĆELIJE
C i t o s o l	5 4
M i t o h o n d r i j e	2 2
C i s t e r n e z r n a s t o g E R	9
C i s t e r n e g l a t k o g E R p l u s	6
c i s t e r n e G o l d ž i a p a r a t a	
J e d r o	6
P e r o k s i z o m i	1
L i z o z o m i	1
E n d o z o m i	1



Membrane organela

Mnogi važni biohemijski procesi se odvijaju u membranama ili na njihovoj površini.

Unutarćelijski membranski sistemi, imaju mnogo značajniju ulogu od pukog povećavanja površine membrana u ćeliji : formiraju ograničene odeljke koji su izdvojeni od citosola, obezbeđujući funkcionalno specijalizovane delove ćelije.

Pošto je lipidni dvosloj nepropusan za hidrofilne supstance, na membranama organela moraju postojati membranski transportni proteini koji su odgovorni za "uvoz" i "izvoz" pojedinih metabolita.

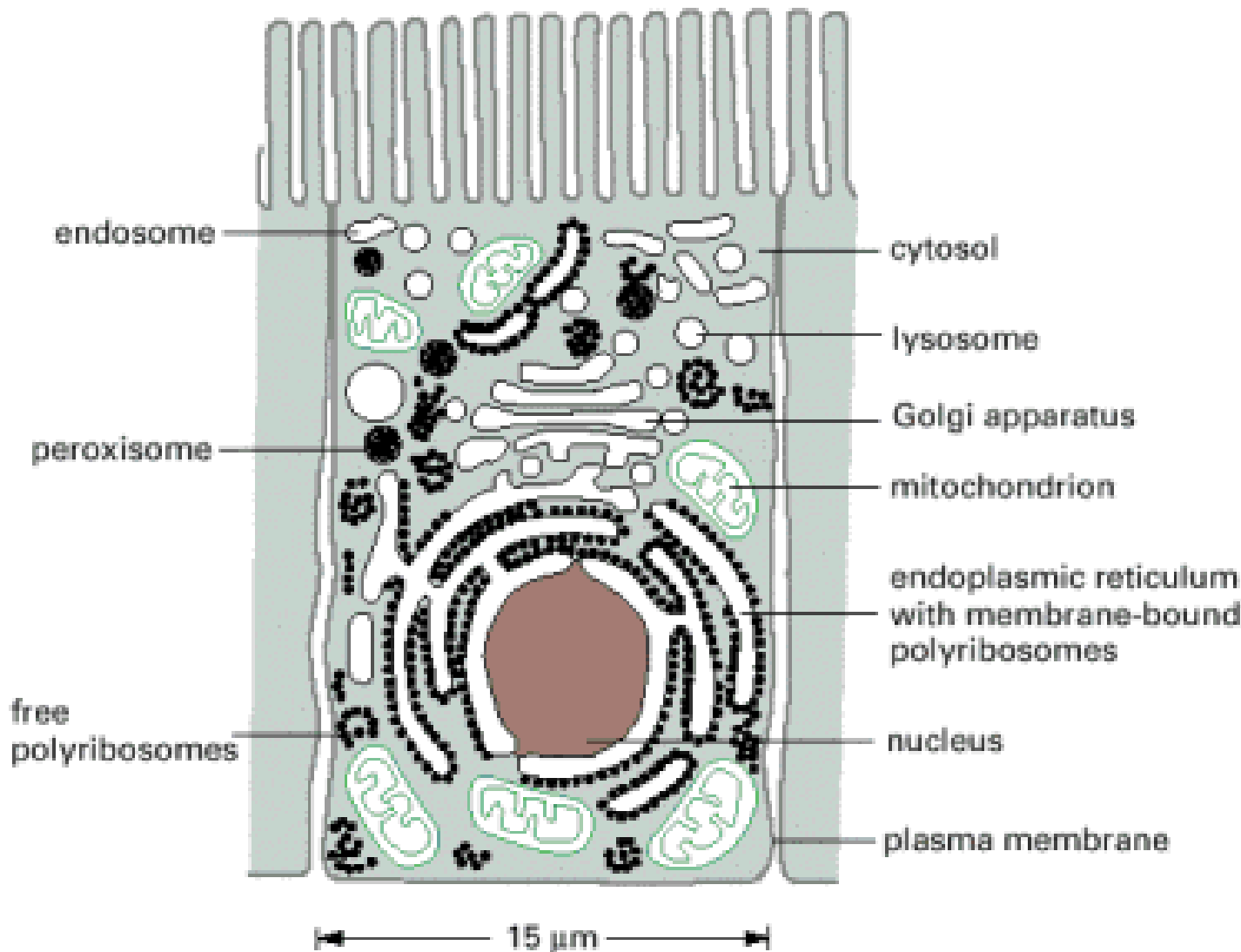
Membrana svake od organela mora takođe imati i mehanizam za "uvoz", i inkorporiranje u organelu, specifičnih proteina koji tu čine organelu jedinstvenom.

Najvažniji unutarćelijski odeljci su:

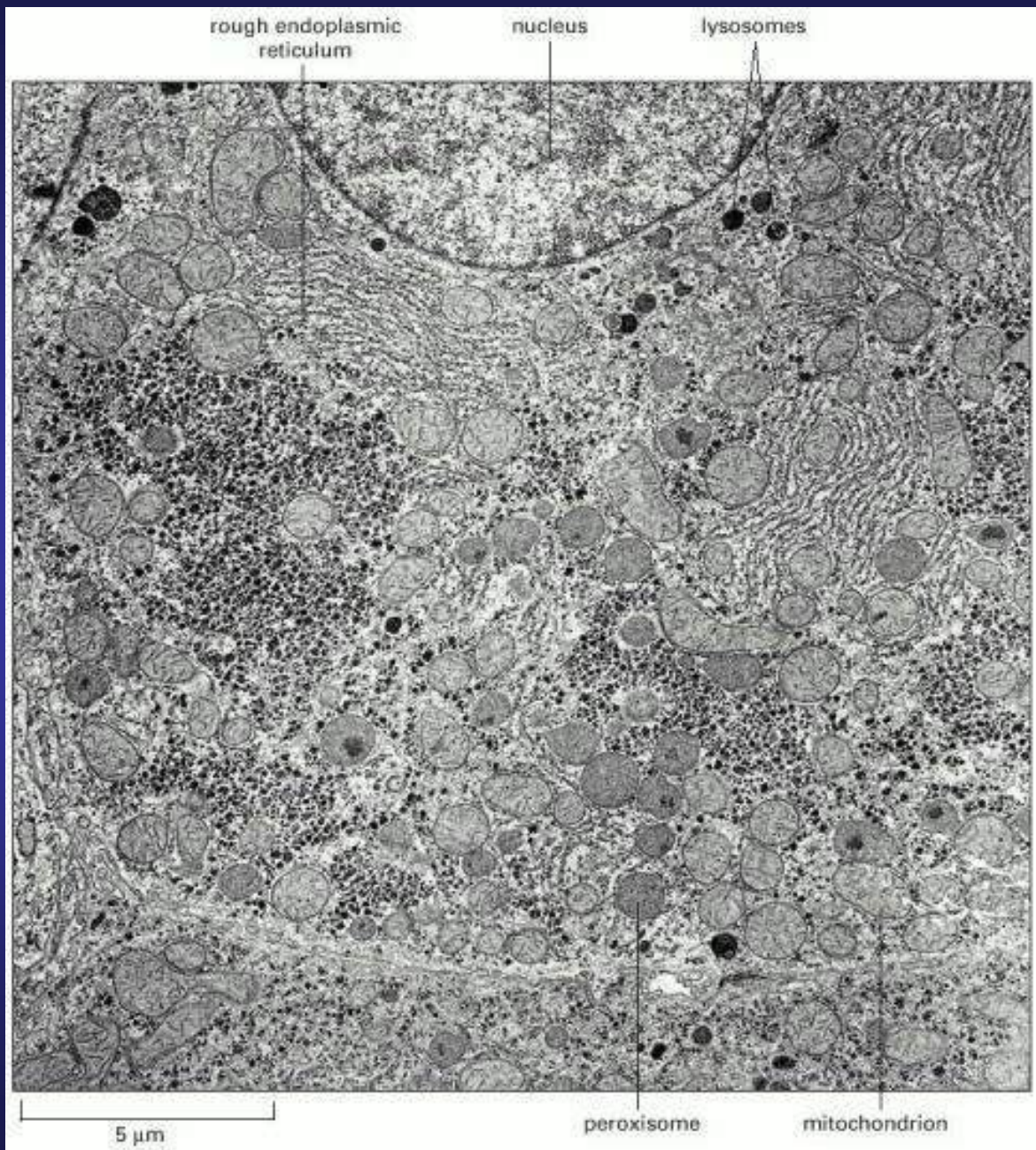
- **Jedro** u kojem je sadržan genetski materijal i mesto je sinteze DNK i RNK
- **Citoplazma** se sastoji od citosola i citoplazmatskih organela.
- **Citosol**, je mesto sinteze i razgradnje proteina. U citosolu se odvijaju u mnoge biohemijske reakcije u kojima se razgrađuju mali molekuli ili sintetišu prekursori za makromolekule).
- Oko 1/2 ukupne površine membrana čini zatvoren lavirint **endoplazmatskog retikuluma (ER)**. Na površini ER se nalaze mnogi ribozomi; oni su uključeni u sintezu solubilnih i integralnih proteina membrane, od kojih je većina namenjena bilo sekreciji van ćelije ili drugim organelama. U ER se takođe sintetiše najvaći deo lipida potrebnih ostatku ćelije i služi za deponovanje Ca^{2+} jona.

- ER šalje mnoge od svojih proteina i lipida u **Goldži aparat**. *Goldži aparat* se sastoji od organizovanih gomilica različitih odeljaka - *Goldži cisterne*; on prihvata lipide i proteine iz ER i upućuje ih na različita odredišta, obično uz istovremenu kovalentnu modifikaciju.
- **Mitohondrije** proizvode najveći deo ATP-a koji ćelije koriste za odvijanje endergoničkih reakcija
- **Lizozomi** sadrže enzime varenja koji razgrađuju ostarele organele kao i makromolekule i čestice unete iz okoline endocitozom. Na putu do lizozoma, endocitovan materijal mora najpre proći kroz niz organela nazvanih **endozomi**. **Peroksizomi** su mali vezikularni odeljci koji sadrže enzime koji učestvuju u različitim reakcijama oksidacije.
- U proseku, odeljci oivičeni membranom zajedno zauzimaju skoro polovinu zapremine ćelije, i u njima je sadržan veliki deo membranskog sistema ćelije. U pogledu površine i mase, ćelijska membrana sačinjava manji deo ukupnog sadržaja membrana ćelije

Organele često zauzimaju karakteristične položaje u citosolu



Na primer, Goldži aparat je često u blizini jedra, a mreža tubula ER se proteže od jedra kroz ceo citosol. Ovi karakteristični rasporedi zavise od interakcija organela sa citoskeletom.



Proteini se mogu pomerati iz jednog u drugi odeljak različitim načinima

Sinteza većine proteina u ćeliji započinje na ribozomima u citosolu. Njihova dalja sudbina zavisi od sekvence AK, koja može sadržati signale za sortiranje koji ih usmeravaju na lokacije van citosola.

Najveći broj proteina ne sadrži ove signale i ostaju u citosolu. Međutim, neki imaju specifične signale za sortiranje koji ih usmeravaju iz citosola u jedro, ER, mitohondrije, peroksizome, ili druge destinacije u ćeliji.

Postoje tri načina kako proteini mogu prelaziti iz jednog u drugi odeljak:

1. Kontrolisani (gated) transport, npr. između citosola i jedra.

Kompleksi jedarne pore deluju kao selektivni "filter" i uz to aktivno transportuju specifične makromolekule ili nakupine makromolekula, (mali molekulu mogu proći slobodnom difuzijom).

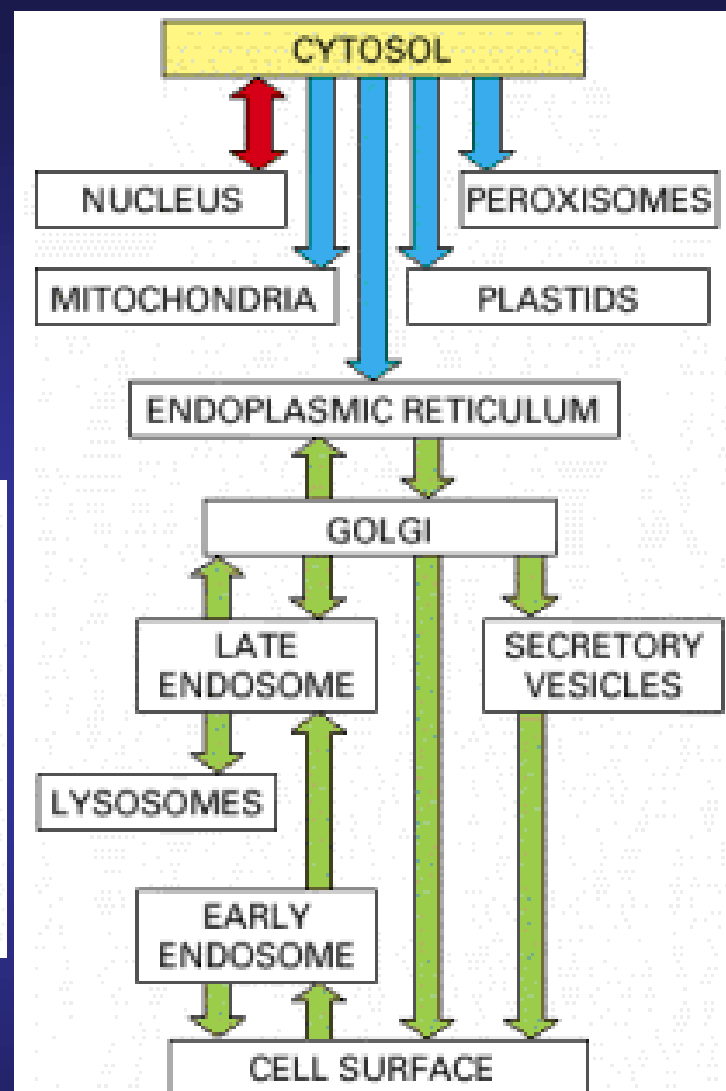
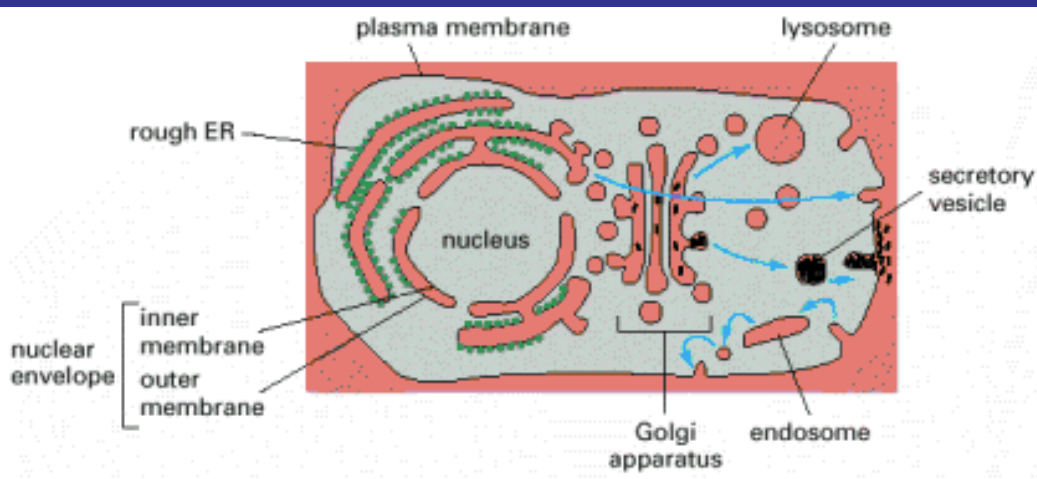
2. Transmembranski transport,

Odgovarajući membranski *translokatori* proteina direktno transportuju specifične proteine kroz membranu iz citosola u drugi odeljak (transport odabranih proteina iz citosola u lumen ER ili iz citosola u mitohondrije.)

3. Vezikularni transport, iz jednog u drugi odeljak (transfer solubilnih proteina iz ER u Goldži aparat)

Svaki od ovih načina transporta proteina obezbeđuju signali za sortiranje na proteinu koji se prenosi. Te signale prepoznaju receptorski proteini.

“Mapa” puteva razmene proteina u ćeliji



KEY: █ = gated transport
█ = transmembrane transport
█ = vesicular transport

Primeri nekih signalnih sekvenci

FUNCTION OF SIGNAL SEQUENCE	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into nucleus	-Pro-Pro- Lys-Lys-Lys-Arg-Lys -Val-
Export from nucleus	- Leu -Ala- Leu -Lys- Leu -Ala-Gly- Leu -Asp- Ile -
Import into mitochondria	⁺ H ₃ N-Met-Leu-Ser-Leu- Arg -Gln-Ser-Ile- Arg -Phe-Phe- Lys -Pro-Ala-Thr- Arg -Thr-Leu-Cys-Ser-Ser- Arg -Tyr-Leu-Leu-
Import into plastid	⁺ H ₃ N-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala- Ser -Leu-Gln- Ser-Ser -Met- Ser-Ser -Leu- Ser -Leu- Ser-Ser -Asn- Ser -Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu- Ser -Pro-Ile- Thr -Leu- Ser -Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Import into peroxisomes	- Ser-Lys-Leu -COO ⁻
Import into ER	⁺ H ₃ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser- Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu -Gln-Leu-Thr- Lys -Cys- Glu -Val-Phe-Gln-
Return to ER	- Lys-Asp-Glu-Leu -COO ⁻
Some characteristic features of the different classes of signal sequences are highlighted in color. Where they are known to be important for the function of the signal sequence, positively charged amino acids are shown in <i>red</i> and negatively charged amino acids are shown in <i>green</i> . Similarly, important hydrophobic amino acids are shown in <i>yellow</i> and hydroxylated amino acids are shown in <i>blue</i> . ⁺ H ₃ N indicates the N-terminus of a protein; COO ⁻ indicates the C-terminus.	

Vezikularni transport kroz plazma membranu

Membrana potpuni okruži česticu i "zatvori" je u vezikulu.

Egzocitoza – vezikularni transport iz ćelije

Endocitoza – vezikularni transport u ćeliju

Fagocitoza – vezikula se formira oko čestice

Pinocitoza – vezikula se formira oko tečnog dela u kojem se nalaze rastvoreni molekuli

Receptorom posredovana endocitoza - nastajanje vezikula pokrivenih klatrinom koje učestvuju u internalizaciji receptora vezanih za membranu koje su sa unutrašnje strane porektivene subjedinicama proteina klatrina (receptori za hormone)

Potocitoza – endocitoza koja se odvija posredstvom kaveola (malih invaginacija membrane), koje su regioni membrane sa jedinstvenim lipidnim i proteinskim sastavom (uključujući protein kaveolin -1) (unos folata u ćeliju)

Biohemijska organizacija ćelijskog jedra

Najveći deo genetskog materijala ćelije je smešten u hromozomima jedra, koji se sastoje od **DNK**, težinski podjednake količine malih, pozitivno naelektrisanih proteina, **histona**, i **ne-histonkih proteina**. Ovaj nukleoproteinski kompleks se zove hromatin.

Jedro je od ostatka ćelija odvojeno **jedarnim omotačem**, koji se sastoji od dve membrane koje su spojene na nivou jedarnih pora. Unutrašnja jedarna membrana sadrži proteine za koje se vezuje hromatin i proteine za koje se vezuje jedarna lamina, koje obezbeđuje potporu membrani. Spoljašnja membrana se nastavlja membranom ER, i na njoj se nalaze ribozomi.

Nukleolus, struktura unutar jedra, je mesto transkripcije i obrade rRNK, i udruživanja ribozoma.

Biohemijski događaji i jedru se odnose pre svega na **sintezu DNK i RNK**: replikacija DNK, reparacija DNK (popravka grešaka), transkripcija DNK itd

Enzimi u jedru su enzimi koji učestvuju u ovim procesima:

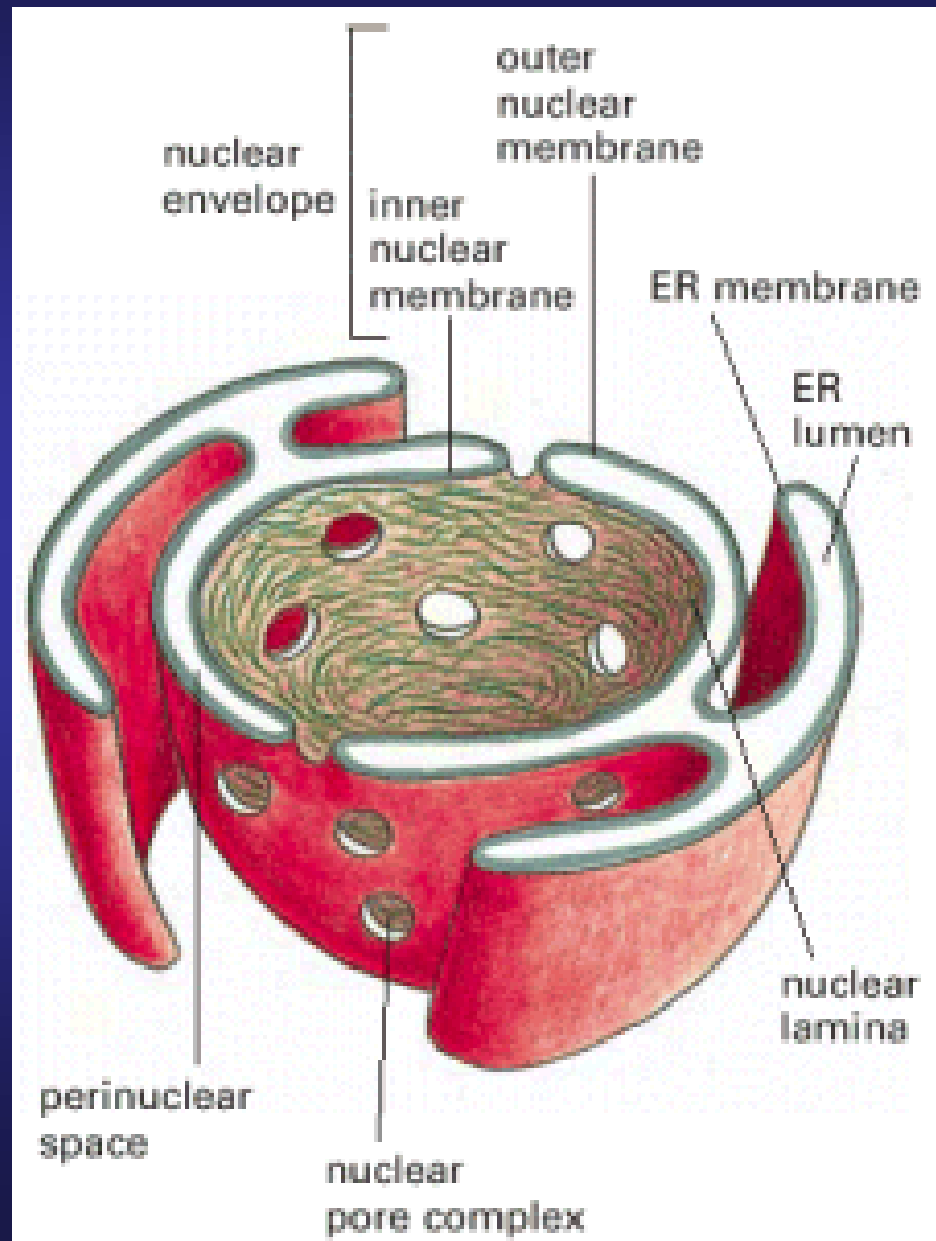
- DNK polimeraze,
- DNK primaza,
- DNK ligaza,
- helikaza,
- fosfodiesteraze,
- restriktione endonukleaze,
- topoizomeraze,
- telomeraze,
- RNK polimeraza I, II i III

Jedarni omotač

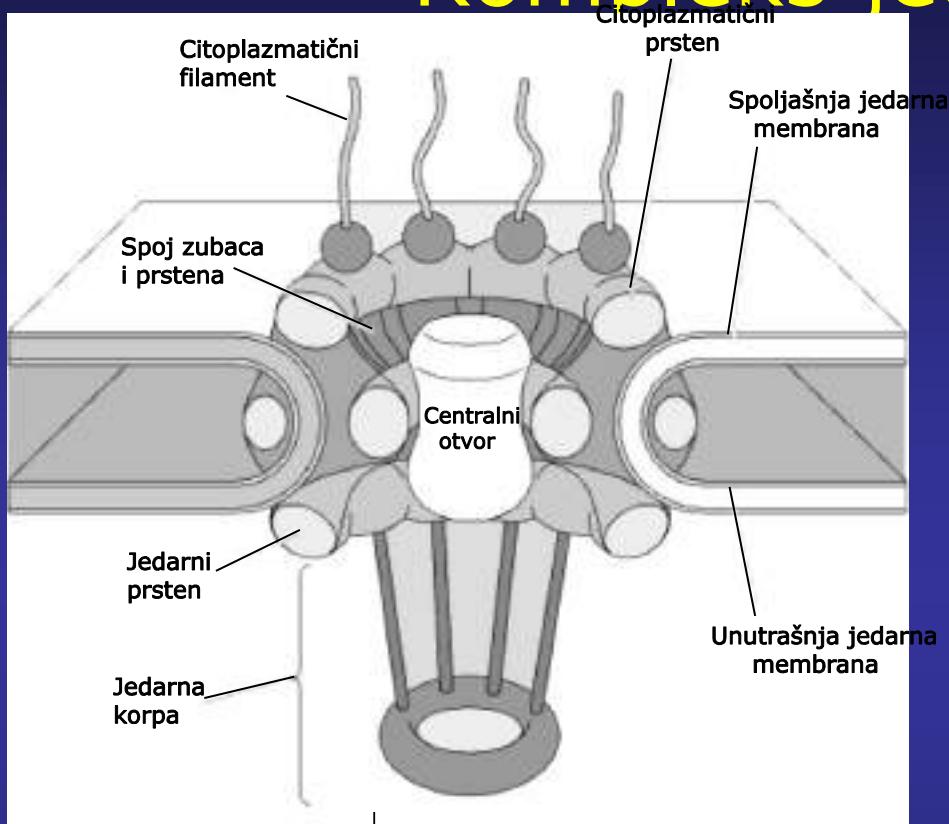
Jedarni omotač se sastoji od unutrašnje i spoljašnje jedarne membrane.

Spoljašnja membrana je u kontinuitetu sa membranom ER membrane, a prostor između membrana je u kontinuitetu sa lumenom ER. Iz jedra se u citosol “**izvoze**” molekuli RNK, i **subjedinice ribozoma**, koje se u jedru udružuju, dok se proteini koji svoju funkciju obavljaju u jedru (**histoni**, **DNK** i **RNK polimeraze** itd.) sintetišu u citosolu i potom “**uvoze**” u jedro.

Ovaj “saobraćaj” između jedra i citosola se obavlja posredstvom kompleksa jedarnih pora, koje obezbeđuju direktan prolaz kroz jedarni omotač.



Kompleks jedarne pore



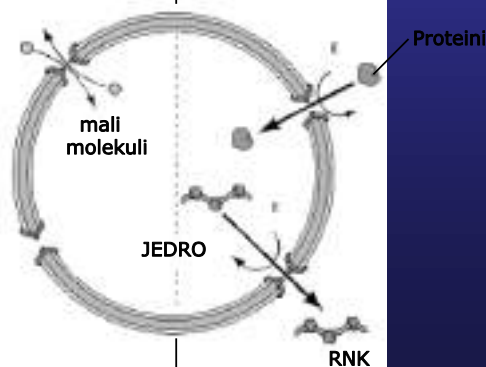
Približno 100 različitih polipeptidnih lanaca kompleksa jedarne pore sačinjava skup 8 zubaca vezanih za dva prstena (citoplazmatski prsten u spoljašnjoj jedarnoj membrani i jedarni prsten kroz unutrašnju membranu) sa transporterskom "blendom" u centru, promera 9 nm.

Mali molekuli, joni, i proteini mase manje od 50 kDa pasivno difunduju kroz poru u oba pravca.

RNK i većina proteina su suviše veliki za difuziju, i prenose se aktivnim transportom u procesu koji **zahteva energiju**, **selektivan** je za transportovani molekul, **jednosmeran** je, i podleže **regulaciji**.

PASIVNA
DIFUZIJA

USMEREN TRANSPORT
KOJI ZAHTEVA ENERGIJU



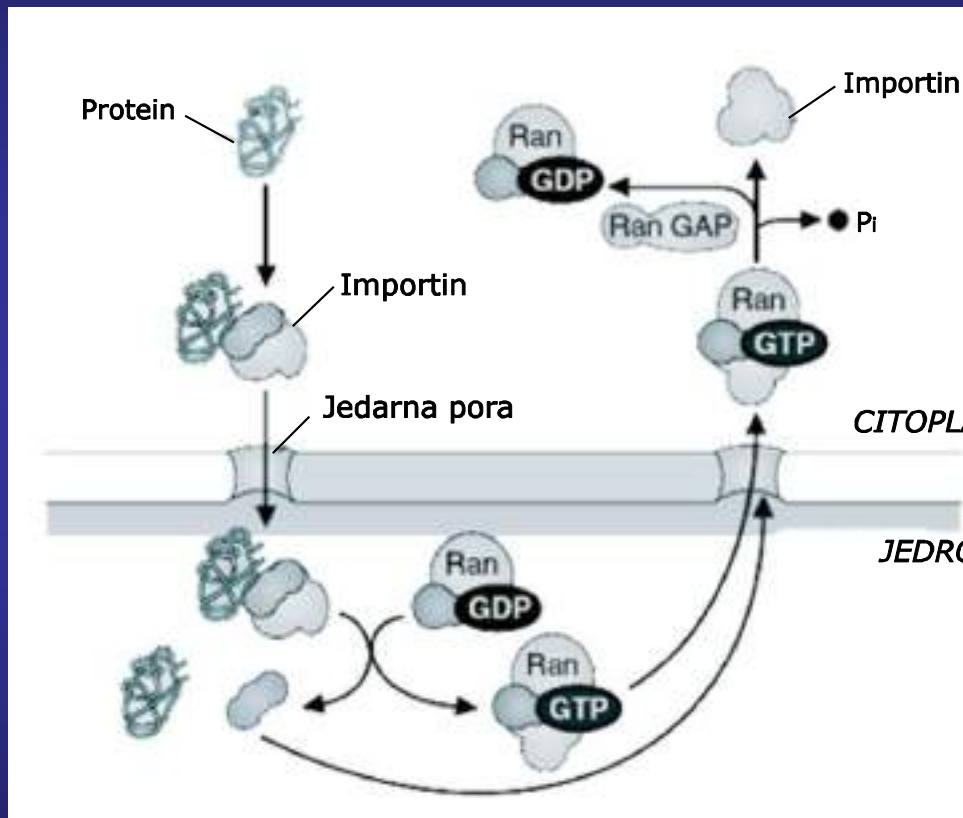
Specifičnost i usmerenost putovanja kroz jedarnu poru (uvoz naspram izvoza) određuju vezujući proteini (**importini** odnosno **eksportini**), uz učešće malog GTP proteina nazvanog **Ran**, i lokalizacijom regulatornog proteina, **RanGAP** (GTPaza aktivirajući protein) samo na citoplazmatskoj strani).

Proteini koji se transportuju **u jedro** imaju tzv. **signal za smeštanje u jedro** (*nuclear localization signal, NLS*) koji dovodi da se oni vezuju za jednu od subjedinica citosolnih proteina nazvanih importini. Druga subjedinica molekula importina se vezuju za citoplazmatske filamente vezane za spoljašnji prsten jedarne pore.

Kad kompleks importin-protein uđe u jedro, mali GTP-vezujući protein Ran se vezuje za subjedinicu importina, što uzrokuje oslobađanje transportovanog proteina u jedro. Ran-importin kompleks se vraća u citosol, gde Ran-GAP (GTPaza aktivirajući protein) aktivira hidrolizu vezanog GTP-a u GDP i fosfat. Energija oslobođena hidrolizom GTP-a menja konformaciju Ran proteina i kompleks se razdvaja. Slobodni importin može da veže sledeći protein.

Uvoz u jedro

ULAZAK PROTEINA U JEDRO



Proteini sa signalom za lokalizovanje u jedro vezuju se za importine, koji ih prenose kroz jedarnu poru u jedro. Monomerni G protein Ran za koji je vezan GTP vezuje se za jednu od subjedinica importina. Ovo dovodi do disocijacije subjedinica importina i oslobađanja unetog proteina.

Ran-importin kompleks izlazi kroz jedarnu poru. Na citoplasmatskoj strani, RanGAP (GTP-aza aktivirajući protein) aktivira hidrolizu GTP-a u GDP, što dovodi do disocijacije kompleksa. RanGDP se potom vraća u jedro, gde pomoćni protein aktivira disocijaciju GDP-a i asocijaciju GTP-a.

Superfamilija malih G proteina

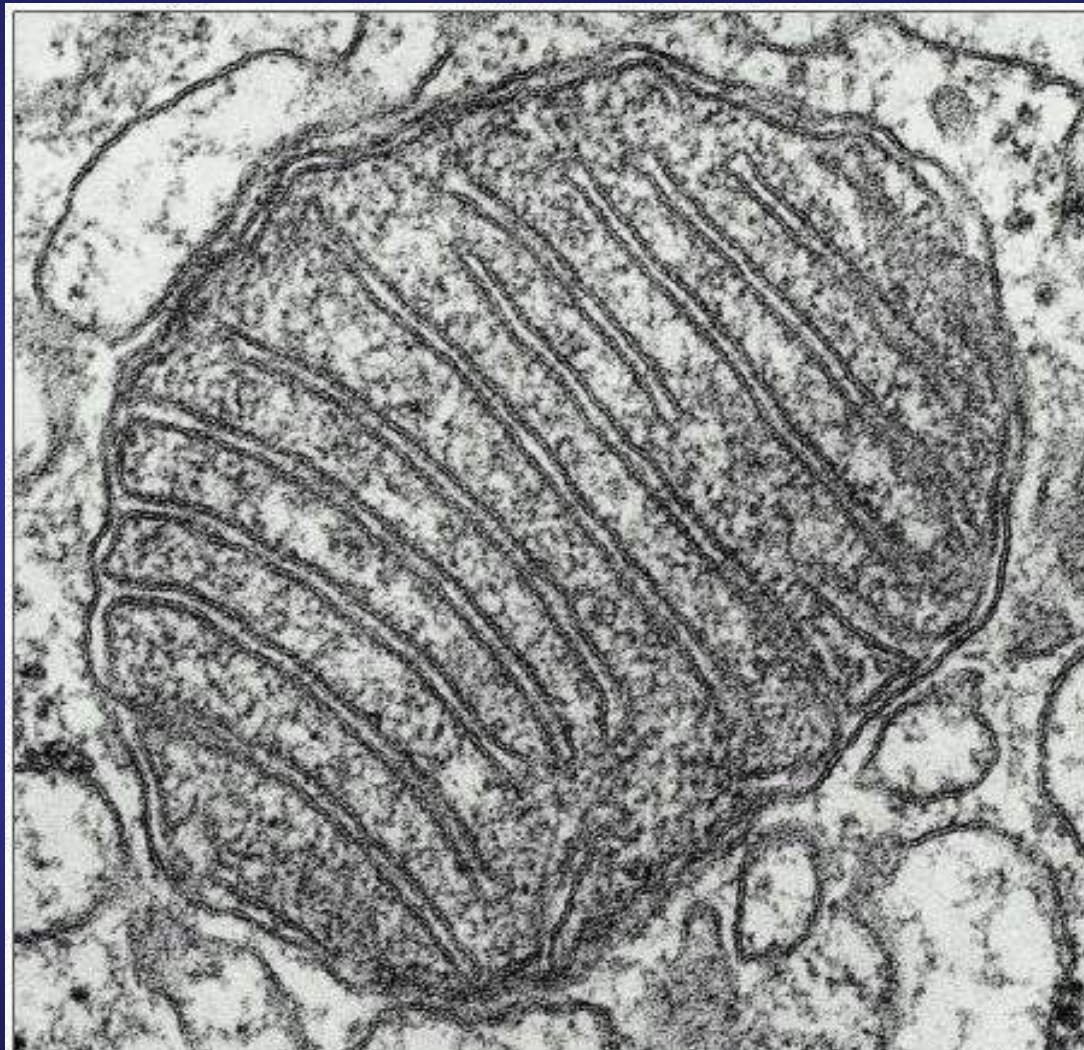
Familija G proteina	uloga	Neki predstavnici	Lokalizacija i mesto vezivanja za membranu
Ras	Regulatori genske ekspresije i rasta ćelija, u mutiranom obliku prisutni u tumorima	H-Ras, K-Ras, N-Ras, Ral A. Rad, Rap, Rit	Vezani za ćelijsku membranu palmitoloil, farnezil ili sličnom grupom
Rho	Kontrolišu organizaciju aktinskog citoskeleta i gensku ekspresiju	Rho (A-E), Cdc 42, Ras (1-3)	Vezani za lipite ćelijske membrane i odatle prebacuju u citosol
Arf/Sar	Grupisanje vezikula za usmeren transport vezikula koji kreće iz GA	Arf (1-6), Sar 1a, 1b	Vezan za membranu vezikula miristil grupom (Arf) ili protein membrane (Sar)
Rab	Usmeravanje vezikula koji su uključene u sekreciju i endocitozu	Dinamin, Rab (11-33)	Vezani za ćelijsku membranu C20 geranilgeranil grupom
Ran	Transport kroz kompleks jedarne pore	Ran	Nalazi se u citosolu i jedru

RNK se transportuju iz jedra u citoplazmu kao ribonukleoproteini, koji se namenjuju za izvoz specifičnom sekvencom amino kiselina (signal za izvoz iz jedra). Nukleoprotein gradi kompleks sa dodatnim proteinima nazvanim **eksportini** i sa **Ran proteinom**. Ovaj kompleks se transportuje kroz poru u citoplazmu, gde RanGAP aktivira hidrolizu vezanog GTP-a. U odsustvu GTP-a, kompleks se razdvaja uz oslobađanje RNK u citoplazmu, i eksportini i Ran se transportuju ponovo u jedro.

MITOHONDRIJE

- Mitohondrije sadrže većinu enzima **metaboličkih puteva** u kojima se **oksiduju** hranljive materije i **oksidativne fosforilacije** i u ovim organelama nastaje najveći deo ATP-a proizvedenog u ćeliji.
- Broj mitohondrija u tkivu ukazuje na fiziološku ulogu i određuje kapacitet tkiva za proizvodnju energije
- Svaku mitohondriju okružuju **dve membrane**, spoljašnja (50% lipidi, 50% proteini) i unutrašnja (80% proteini), i tako odvajaju mitohondrijalni matriks od citosola.
- Unutrašnja membrana formira invaginacije – kriste, gde su smešteni enzimi lanca prenosilaca elektrona i ATP sintaza. Većina enzima Krebsovog ciklusa i drugih oksidacija koje se odvijaju u ćeliji smešteni su u mitohondrijalnom matriksu, odeljku ograničenim unutrašnjom mitohondrijalnom membranom.

Organizacija mitohondrija

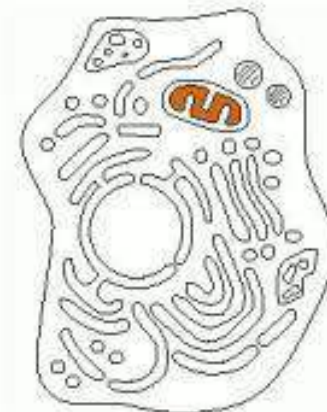


(A)

100 nm



(B)



(C)

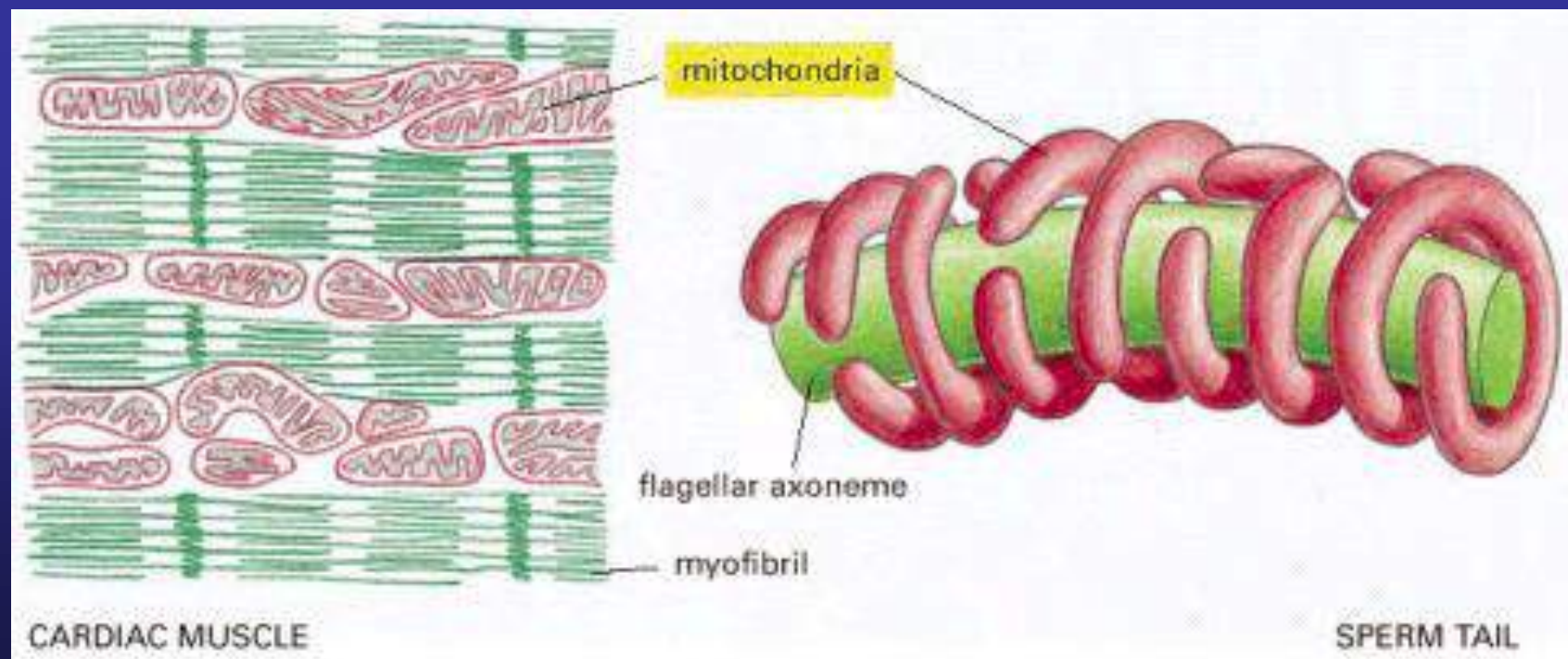
Mitochondrije su ograničene dvema membranama.

Spoljašnja membrana sadrži pore koje grade proteini porini i propusna je za molekule molekulske mase do oko 5000.

Unutrašnja mitohondrijalna membrana ima visok sadržaj proteina (70%) i sadrži kardiolipin, uz nizak sadržaj holesterola. Ona je praktično **nepropusna**. Gradijent protona koji nastaje tokom oksidativne fosforilacije je presudan za sintezu ATP-a iz ADP-a i fosfata.

Transport jona se odvija prevashodno posredstvom specifičnih proteina po tipu sekundarno aktivnog transporta za koji energiju obezbeđuje gradijent protona uspostavljen u lancu prenosilaca elektrona.

