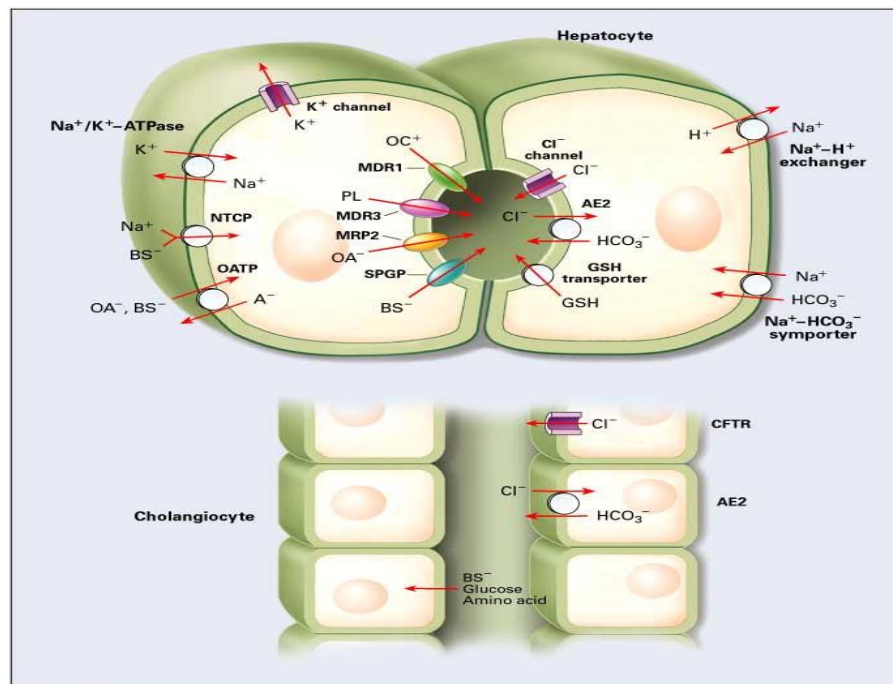




UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI

CORSO DI LAUREA IN INFERMIERISTICA



ANATOMIA e FISIOLOGIA

FISIOLOGIA APPLICATA

JB Lobreglio

*U.O.C. PATOLOGIA CLINICA
ASL LECCE P.O. "VITO FAZZI"*

Scambi attraverso le membrane: omeostasi e sistemi di trasporto

- **PROCESSI PASSIVI**

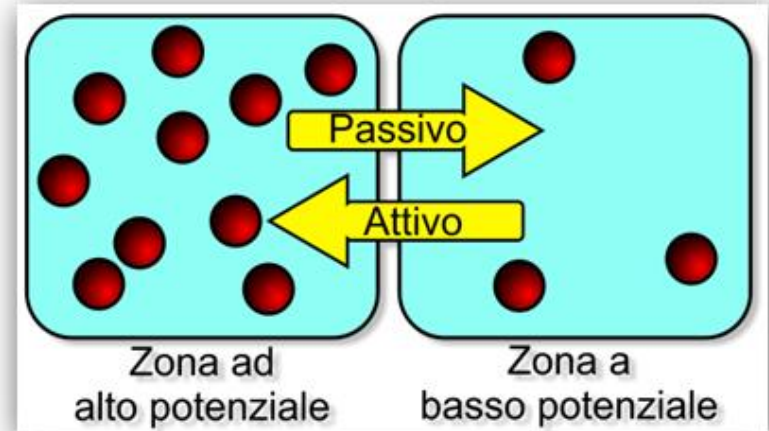
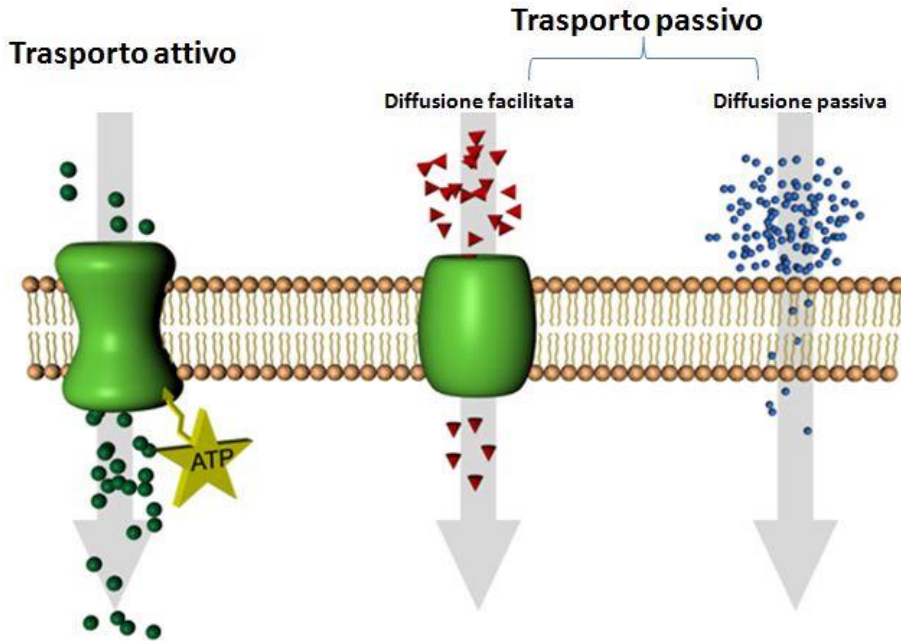
- Il trasporto passivo di molecole attraverso una barriera che separa due compartimenti è guidato dalle sole forze chimiche (differenza di concentrazione) ed eventualmente elettriche e tende a portare la molecola interessata verso una situazione di equilibrio:

- $\Delta G_c = R \times T \times [\log (C_1) - \log (C_2)]$; $\Delta G_e = (V_2 - V_1) \times z \times F$

- **TRASPORTI ATTIVI**

- Sono basati su meccanismi che accoppiano il trasferimento di molecole contro differenza di concentrazione o di potenziale elettrochimico , con altre reazioni biochimiche o con il contemporaneo trasferimento di altre molecole verso il loro equilibrio; il processo accoppiato fornisce l'energia necessaria per trasportare la molecola di interesse in salita rispetto al gradiente elettrochimico

Scambi attraverso le membrane: omeostasi e sistemi di trasporto



Processi passivi

• DIFFUSIONE

– La cinetica del processo di diffusione è determinata dalle caratteristiche geometriche della barriera e dalla capacità della molecola di muoversi attraverso la barriera:

- Quanto maggiore è la superficie di membrana della barriera, tanto più è probabile che la molecola la attraversi
- Quanto più spessa è la barriera, tanto più tempo ci vorrà ad attraversarla
- Quanto più facilmente la molecola si muove nella barriera, tanto più rapida sarà la diffusione
- Il flusso diffusivo è proporzionale alla concentrazione della molecola nel compartimento di partenza, alle proprietà chimico-fisiche della barriera (viscosità) e della molecola, secondo la legge di Fick:

$$J = A/s \cdot D \cdot (C1 - C2)$$

A = Area e s = spessore della membrana; D = Coefficiente di diffusione; C1 e C2 = concentrazioni nei due compartimenti

• DIFFUSIONE REGOLATA

– Il flusso di molecole avviene attraverso canali ionici di membrana ed è regolato da interazioni con il campo elettrico o ligandi extra- o intra-cellulari e modulato da interazioni con secondi messaggeri e proteine

• DIFFUSIONE FACILITATA

– La penetrazione di una sostanza nella cellula è consentita selettivamente da una proteina che è in grado di legarla e liberarla, esponendo il sito di legame alternativamente sui due lati della membrana; il flusso netto di substrato dipende dalla differenza di concentrazione sui due lati

