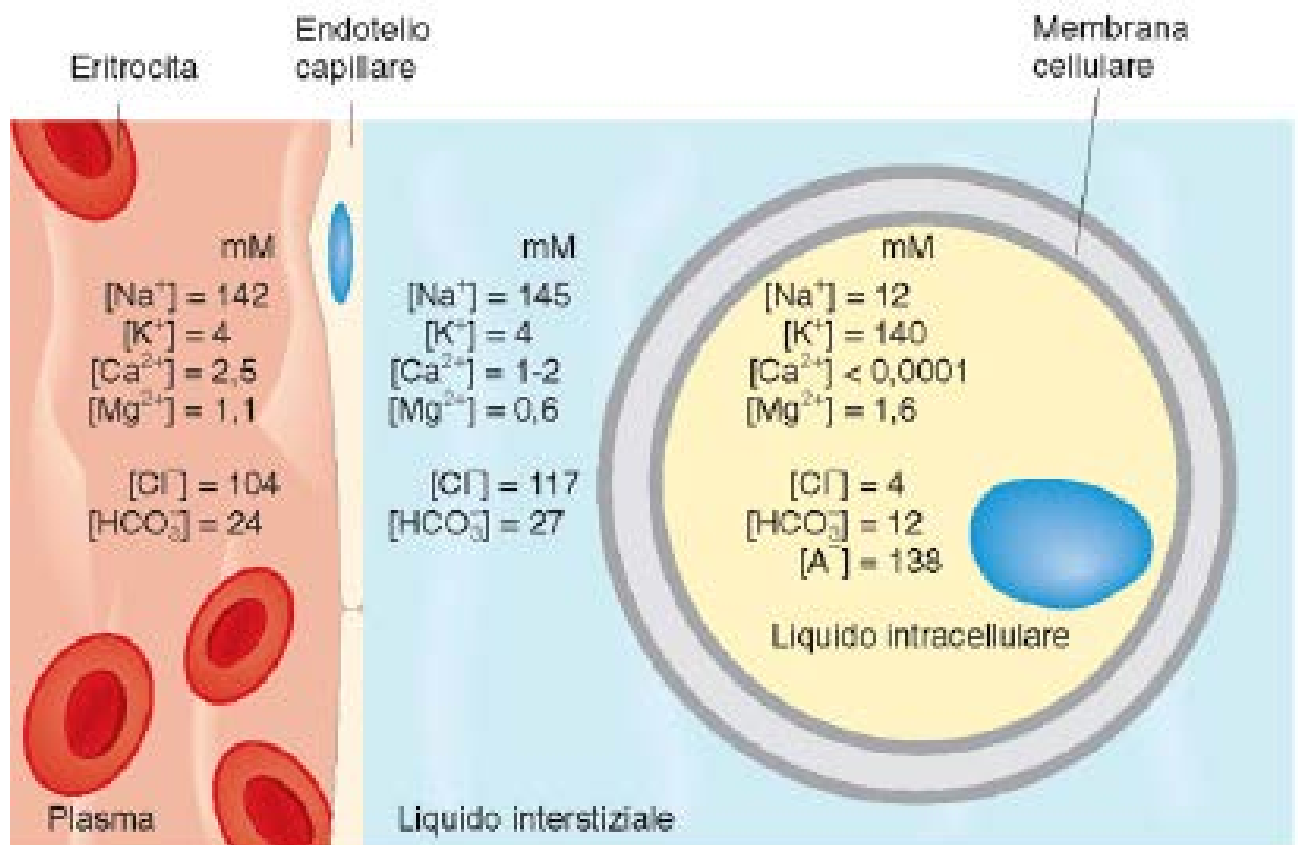


# **CAPITOLO 1. TRASPORTI DI MEMBRANA**

## DIFFERENZE DI CONCENTRAZIONI IONICHE TRA I COMPARTIMENTI ENTRA ED INTRACELLULARE



## TRASPORTO PASSIVO

- non richiede energia
- avviene secondo gradiente di concentrazione
- tende a dissipare i gradienti di concentrazione (ioni e molecole passano dal compartimento a maggior concentrazione verso quello a minor concentrazione)
- avviene in tre modi diversi:
  - 1) **diffusione semplice**
  - 2) **diffusione attraverso canali di membrana**
  - 3) **diffusione facilitata attraverso trasportatori**

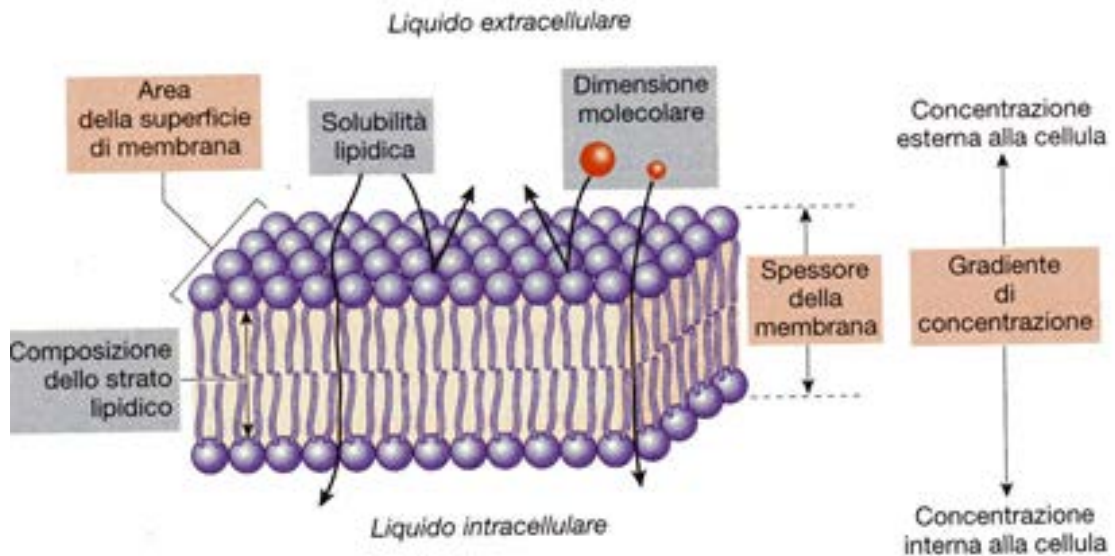
## TRASPORTO ATTIVO

- richiede energia metabolica (ATP)
- avviene contro gradiente di concentrazione
- crea gradienti di concentrazione
- è sempre mediato da proteine di membrana
- avviene in due modi diversi:
  - 1) **trasporto attivo primario** (direttamente accoppiato a una sorgente di energia metabolica)
  - 2) **trasporto attivo secondario** (indirettamente accoppiato a una sorgente di energia metabolica)

## • La diffusione semplice

- NON RICHIEDE ENERGIA METABOLICA
- REGOLATO DALLA DIFFERENZA DI CONCENTRAZIONE  
(maggiore diff. concentrazione, maggiore è la velocità di diffusione /unità di tempo)
- CONTINUA FINO A RAGGIUNGERE LA STESSA CONCENTRAZIONE AI LATI DELLA MEMBRANA
- DIRETTAMENTE PROPORZIONALE ALLA TEMPERATURA
- INVERSAMENTE PROPORZIONALE ALLA DIMENSIONE DELLE MOLECOLE