Unutrašnja membrana gradi pregradice - kriste



Enzimski sastav mitohondrija

Spoljašnja membrana:

NADH:citohrom c reduktaza, acil-CoA sintetaza, MAO, fosfolipaza A, karnitin:acil transferaza I, nukleozid difosfat kinaza, holin fosfotransferaza

Međumembranski prostor:

adenilat kinaza
nukleozid difosfat kinaza

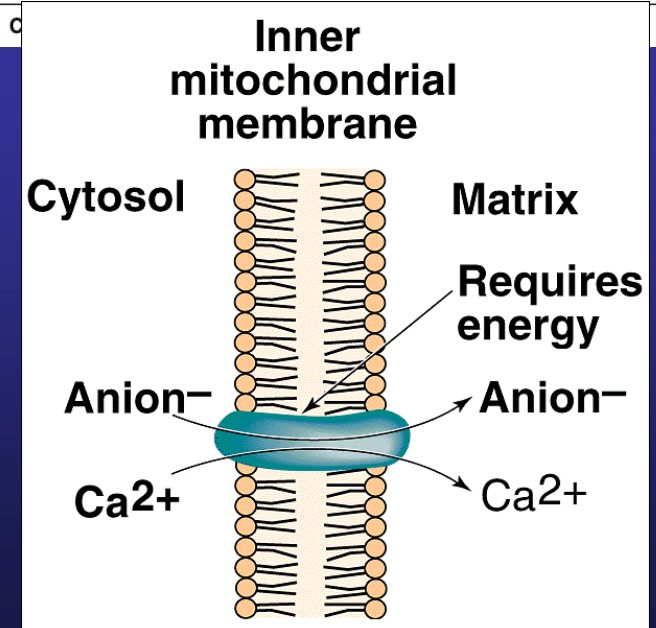
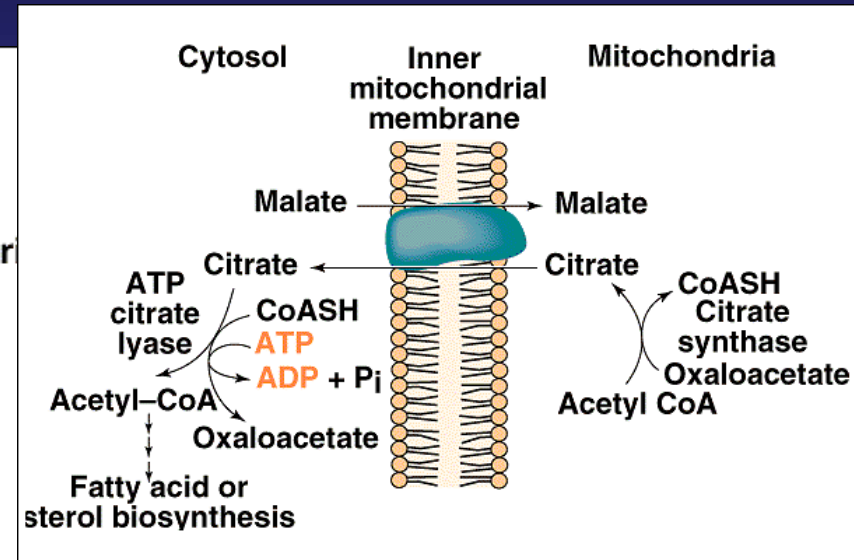
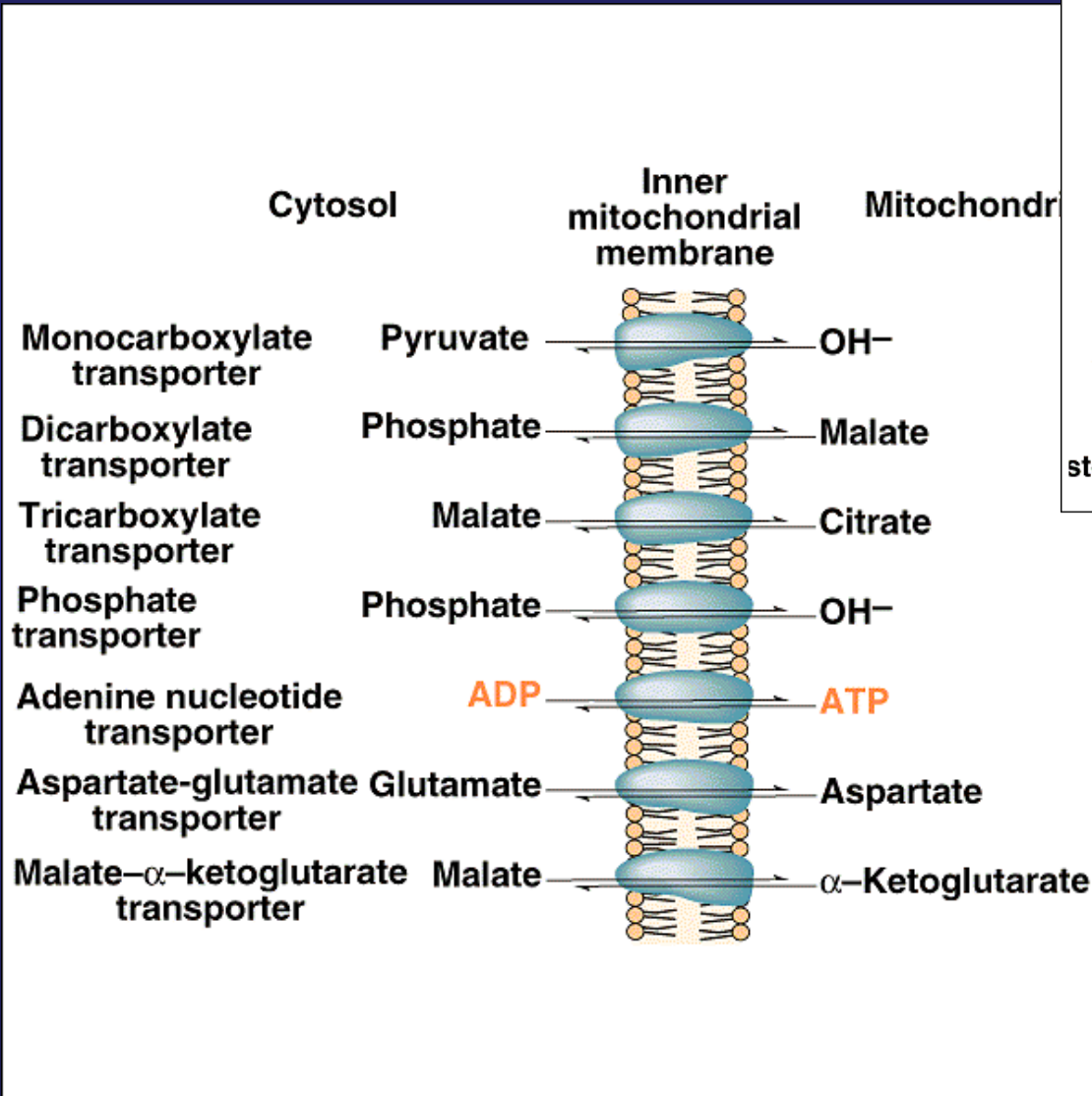
Unutrašnja membrana

enzimi lanca prenisilaca elektrona i sinteze ATP-a
sukcinat dehidrogenaza
adenin nukleotid translokaza
beta-hidroksi butirat dehidrogenaza,
karnitin palmitoil transferaza II, translokaza
mono-, di- i trikarboksilat translokaza,
glutamat-aspartat translokaza
Mitohondrijalna alfa-glicerofosfat dehidrogenaza

Mitosol:

enzimi Krebsovog ciklusa i beta-oksidacije masnih kiselina
aspartat aminotransferaza
glutamat dehidrogenaza
ornitin transkarbamoilaza

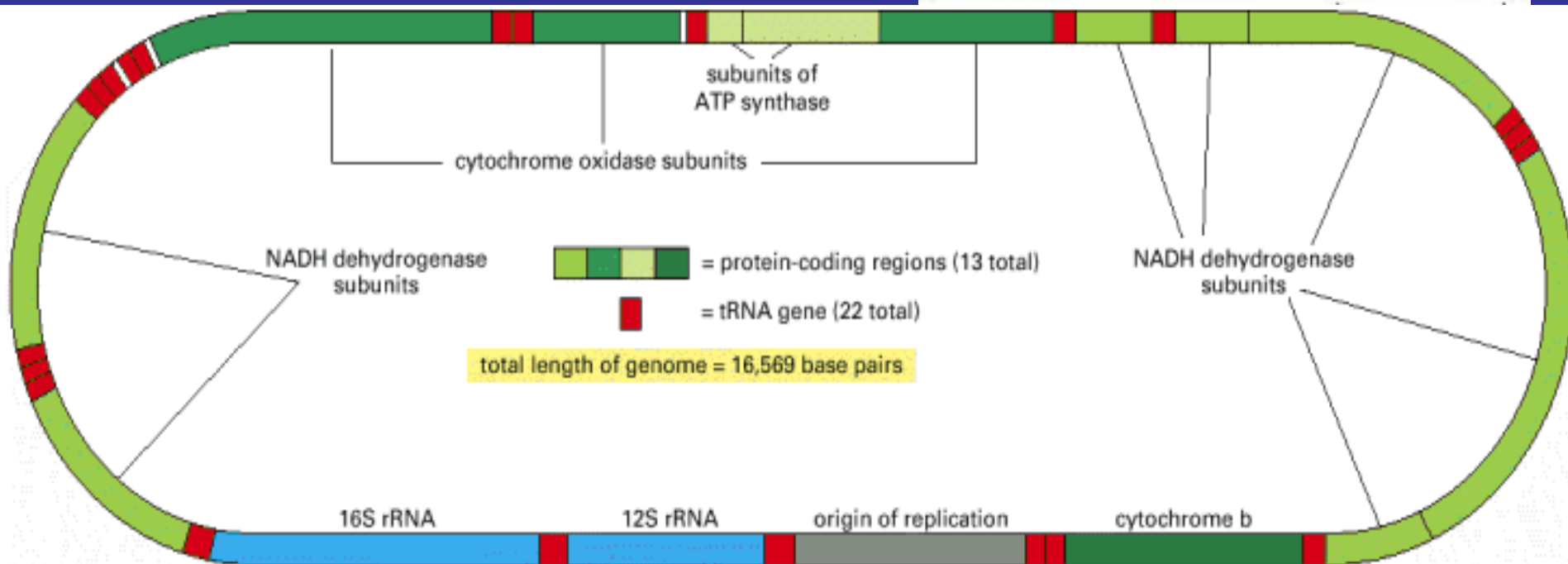
Transportni sistemi na unutrašnjoj membrani mitohondrija



- Mitohondrije se mogu umnožavati deobom, nezavisno od deobe ćelije; ipak, većina njihovih proteina se mora “uvesti” iz citosola.
- Mitohondrije sadrže malu količinu DNK, koja kodira 13 različitih subjedinica proteina uključenih u oksidativnu fosforilaciju.
- Većinu enzima i proteina koji su smešteni i funkcionišu u mitohodrijama kodira jedarna DNK i sintetishu se na ribozomima u citosolu.
- Oni ulaze u mitohodrije kroz pore na membrani procesom posredovanim receptorom, što uključuje neke od proteina iz familije proteina toplotnog šoka.

Mitochondrijalna DNK

Mitochondrije poseduju
sopstvenu DNK (mtDNK) –
kružna, dvolančana DNK
sa 37 gena i oko 16500 bp.
Kod sisara, čini oko 1%
ukupne DNK



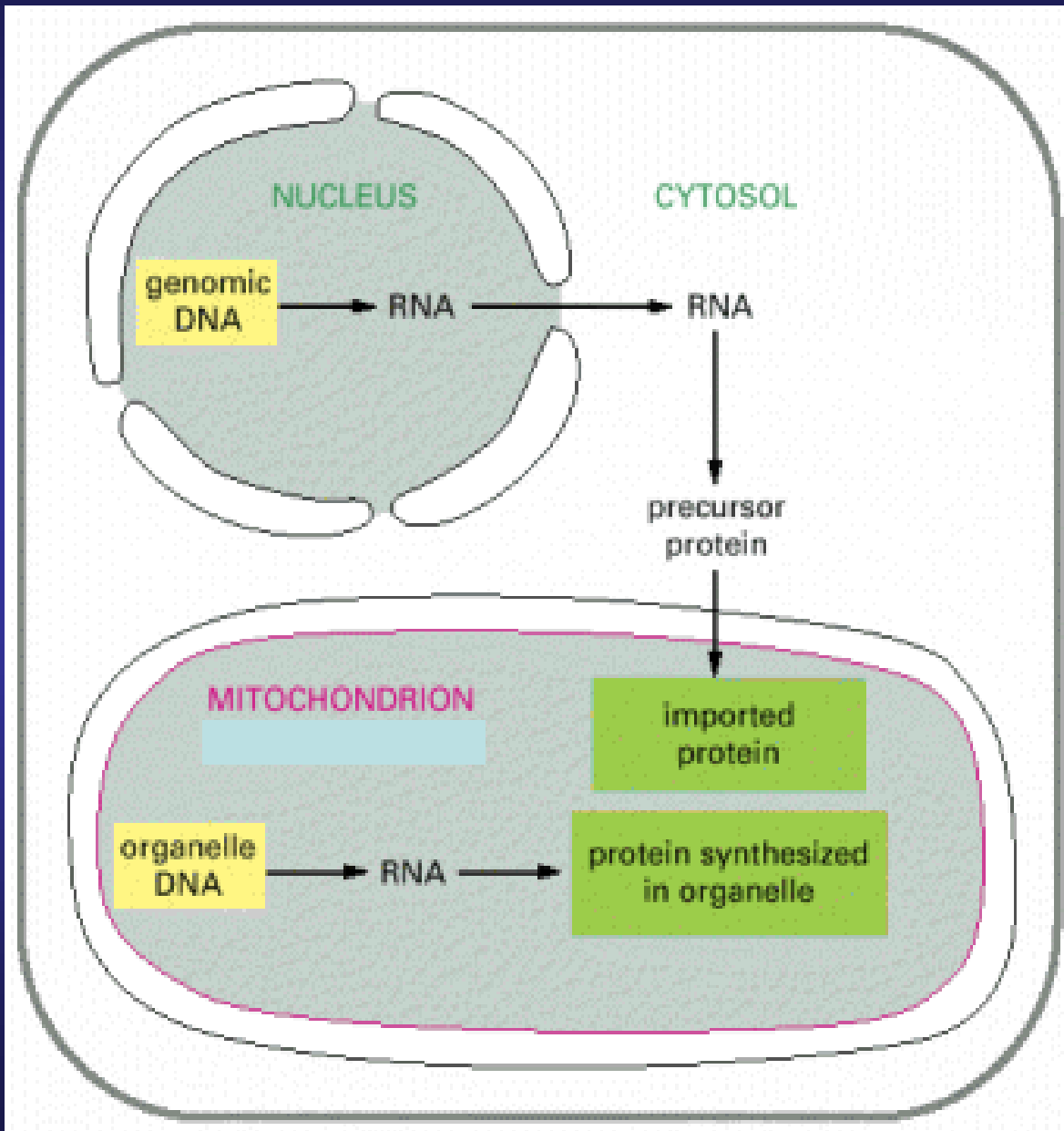
Mitohondrija sadrži više kopija mtDNK.

Sekvenca humane DNK kodira 37 gena. 13 gena kodira proteine koji su subjedinice lanca prenosilaca elektrona. U sastav respiratornog lanca ulaze i subjedinice kodirane jedarnim genima.

24 gena kodira specifične mitohondrijalne RNK (22tRNK i 2 rRNK)

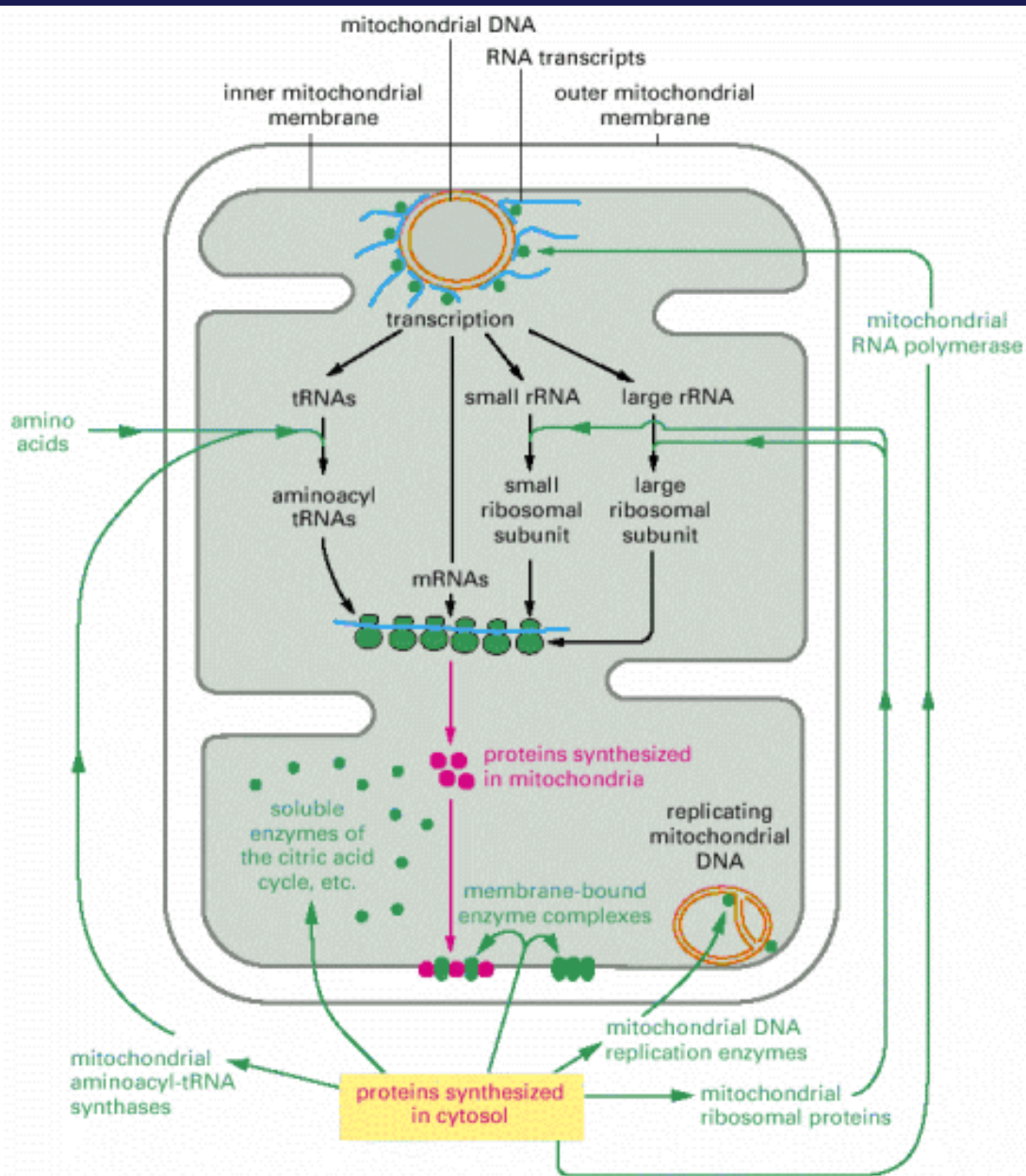
Mitohondrije poseduju sopstveni aparat za sintezu proteina – sve enzime za replikaciju mtDNK, transkripciju, translaciju i sintezu proteina.

Transkripcija mtDNK se vrši na osnovu specifične RNK polimeraze mitohondrija, prepisivanjem celokupnog mt genoma. Zrela RNK nastaje obradom mtRNK prekursora i nastaju 13 iRNK, 2 rRNK i 22tRNK. Sinteza proteina na osnovu mt DNK se odvija na mitohondrijalnim ribozomima. (12S i 16S). Ribozomi su manji



Nastajanje proteina mitohondrija pomoću dva odvojena genetska sistema: najveći deo proteina kodira genomska DNK

Poreklo mitohondrijalnih RNK i proteina



Proteini čija je sekvenca kodirana u jedru imaju veliki značaj u nastajanju genetskog sistema mitohondrija.

Takođe, mnogi proteini koji imaju značajnu ulogu u mitohondrijama kodirani su jedarnom DNK.

Neki proteini čija je sekvenca kodirana u jedru imaju regulatornu ulogu u ekspresiji pojedinih mitohondrijalnih gena.

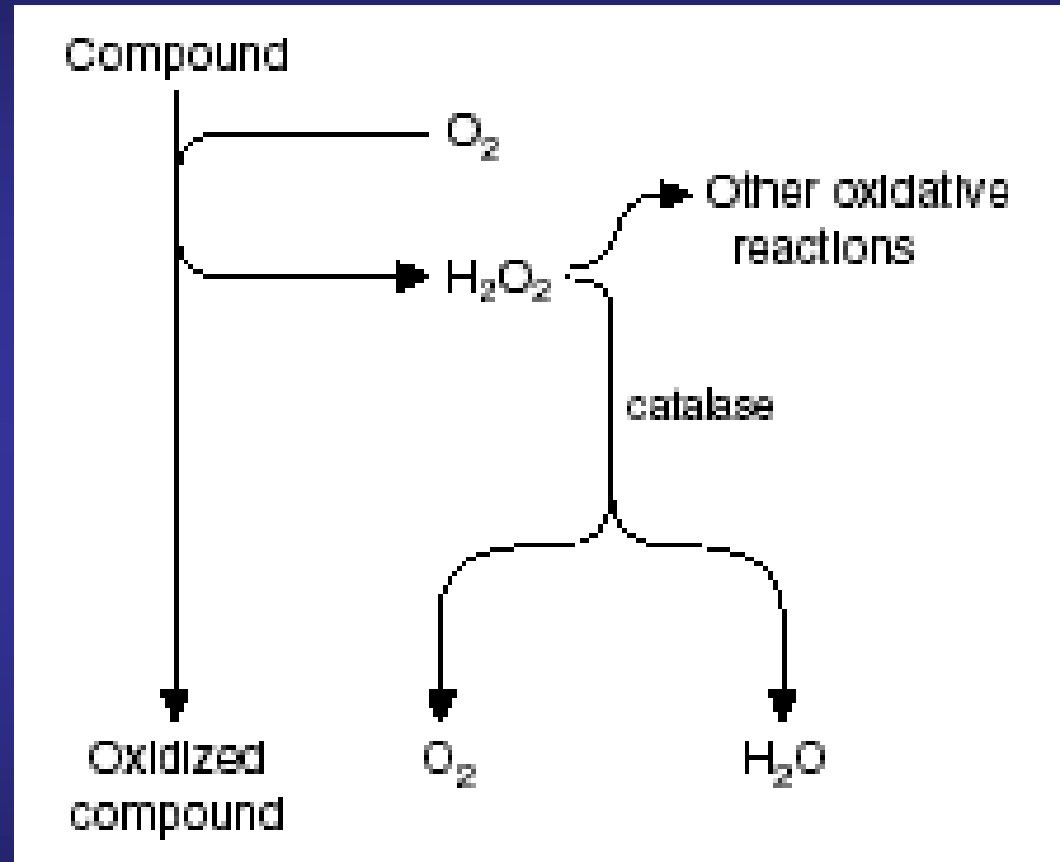
Peroksizomi

Peroksizomi su citoplazmatske organele, slične veličine kao lizozomi, i uključeni su u reakcije oksidacije u kojima učestvuje molekularni kisik.

U ovim reakcijama nastaje vodikov peroksid (H_2O_2), koji se potom može iskoristiti ili razgraditi unutar peroksizoma aktivnošću katalaze i drugih enzima.

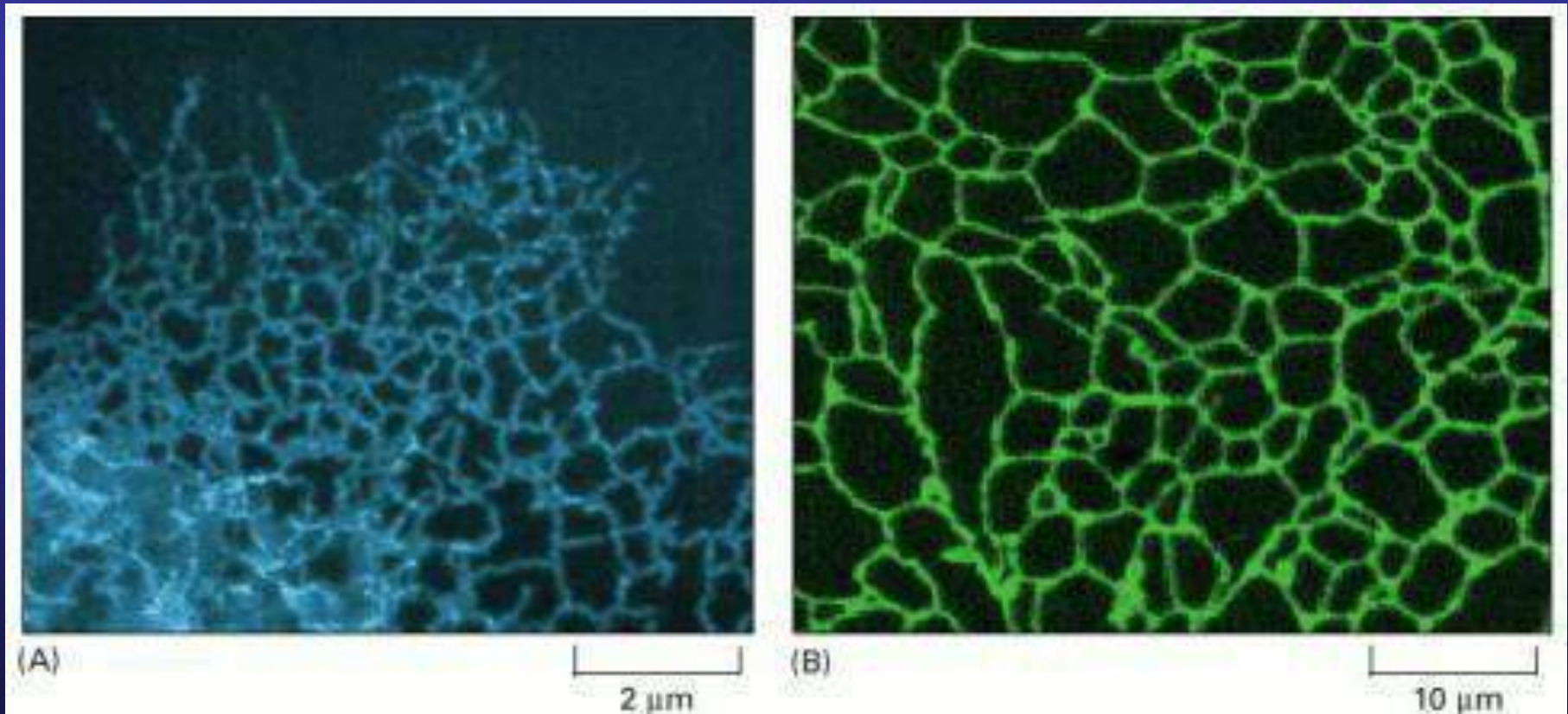
Učestvuju u oksidaciji masnih kiselina veoma dugih lanaca (20 ili više C atoma) u MK kraćih lanaca, konverziji holesterola u žučne kiseline, i sintezi etarskih lipida plazmalogena. Ograničeni su jednostrukom membranom.

Slično mitohondrijama, peroksizomi se mogu umnožavati deobom. Za razliku od mitohondrija, ne "uvoze" proteine i ne sadrže DNK.



Endoplazmatični retikulum

Endoplazmatični retikulum (ER) je mreža membranskih kanalića unutar ćelije. Može biti glatki endoplazmatični retikulum (GER), koji nema ribosome, i zrnasti endoplazmatični retikulum (ZER), na kojem se nalaze ribozomi.



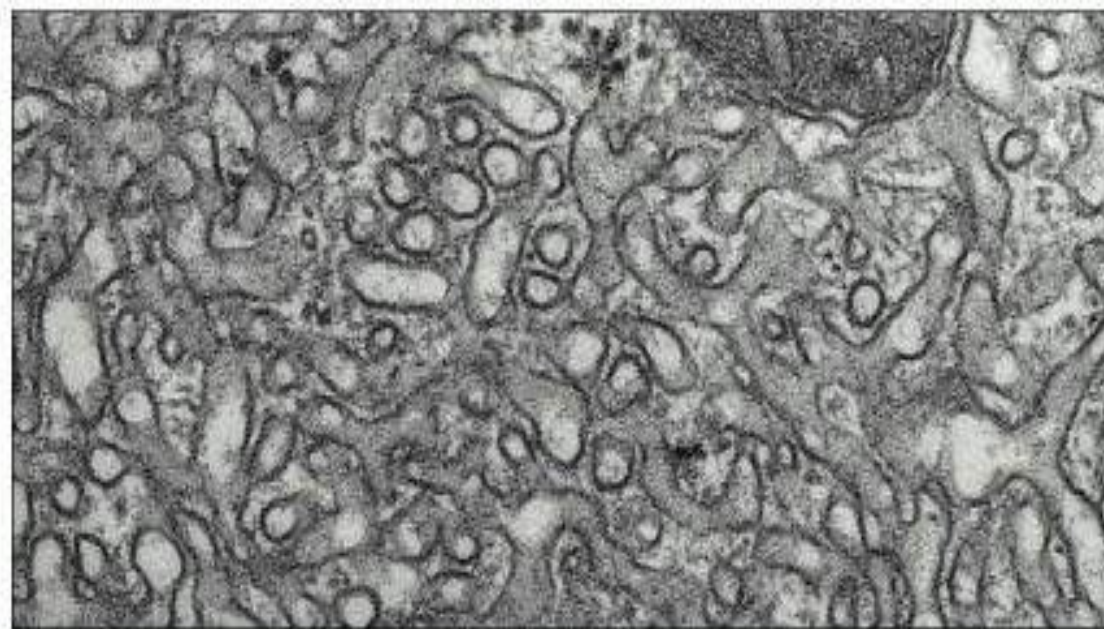
Glatki endoplazmatični retikulum

GER ima mnoge uloge:

Sadrži enzime za sintezu mnogih lipida (triacilgliceroli i fosfolipidi).

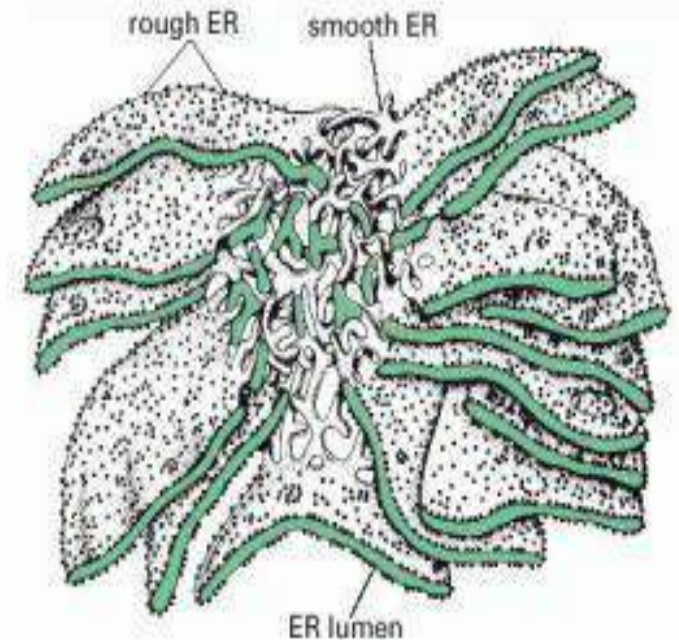
Sadrži oksidativne enzime citohroma P450 koji su uključeni u metabolizam lekova i štetnih materija (npr. etanol) i sintezu hidrofobnih molekula (npr. steroidni hormoni).

Glikogen se skladišti u delovima ćelija jetre koji su bogati u GER.



(A)

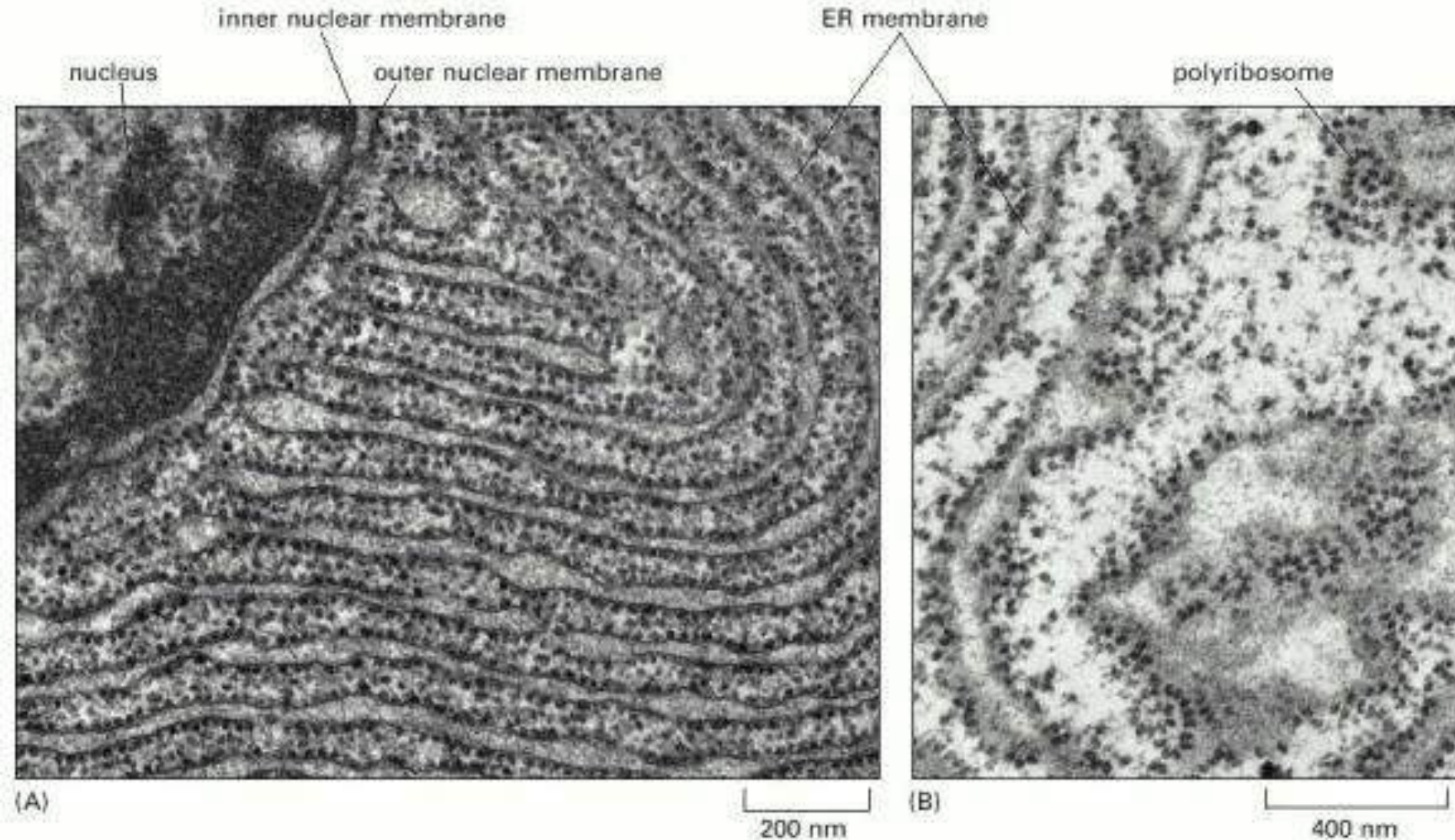
200 nm



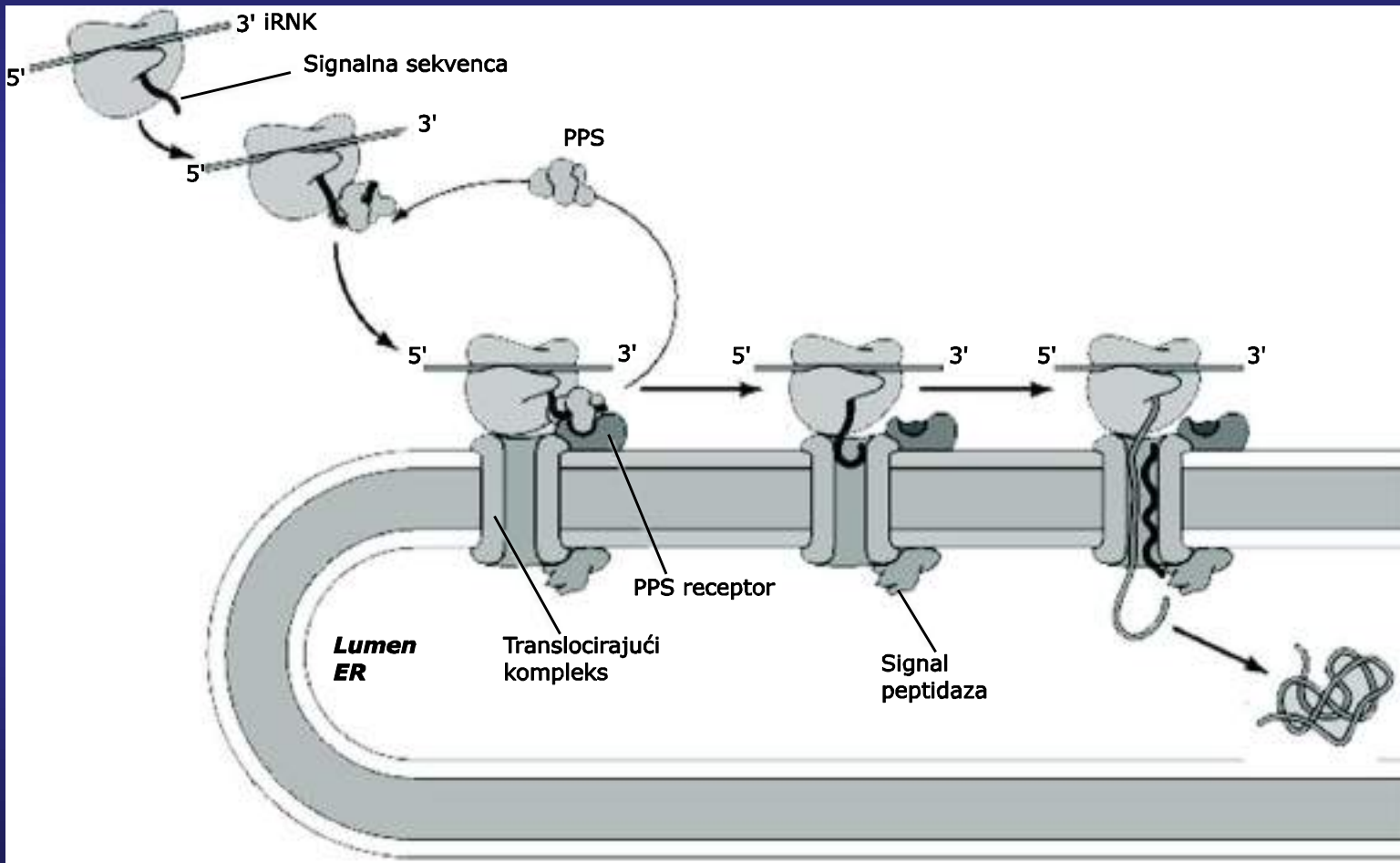
(B)

Zrnasti endoplazmatični retikulum

ZER je uključen u sintezu nekih proteina. Ribozomi vezani za membrane ZER daju im "zrnast" izgled.

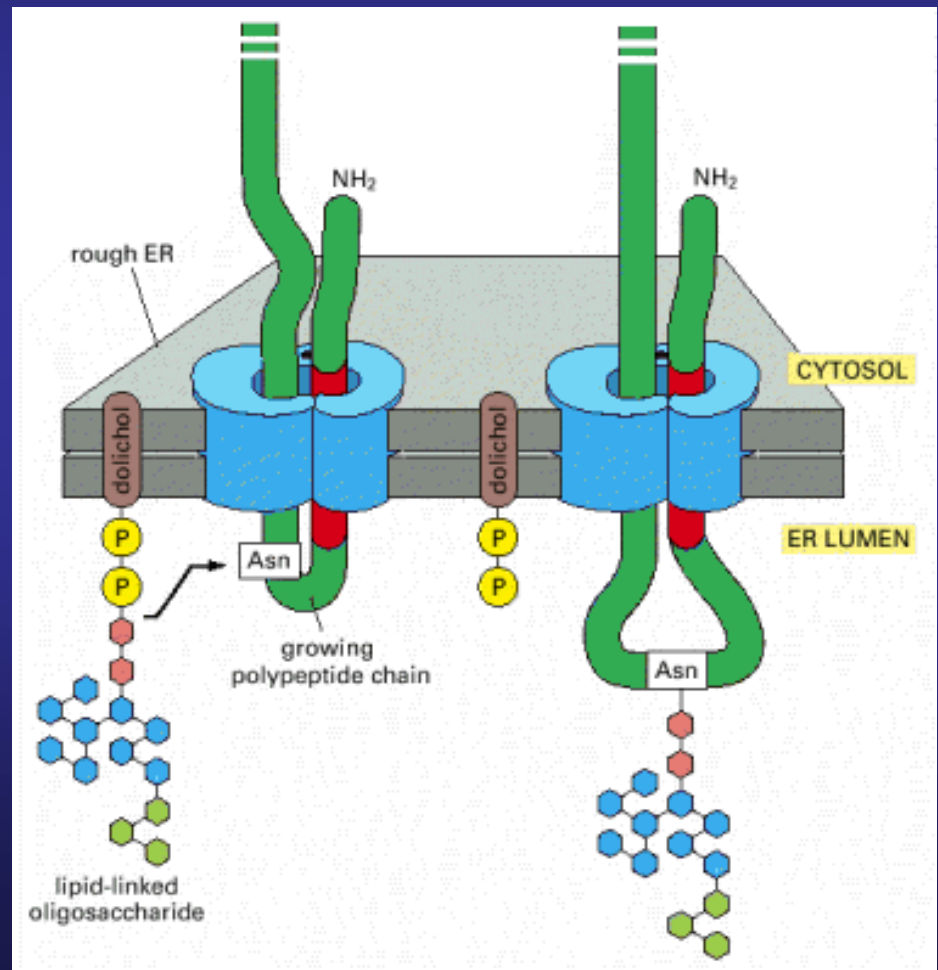
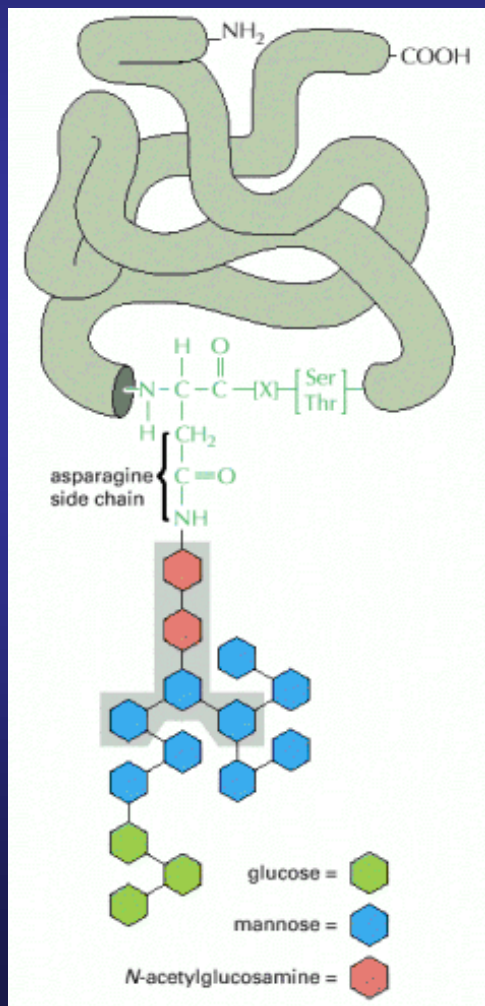


Proteini koji nastaju na ribozomima ZER ulaze u lumen ZER, dolaze do Goldži kompleksa u vezikulama, i potom se sekretuju iz ćelije, ili raspoređuju u organele ograničene membranom (lizozomi), ili se raspoređuju u plazma membranu.



Proteini namenjeni ćelijskoj membrani, sekreciji ili lizozomima imaju tzv. signalnu sekvencu na aminoterminalnom kraju koja se sastoji od niza hidrofobnih AK. Proteini koji ostaju u citosolu, ili pak odlaze u peroksizome ili mitohondrije sintetizuju se na slobodnim ribozomima u citosolu i retko podležu modifikaciji dodavanjem oligosaharidnih grupa.

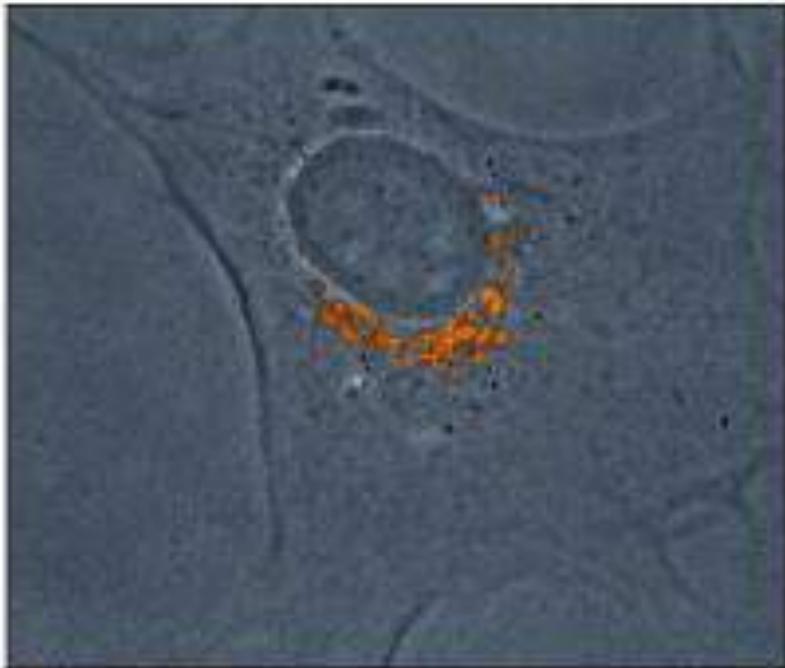
Posttranslaciona obrada proteina u ER, (inicijacija N-vezane glikozilacije, dodavanja GPI sidra), odvija se u ZER. Nasuprot tome, proteini kodirani u jedru a koji se nađu u citosolu, peroksizomima, i mitohondrijama se sintetiziraju na slobodnim ribozomima u citosolu i retko podležu modifikaciji dodavanjem oligosaharidnih grupa.



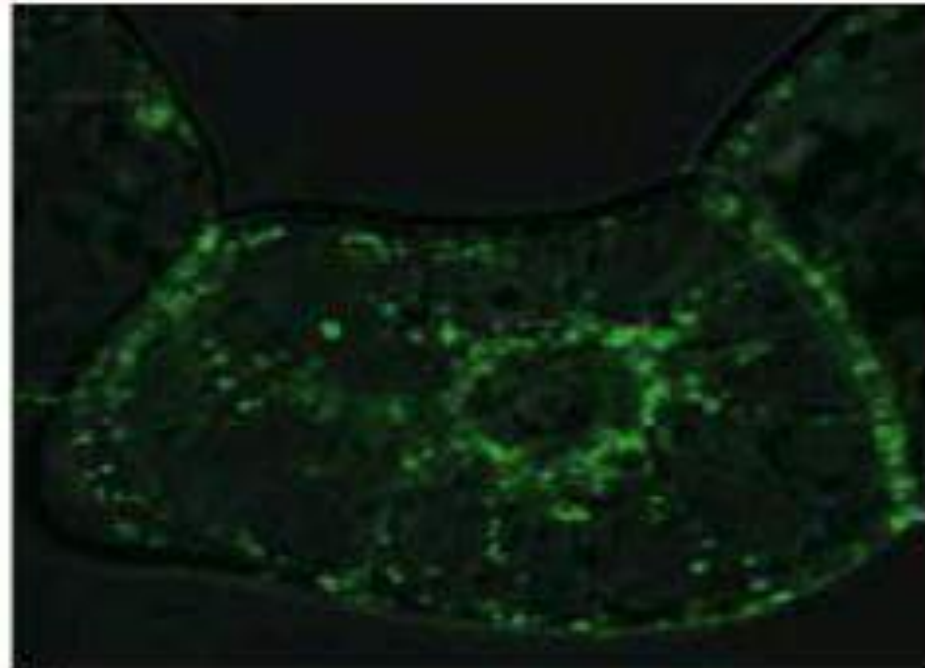
Goldži kompleks

Goldži kompleks učestvuje u modifikaciji proteina nastalih u ZER i u sortiranju u raspoređivanju ovih proteina u lizosome, sekretorne vezikule, ili plazma membranu.

Naročito je zastupljen u ćelijama koje su specijalizovane za sekreciju



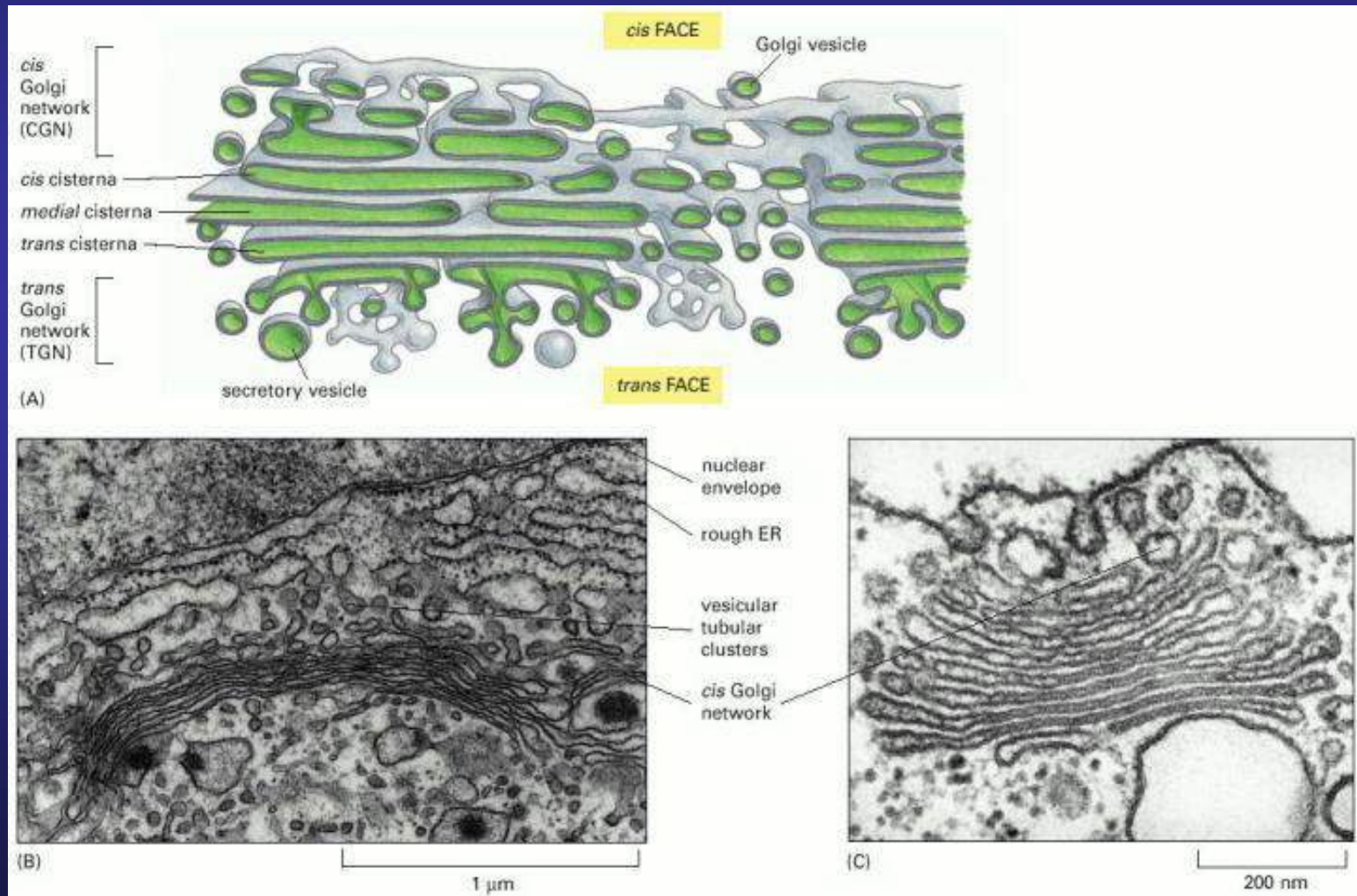
(A)



(B)

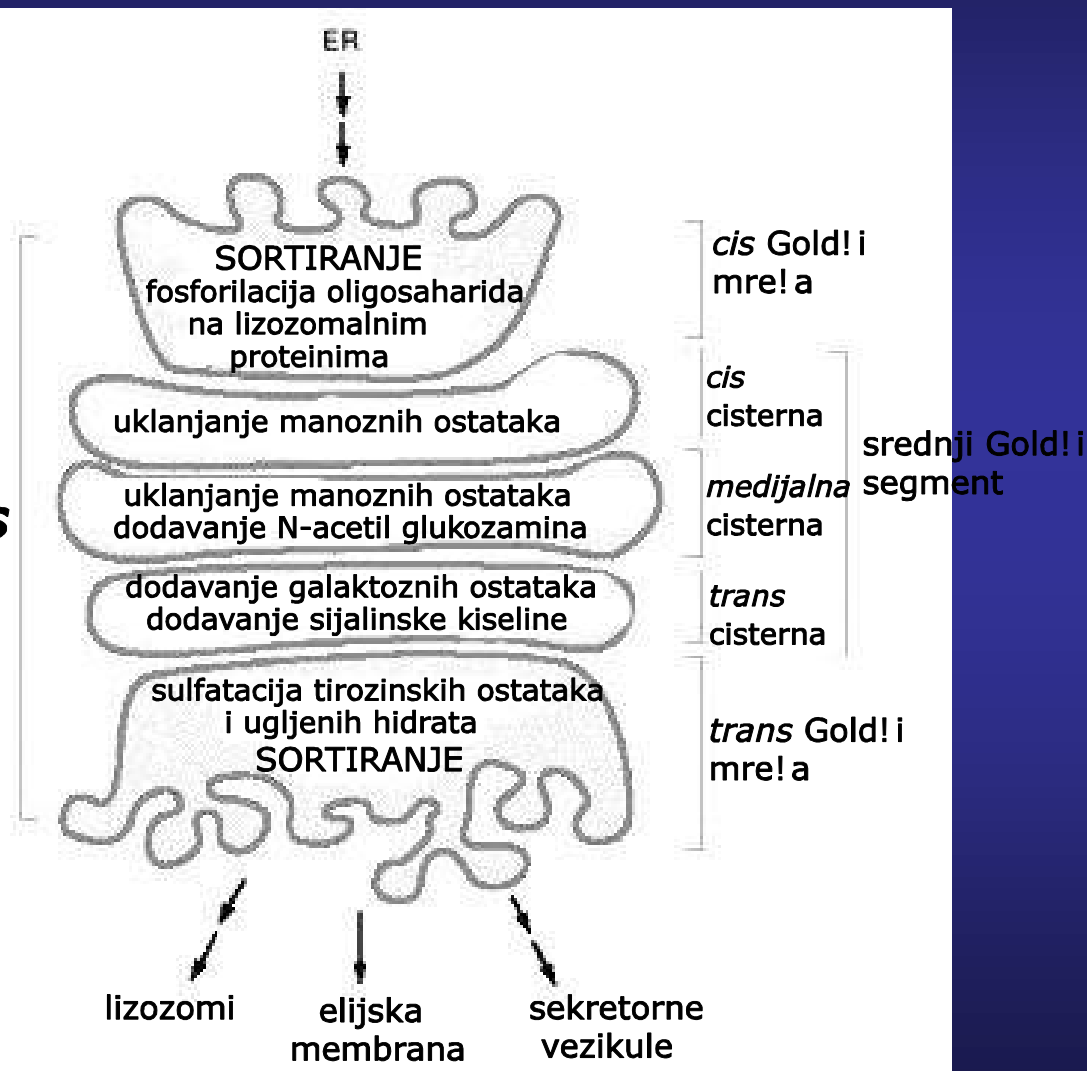
Sastoji se od izvijenih naslaganih spljoštenih vezikula (cisterni) u citoplazmi koji se, uopšteno, deli u tri odeljka :

- *cis*-Goldži mreža, često konveksna i okrenuta ka jedru;
- *medijalni* Goldži slog; i
- *trans* Goldži mreža, koja je okrenuta ka plazma membrani.



