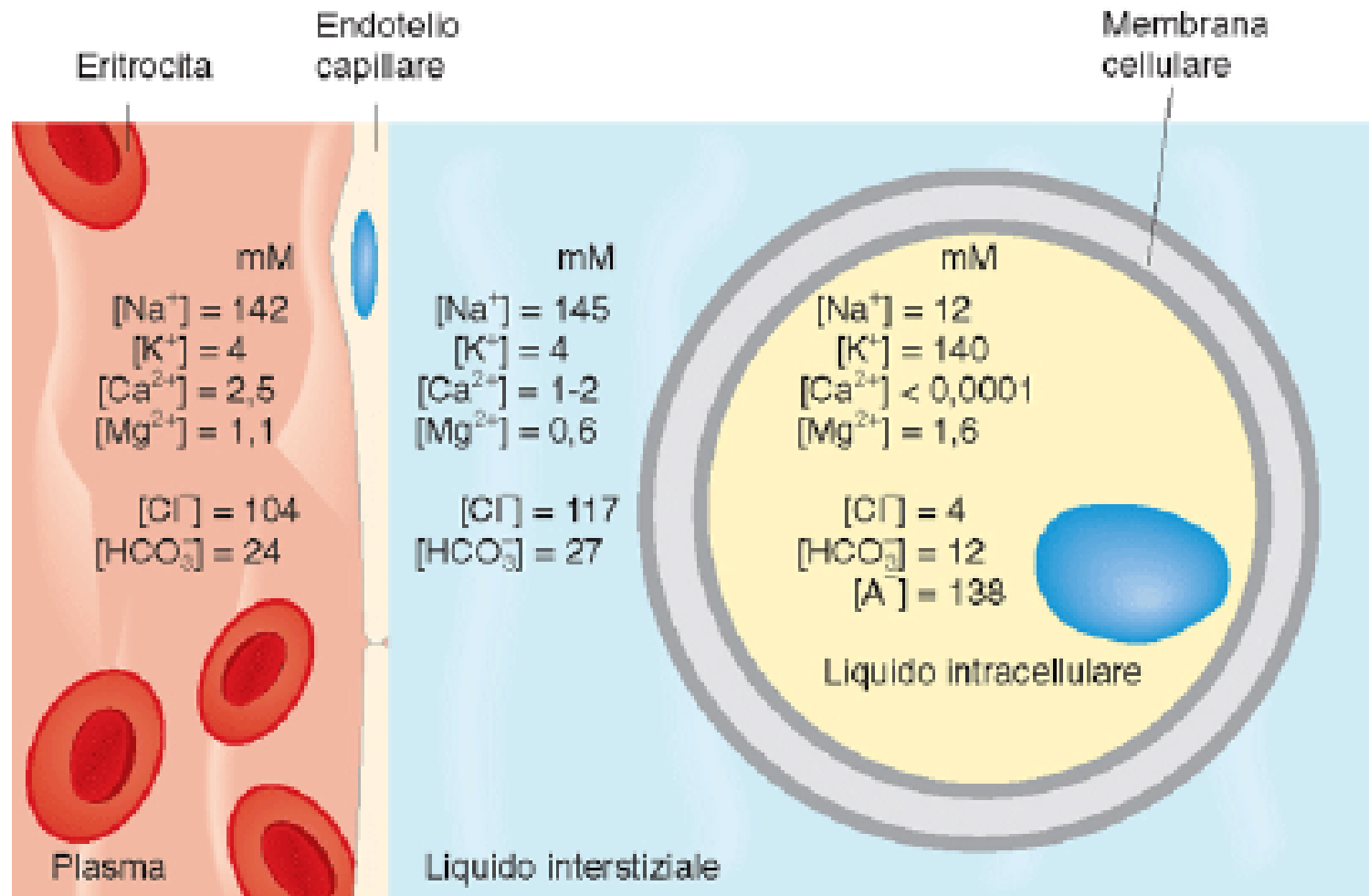


CAPITOLO 1.1. TRASPORTI DI MEMBRANA

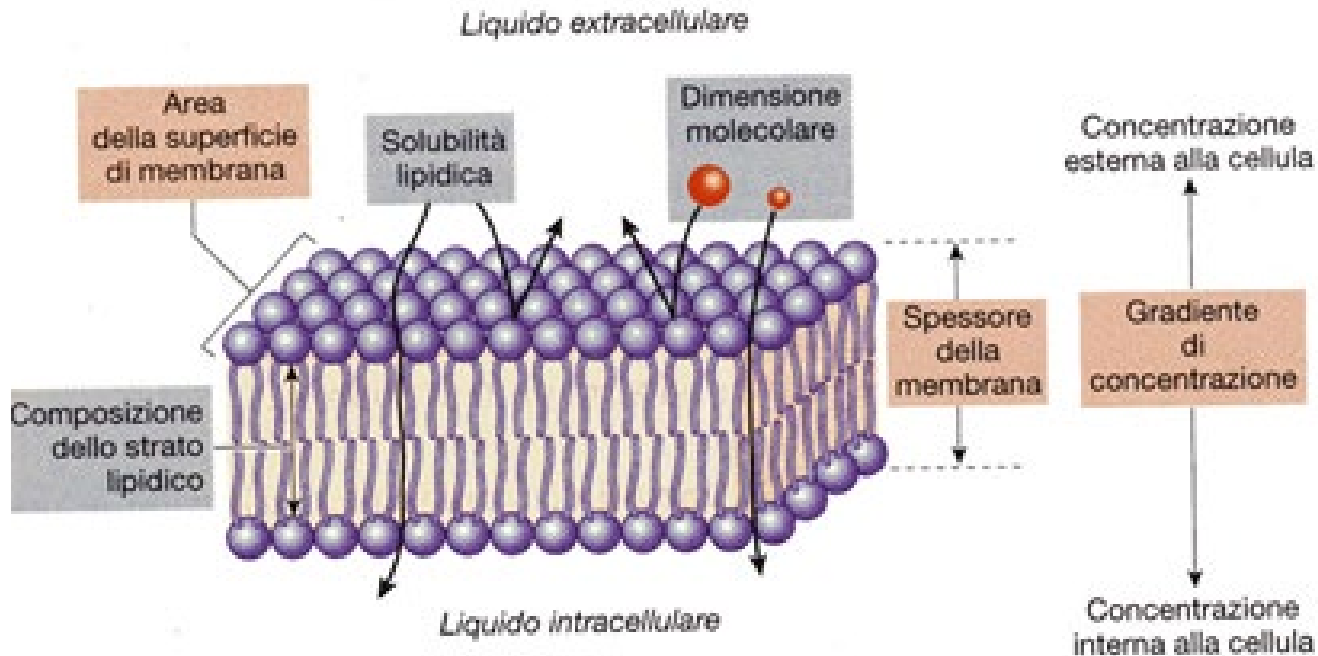
Concentrazioni (mM) dei soluti presenti nei liquidi intracellulare, extracellulare e plasmatico



TRASPORTO PASSIVO

- non richiede energia (ATP)
- 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**

