

Il trasporto di membrana e le proprietà elettriche delle membrane

www.fisiokinesiterapia.biz

- ✓ Membrana cellulare barriera al passaggio della maggior parte delle molecole polari
- ✓ Permette alla cellula di mantenere concentrazioni di soluti nel citosol diverse da quelle nel fluido extracellulare

Ione	Concentrazione (mM)	
	Intracellulare	Extracellulare

Assone di seppia

K^+	400	20
Na^+	50	440
Cl^-	40-150	560
Ca^{2+}	0,0001	10

Cellula di mammifero

K^+	140	5
Na^+	5-15	145
Cl^-	4	110
Ca^{2+}	0,0001	2,5-5

- Le cellule hanno evoluto modi di trasferire molecole specifiche solubili in acqua attraverso le loro membrane per:
 - ingerire nutrienti essenziali
 - espellere prodotti metabolici di rifiuto
 - regolare le concentrazioni ioniche intracellulari

- Trasporto di ioni e piccole molecole mediante proteine transmembrana specializzate

- Molti geni codificano per proteine di trasporto, che in tutte le cellule assommano al 15-30% delle proteine di membrana
- Alcune cellule specializzate di mammifero impegnano fino ai 2/3 del loro consumo di energia metabolica totale per i processi di trasporto di membrana

2 classi di proteine di membrana che mediano il trasferimento:

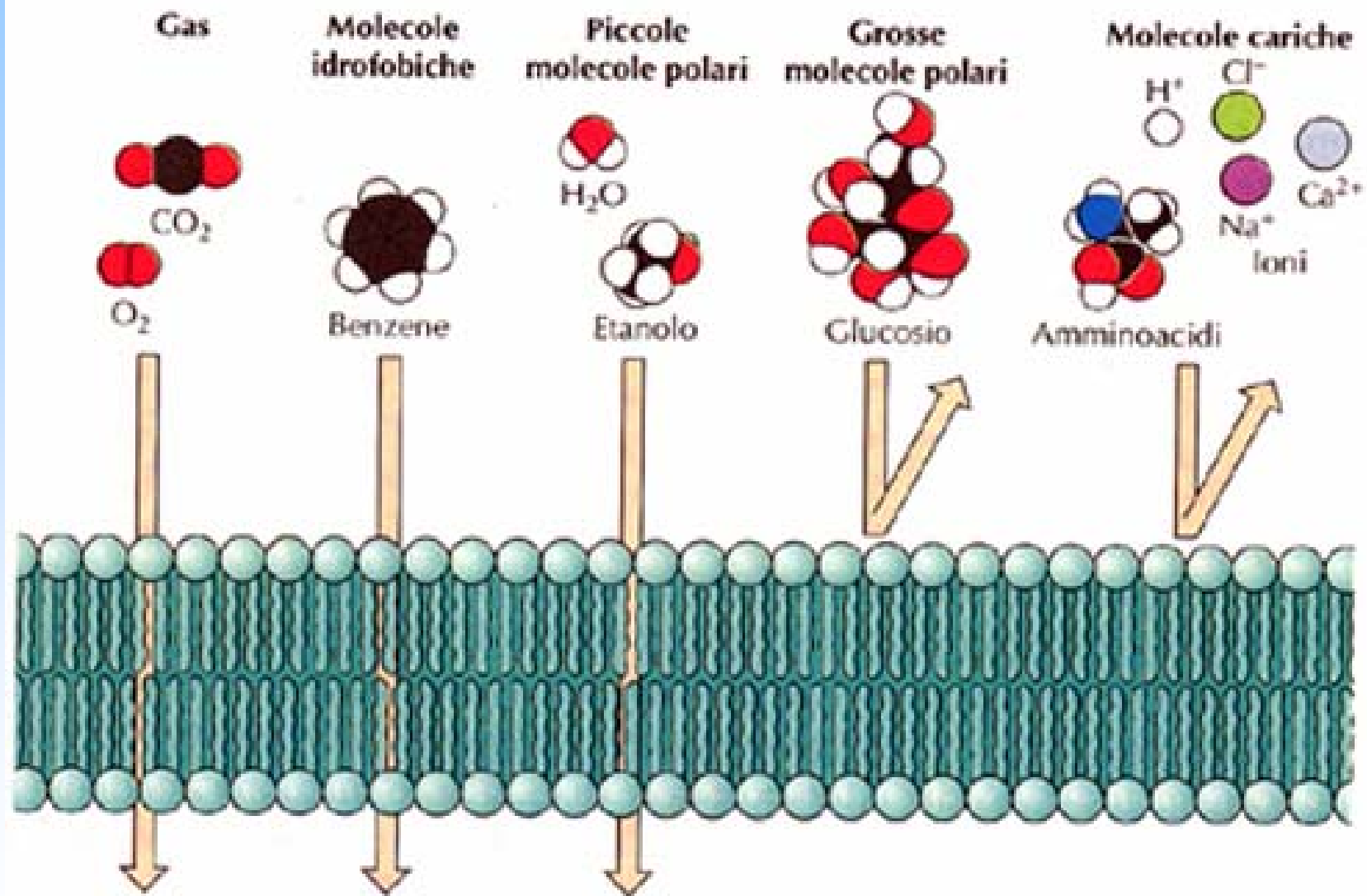
- ❑ le **proteine trasportatrici**, che hanno parti mobili in grado di spostare molecole specifiche attraverso la membrana
- ❑ le **proteine canale**, che formano uno stretto poro idrofilico, che permette il passaggio passivo soprattutto di ioni inorganici

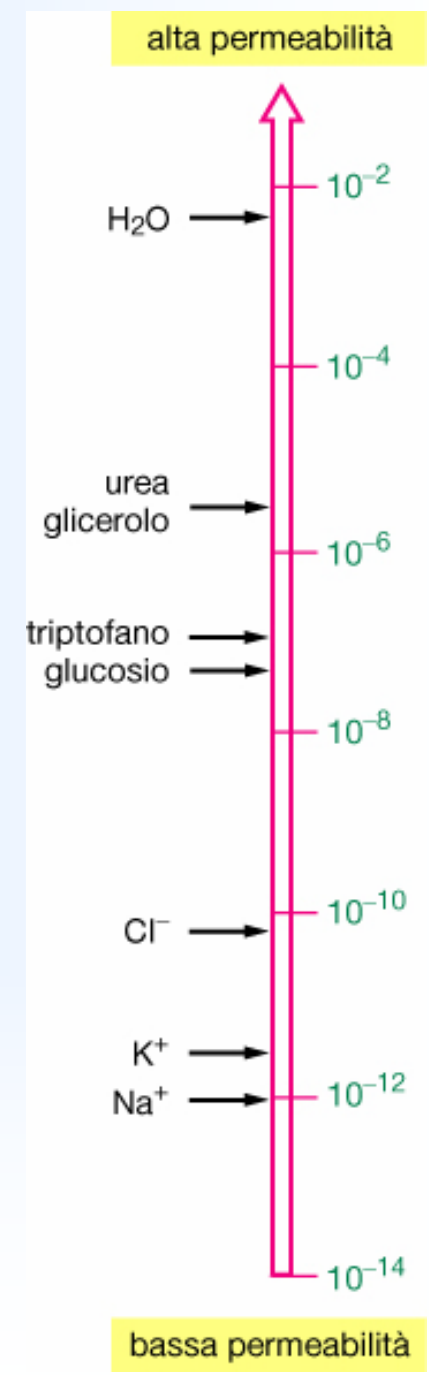
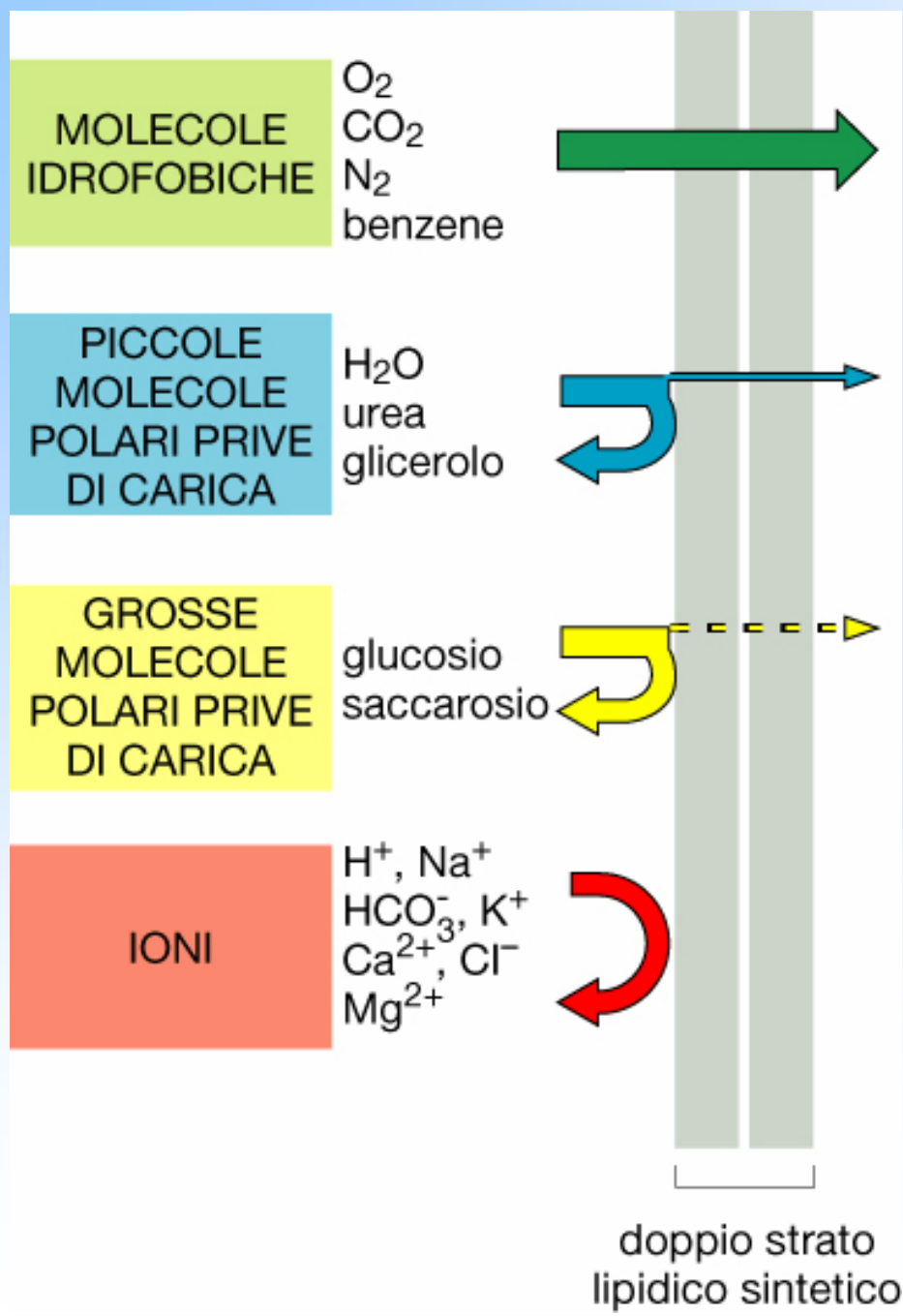
✓ Qualunque molecola diffonderà attraverso un doppio strato lipidico lungo il suo gradiente di concentrazione

La velocità a cui lo fa, varia a seconda delle sue dimensioni e della sua solubilità in olio

- ✓ Piccole molecole non polari, come O_2 e CO_2 , si dissolvono rapidamente in doppi strati lipidici e perciò diffondono rapidamente
- ✓ Piccole molecole polari prive di carica, come acqua e urea, diffondono anch'esse attraverso un doppio strato, anche se più lentamente

- I doppi strati lipidici sono invece altamente impermeabili a molecole cariche (**ioni**), non importa quanto piccole: la carica e l'alto grado di idratazione di queste molecole impedisce loro di entrare nella fase idrocarburica della membrana

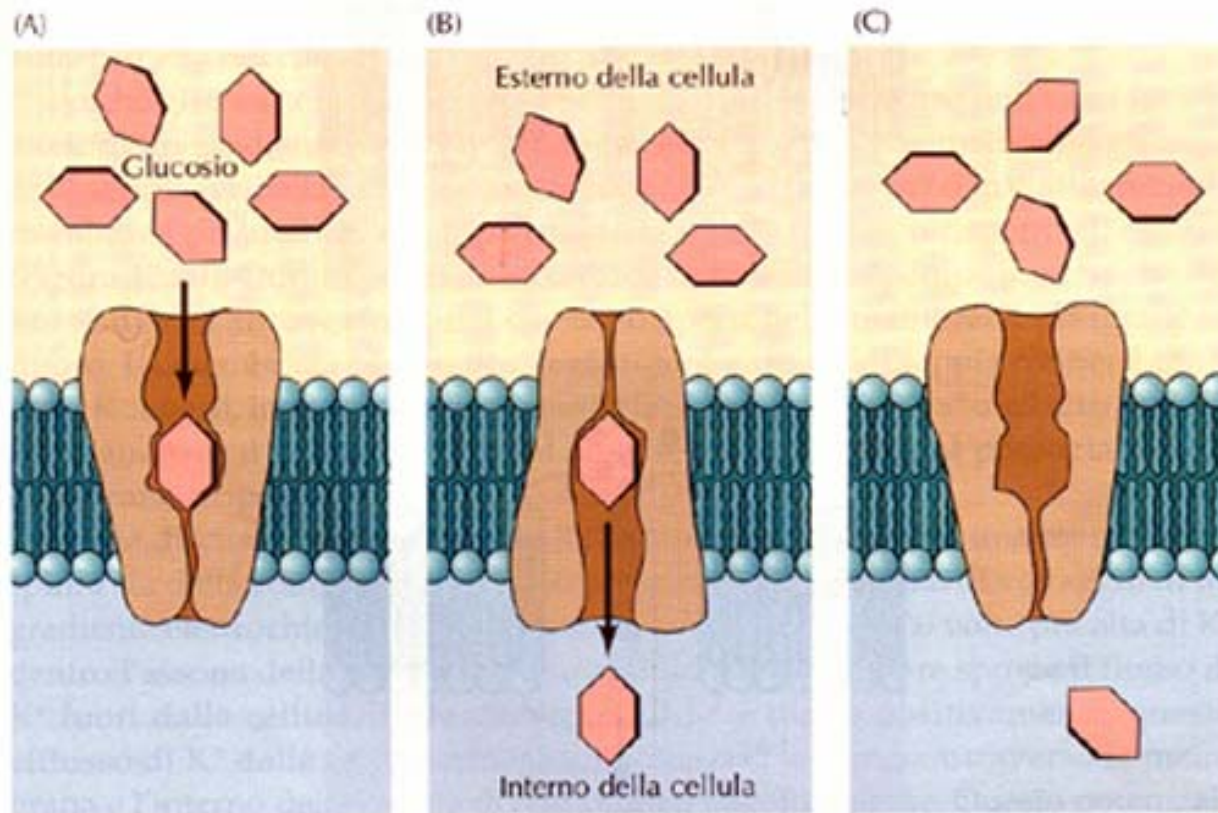
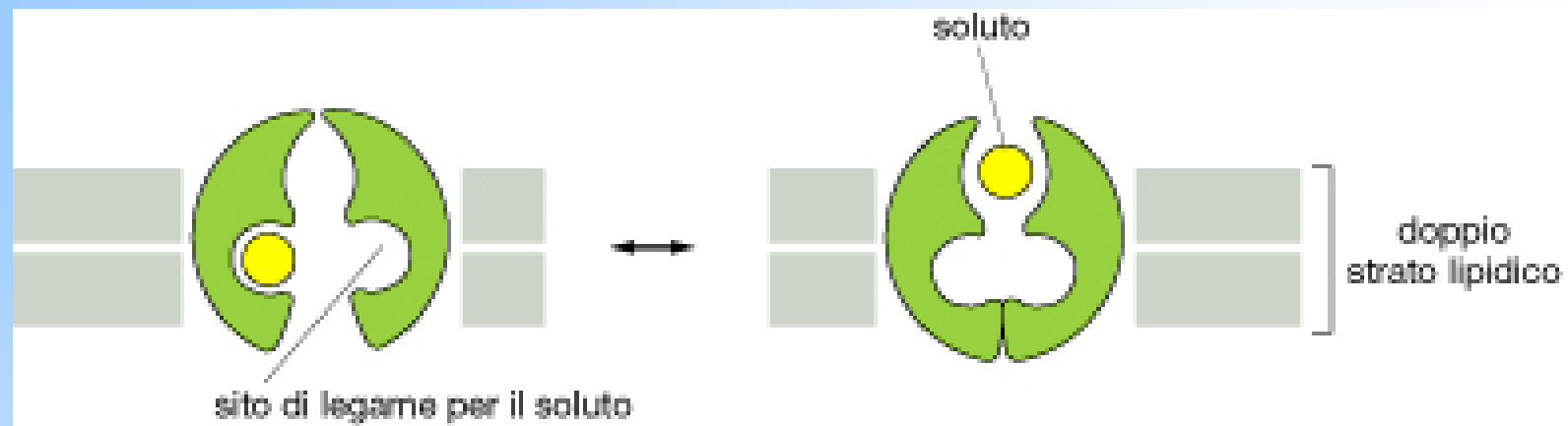