Funkcionalna kompartmentalizacija Goldži aparata

GOLD I KOMPLEKS



Transport proteina u/iz Goldži kompleksa

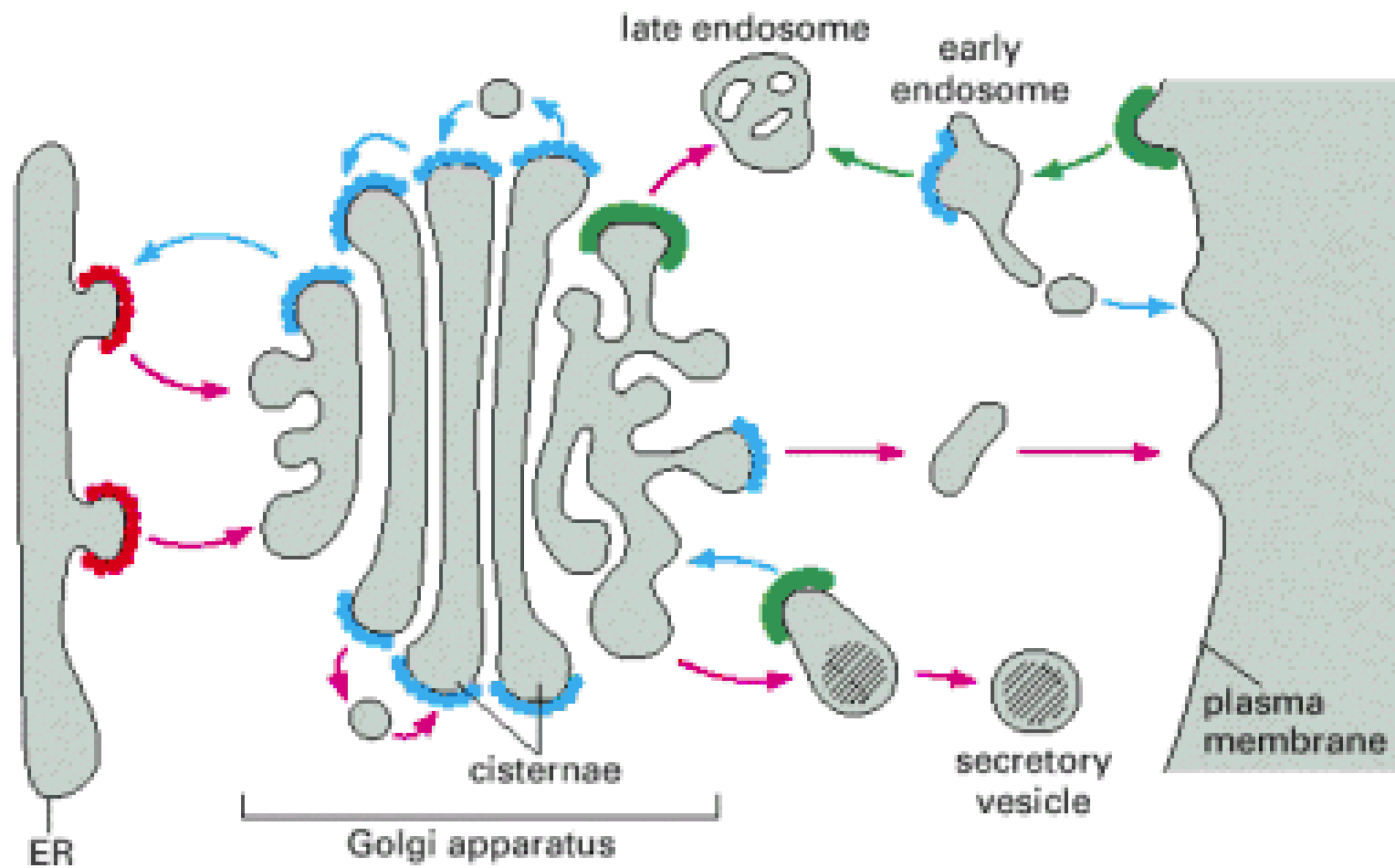
Proteini se transportuju u i iz Goldži kompleksa u najmanje tri vrste vezikula:

- *coatmer-coated* COP I vezikule, (vracanje proteina uz Goldži aparata u ER)
- *coatmer-coated* COP II vezikule, (proteini koji dolaze iz ER) i
- klatrinom prekrivene vezikule.

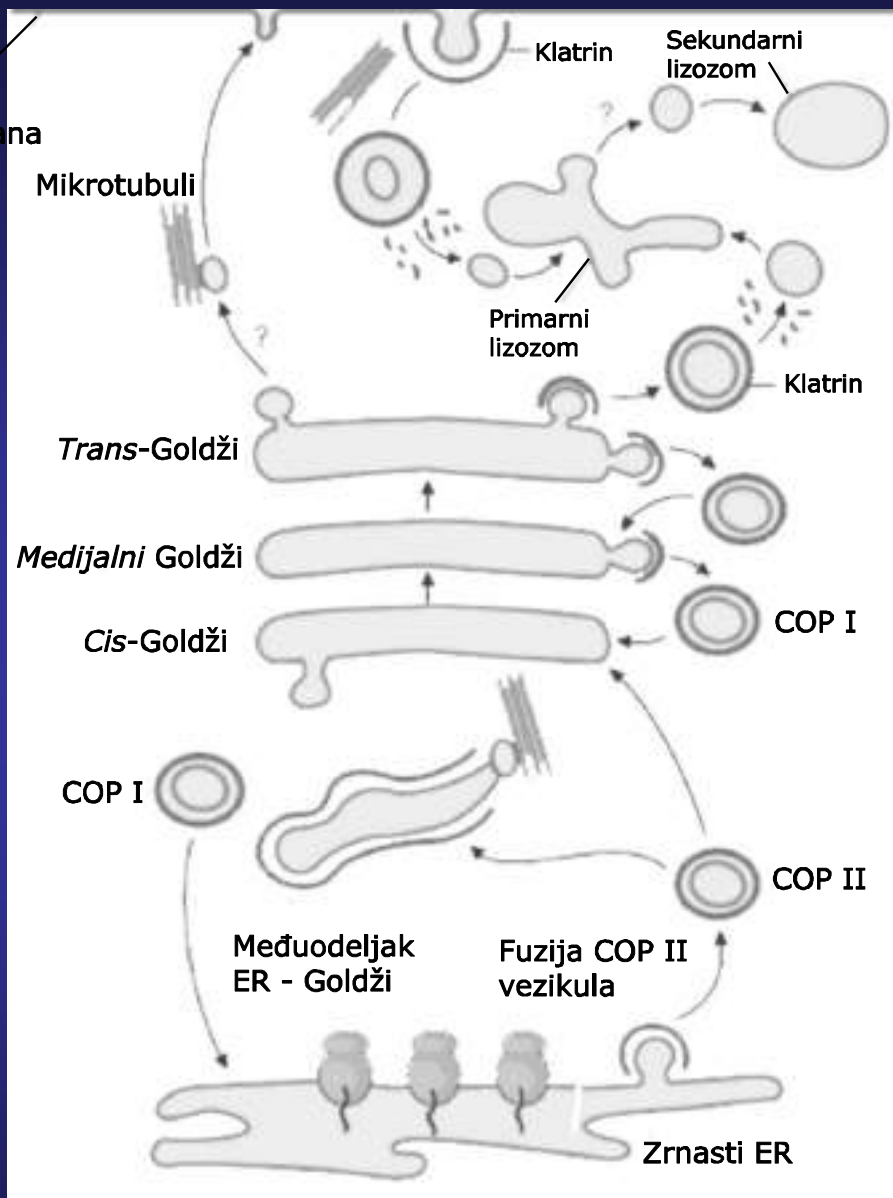
Proteini nastali u ZER putuju u COP II vezikulama do međuodeljka endoplazmatični retikulum-Goldži (ERGIC), a zatim u *cis*-Goldži mrežu, gde ulaze u lumen ove organele. Ovde se modifikuju N-vezani oligosaharidni lanci (koji su dodati proteinima u ZER), i dodaju O-vezani oligosacharidi.

COP I vezikule recikliraju materijal iz Goldži kompleksa ponovo u ER i, moguće, transportuju materijal iz Goldži kompleksa na druga mesta.

Vezikule oslobođene sa *trans* strane Goldži kompleksa putuju do endozoma ili ćelijske membrane kao klatrinom-prekrivene vezikule.



Ćelijska membrana



Vezikularni transport u i iz Goldži kompleksa:

COP II vezikule nastaju u ZER i dolaze u Goldži.

COP I vezikule uopšteno idu od trans do cis Goldži strane u ER.

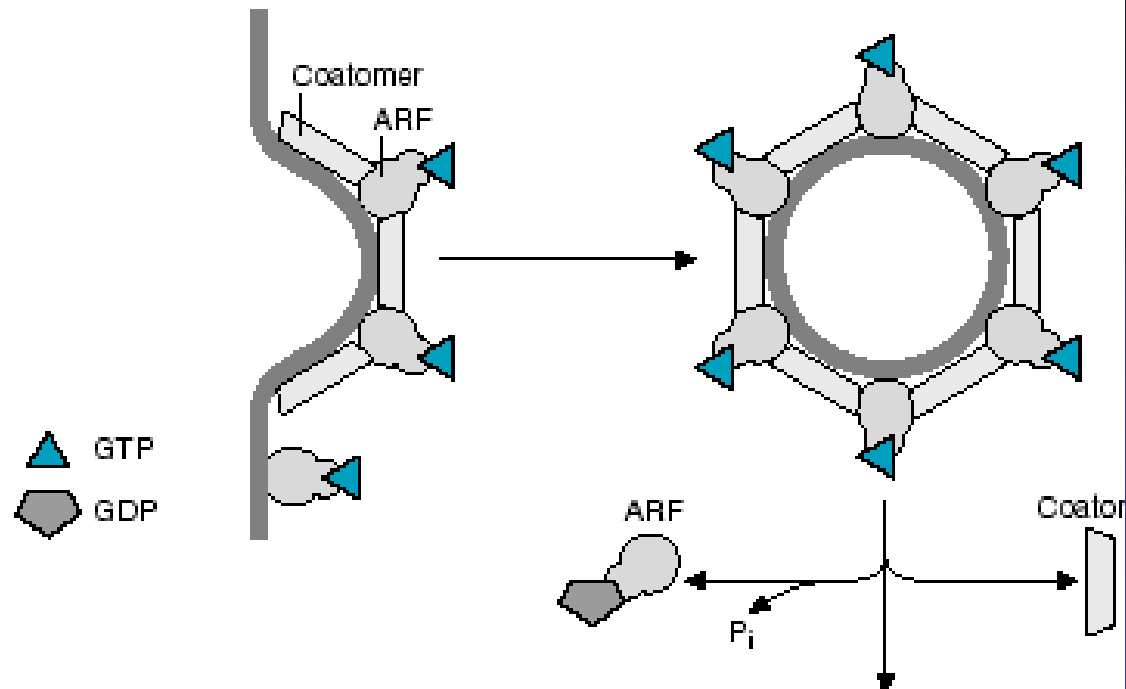
Vezikule koje idu u kasne endozome (eventualno lizozome) iz Goldži aparata ili do plazma membrane su prekrivene klatrinom.

Transport vezikula, kao i transport organela i sekretornih proteina odvija se duž mikrotubula (struktura koje gradi protein tubulin).

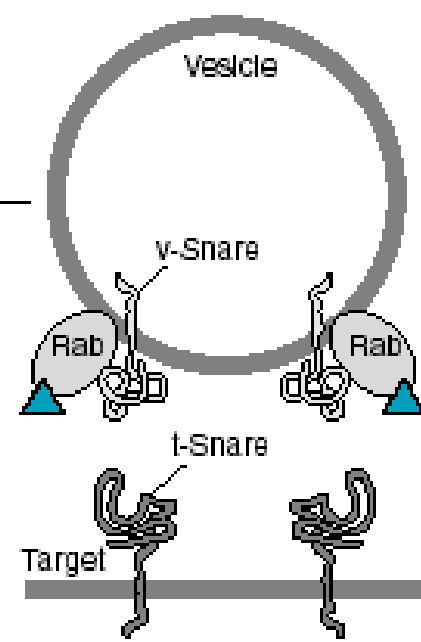
Vezikularni transport u Goldži kompleks i iz Goldži kompleksa:

- COP I vezikule - uglavnom vraćaju proteini uz Goldži aparata u ER
- COP II vezikule - transportuju proteine koji dolaze iz ER u Goldži kompleks
- klatrinske vezikule - transportuju proteine ćelijske membrane i trans-Goldži mreže do kasnih endozoma

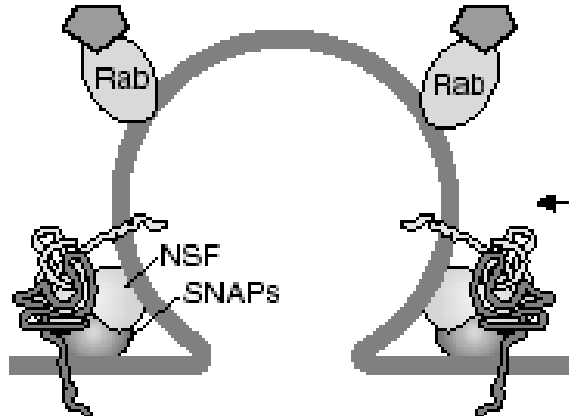
A. Assembly and release



B. Docking

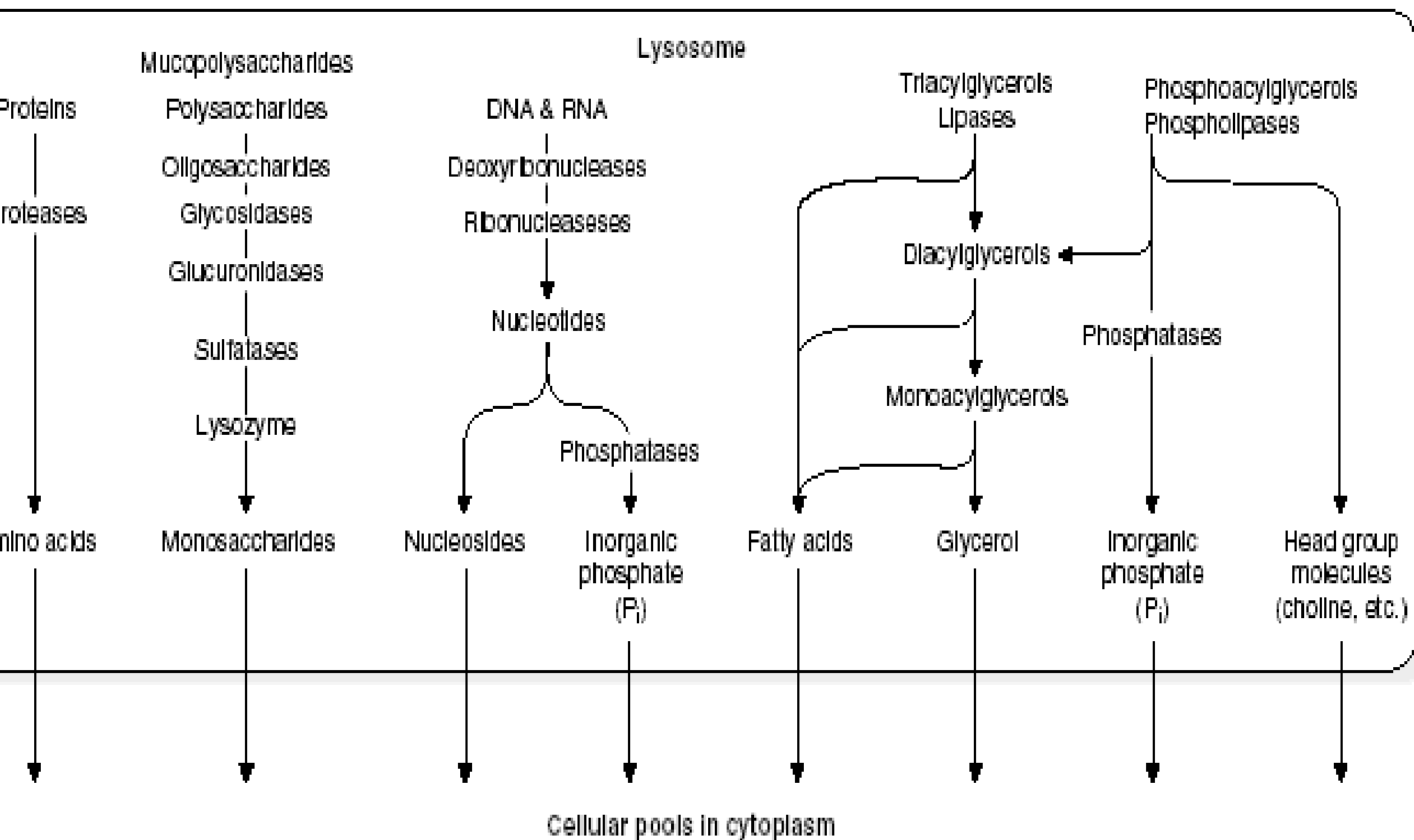


C. Fusion



Lizozomi

Lizozomi su unutarćelijske organele varenja koje su ograničene jednostrukom membranom koja sprečava oslobađanje digestivnih enzima iz lizozoma u citosol. One imaju veliki značaj u mnogim procesima koji uključuju eliminaciju neželjenog materijala i "reciklažu" komponenti ćelije, što uključuje uništavanje infektivnih agenasa, oporavak od oštećenja, remodelovanje tkiva, involuciju tkiva tokom razvića, i normalan *turnover* ćelija i organela.

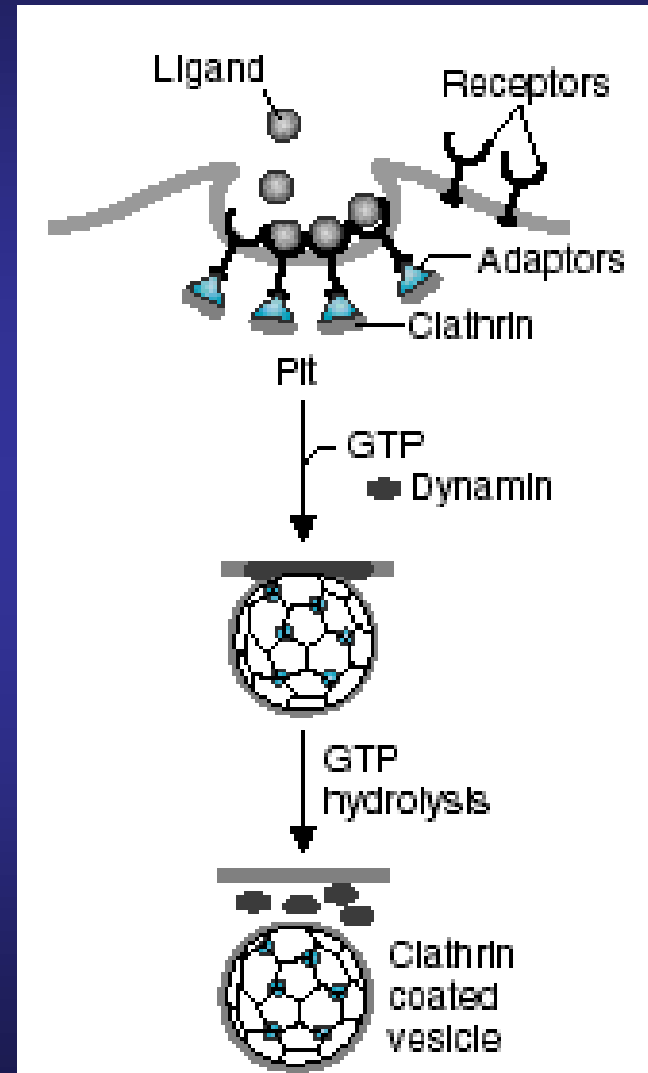


A. Lizozomalne Hidrolaze

- Lizozomalni enzimi varenja
- Uključuju nukleaze, fosfataze, glikozidaze, esteraze, kao i proteaze nazvane katepsini.
- Svi ovi enzimi spadaju u klasu hidrolaza, enzima koji raskidaju amidne, estarske, i druge veze uz adiciju vode.
- Mnogi od proizvoda lizozomalne razgradnje, kao što su amino kiseline, vraćaju se u citosol. Lizozomi su tako uključeni i u recikliranje jedinjenja.
- Mnoge od ovih lizozomalnih hidrolaza imaju najveću aktivnost pri pH vrednosti od oko 5.5 (pH optimum). Unutarlizozomalni pH se održava oko 5.5 uglavnom dejstvom v-ATPaze (vezikularna ATPaza), koja aktivno pumpa protone u lizozom. Citosol i ostali odeljci ćelije imaju pH bliži 7.2 i tako su zaštićeni od digestije u slučaju da se lizozomalne hidrolaze nađu van lizozoma.

B. Endocitoza, fagocitoza i autofagija

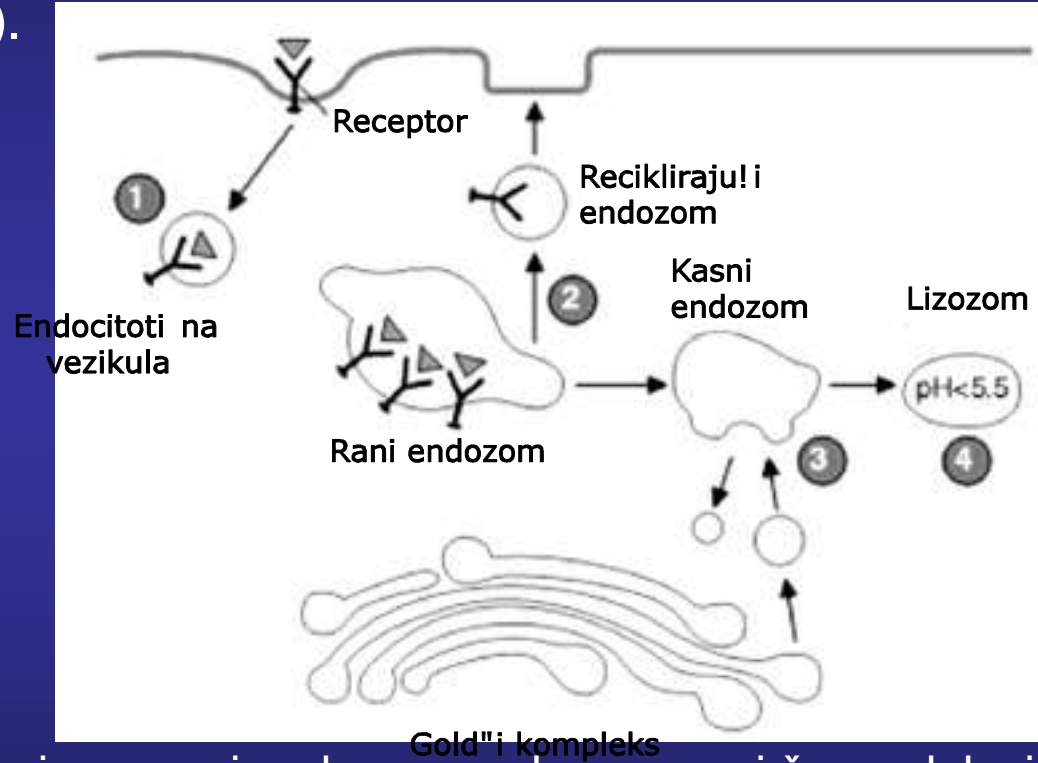
- Lizozomi nastaju od digestivnih vezikula koje zovemo endozomi, koji su uključeni u endocitozu posredovanu receptorom. Oni takođe učestvuju u digestiji ćelija stranih organizmu preko fagocitoze, i u digestiji unutrašnjeg sadržaja ćelija procesom autofagocitoze.



ENDOCITOZA POSREDOVANA RECEPTOROM

ULOGA LIZOZOMA U ENDOCITOZI POSREDOVANOJ RECEPTOROM

- Lizozomi su uključeni u sigurnost i klatrinskih vezikula kreko endocitovanih klatrinom-pokrivenih vezikula koje potiču od ćelijske membrane. Ove vezikule se spajaju sa multivezikularnim telima (rani endozomi).



Rani endozomi sazrevaju u kasne endozome, pri čemu dolazi do recikliranja klatrina, lipida i drugih komponenata membrane ponovo u ćelijsku membranu u reciklirajućim endozomima.

Kasni endozomi sazrevaju u lizosome dok istovremenu akumuliraju novosintetisane kisele hidrolaze i vezikularne protonske pumpe koje do njih stižu u klatrinskim vezikulama poreklom iz Goldži aparata. Tako, lizozomi postižu pun kapacitet za varenje tek pošto se odvoje proteini i lipidi koji će biti reciklirani u vezikula

- Unutar Goldži aparata, enzimi se usmeravaju ka endozomima (i eventualno lizozomima) dodavanjem manozo- 6-fosfatnih ostataka koji se vezuju za protein receptor manozo 6-fosfata na Goldži membrani.
- Receptori za manozo 6-fosfate zajedno sa koselin hidrolazama koji su za njih vezani se pakuju u klatrinom-pokrivene Goldži transportne vezikule. Klatrinski pokrivač se uklanja sa transportnih vezikula i dolazi do spajanja sa membranom kasnog endozoma. Kiselost endozoma oslobađa kisele hidrolaze sa receptora u lumen vezikule lumen. Receptori se potom vraćaju u Goldži aparat.

2. FAGOCITOZA I AUTOFAGIJA

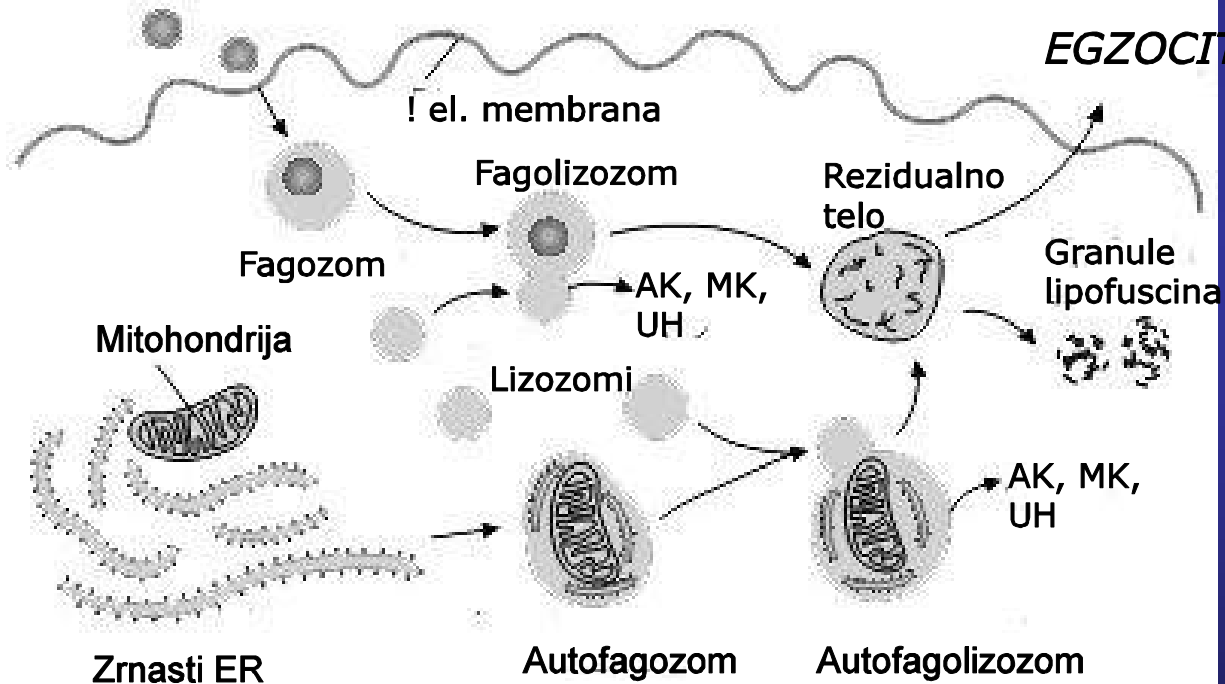
- Jrdna od najvažniji uloga lizozoma je fagocitoza). Neutrofili i makrofagi, najvažnij fagocitne ćelije, uklanjaju patogene mikroorganizme i “čiste” mrtve ćelije i zapaljenski sadržaj, čime dopšrinose zarastanju rane. Pošto se bakterije i druge čestice obuhvate u klatrinom-obložena udubljenja na ćelijskoj membrani, ove vezikule se odvoje i daju unutarćelijske fagozome. Fagozomi se spajaju sa lizozomima, gde kiselost sredine i enzimi varenja uništavaju sadržaj.

Kod autofagije (*self-eating*), initarćelijske komponente kao što su organele ili čestice glikogena se okružuju membranom poreklom od vezikula ER, i nastaje autofagozom. Autofagozom se spaja sa lizozomom, i sadržaj fagolizozoma obično razgrade lizozomalni enzimi. Organele se razgrađuju i zamenjuju novim mnogo brže od samih ćelija (npr., u ćelijama jetre se razgradi otprlike 4 mitohondrije na sat). Ćelije koje su oštećene, ali su još uvek žive se delom, mpgu oporaviti, korišćenjem autofagije da bi se uklonile oštećene komponente.

Ukoliko je nakon završenog procesa digestije u lizozomima ostala značajna količina nesvarenog materijala, lizozom se naziva rezidualno telo. Zavosno od tipa ćelije, rezidualna tela se mogu izbaciti (egzocitoza) ili ostati u ćeliji u obliku granula lipofuscina koje se sa godinama nagomilavaju.

FAGOCITOZA

EGZOCITOZA

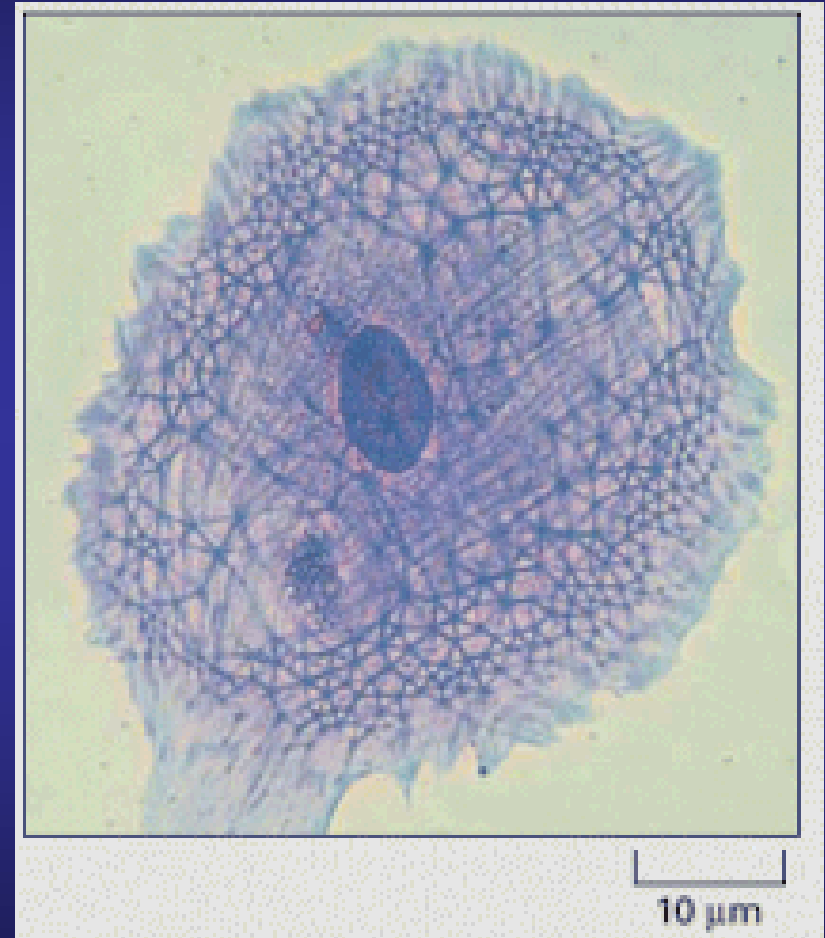


AUTOFAGOCITOZA

Citoskelet

Ćelije imaju određen oblik, određen stepen otpornosti na mehaničke agense i odgovarajuću unutrašnju strukturu. Mnoge od njih menjaju svoj oblik ili menjaju svoj položaj.

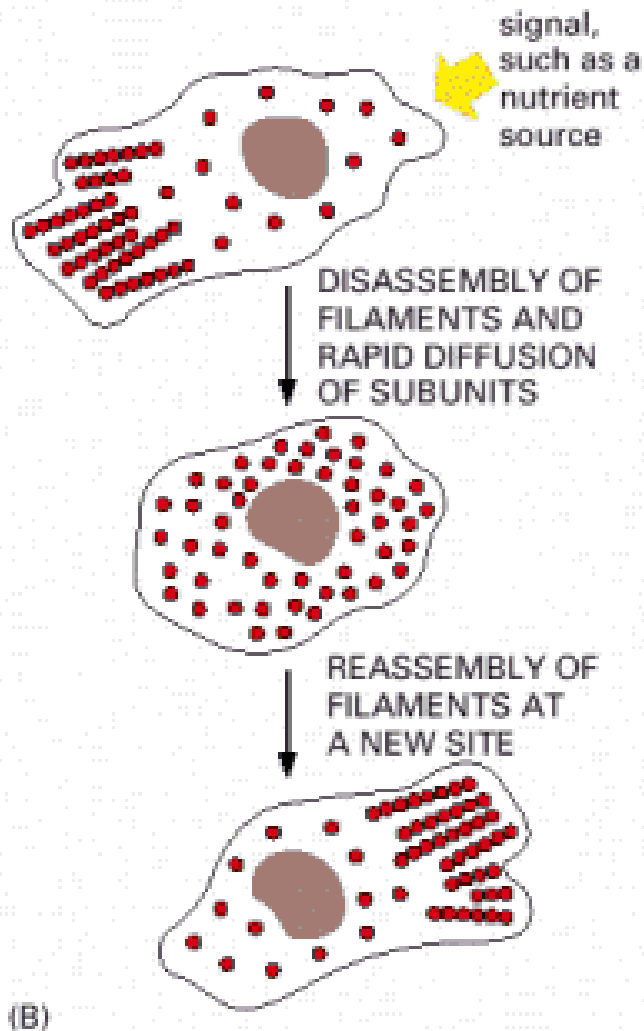
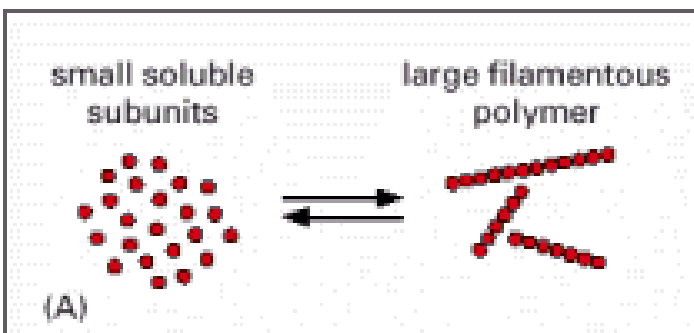
Da bi ispunila ove prostorne i mehaničke zahteve, ćelija ima unutrašnji sistem filamenata nazvan citoskelet



Citoskelet

Struktura ćelije, oblik površine ćelije, i raspored subćelijskih organela su organizovani uz pomoć tri važne proteinske komponente:

- **Aktinskih filamenata** (mikrofilamenata) sastavljenih od aktina, koji grade citoskelet
- **mikrotubula** koji su izgrađeni od tubulina, koji pomera i raspoređuje organele i vezikule; i
- **intermedijernih filamenata** izgrađenih od različitih fibrilarnih proteina.



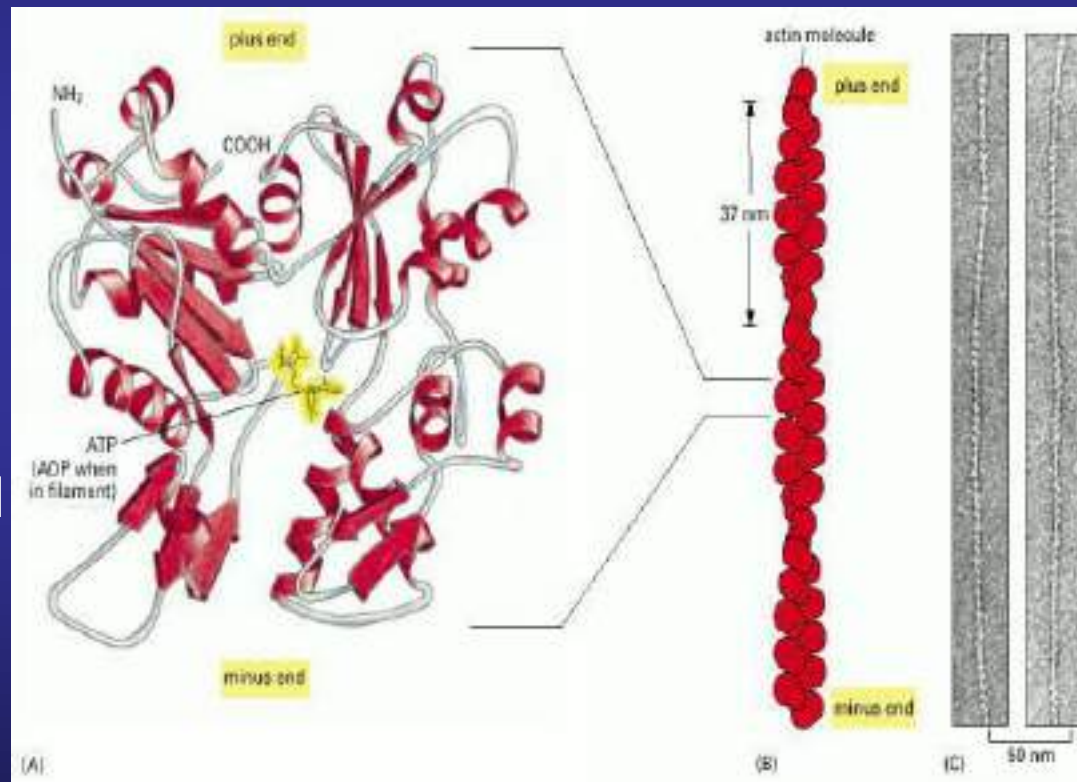
Aktin i tubulin, koji su uključeni u ćelijsko kretanje, su dinamične strukture koje sačinjavaju globularne subjedinice koje se stalno povezuju i razdvajaju. Intermedijerni filament, koji imaju strukturnu ulogu, sačinjeni su od stabilnih fibrilarnih proteina.

Aktinski filamenti

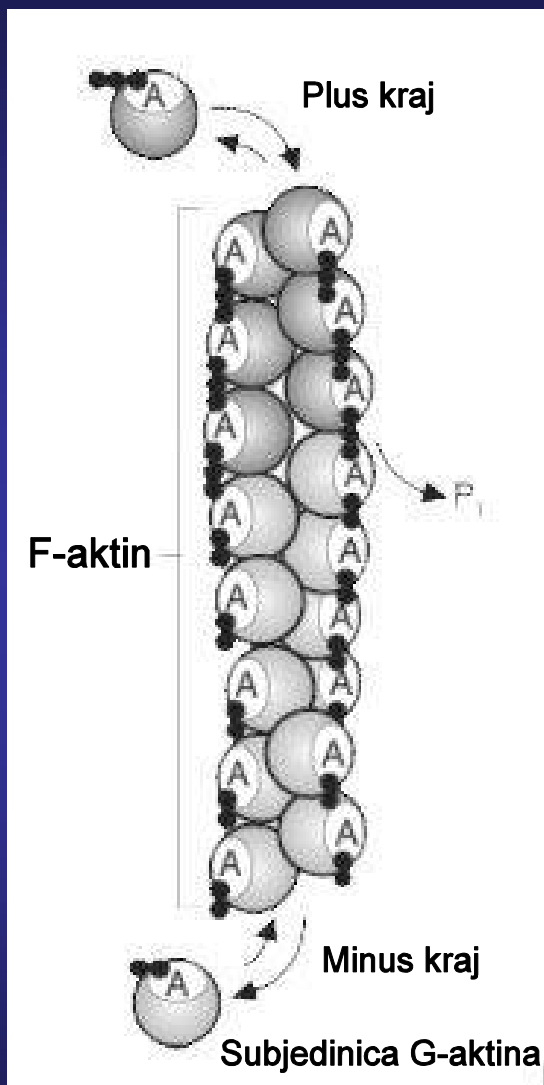
- Aktinski filamenti (mikrofilamenti) su dvolančani polimeri proteina aktina. U obliku su tankih, savitljivih niti, promera 5-9 nm koje grade mrežu. Ova mreža održava oblik ćelije i omogućava pokrete površine ćelije, tako omogućavajući ćelijama da se kreću, dele, uvlače čestice i da se kontrahuju.
- Aktin se nalazi u svim ćelijama. Aktinski polimer, F-aktin, se sasoji od helikalno raspoređenih globularnih sugjedinica G-aktina. Unutar polimera, svaka G-aktinska subjedinica sadrži vezan ATP ili ADP koji obezbeđuje zatvorenu konformaciju.
- Aktinski polimer je dinamičan. Nove subjedinice G-aktina koje sadrže ATP se stalno kombinuju sa organizovanim F-aktinskim polimerom na plus kraju.
- Usmereno produžavanje ovog polimera može biti u osnovi nekih tipova kretanja ćelija i promene oblika: nastajanje pseudopodija, migracija ćelija tokom razvića, ili kretanje leukocita kroz tkiva.

Aktinski polimeri grade tanke filamente (mikrofilamente) u ćeliji koji su organizovani u kompaktne uređene snopove ili labave nizove kao mreže unakrsnim povezivanjem proteina.

U ćelijama mišića, dugi aktinski filamenti se kombinuju sa debelim filamentima, izgrađenim od proteina miozina, da bi došlo do mišićne kontrakcije.



Aktinski filamenti

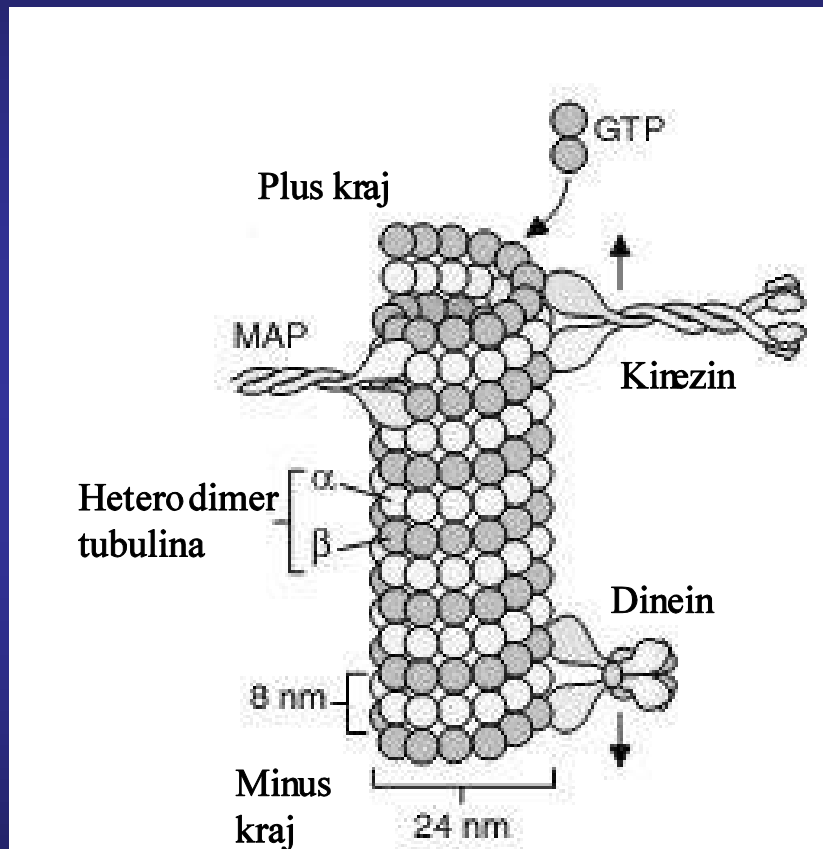


Polimer F-aktina se organizuje od sugjedinica G-aktina za koje je vezan ATP.

