

Sisteme de transport activ

Transportul transmembrantar al unor substanțe împotriva gradientelor fizice, precum și menținerea unor inegalități de concentrație ionică (de exemplu, pentru sodiu și potasiu) nu pot fi explicate decât dacă se ia în considerare existența unor mecanisme de transport activ („pompe”). Aceste mecanisme, care se realizează cu consum de energie metabolică, pot interveni fie accelerând deplasarea de-a lungul unui gradient., fie diminuând sau chiar suprimând efectul gradientelor electro-chimice.

În funcție de modul în care se realizează și se utilizează energia necesară, transporturile active pot fi de două tipuri: transportul activ primar și transportul activ secundar (cotransportul electrogen).

Transportul activ primar se caracterizează prin faptul că utilizează direct ATP în vederea transportului, care este realizat cu ajutorul unor ATPaze specifice fiecărei specii ionice sau molecule transportate. Este din nou vorba despre structuri moleculare proteice cu zone hidrofobe care traversează membrana. Hidrolizând ATP, aceste structuri eliberează energia necesară unor transconformări generate prin fosforilare. Transconformările mobilizează substratul spre fața opusă a membranei. Aici procesul se inversează prin defosforilare, urmată de trecerea ciclică într-o a doua configurație, aptă să asigure transportul altui substrat în sens invers.

Cea mai bine cunoscută dintre ATPazele de transport este Na^+/K^+ ATPaza formată dintr-o subunitate „catalitică” – alfa (Mr:100 000 daltoni) și o subunitate glicoproteică beta (Mr:50 000 daltoni fig.28).

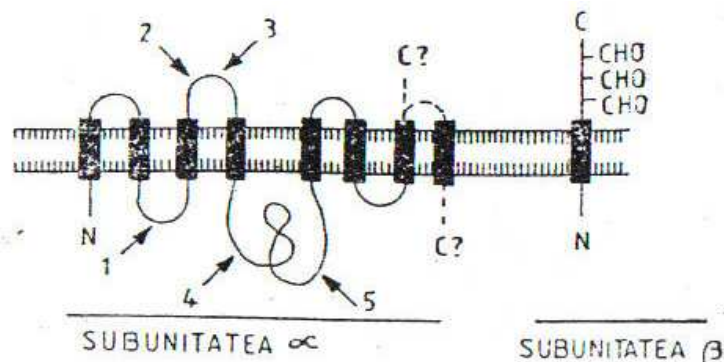


Fig. 28. Orientarea intramembranară a Na^+/K^+ -ATPazei. Subunitatea alfa are patru situsuri cu afinitate pentru: Na^+ (1); K^+ (2); ouabaină (3); ATP (5) și un situs de fosforilare (4). Subunitatea are șase-opt segmente transmembranare. Subunitatea beta are un singur segment transmembrantar și trei puncte cu potențial de glicozilare (CHO) situate pe extremitatea carboxiterminală externă.

Operând la capacitate maximă, această Na^+/K^+ -ATPază transportă trei ioni de Na^+ spre exterior și doi Ioni de K^+ spre interior pentru fiecare moleculă de ATP hidrolizată. Fosforilarea și defosforilarea ciclică a proteinei o determină să oscileze între două conformații alternative (peristaltică moleculară). În configurația E1 situsurile ionice au

afinitate mare pentru Na^+ și sunt orientate spre citoplasmă, în timp ce în configurația E2 aceleași situsuri favorizează legarea K^+ și se orientează spre lichidul extracelular. O descriere simplificată a procesului este prezentată în figura alăturată (fig. 29).

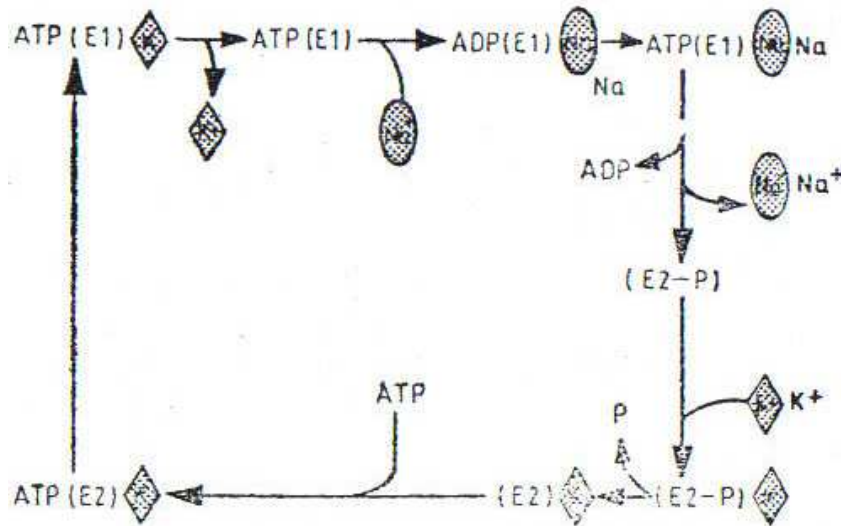


Fig. 29. Mecanismul de acțiune a Na^+/K^+ -ATPazei (reprezentare simplificată).