DIFFUSIONE SEMPLICE



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 ai capi della membrana

P = permeabilità

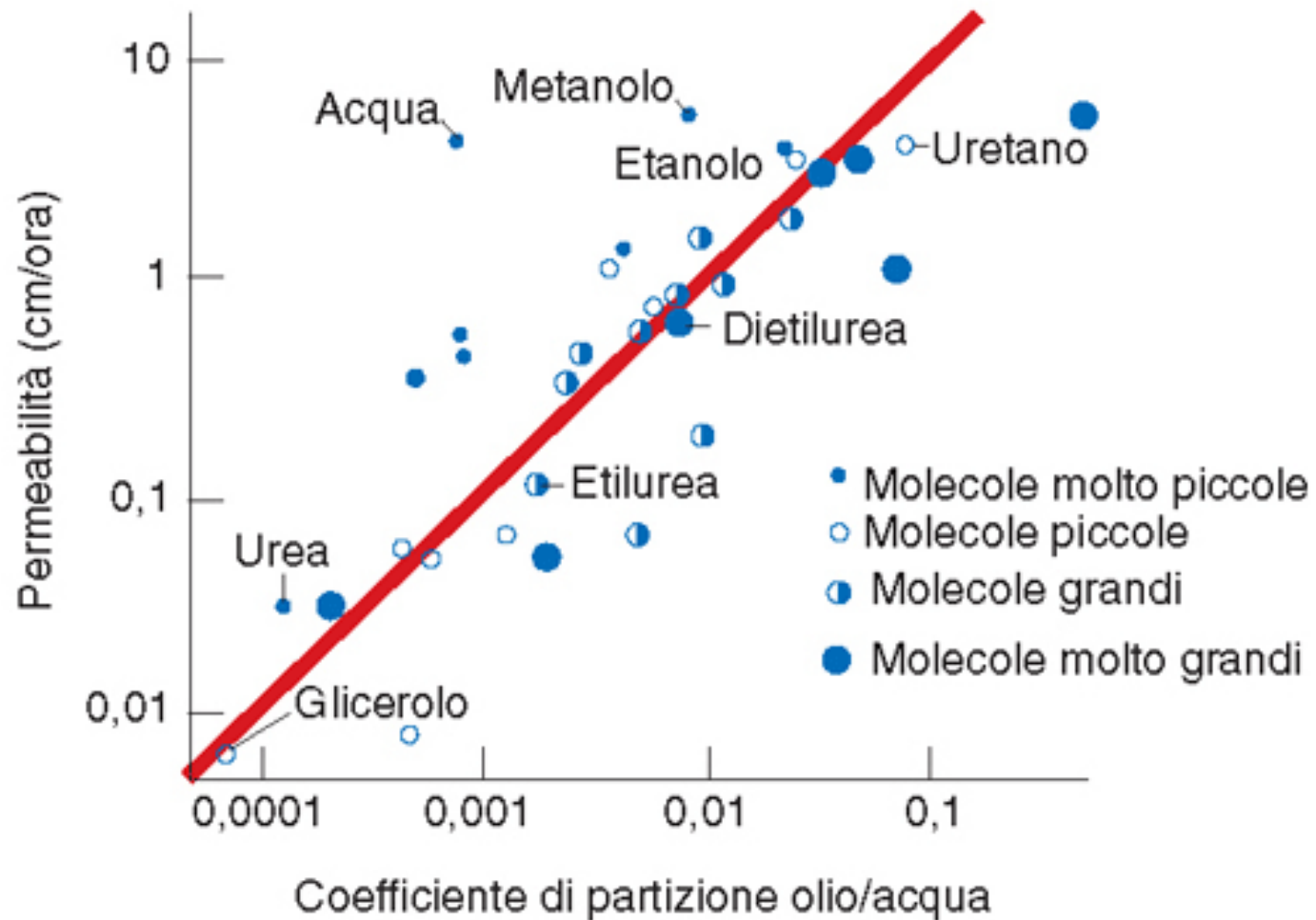
D = coeff. diffusione

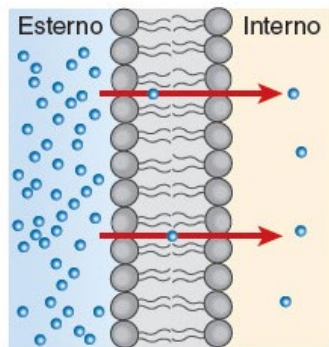
A = area sezione di scambio

x = spessore membrana

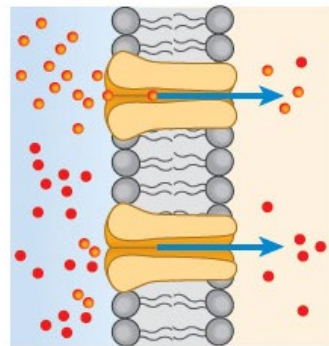
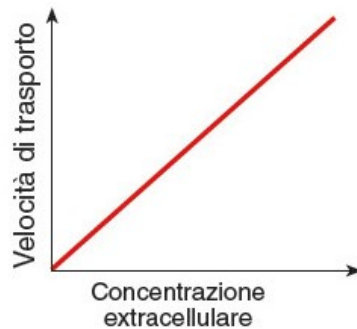
K = coefficiente partizione = conc. soluto lipidi / conc. soluto H_2O

LA PERMEABILITA' DIPENDE IN MODO LINEARE DA K (coeff. partizione)

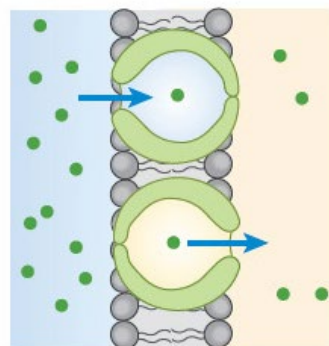
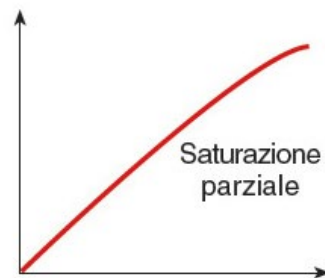




Diffusione semplice



Diffusione attraverso canali ionici



Diffusione facilitata

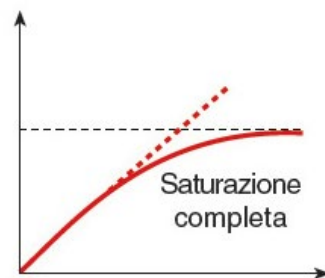
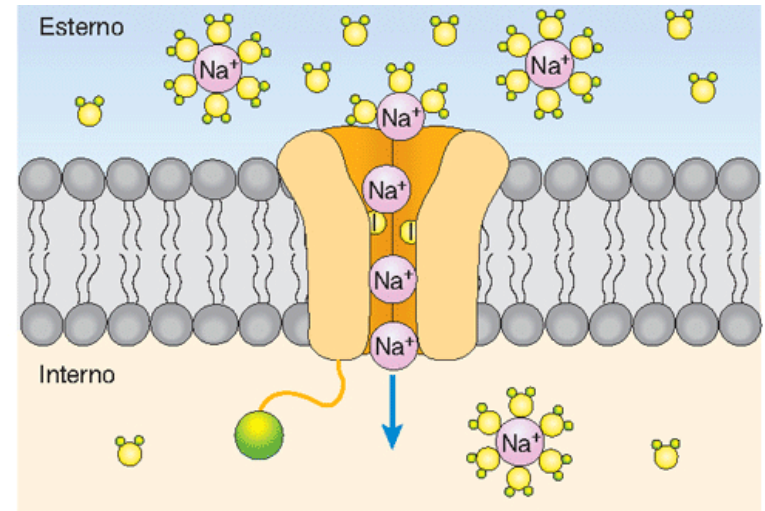


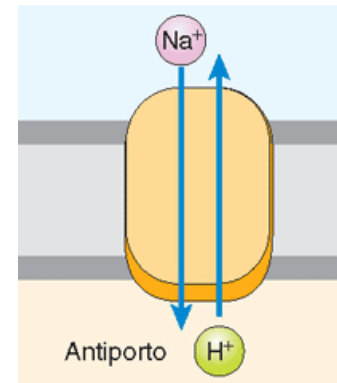
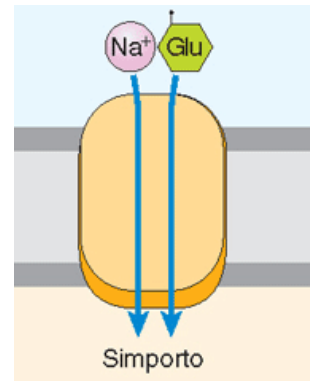
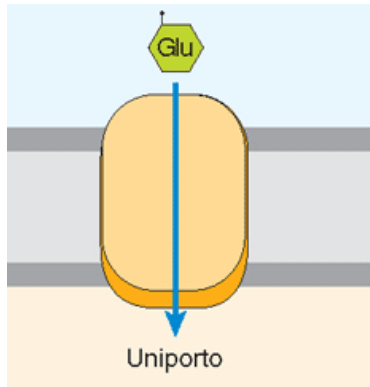
Figura 1.10 Relazione tra la permeabilità (velocità di trasporto attraverso la membrana) e la concentrazione di soluti nel liquido extracellulare. Nel caso della diffusione passiva la relazione è lineare. Nel caso della diffusione facilitata (carrier) o attraverso canali ionici, la relazione è invece lineare a basse concentrazioni per poi saturare in maniera diversa ad alte concentrazioni. Il grado di saturazione è completo nel caso della diffusione facilitata grazie al ridotto numero di trasportatori e all'alta concentrazione di molecole da trasportare mentre è parziale nel caso dei canali ionici dovuto all'elevato numero di canali e all'alta velocità degli ioni che permeano il poro aperto. Una completa saturazione della diffusione attraverso i canali ionici richiederebbe un più alto gradiente ionico ai capi della membrana.