Dok je vezan, ATP polako hidrolizuje u ADP. Konformaciona promena pomera ravnotežu tako da je povoljna disocijacija subjedinica G-aktina na minus kraju polimera. Kad se razdvoje, subjedinice aktina razmene ADP za ATP, koji može ponovo da se udruži sa aktinskim polimerom. Na plus kraju molekula, asocijacija je povoljnija od disocijacije.

Mikrotubuli

- Mikrotubuli su duge, šuplje cilindrične cevčice sastavljene od subjedinica tubulina. Spoljašnji prečnik im je 25 nm, i mnogo su čvršći od aktinskih filamenata
- Prisutni su u svim ćelijama koje imaju jedro i u trombocitima.
- Odgovorni su za raspoređivanje organela u citoplazmi ćelije i kretanje vezikula, uključujući fagocitne vezikule, egzocitotične vezikule i transportne vezikule, između ER, Golđi aparata, i endozoma.
- Izgrađuju deobno vreteno tokom deobe ćelije.
- Mreža mikrotubula (tzv. minus kraj) počinje u jedru kao centriol (centar organizacije mikrotubula) i širi se upolje do plazma membrane (obično plus kraj).
- Proteini udruženi sa mikrotubulima (*microtubule-associated proteins*, MAPs) vezuju mikrotubule za druge komponente u ćeliji, i mogu određivati oblik ćelije i polarnost.



Mikrotubuli sastavljeni od heterodimera tubulina. MAP, *microtubule-associated protein*. Ovi proteini se pružaju upolje da bi vezali mikrotubule za druge komponente ćelije.

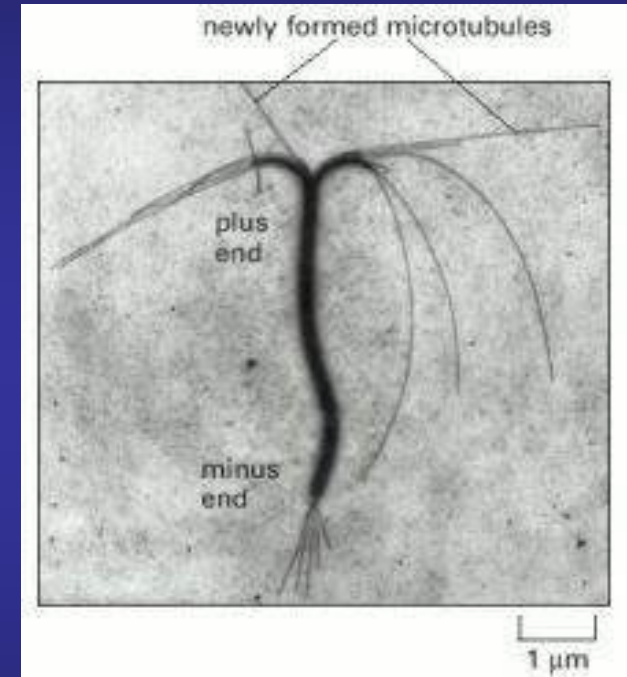
Mikrotubuli se produžavaju dodavanjem dimera koji sadrže vezan GTP za plus kraj polimera. Kinezin i dyneini su motorni proteini koji prenose teret (tj., vezikule) duž mikrotubula.

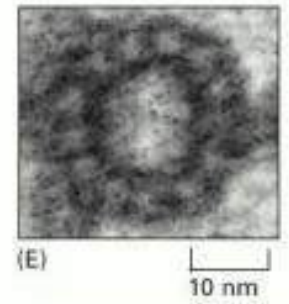
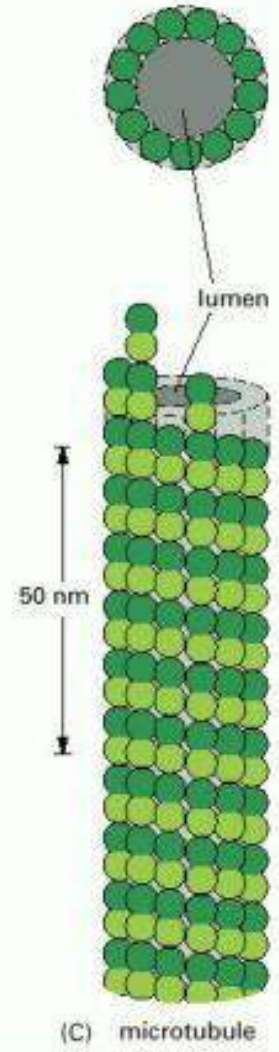
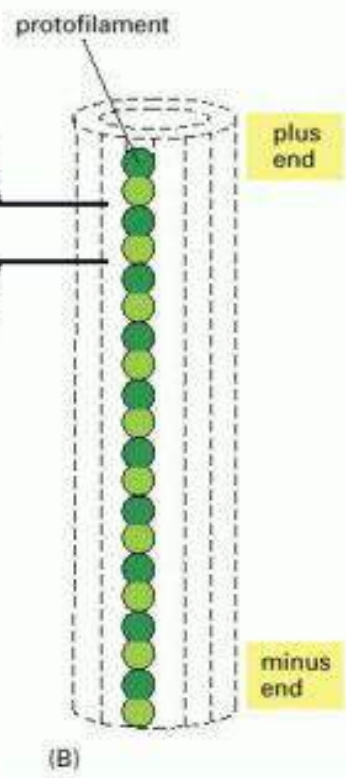
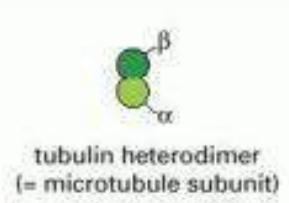
Motorni protein kinezini i citoplazmatski dineini koriste energiju ATP-a da pomeraju teret duž mikrotubula.

Kinezini pomeraju molekule, vezikule, i organele ka plus kraju mikrotubula, obično prema plazma membrani.

Citoplazmatski dineini su veliki proteini koji pomeraju vezikule i organele ka minus kraju, uopšteno ka jedru.

Mikrotubuli se sastoje od polimerizovanih nizova α i β tubulinskih dimera koji grade 13 protofilamenata organizovanih oko šupljeg jezgra. γ - tubulin se nalazi samo u centrozomu. Tubulinski dimeri sastavljeni od jedne α i jedne β subjedinice vezuju GTP, što dovodi do konformacione promene u dimeru koja favorizuje dodavanje dimera na tubulinski polimer.





Intermedijerna vlakna

Intermedijerni filamenti (IF) su vlakna nalik kanapu sa prečnikom od oko 10 nm. Izgrađeni od polimera fibrilarnih proteina i obezbeđuju strukturnu potporu membranama ćelija i oslonac za vezivanje drugih komponenti ćelije.

Svaka subjedinica IF se sastoji od dugačkog, štapu nalik, helikoidnog jezgra sa globularnim razdvajajućim domenima,

Postoji oko 50 različitih tipova ovih filamenata koji se sastoje od različitih proteina.

Nako od ovih filamenata, kao što su jedarna lamina, zajednički su za sve tipove ćelija. Drugi su specifični za tip ćelije (npr., epiteli imaju citokeratine, a neuroni neurofilamente). Oni obezbeđuju unutrašnju mrežu koja pomaže održanje oblika i povećava otpornost ćelije.

Neki tipovi intermedijernih filamenata

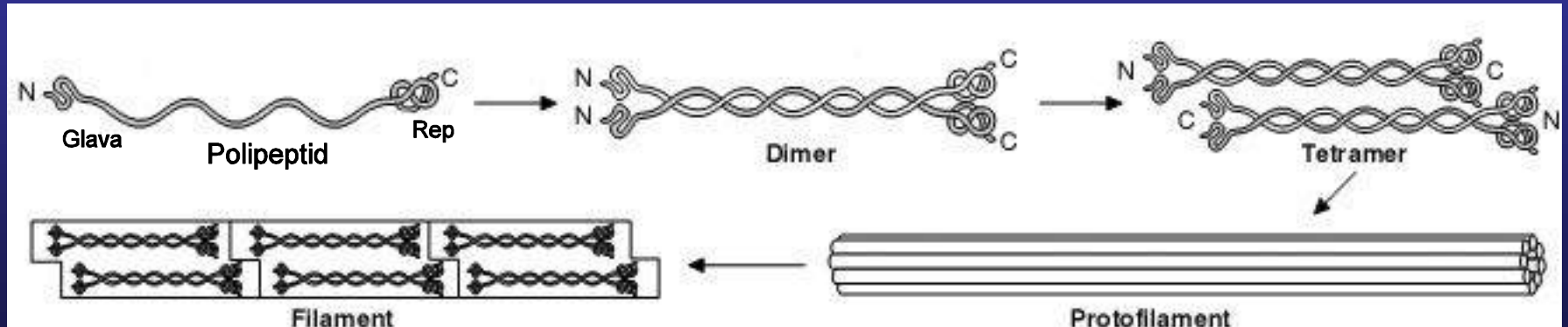
Tip	Protein	Lokalizacija
Tip I	Kiseli keratin	Različite epitelne ćelije sadrže različite keratine. Svaki tip ima poseban kiseli i poseban bazni keratin
Tip II	Bazni keratin	
Tip III	Vimentinu-slični Vimentin Desmin GFAP	Ćelije mezenhimalnog porekla Mišić Ćelije glije
Tip IV	Neurofilamenti (NF-L, NF-M, NF-H)	Neuroni, posebno dugi motorni aksoni
Tip V	Nuklearni lamini A, B i C	Jedarna lamina (unutrašnja potpora jedarnog omotača)
Tip VI	Nestin	Stem ćelije CNS-a

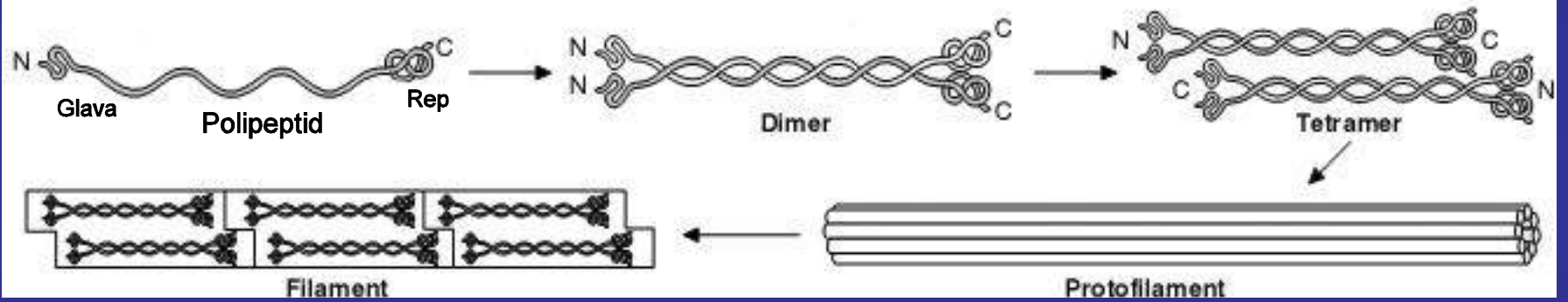
Nastajanje citokeratinskog filamenta

Centralno vlakno keratinskog monomera je uobičajeno α -helikoidalne strukture. Specifični kiseli keratinski monomer se udružuje sa specifičnim baznim keratinskom monomerom i dobija se uvijeni heterodimer.

Dva dimera u antiparalelnoj organizaciji formiraju tetramer, a tetrameri se organizuju u smeru glava-rep i daju protofilamente. Otprilike 8 protofilamenata daje filament.

Filament je deblji od aktinskog vlakna , ali tanji od mikrotubula





HEMIJSKI SASTAV BIOLOŠKIH MEMBRANA

- Biohemijski sastav i organizacija plazma membrane
- Molekuli i molekularni mehanizmi uključeni u procese endocitoze i egzocitoze
- Čelijski kompartmenti
 - Morfološke i funkcionalne „jedinice“ (organela *vs.* sistem, primer: endoplazmatski retikulum kao mesto sinteze proteina *vs.* celokupni sistem egzocitoze proteina = endoplazmatski retikulum + Golđi aparat + egzocitozne vakuole)
 - Biohemijske specifičnosti čelijskih kompartmana (proteini, enzimi, pH...)
- Jedarna membrana
- Spoljašnja i unutrašnja membrana mitohondrija
- Patofiziološki i patološki procesi kao posledice oštećenja čelijskih membrana
 - Poremećaji u prenosu signala
 - Nervne ćelije (npr. poremećaji provodljivosti)
 - Nedostatak ili neodgovarajuća funkcija receptora (npr. hiposenzitivnost insulinskih receptora)
 - Oštećenje membrane i čelijska smrt
 - Nekroza
 - Apoptoza (membranski „receptori signala za smrt“ - TNFalfa, Fas; oštećenje unutrašnje mitohondrijalne membrane i pokretanje procesa apoptoze zbog izlaska malih molekula - citohrom c, AIF)
 - Autofagija

Ćelijske membrane odvajaju unutrašnjost ćelije (unutarćelijski prostor) od njenog okruženja (vanćelijski prostor). **Izgrađene su od kontinuiranog lipidnog dvosloja u koji su ugrađeni proteini.**

Membrane ćelijskih organela (endoplazmatski retikulum, Goldži aparat, mitohondrije i druge membranom definisane organele) omogućavaju i garantuju održavanje razlike u sastavu sadržaja same organele i citoplazme.

U svim ćelijama, proteini deluju kao "senzori" koji su prisutni na plazma membrani. Oni primaju i odgovaraju na signale iz okoline; ovi proteini imaju ulogu u prenosu informacija ili signala kroz membranu.

Sve membrane imaju sličnu strukturu svaka se sastoji iz tankog lipidnog dvosloja (fosfolipidi i holesterol) i proteina koji su uronjeni u ovaj dvosloj. Strukture koje čine membranu su međusobno povezane sa **ne-kovalentnim vezama**.

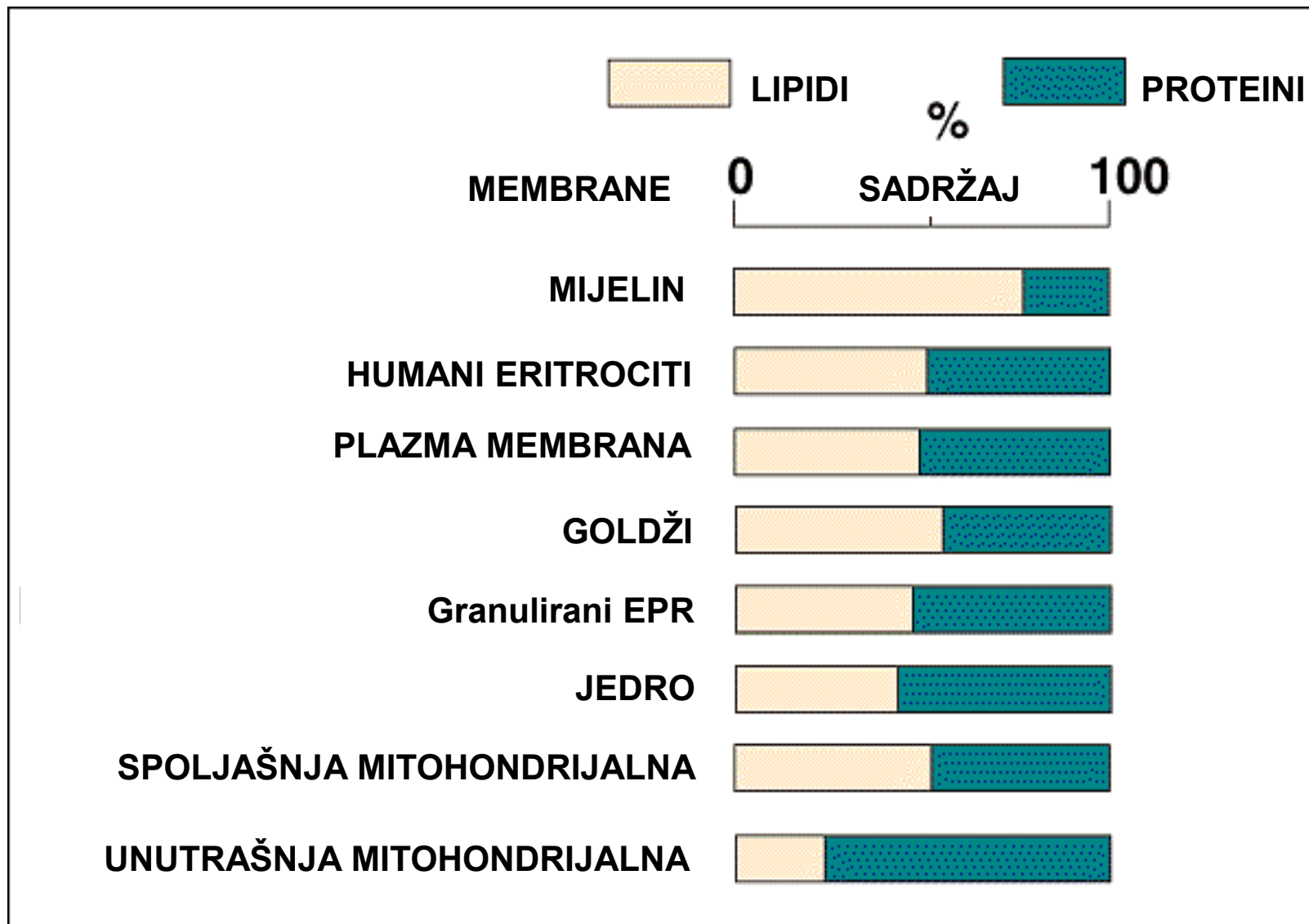
Ćelijske membrane su dinamične, fluidne, strukture (**fluidni mozaik**), obzirom da su izgrađene od mozaika lipida i proteina koji uglavnom mogu da se kreću u planarnoj ravni same membrane.

Lipidni molekuli izgrađuju kontinuirani lipidni dvosloj, debljine oko 5 nm. Ovaj lipidni dvosloj formira osnovu fluidne strukture membrane i deluje kao relativno nepropustljiva barijera za većinu hidrosolubilnih molekula.

Molekuli proteina u membrani su odgovorni za njene specifične uloge: oni predstavljaju transportere za specifične molekule, mogu biti katalizatori (sinteza ATP-a), imaju ulogu u povezivanju sa komponentama citoskeleta i vanćelijskog matriksa ili susednih ćelija, imaju funkciju receptora koji detektuju i prenose hemijske signale iz okoline...

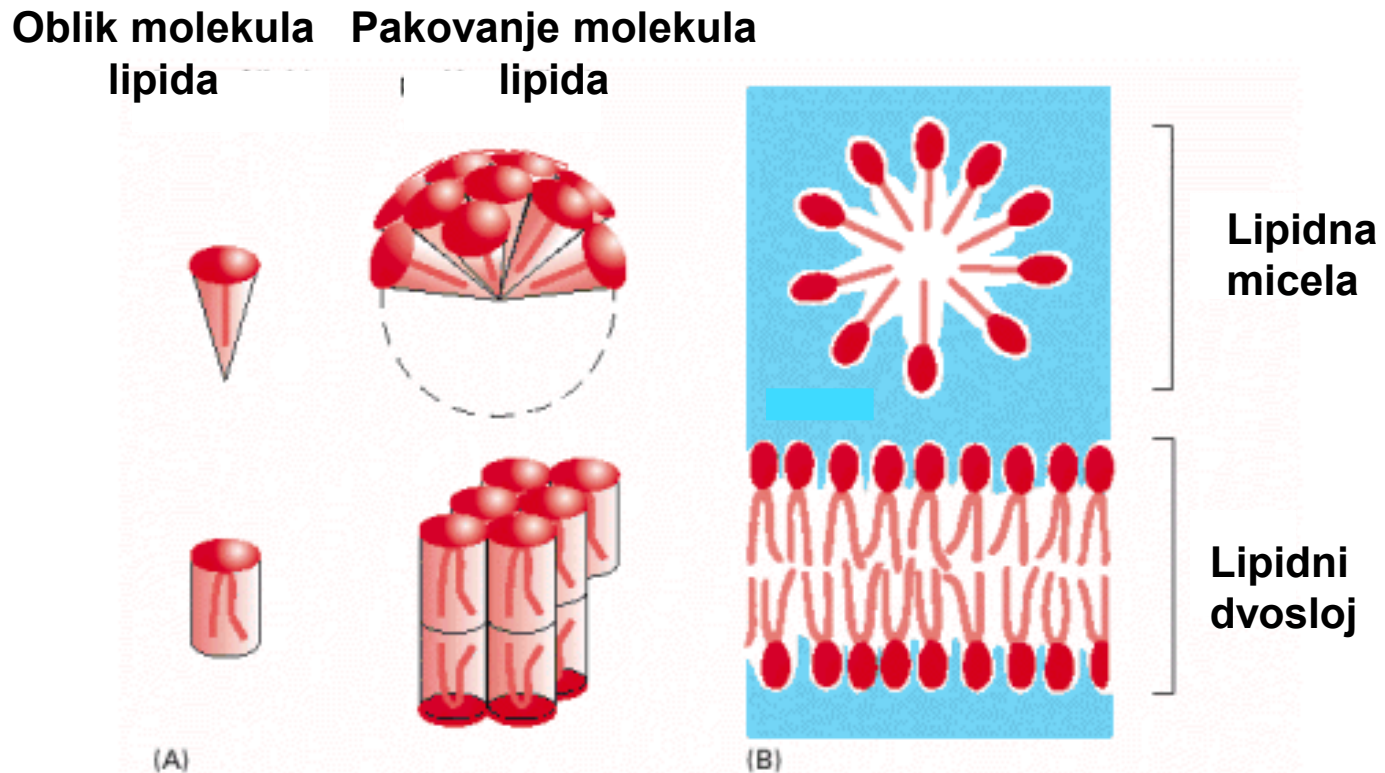
Da bi mogli da vrše sve ove uloge, potrebno je mnogo međusobno različitih proteina. Procenjeno je da je oko 30% genoma uključenog u sintezu proteina aktivno u sintezi membranskih proteina.

PROCENAT LIPIDA I PROTEINA U RAZLIČITIM BIOLOŠKIM MEMBRANAMA



LIPIDI U ĆELIJSKIM MEMBRANAMA

Osnovnu ćelijskih membrana čine složeni lipidi – **fosfolipidi**. To su amfipatični molekuli koji su izgrađeni od 2 lanca masnih kiselina (hidrofoban deo molekula) povezanih sa polarnom glavom (hidrofilan deo molekula) koja sadrži fosfat.



Lipidi čine približno oko 50% mase većine ćelijskih membrana, iako ovaj udeo zavisi od tipa membrane. Plazma membrane na primer sadrže približno oko 50% lipida i 50% proteina.

Unutrašnja membrana mitohondrija sadrži visoki udeo (oko 75%) proteina što odražava značaj proteinskih kompleksa koji čine elektron transportni lanac i koji su uključeni u oksidativnu fosforilaciju.

Sastav lipida između različitih membrana takođe varira.

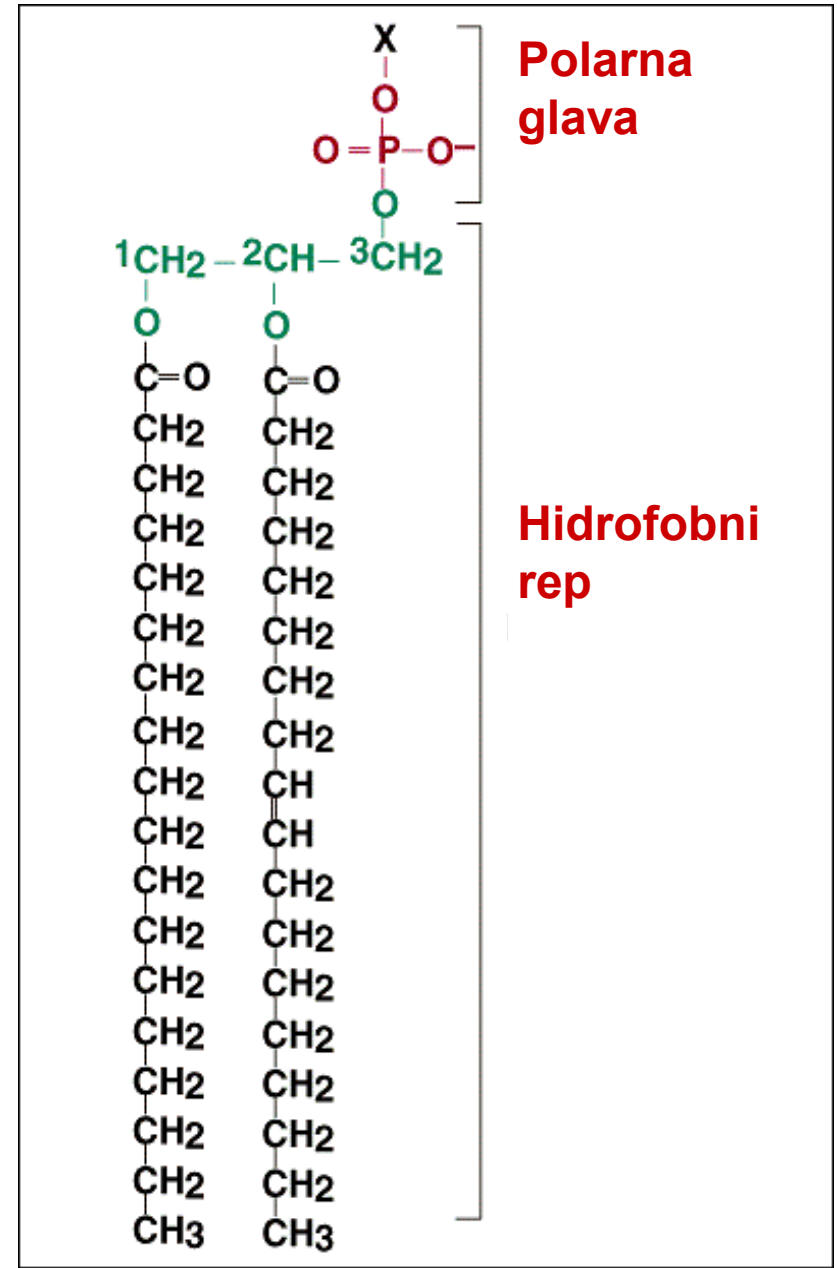
Plazma membrane sisara su složene, i sadrže četiri glavna fosfolipida – fosfatidilholin, fosfatidilserin, fosfatidiletanolamin i sfingomijelin koji čine oko 50 do 60% ukupnih membranskih lipida.

Struktura glicerofosfolipida

Osnovu strukture čini **glicerol** koji je **esterifikovan sa fosfornom kiselinom** na $C\alpha$ dok su ostali C atomi **esterifikovani sa dve dugolančane masne kiseline**.

Esterifikacija $C\alpha$ sa fosfornom kiselinom čini molekul **asimetričnim**.

Kada je fosforna komponenta **fosfatidne kiseline** esterifikovana sa nekim molekulom koji sadrži OH grupu (**serin, etanolamin, holin, glicerol i inozitol**- uz formiranje **fosfodiesterne veze**) nastaju odgovarajući glicerofosfolipidi.



MASNE KISELINE KOJE ULAZE U STRUKTURU GLICEROFOSFOLIPIDA

Najčešće su to:

Palmitinska kiselina; C16,

Palmitoleinska kiselina; C16, nezasićena (*cis* 9)

Stearinska kiselina; C18

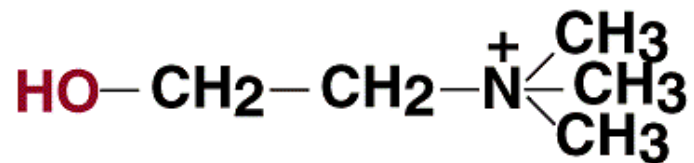
Oleinska kiselina; C18, nezasićena (*cis* 9)

Linoleinska kiselina; C18, nezasićena (*cis, cis* 9,12)

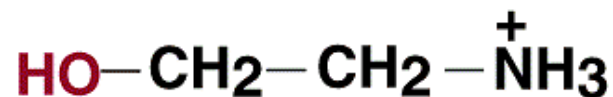
Linolenska kiselina; C18, nezasićena (*cis, cis, cis* 9,12, 15)

Arahidonska kiselina; C20 (*cis, cis, cis, cis* 5, 8, 12, 14)

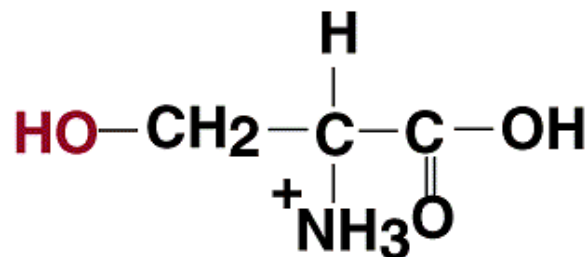
HOLIN



ETANOLAMIN

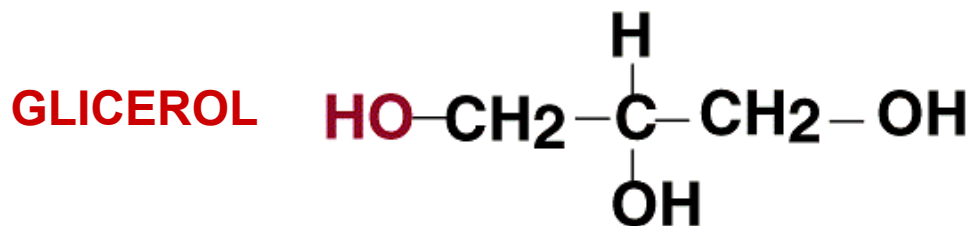


SERIN

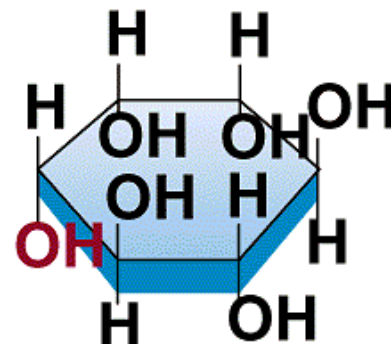


Struktura glavnih alkohola kojima je esterifikovana fosfatidna kiselina u glicerofosfolipidima

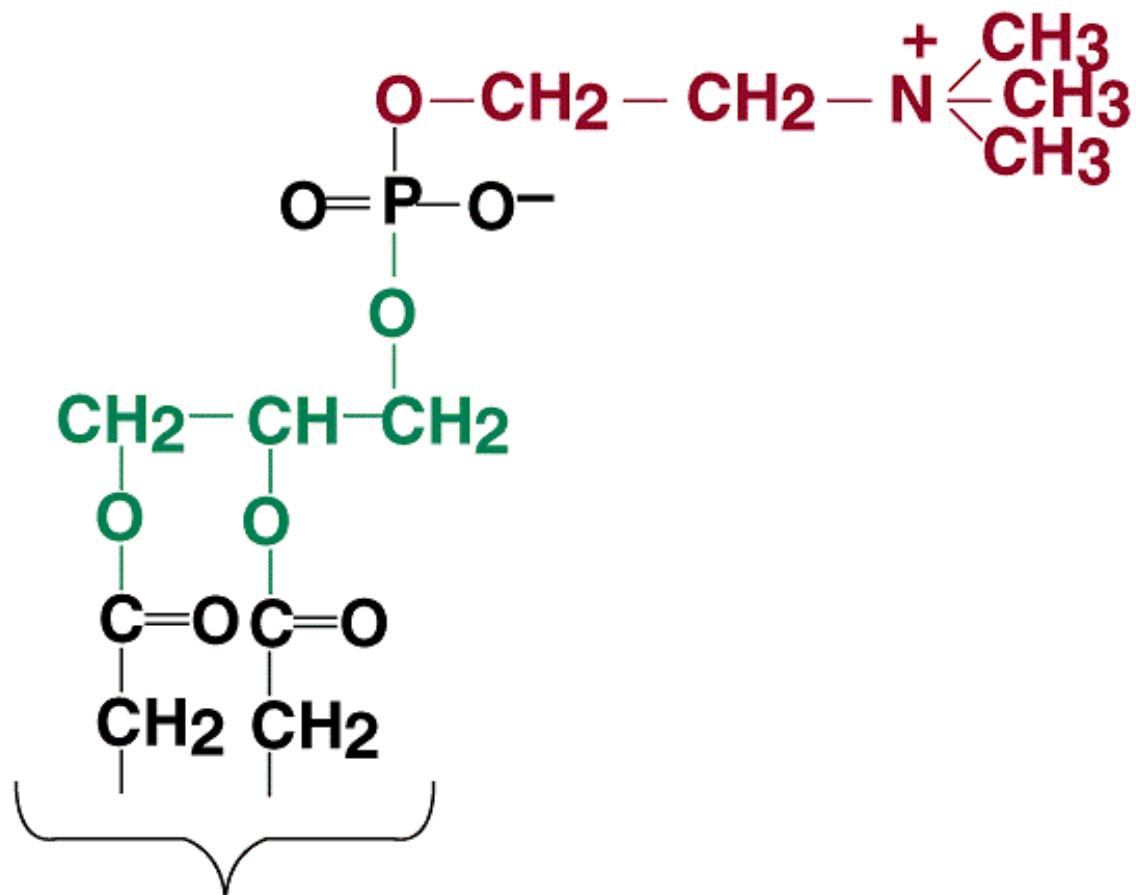
GLICEROL



INOZITOL

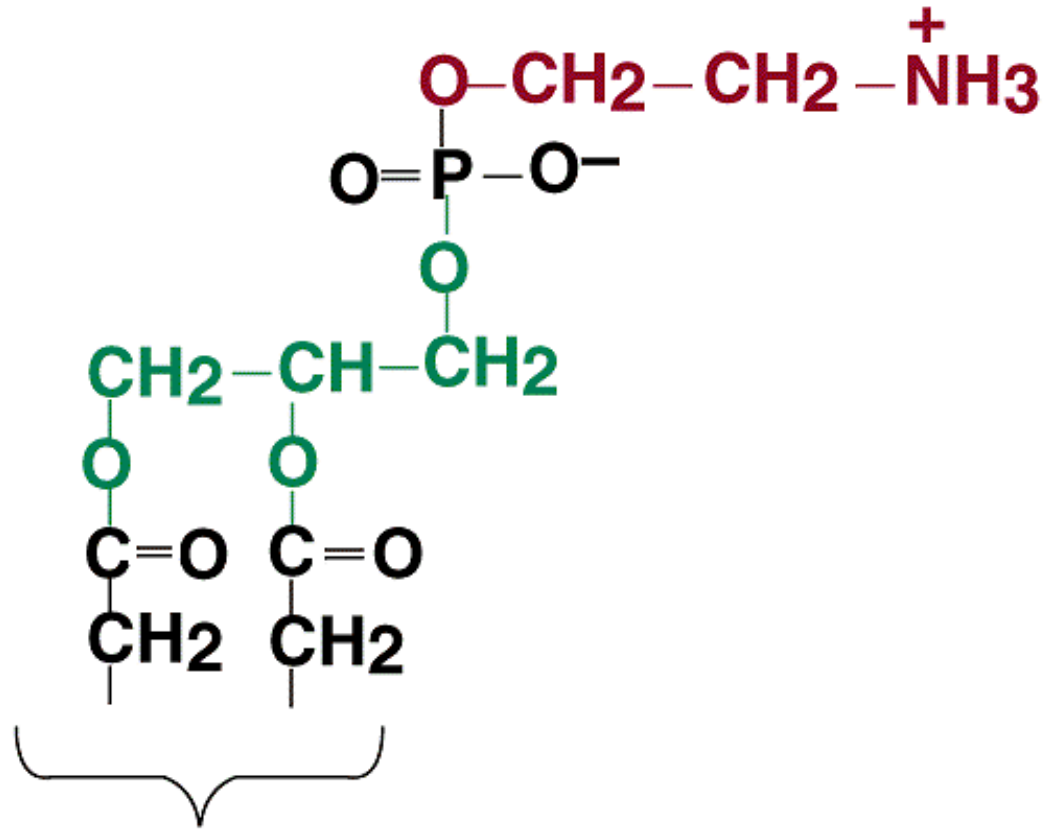


Jedan od dva glavna glicerofosfolipida



Dugačak alifatični lanac
FOSFATIDILHOLINA

Drugi od dva glavna glicerofosfolipida

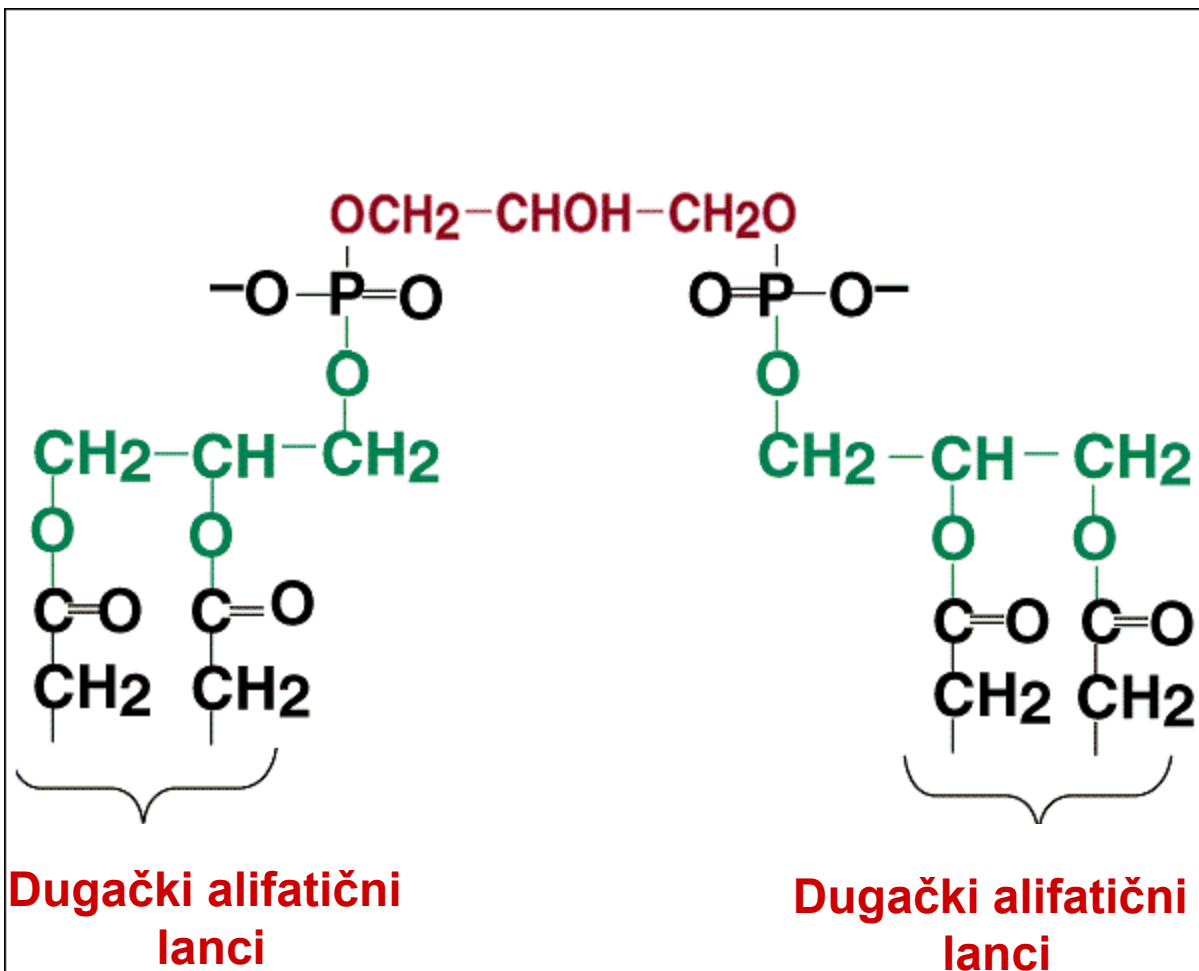


Dugačak alifatični lanac
FOSFATIDILETANOLAMINA

Fosfatidilglicerol - fosfoglicerid (kardiolipin)

Sadrži dve fosfatidne
kiseline koje su
povezane glicerolom.

Prisutan je gotovo
isključivo u **unutrašnjoj**
membrani mitohondrija i
membrani bakterija.



Fosfatidil inozitol

Inozitol-heksahidroksilni alkohol koji je esterifikovan fosfornom kiselinom.

4 fosfo i 4,5 bisfosfoinozitol glicerofosfolipidi se nalaze u plazma membranama.

Diacilglicerol, sekundarni glasnik koji je uključen u prenos unutarćelijskih signala, može da bude izvor **inozitol trifosfata**.

NAELEKTRISANJE GLICEROFOSFOLIPIDA

Na fiziološkom pH, polarna glava glicerofosfolipida je naelektrisana negativno, obzirom na jonizaciju fosfatne grupe i naelektrisnje grupa koje su njome esterifikovane.

Holin i etanolamin glicerofosfolipidi su zwitterjoni zbog negativnog naelektrisanja fosfata i pozitivnog naelektrisanja azota.

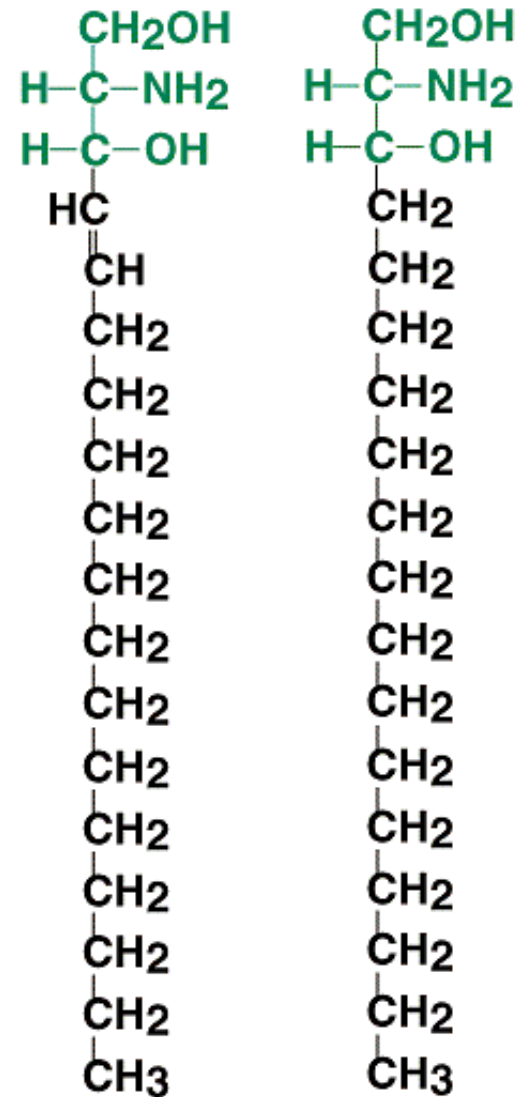
Fosfatidilserin ima dve negativne grupe-fosfatnu i COOH grupu serina i jednu pozitivnu - NH₂ grupa serina

Suprotno, glicerofosfolipidi koji sadrže inozitol ili glicerol imaju samo jedno negativno naelektrisanje-fosfatnu grupu.

- U sastav različitih membrana ulaze različiti glicerofosfolipidi
- U membrana različitih tkiva je različit sastav masnih kiselina u sastavu glicerofosfolipida

Struktura sfinfozina i dihidrosfinfozina

Amino alkoholi sfingozi i dihidrosfingozi su osnova sledeće grupe membranskih lipida - **SFINGOLIPIDA**

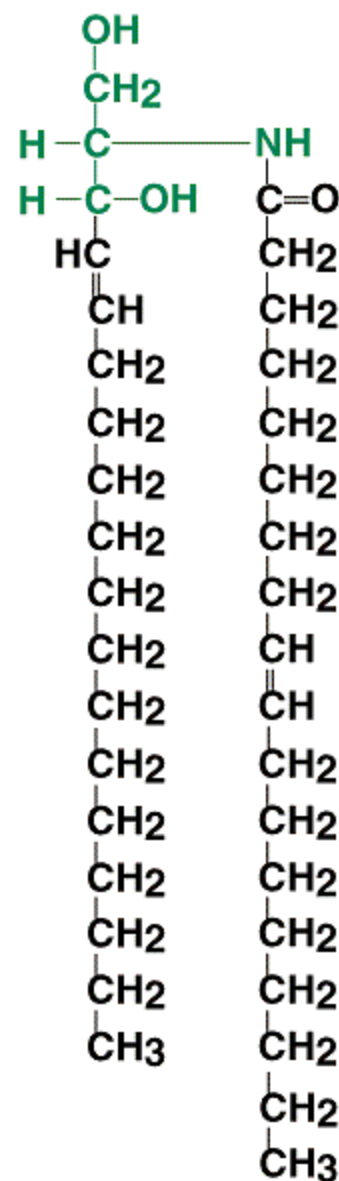


SFINGOZIN

DIHIDROSFINGOZIN

Struktura ceramida

**Ceramid je sfingozin koji
sadrži zasićene ili nezasićene
masne kiseline vezane
amidnom vezom za amino
grupu sfingozina. Ima 2
nepolarna repa. OH grupa na
položaju C1 može biti
supstituisana sa različitim
grupama.**



Ceramid + fosfatidilholin

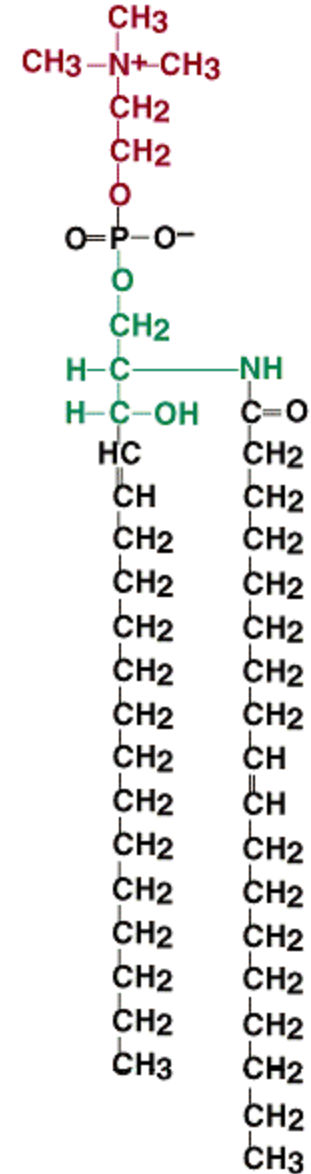
SFINGOMIJELIN- je ceramid koji esterifikovan na C1 sa fosfatidilholinom.

Sfingomijelin je amfipatičan molekul, sa naelektrisanom polarnom glavom.

Sfingomijelin i glicerofosfolipidi se klasifikuju kao FOSFOLIPIDI.

Sfingomijelin koji ulazi u sastav mijelina sadrži uglavnom duže masne kiseline (C24).

Kao i kod glicerofosfolipida, postoji različit sadržaj masnih kiselina u sfingomijelinu, zavisno od tkiva.

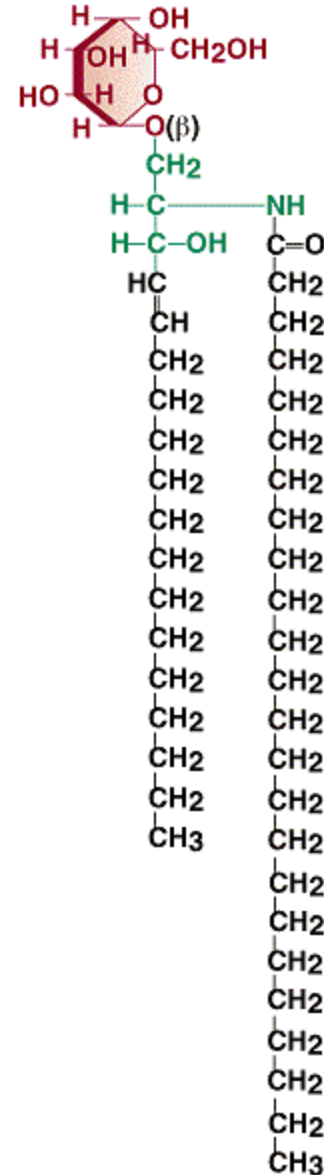


Galaktocerebrozid -sadrži masnu kiselinu C24

GLIKOSFINGOLIPIDI ne sadrže fosfat ali imaju šećer koji je β -glikozidnom vezom vezan za OH grupu C1 ceramida.