# LEGGE DI FICK



$$J \text{ (flusso)} = P (C_I - C_{II}) = D A K (C_I - C_{II}) / x$$

$C_I - C_{II}$  = differenza di concentrazione del soluto

$P$  = permeabilità

$D$  = coeff. diffusione

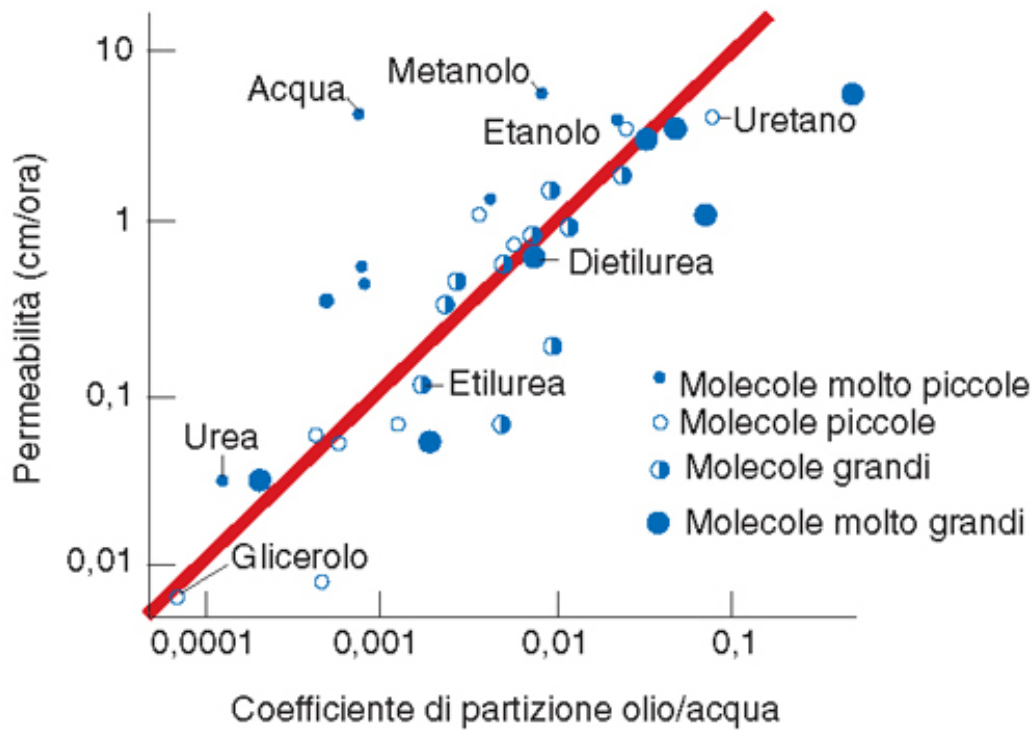
$A$  = area sezione di scambio

$x$  = spessore membrana

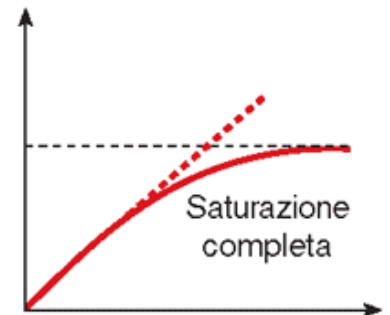
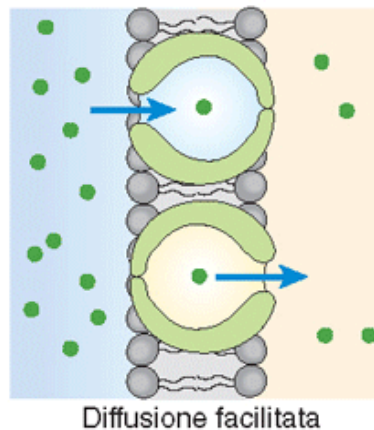
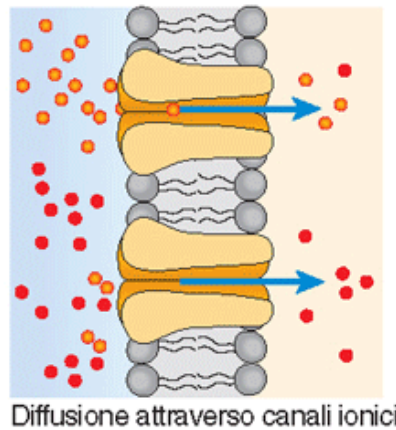
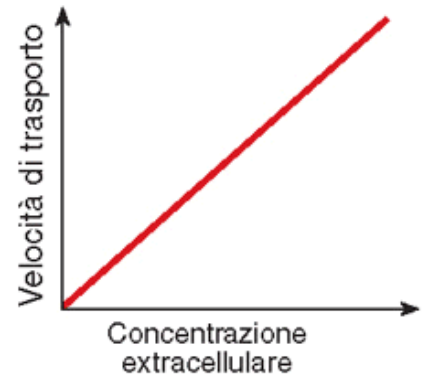
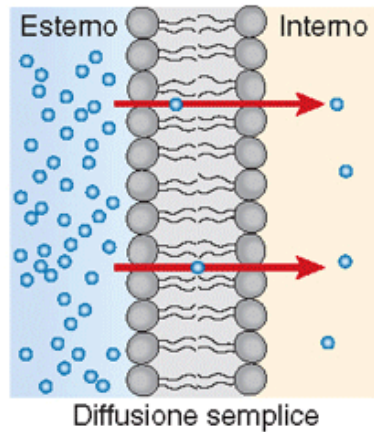
$K$  = coefficiente partizione =

conc.soluto lipidi / conc.soluto  $H_2O$

## LA PERMEABILITA' DIPENDE IN MODO LINEARE DA K

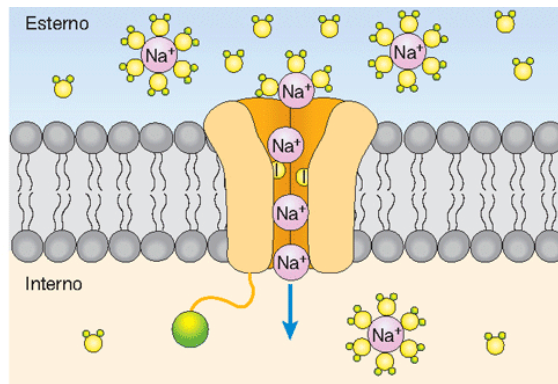


Diffusione  
semplice:  
CINETICA DI NON  
SATURAZIONE



**Figura 1.10** Relazione tra permeabilità (velocità di trasporto attraverso la membrana) e la concentrazione di soluti nel liquido extracellulare. Nel caso della diffusione passiva la relazione è lineare. Nel caso della diffusione facilitata (carrier) o attraverso canali ionici, la relazione è invece lineare a basse concentrazioni per poi saturare in maniera diversa ad alte concentrazioni.

## • La diffusione attraverso canali ionici

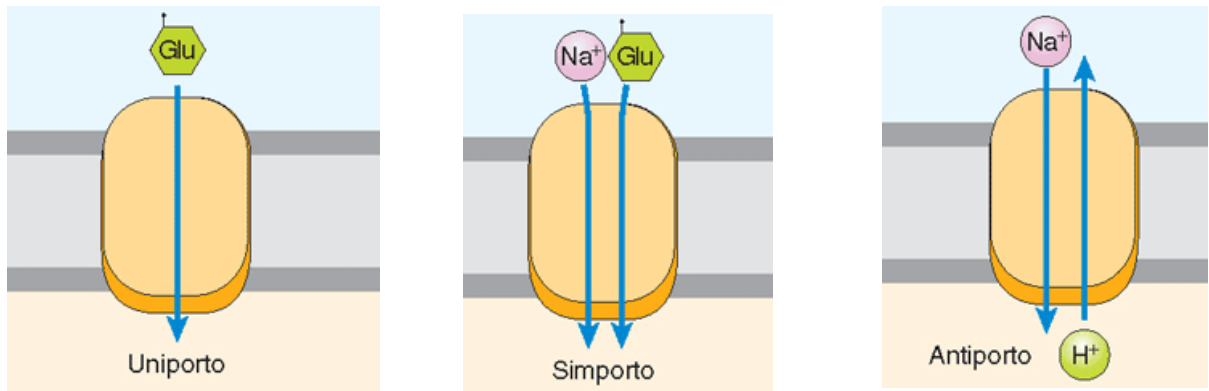


### **GATING DEI CANALI IONICI** (modalità di attivazione)

- VOLTAGGIO-DIPENDENTI
  - ATTIVATI DA LIGANDO
  - ATTIVATI DA SECONDO MESSAGGERO
  - ATTIVATI DA STIMOLO MECCANICO
- 
- Si classificano inoltre in base a proprietà biofisiche e farmacologiche:
    - selettività per le diverse specie ioniche ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ )
    - cinetica di apertura, chiusura ed inattivazione
    - farmacologia (bloccanti, agonisti)

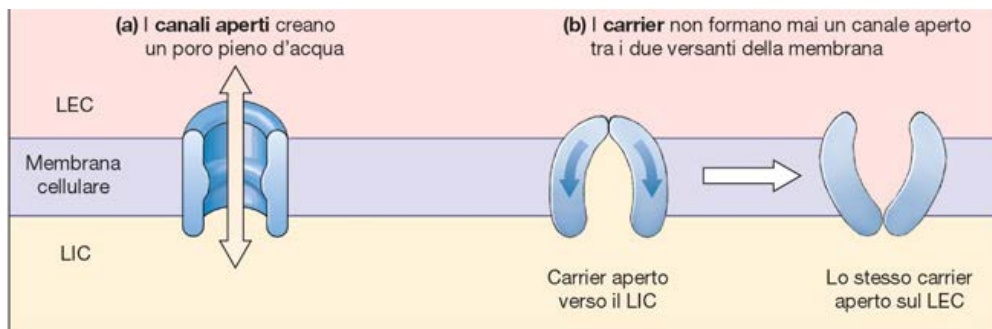


## • La diffusione attraverso trasportatori

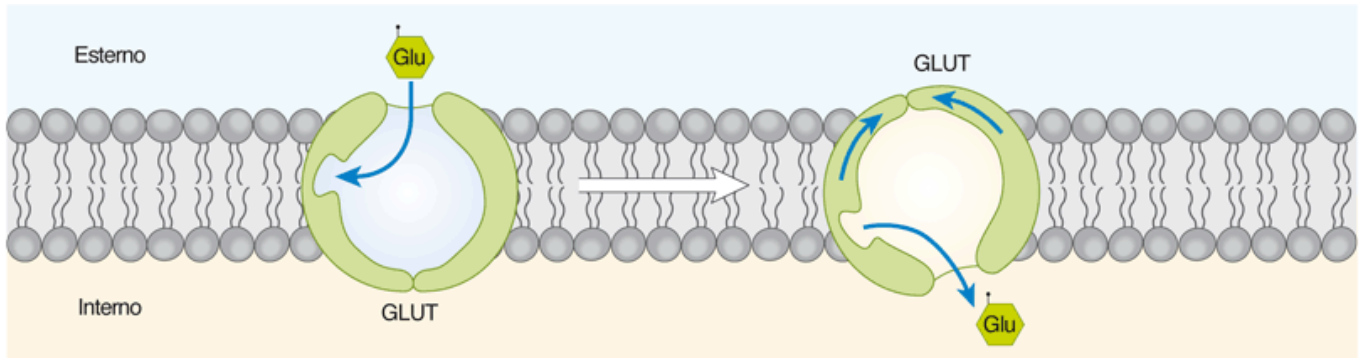


Proprietà comuni dei trasportatori:

- SPECIFICITA' (esempio trasportatori GLUT per glucosio, mannosio, galattosio, fruttosio).
- COMPETITIVITA' (due molecole che hanno affinità per il sito di legame si ostacolano a vicenda).
- SATURAZIONE: si raggiunge saturazione quando il substrato ha una concentrazione tale da occupare tutti i trasportatori



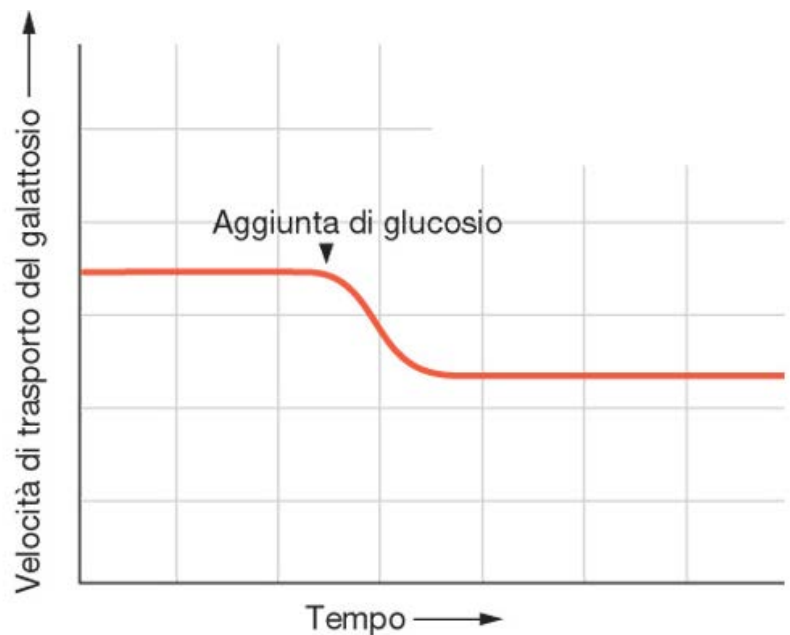
## TRASPORTATORI PER IL GLUCOSIO (GLUT)



**Figura 1.13** Diffusione facilitata del glucosio mediata dal trasportatore GLUT.

- 12 isoforme
- Distribuite in modo eterogeneo.
- La direzione del trasporto avviene secondo gradiente (reversibile)
- uniporto

C'è competizione per il sito di legame (esempio tra glucosio e galattosio)

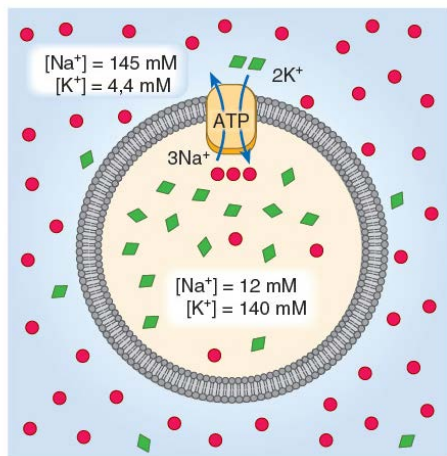


Il glucosio e il galattosio utilizzano lo stesso trasportatore di membrana. Il carrier ha una maggiore affinità per il glucosio rispetto al galattosio.