DIFFUSIONE ATTRAVERSO CANALI IONICI

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



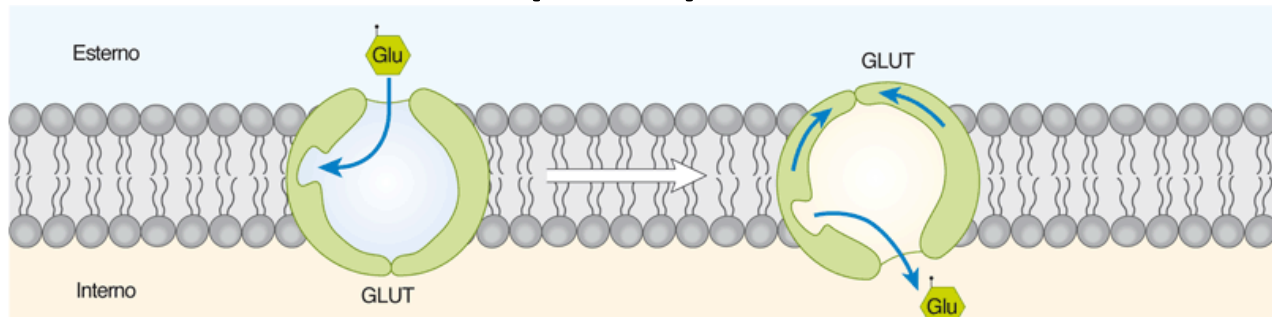
DIFFUSIONE ATTRAVERSO TRASPORTATORI



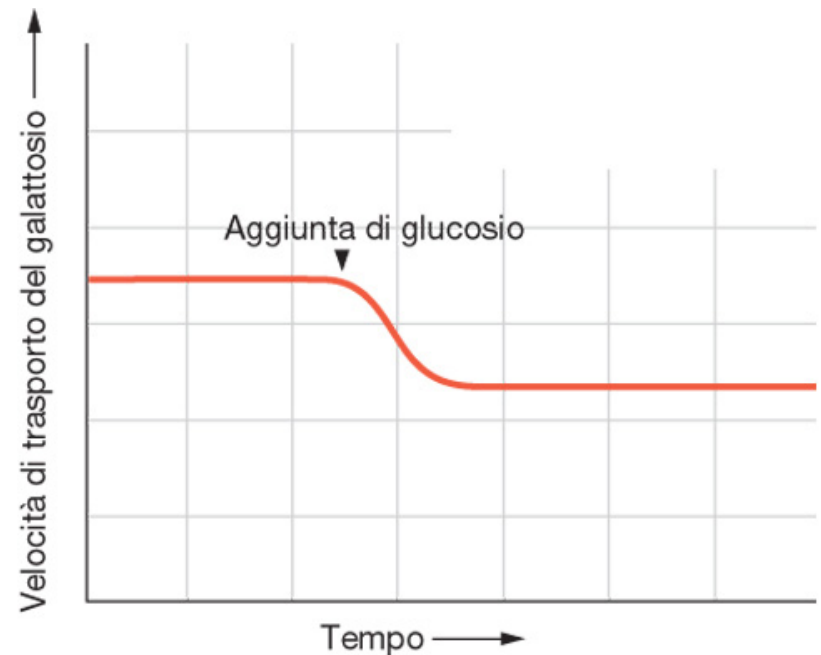
Proprietà comuni dei trasportatori:

- 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)



- La direzione del trasporto avviene secondo gradiente (reversibile)
- Ha carattere di 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.

TRASPORTO ATTIVO

- richiede energia metabolica (ATP)
- avviene contro gradiente di concentrazione
- crea gradienti di concentrazione
- è sempre mediato da proteine di membrana
- possono essere scambiati ioni diversi sui due lati della membrana
- può essere elettrogenico (genera una differenza di carica ai capi della membrana)
- avviene in due modi diversi:
 - 1) **trasporto attivo primario** (utilizza direttamente ATP)
 - 2) **trasporto attivo secondario** (utilizza indirettamente ATP)

ESEMPI DI TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO (ATPasi)

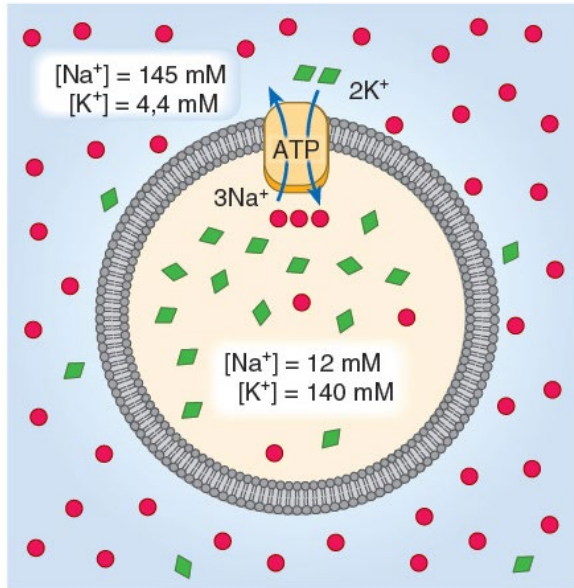


Figura 1.15 La pompa Na⁺/K⁺-ATPasi trasporta 3 ioni Na⁺ verso l'esterno e 2 ioni K⁺ verso l'interno e contribuisce a mantenere i gradienti ionici di Na⁺ e K⁺.

Na⁺/K⁺ ATPasi

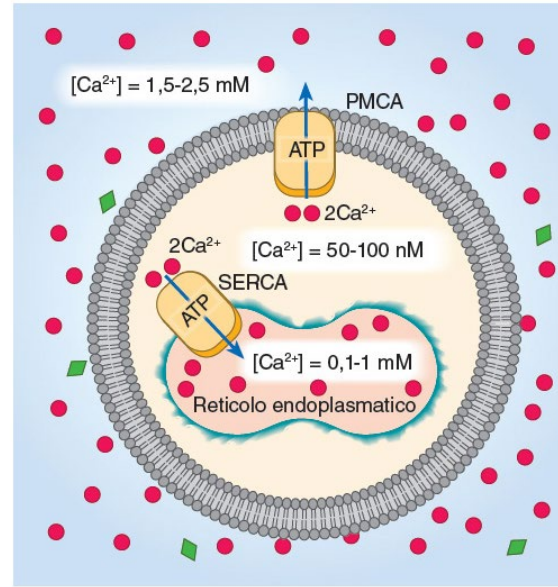


Figura 1.17 Le due pompe del Ca²⁺: PMCA e SERCA. Entrambe trasportano Ca²⁺ contro gradiente e permettono di mantenere bassi i livelli di Ca²⁺ citosolico.

Ca²⁺ ATPasi

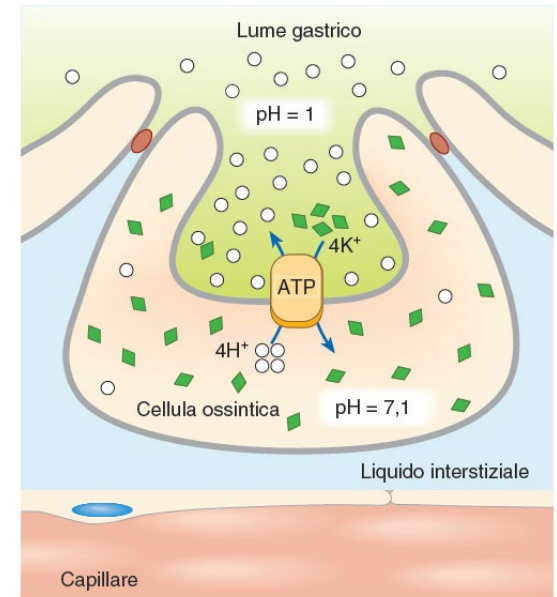
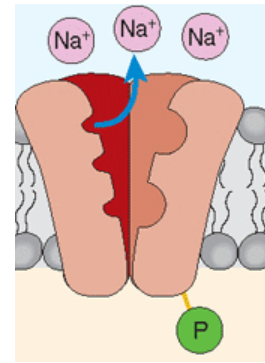
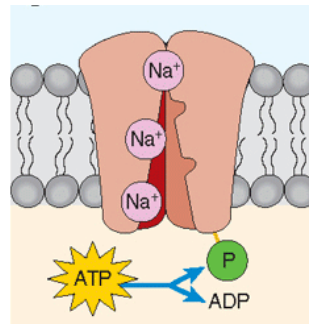
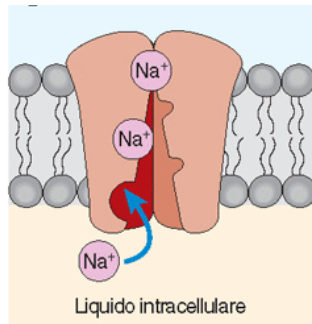


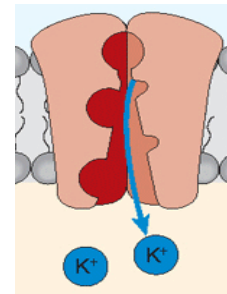
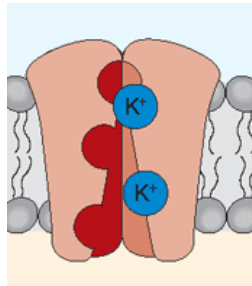
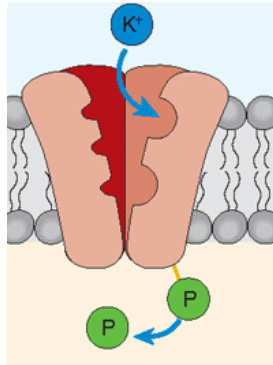
Figura 1.19 La pompa protonica (H⁺/K⁺-ATPasi) trasporta 4 ioni H⁺ fuori dalla cellula e 4 ioni K⁺ all'interno sfruttando l'energia chimica ottenuta dall'ATP.