U njih spadaju **CEREBROZIDI** (glukoza ili galaktoza vezane za ceramid). Galaktocerebrozidi se uglavnom nalaze u mozgu i nervnom tkivu.

Cerebrozidi uglavnom sadrže masne kiseine sa C26.

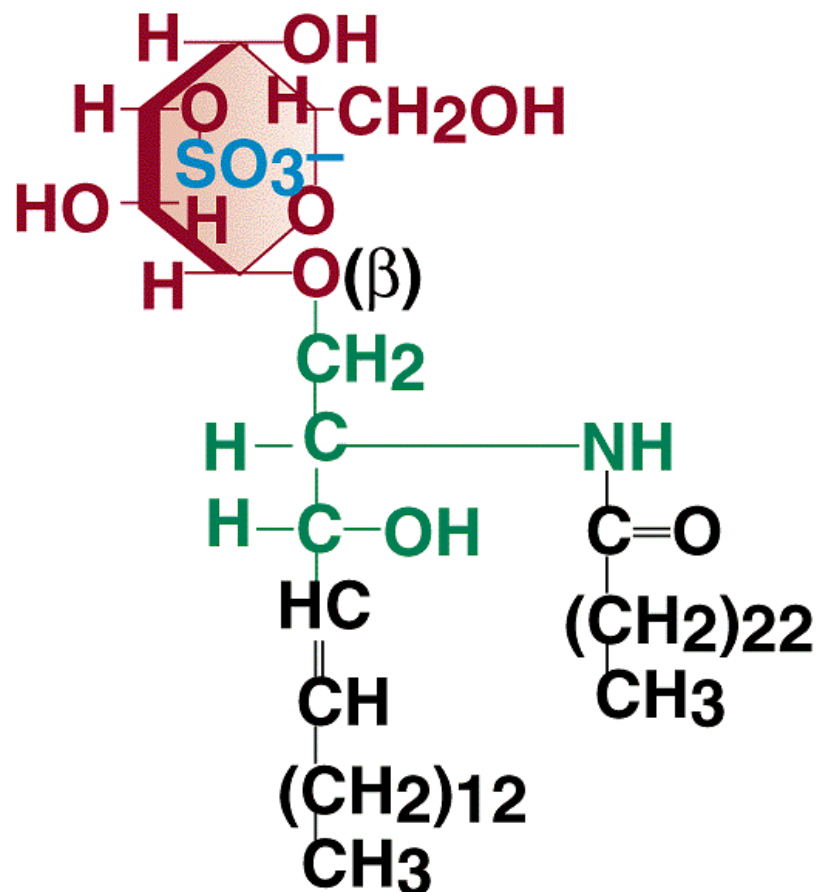


Struktura sulfatida

U **GLIKOSFONGOLIPIDE** spadaju i **SULFATIDI**.

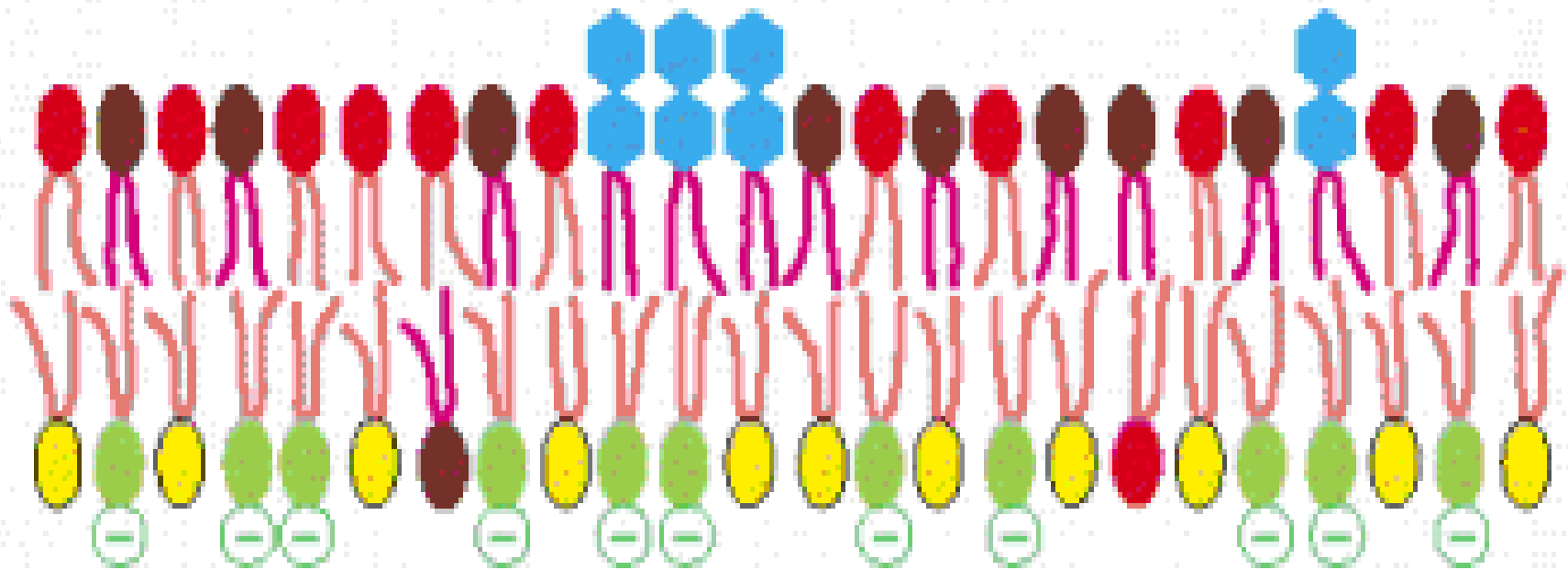
To su cerebrozidi koji sadrže sulfatnu grupu na položaju C3 šećerne komponente.

Najsloženiju grupu glikosfingolipida čine **GANGLIOZIDI** koji sadrže oligosaharidnu polarnu grupu sa jednom ili više molekula sijalinske kiseline. To su lipidi membrana mozga, amfipatični molekuli sa negativnim naelektrisanjem na fiziološkom pH.



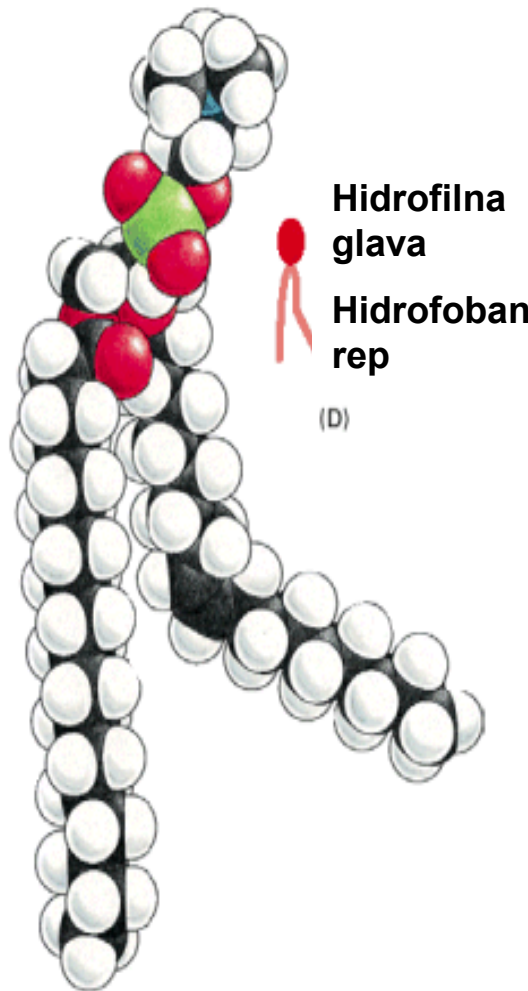
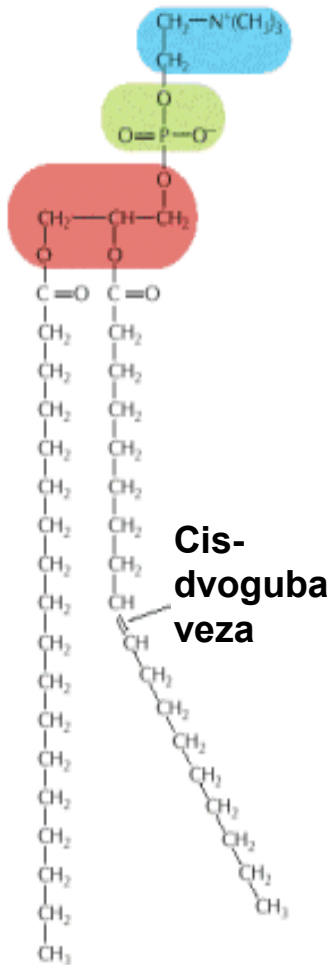
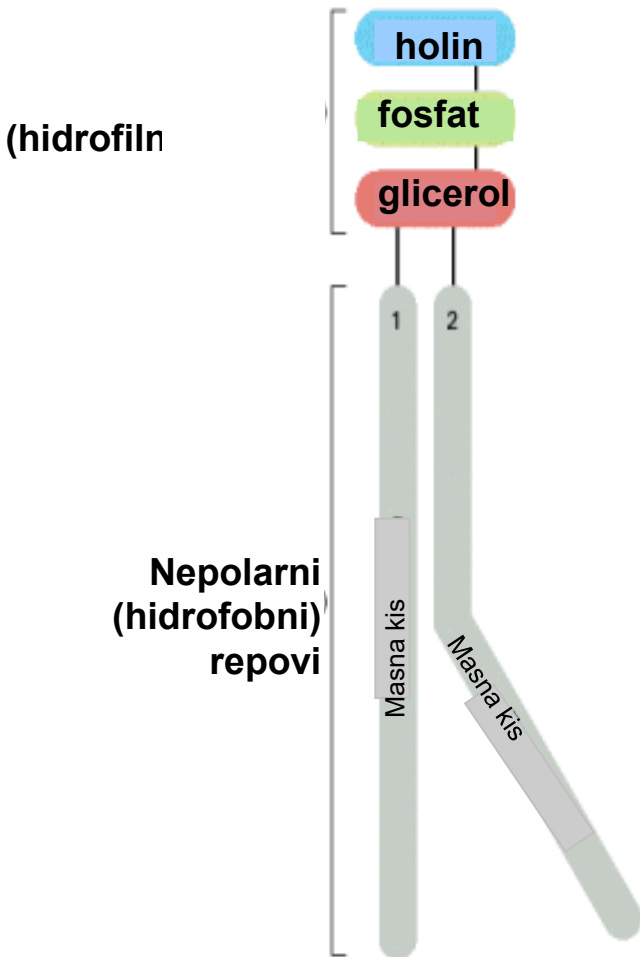
POLOŽAJ FOSFOLIPIDA U ĆELIJSKOJ MEMBRANI

VANĆELIJSKI MATRIKS



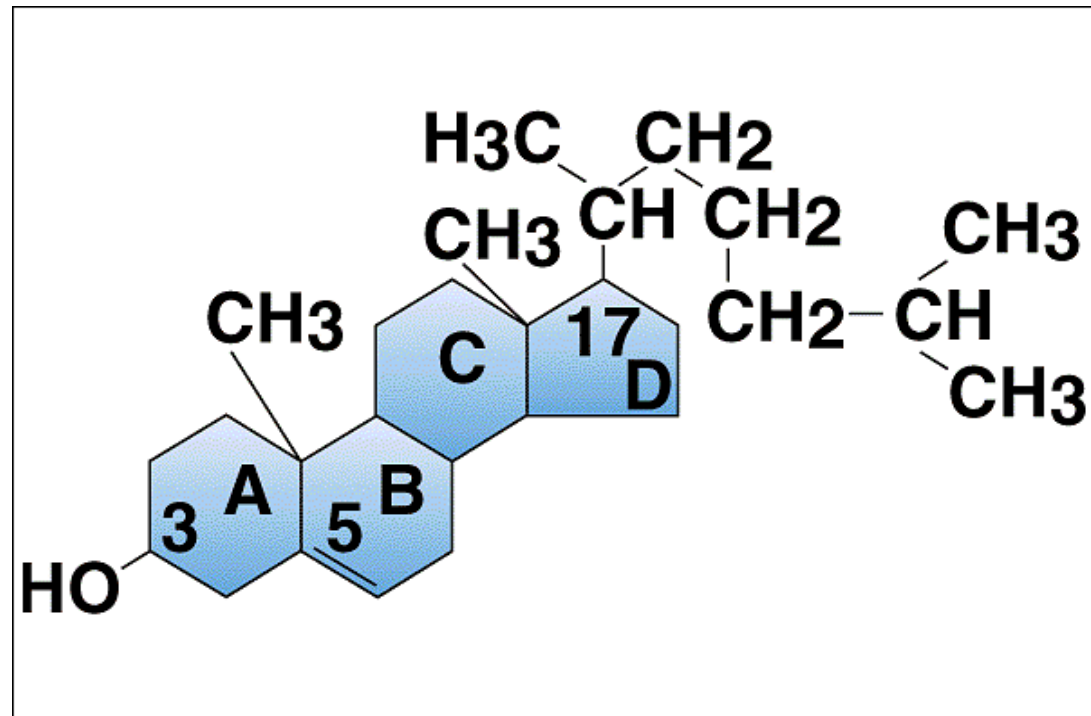
CITOSOL

LIPIDNI DVOSLOJ JE DVODIMENZIONALNI FLUID

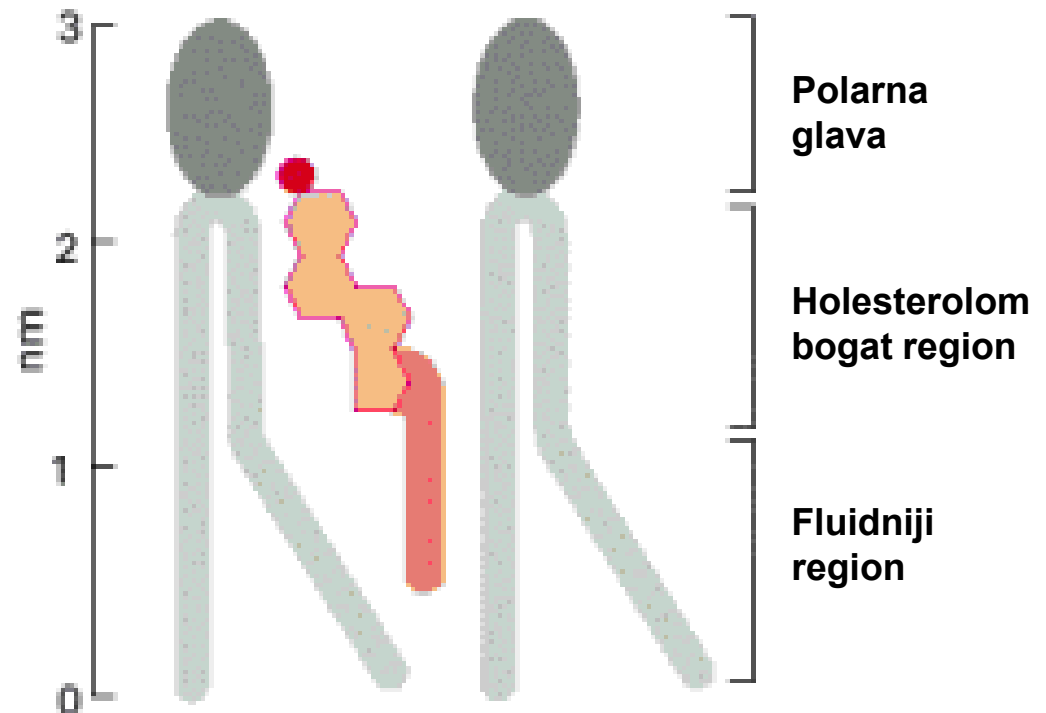
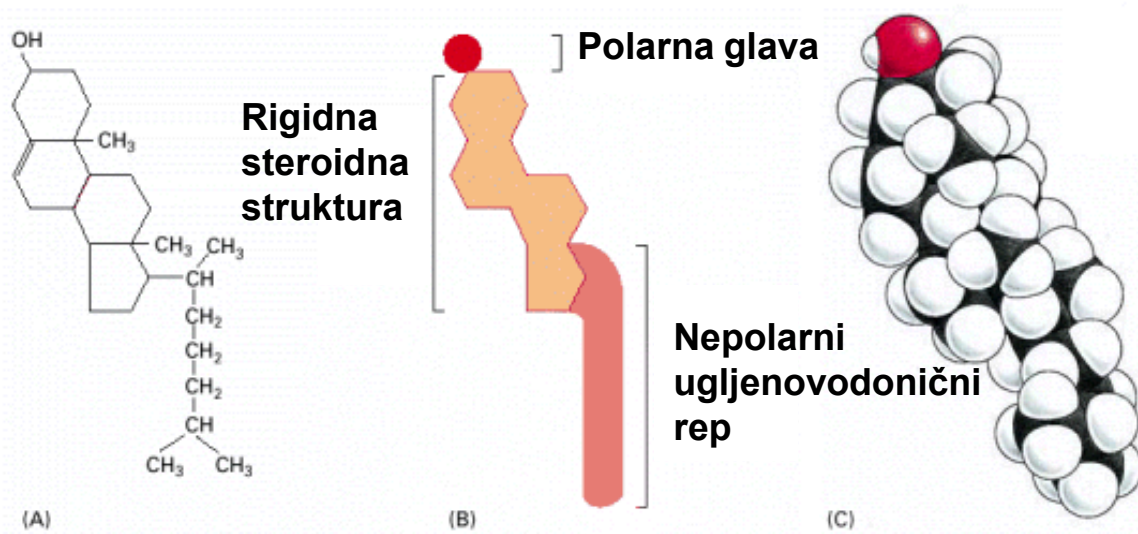


Struktura holesterola

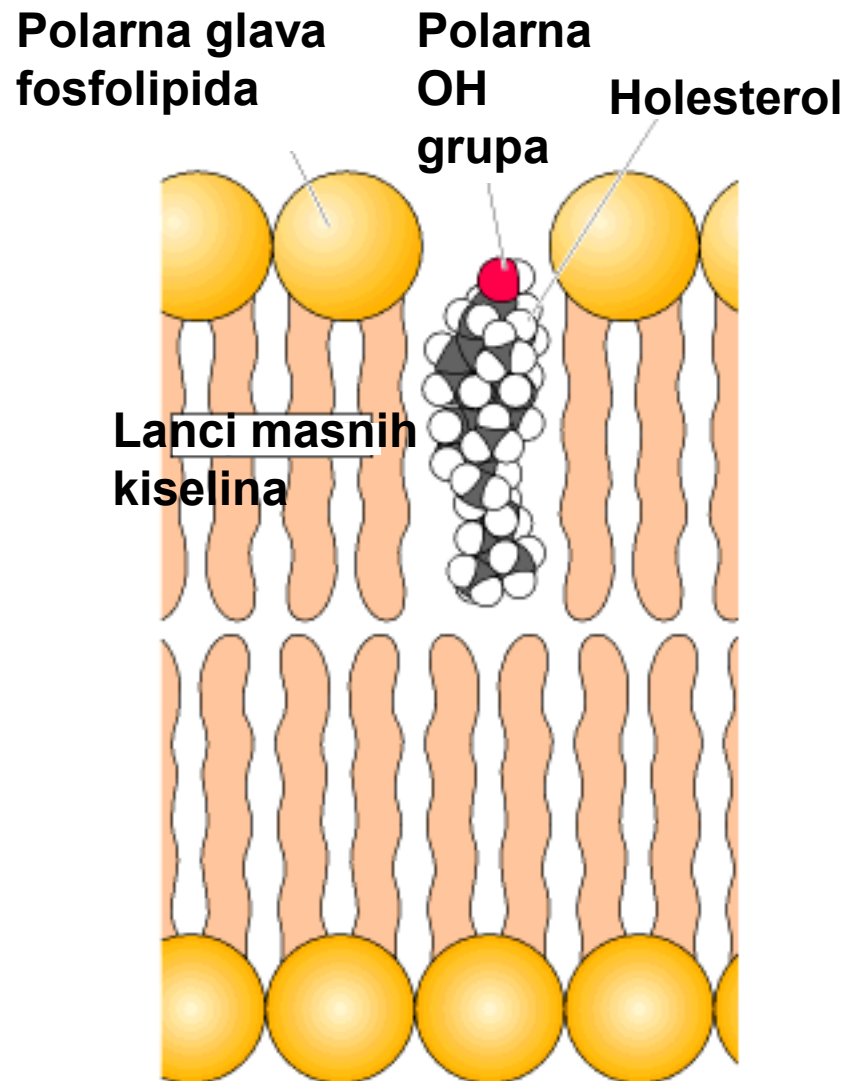
Pored glicerofosfolipida i sfingolipida u sastav membrana ulazi i holesterol. Prema svojoj strukturi, to je rigidan, kompaktan, hidrofoban molekul.



HOLESTEROL I FLUIDNOST MEMBRANE

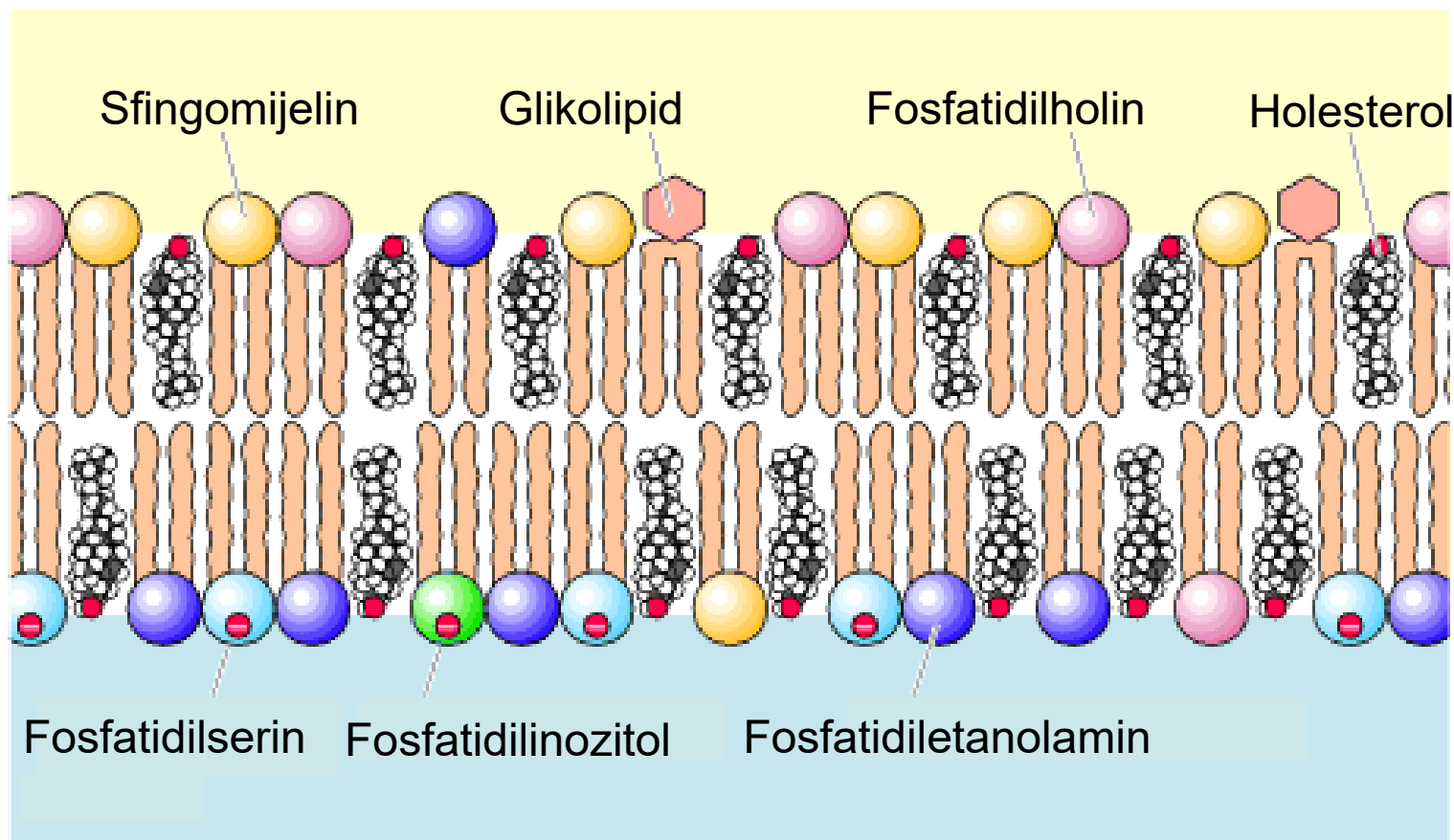


UGRAĐIVANJE HOLESTEROLA U MEMBRANU



POLOŽAJ LIPIDA U ĆELIJSKOJ MEMBRANI

Van ćelije



SPECIFIČNOSTI SASTAVA MEMBRANA

Različite membrane- Kvalitativno različiti sastav

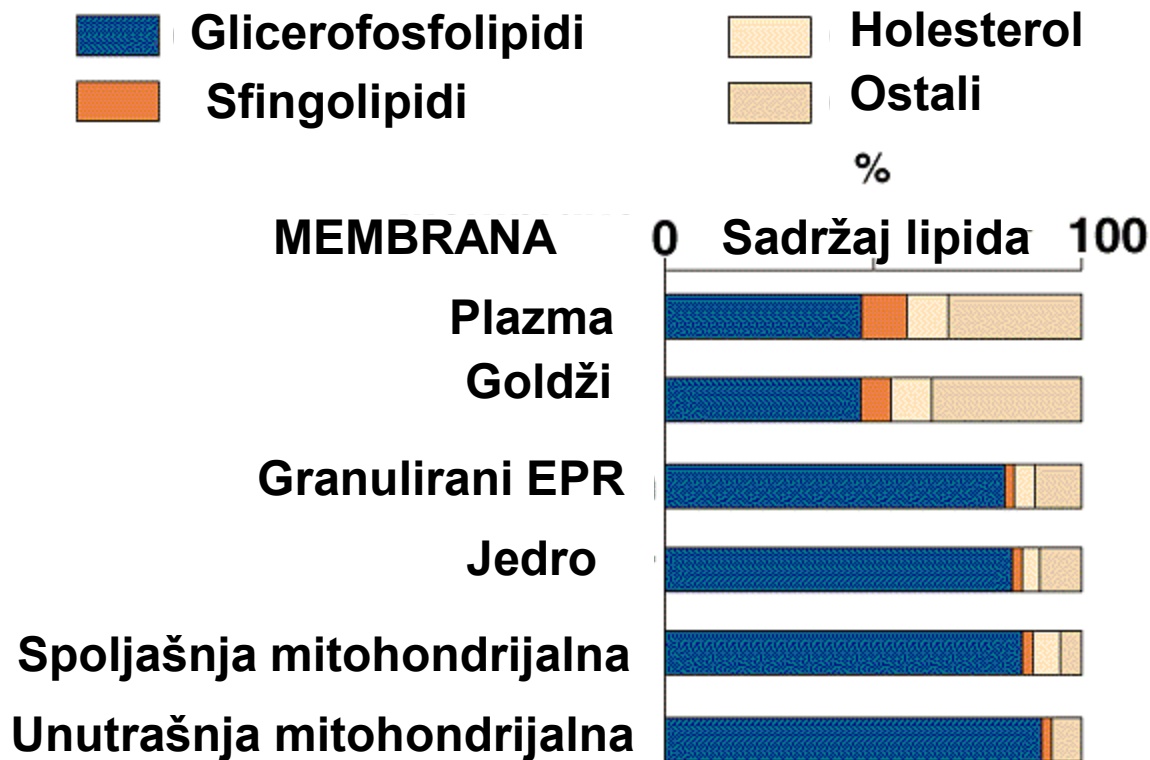
Sastava unutarćelijskih membrana specifičnog tkiva se gotovo ne razlikuje između različitih vrsta.

Najveće razlike u sastavu membrana između različitih vrsta su plazma membrane i to zbog sadržaja holesterola-zavisno od unosa

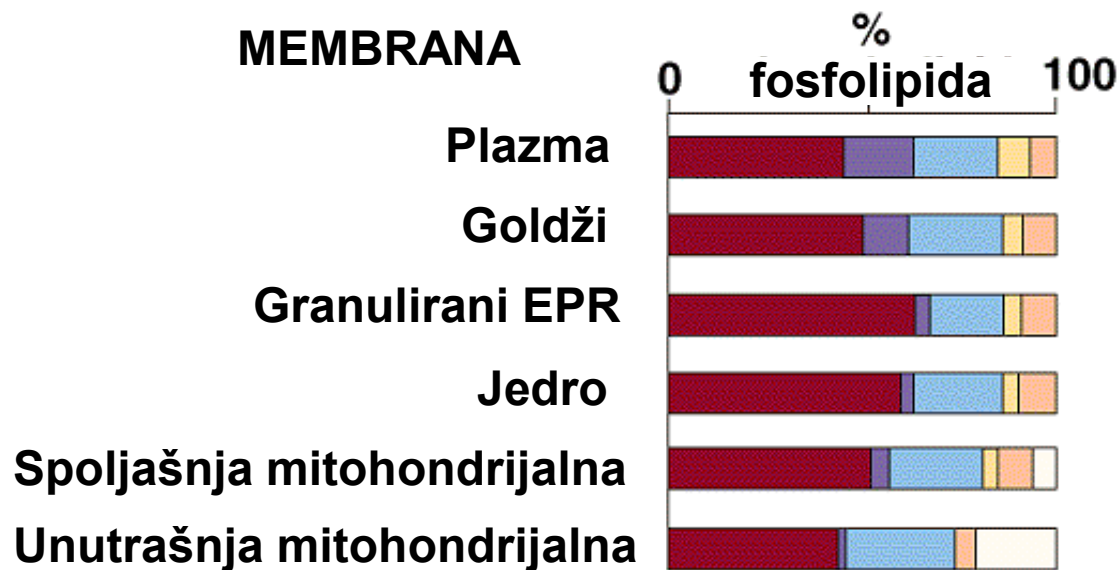
Plazma membrane imaju najveći sadržaj neutralnih lipida i sfingolipida

Unutarćelijske membrane uglavnom sadrže glicerofosfolipide i malo sfingolipida i holesterola

SADRŽAJ POJEDINIH LIPIDA U RAZLIČITIM MEMBRANAMA (JETRA PACOVA)



SADRŽAJ POJEDINIH FOSFOLIPIDA U RAZLIČITIM MEMBRANAMA (JETRA PACOVA)



UGLJENI HIDRATI U MEMBRANAMA

Ugljeni hidrati u membrani su uglavnom **oligosaharidi** koji mogu biti kovalentno vezani za proteine membrane (**glikoproteini**) ili u manjoj meri za lipide (**glikolipidi**). Čelijski omotač (**glikokaliks**) čine oligosaharidni bočni lanci glikoproteina i polisaharidi integralnih proteoglikana. Ovaj omotač štiti ćeliju od mehaničkog i hemijskog oštećenja. Pored toga, ostaci ugljenih hidrata imaju ulogu u prepoznavanju ćelija.

Šećeri koji ulaze u sastav glikoproteina u glikolipida su **glukoza, galaktoza, manaza, fukoza, N-acetil glukozamin, N-acetil galaktozamin i sialinska kiselina**.

Ugljeni hidrati se nalaze na spoljašnjoj strani plazma membrane ili na luminalnoj strani ER.

Njihove uloge su adhezija ćelije, prepoznavanje ćelije sa ćelijom i uloga receptora.

MEMBRANSKI PROTEINI

Dele se prema lakoći kojom se uklanjaju iz membrane

PERIFERNI PROTEINI - uglavnom su enzimi i ne sadrže lipidnu komponentu. Labavo vezani za membranu i mogu se odvojiti procedurama u kojima se ne narušava lipidni dvosloj

INTEGRALNI PROTEINI - uglavnom sadrže lipidnu komponentu. Integralni proteini imaju hidrofobnu sekvencu AK koja formira hidrofobni domen na nivou tercijerne strukture. Ovi hidrofobni regioni reaguju sa hidrofobnim ugljovodoničnim delovima lipida i stabilizuju kompleks lipid-protein. Čvrsto su vezani za lipide membrane ili druge membranske proteine i teško se izdvajaju iz membrane.

Uloge membranskih proteina: enzimi, receptori, transporteri, održavanje oblika ćelije (eritrociti), prepoznavanje drugih ćelija

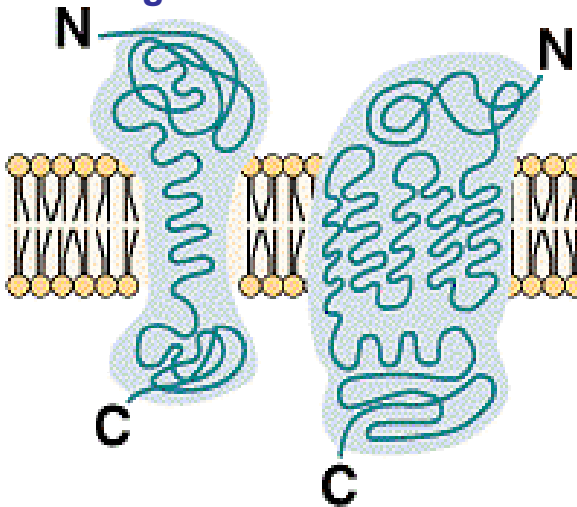
INTERAKCIJE MEMBRANSKIH PROTEINA SA LIPIDINIM DVOSLOJEM

Integralni membranski proteini

Periferni membranski proteini

Vanćelijska
strana

Pojedinačni
transmembranski
segment



Multipli
transmembranski
segment

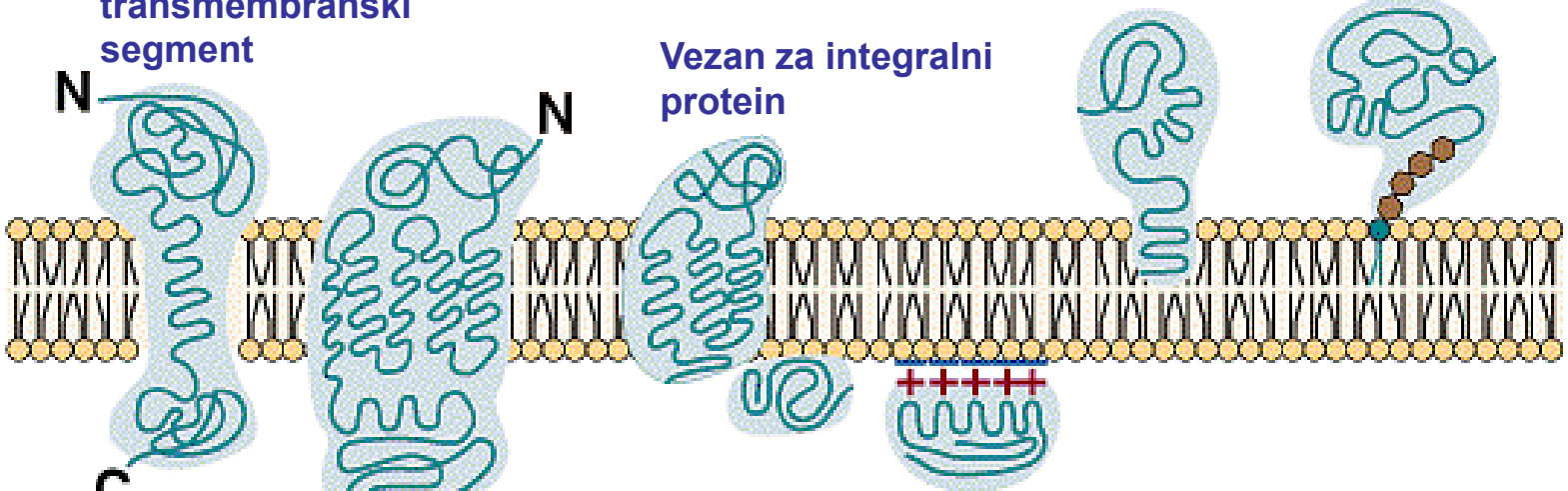
Unutarćelijska
strana

Vežan za integralni
protein

Vežan kratkom
hidrofobnom
sekvencom AK

Vežan kratkom
hidrofobnom
sekvencom AK

Vežan
elektrostatskim
silama za
lipidni dvosloj



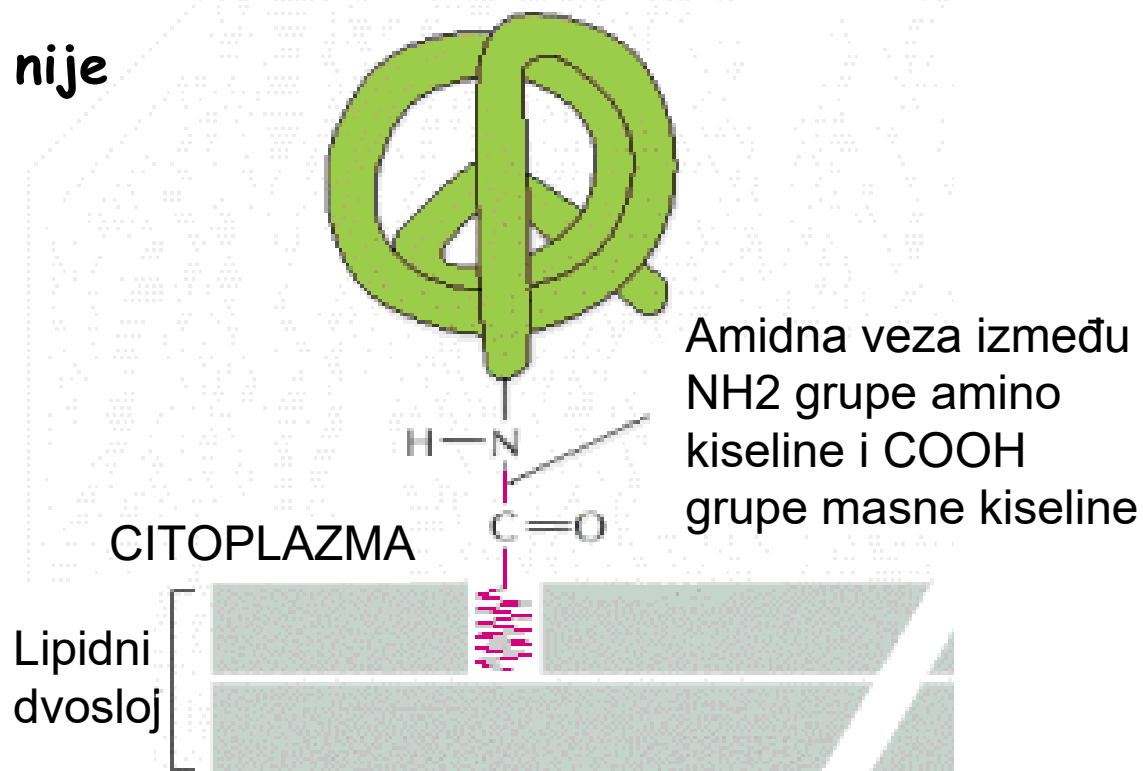
PERIFERNI PROTEINI

Neki su vezani za integralne proteine

Neki preko fosfatidilinozitola koji ima ulogu sidra

Njihov položaj u membrani nije slučajan.

Protein usidren u membranu preko veze sa masnom kiselinom

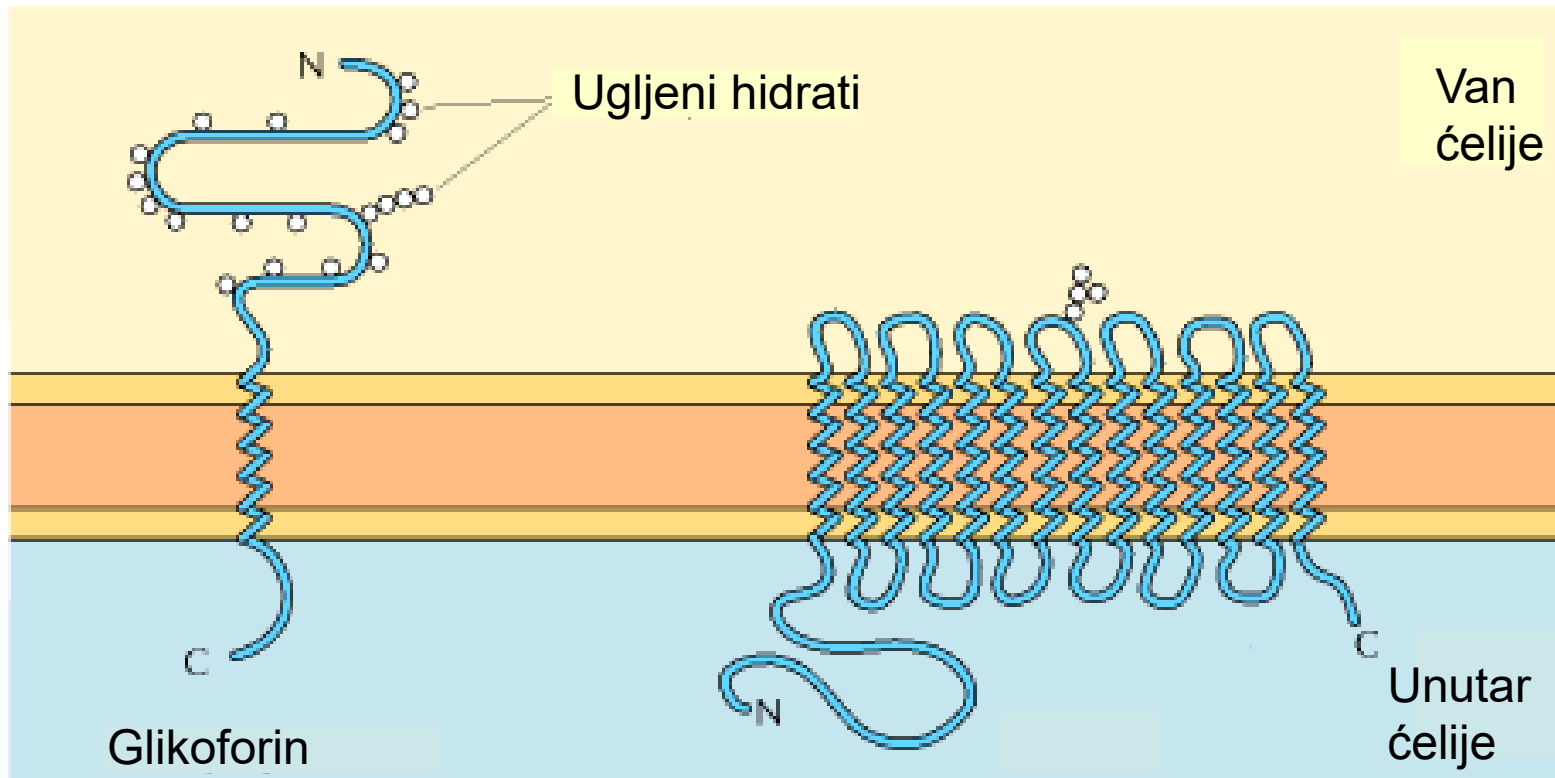


INTEGRALNI MEMBRANSKI PROTEINI

Helikoidne transmembranske sekvence

Imaju specifične domene, za vezivanje liganda, katalitičku aktivnost, vezivanje ugljenih hidrata ili lipida.