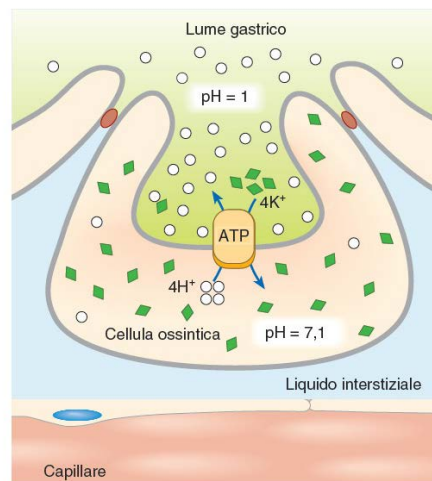
## • Il trasporto attivo

- proteine di membrana che utilizzano l'energia dell'idrolisi di ATP per trasportare ioni contro gradiente di concentrazione (ATPasi)
- permette il mantenimento di gradienti di concentrazione stabili ai lati della membrana cellulare
- elevata specificità
- possono essere scambiati ioni diversi sui due lati della membrana
- può essere elettrogenico
- si distingue tra:
  - trasporto attivo primario
  - trasporto attivo secondario (co-trasporto, contro-trasporto)

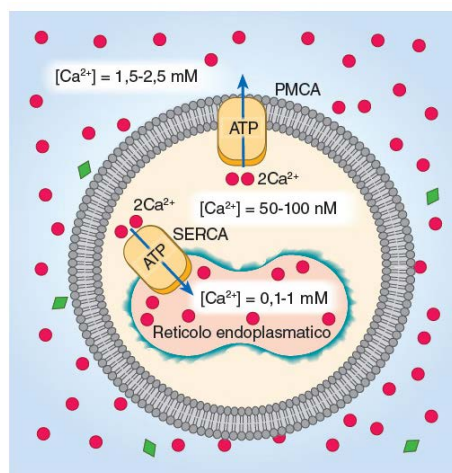
# • Il trasporto ATTIVO PRIMARIO



**Figura 1.15** La pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi trasporta 3 ioni  $\text{Na}^+$  verso l'esterno e 2 ioni  $\text{K}^+$  verso l'interno e contribuisce a mantenere i gradienti ionici di  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ .

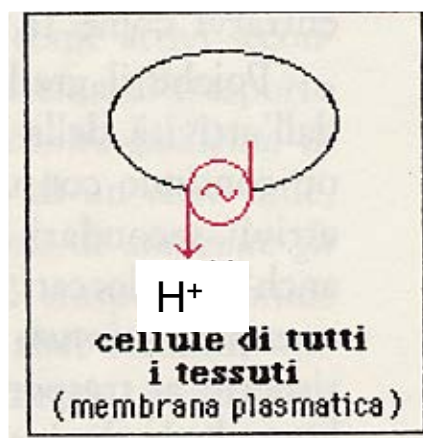


**Figura 1.19** La pompa protonica ( $\text{H}^+/\text{K}^+$ -ATPasi) trasporta 4 ioni  $\text{H}^+$  fuori dalla cellula e 4 ioni  $\text{K}^+$  all'interno sfruttando l'energia chimica ottenuta dall'ATP.



**Figura 1.17** Le due pompe del  $\text{Ca}^{2+}$ : PMCA e SERCA. Entrambe trasportano  $\text{Ca}^{2+}$  contro gradiente e permettono di mantenere bassi i livelli di  $\text{Ca}^{2+}$  citosolico.

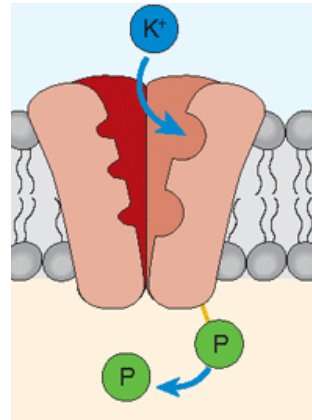
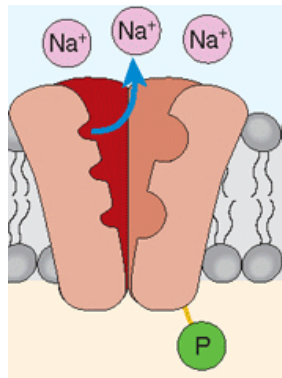
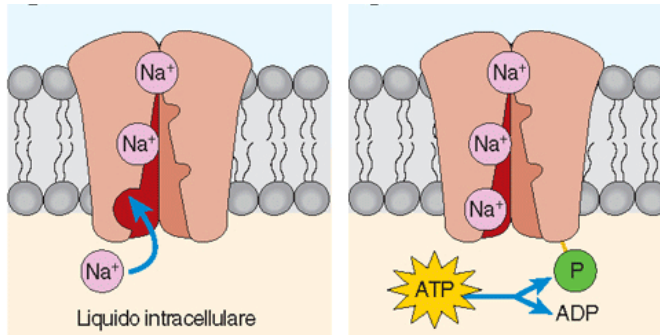
## Pompa del $\text{H}^+$



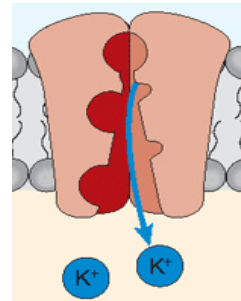
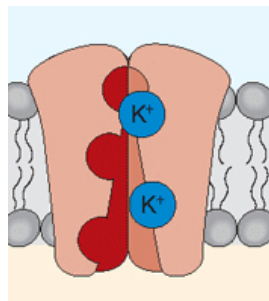
$2\text{H}^+$

## Esempi di trasporto attivo primario: la pompa $\text{Na}^+/\text{K}^+$

Alta  
affinità  
per  $\text{Na}^+$



Alta  
affinità  
per  $\text{K}^+$



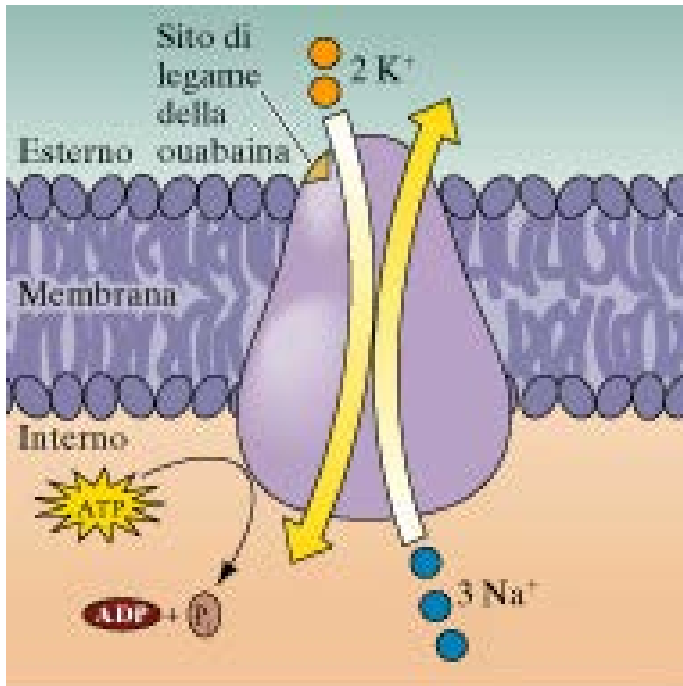
Pompa con carattere elettrogenico in quanto i flussi ionici sono asimmetrici: 3 ioni  $\text{Na}^+$  espulsi, 2 ioni  $\text{K}^+$  immessi

Funzione: mantenere  $[\text{Na}^+]_i$  bassa e  $[\text{K}^+]_i$  alta

Attivata da aumenti di  $[\text{Na}^+]_i$  e  $[\text{K}^+]_o$

Selettiva per  $\text{Na}^+$  (la sostituzione con  $\text{Li}^+$  blocca la pompa)