H⁺/K⁺ ATPasi

Alta
affinità
per Na^+

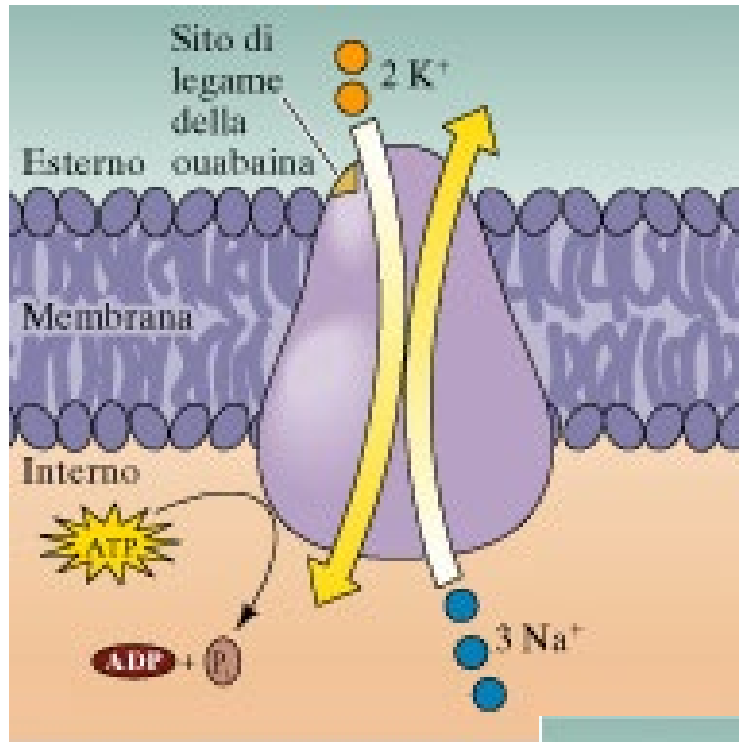


Alta
affinità
per K^+



Funzione della Na^+/K^+ ATPasi

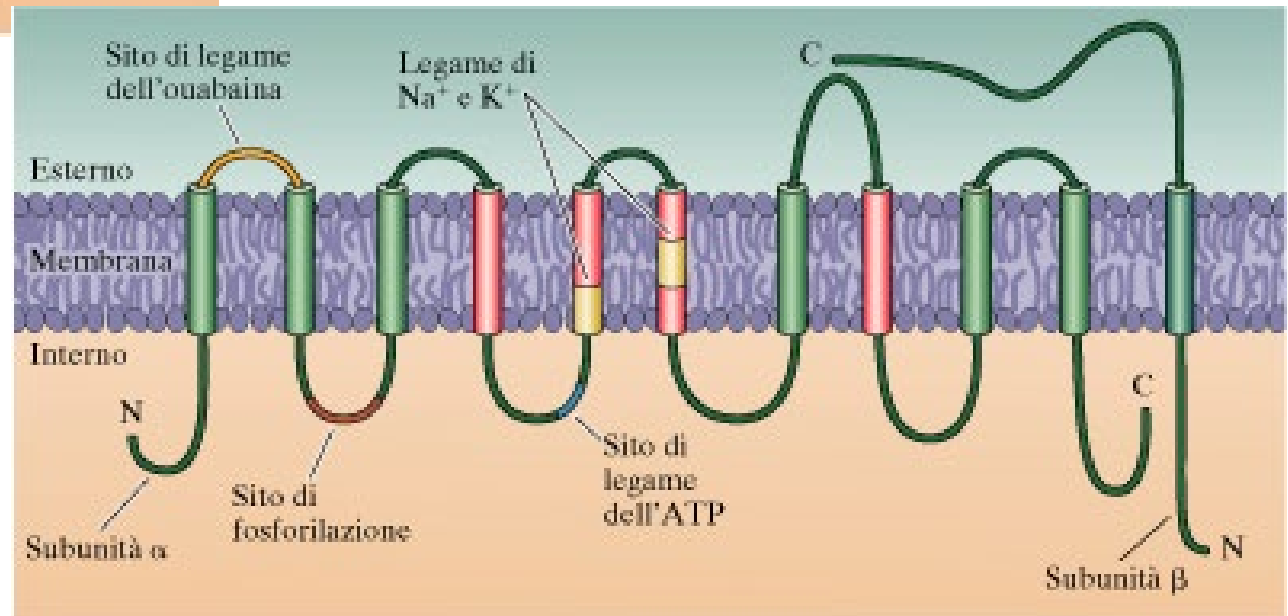
- È un trasporto di tipo elettrogenico in quanto i flussi ionici sono asimmetrici: 3 ioni Na^+ espulsi, 2 ioni K^+ immessi
- Ha la funzione di mantenere $[\text{Na}^+]_i$ bassa e $[\text{K}^+]_i$ alta
- Viene attivata da aumenti di $[\text{Na}^+]_i$ e $[\text{K}^+]_o$
- Selettiva per Na^+ (la sostituzione con Li^+ blocca la pompa)
- Necessita di Mg^{2+}



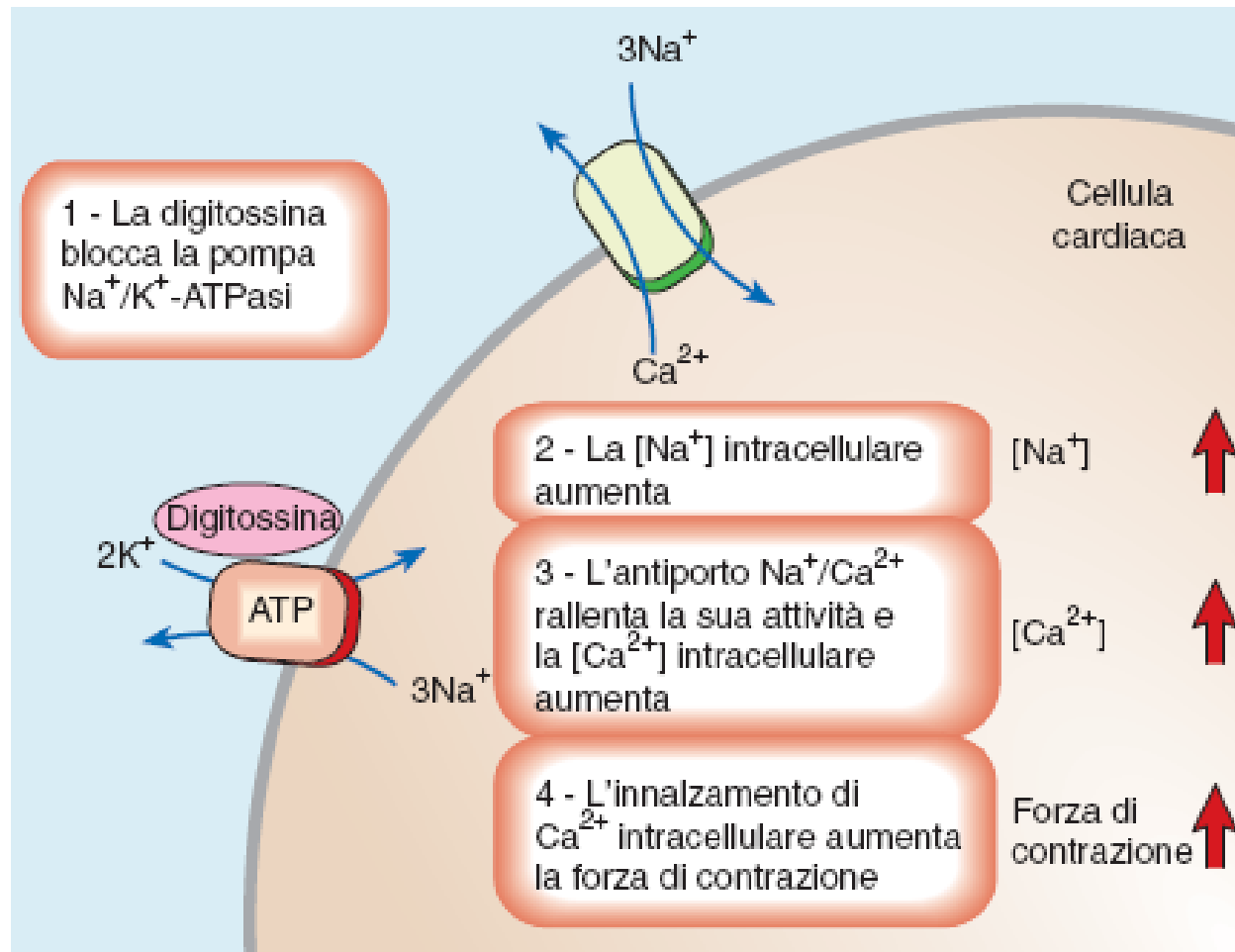
Struttura della Na⁺/K⁺ ATPasi

Alfa: 100 kDa , subunità catalitica: idrolizza ATP e trasporta **3 Na⁺ fuori** e **2 K⁺ dentro** la cellula.