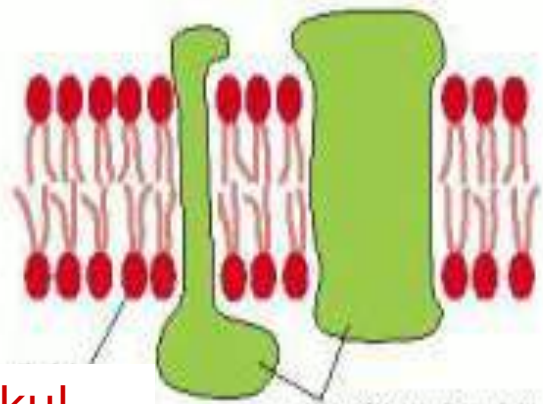
Mnogima je neophodno prisustvo membranskog lipida da bi ispoljili svoju aktivnost (npr jonske pumpe-prisustvo holesterola)



LIPIDNI DVOSLOJ

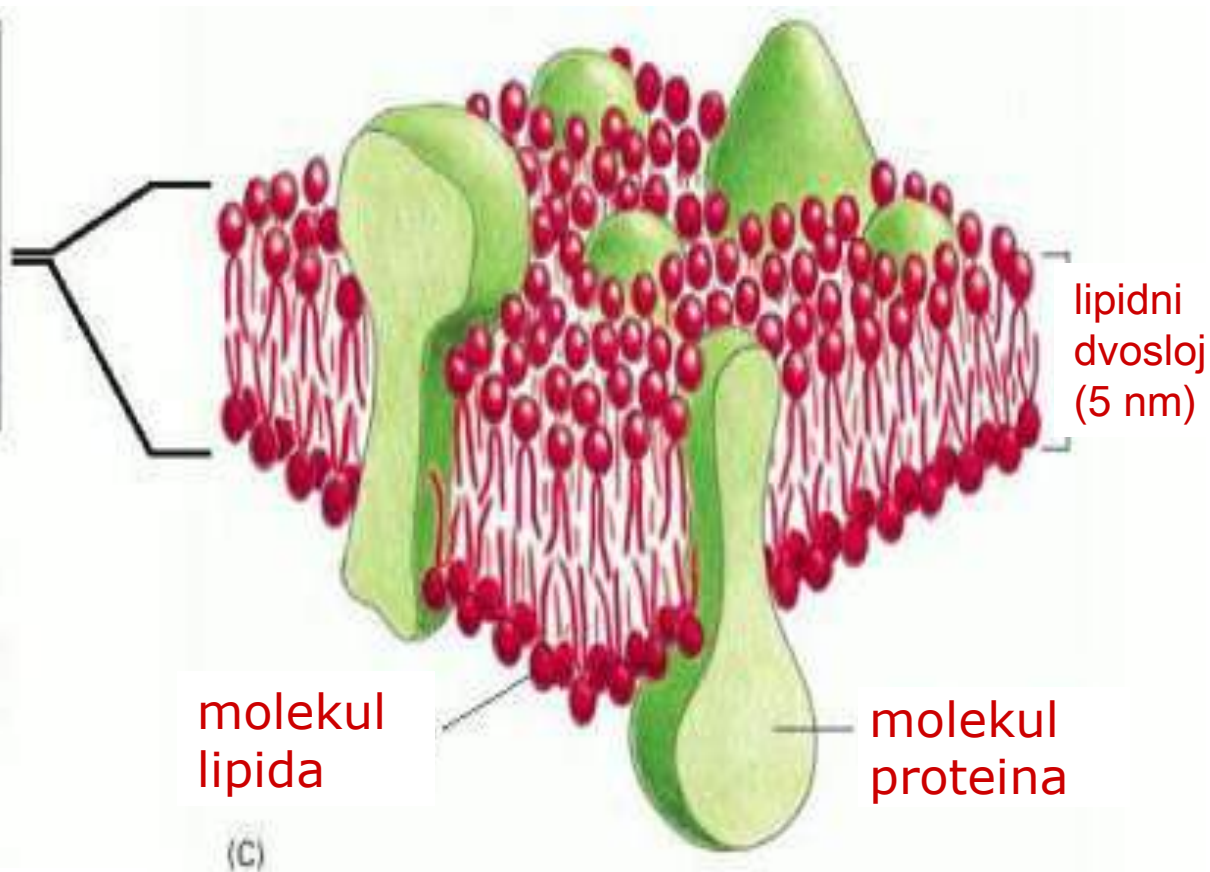


(A)

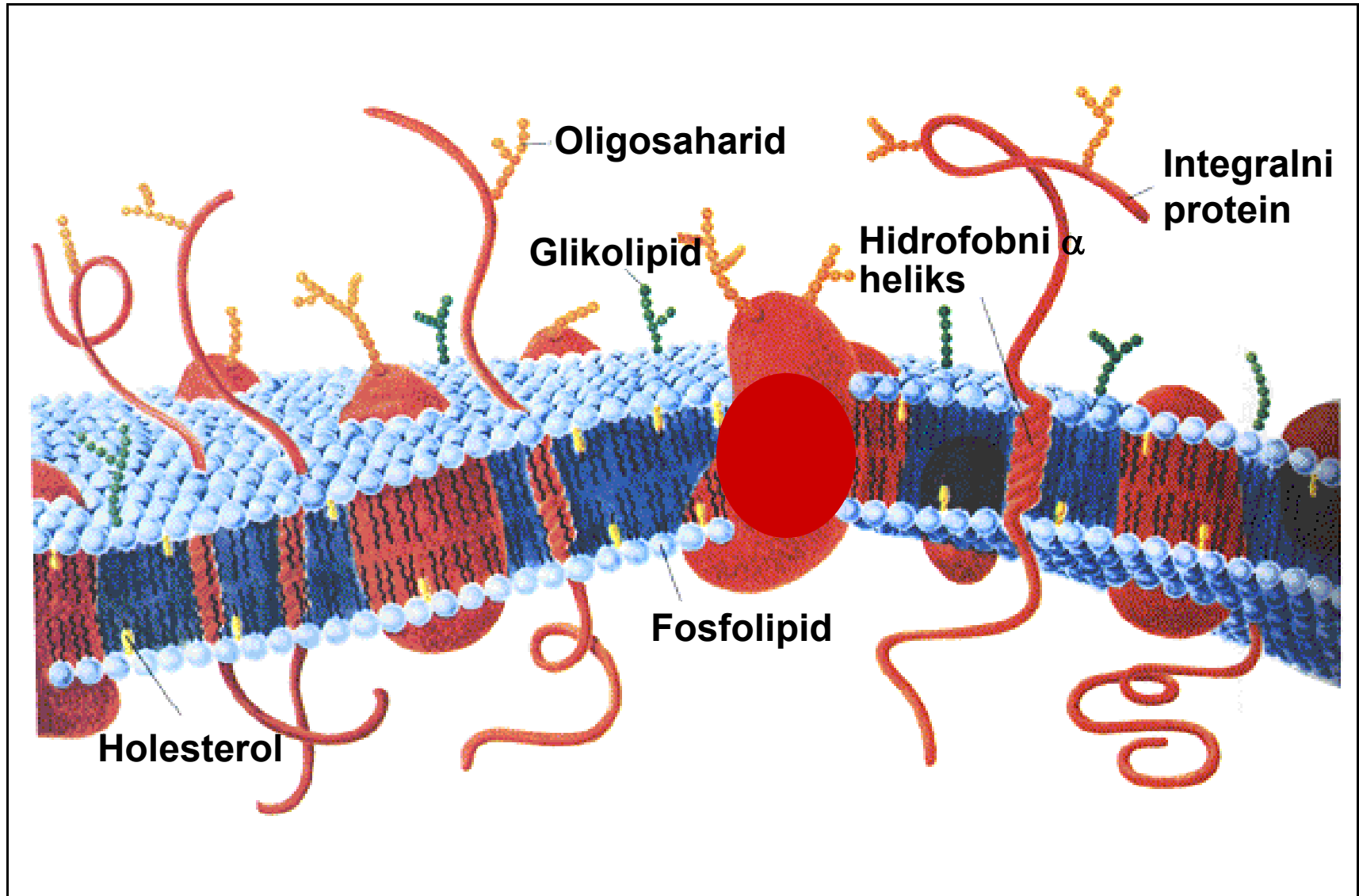


molekul
lipida

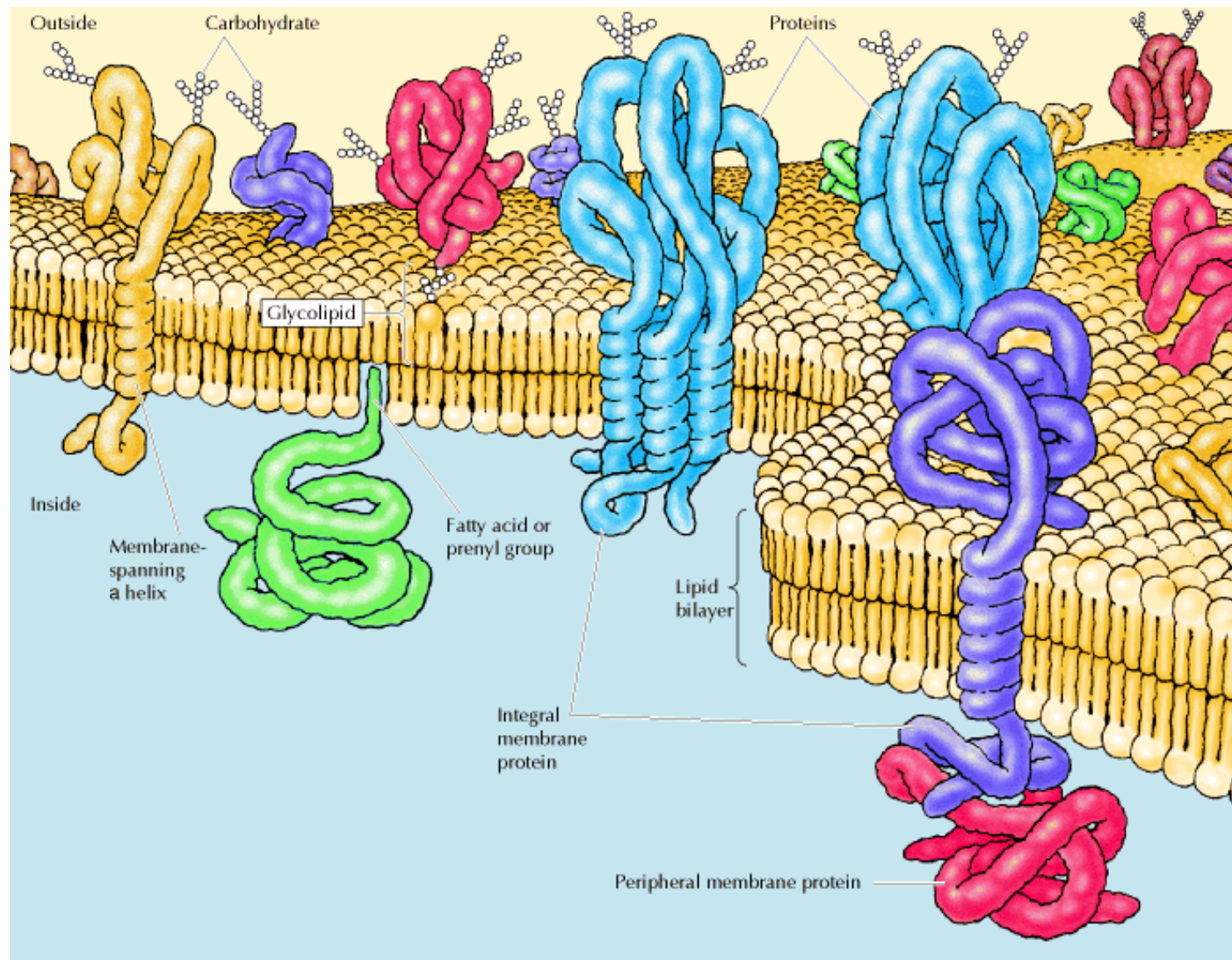
molekuli proteina



Fluidno mozaični model bioloških membrana- asimetrična raspodela i lipida i proteina



Fluidno mozaični model bioloških membrana



MEMBRANA PREDSTAVLJA DINAMIČNU STRUKTURU

Predstavljena je fluidnošću koja nastaje kao rezultat kretanja i lipida i proteina.

Fluidnost (pokretljivost i lipida i proteina) zavisi od temperature. Na nižoj temperaturi je ograničena pokretljivost lipida.

Fluidnost zavisi od sastava membrane:

Glicerofosfolipidi (kratki lanci MK) kao i nezasićene masne kiseline povećavaju fluidnost

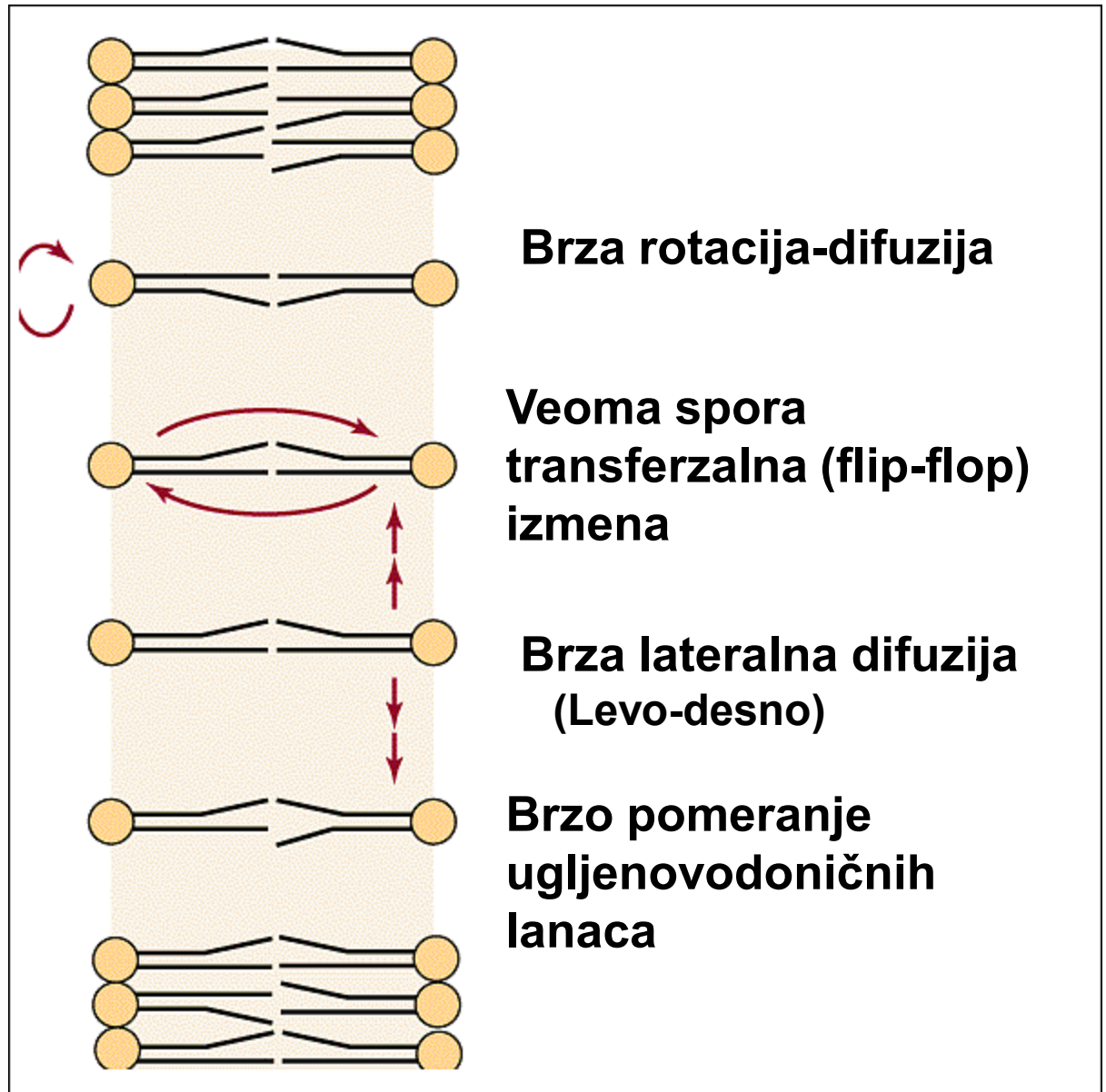
Holesterol (rigidna prstenasta struktura) smanjuje fluidnost

Fluidnost se razlikuje u različitim delovima iste membrane

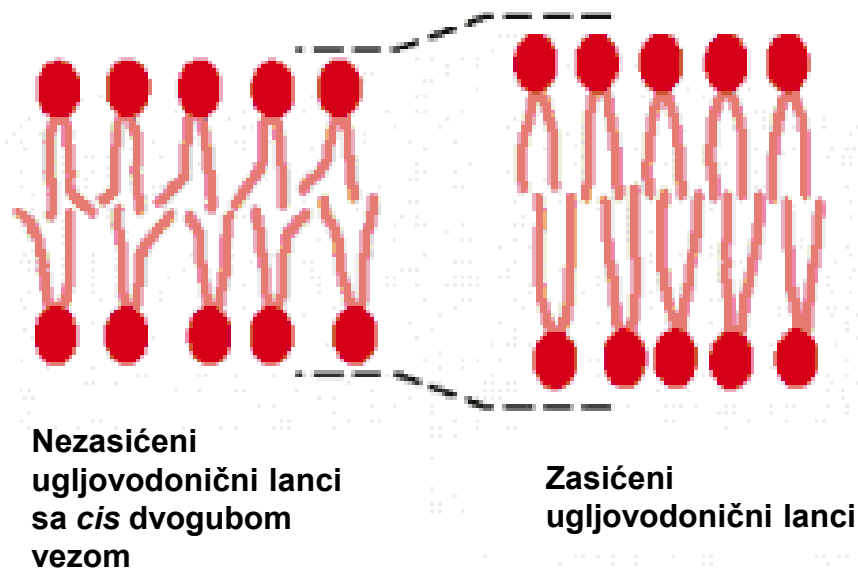
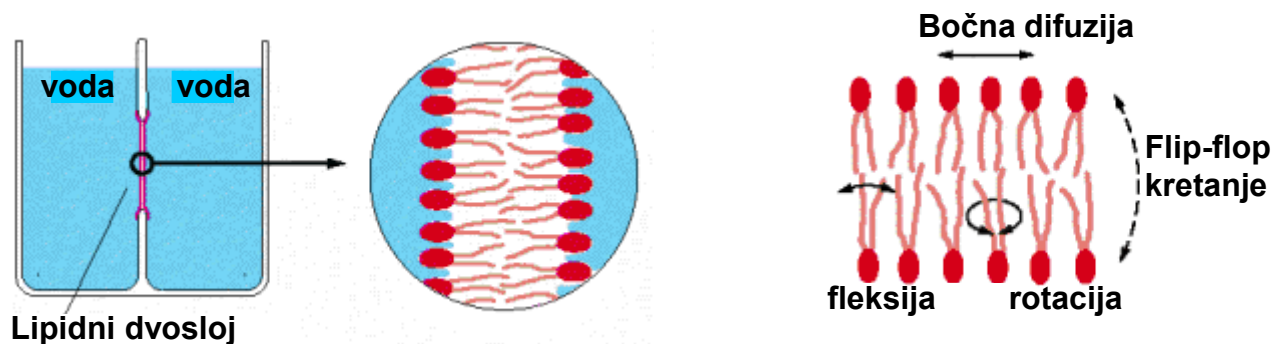
Pokretljivost lipida u membrani

Membrane sadrže
proteine koji
katalizuju ovo
kretanje:

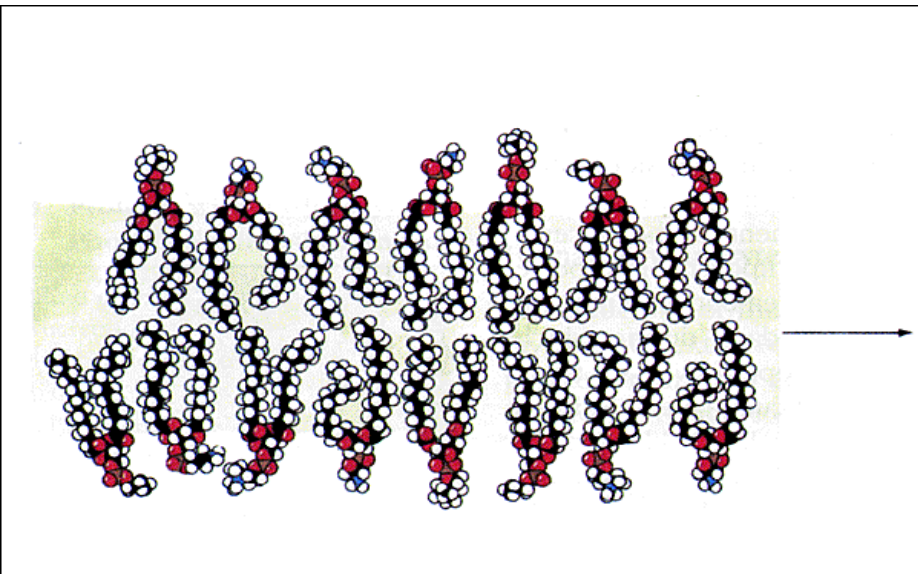
1. U pravcu
koncentracionog
gradijenta-
FLIPAZE
2. Nasuprot
gradijentu
koncentracije
TRANSLOKAZE



POKRETLJIVOST LIPIDA U MEMBRANI

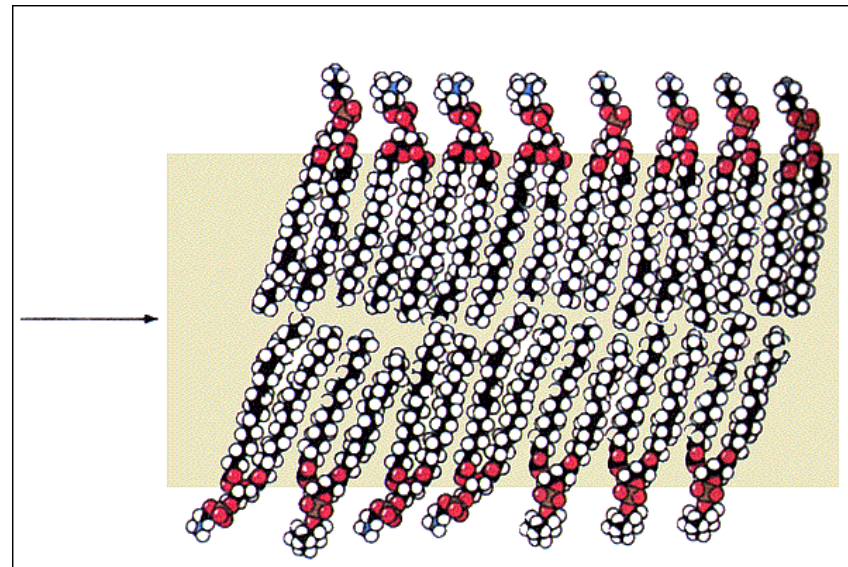


Struktura lipidnog dvosloja iznad tranzicije temperature



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Struktura lipidnog dvosloja ispod tranzicije temperature



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

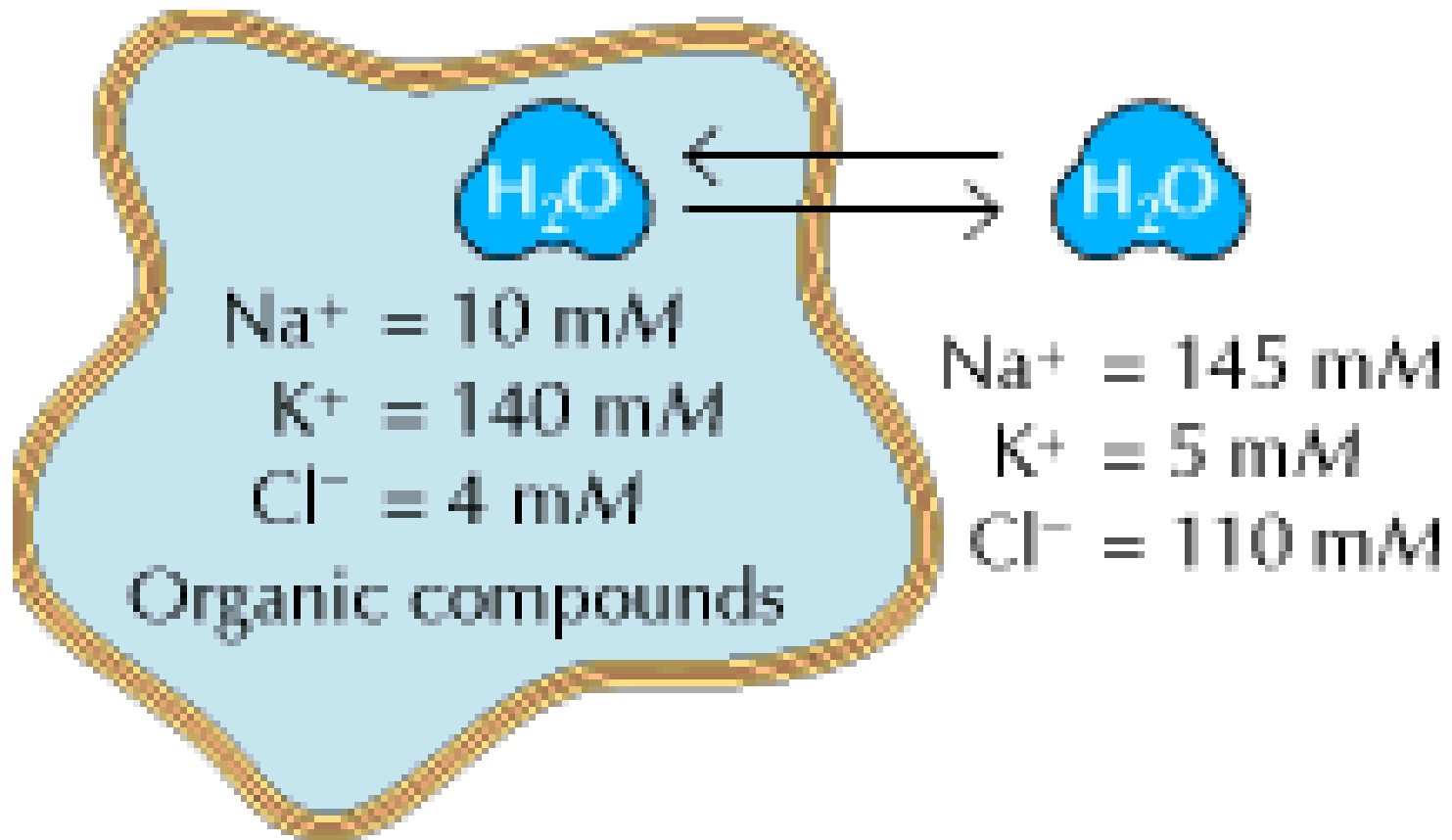
PERMEABILNOST ČELIJSKE MEMBRANE I RAZLIČITI NAČINI TRANSPORA MOLEKULA

ULOGA MEMBRANE U TRANSPORTU MOLEKULA

Jedna od osnovnih uloga membrane jeste održavanje konstantnog sastava unutarćelijske sredine :

- Restrikcija nespecifičnog ulaska i izlaska molekula
- Omogućavanje ulaska malim polarnim molekulima koji su esencijalni za funkciju ćelije (npr glukoza) kao i izlazak molekula čija bi akumulacija u ćeliji narušila njenu homeostazu (npr. Na^+ , Ca^{2+})

JONSKI GRADIJENT NA PLAZMA MEMBRANI



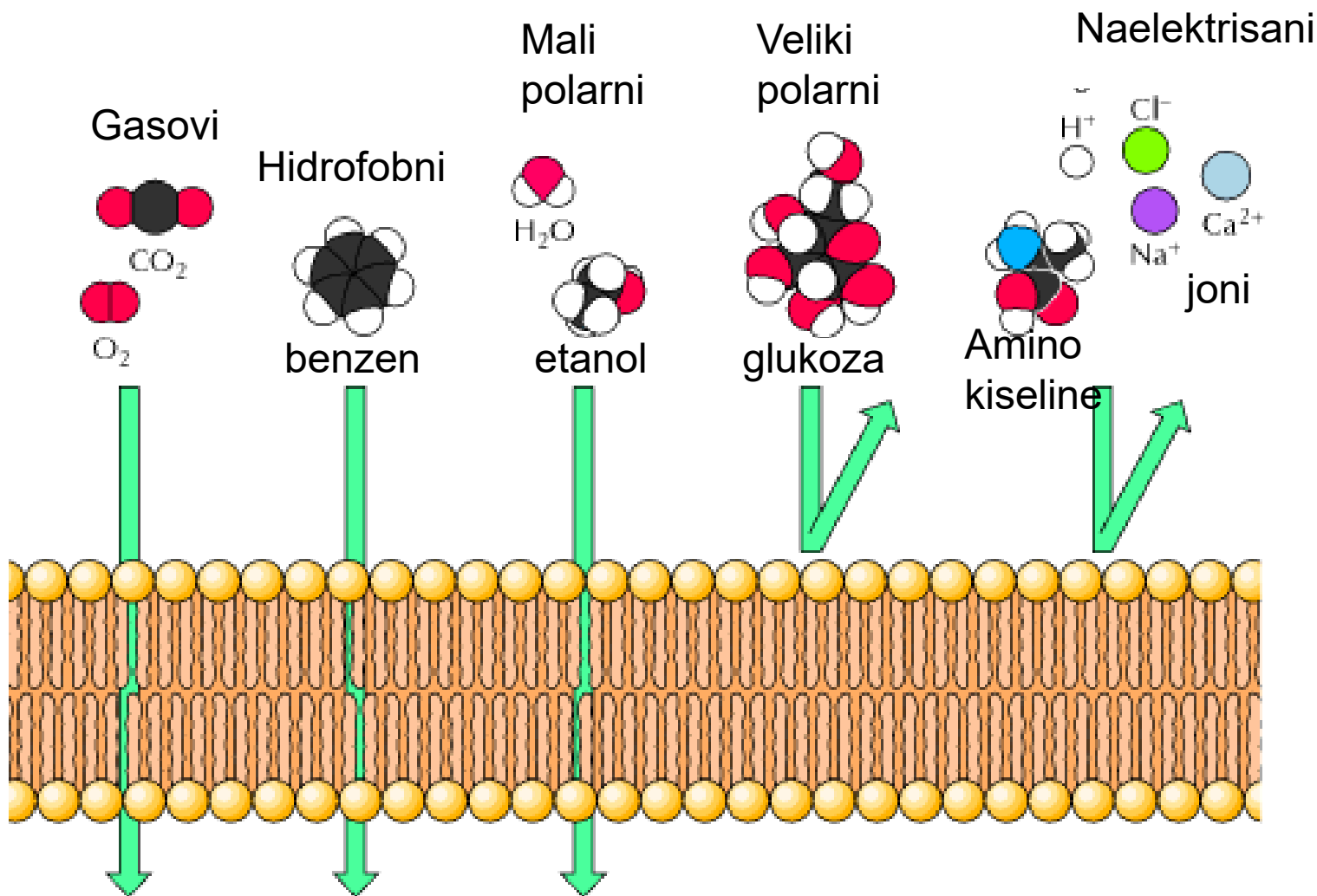
MEHANIZMI TRANSPORTA MOLEKULA KROZ MEMBRANU

Transfer molekula kroz membranu obuhvata sledeće mehanizme:

- **Prostu** (slobodnu) **difuziju** (direktan prolaz kroz lipidni dvosloj)
- Transport koji se odigrava pomoću membranskih proteina:
 - **olakšana difuzija** (u smeru koncentracionog gradijenta, ne zahteva energiju)
 - **aktivan transport** (suprotno elektrohemijском ili koncentracionom gradijentu, zahteva energiju)
- Jonski kanali
- Endocitoza

Karakteristike		Prosta difuzija	Olakšana difuzija	Aktivni transport
Transportovani molekul	Primeri			
Mali nepolarni	O ₂	Da	Ne	Ne
Veliki nepolarni	Masne kiseline	Da	Ne	Ne
Mali polarni	Voda	Da	Ne	Ne
Veliki polarni	Glukoza	Ne	Da	Da
joni	Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻	Ne	Da	Da
Termodinamičke osobine				
Zavisnost smera od elektrohemijskog gradijenta		U pravcu	U pravcu	Nasuprot
Efekat na entropiju		↑ Ne	↑ Ne	↓ Da
Potrebna metabolička energija			Ne	Da
Usmerenost		Ne	Ne	Da
Kinetski parametri				
Posredovana proteinima membrane		Ne	Da	Da
Saturaciona kinetika		Ne	Da*	Da
Kompetitivna inhibicija		Ne	Da	Da

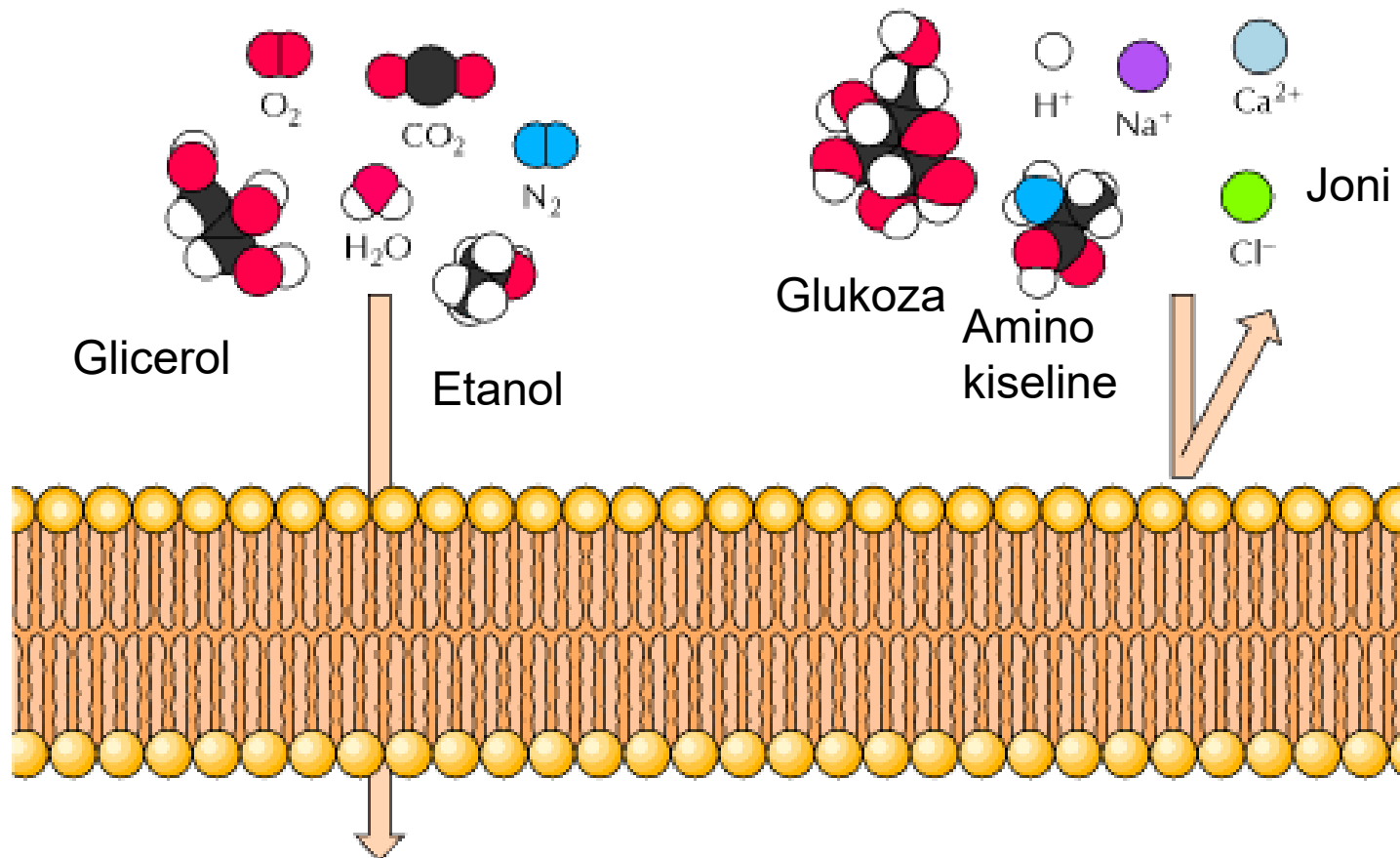
PERMEABILNOST FOSFOLIPIDNOG DVOSLOJA



PERMEABILNOST FOSFOLIPIDNOG DVOSLOJA

Mali nepolarni molekuli

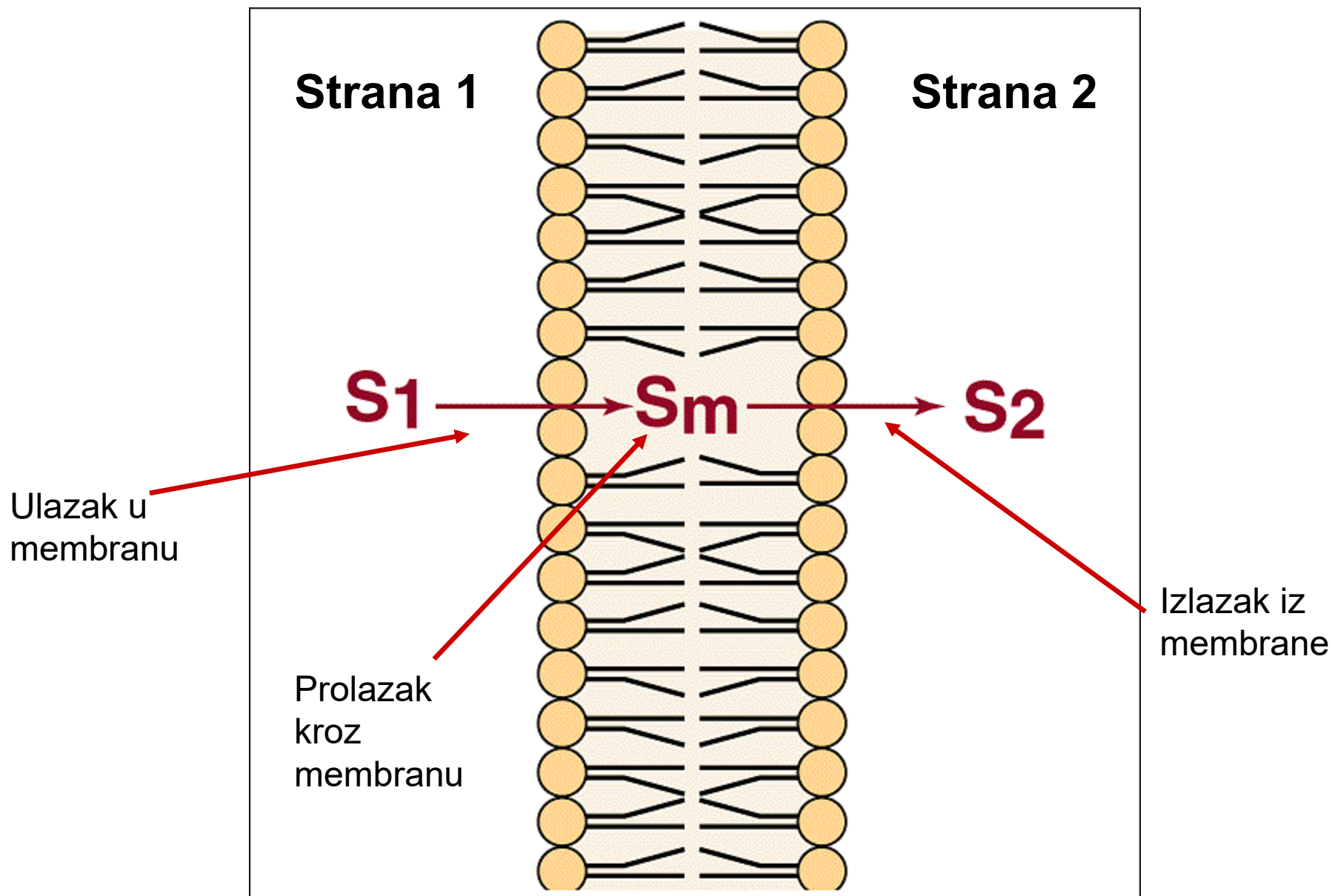
Veliki polarni molekuli i joni



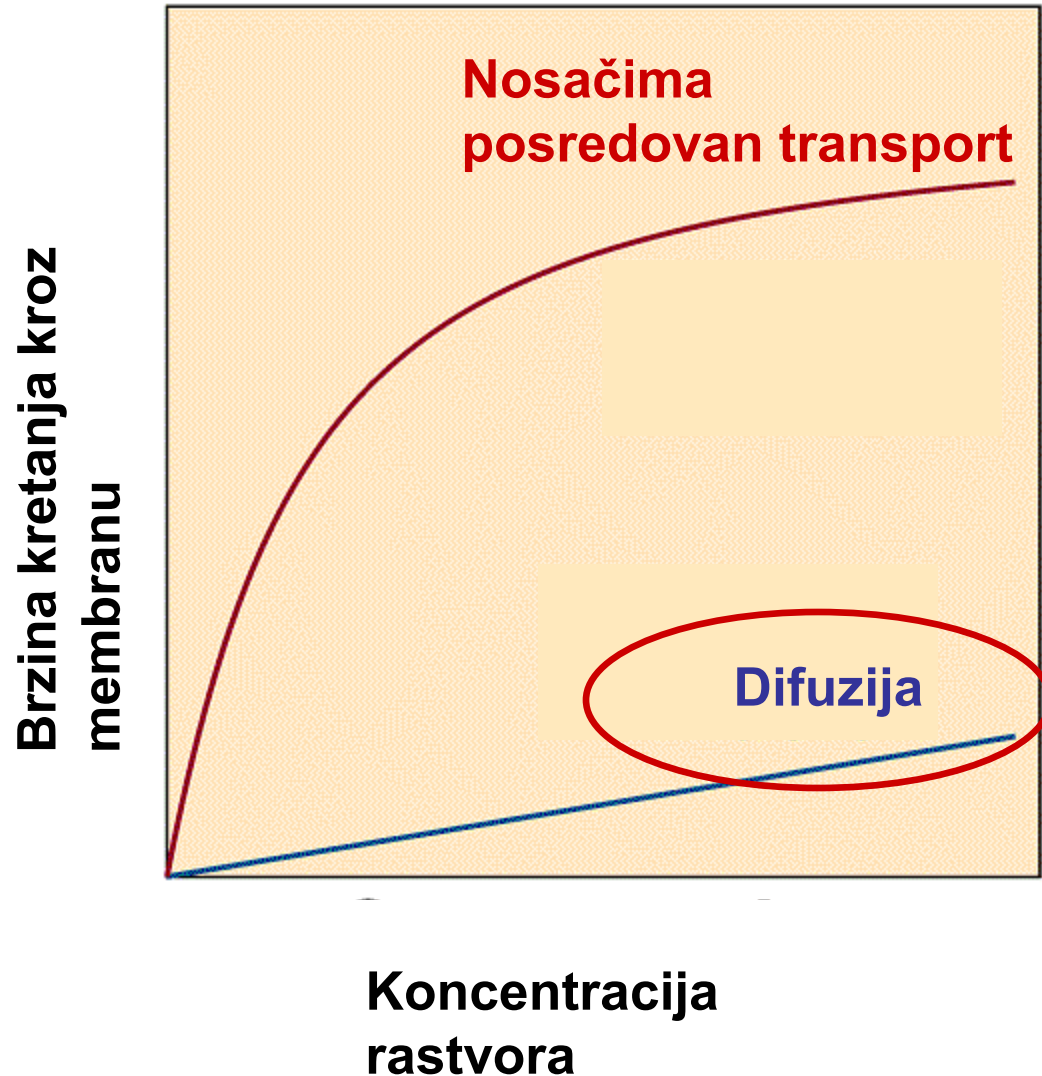
PROSTA DIFUZIJA

- U smeru koncentracionog gradijenta, bez potrebnih proteinskih transportera i bez utroška energije
- Većina gasova (O_2 , CO_2) i liposolubilnih molekula (npr steroidni hormoni)
- Brzina proste difuzije lipofilnog molekula je direktno proporcionalna njegovoj liposolubilnosti i difuzionom koeficijentu za lipide (određen je oblikom i veličinom molekula)
- Voda difunduje kroz posebne delove membrane (kanale/ pore) ili oko proteina koji su uronjeni u lipidni dvosloj. Neke ćelije poseduju velike proteinske pore (akvaporine) koji omogućavaju značajan transport molekula vode.
- Ukoliko je molekul hidratisan (okružen molekulima vode) pre transporta mora da se oslobodi vodenog okruženja
- **Proteini/kanali** - obrazuju hidrofilne kanale u membrani koji omogućavaju transport molekula a bez promene konformacije proteina (pore, porini, jonski kanali). Tercijerna i kvaternerna struktura membranskih proteina formira vodeni tunel koji omogućava kretanje molekula kroz membranu u oba smera ali uvek u smeru koncentracionog gradijenta. Za razliku od transportnih proteina, proteini kanala ne vezuju za sebe supstrat koji se transferuje.

Difuzija rastvorljivog molekula kroz membranu



Kinetika kretanja rastvorenog molekula kroz membranu



MEMBRANSKI KANALI I PORE

Kanali se razlikuju od pora po afinitetu prema supstratu.

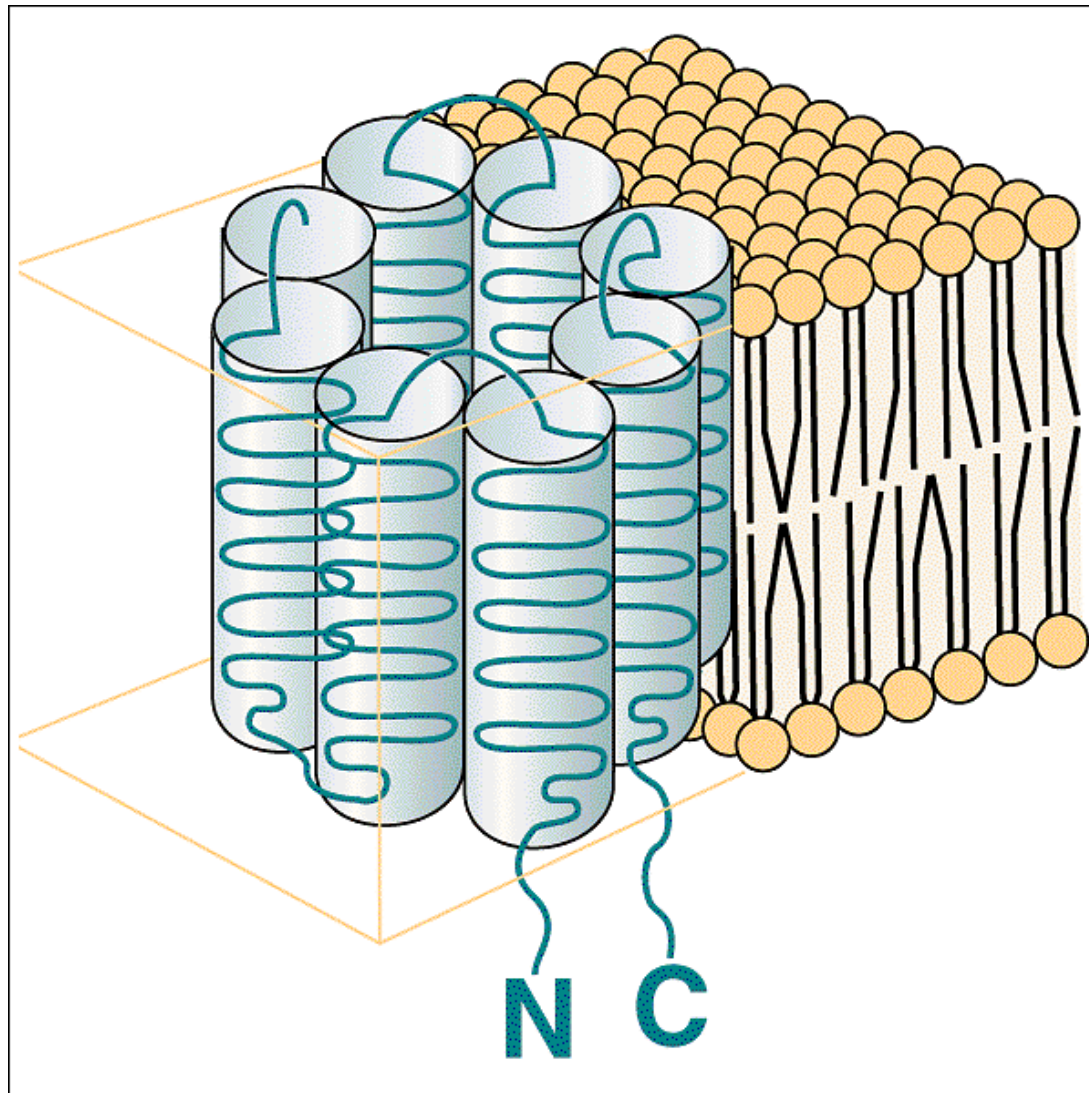
Kanali su selektivni prema određenim neorganskim jonima dok pore nisu selektivne i omogućavaju transport i organskih i neorganskih molekula.

Ova razlika može da bude uzrokovana razlikom u veličini vodene sredine koju formiraju proteinske strukture kao i amino kiseline koje se nalaze uz lumen kanala.

Na^+ kanali omogućavaju transport jona na 10 puta brže nego jona K^+ .

Otvaranje i zatvaranje kanala je kontrolisano-transmembranskim potencijalom (voltaž zavisni kanali), nekim agonistom (nikotin-acetilholin receptor)

Membranski kanal- aranžman proteinskih subjedinica ili domena



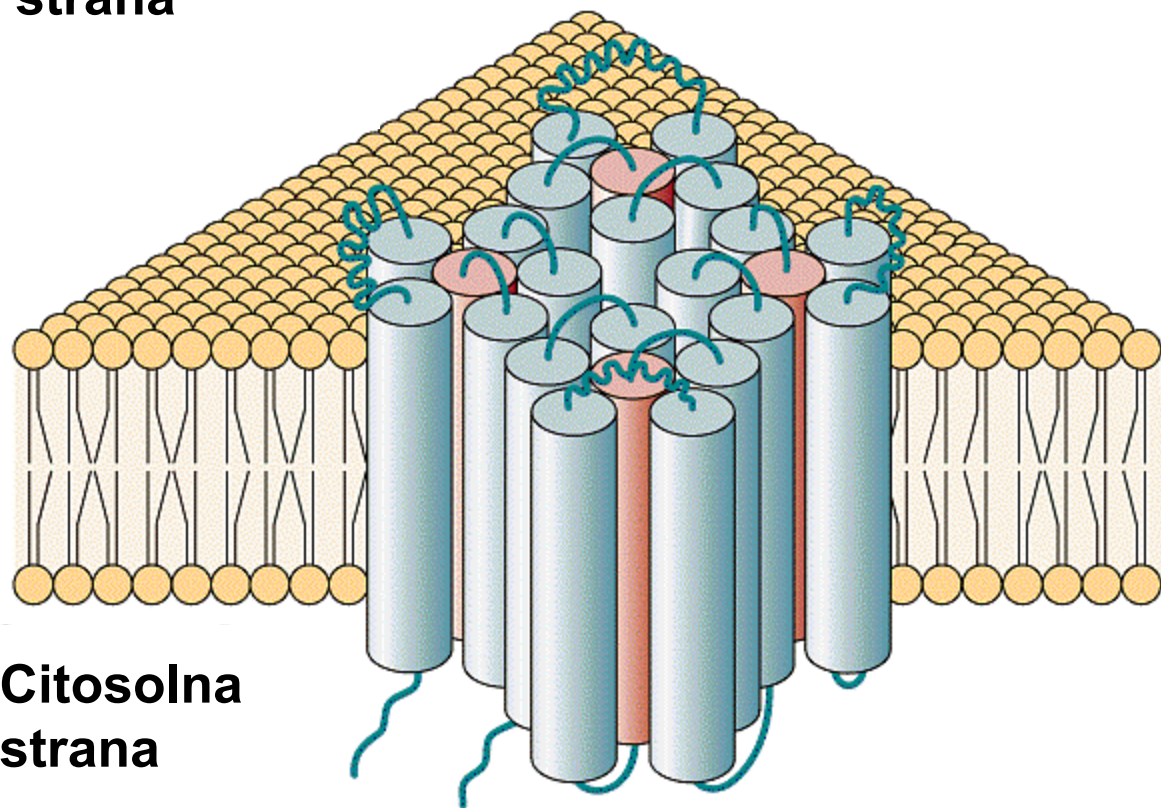
Mogući model Na⁺ kanala

Depolarizacija plazma membrane (nervna, mišićna ćelija) dovodi do brzog unosa Na⁺ u ćeliju.

Sastoji se od jednog velikog glikopoliipeptida u nekoliko malih glikoproteina.

Postoje 4 ponavljajuće homologe jedinice, svaka sa po 6 α heliksa.