➤ Le membrane cellulari
permettono all'acqua e alle
molecole non polari di permeare
per **diffusione semplice**

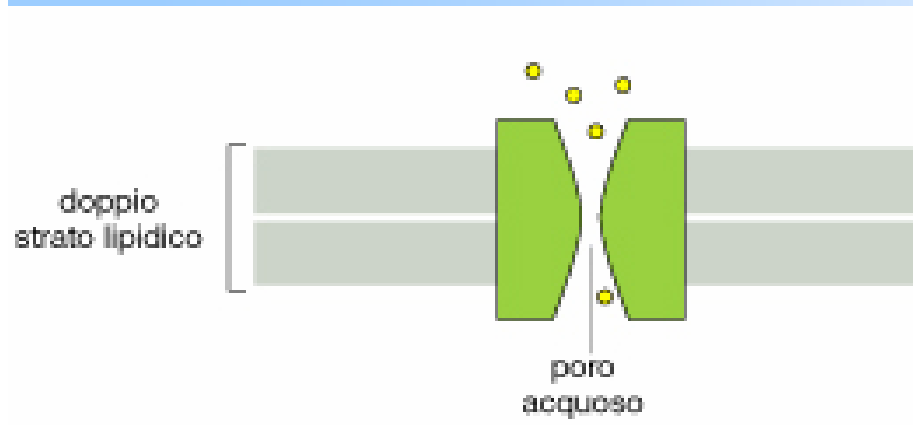
- ✓ Proteine di trasporto di membrana speciali sono responsabili del trasferimento di molecole polari
- ✓ Ciascuna proteina trasporta una classe particolare di molecole e spesso soltanto certe specie molecolari di una classe

- Le **proteine trasportatrici** (chiamate trasportatori o permeasi) si legano al soluto specifico e subiscono una serie di cambiamenti conformazionali per trasferirlo
- Le **proteine canale** formano pori acquosi che si estendono attraverso il doppio strato lipidico; permettono il passaggio di soluti specifici (in genere ioni)



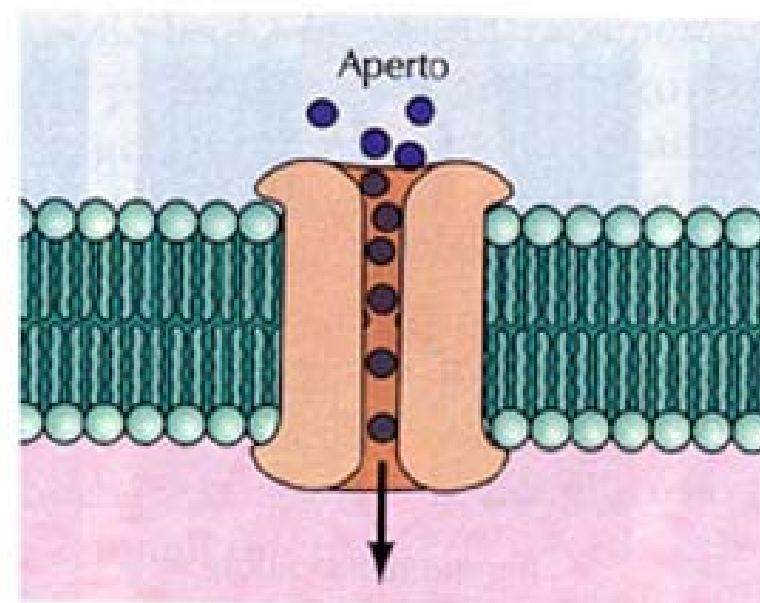
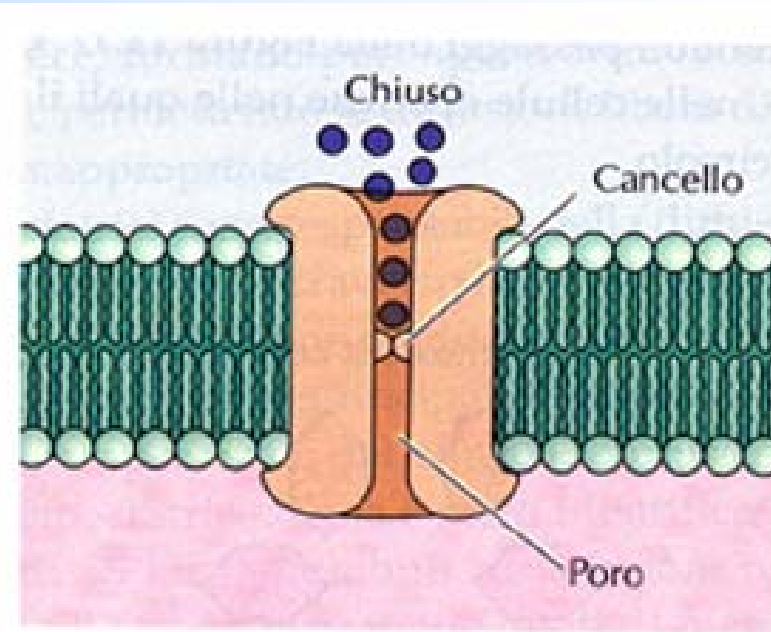
Modello della diffusione facilitata del glucosio

Il trasportatore del glucosio si alterna fra due conformazioni nelle quali un sito di legame per il glucosio viene alternativamente esposto all'esterno e all'interno della cellula. Nella prima conformazione rappresentata (A), il glucosio si lega ad un sito esposto all'esterno della membrana plasmatica. Il trasportatore subisce quindi un cambiamento di conformazione tale che il sito che lega il glucosio si affaccia all'interno della cellula e il glucosio viene rilasciato nel citosol (B). Il trasportatore ritorna quindi alla sua conformazione originale (C).

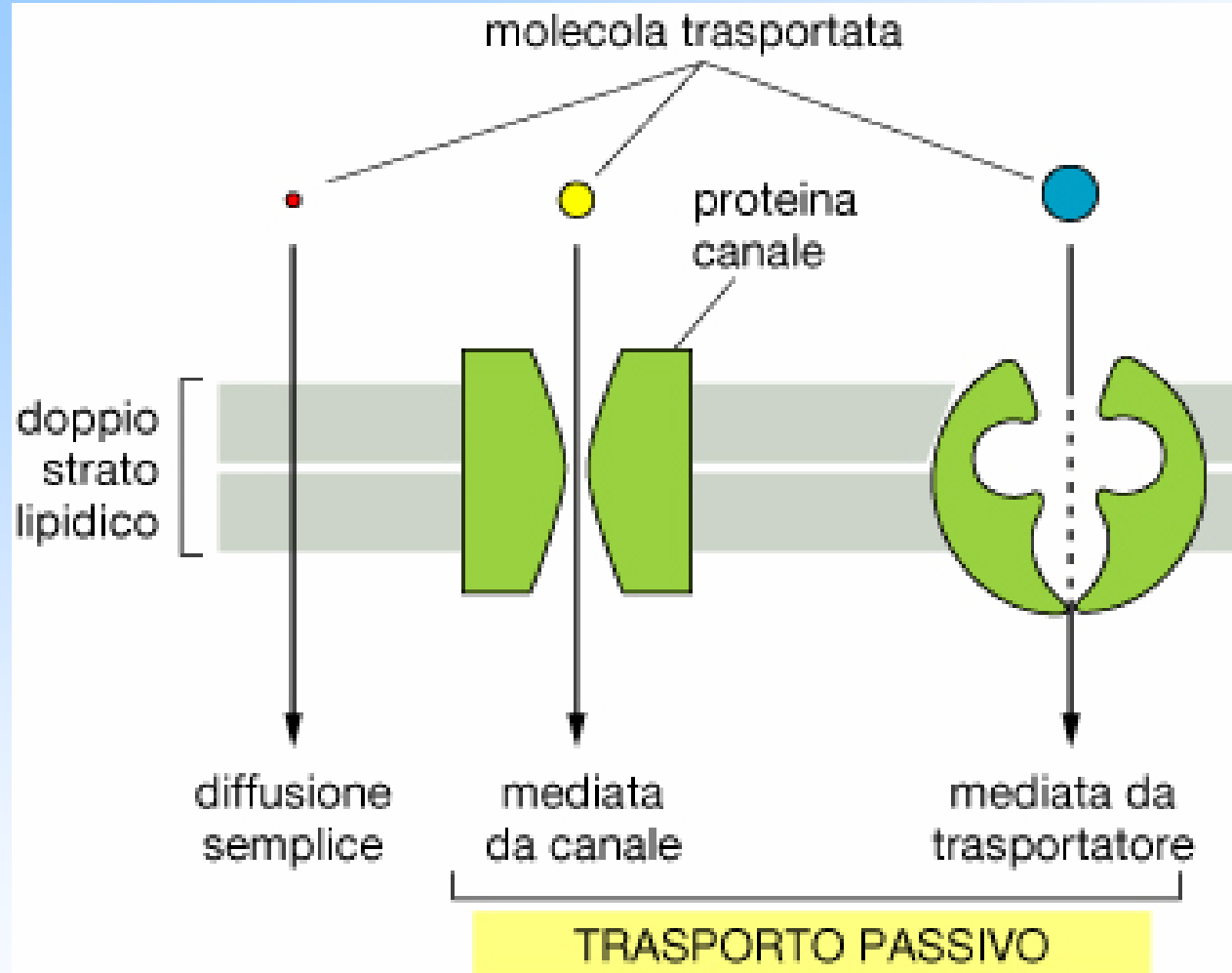


Modello di un canale ionico

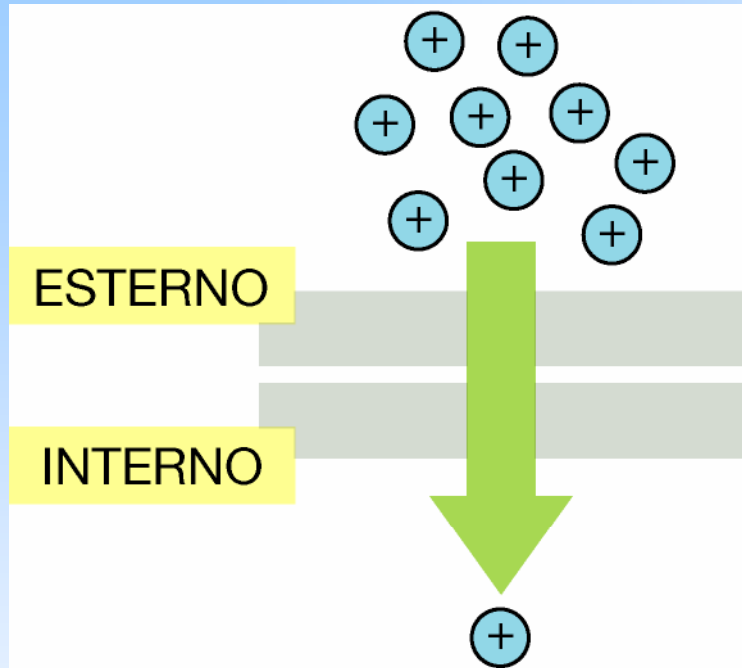
Nella conformazione chiusa il flusso di ioni è bloccato da un cancello. L'apertura del cancello permette agli ioni di scorrere rapidamente attraverso il canale. Il canale contiene uno stretto poro che limita il passaggio a ioni di dimensioni e carica appropriate.



- ✓ Tutte le proteine canale e molte trasportatrici permettono ai soluti di attraversare la membrana soltanto passivamente (*in discesa*), per *trasporto passivo o diffusione agevolata*
- ✓ Nel caso del trasporto di una singola molecola priva di carica, è semplicemente il suo *gradiente di concentrazione* che spinge il trasporto passivo e determina la sua direzione

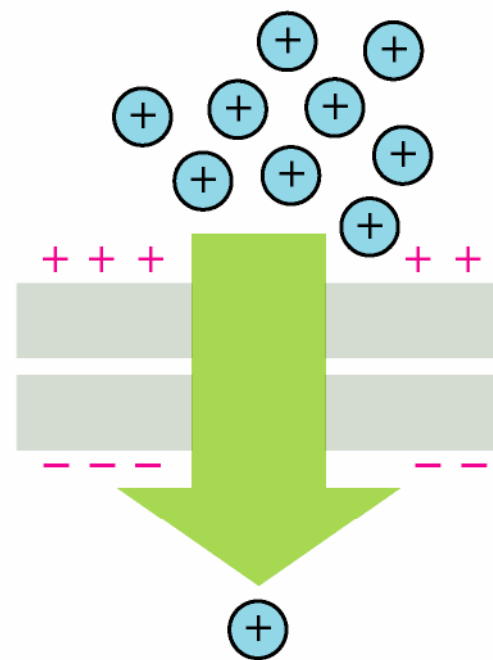


- ✓ Se il soluto ha una carica netta, sia il suo **gradiente di concentrazione**, che la differenza di **potenziale elettrico** attraverso la membrana (potenziale di membrana), influenza il trasporto (**gradiente elettrochimico**)
- ✓ Tutte le membrane plasmatiche hanno una differenza di potenziale in genere negativo, che favorisce l'ingresso di ioni positivi



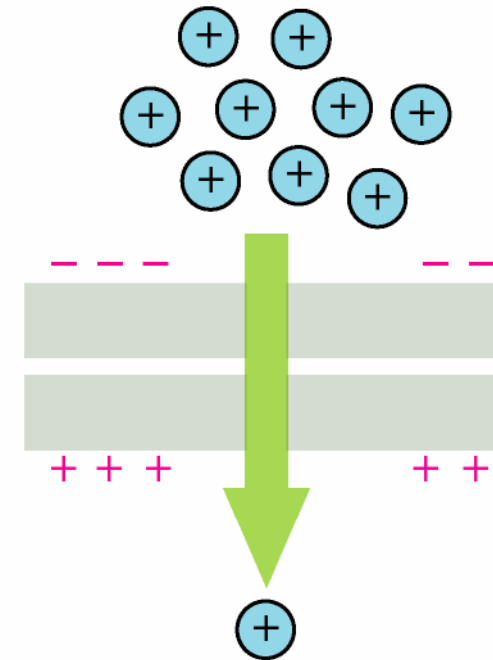
gradiente elettrochimico in assenza di potenziale di membrana

(A)



gradiente elettrochimico con potenziale di membrana negativo all'interno

(B)

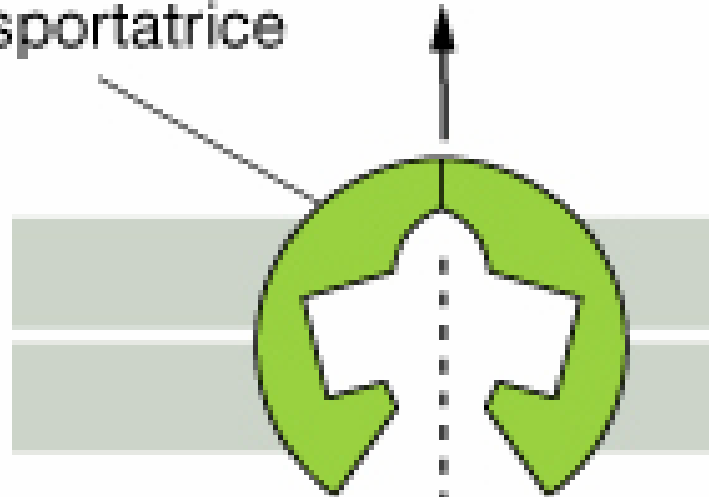


gradiente elettrochimico con potenziale di membrana positivo all'interno

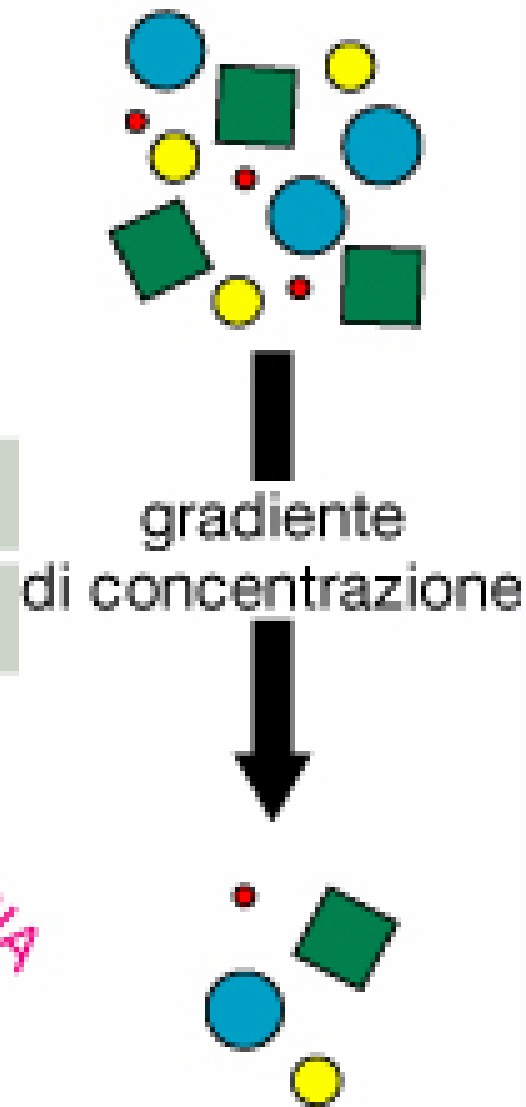
(C)