Beta: 45 kDa, regolatoria (assemblaggio con la subunità α, trasferimento della pompa alla membrana plasmatica..)



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



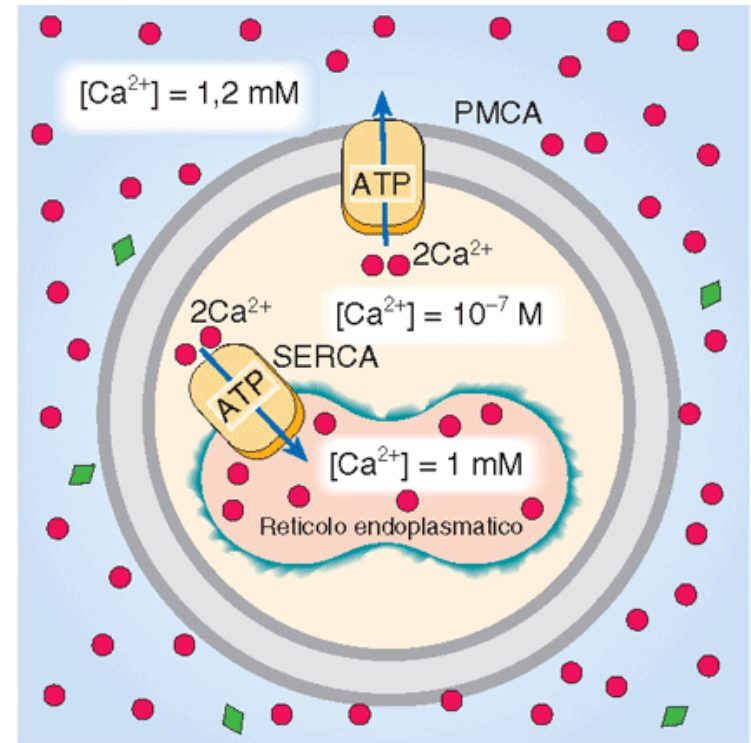
Ca²⁺-ATPasi

- uniporto
- espressa su: membrana plasmatica, mitocondri, RE
- trasporta 2 ioni Ca²⁺ per ogni molecola di ATP
- necessaria la presenza di Mg²⁺ per il suo funzionamento
- Due isoforme: PMCA (membrana plasmatica), SERCA (RE)

FUNZIONE:

mantiene bassa la concentrazione di Ca²⁺ intracellulare (10⁻⁷-10⁻⁸ M)

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

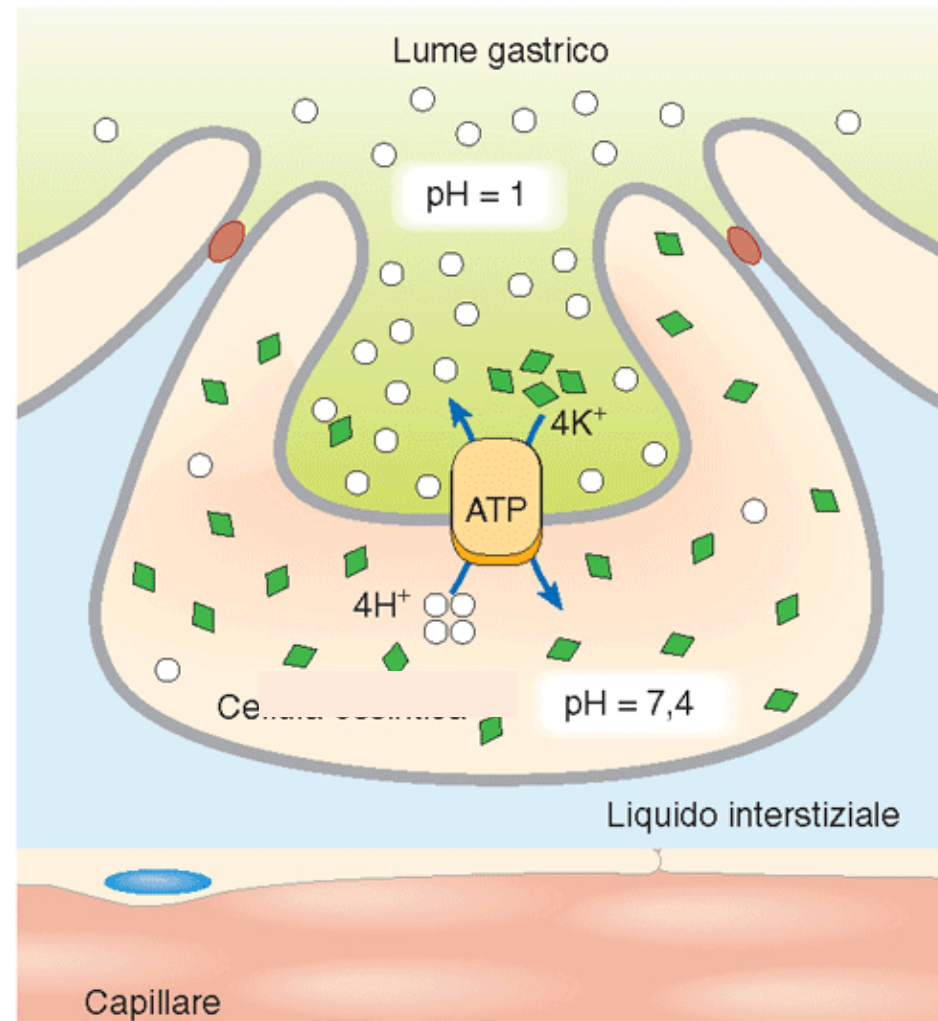


La H^+/K^+ ATPasi

H^+/K^+ -ATPasi gastrica: nelle cellule parietali dello stomaco; secerne H^+ nel lume gastrico in cambio di K^+ , permettendo la produzione di acido cloridrico.

H^+/K^+ -ATPasi non gastrica (rene): contribuisce al riassorbimento di K^+ e all'equilibrio acido-base

Bloccata dai farmaci antiacido (omeprazolo, pantoprazolo etc)



TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO

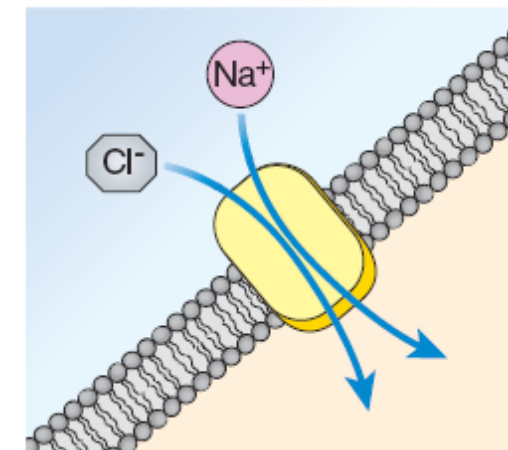
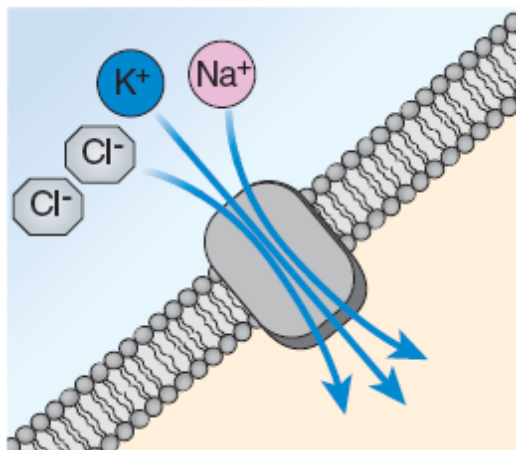
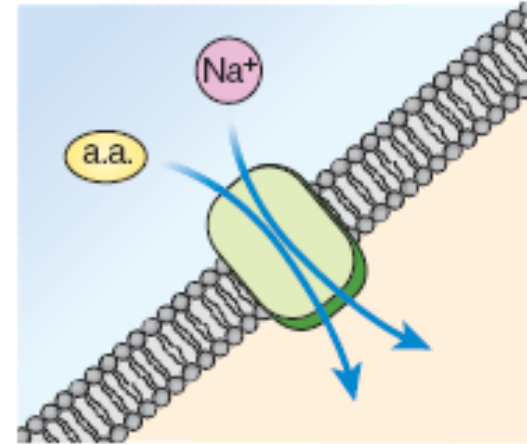
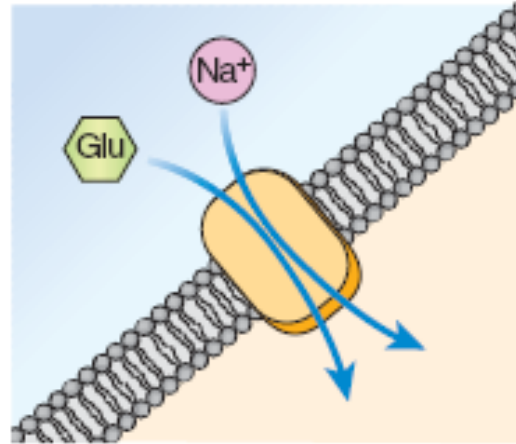
- i trasporti attivi secondari trasferiscono molecole contro gradiente utilizzando come sorgente di energia i gradienti ionici creati dai trasporti attivi primari
- non richiedono direttamente energia metabolica (ATP)
- possono dipendere dal gradiente del Na^+ o di altri ioni (Cl^- , HCO_3^-)

Esempi di TRASPORTI ATTIVI SECONDARI (Na^+ -dipendenti)

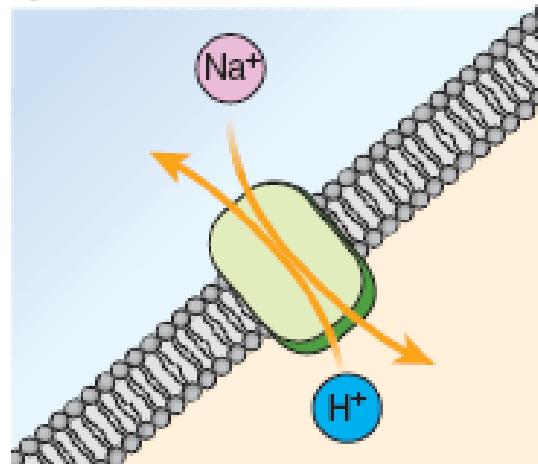
- sfruttano il gradiente del Na^+
- vengono trasportati: ioni, glucosio, amino acidi
- possono essere simporti o antiporti
- possono essere elettroneutri o elettrogenici
- invertendo il gradiente di Na^+ si invertono i flussi

I simporti Na^+ -dipendenti

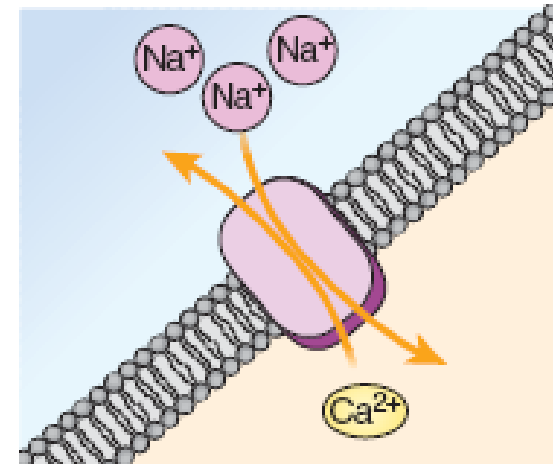
- simporto Na^+ / glucosio
- simporto Na^+ / aminoacidi
trasportano glucosio e amino acidi
all'interno delle cellule epiteliali
- simporto Na^+ / K^+ / 2Cl^-
trasporta Cl^- all'interno della
cellula
- simporto Na^+ / Cl^-
trasporta Cl^- all'interno della
cellula



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

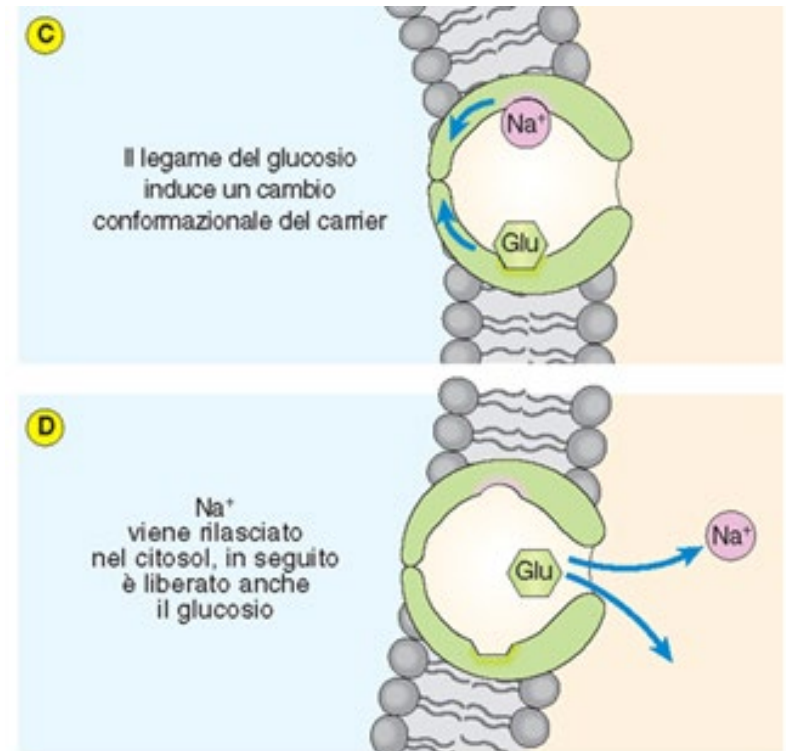
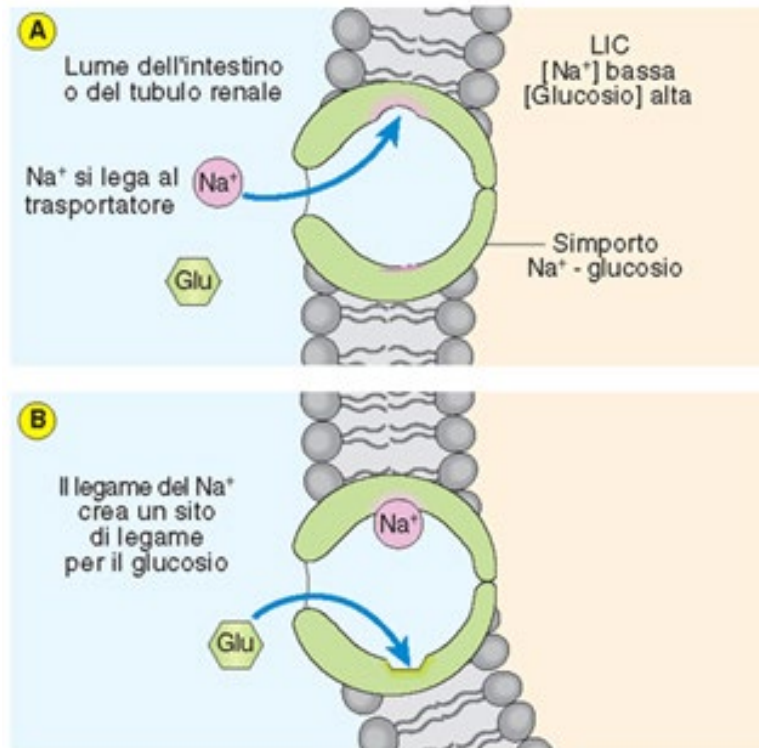