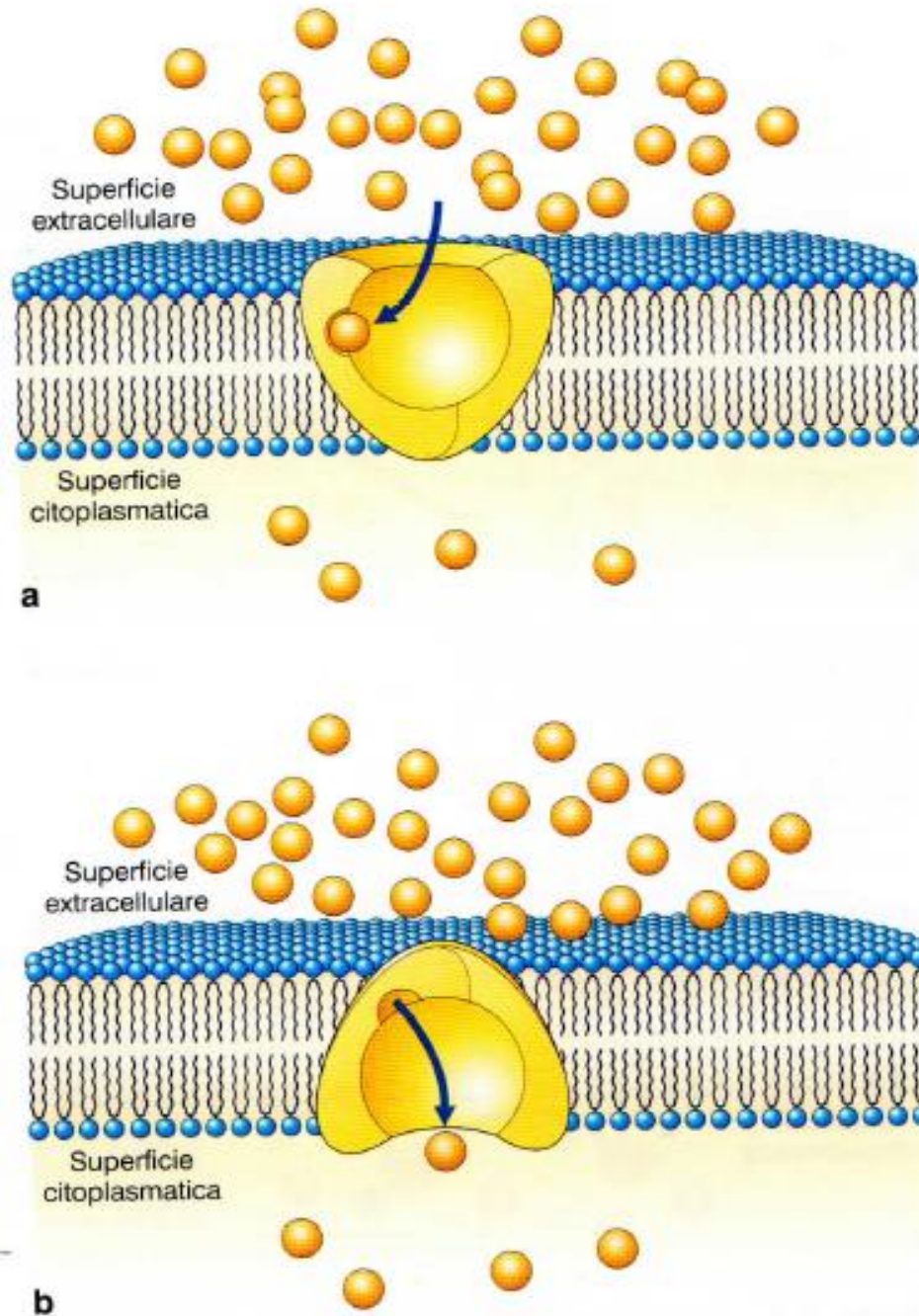
TRASPORTO PASSIVO FACILITATO

Il trasportatore espone alternativamente il sito di legame all'esterno (a) e all'interno (b). Il substrato tende a legarsi sul lato dove è più concentrato e ad essere liberato dove lo è meno

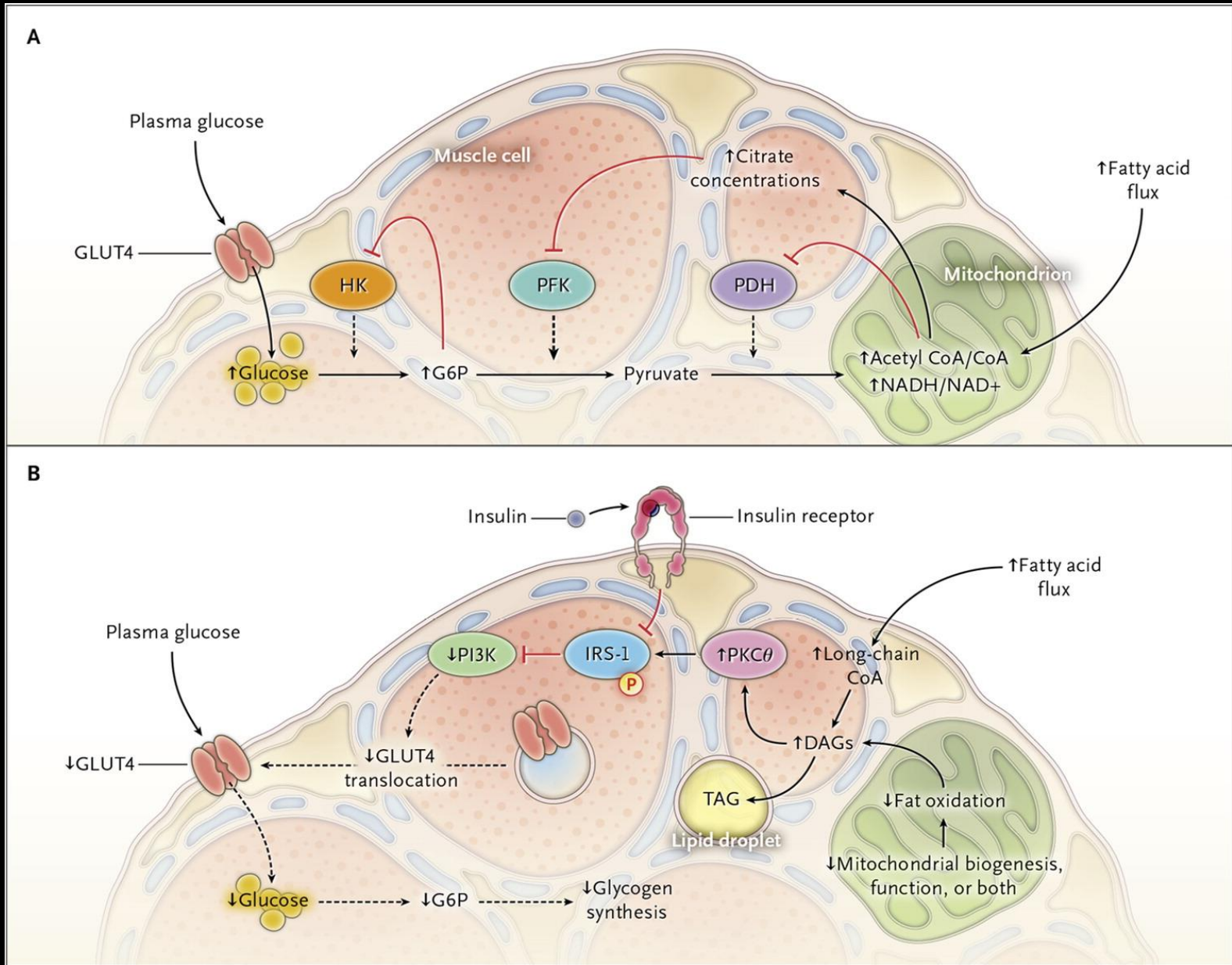
I sistemi di trasporto facilitato più importanti sono costituiti dalla famiglia di trasportatori di glucosio (GLUT1 – GLUT 12) espressi da tutte le cellule; i GLUT permettono il continuo flusso di glucosio verso l'interno cellulare, dove viene utilizzato per esigenze energetiche e metaboliche; nelle cellule epiteliali di intestino e rene che assorbono attivamente il glucosio dal polo apicale, il trasportatore GLUT sulla membrana basolaterale permette il deflusso di glucosio dalla cellula verso l'interstizio.