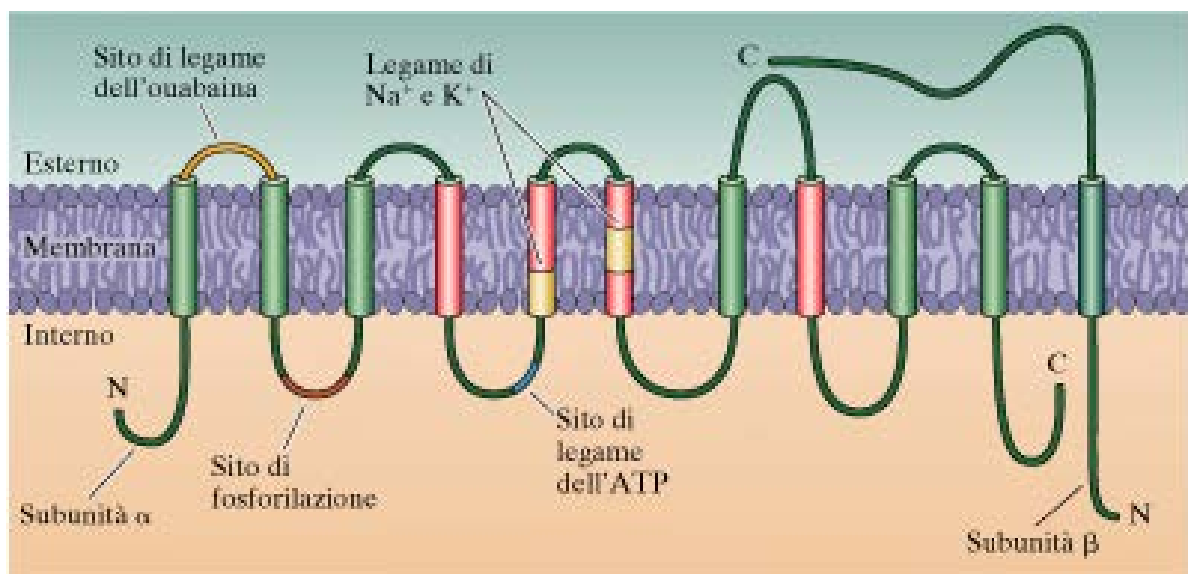
# Struttura molecolare della la pompa $\text{Na}^+/\text{K}^+$



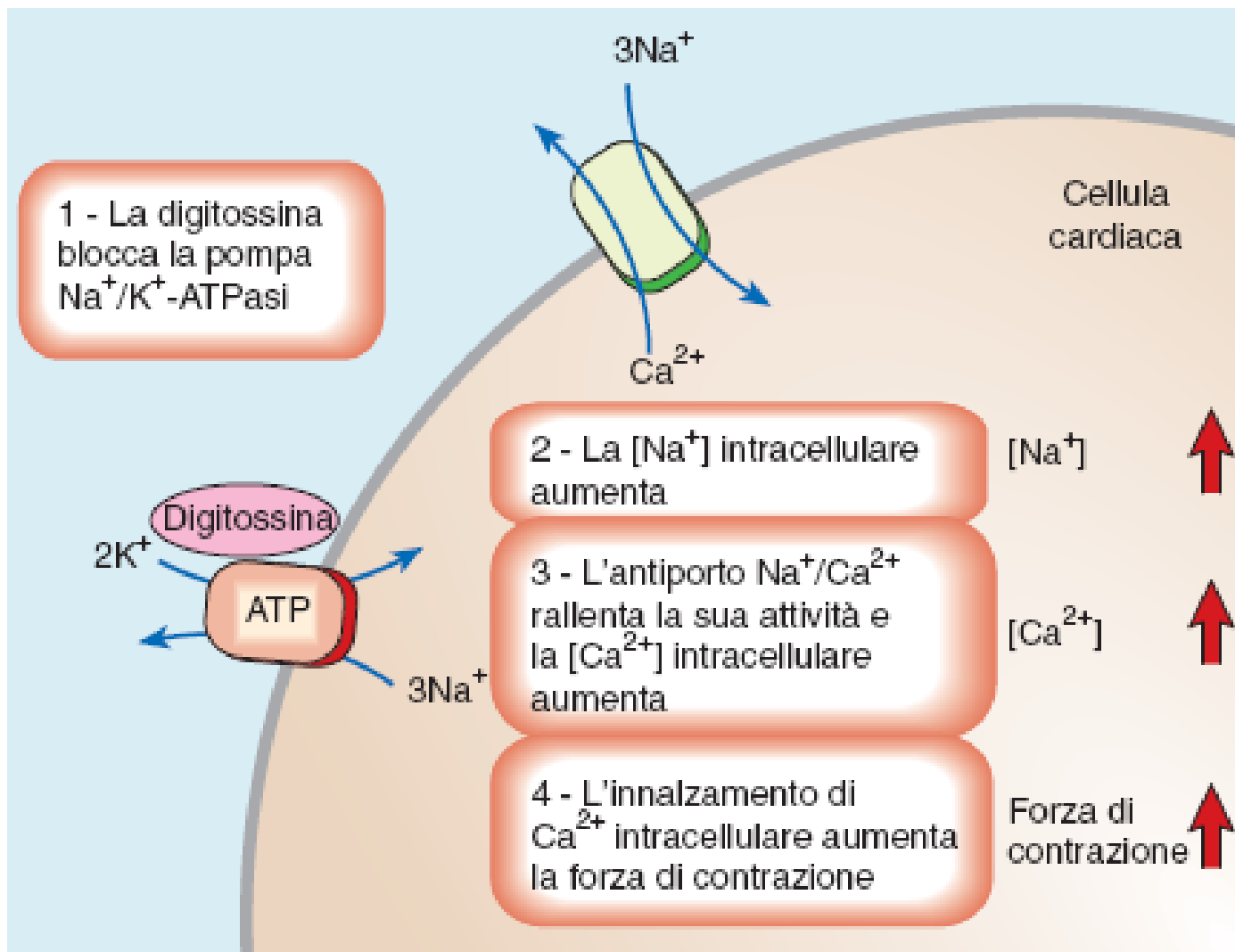
Alfa: 100 kDa

Beta: 45 kDa

## STRUTTURA MOLECOLARE



Il blocco della Na/K ATPasi da parte di OUABAINA, DIGITOSSINA, DIGOSSINA (glicosidi cardiaci) sulle cellule cardiache potenzia la contrattilità cardiaca, il volume sistolico e la gittata cardiaca.



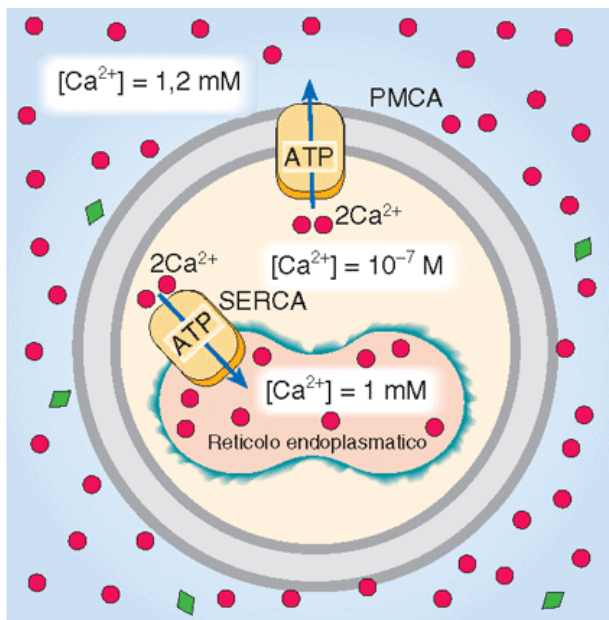
## Esempi di trasporto attivo primario: $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasi

- uniporto
- espressa su: membrana plasmatica, mitocondri, reticolo endoplasmatico
- trasporta 2 ioni  $\text{Ca}^{2+}$  per ogni molecola di ATP
- necessaria la presenza di  $\text{Mg}^{2+}$  per il suo funzionamento
- non si conoscono inibitori specifici
- Due isoforme della  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasi: PMCA, SERCA

### FUNZIONE:

mantiene bassa la concentrazione di  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare ( $10^{-7}$ - $10^{-8}$  M)

- nel reticolo sarcoplasmatico delle cellule muscolari scheletriche costituisce l'80% delle proteine membranali



### PMCA:

(Plasma Membrane Calcium ATPase)

Espressa membrana plasmatica

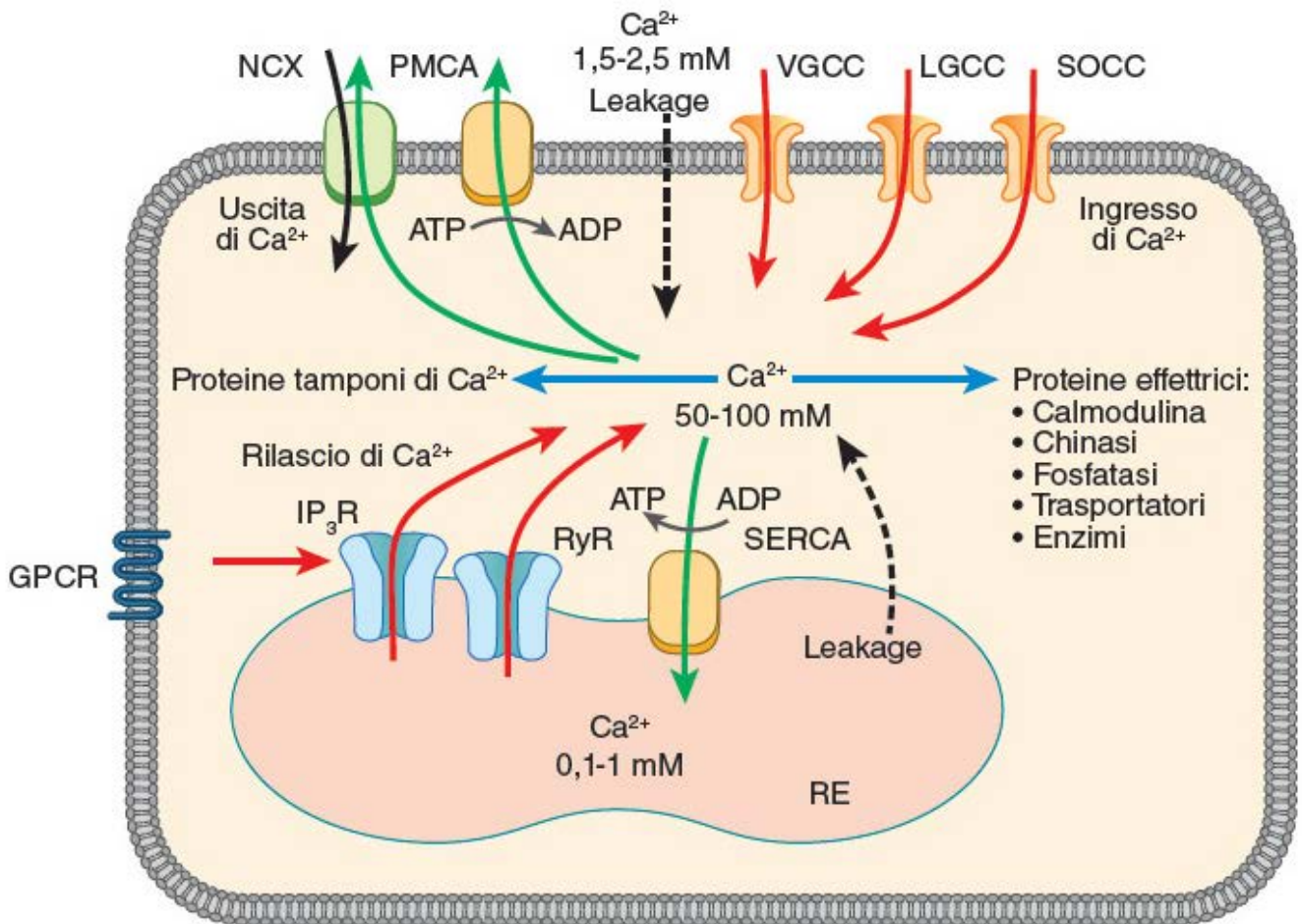
### SERCA:

(Smooth Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase)

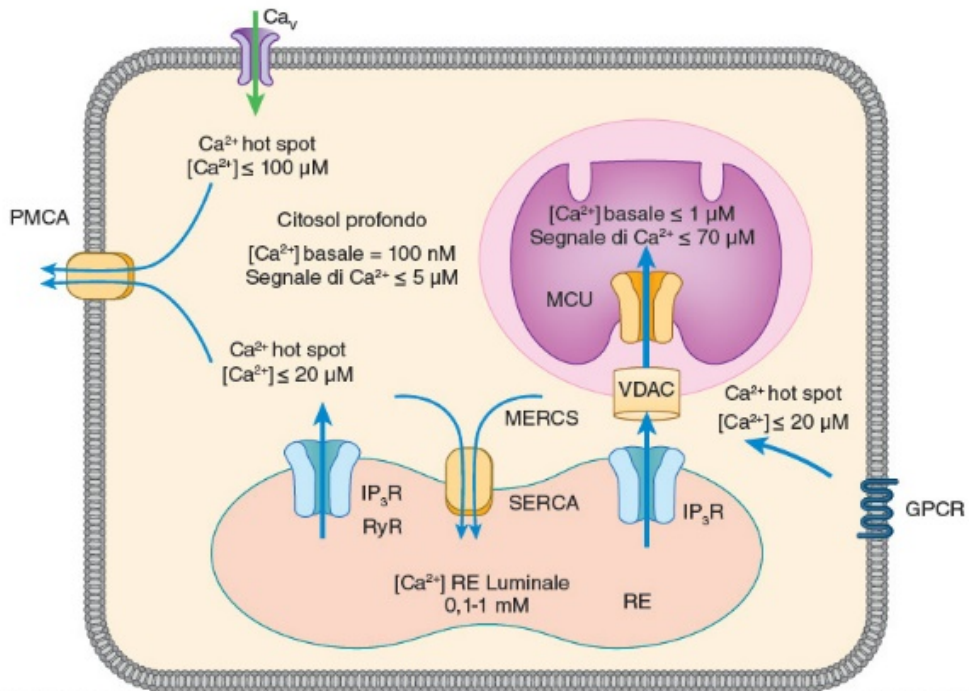
Espressa sulla membrana del RE



## OMEOSTASI DEL $\text{Ca}^{2+}$ INTRACELLULARE

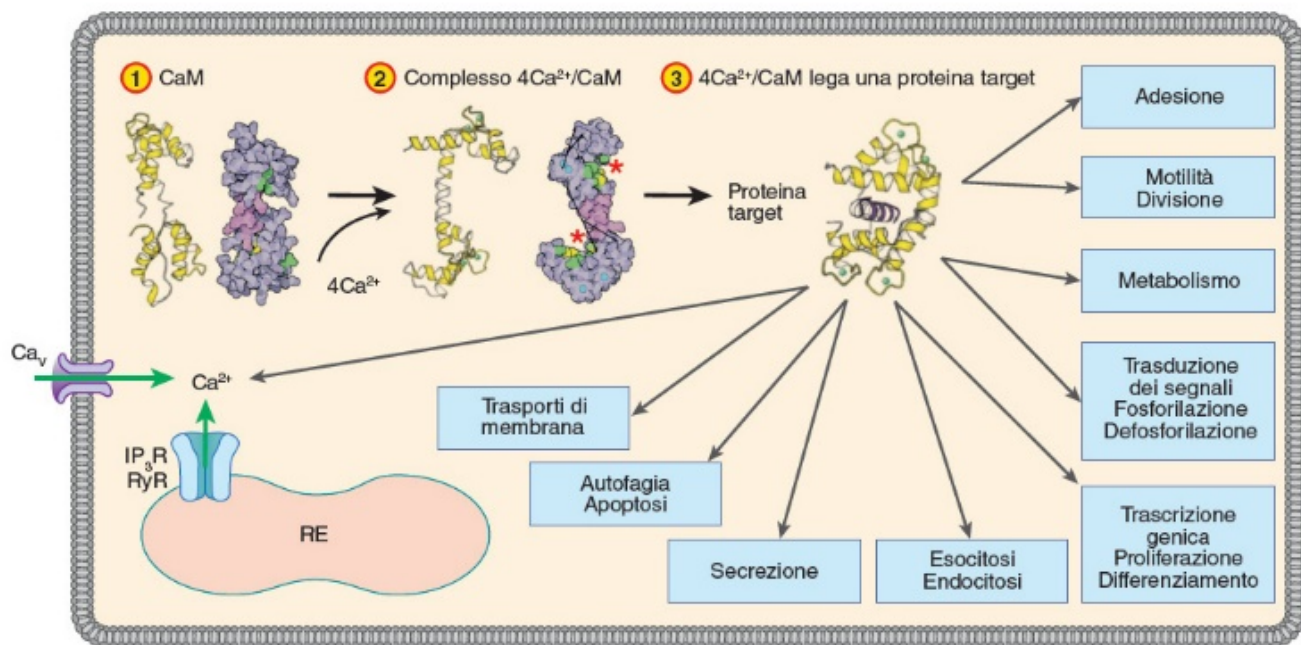


## GLI HOT-SPOT DI $\text{Ca}^{2+}$ INTRACELLULARE



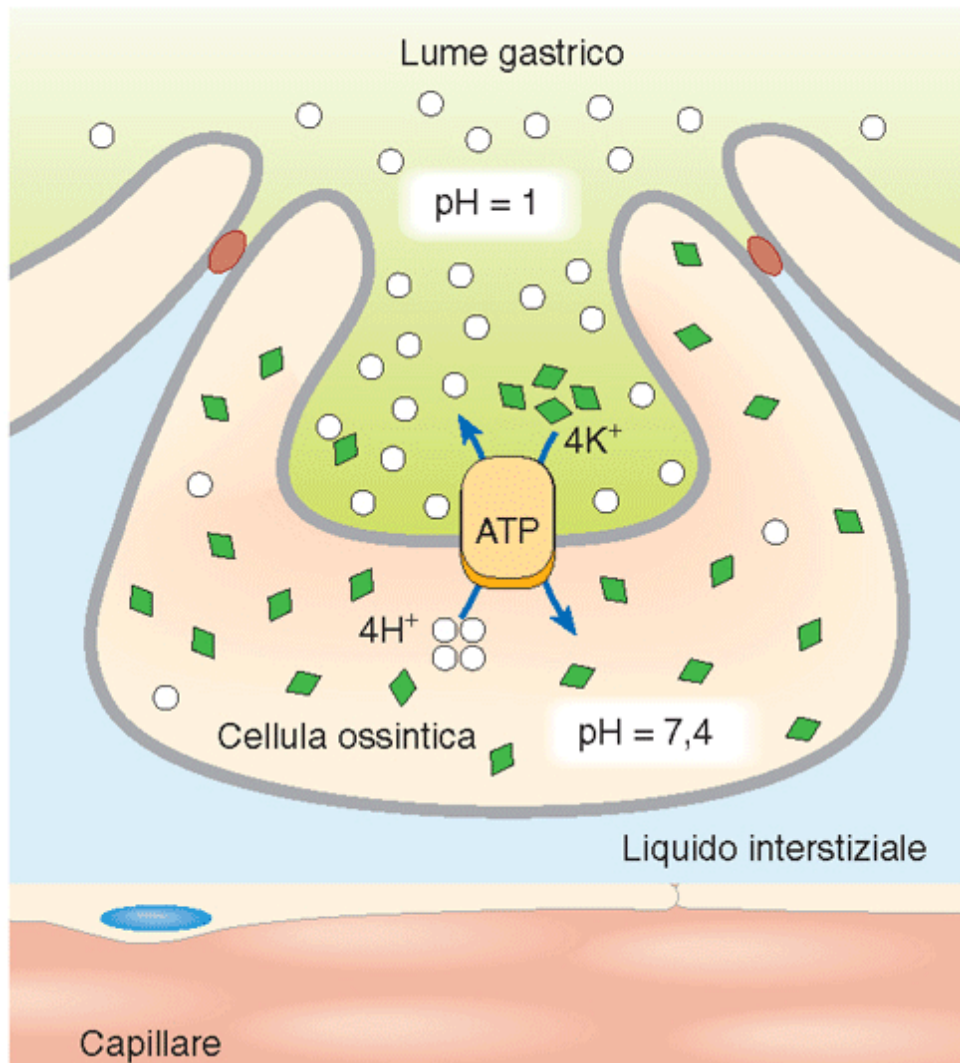
**Figura 1.24** Illustrazione schematica dei  $\text{Ca}^{2+}$  *hot spot*, siti ad alta  $[\text{Ca}^{2+}]$  generati nelle vicinanze dei canali del  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{Ca}_v$ ) sulla membrana plasmatica, degli  $\text{IP}_3\text{R}$  e  $\text{RyR}$  sul reticolo endoplasmatico, e dei punti di contatto tra reticolo endoplasmatico e mitocondri (MERCS). Quest'ultimo  $\text{Ca}^{2+}$  *hot spot* garantisce l'attivazione del trasporto del  $\text{Ca}^{2+}$  nella matrice mitocondriale, mediato dal canale VDAC e dal trasportatore MCU.