- ✓ Alcune proteine di trasporto pompano attivamente certi soluti contro il gradiente elettrochimico (*in salita*).
Trasporto attivo mediato da trasportatori, chiamate **pompe**
- ✓ Nel **trasporto attivo**, l'attività di pompaggio è direzionale ed è strettamente accoppiata ad una **fonte di energia** metabolica

proteina trasportatrice

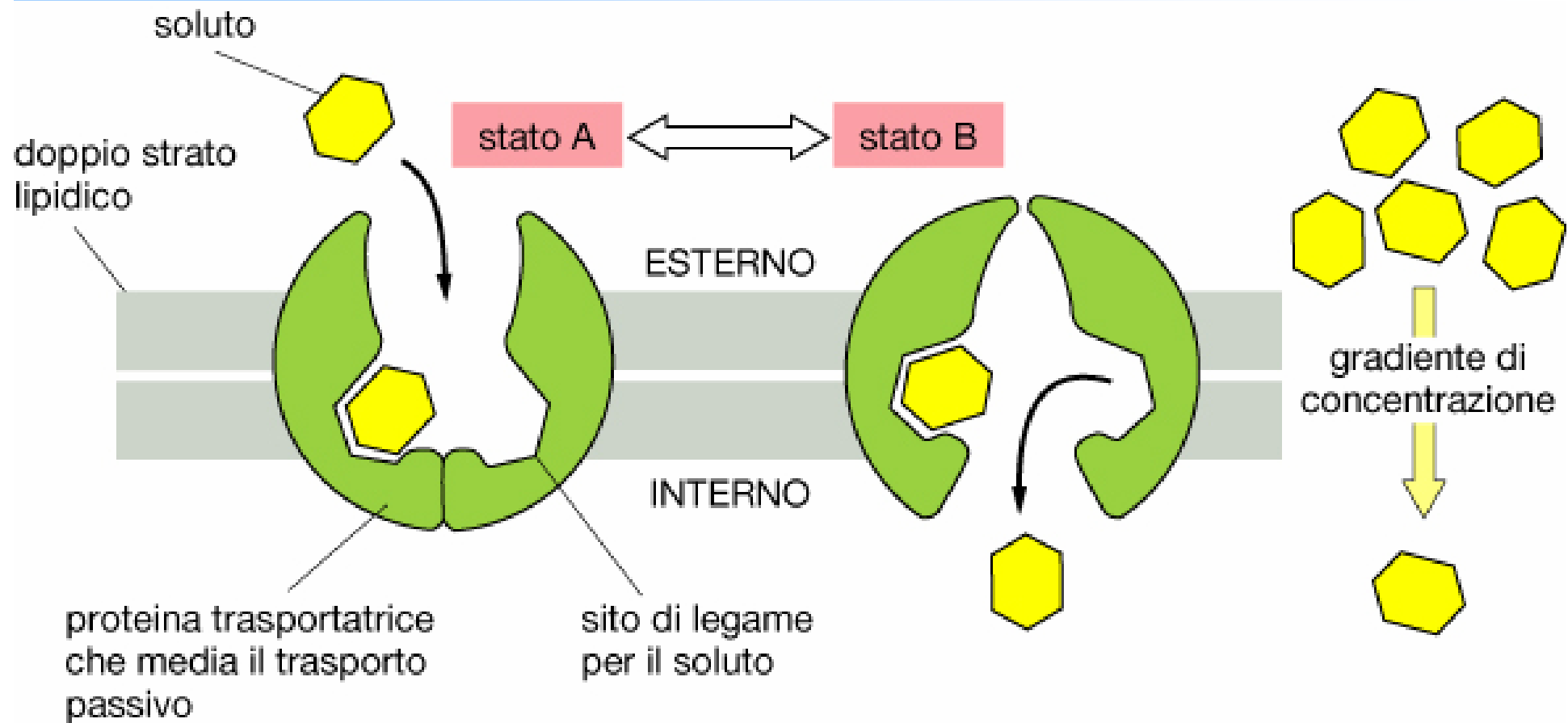


ENERGIA



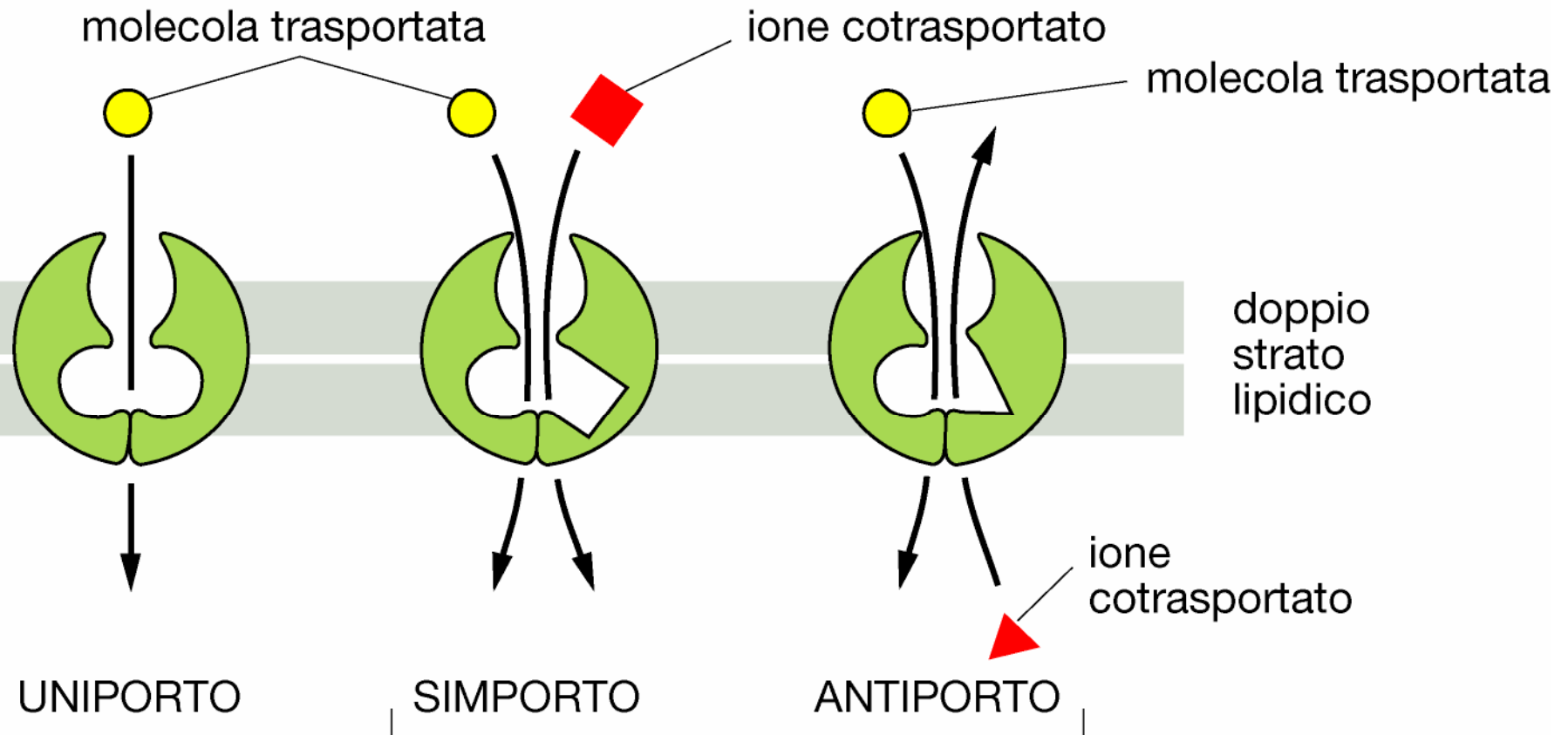
TRASPORTO ATTIVO

✓ I trasportatori hanno uno o più siti di legame specifici e trasferiscono il soluto attraverso la membrana subendo cambiamenti conformazionali reversibili



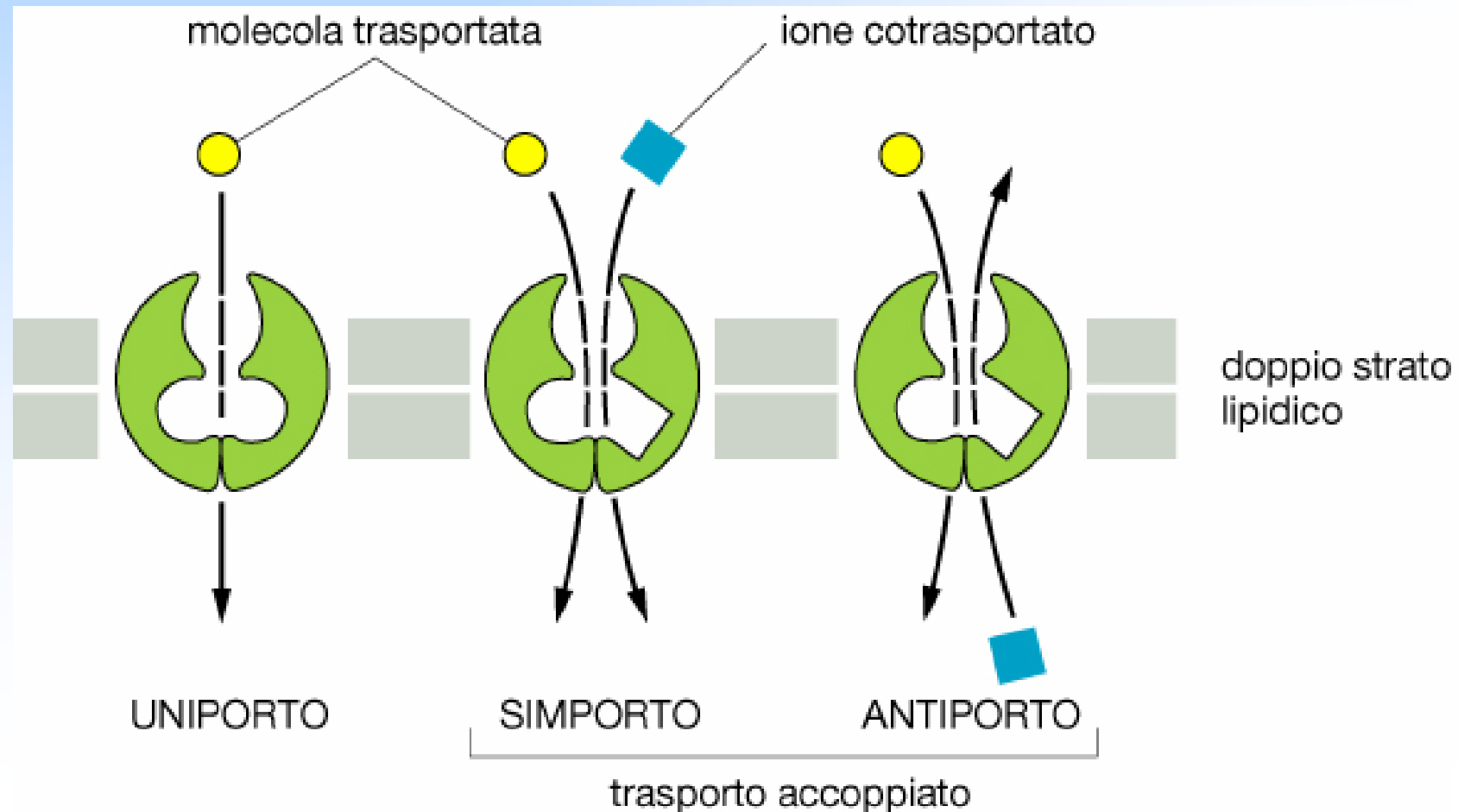
➤ Le cellule realizzano il trasporto attivo (*in salita*) in tre modi:

- ❖ **Trasportatori accoppiati**
- ❖ **Pompe che utilizzano ATP**
- ❖ **Pompe spinte dalla luce**

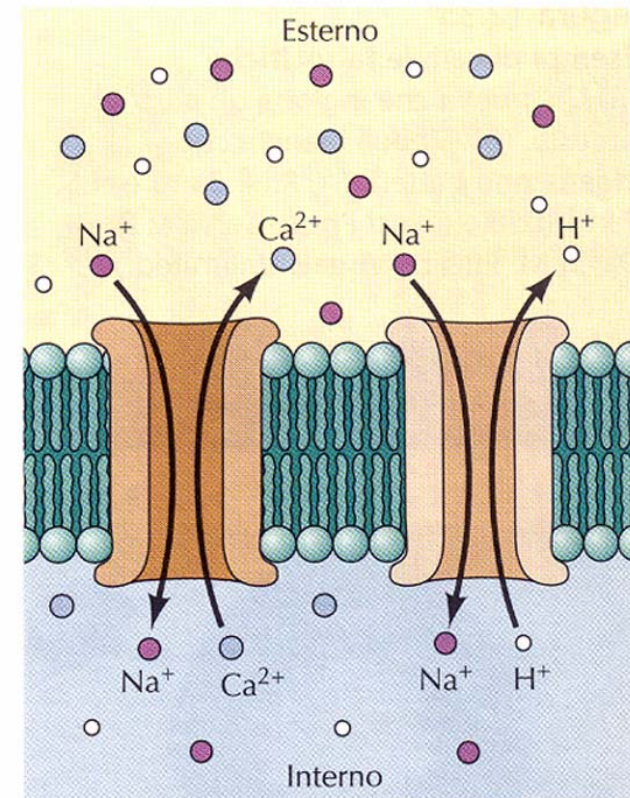
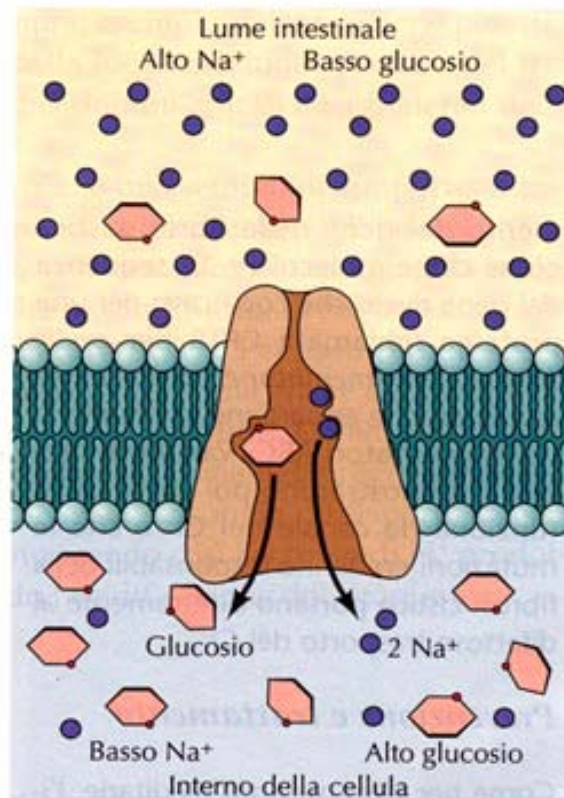
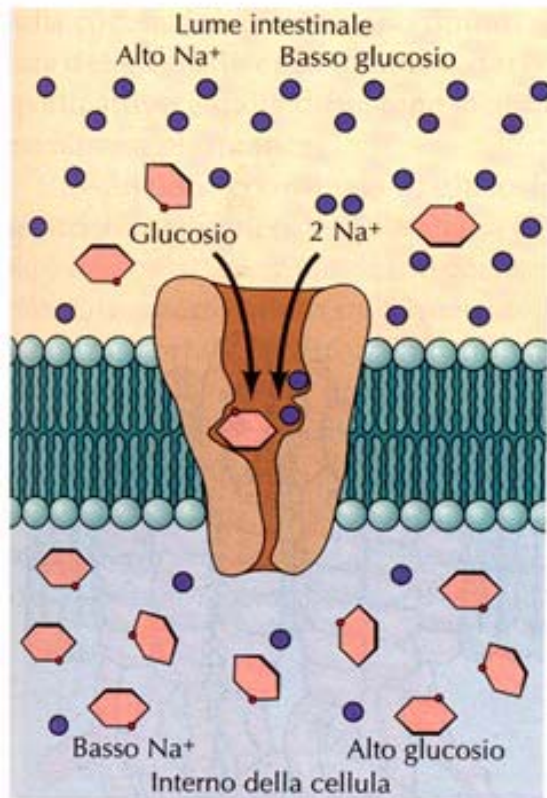