Vanćelijska strana



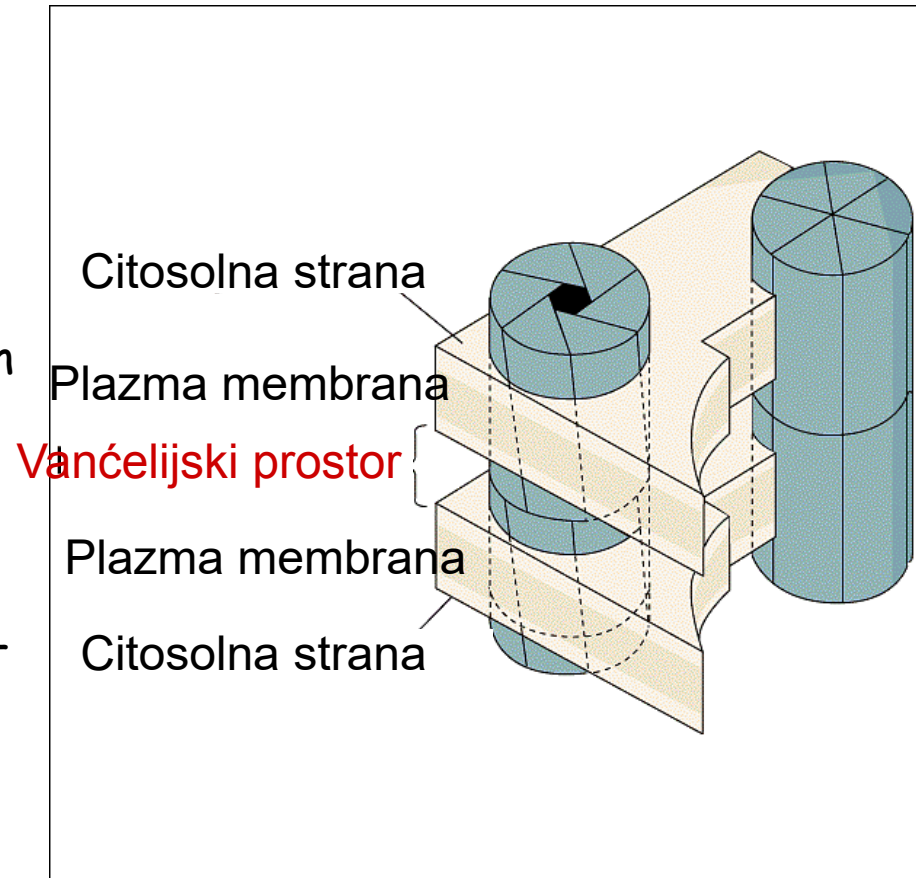
Citosolna strana

Pore kao pukotinaste veze (gap junctions) i jedarne pore

Pukotinaste veze plazma membrane i pore jedarne membrane su relativno veliki vodeni prostori u membrani koje formiraju specifični proteini.

Pukotinaste veze su oblaci membranskih kanala koje ograničavaju proteini koji prolaze kroz dve plazma membrane i tako formiraju vodenu komunikaciju između dve ćelije (prečnik 12-20 Å). Koneksin je protein pukotinaste veze koji gradi ovaj kanal. 12 ovakvih monomera, po 6 sa svake ćelije formira heksamernu strukturu u obe membrane. Ovi kanali se otvaraju pri povećanju unutarćelijske koncentracije Ca^{++} , promenama metabolizma, padu transmembranskog potencijala.

Pore jedarne membrane takođe obuhvataju dve membrane i formiraju vodeni kanal. Prečnik pore je velik, oko 90 Å.



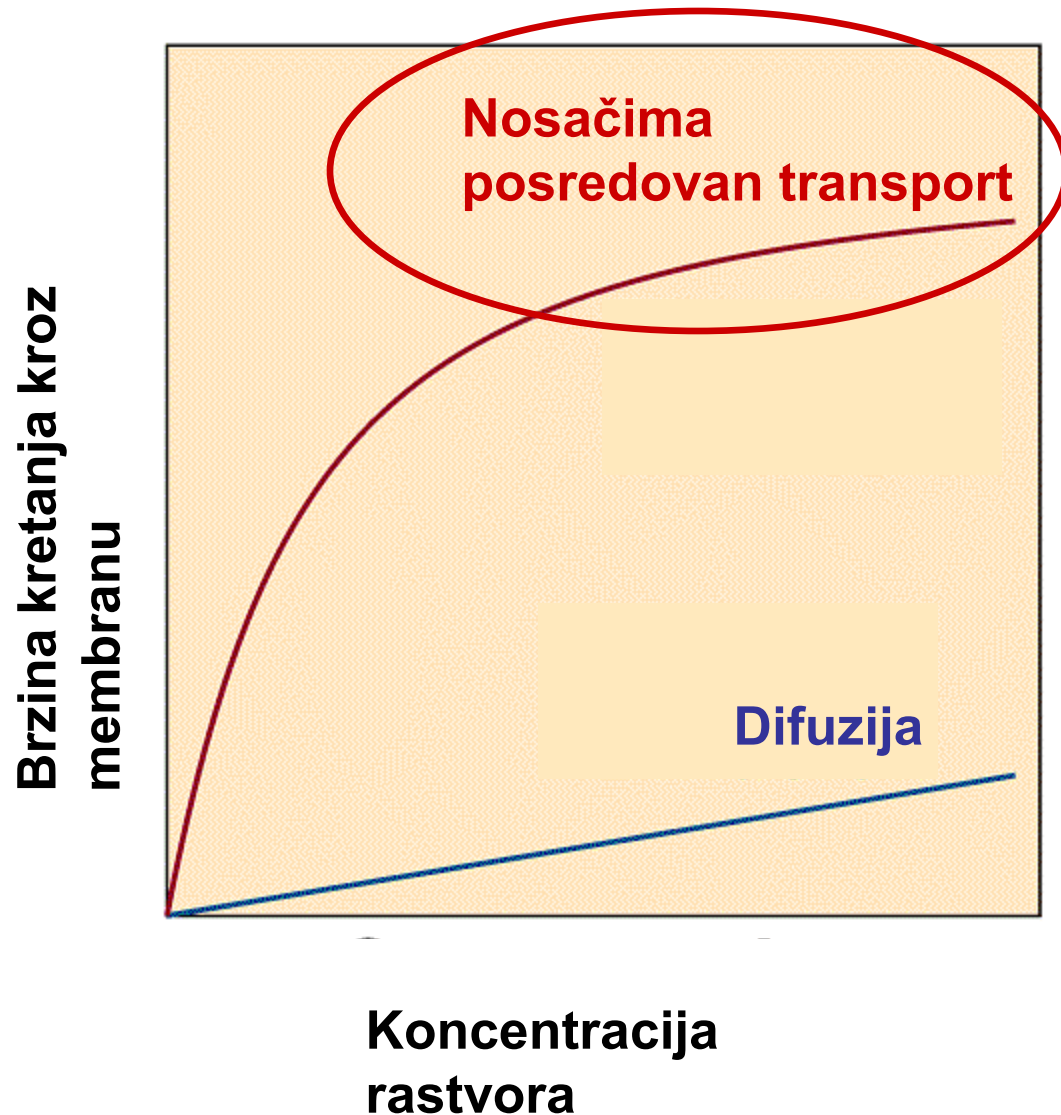
OLAKŠANA DIFUZIJA

Transportni proteini – membranski proteini koji specifično prepoznaju odgovarajući molekul i omogućavaju ili ubrzavaju njihov transfer kroz membranu. Tokom ovog procesa dešavaju se reverzibilne konformacione promene membranskih proteina.

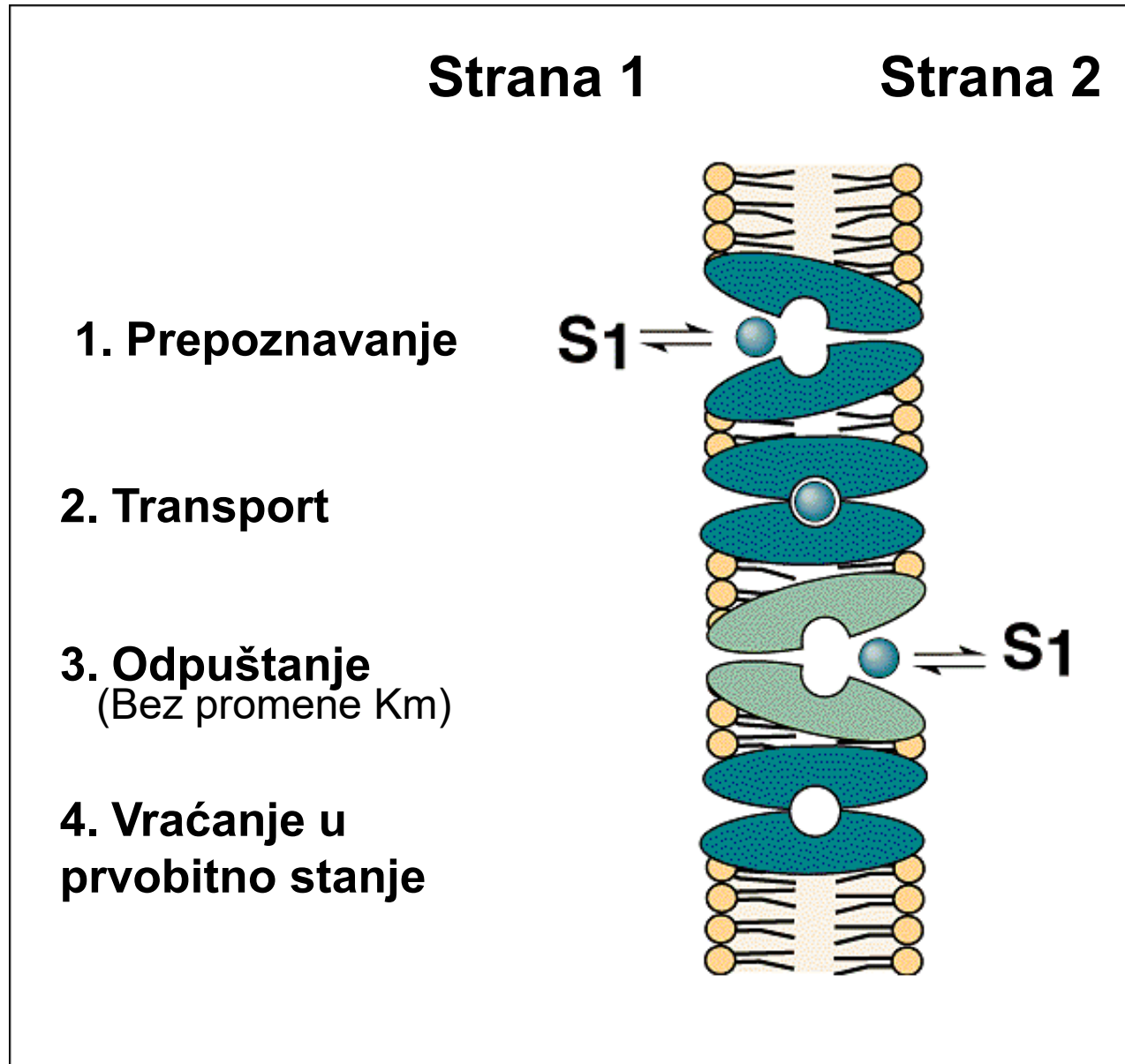
Transportni proteini su:

- **Specifični**
- **Mogu biti inhibirani**
- **Podležu saturacionoj kinetici**
- **Transportuju molekul u smeru koncentracionog gradijenta**
- **Nema utroška energije**

Kinetika kretanja rastvorenog molekula kroz membranu



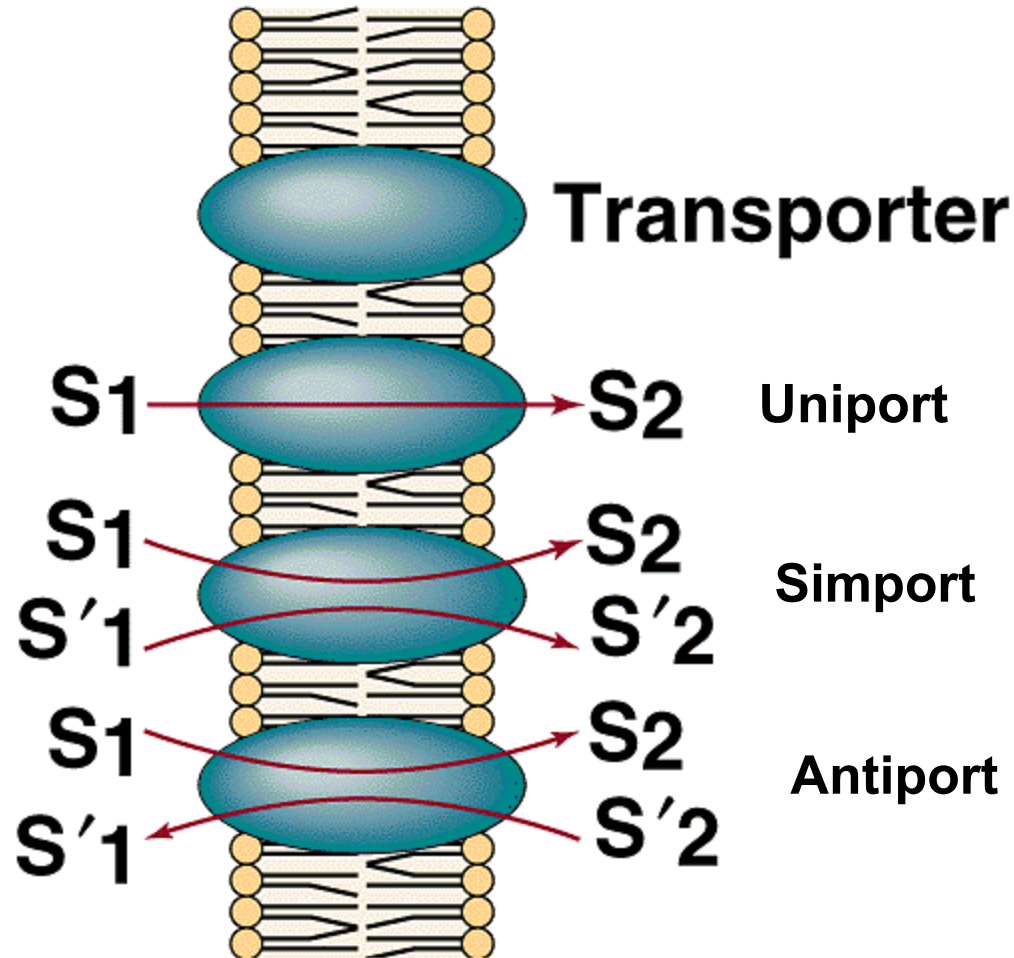
Model transporta pomoću nosača u biološkim membranama (4 koraka)



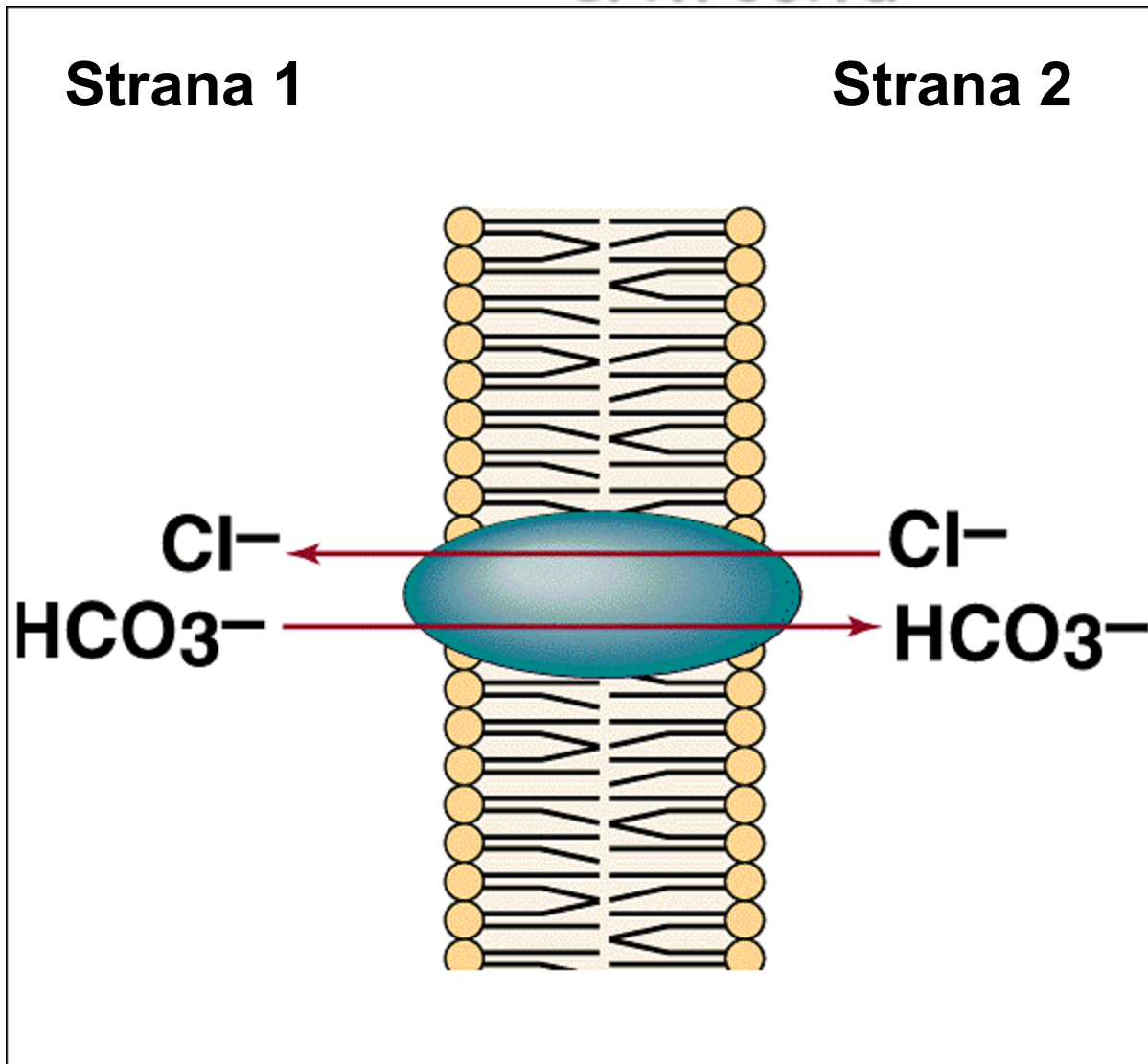
Uniport, simport i antiport mekhanizmi za translokaciju molekula

Strana 1

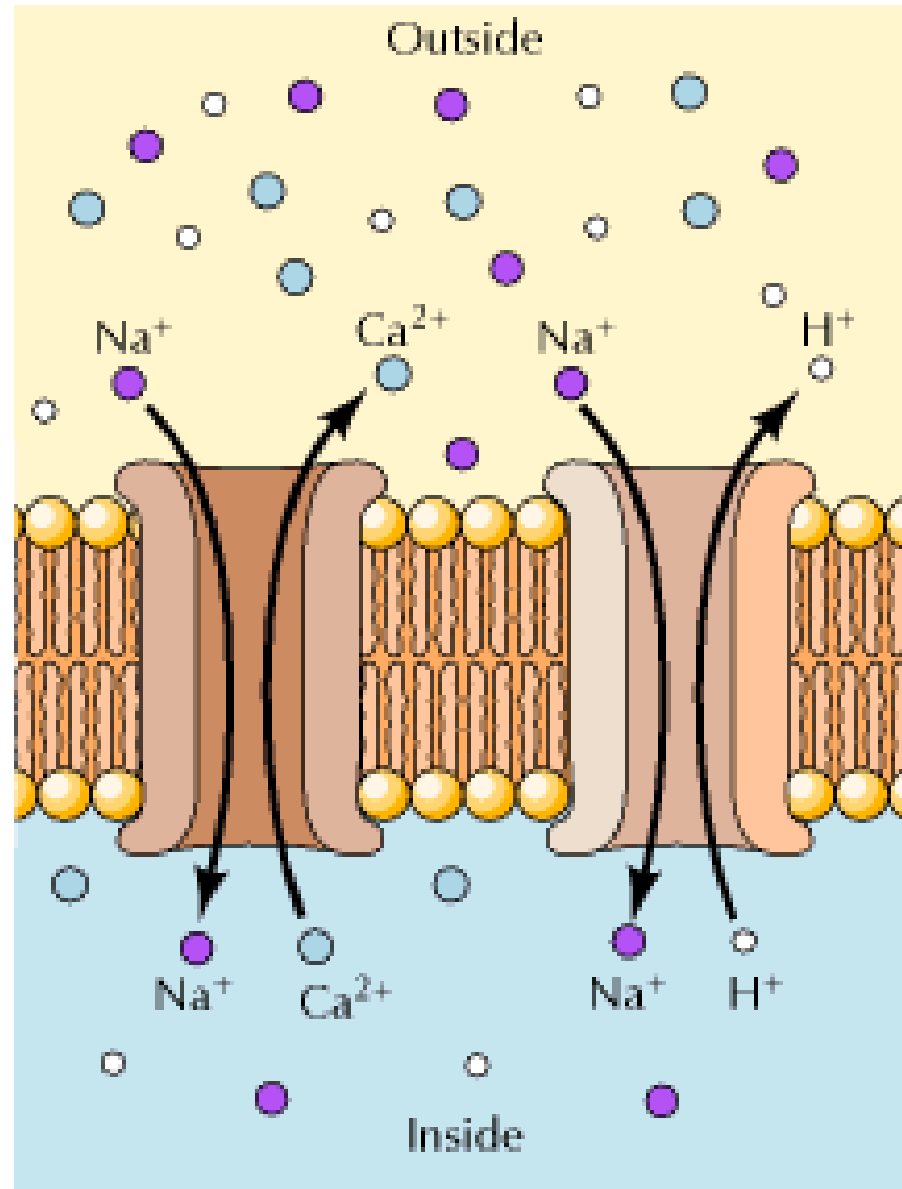
Strana 2



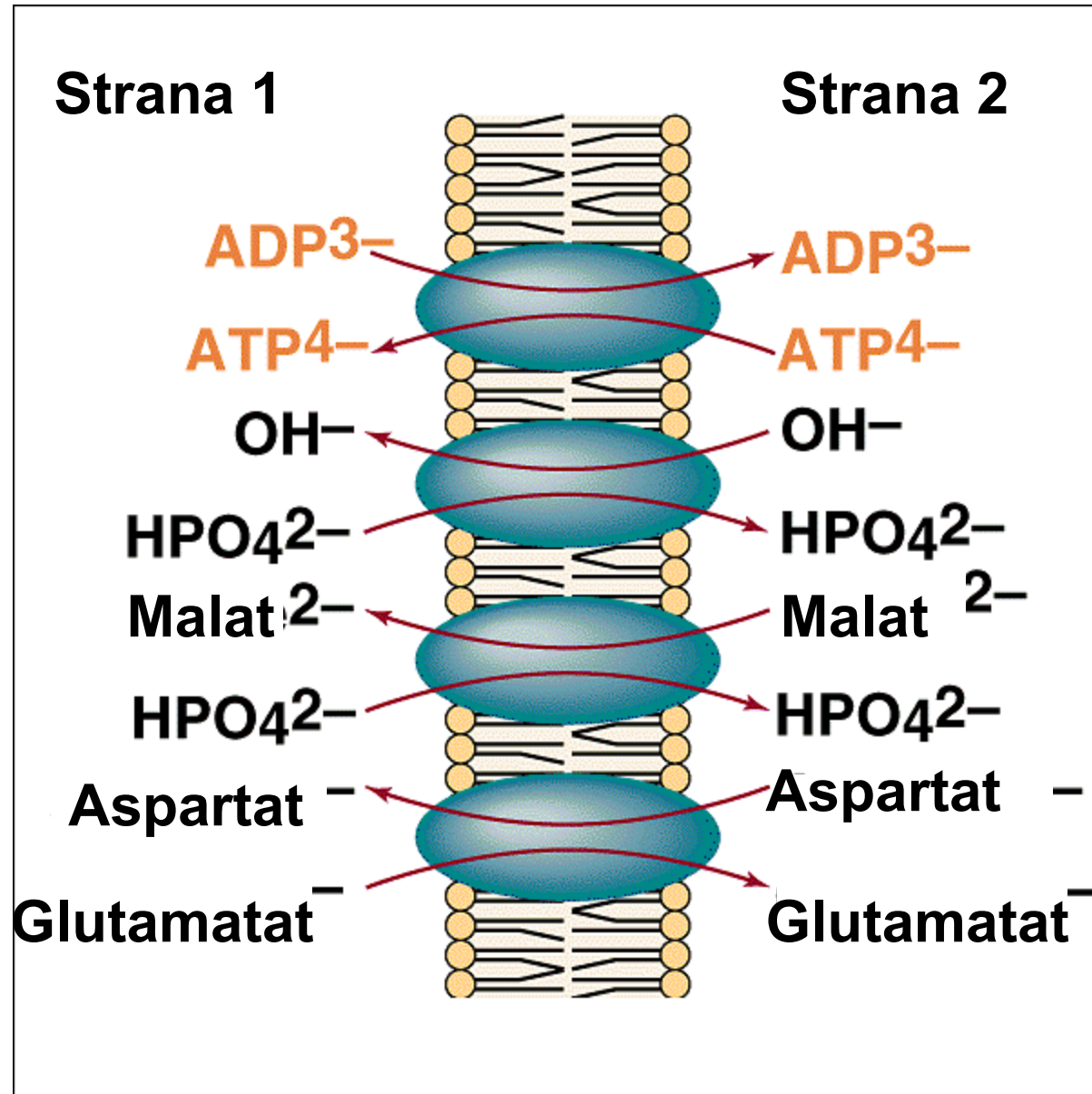
Pasivni antiport mehanizam za transport anjona Cl^- i HCO_3^- na membrani eritrocita



PRIMER ANTIORTA



Reprezentativni anjonski transportni sistemi na membrani mitohondrija hepatocita



AKTIVAN TRANSPORT

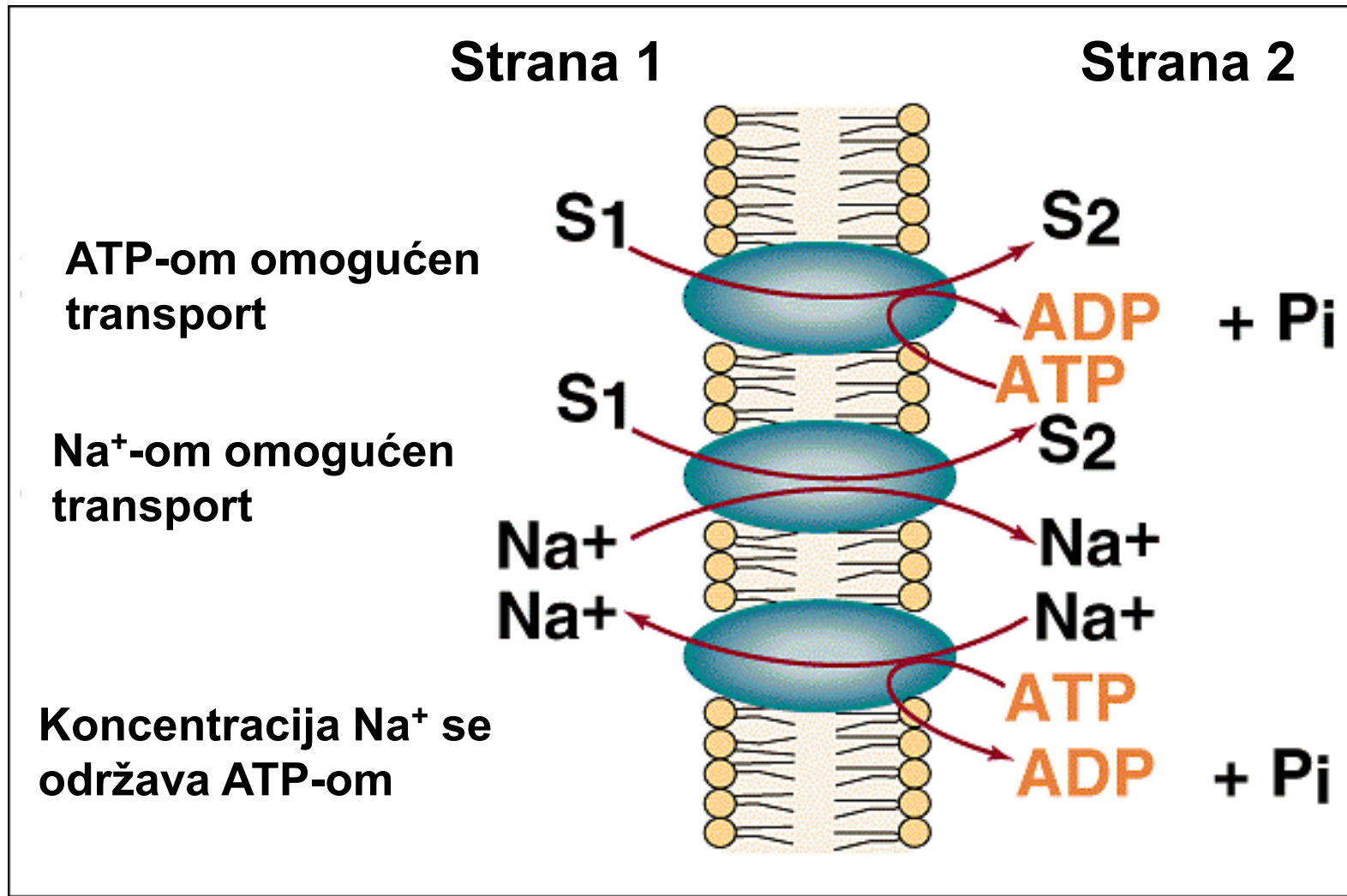
Ima sve osobine olakšane difuzije samo se odigrava suprotno koncentracionom gradijentu i zahteva potrošnju energije.

Aktivni transporteri se mogu podeliti na :

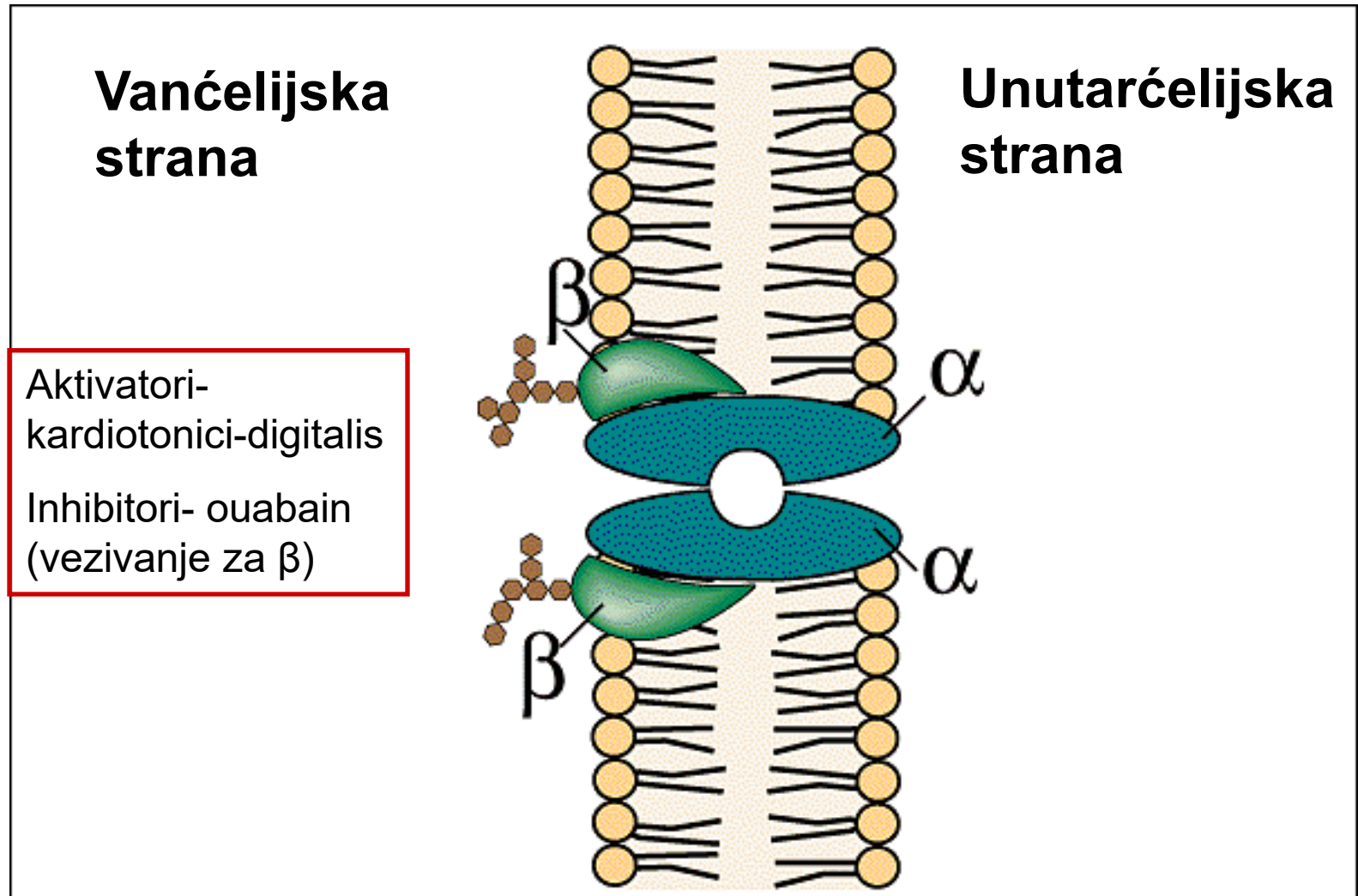
Primarno aktivne trnasportere-direktno koriste ATP (ATP-aze i to **tip P** (fosforilisane/defosforilisane), **tip V** (za vakuole u membrani lizozoma, endozoma, vezikula Goldži aparata i sekretornih vezikula) i **tip F** u mitohondrijama i hloroplastima a zadužen je za sintezu ATP-a)

Sekundarno aktivni transporteri- koriste transmembranski hemijski gradijent Na^+ ili H^+ . Za njihovo funkcionisanje je neophodno održavanje gradijenta jona što se postiže potrošnjom ATP-a.

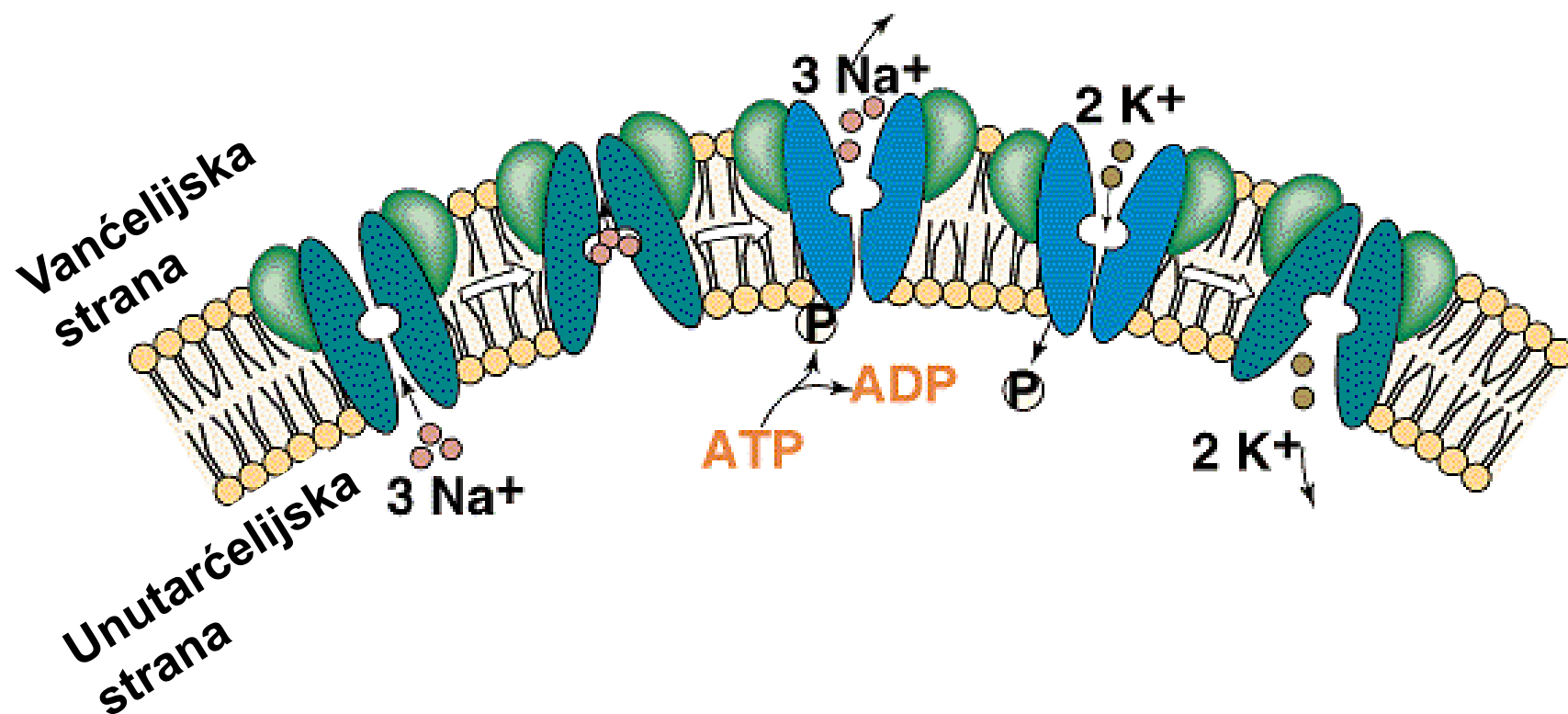
Aktivni transportni sistemi - potrošnja metaboličke energije ATP-a



Shematski prikaz Na^+ , K^+ ATP-aze na plazma membrani (primarno aktivan transport)



Hipotetički model o kretanju Na^+ i K^+ (antiport) kroz plazma membranu aktivnošću Na^+ , K^+ ATP-aze

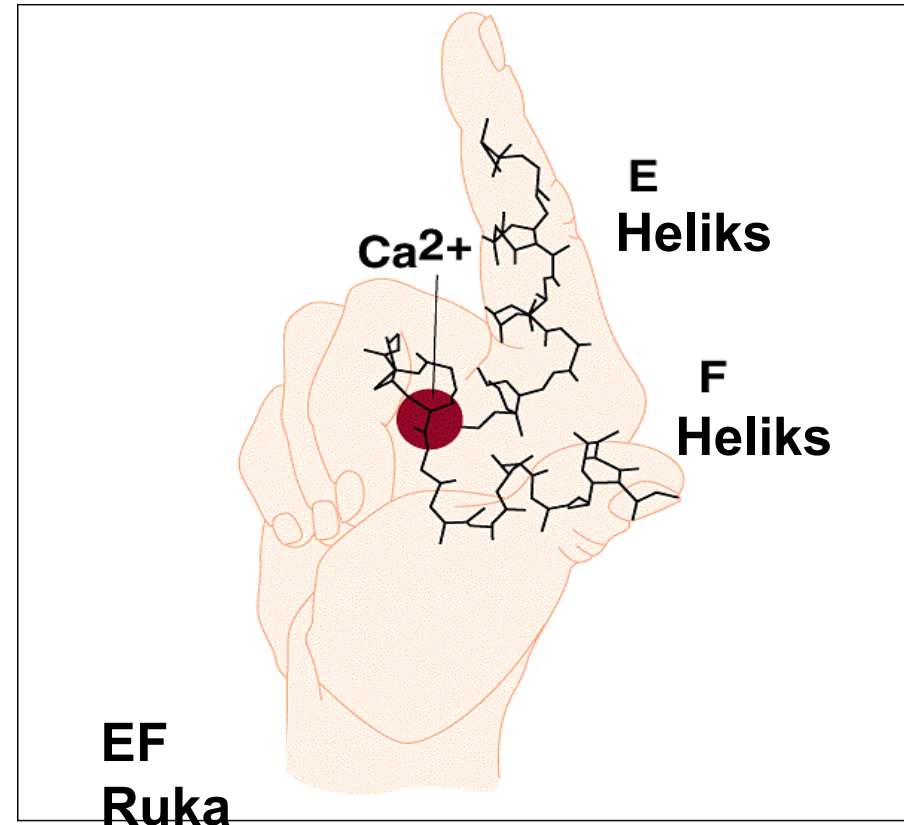


Vezno mesto kalmodulina za jon Ca^{++} (primarno aktivan transport)

Koncentracija jona Ca^{++} je u ćeliji 10X niža nego van ćelije. Ca^{++} je značajan kao unutarćelijski glasnik.

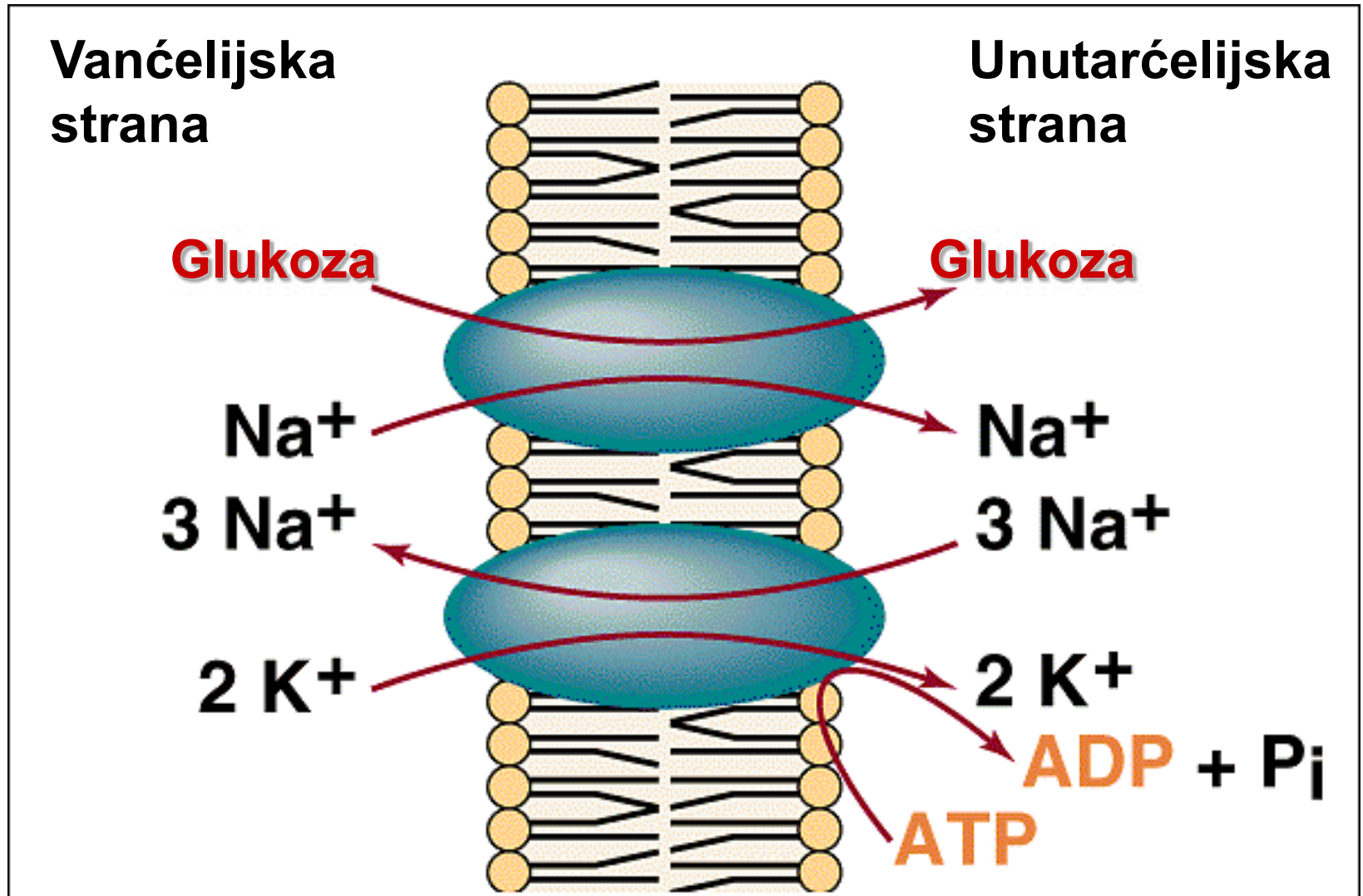
Ca^{++} - ATP-aza na sarkoplazmatskom retikulumu ima 10 transmembranskih heliksa i fosforiliše se u toku prenosa jona Ca^{++} . Za svaka dva jona Ca^{++} se troši jedan ATP kojim se Ca^{++} transportuje suprotno svom koncentracionom gradijentu

Ca^{++} transporter na plazma membrani ima ulogu u transportu Ca^{++} izvan ćelije kada se njegova koncentracija u ćeliji povećava. Taj Ca^{++} u ćeliji se vezuje za kalmodulin kojim se transportuje do plazma membrane (kontrolisanje koncentracije unutarćelijskog slobodnog kalcijuma). Kalmodulin ima 4 vezna mesta za Ca^{++}



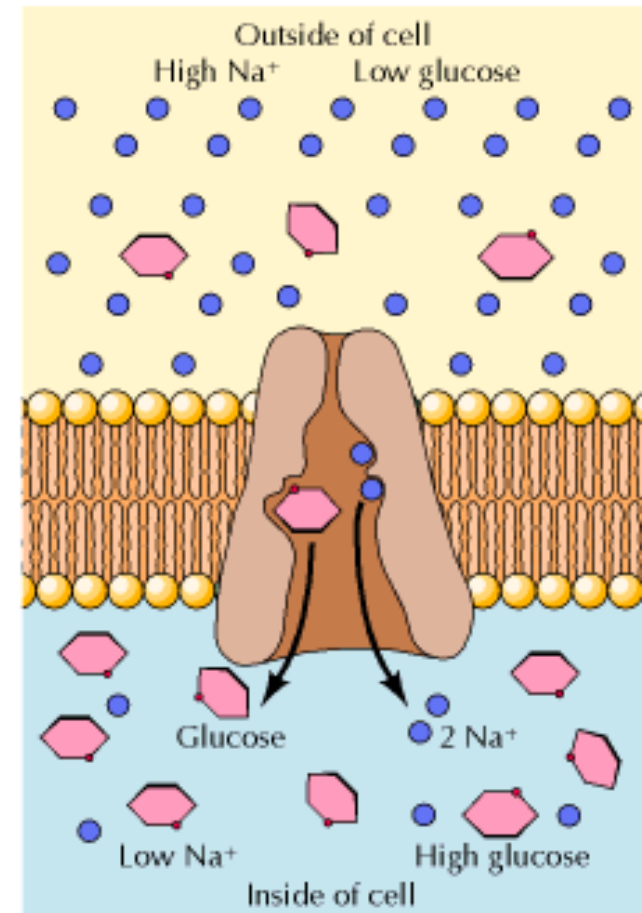
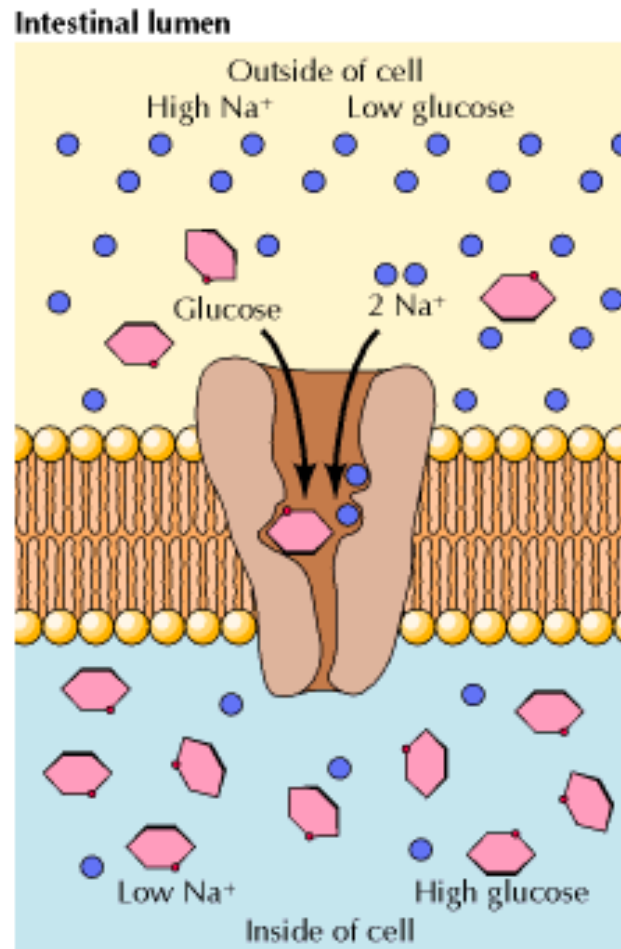
Transport glukoze kroz plazma membranu

- kotransport (simport) sa Na^+
- (sekundarno aktivan transport)



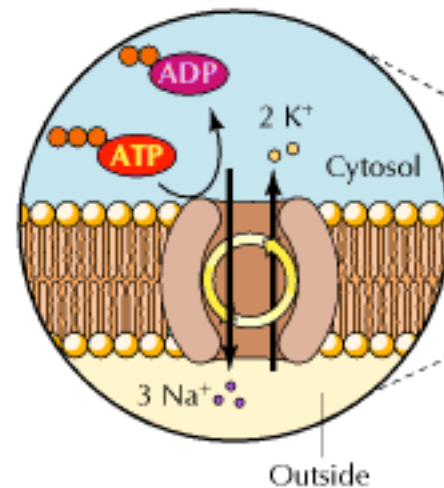
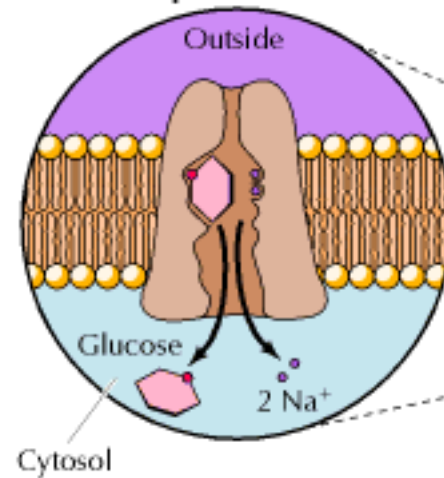
Na isti način kao i **kotransport glukoze sa Na^+** se dešava i **kotransport amino kiselina sa Na^+** . U pitanju je transport-**SIMPORT**.