$1\text{Na}^+ / 1\text{H}^+$



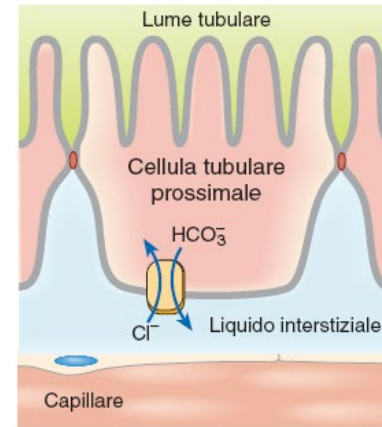
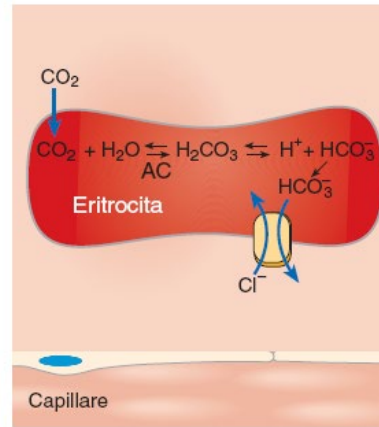
$3\text{Na}^+ / 1\text{Ca}^{2+}$

IL TRASPORTATORE Na/GLUCOSIO

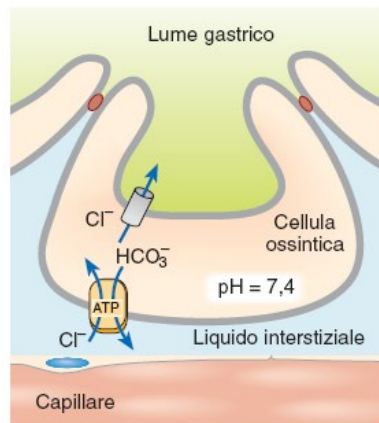


L' ANTIPORTO $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$

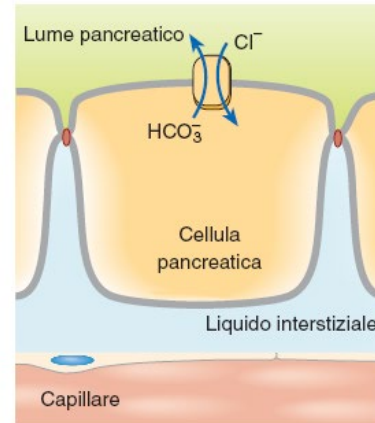
pH sangue



Riassorbimento bicarbonato



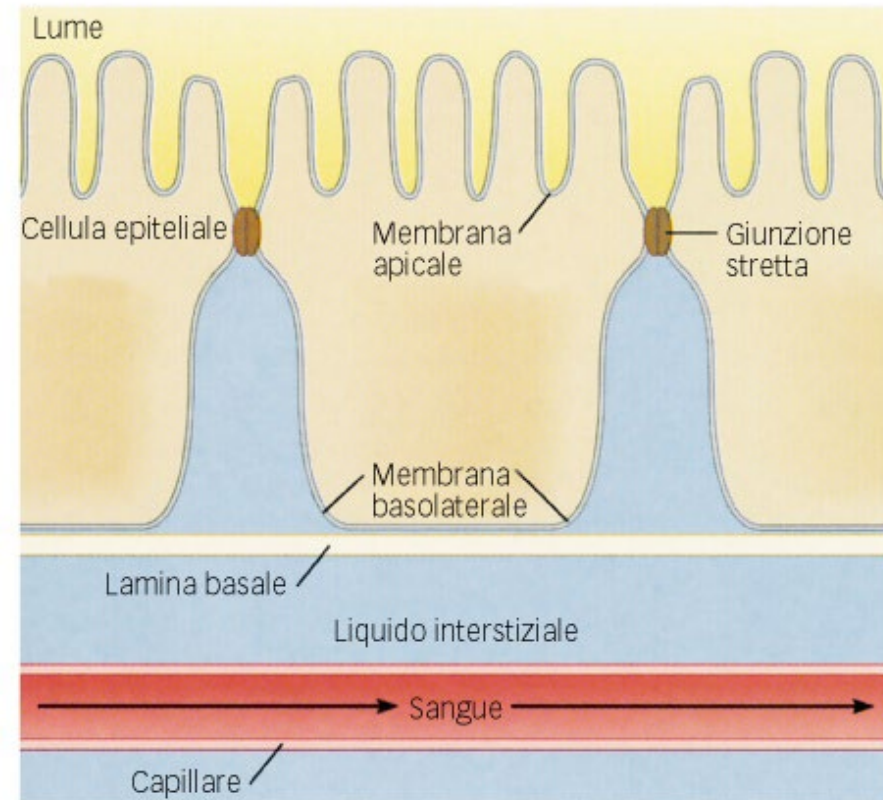
Secrezione acida

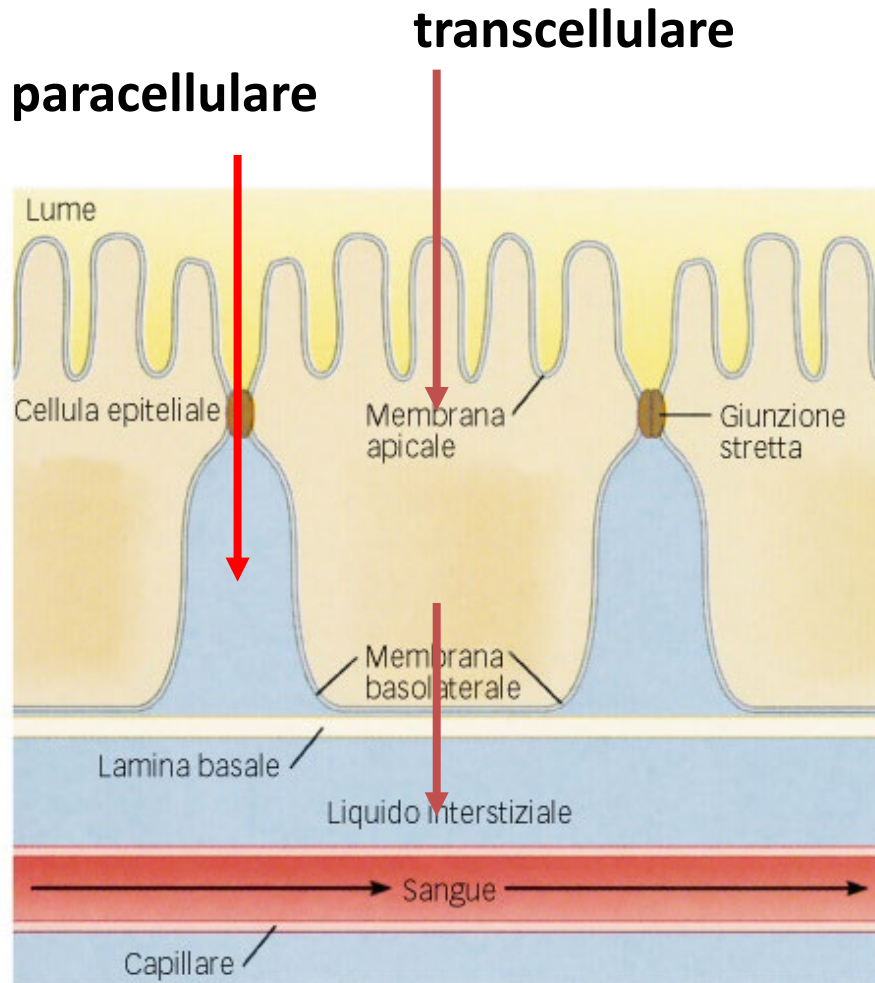


pH del succo pancreatico

• 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.





- **trasporto paracellulare:**
movimento diffusionale passivo di ioni (Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) e H_2O

- **trasporto transcellulare:**
movimento di ioni e molecole attraverso le cellule mediato da trasportatori.

E' composto da:

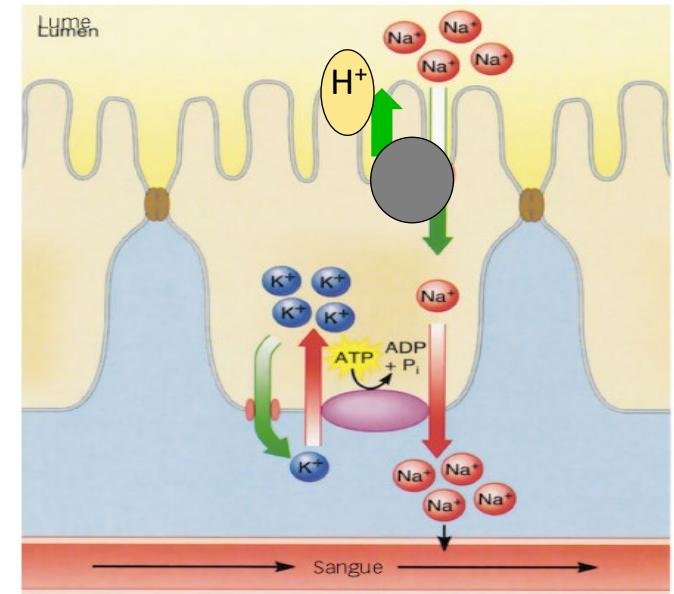
- trasporto passivo o attivo secondario (*senza richiesta di ATP*) sulla membrana apicale
- trasporto attivo primario (*Na^+/K^+ -ATPasi*) e altri tipi di trasporto passivo e attivo secondario sulla membrana basolaterale