TRASPORTO ACCOPPIATO

Il trasporto accoppiato comporta o il trasferimento simultaneo di un secondo soluto nella stessa direzione (**simporto**) o il trasferimento di un secondo soluto nella direzione opposta (**antiporto**)



- ✓ Lo stretto accoppiamento fra il trasporto di due soluti permette di sfruttare l'energia conservata nel gradiente elettrochimico di uno ione, per trasportare un'altra molecola
- ✓ Nelle membrana plasmatica di cellule animali, il Na^+ è il tipico ione co-trasportato

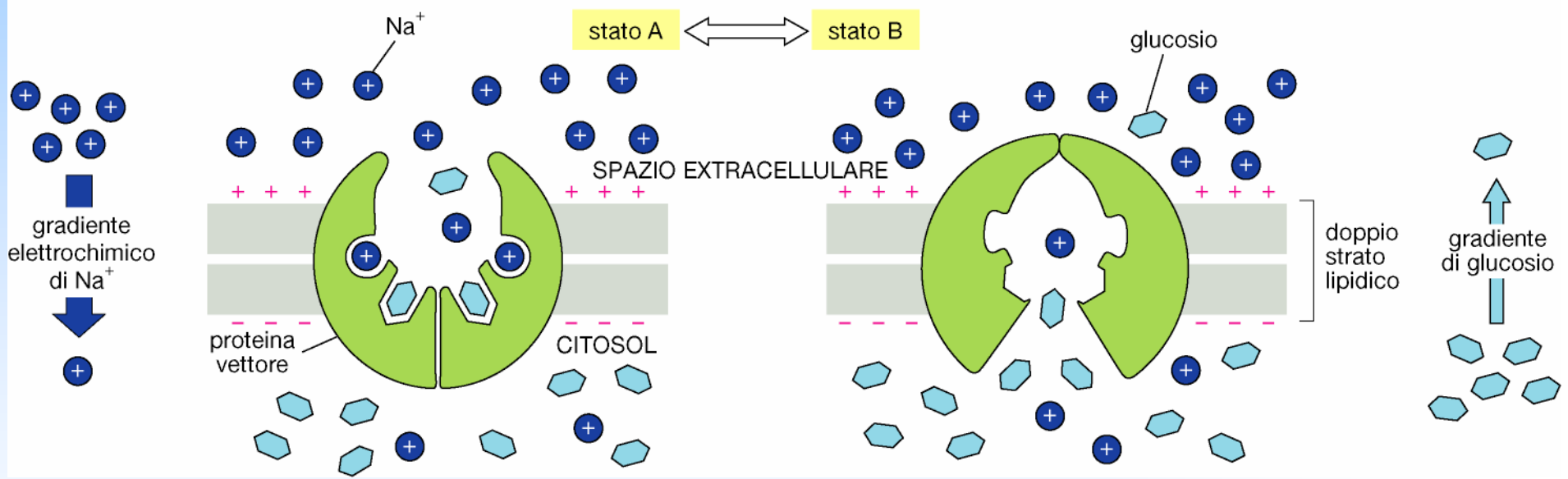


Trasporto attivo del glucosio

Il trasporto attivo spinto dal gradiente di Na^+ è responsabile dell'assunzione del glucosio dal lume intestinale. Il trasportatore lega e trasporta in modo coordinato un glucosio e due Na^+ nella cellula. Il trasporto di Na^+ nella direzione energeticamente favorevole spinge l'assunzione di glucosio contro il suo gradiente di concentrazione.

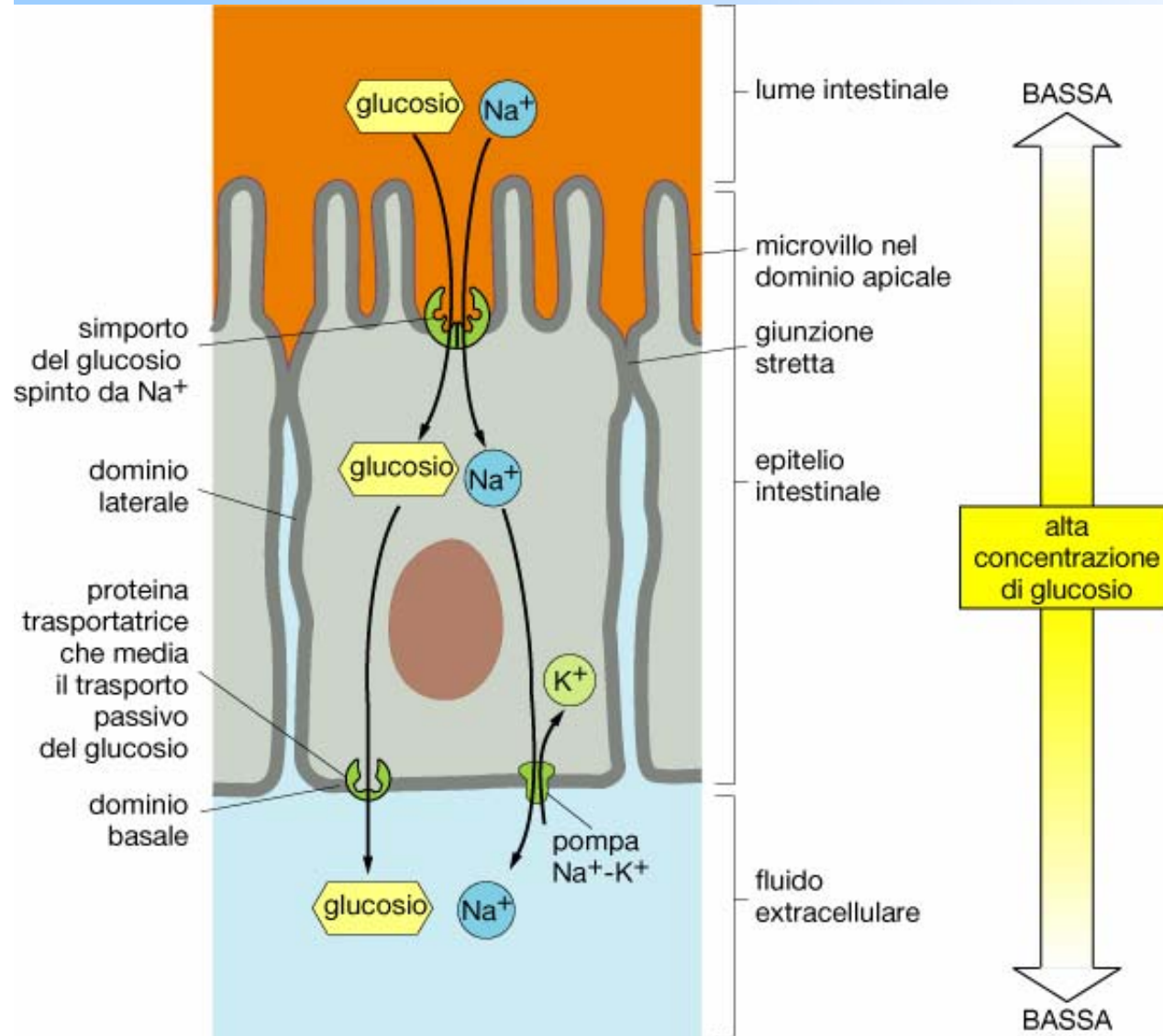
Esempi di antiporto

Ca^{2+} e H^+ sono esportati dalle cellule da sistemi di antiporto che accoppiano la loro esportazione all'importazione energeticamente favorevole di Na^+ .



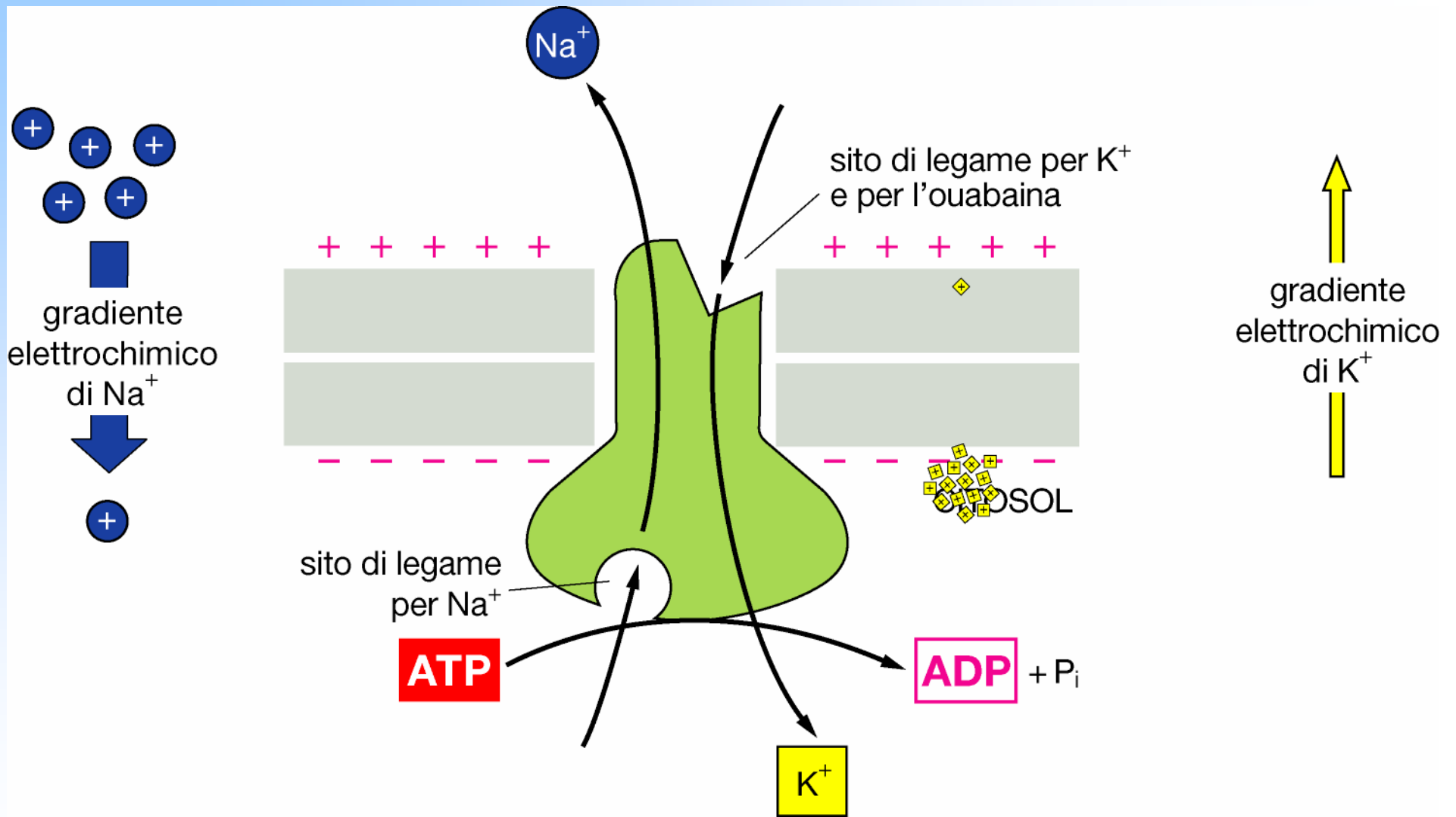
- ✓ Il Na^+ che entra nella cellula è successivamente pompato fuori da una **pompa Na^+/K^+** alimentata da **ATP**, che mantiene il gradiente di Na^+
- ✓ I trasportatori spinti da ioni mediano un *trasporto attivo secondario*, mentre i trasportatori spinti da ATP mediano un *trasporto attivo primario*

- ✓ La maggior parte delle cellule ha uno o più tipi di trasporto spinti da Na^+ che aiuta a mantenere il pH citosolico a circa 7,2
- ✓ Vengono usati due meccanismi:
 - H^+ è spinto fuori della cellula
 - HCO_3^- è portato dentro la cellula

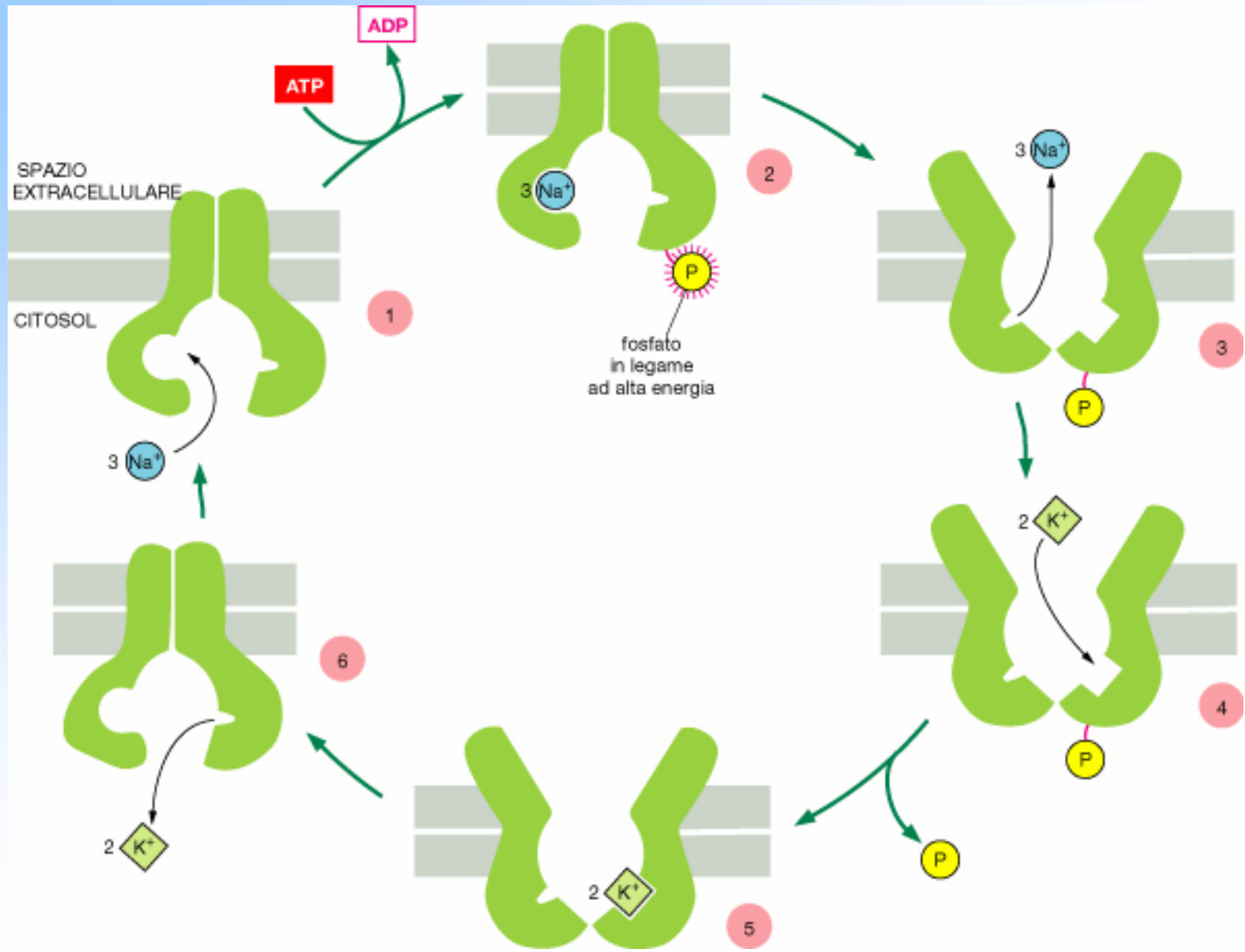


Una distribuzione asimmetrica di proteine trasportatrici nelle cellule epiteliali è alla base del *trasporto transcellulare* di soluti

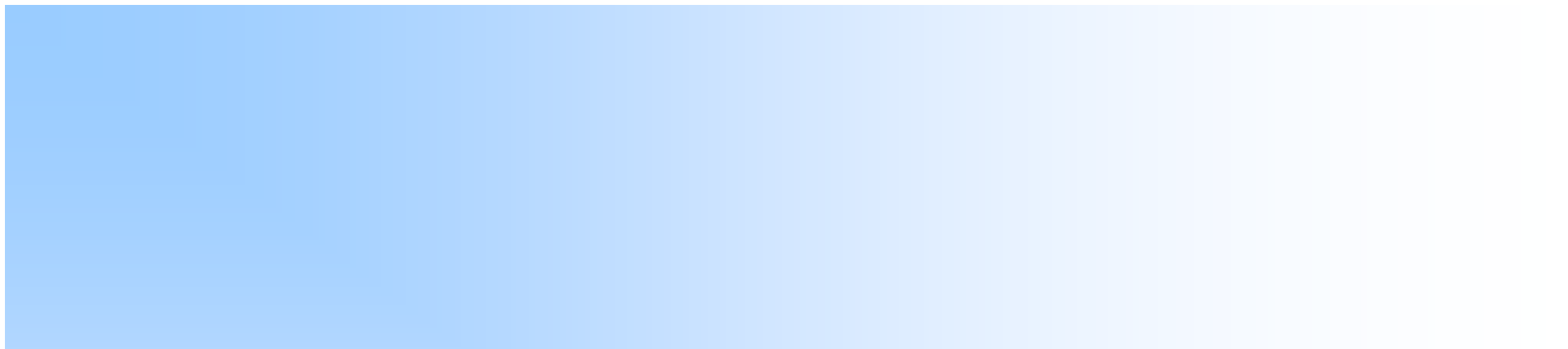
- ✓ La concentrazione di K^+ è da 10 a 20 volte più alta dentro la cellula, mentre per il Na^+ è l'opposto
- ✓ Queste differenze sono mantenute dalla **pompa sodio/potassio**, che opera da antiporto, espellendo Na^+ contro il gradiente elettrochimico e importando K^+
- ✓ Poiché la pompa idrolizza ATP è nota anche come **ATPasi sodio potassio**