Hemijski mehanizam simportnog kretanja molekula a korišćenjem gradijenta Na^+ podrazumeva **kooperativno vezivanje Na^+ i molekula koji se transportuje za transportni protein**

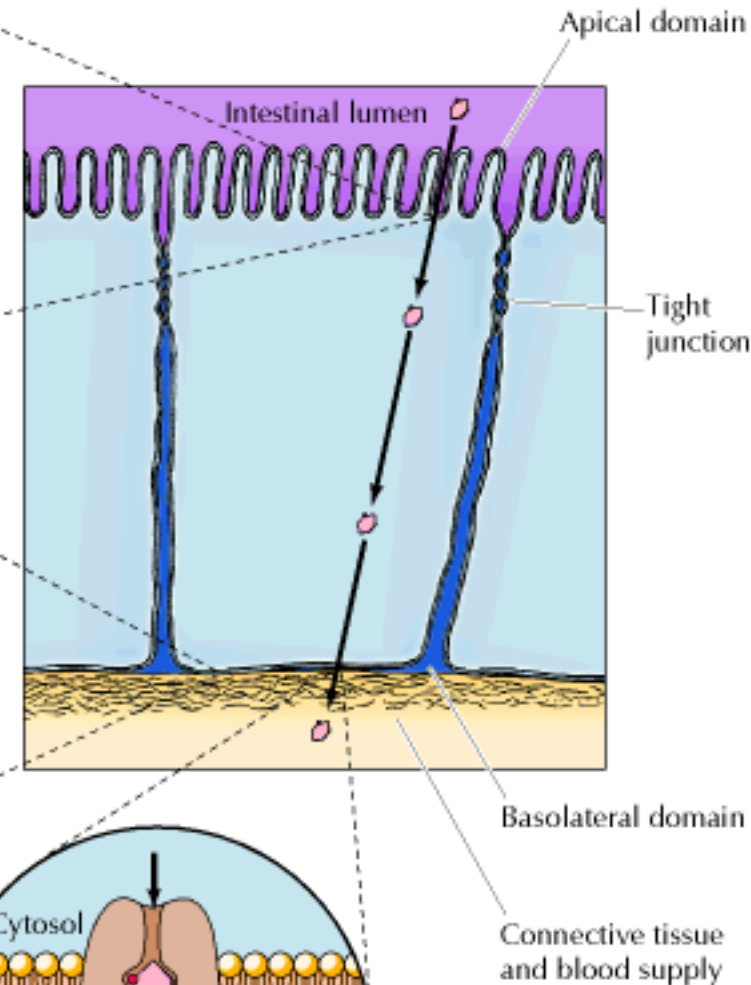
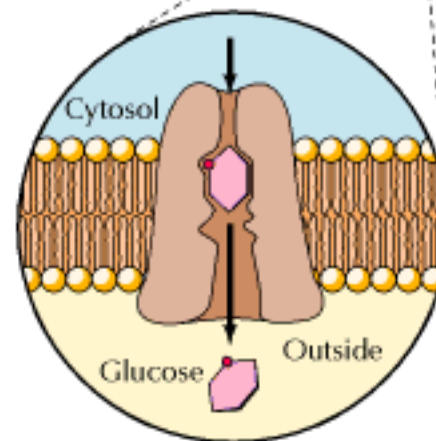


TRANSPORT GLUKOZE U /IZ EPITELNIH ĆELIJA SREVA

Active transport



Facilitated diffusion



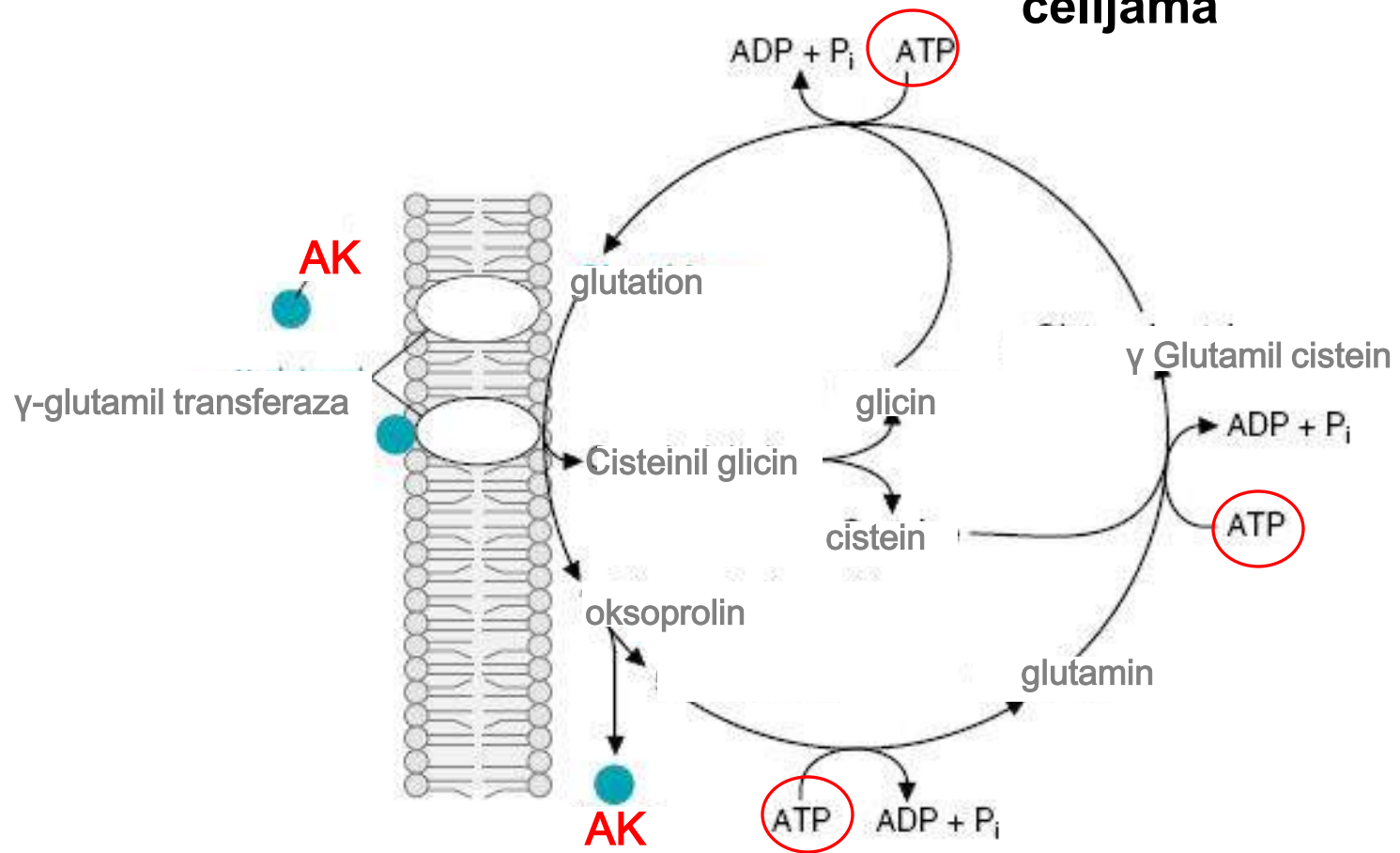
GRUPNA TRANSLOKACIJA

Ima sve osobine aktivnog transporta ali ispoljava širu-grupnu specifičnost.

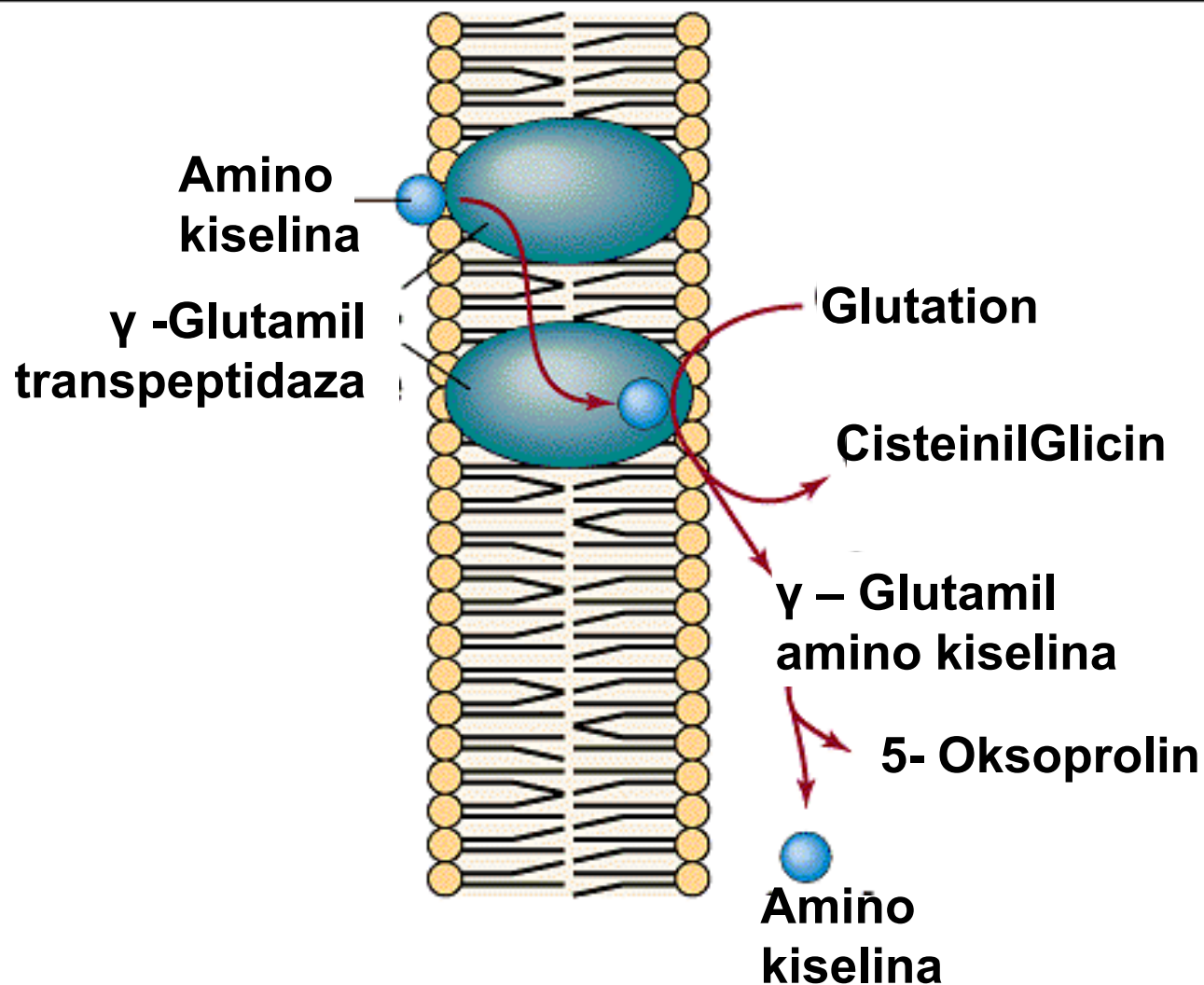
Sve amino kiseline osim prolina mogu da se transportuju grupnom translokacijom - γ Glutamilski ciklus

γ Glutamilski ciklus

Značajan u GIT-u i
bubrežnim epitelnim
ćelijama



γ Glutamilski ciklus



Oštećenje membrane i ćelijska smrt

Nekroza

Apoptoza (membranski „receptori signala za smrt“ - TNFalfa, Fas; oštećenje unutrašnje mitohondrijalne membrane i pokretanje procesa apoptoze zbog izlaska malih molekula - citohrom *c*, AIF)

Autofagija

Programirana ćelijska smrt (apoptoza) ima izuzetno značajnu ulogu u razviću i održavanju mnogih tkiva. Svim ćelijama su potrebni trofički faktori kako bi se sprečio proces apoptoze i obezbedilo preživljavanje ćelija. U odsustvu ovih faktora, ćelije izvrše samoubistvo.

Programirana ćelijska smrt (apoptoza) uključuje niz **morfoloških promena** - skupljanje i kondenzacija ćelija, nakon čega sledi fragmentacija i oslobađaju se membranom okružena apoptotska tela koja podležu fagocitozi.

Ne dolazi do oslobađanja sastojaka ćelije u vanćelijsku sredinu, gde bi mogli da utoču na druge ćelije.

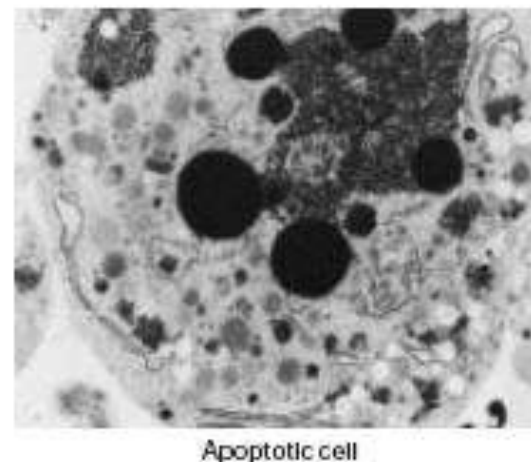
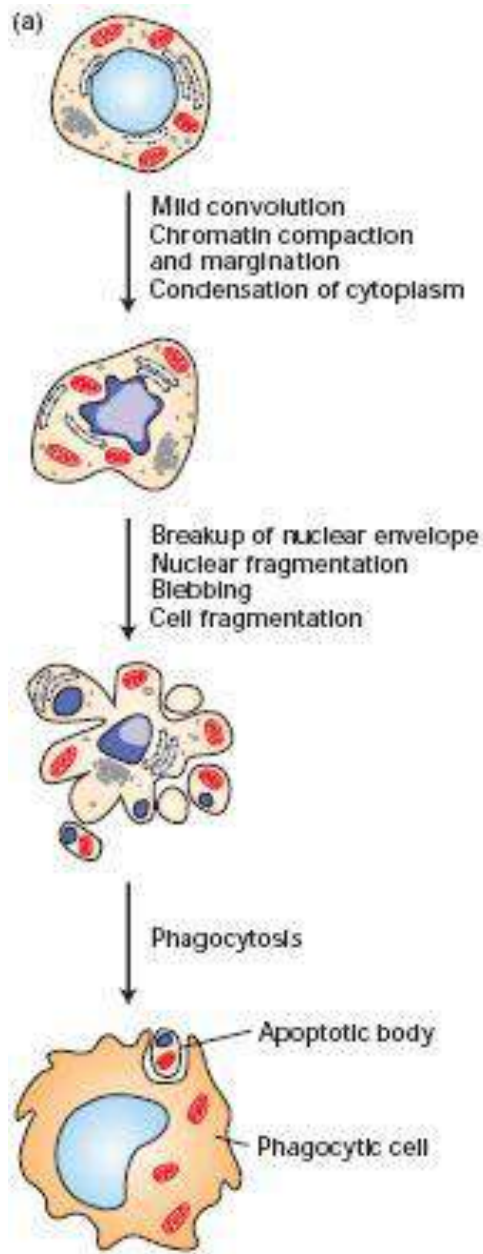
Pravilnost u odvijanju apoptoze je nagovestilo da je ovaj tip ćelijske smrti pod kontrolom preciznog programa. Ovaj program je od presudnog značaja tokom embrionalnog i postnatalnog razvića i omogućava održanje broja ćelija i njihov sastav.

Geni uključeni u kontrolu programirane ćelijske smrti nose informaciju za sintezu proteina koji imaju tri različite uloge :

- "Killer" - proteini "ubice", neophodni za otpočinjanja apoptotskog procesa.
- Proteini razgradnje koji razgrađuju molekule npr. DNK u umirućoj ćeliji.
- "Okružujući" proteini - neophodni za fagocitozu apoptotične ćelije.

Nasuprot apoptozi, ćelije koje umiru usled odgovora na oštećenje tkiva pokazuju sasvim različite morfološke promene, koje se označavaju kao nekroza

Ćelije koje umiru nekrozom bubre i potom pucaju, i njihov unutarćelijski sadržaj se oslobađa u vanćelijski prostor, i može dovesti do oštećenja okolnih ćelija i sledstvenog zapaljenja.



- a) Shematski prikaz koji ilustruje **razvoj morfoloških promena** koje se dešavaju kod ćelija u apoptozi. U **ranoj fazi** apoptoze, dolazi do **kondenzacije hromozoma** uz periferiju jedra. Čelijsko **telo** se takođe **smanjuje** ("skuplja"), iako je većina organela neoštećena. U **kasnijoj fazi** apoptotoze dolazi do **fragmentacije** i jedra i i citoplazme, i stvaraju se **apoptotska tela**, koja fagocituju okolne ćelije.
- a) Fotomikrografija koja poredi niramlnu ćeliju (*gore*) i ćeliju u apoptozi (*dole*). Kide ćelije u apoptozi se janso vide guste okrugle nakupine kompaktnog hromatina kada počinje fragmentacija jedra.

U jednom od apoptotskih puteva učestvuje niz proteina – kaspaza

Ključni podaci o molekulskim mehanizmima koji regulišu proces programirane ćelijske smrti dobijeni su u genetskim studijama na *C. elegans*.

Od ukupno 947 somatskih ćelija koje nastaju tokom razvića do odraslog crva, 131 ćelija podleđr programiranoj ćelijskoj smrti.

Identifikovanje specifičnih mutacija je omogućilo identifikovanje gena koji kodiraju proteine koji imaju odlučujuću ulogu u kontroli programirane ćelijske smrti tokom razvića *C. elegans*

Sličnost genetskih studija urađenih kod *C. Elegans* i studija urađenih na humanim malignim ćelijama su ukazale da je put koji dovodi do apoptoze evolutivno konzerviran.

Prvi apoptoski gen kloniran kod ljudi, *bcl-2*, izolovan je iz humanog limfoma. Izmenjena forma gena, koja se javlja u ćelijama limfoma usled hromozomskog rearanžmana, deluje kao **onkogen** koji pospežuje preživaljavanje ćelije umesto ćelijske smrti.

Efektorski proteini u procesu apoptoze kod kičmenjaka su enzimi **kaspaze** (*caspases*), koji sadrže ključni **c**isteinski ostatak u katalitičkom centru i selektivno vrše hidrolizu proteina na mestima C-terminalno u odnosu na **a**spartatske ostatke.

Kod *C. elegans* najvažnija efektorska kaspaza je CED-3 kaspaza.

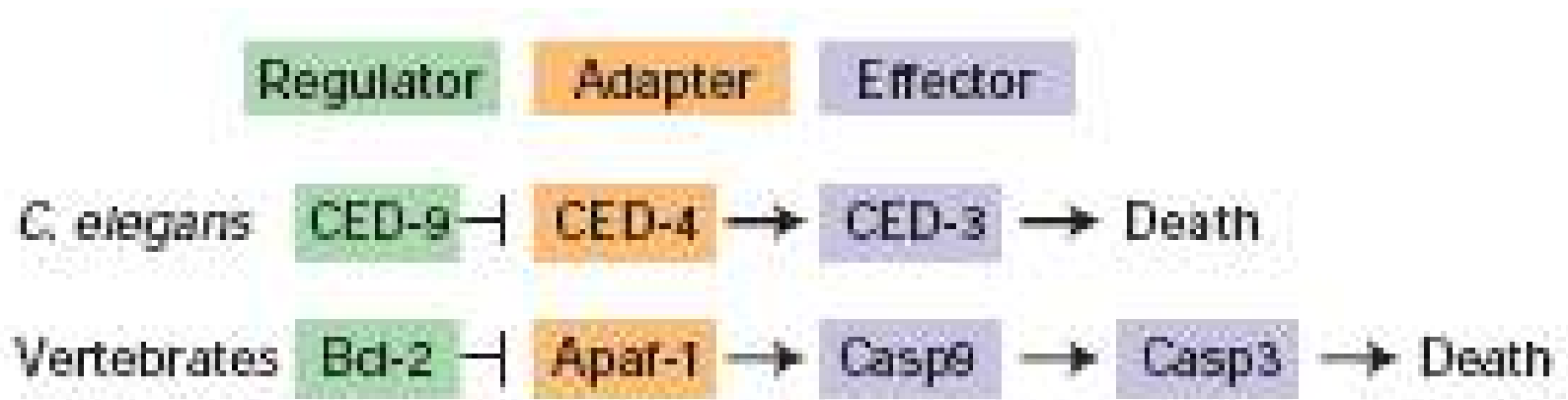
Kod ljudi ima 15 različitih kaspaza, koje se sintetise kao prokaspaze.

Inicijatorske kaspaze (npr., kaspaza-9) su aktivisane autoproteolizom indukovanom drugim tipovima proteina, koji pomažu inicijatorima da stvore agregate. Aktivisane inicijatorne kaspaze cepaju efektorske kaspaze (npr., kaspaza-3) i na taj način dolazi do brzog pojačavanja ukupnog nivoa kaspazne aktivnosti u umirućoj ćeliji.

Različite efektorske kaspaze prepoznaju i cepaju kratke sekvence AK u mnogom ciljnim proteinima. Razlikuju se po ciljnoj sekvenci koju prepoznaju.

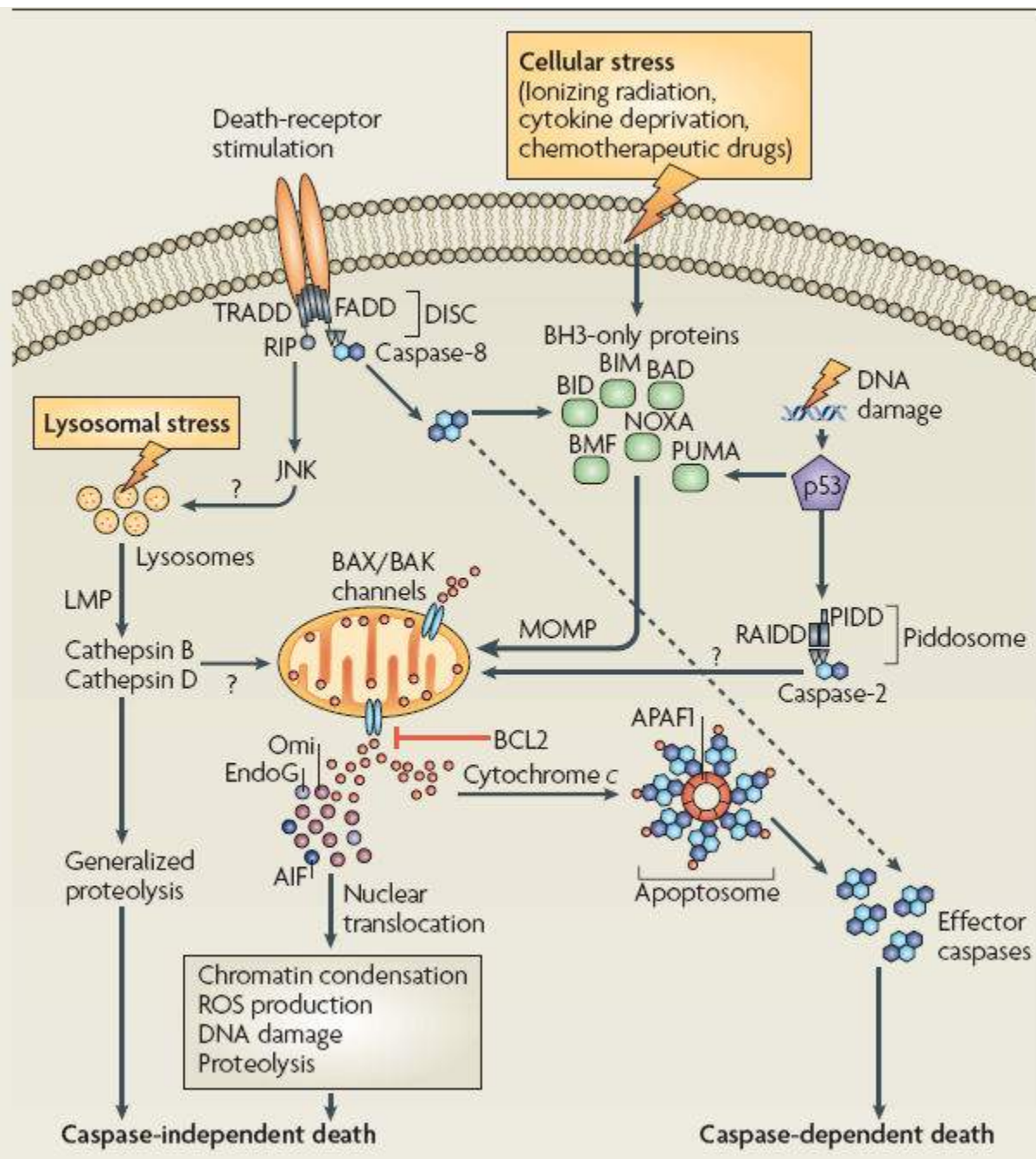
Unutraćelijski ciljni proteini uključuju proteine jedarne lamine i citoskeleta.

.



Kaspaze imaju ključnu ulogu u mnogim apoptotskim događajima, ali postoji i apoptoza nezavisna od kaspaza. **Faktor koji indukuje apoptozu** (*Apoptosis-inducing factor* - AIF; flavoprotein) i **endonukleaza G** su dva proteina koji dovode do smrti ćelije kada se oslobode iz mitohondrija.

Studije na kulturama ćelija su dale značajne podatke i grupi *adaptornih proteina* koji koordinišu delovanje regulatora i efektoru u kontroli apoptoze.



Dva glavna puta koja vode apoptozi zavisnoj od kaspaza.

Spoljašnji put - stimulacija superfamilije receptora za TNF (CD95/Fas, TNFR ili TRAILR - receptori smrti).

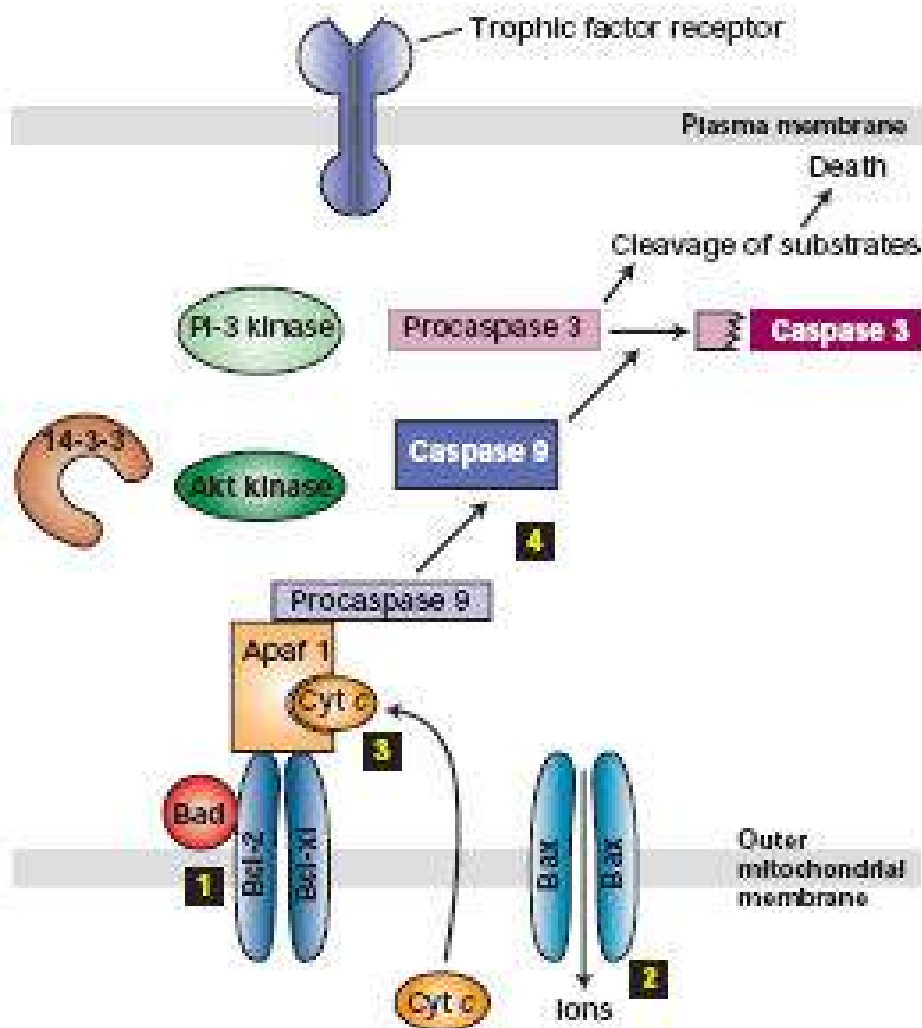
Unutrašnji put karakteriše permeabilizacija spoljašnje membrane mitohondrija i oslobađanje mitohondrijalnog citohroma *c*, što dovodi do sklapanja kompleksa koji aktivira kaspaze između kaspaze-9 i APAF1 (apoptozom). Stimulacija receptora smrti dovodi do aktivacije kaspaze-8

Pro-apoptotski regulatori omogućavaju aktivaciju kaspaza i odsustvu trofičkih faktora

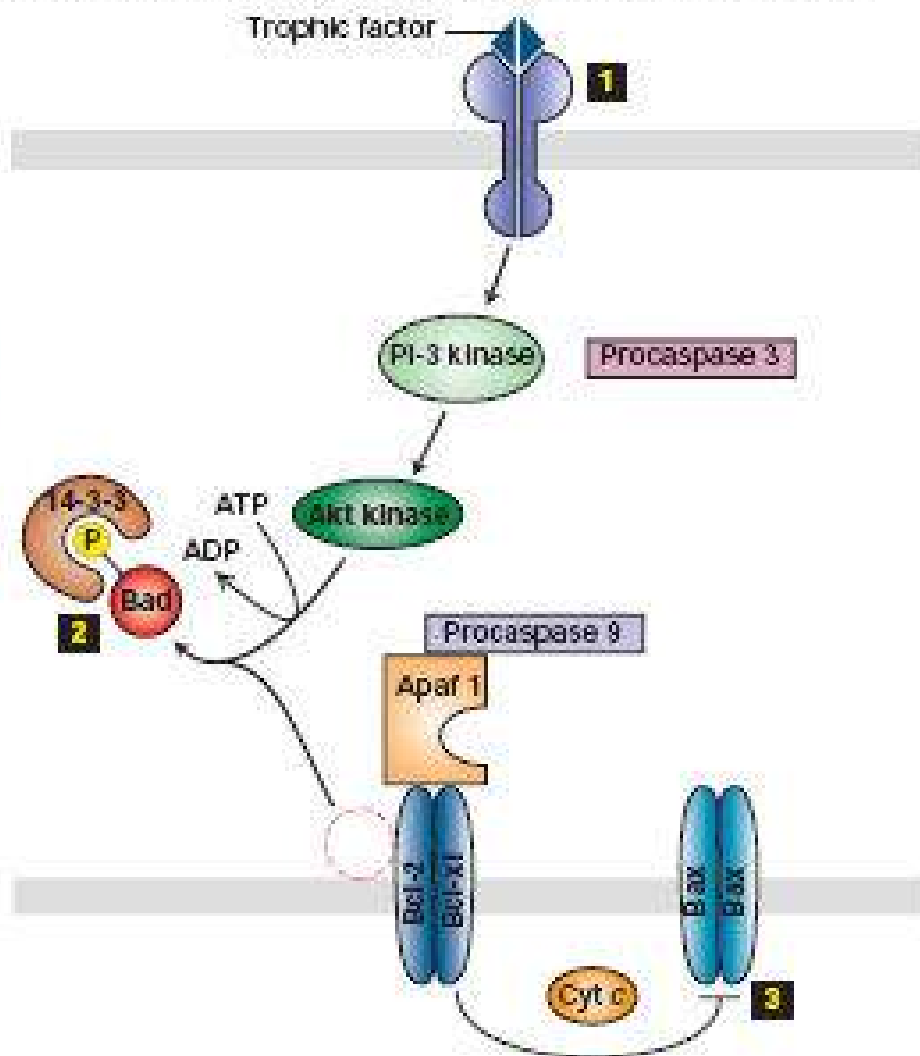
- Prvi identifikovani **pro-apoptotski** regulator, **Bax**, bio je udružen sa Bcl-2 u uzorcima ćelija sa visokim nivoima Bcl-2. pretrana sinteza Bax indukuje ćelijsku smrt (a ne štiti ćeliju od apoptoze, za razliku od Bcl-2). Tako ova familija regulatornih proteina uključuje i *anti-apoptotske* članove (npr., CED-9, Bcl-2) i *pro-apoptotske* članove (npr., Bax). Svi članovi ove familije **Bcl-2 familije**, su transmembranski proteini imogu da učestvuju u oligomernim interakcijama.
- Kod sisara, šest članova Bcl-2 familije sprečava apoptozu a devet je pospešuje. Tako sudbina ćelije —preživljavanje ili smrt—odražava koje članove familije Bcl-2 ćelija sintetise, kao i unutarćelijske signalne puteve između njih.
- Neki članovi Bcl-2 familije čuvaju ili razbijaju integritet membrane mitohondrija, čime kontrolišu oslobađanje mitohondrijalnih proteina kao što je citohrom c.
- U ćelijama koje uđu u apoptozu, **citohrom c** se oslobađa u cytosol. Ovo oslobađanje se može blokirati povećanom sintezom Bcl-2; shodno tome povećana sinteza **Bax** pospešuje oslobađanje citohroma c u citosol i apoptozu.
- Kada se citohrom c nađe u citosolu, vezuje se za adaptorni protein **Apaf-1** (homolog CED-4) i dovodi do aktivacije kaspazne kaskade koja dovodi do smrti ćelije. Bax može prouzrokovati smrt ćelije u preko drugog mehanizma koji pokreće disfunkciju mitohondrija nezavisno od aktivnosti kaspaza, za šta je u određenoj meri odgovorna depolarizacija mitohondrija.

Prikaz unutarćelijskih puteva koji dovode do smrti ćelije apoptozom ili do preživljavanja usled delovanja trofičkih faktira

(a) Absence of trophic factor: Caspase activation



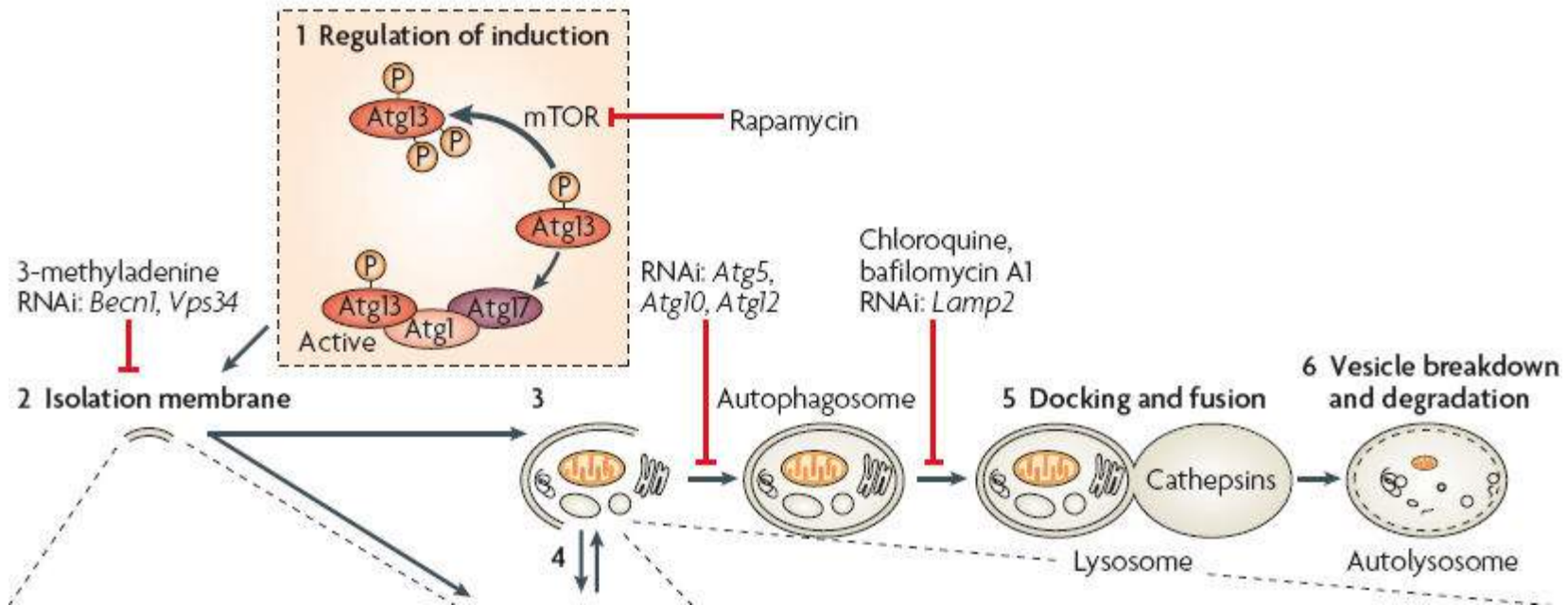
(b) Presence of trophic factor: Inhibition of caspase activation



- Genetske studije u *C. elegans* su definisale evolutivno konzervirane apoptotske puteve koji imaju 3 glavne komponente : regulatorne proteine, adaptorne proteine, i efektorske proteaze koji se kod kičmenjaka zovu kaspaze.
- Jednom aktivisane, apoptotske proteaze cepaju specifične unutarćelijske supstrate što vodi smrti ćelije.
- Adaptorni proteini (npr., Apaf-1), koji vezuju o regulatorne proteine i kaspaze, neophodni su za aktivaciju kaspaza.

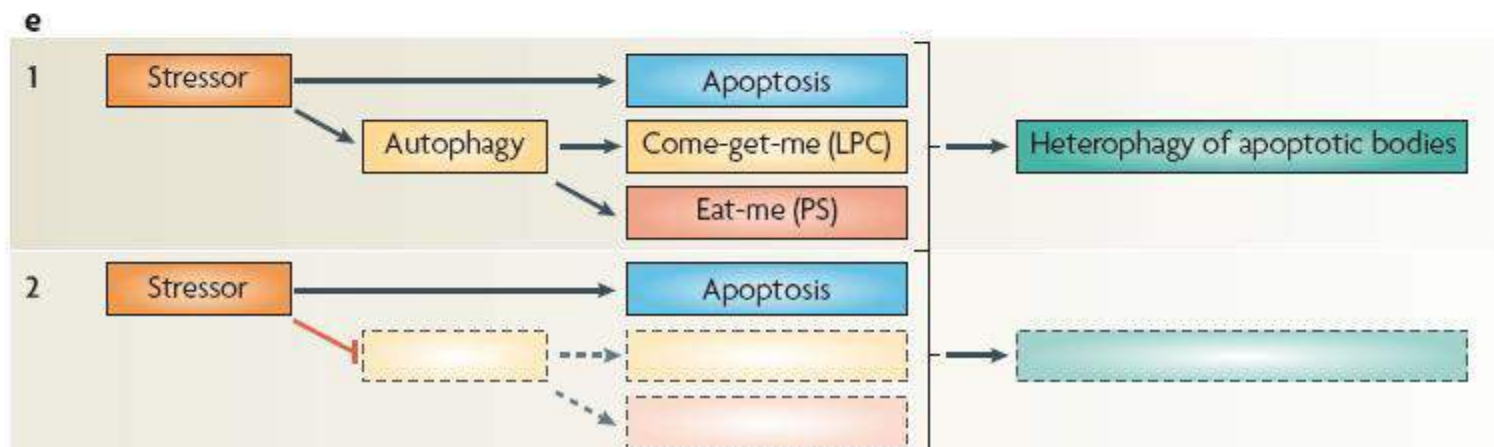
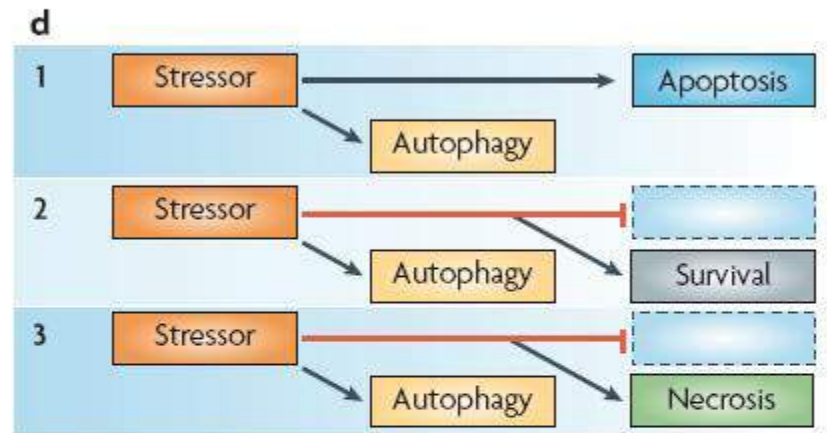
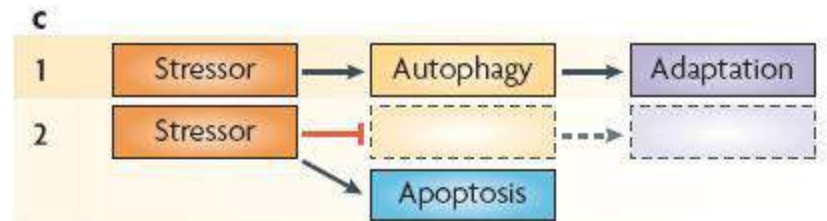
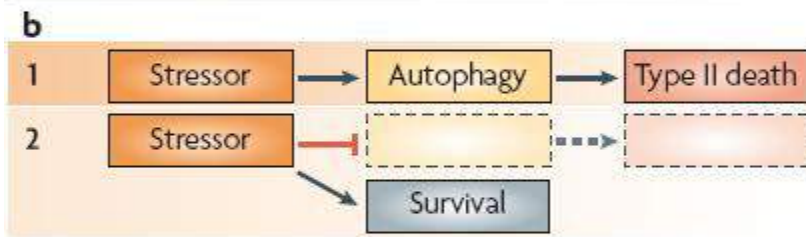
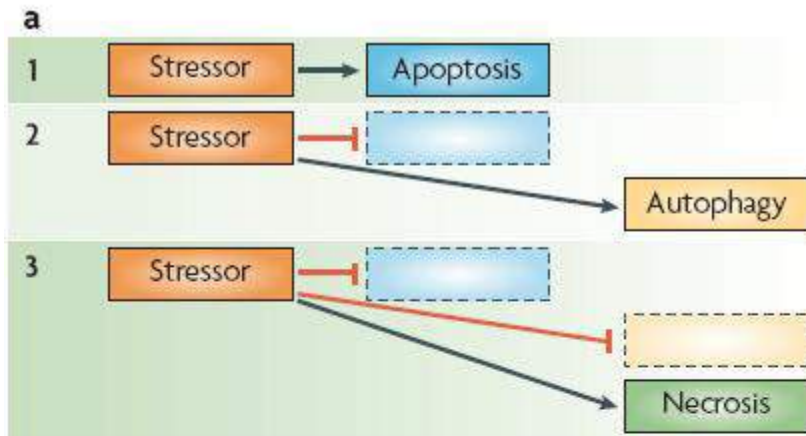
- Pro-apoptotski regulatorni proteini (npr., Bax, Bad) pospešuju aktivaciju kaspaza, dok anti-apoptotski regulatori (npr., Bcl-2) sprečavaju aktivaciju. Direktne interakcije između pro-apoptotskih i anti-apoptotskih proteina vode smrti ćelije u odsustvu trofičkih faktora. Vezivanje vanćelijskih trofičkih faktora može da dovede do promena u ovim interakcijama, što rezultira preživljavanjem ćelije.
- Bcl-2 familija sadrži i pro-apoptotske i antiapoptotske proteine. Bcl-2 molekuli učestvuju u kontroli oslobađanja citohroma *c* iz mitohondrija, čime se pokreće ćelijska smrt.
- Vezivanje vanćelijskih signala smrti, kao što je faktor nekroze tumora (tumor necrosis factor) i Fas ligand, za odgovarajuće receptore aktiviraju pridruženi protein (FADD) koji pokreće kaspaznu kaskadu koji vodi smrti ćelije.

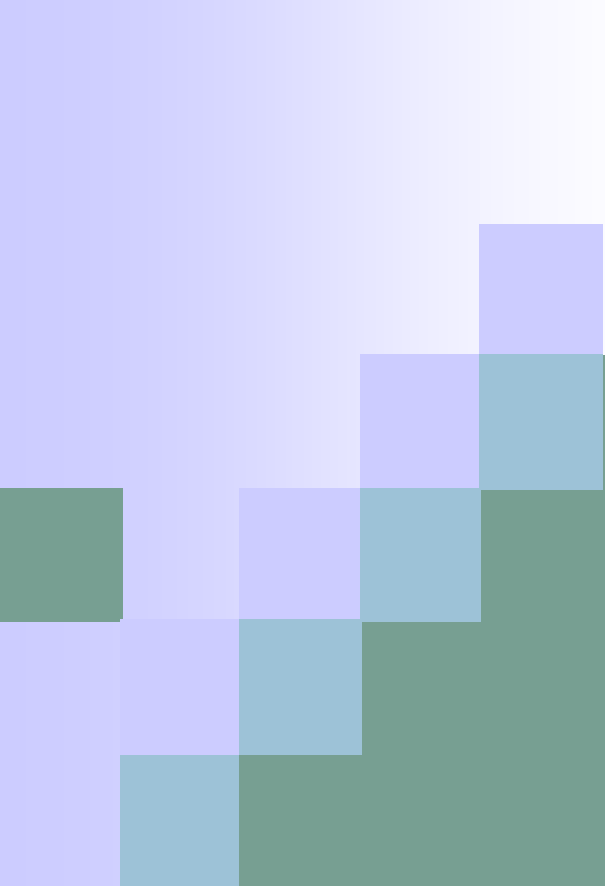
Autofagija



Autofagija -proces u kojem se deo citoplazme obavije membranom i nakon toga podvrgne digestiji lizozomalnim enzimima.

Autofagija počinje postepenom okruživanjem ciplazmatskog materijala (citosola i/ili organela) membranom (fagoforom) koja materijal odvaja u vezikule autofagozome (autofagne vakuole).





TKIVA

1. **Nervno tkivo**
2. **Krv**
3. **Jetra**
4. **Mišići**