Assorbimento di Na^+

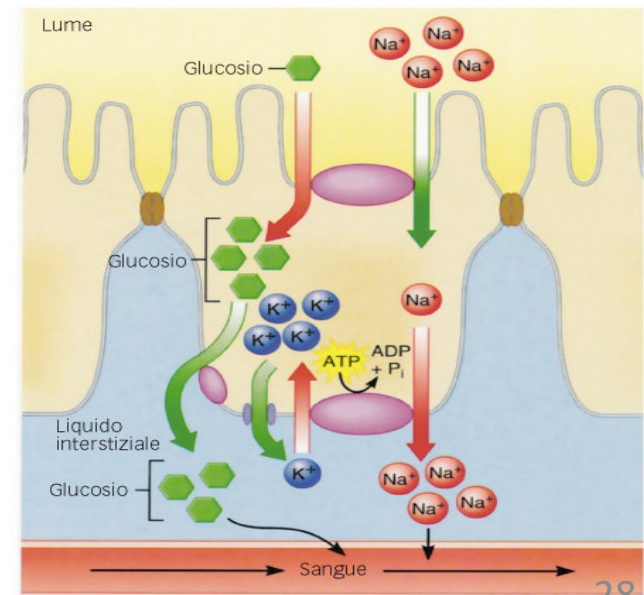
- **trasporto** di Na^+ sulla m. apicale (*antiporto Na^+/H^+*)
- trasporto attivo di Na^+ e K^+ sulla m. basolaterale (*Na^+/K^+ -ATPasi*)
- trasporto passivo di K^+ sulla m. basolaterale (*canale ionico*)

Assorbimento di Na^+ e glucosio

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



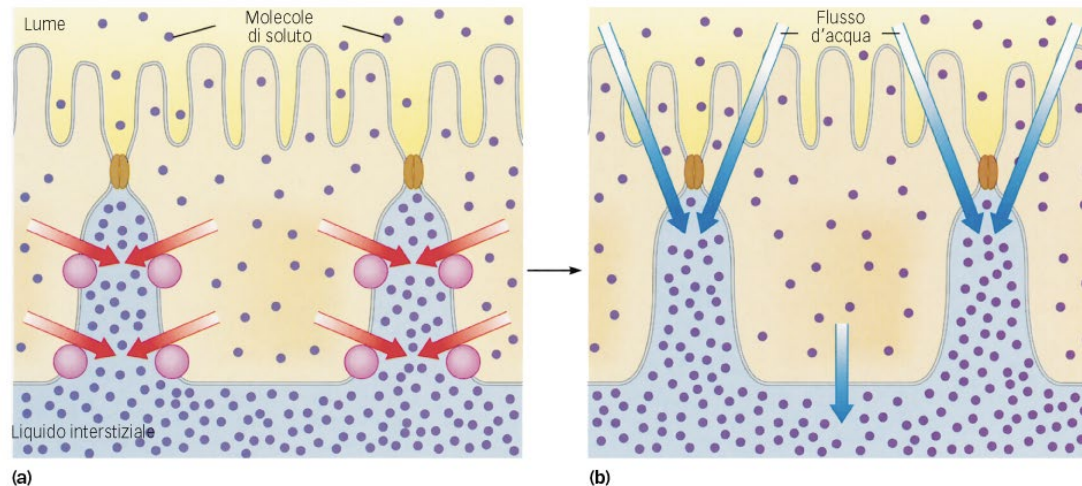
(a)



(b)

Assorbimento di soluti e H₂O

- gli epiteli assorbono (o secernono) H₂O utilizzando il trasporto attivo di soluti
- si crea prima un *gradiente osmotico* tra le soluzioni poste ai due lati dell'epitelio
- l'H₂O quindi fluisce passivamente attraverso l'epitelio per *osmosi*



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'H₂O 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*, 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

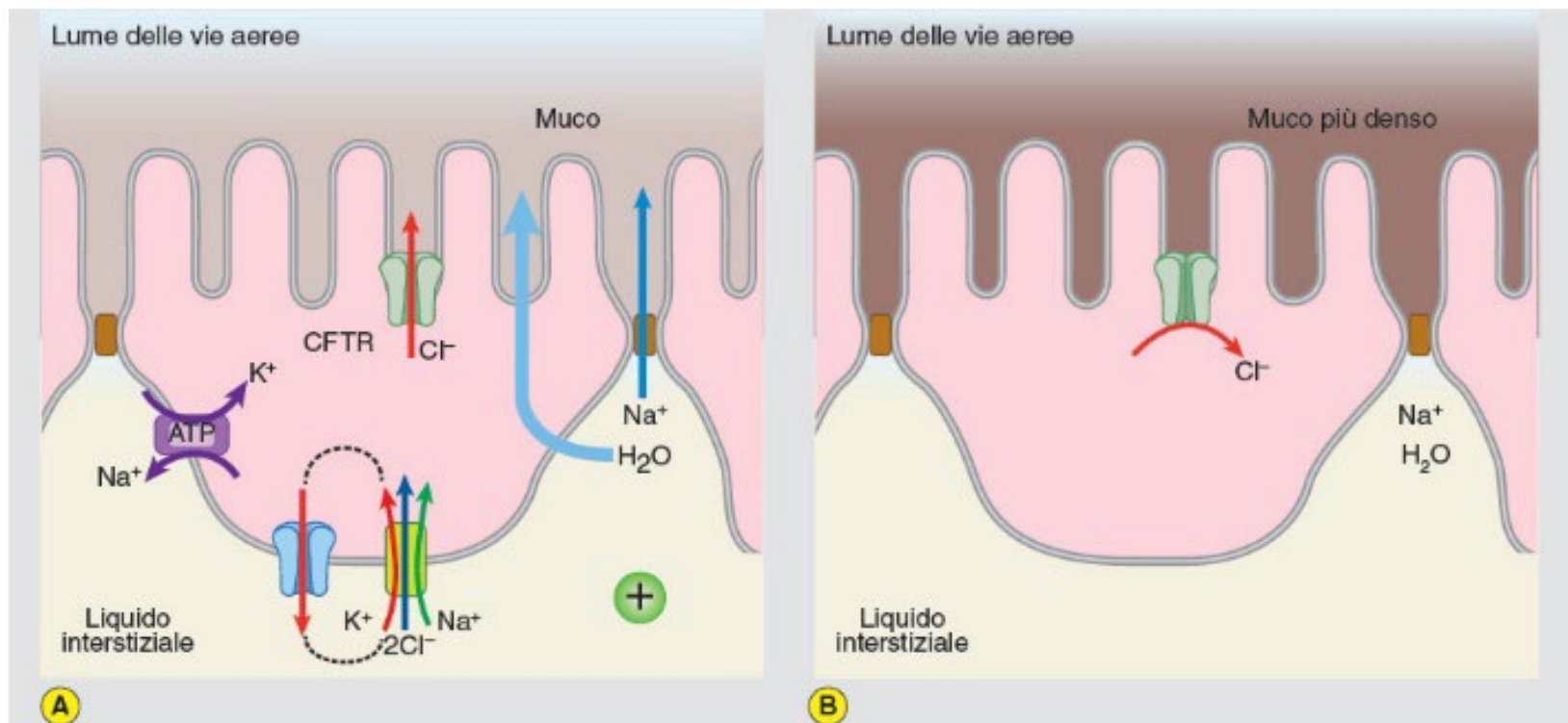


Figura S03-3.1 Conseguenze della ridotta permeazione di Cl^- attraverso le cellule ciliate dell'epitelio respiratorio associata alla mutazione del canale CFTR della fibrosi cistica. **(A)** In condizioni fisiologiche normali il Cl^- all'interno della cellula permea verso il lume delle vie aeree attraverso il canale CFTR. Il gradiente elettrico positivo (+) che si crea a seguito del trasporto di Na^+ , K^+ e Cl^- all'interno della cellula attraverso il cotrasportatore $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ e la fuoruscita di K^+ attraverso il canale del K^+ adiacente spinge passivamente il Na^+ per via paracellulare verso l'interno del lume. I flussi di Cl^- e Na^+ richiamano H_2O per osmosi verso il lume e permettono di mantenere l'adeguata viscosità del muco che ricopre le cellule ciliate. **(B)** In condizioni di ridotta permeabilità al Cl^- del canale CFTR, il trasporto di Cl^- , Na^+ e H_2O è compromesso con conseguente aumentata viscosità del muco e ridotto movimento anterograde delle ciglia.