## TRASDUZIONE DEI SEGNALI $\text{Ca}^{2+}$ -DIPENDENTI



**Figura 1.26** Meccanismo di attivazione e funzioni cellulari regolate dalla calmodulina. CaM è una piccola proteina (~17 kDa) composta da due teste contenenti due siti di legame per il  $\text{Ca}^{2+}$ , ciascuna separata da un dominio flessibile (1). Il legame con quattro ioni di  $\text{Ca}^{2+}$  provoca un cambio conformazionale della  $4\text{Ca}^{2+}$ -CaM in due fasi: nella prima fase le teste della  $4\text{Ca}^{2+}$ -CaM ruotano lungo il dominio flessibile, esponendo gli aminoacidi idrofobici, evidenziati con asterischi rossi (2). Successivamente il legame con una proteina target provoca un ripiegamento della  $4\text{Ca}^{2+}$ -CaM, che trasmette il cambio conformazionale alla proteina target (3). Le proteine regolate e/o attivate dalla  $4\text{Ca}^{2+}$ -CaM sono coinvolte in molte attività cellulari (freccie grigie).

Esempi di trasporto attivo primario:  
la pompa protonica  $H^+/K^+$  ATPasi



## • Il trasporto ATTIVO SECONDARIO

- i trasporti attivi secondari trasferiscono molecole contro gradiente utilizzando come sorgente di energia i gradienti ionici creati dai trasporti attivi primari
- non richiedono direttamente energia metabolica (ATP)
- possono dipendere dal gradiente del  $\text{Na}^+$  o di altri ioni ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ )

## Trasporti attivi secondari

- i trasporti attivi secondari trasferiscono molecole contro gradiente utilizzando come fonte di energia i gradienti ionici creati dai trasporti attivi primari
- non richiedono ulteriore energia metabolica

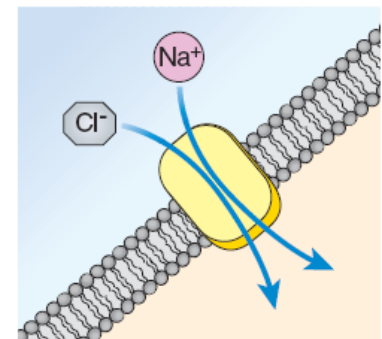
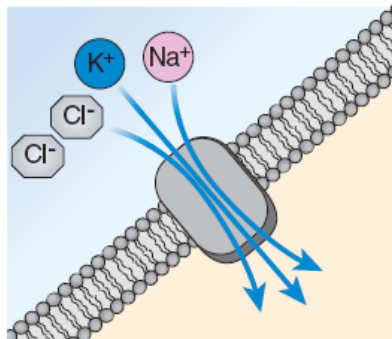
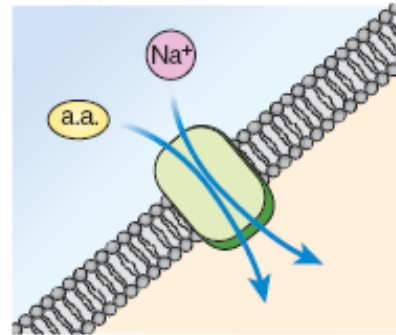
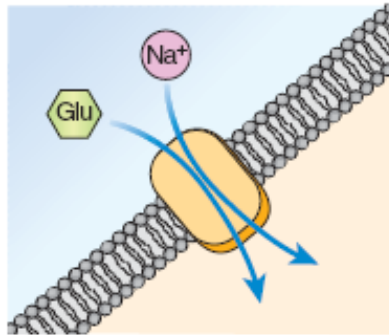
### Trasporti attivi secondari Na<sup>+</sup>-dipendenti

- sfruttano il gradiente del Na<sup>+</sup>
- vengono trasportati: ioni, glucosio, amino acidi, prodotti metabolici
- possono muoversi nella stessa direzione del Na<sup>+</sup> (simporti) o in direzione opposta (antiporti)
- possono essere elettroneutri o elettrogenici
- invertendo il gradiente di Na<sup>+</sup> si invertono i flussi



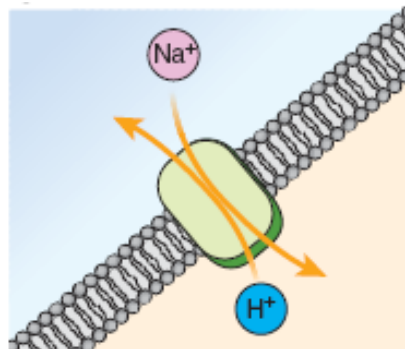
## I simporti $\text{Na}^+$ -dipendenti

- simporto  $\text{Na}^+$ / glucosio
- simporto  $\text{Na}^+$ / aminoacidi  
trasportano glucosio e amino acidi all'interno delle cellule epiteliali
- simporto  $\text{Na}^+$ /  $\text{K}^+$ /  $2\text{Cl}^-$   
trasporta  $\text{Cl}^-$  all'interno della cellula
- simporto  $\text{Na}^+$ /  $\text{Cl}^-$   
trasporta  $\text{Cl}^-$  all'interno della cellula

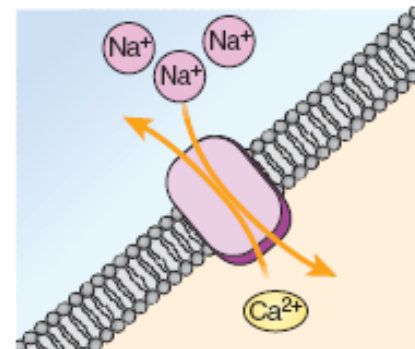


## Gli antiporti $\text{Na}^+$ -dipendenti

- antiporto  $\text{Na}^+$ /  $\text{H}^+$   
contribuisce al mantenimento del pH intracellulare
- antiporto  $\text{Na}^+$ /  $\text{Ca}^{2+}$   
contribuisce a mantenere bassi i livelli di  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare

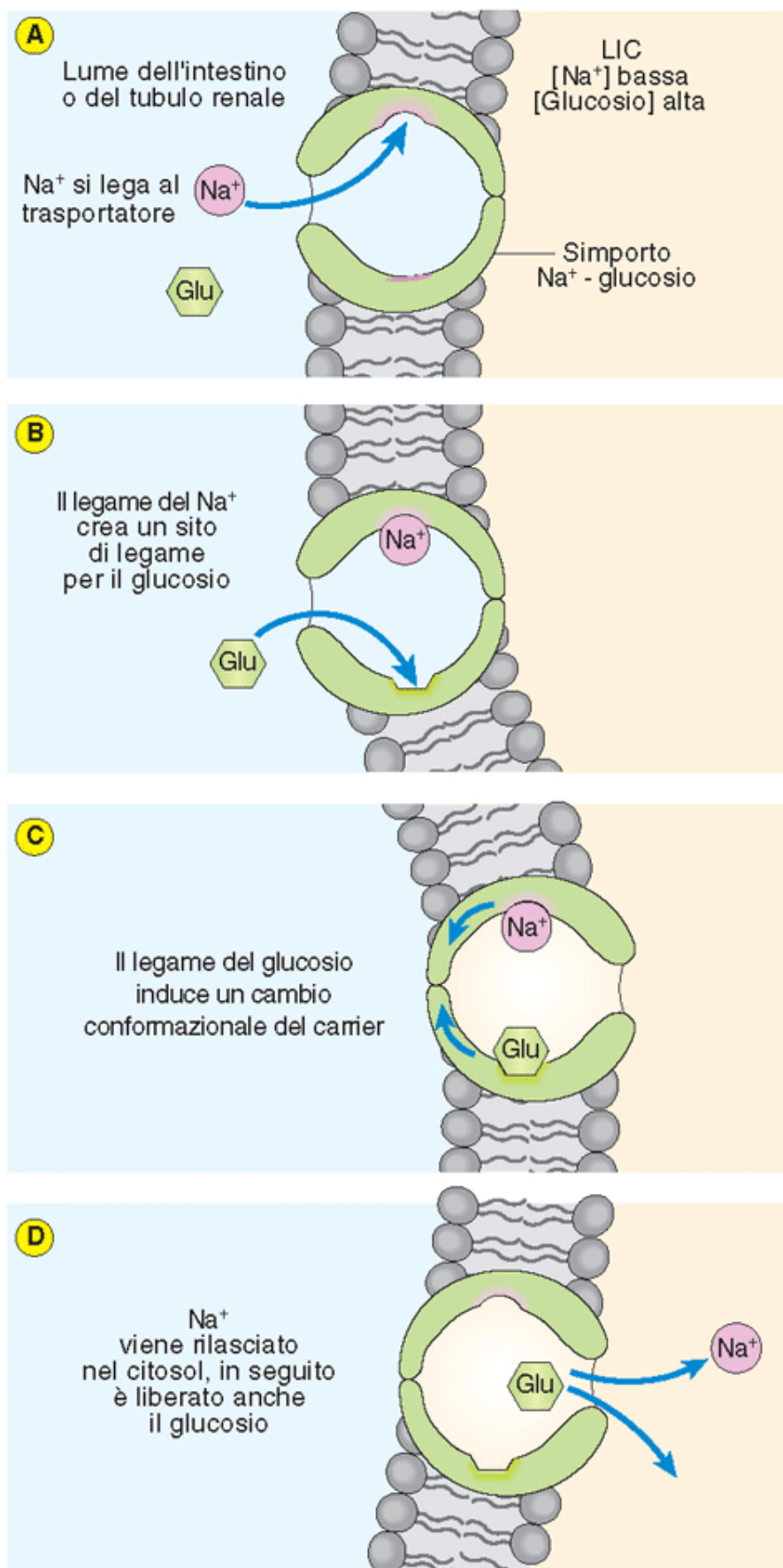


$1\text{Na}^+/1\text{H}^+$



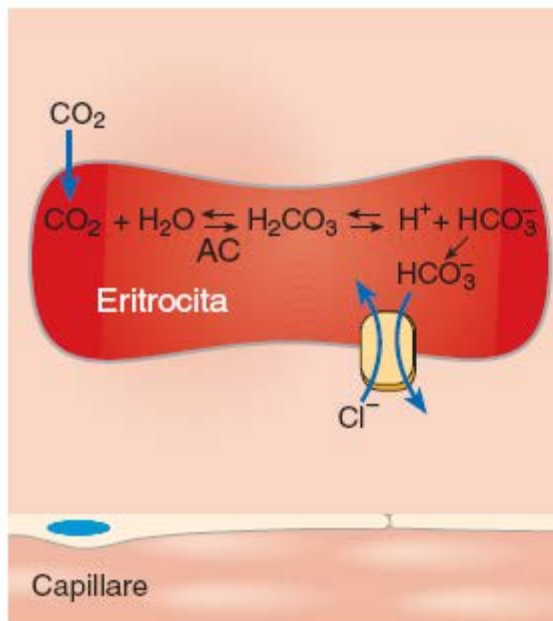
$3\text{Na}^+/1\text{Ca}^{2+}$

## TRASPORTATORE Na/GLUCOSIO

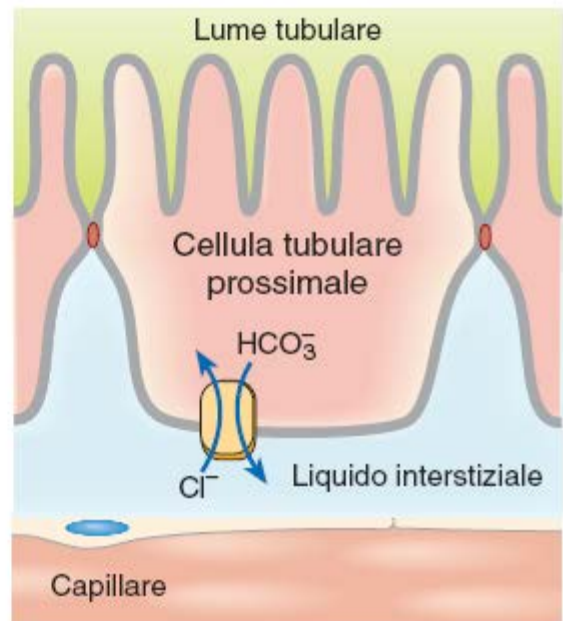




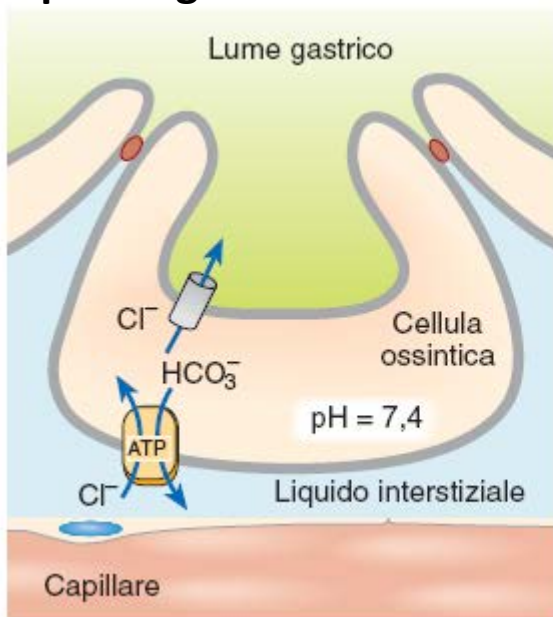
## L'antiporto $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ espresso in vari tessuti



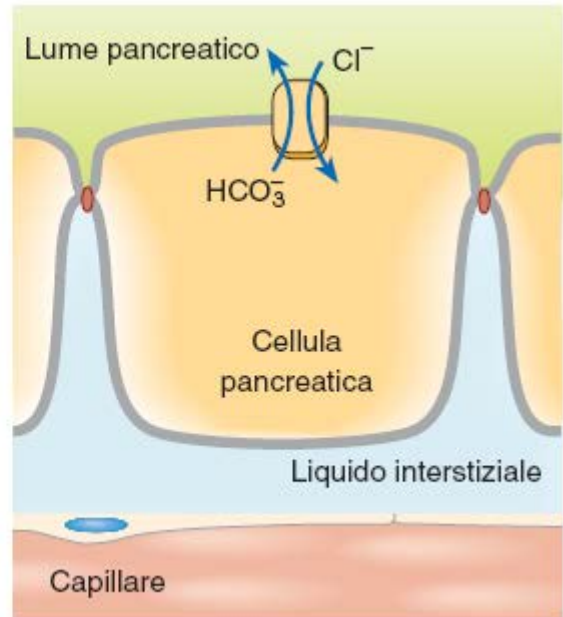
**pH sangue**



**Riassorbimento bicarbonato**

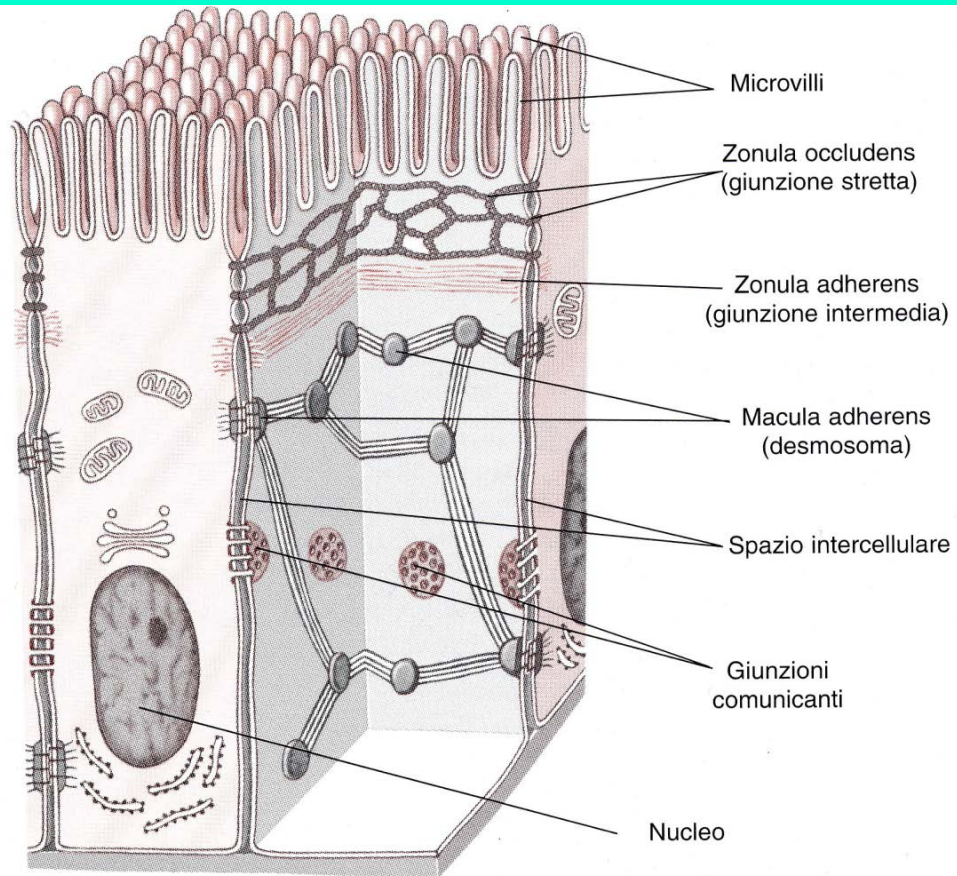


**Secrezione acida**

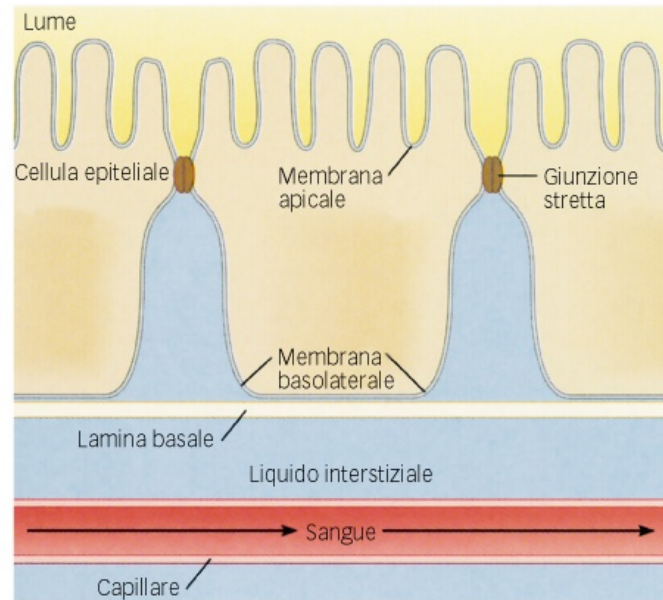


**pH del succo pancreatico**

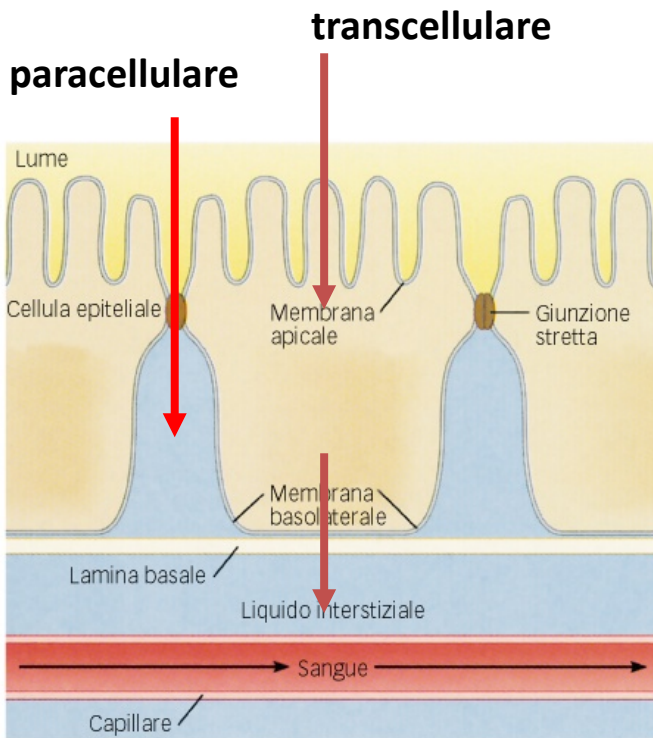
# • Il trasporto attraverso epiteli



- la **membrana apicale** dell'epitelio è rivolta verso il lume della cavità corporea
- la **membrana basolaterale** è in contatto con il liquido interstiziale, che scambia sostanze con il sangue.
- le cellule adiacenti sono unite principalmente da **giunzioni serrate**, che limitano il passaggio di sostanze: i liquidi sui due lati dell'epitelio hanno composizione diversa.



# Caratteristiche generale del trasporto attraverso un epitelio



- esistono due tipi di trasporti

- **trasporto**

- paracellulare:**

- movimento diffusionale passivo di ioni ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) e  $\text{H}_2\text{O}$

- **trasporto**

- transcellulare:**

- movimento di ioni e molecole attraverso le cellule mediato da trasportatori.