GLUT4, espresso dalle fibre muscolari striate e da adipociti, viene finemente regolato dall'insulina e facilita l'accumulo di glucosio in queste cellule quando il livello di glucosio nel plasma è elevato

GLUT2, a bassa affinità ma grande portata, è espresso dagli epatociti e dalle cellule beta delle isole pancreatiche e contribuisce da un lato all'accumulo di glucosio come glicogeno negli epatociti, dall'altro alla regolazione della liberazione di insulina.



Molecular Mechanisms of Lipid-Induced Insulin Resistance in Muscle.



Processi attivi

• TRASPORTO PRIMARIO

- Viene mediato da proteine trasportatrici di membrana, dette pompe, dotate anche di attività enzimatica con cui catalizzano l'idrolisi dell'ATP; l'energia liberata consente la variazione dell'affinità di legame per il substrato ed il trasporto contro gradiente; i principali tipi di pompa di membrana sono:
 - **Le ATPasi protoniche** che trasportano idrogenioni dal citosol al liquido extracellulare o nel lume di organuli cellulari (importanti nel tubulo renale per eliminare equivalenti acidi e contribuire al controllo del pH dell'organismo, nelle cellule della parete gastrica per secernere acido cloridrico, nella membrana dei lisosomi per abbassare il pH ed attivare gli enzimi idrolitici ivi contenuti, nelle vescicole dei neuroni per immagazzinare i neurotrasmettitori); tali pompe possono funzionare al contrario (membrane mitocondriali interne): disperdendo i gradienti di protoni prodotti dall'attività respiratoria, generano ATP
 - **Le ATPasi per il calcio**, collocate sulla membrana plasmatica (*plasma membrane calcium ATPase*, PMCA) o del reticolo endoplasmatico e sarcoplasmatico (*sarcoplasmic-endoplasmic reticulum calcium ATPase*, SERCA); hanno la funzione di mantenere basso il livello di calcio citosolico e di caricare di ioni calcio il reticolo, in modo che possano essere liberati in risposta all'attivazione di specifici canali
 - **La ATPasi Na⁺/K⁺-dipendente**, o pompa sodio potassio, espressa ubiquitariamente e responsabile dello squilibrio ionico tra citosol e liquido extracellulare e della generazione del potenziale di membrana; la pompa scambia tre ioni sodio con due di potassio a ogni ciclo, comportando uscita di sodio dalla cellula ed entrata di