- 1/3 del fabbisogno energetico della cellula è consumato da questa pompa
- **Nelle cellule nervose elettricamente attive** che durante la propagazione dell'impulso nervoso importano Na^+ ed espellono K^+ , il fabbisogno arriva ai 2/3 del fabbisogno energetico



- Poiché la **pompa Na^+/K^+** spinge tre ioni carichi positivamente all'esterno per ogni due che pompa dentro, è **elettrogenica**
- Crea una corrente netta attraverso la membrana, tendendo a creare un **potenziale elettrico**
- Ha un ruolo nel **controllo del volume** cellulare: inibitori della pompa Na^+/K^+ fanno rigonfiare e scoppiare le cellule



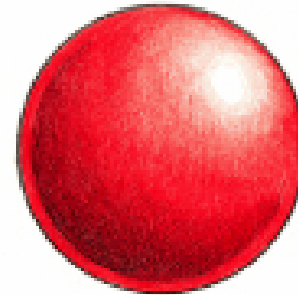
crenato

normale

rigonfiato

lisato

GLOBULO ROSSO



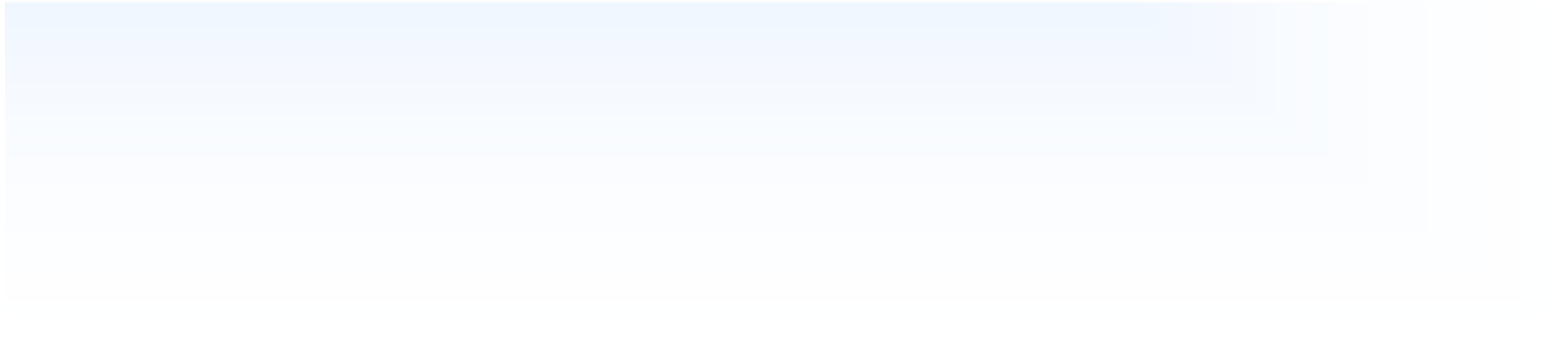
concentrazione
ionica nello spazio
extracellulare

←
IPERTONICA

ISOTONICA

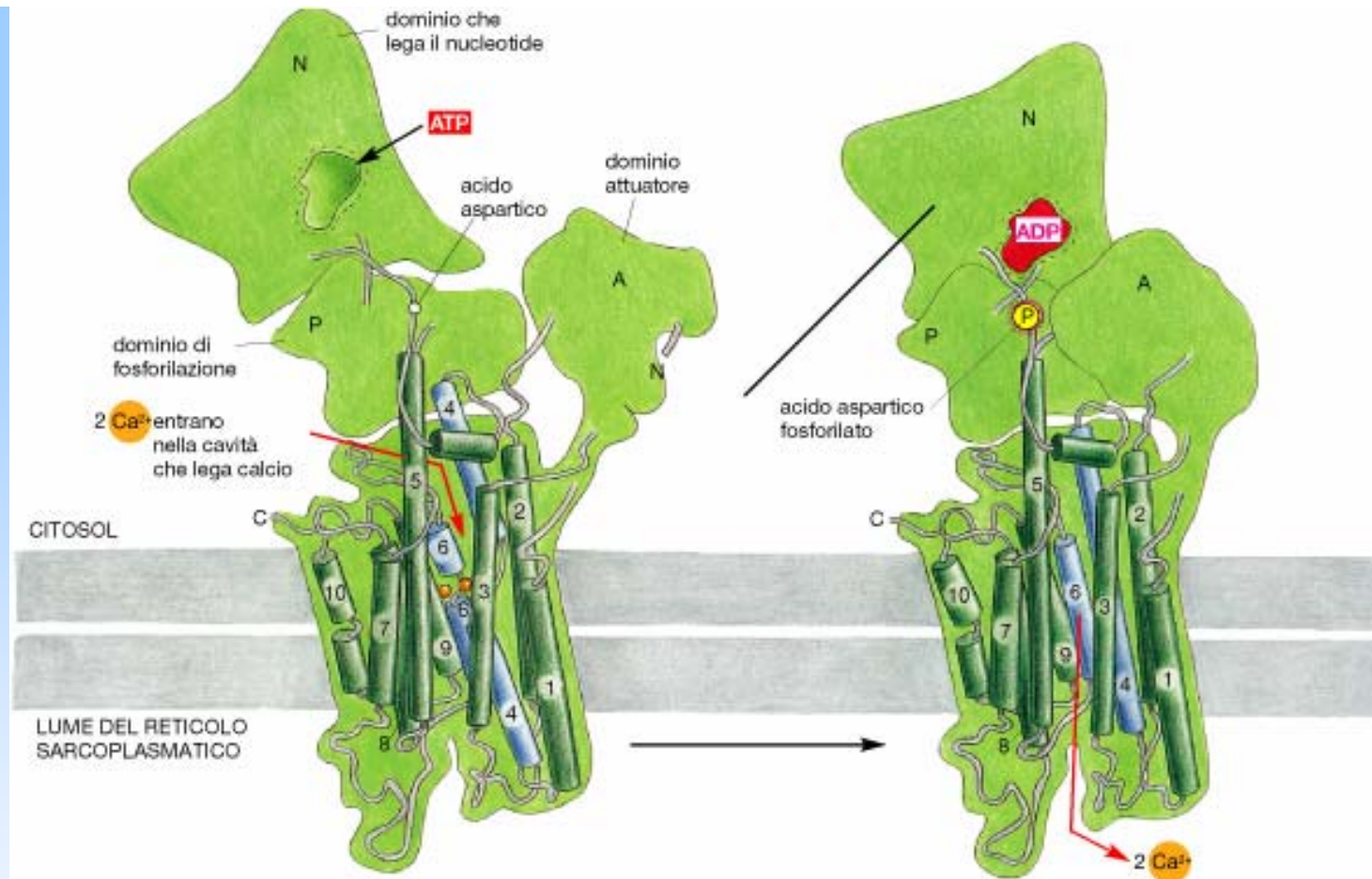
IPOTONICA

MOLTO
IPOTONICA



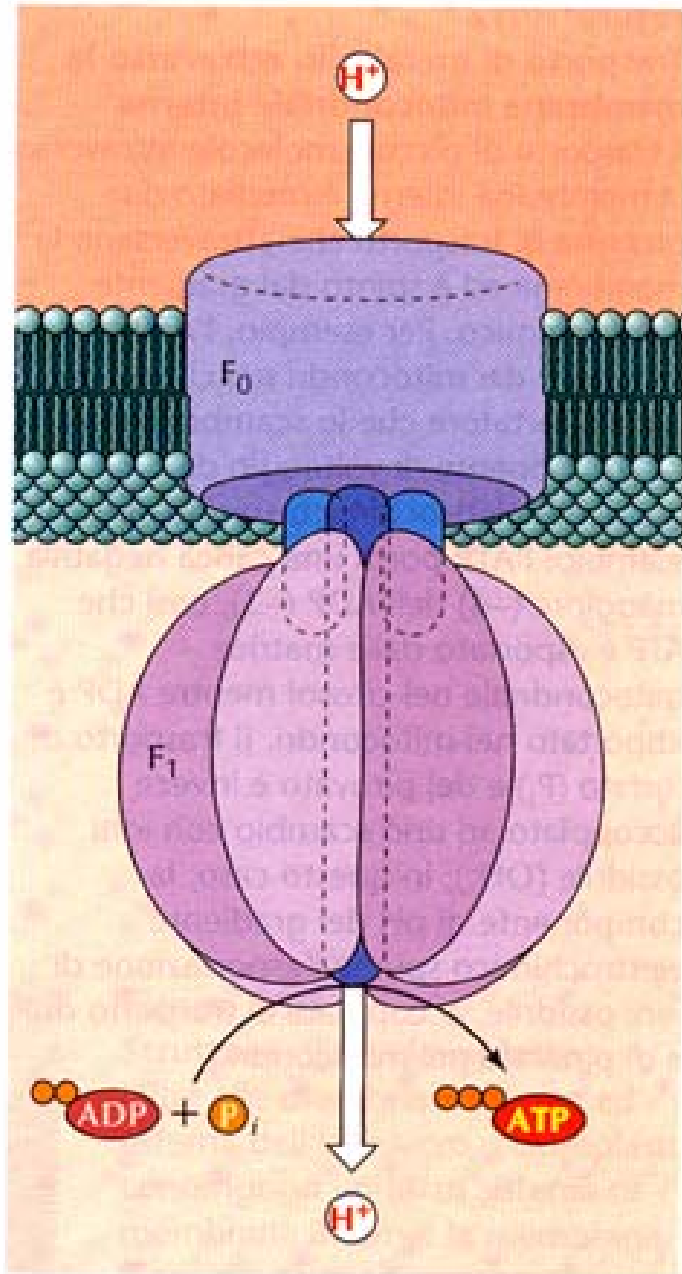
Oltre alla pompa Na^+/K^+ , la famiglia di **ATPasi di trasporto di tipo P** include:

- pompe Ca_2^+ : rimuovono calcio dal citosol, dopo eventi di segnalazione
- pompe H^+/K^+ : secernono acido da cellule epiteliali specializzate dello stomaco



L'ATPasi di trasporto meglio compresa è la **pompa Ca_2^+** o **ATPasi Ca_2^+** , nella membrana del reticolo sarcoplasmatico (REL) delle cellule del muscolo scheletrico

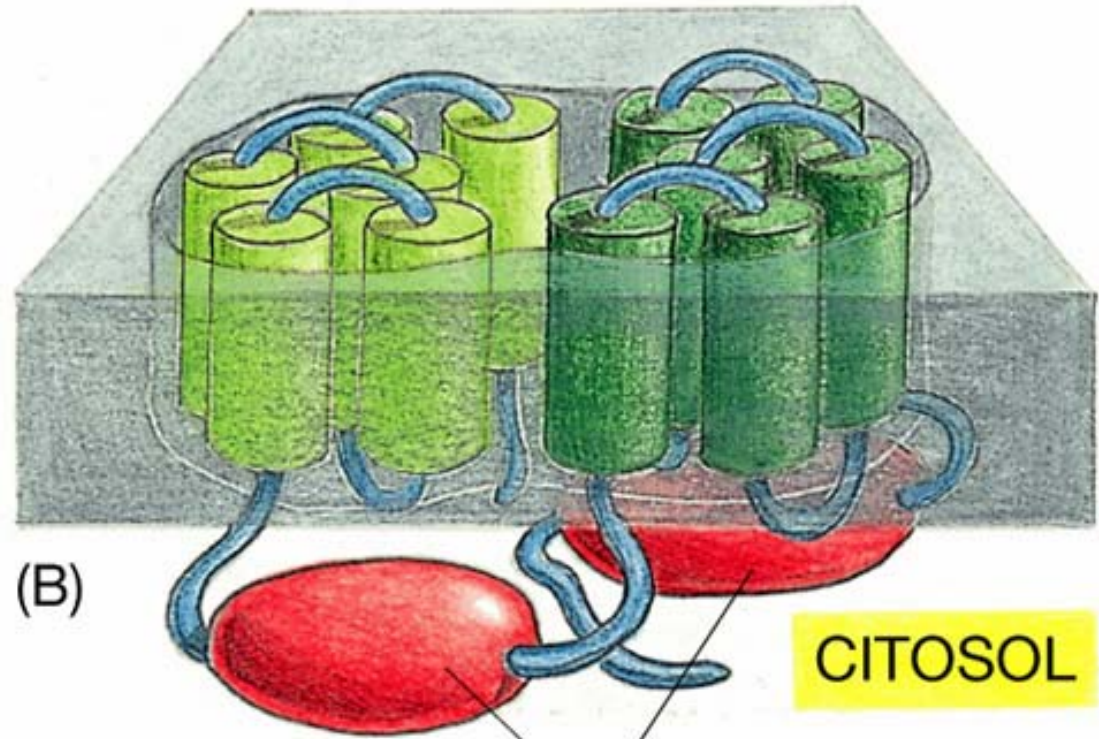
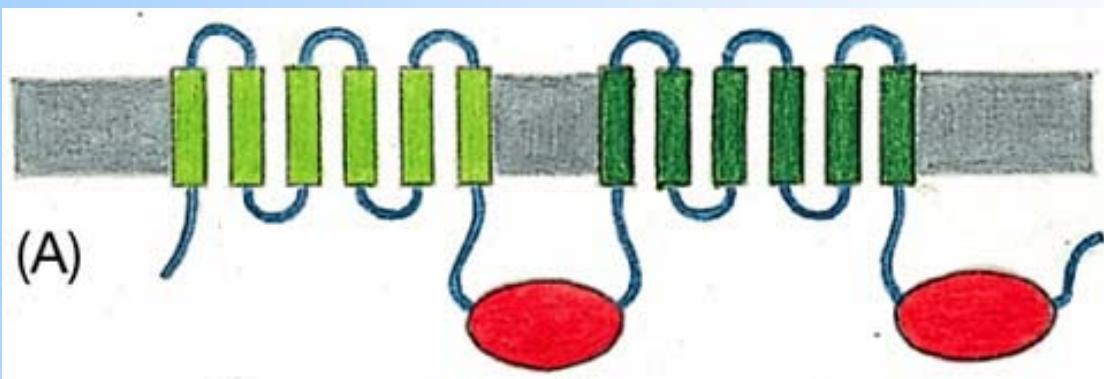
- La membrana interna dei mitocondri contiene **ATPasi di trasporto di tipo V**, simili a turbine e costituite da più subunità
- Funzionano normalmente in senso contrario utilizzano il gradiente di H^+ per spingere la sintesi di ATP da ADP e fosfato



Struttura dell'**ATP sintasi** o **complesso V**.
Due componenti multisubunità, F₀ e F₁ unite da un esile stelo.
F₀ attraversa la membrana formando un canale attraversato da H⁺
F₁ raccoglie l'energia libera dal movimento protonico lungo il gradiente elettrochimico catalizzando la sintesi di ATP

I **trasportatori ABC** sono una famiglia di ATPasi di trasporto con rilevanza clinica