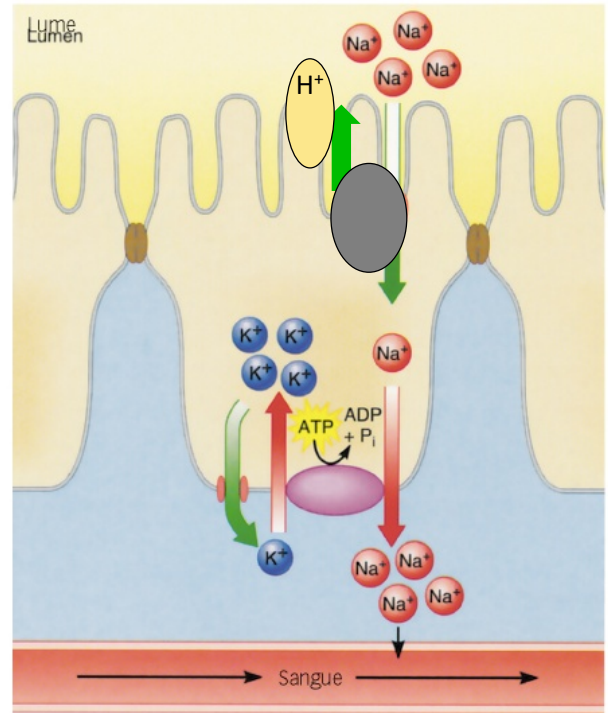
E' composto da:

- trasporto passivo o attivo secondario (*senza richiesta di ATP*) sulla membrana apicale
- trasporto attivo primario ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi) e altri tipi di trasporto passivo e attivo secondario sulla membrana basolaterale



## Assorbimento di $\text{Na}^+$

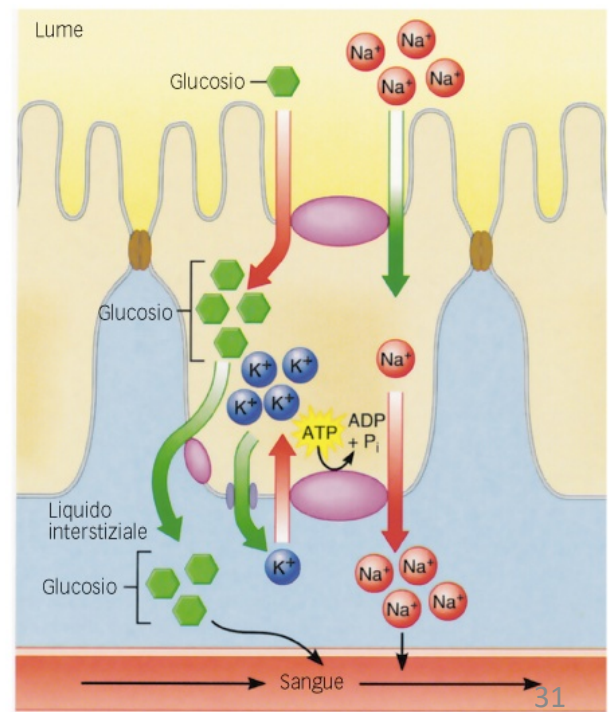
- trasporto di  $\text{Na}^+$  sulla m. apicale (*antiporto  $\text{Na}^+/\text{H}^+$* )
- trasporto attivo di  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  sulla m. basolaterale ( *$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi*)
- trasporto passivo di  $\text{K}^+$  sulla m. basolaterale (*canale ionico*)



(a)

## Assorbimento di $\text{Na}^+$ e glucosio

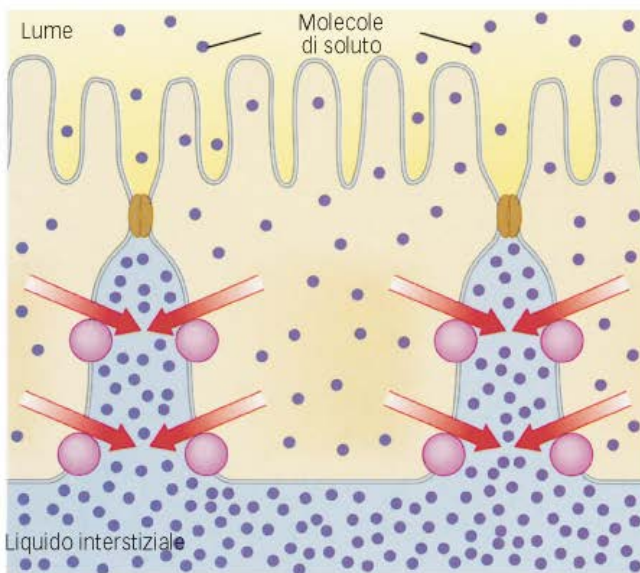
- trasporto attivo secondario di  $\text{Na}^+$  e glucosio (*SGLUT*) sulla m. apicale
- trasporto attivo di  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  sulla m. basolaterale ( *$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi*)
- trasporto facilitato di glucosio (*GLUT2*) e passivo di  $\text{K}^+$  sulla m. basolaterale (*canale ionico*)



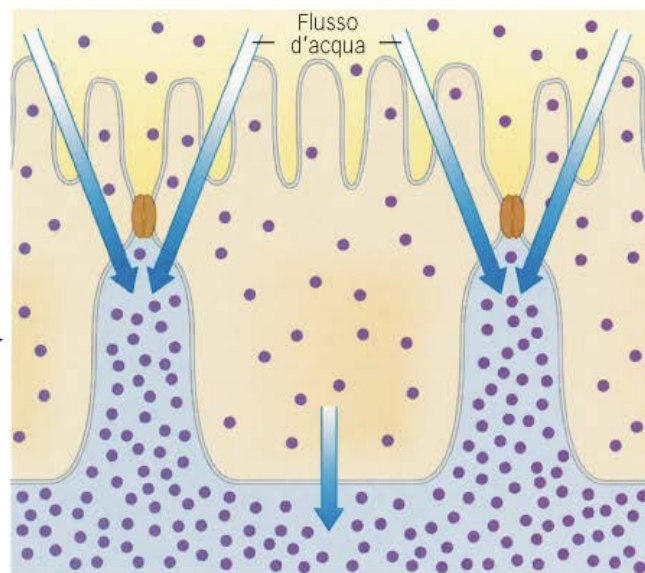
(b)

## Assorbimento di soluti e H<sub>2</sub>O

- gli epitelii assorbono (o secernono) H<sub>2</sub>O utilizzando il trasporto attivo di soluti
- si crea prima un *gradiente osmotico* tra le soluzioni poste ai due lati dell'epitelio
- l'H<sub>2</sub>O quindi fluisce passivamente attraverso l'epitelio per *osmosi*



(a)



(b)

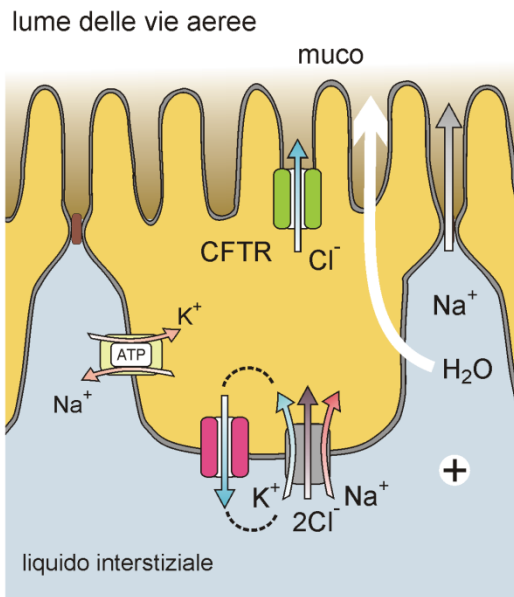
Il trasporto attivo sulla membrana basolaterale crea un *gradiente osmotico* attraverso l'epitelio che genera un flusso di acqua dal lume al liquido interstiziale (*assorbimento*)

Può accadere il contrario se l'H<sub>2</sub>O è *secreta*

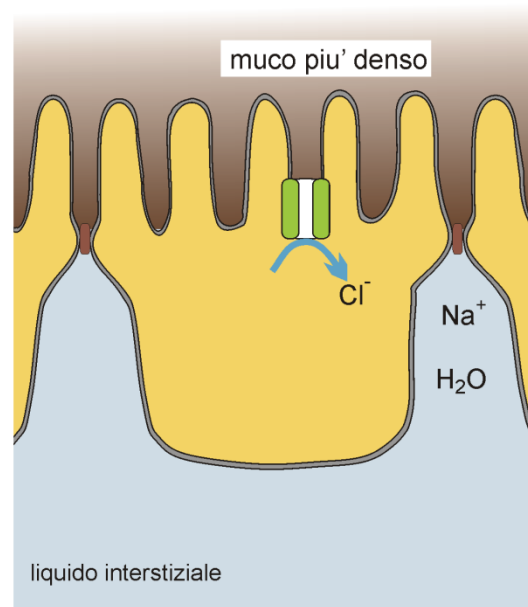
# Patologie del trasporto epiteliale: la fibrosi cistica

In alcune condizioni patologiche il trasporto epiteliale di  $H_2O$  è eccessivo o insufficiente:

- nella **fibrosi cistica** l'epitelio (formato da cellule cigliate) che riveste le vie respiratorie non trasporta abbastanza soluti ( $Na^+$  e  $Cl^-$ ) per produrre liquidi
- un difetto genetico del **canale del  $Cl^-$  (CFTR, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)** riduce la permeabilità al  $Cl^-$ . Diminuisce il trasporto del  $Na^+$ , viene meno il gradiente osmotico e quindi la secrezione di acqua
- i polmoni si arricchiscono di muco denso che blocca il movimento retrogrado delle cellule cigliate
- si riduce l'azione protettiva di espulsione di sostanze nocive e infettive dalle vie aeree causando gravi infezioni batteriche e virali



Trasporto di  $Cl^-$ ,  $Na^+$  e  $H_2O$  per la normale produzione di muco



Trasporto di  $Cl^-$ ,  $Na^+$  e  $H_2O$  compromesso nella fibrosi cistica (CFTR non funzionante) con conseguente aumentata densità di muco nelle vie aeree