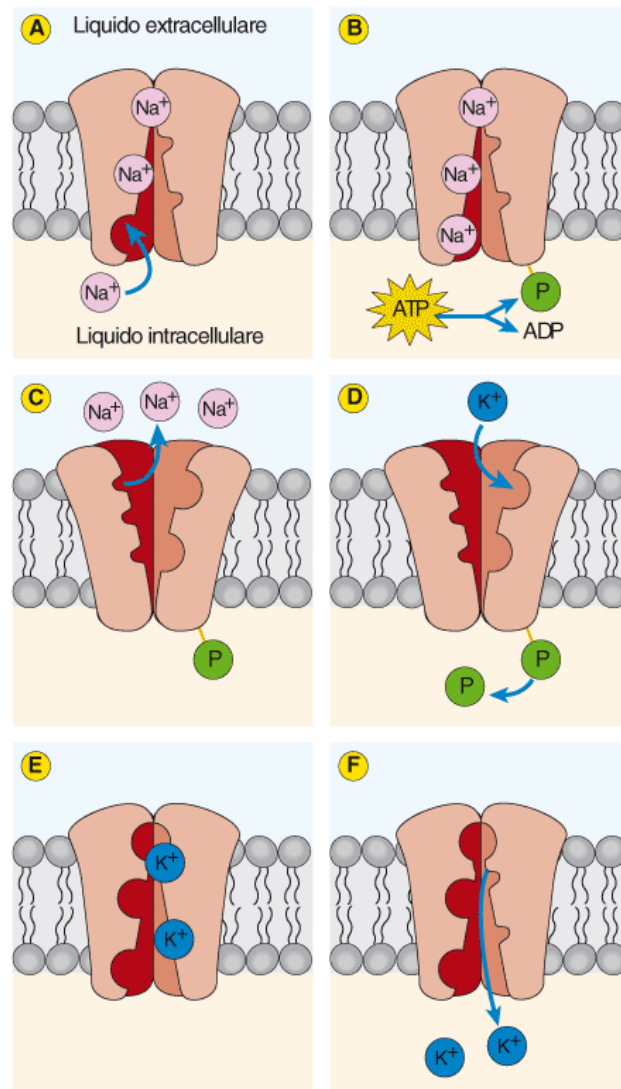
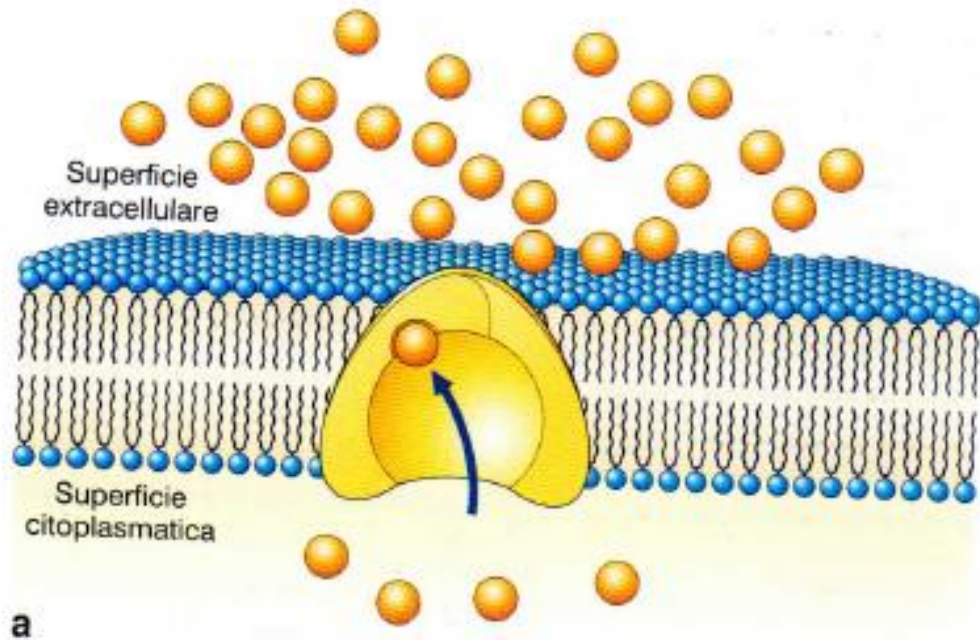
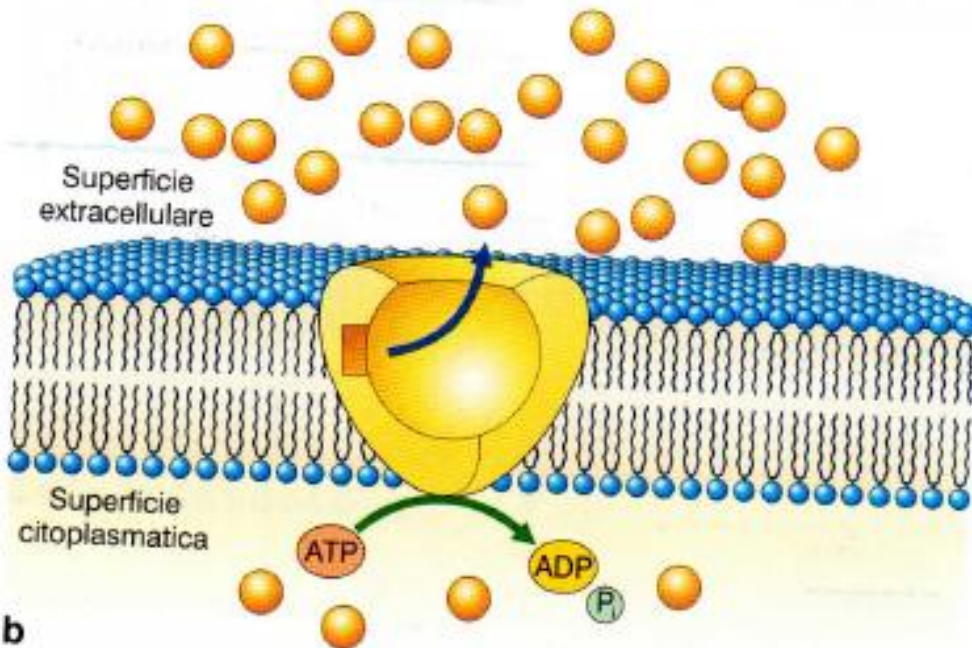


Figura 3.9 Meccanismo di funzionamento della Na⁺/K⁺-ATPasi. La pompa **(A)** lega tre ioni sodio sul lato extracellulare, **(B)** viene attivata dall'idrolisi dell'ATP intracellulare, **(C)** cambia conformazione rilasciando gli ioni sodio all'esterno della cellula e **(D)** rilasciando il fosfato P lega due ioni potassio all'esterno della cellula, **(E)** cambia di nuovo conformazione **(F)** rilasciando i due ioni potassio all'interno della cellula.



TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO

a) La pompa carica il substrato (ioni idrogeno o calcio, nonostante la bassa concentrazione, grazie all'alta affinità;



b) L'idrolisi dell'ATP libera energia che produce il cambiamento di conformazione con riduzione dell'affinità per il substrato e sua liberazione, nonostante l'alta concentrazione

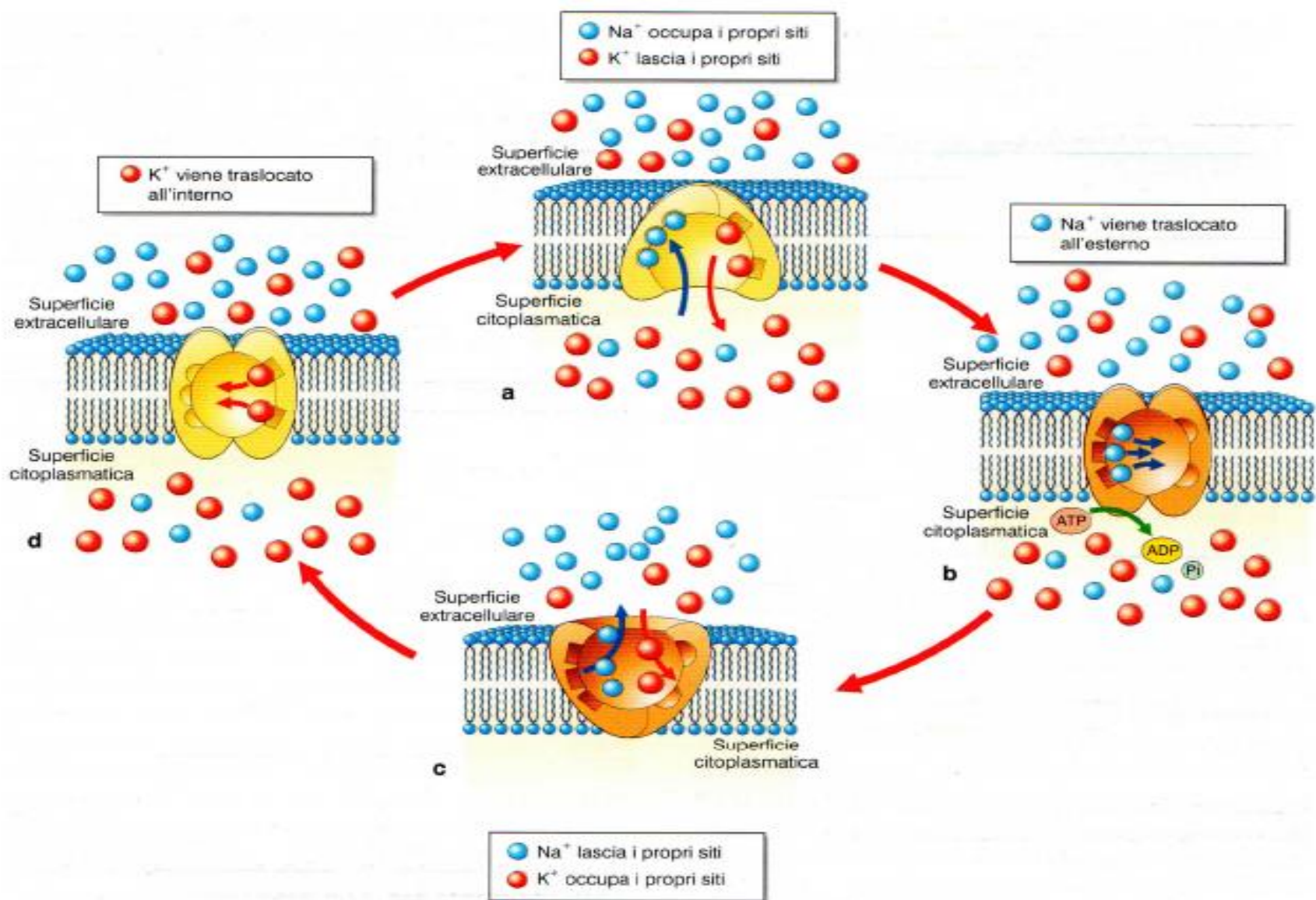


Figura 2.6 Rappresentazione schematica del trasporto attivo primario (pompa): ATPasi Na⁺/K⁺-dipendente. **a**, Scambio intracellulare: la pompa carica sodio (Na⁺) (nonostante la bassa concentrazione, grazie all'alta affinità) e libera potassio (K⁺) (bassa affinità). **b**, Idrolisi di adenosin-trifosfato (ATP): parte dell'energia è usata per ridurre l'affinità per Na⁺, parte resta disponibile. Aumenta l'affinità per K⁺. **c**, Scambio extracellulare: la pompa libera Na⁺ (nonostante l'alta concentrazione, grazie alla bassa affinità) e carica K⁺ (alta affinità). **d**, Ritorno a riposo: la pompa ritorna a riposo, l'energia è usata per ridurre l'affinità per K⁺. L'affinità per Na⁺ torna alta. K⁺ viene traslocato all'interno. La colorazione più scura in **b** e **c** indica che la proteina è in uno stato energetico più elevato: non ha ancora utilizzato tutta l'energia accumulata grazie all'idrolisi dell'ATP.