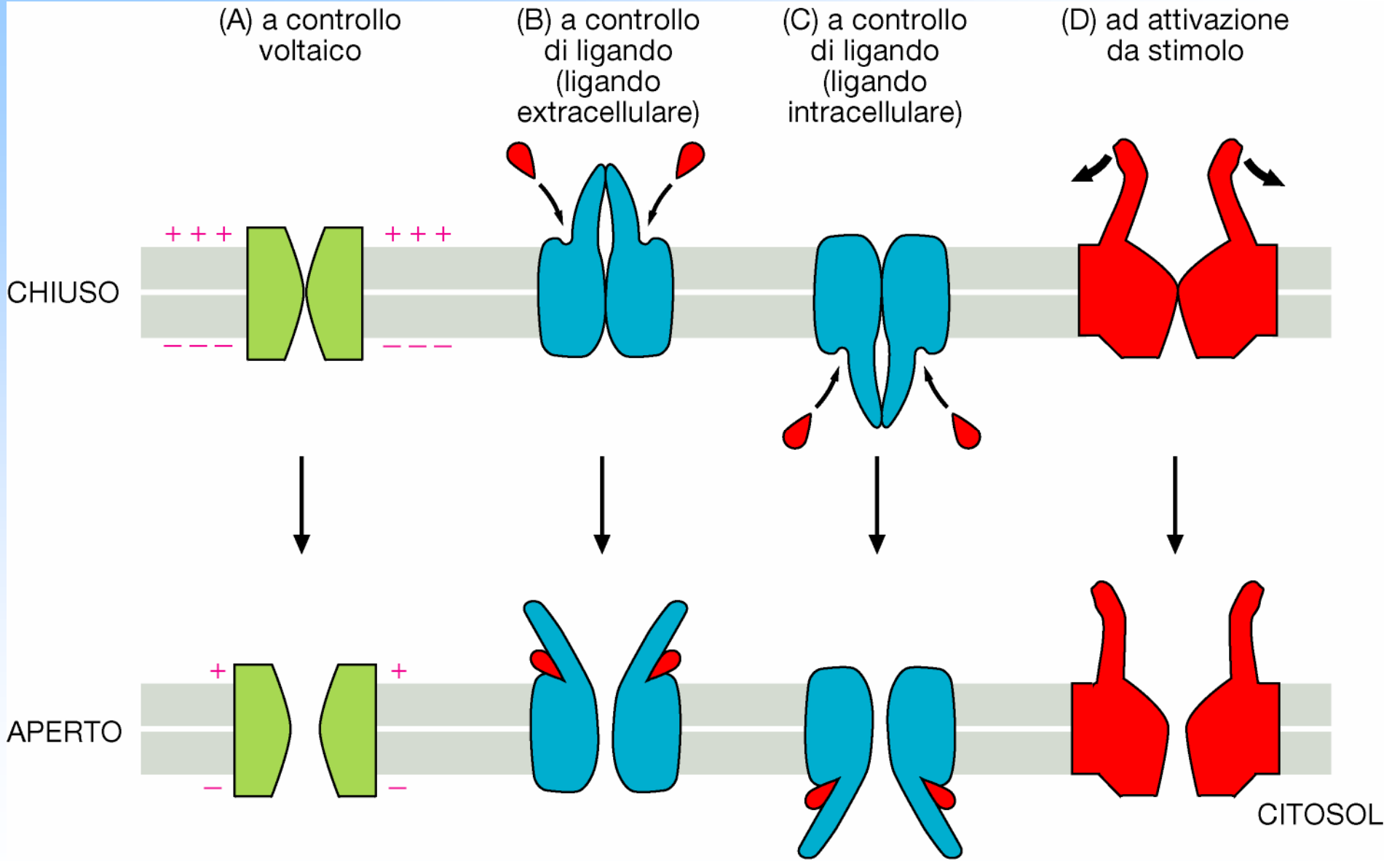
- Proteina della resistenza multipla ai farmaci (MDR)
- Trasportatore ABC che pompa cloroquina (malaria)
- Trasportatore del Cl^- che provoca la fibrosi cistica



- I **canali ionici** hanno una velocità 10^5 volte maggiore rispetto al trasportatore
- Non possono essere accoppiati ad una fonte di energia per eseguire un trasporto \longrightarrow il trasporto è sempre passivo (*in discesa*)

I canali ionici:

- mostrano una **selettività ionica** cioè posseggono un filtro di selettività
- sono **provvisti di cancello**, che si apre in risposta a stimoli specifici quali:
 - cambiamento del voltaggio attraverso la membrana (**canali regolati dal voltaggio**)
 - uno stress meccanico (**canali regolati meccanicamente**)
 - attacco di un ligando (**canali regolati da ligando**)



- ✓ I canali ionici più diffusi sono quelli permeabili al K^+ . Presenti in tutte le cellule
- ✓ Un tipo importante di canali del K^+ si apre anche in una cellula non stimolata o a "riposo" e viene chiamato **K^+ leak channel** (**canale che perde K^+**), diverso secondo il tipo cellulare

Il potenziale di membrana

- Si forma quando c'è una differenza nella carica elettrica sui due lati di una membrana
- Questo può avvenire sia grazie ad un pompaggio elettrogenico attivo sia per una diffusione ionica passiva

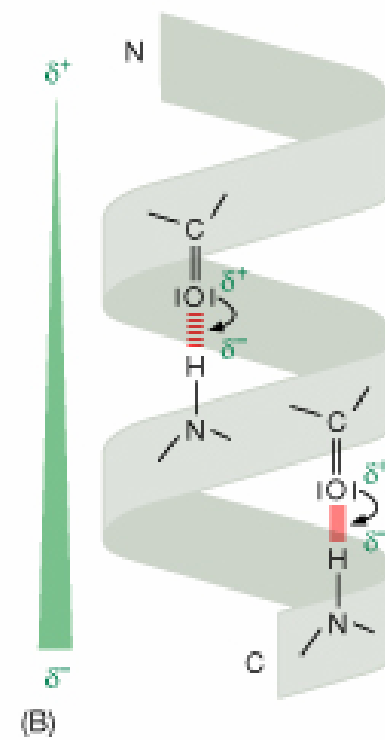
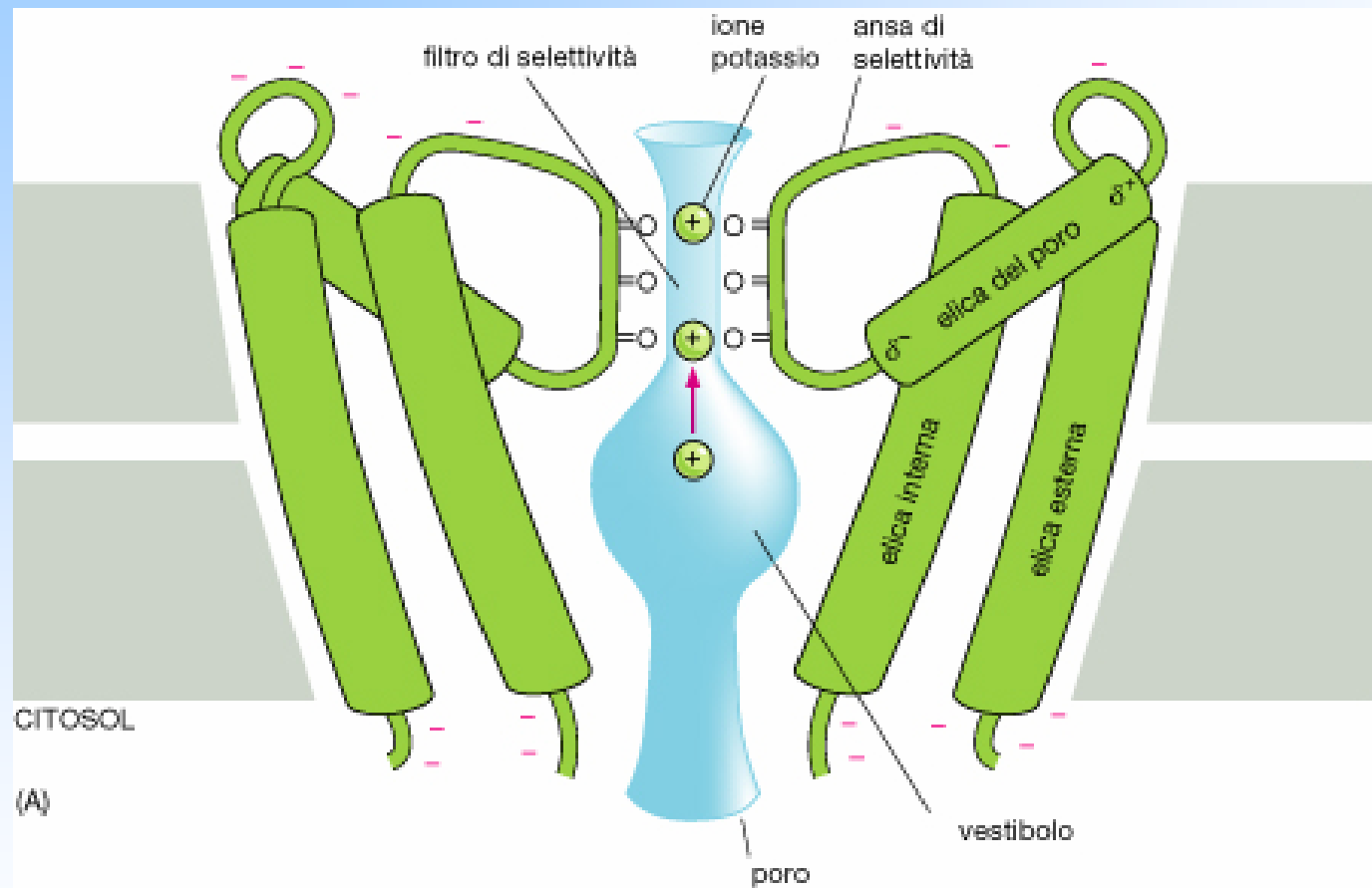
- La pompa Na^+/K^+ aiuta a mantenere un equilibrio osmotico ed è elettrogenica (= mantiene bassa la $[\text{Na}^+]$ all'interno della cellula)
- Essendoci poco Na^+ all'interno, altri cationi devono entrare per bilanciare la carica portata da anioni fissi nella cellula

✓ Ruolo di bilanciamento è svolto in gran parte dal K^+ , pompato all'interno della cellula dalla pompa sodio/potassio, e si può muovere liberamente dentro e fuori attraverso i canali che perdono K^+ raggiungendo un equilibrio

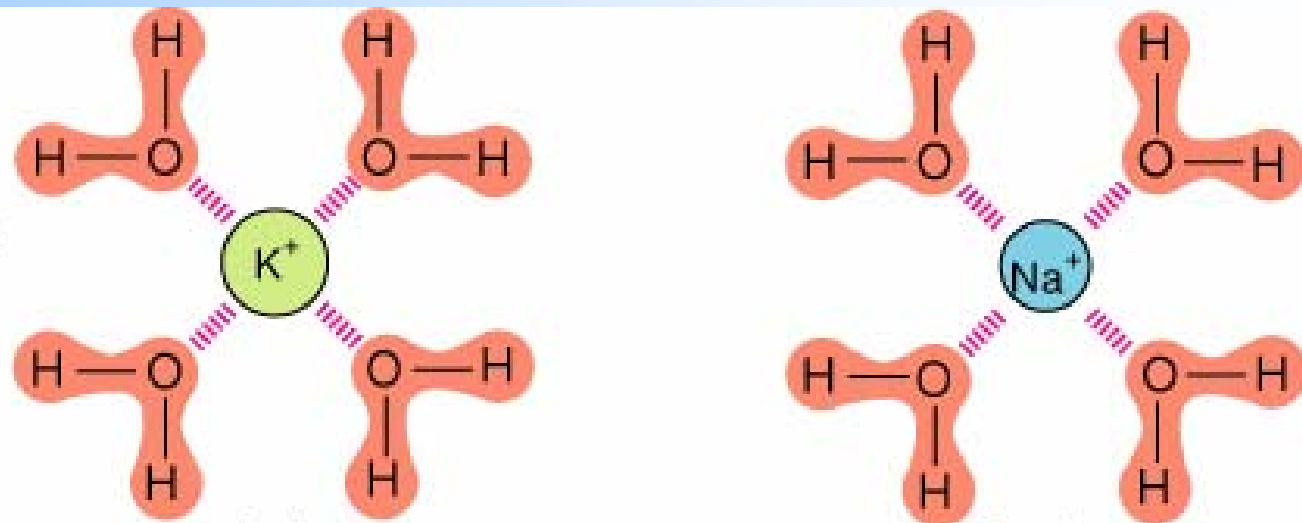
- ✓ L'equilibrio è dato dalla forza elettrica esercitata da un eccesso di cariche negative che attraggono K^+ all'interno della cellula bilanciata dalla tendenza del K^+ ad uscire lungo il gradiente di concentrazione
- ✓ La condizione di equilibrio, in cui non c'è flusso di ioni attraverso la membrana, definisce il **potenziale di membrana a riposo**

- ✓ Il numero di ioni che si deve muovere attraverso la membrana per stabilire il potenziale di membrana è **piccolo**
- ✓ La differenza di potenziale (ΔV) attraverso la membrana plasmatica di una cellula animale a riposo varia tra -20 mV e -200 mV (-70 mV nelle cellule nervose umane)

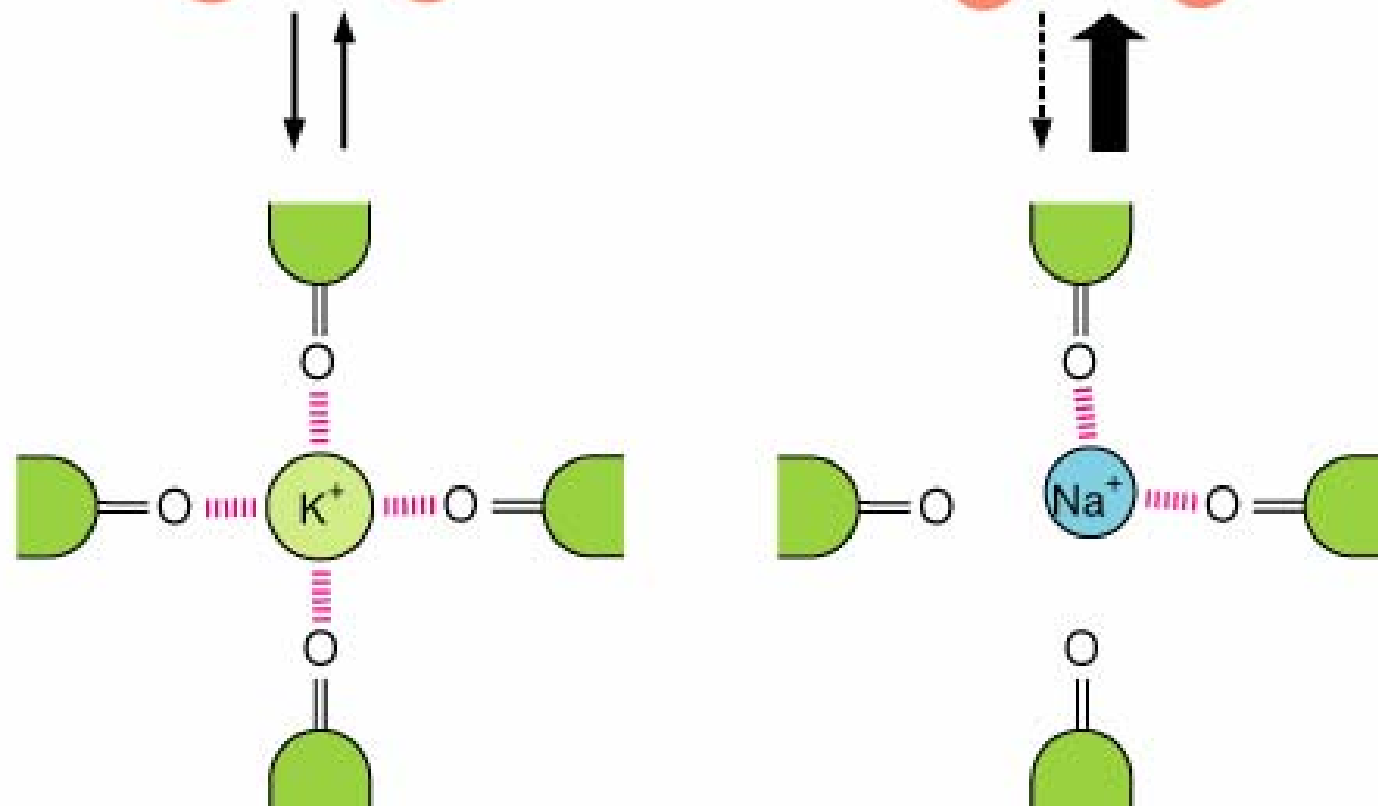
- ✓ E' notevole la capacità dei canali ionici di combinare una raffinata **selettività** con un'alta **conduttanza**
- ✓ I canali che perdono K^+ lo conducono 10.000 volte meglio del Na^+ eppure i due ioni sono sfere prive di caratteristiche, con diametri simili (0.1333 nm e 0.095 nm)