Conformerul E1 are afinitate mare pentru Na^+ intracelular, pentru Mg^{2+} și ATP. Când acești trei liganzi sunt fixați, proteina este fosforilată la nivelul unui reziduu aspartat din apropierea situsului de fixare a ATP. În acest timp, situsul de fixare pentru Na^+ suferă un fenomen de „ocluzie” (devine inaccesibil dinspre ambele fețe ale membranei). Se consideră că în acest moment ATPaza suferă o transformare ce face situsurile ionice accesibile dinspre fața externă a membranei, scăzându-le totodată afinitatea pentru Na^+ . Ca urmare, ionii de Na^+ disociază în mediul extracelular și proteina trece într-o nouă stare conformațională: E2—P. Configurația E2—P are o afinitate crescută pentru K^+ pe fața extracelulară, fixând la acest nivel 2K^+ . Legarea K^+ determină disocierea legăturii acil fosfat și, din nou, situsurile pentru K^+ trec în forma ocluzată, devenind inaccesibile. Fixarea unei noi molecule de ATP pe E2— K^+ determină trecerea în forma E1 și ionii de K^+ disociază pe fața endoplasmică, procesul repetându-se ritmic (peristaltică moleculară). Deși mecanismele detaliate ale transportului activ primar rămân doar parțial cunoscute, s-au descris până în prezent numeroase ATP-aze de transport transmembranar ce joacă un rol central în activitățile celulare descrise pe întreaga scară a organismelor vii. Aceste enzime aparțin unuia dintre cele trei tipuri de ATPaze cunoscute: P, V sau F (tabelul VII și fig. 30, 31).

TABELUL VII

Cele trei clase de ATPaze transportoare de ioni
(modificat după Berne și Levy, 1992)

Tip	Mr kDa	Ion	Organism	Membrană
P	100 × n	H ⁺	Eucariote inferioare	Plasmalemă
		H ⁺	Eucariote superioare	Membrană internă
		K ⁺	<i>E. coli</i> , <i>S. faecalis</i>	Plasmalemă
		H ⁺ /K ⁺	Eucariote superioare	"
		Na ⁺ /K ⁺	"	"
		Ca ²⁺	"	R. sarcoplasmatică
		Ca ²⁺	"	Lizozomală, Golgi
		Ca ²⁺	"	"
		Ca ²⁺	"	"
V	400	H ⁺	Eucariote inferioare	Vacuole
		H ⁺	Eucariote superioare	Tonoplaste
		H ⁺	"	Lizozomi
		H ⁺	"	Endozomi
		H ⁺	"	Granule secretoare
		H ⁺	"	Granule de depozit
		H ⁺	"	Veziicule căptușite cu clathrină
F	450	H ⁺	Bacterii	Membrană internă
		H ⁺	Eucariote superioare	Mitochondrială internă
		H ⁺	"	Cloroplaste