Processi attivi

• TRASPORTO SECONDARIO

- Lo spostamento di una sostanza contro gradiente elettrochimico viene accoppiato con il trasporto di una sostanza che invece si muove secondo gradiente; si parla di *simporto* se le sostanze si muovono nella stessa direzione e di *antiporto* se si muovono in direzione opposta (in questo caso la proteina è detta scambiatore)
- **SIMPORTI**. Sono espressi da tutte le cellule e permettono l'assunzione di sostanze essenziali (glucosio, aminoacidi) che, essendo idrofile, non possono attraversare le membrane cellulari ed il controllo delle concentrazioni ioniche intracellulari e dei protoni; i principali simporti comprendono:
 - *Trasportatori di glucosio SGLT1 e SGLT2* espressi su cellule dell'epitelio intestinale e del tubulo renale (inibitori: dapaglifozin, canaglifozin, empaglifozin)
 - *Trasportatori per aminoacidi a relativa specificità* presenti ubiquitariamente e particolarmente espressi a livello dell'epitelio intestinale e tubulare renale
 - *I neurotrasportatori*, capaci di captare selettivamente contro gradiente i piccoli neurotrasmettitori di tipo aminico e aminoacidico (acido gamma-aminobutirrico, dopamina, noradrenalina, serotonina, glicina, colina; questi neurotrasmettitori sono bersagli selettivi di farmaci antiepilettici ed antidrepressivi e di droghe d'abuso (cocaina)
 - *Cotrasporti ionici*, regolano la concentrazione intracellulare di cloro ed il volume intracellulare, sfruttando il gradiente di sodio e/o potassio creato dalla pompa sodio-potassio

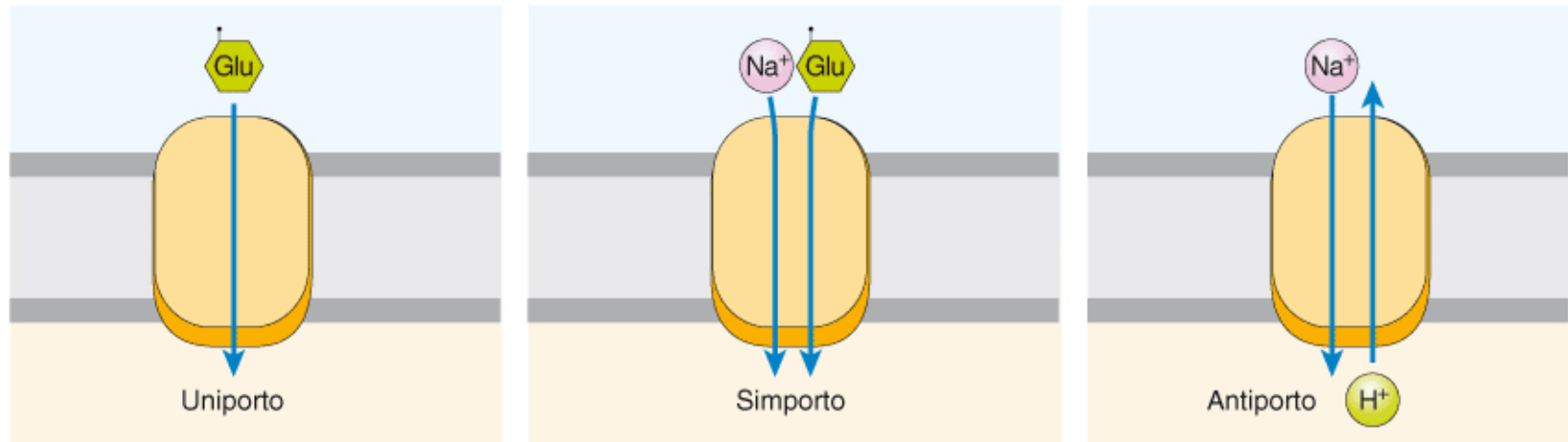
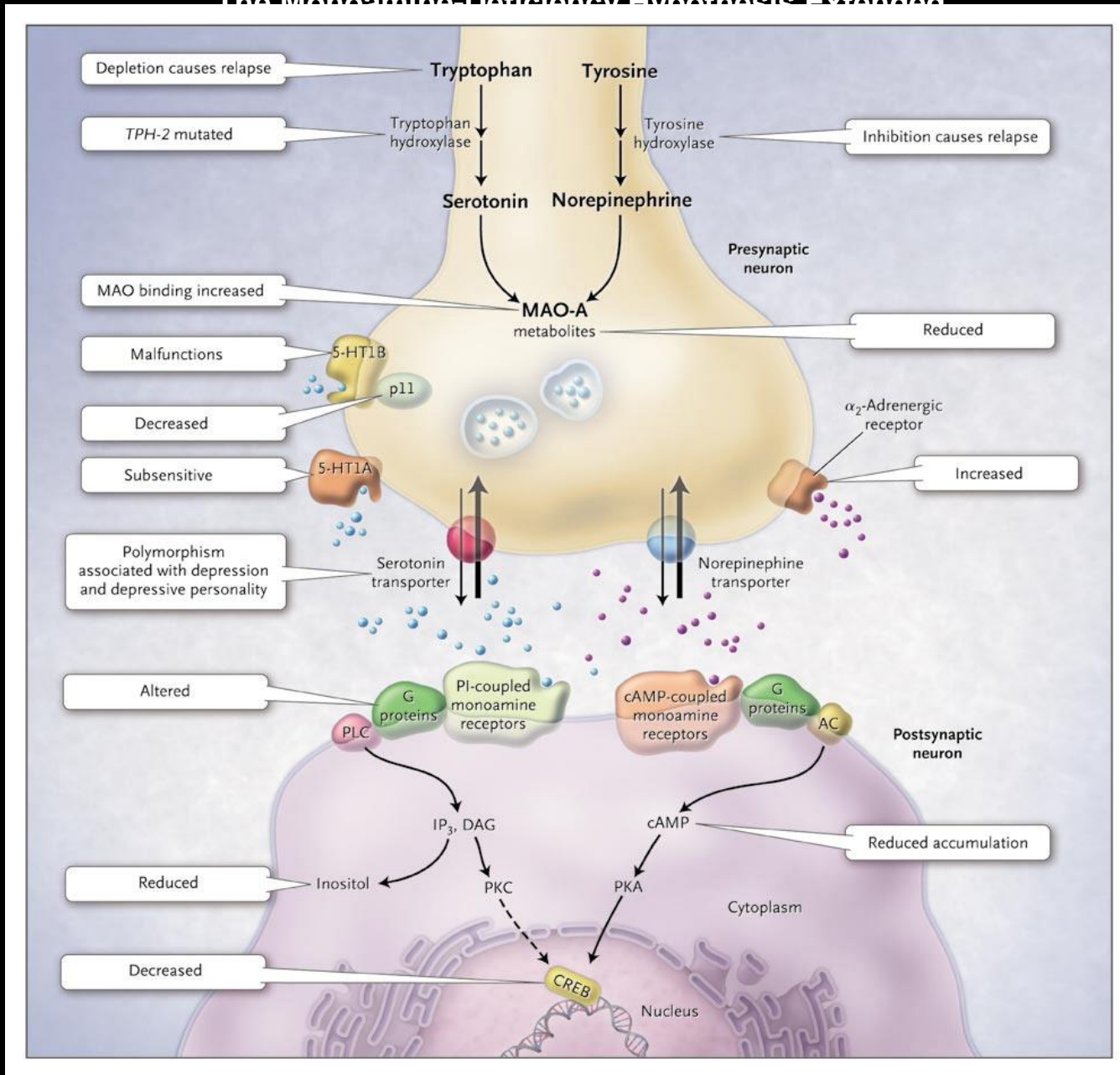