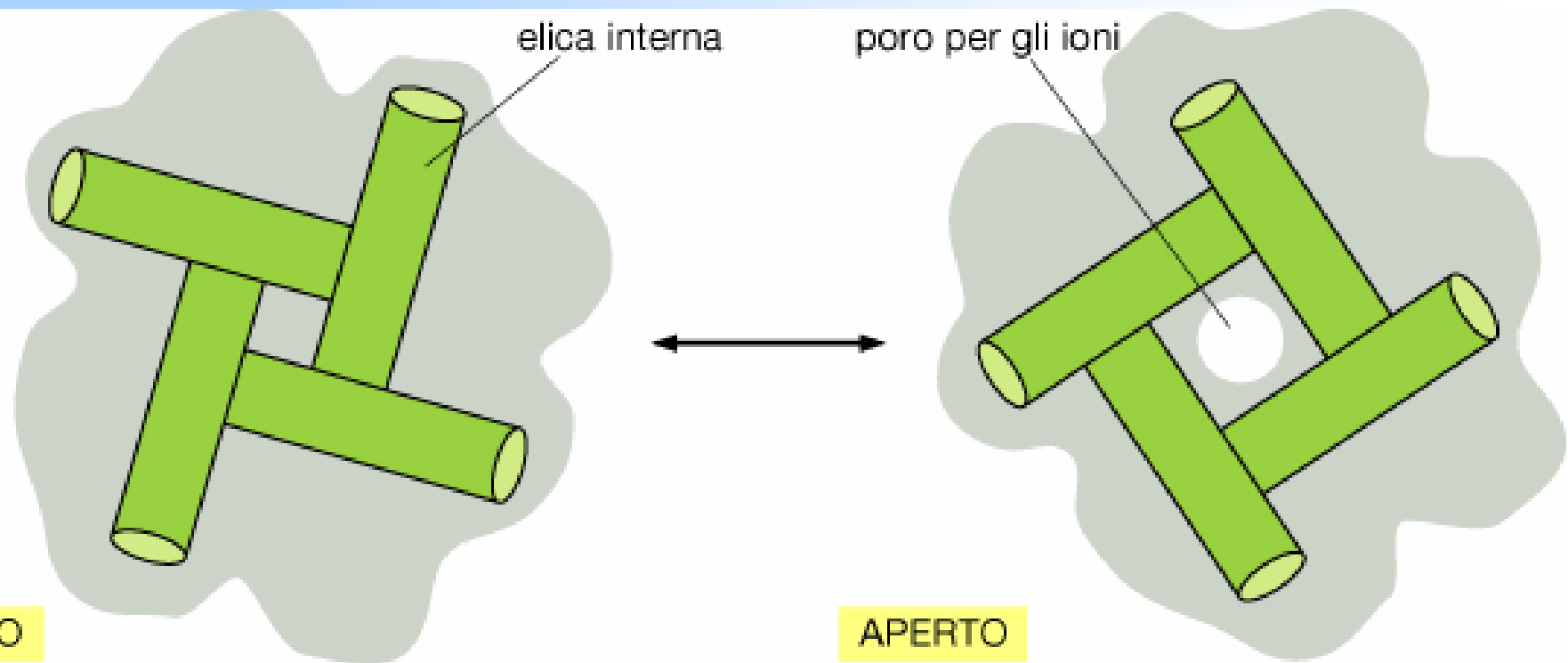


(A) ione nel vestibolo

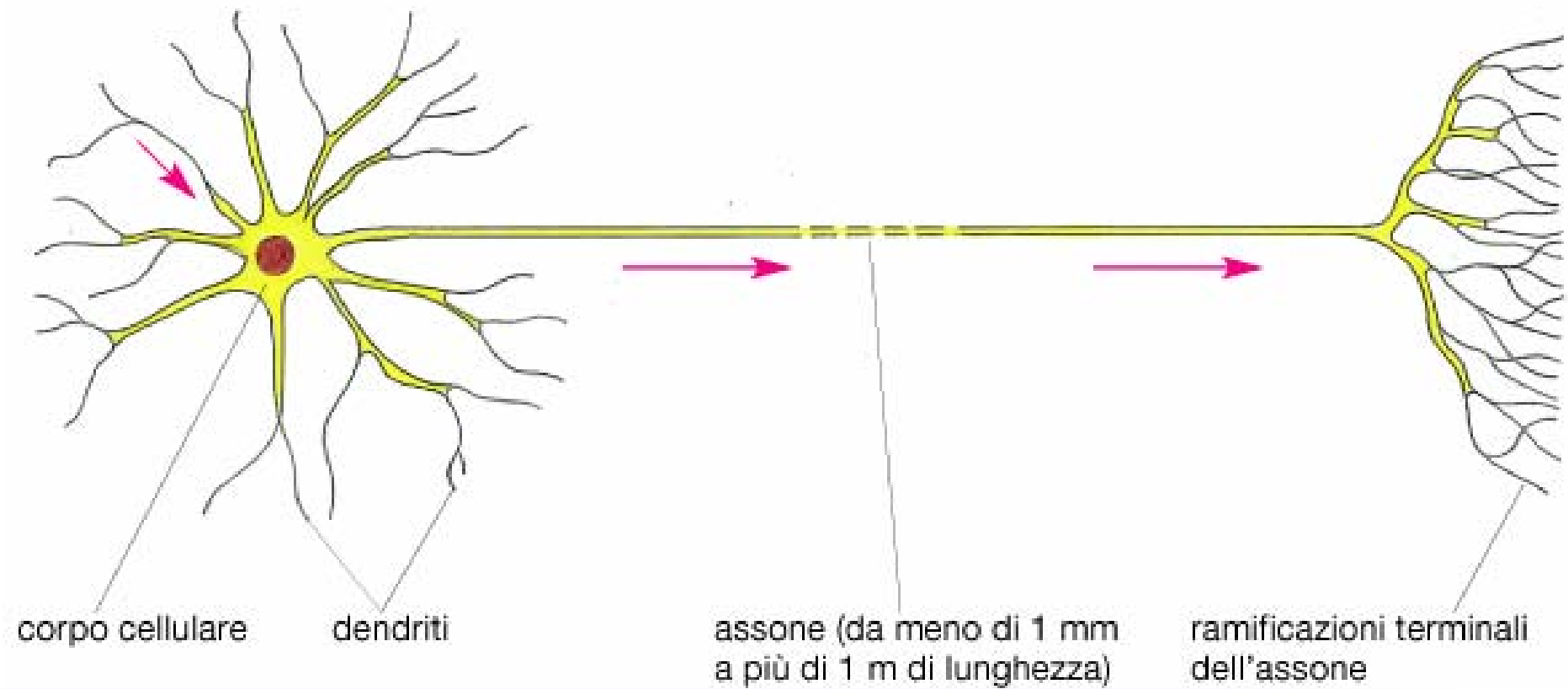


(B) ione nel filtro di selettività





Il compito fondamentale di un **neurone**, o cellula nervosa, è quello di ricevere, condurre e trasmettere segnali



- ✓ La comunicazione avviene perché un *disturbo elettrico* prodotto in un punto della cellula diffonde ad altre parti
- ✓ Un tale disturbo **diventa più debole** con l'aumentare della distanza dalla sua fonte, a meno che non venga spesa **energia** per amplificarlo mentre viaggia

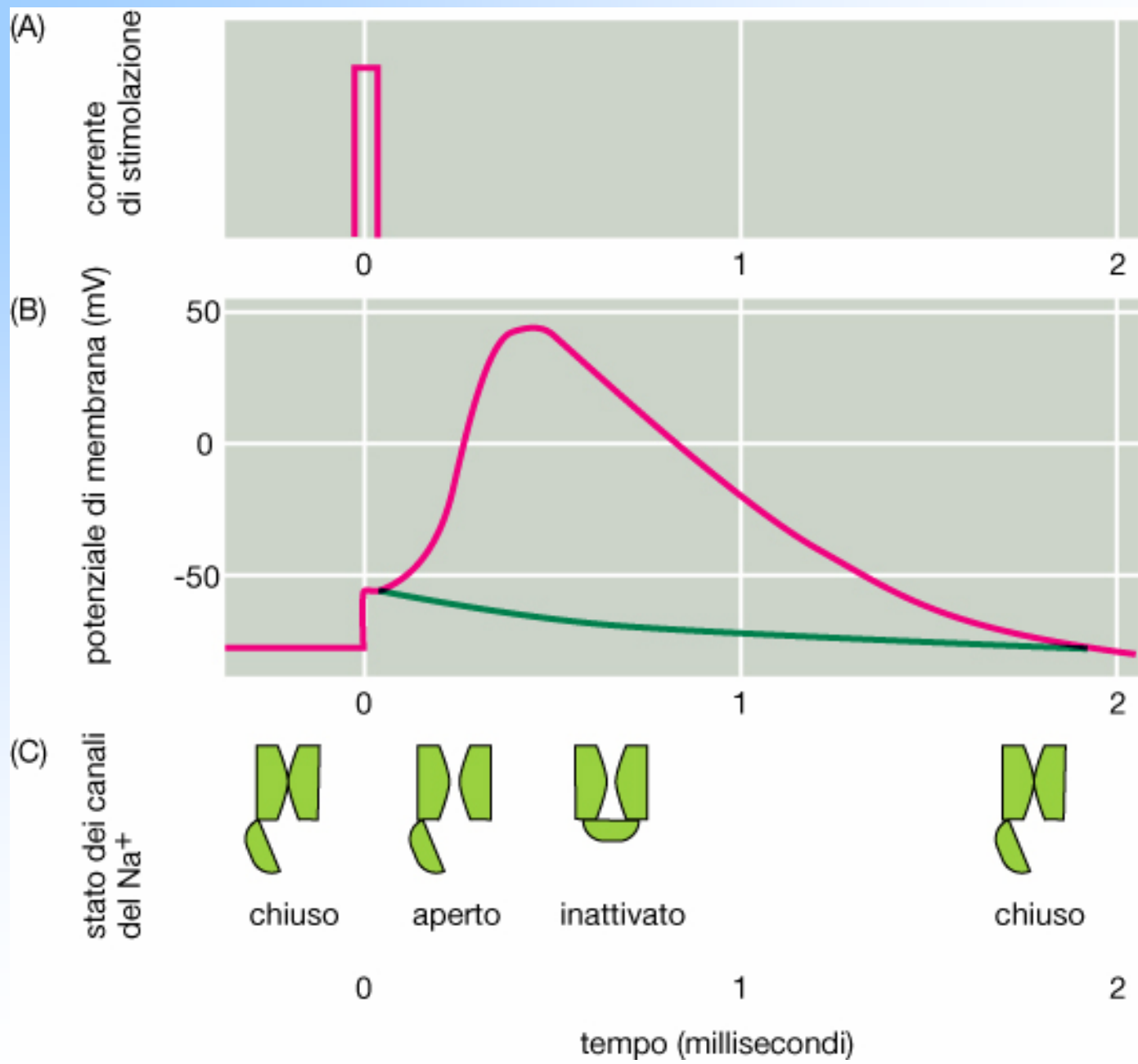
- Nel neurone classico uno *stimolo* che supera una certa soglia scatena un'esplosione di attività elettrica lungo la membrana plasmatica, sostenuta da una **amplificazione automatica**
- Questa onda viaggiante di eccitazione elettrica, nota come **potenziale di azione**, o **impulso nervoso**, può portare un messaggio senza attenuazioni per tutto l'assone alla velocità di 100 m/s

- ✓ I **canali cationici regolati dal voltaggio** sono responsabili del potenziale d'azione che è scatenato da una depolarizzazione della membrana (neuroni, cell. muscolari, cell. endocrine e uova)
- ✓ Nelle cellule nervose e del muscolo scheletrico, **uno stimolo** che determina una depolarizzazione **sufficiente** causa prontamente l'apertura dei **canali del Na⁺ regolati dal voltaggio**, lasciando entrare Na⁺ nella cellula

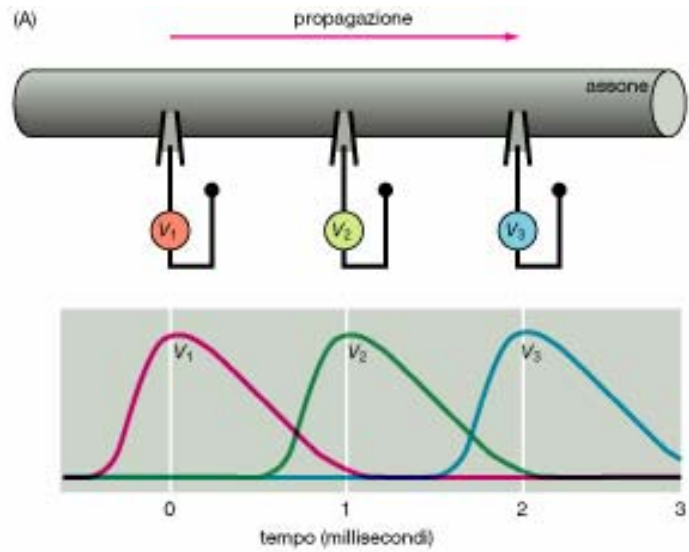
- ✓ L'influsso di Na^+ depolarizza ulteriormente la membrana aprendo altri canali del Na^+ causando ulteriore depolarizzazione
- ✓ Questo processo si **autoamplifica** finchè il potenziale elettrico in quella regione si è spostato da **-70mV** a **+50mV** (potenziale di equilibrio per il Na^+)

Due meccanismi salvano la cellula dallo spasmo:

- l'**inattivazione** spontanea dei canali del Na^+
- l'**apertura** dei canali del K^+ regolati dal voltaggio



- ✓ **Regioni confinanti della membrana passano attraverso lo stesso ciclo**
- ✓ **Il potenziale d'azione diffonde come un'onda dal sito iniziale di depolarizzazione, coinvolgendo l'intera membrana**



(B)

immagine istantanea a $t = 0$

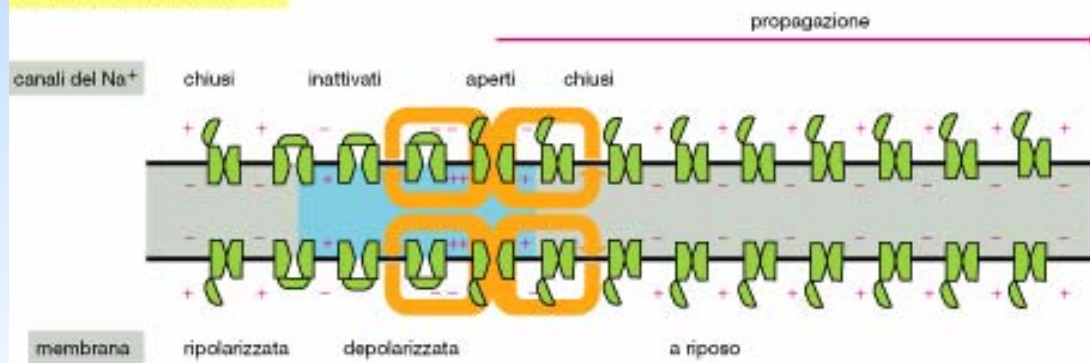
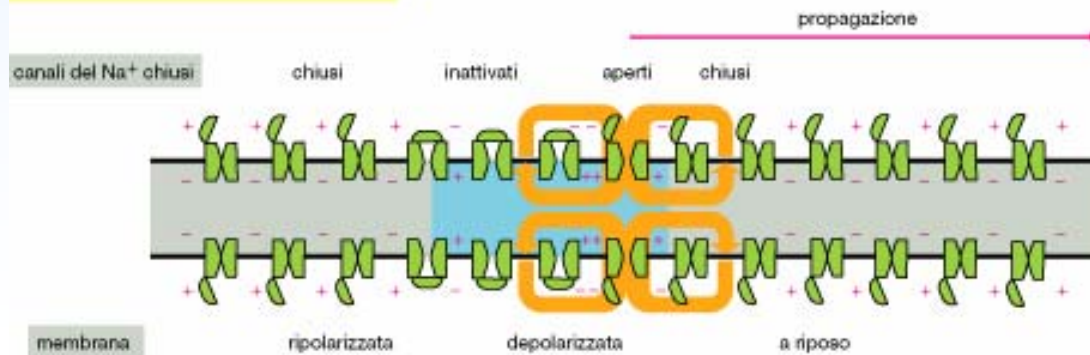
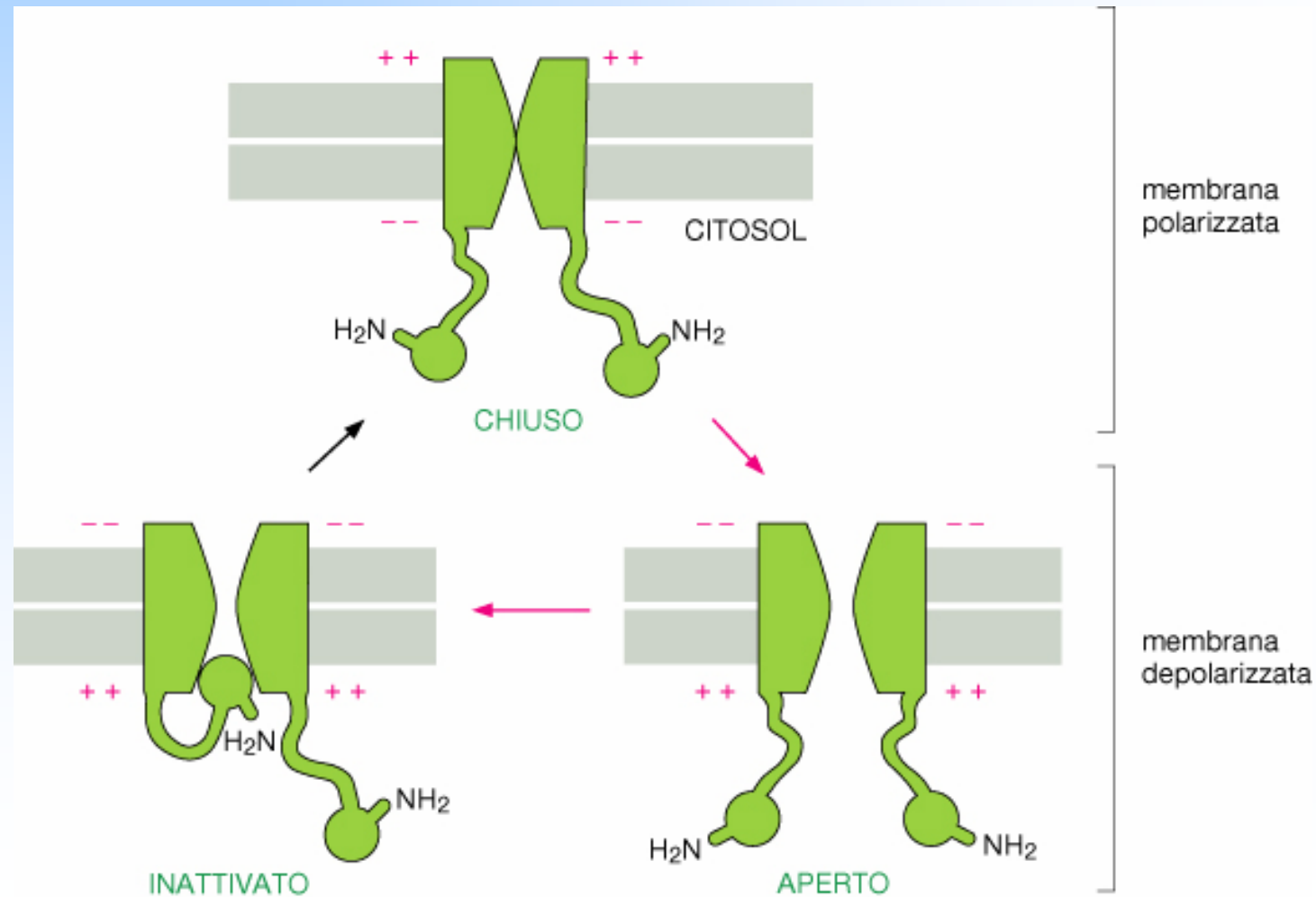