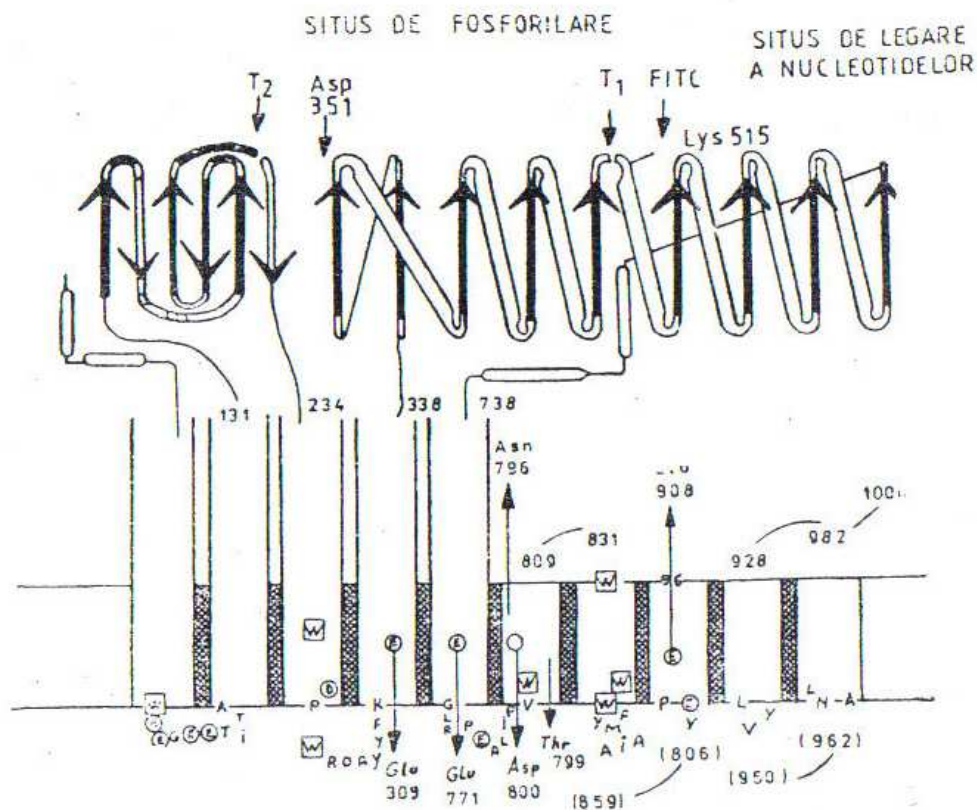


Fig. 30. Reprezentare schematică a structurii secundare a ATPazei de Ca²⁺ din RS.

fig.30.

fig.31.

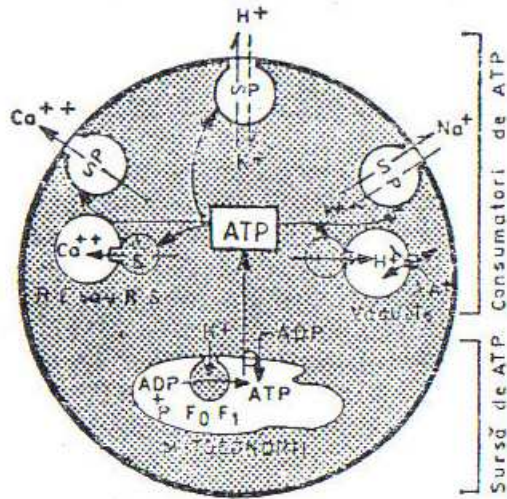


Fig. 31. ATPazele transportoare de ioni sunt atât surse majore, cât și consumatori importanți de ATP la nivel celular (modificat după Berne și Levy, 1992).

Transportul activ secundar sau cotransportul electrogen se realizează cu ajutorul unor transportori care permit fixarea simultană a două specii diferite de molecule, transportându-le în aceeași direcție (cotransport sau sinport). Fixarea simultană reprezintă condiția de bază a acestui mecanism. Cu excepția unor sisteme găsite celulele drojdiei de bere, toți cotransportorii utilizează, în calitate de al doilea ion, ionul de Na+. Toate celulele prezintă un gradient mare de concentrație a Na+ dirijat spre interior, ca urmare a activității permanente a Na+/K+-ATPazei. În consecință, ionii de Na+ tind să difuzeze permanent spre interiorul celulei. Fiind cuplați cu alți ioni pe cotransportor, ionii de Na+ se deplasează spre interiorul celulei, în timp ce ionul cotransportat este adesea pompat împotriva unui gradient de concentrație. Energia rezultă din gradientul de Na+, consecința îndepărtată a consumului de ATP. Există numeroase sisteme de cotransport, dintre care câteva prezentate în tabelul alăturat (tabelul VIII).

TABELUL VIII

Câteva sisteme de cotransport prezente în celulele de mamifere (completat după Best și Taylor, 1992)

Ioni	Glucide	Aminoacizi	Alte
Na+/Cl ⁻	Na+/glucoză	Na+/alanină	Na+/lactat
Na+/K+/2Cl ⁻	Na+/galactoză	Na+/glicină	Na+/colat
Na+/PO ₄ ³⁻		Na+/serină	Na+/citrat
2Na+/PO ₄ ³⁻		Na+/cisteină	Na+/folat

Așa cum se poate observa, cotransportul Na^+ -cuplat poate asigura introducerea a numeroși compuși în interiorul celulei împotriva gradientelor de concentrație. Acest tip de cotransport poate fi elctroneutru când numărul sarcinilor de semn opus este egal, dar poate deveni electrogen, determinând modificări de potențial transmembranar, când apar asimetrii. De exemplu, în cazul cotransportului de Na^+ /glucoza, la fiecare moleculă de glucoza transportată împotriva gradientului de concentrație spre interior, mediului intracelular ii este adăugată o sarcină pozitivă suplimentară, generând starea de dezechilibru electro-chimic, denumită și depolarizare. Cotransportorul implicat a fost donat și structurile sale primară și secundară sunt cunoscute .