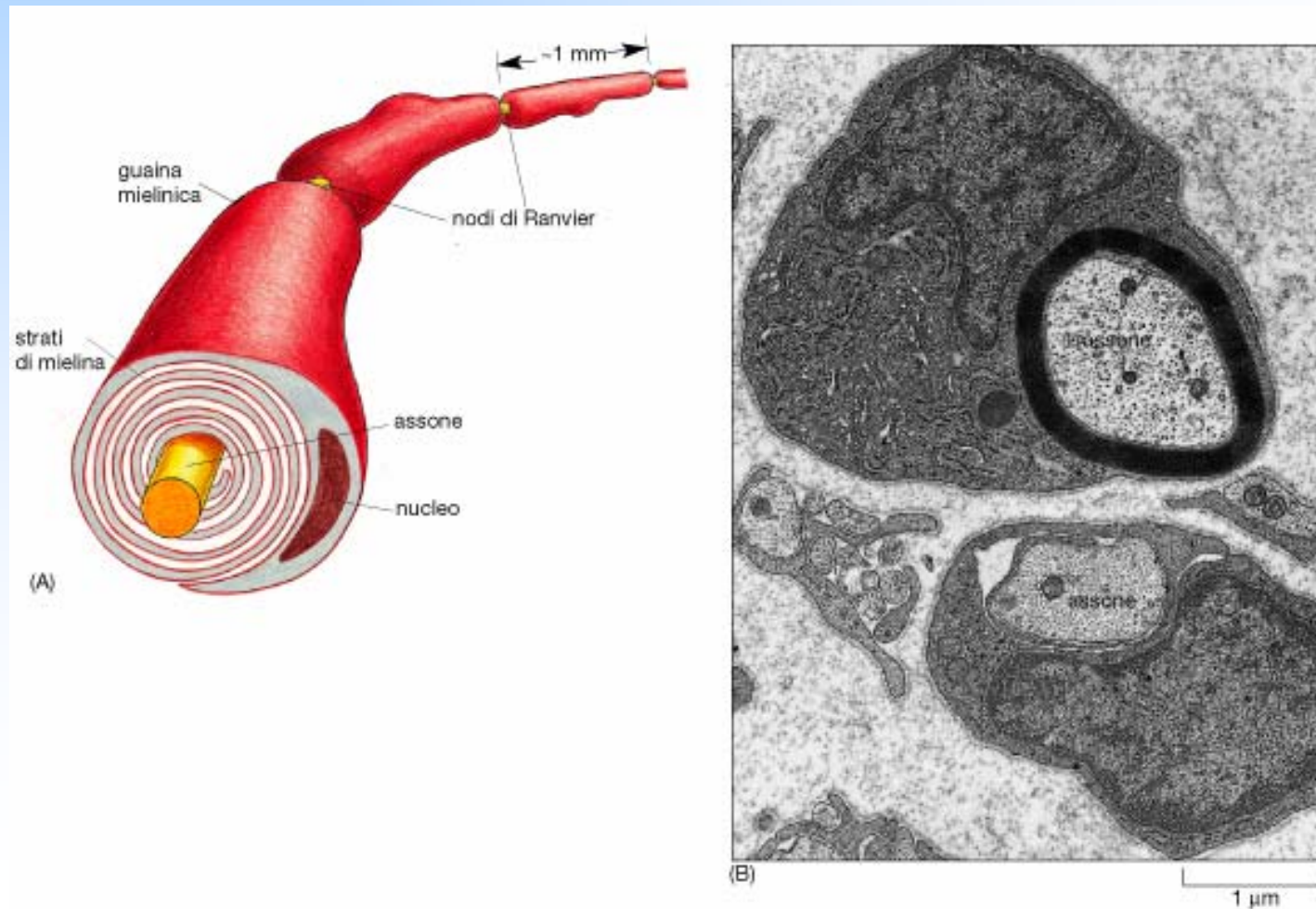
immagine istantanea a $t = 1$ millisecondo



I canali del K^+ regolati da voltaggio aiutano le cellule a riportare rapidamente la membrana al suo potenziale negativo.

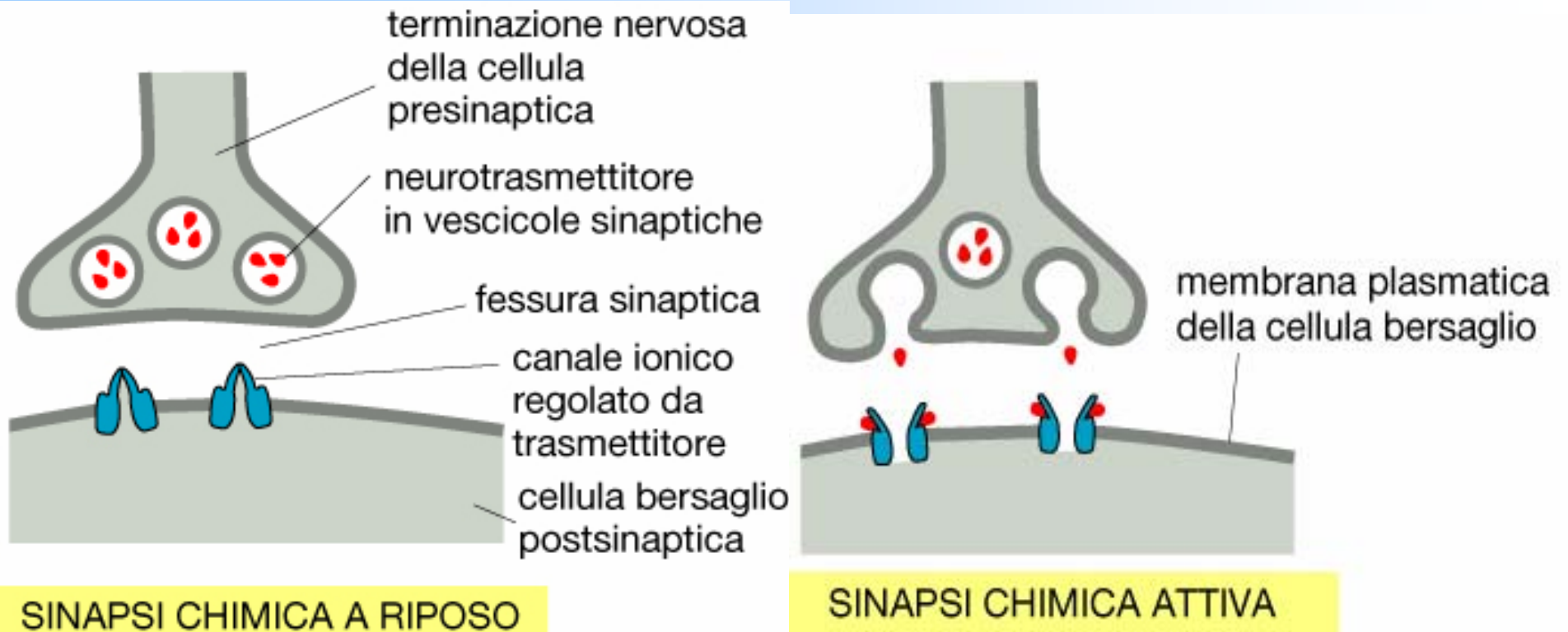


Gli assoni di molti neuroni sono isolati da una guaina di mielina, che aumenta la velocità dell'impulso nervoso



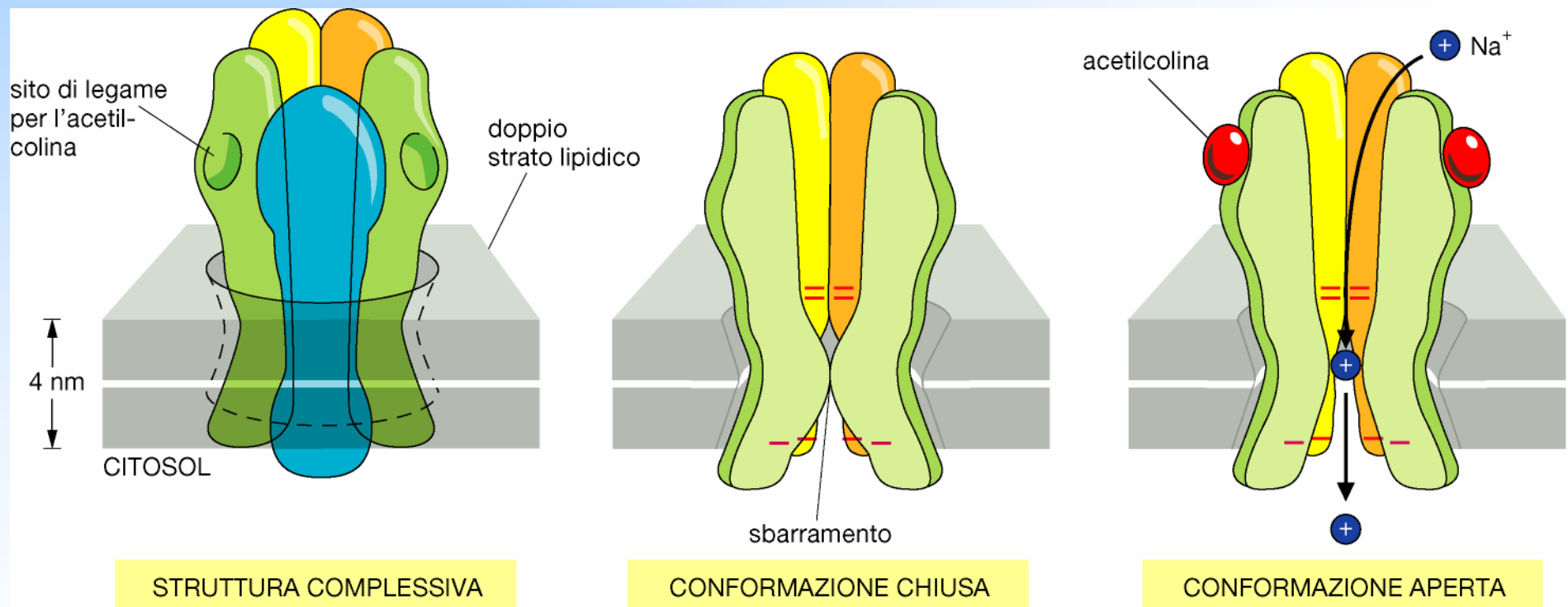
- ✓ I segnali neuronali sono trasmessi da cellula a cellula in siti specializzati di contatto: le **sinapsi**. Il meccanismo è indiretto
- ✓ Le cellule sono **isolate elettricamente** e la cellula presinaptica è separata dalla postsinaptica da una stretta **fessura sinaptica**
- ✓ Un cambiamento di potenziale elettrico nella cellula presinaptica scatena il rilascio di piccole molecole segnale i **neurotrasmettitori**, che sono conservati in vescicole racchiuse da membrana e rilasciate per esocitosi

- ✓ Il neurotrasmettitore diffonde rapidamente attraverso la fessura sinaptica e provoca cambiamento elettrico nella cellula postsinaptica legandosi a **canali ionici regolati da trasmettitore**
- ✓ Questi convertono **segnali chimici in segnali elettrici**
- ✓ Producono cambiamenti locali di permeabilità e quindi di **potenziale di membrana**



Sito di legame per il neurotrasmettitore altamente selettivo

Il più studiato è il recettore dell'acetilcolina delle cellule muscolari scheletriche



✓ I neurotrasmettitori possono essere **eccitatori**, se aprono i canali del Na^+ o **inibitori** se aprono i canali del Cl^- o del K^+

□ Eccitatori:

- acetilcolina
- glutammato
- serotonina

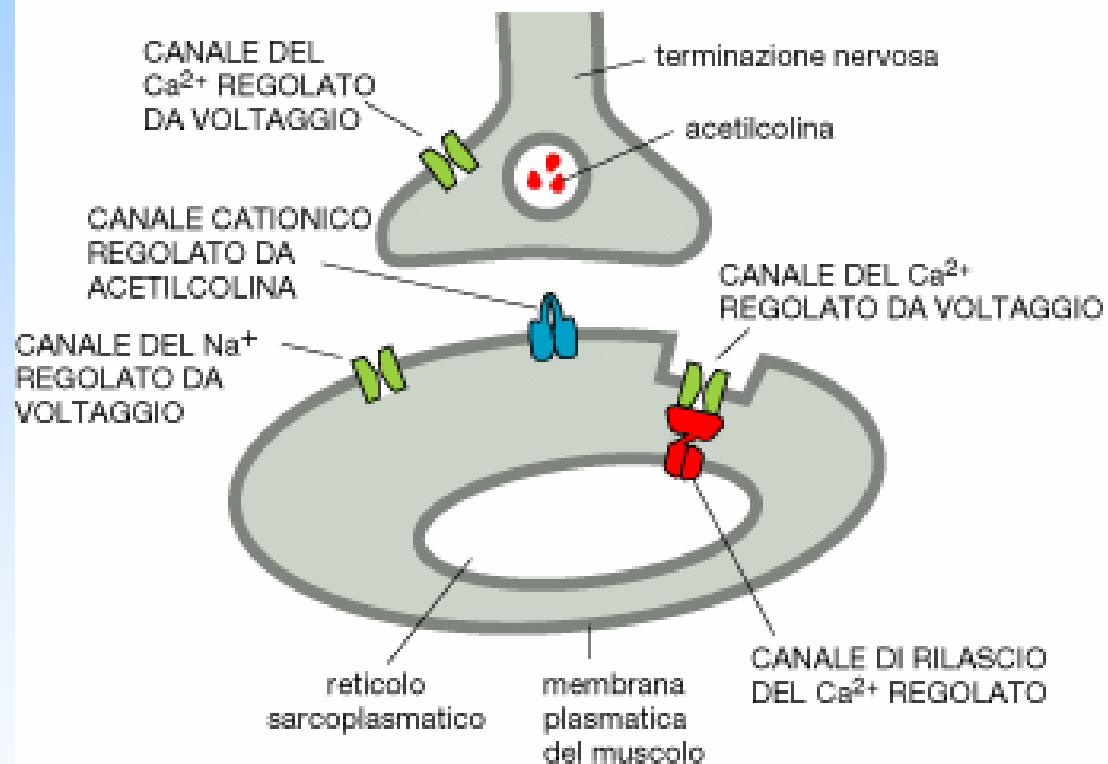
□ Inibitori:

- acido gamma-aminobutirrico (GABA)
- glicina

Molti farmaci hanno come bersaglio i canali attivati da ligando:

- *curaro*, che blocca i recettori dell'acetilcolina sulle cellule muscolari scheletriche
- *barbiturici e tranquillanti* (Valium e Librium), che si legano ai recettori del GABA, potenziandone l'effetto inibitore (ansia, depressione, insonnia e schizofrenia)

GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE A RIPOSO



GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE ATTIVATA