Figura 3.11 Tipi di proteine carrier che attuano una diffusione facilitata (a sinistra), un trasporto attivo secondario di un soluto insieme con un altro (al centro) e un trasporto attivo secondario di un soluto in una direzione e di un altro nella direzione opposta (a destra).

The Monoamine Deficiency Hypothesis Extended



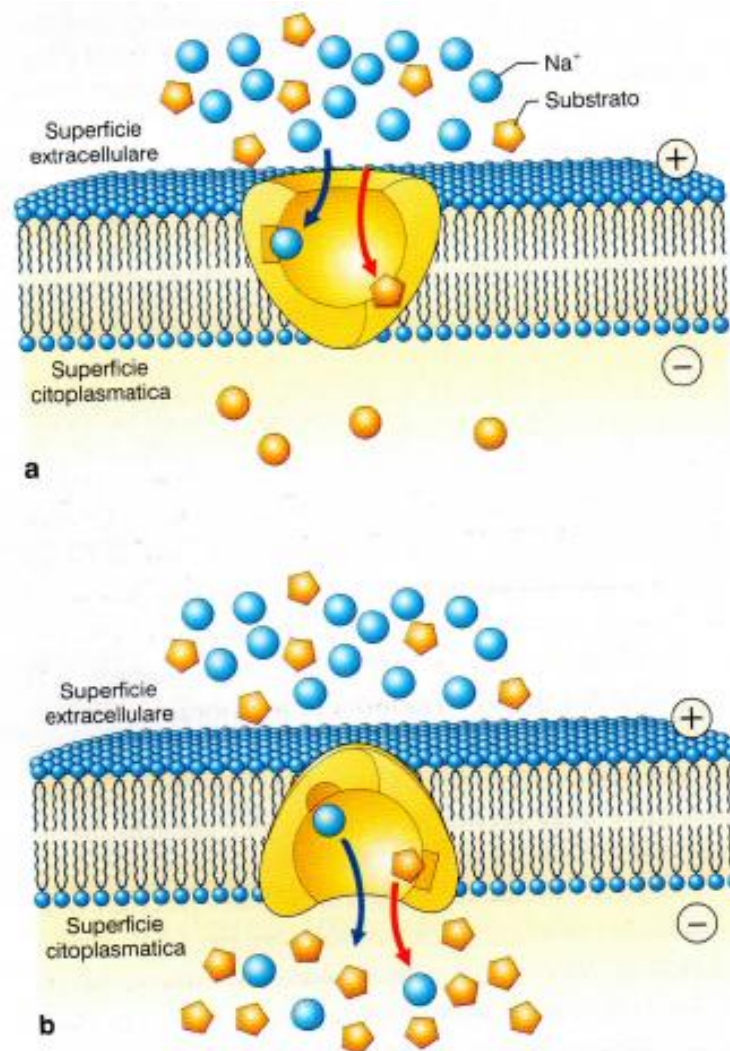


Figura 2.8 Rappresentazione schematica del trasporto attivo secondario (simporto): caricamento extracellulare. **a**, Gli ioni sodio (Na^+) e il substrato si legano al trasportatore: affinità elevata per il substrato. **b**, Traslocazione: il cambiamento di conformazione si accompagna a riduzione dell'affinità per il substrato. L'energia deriva dal flusso di Na^+ secondo gradiente elettrochimico. Liberazione intracellulare: Na^+ si distacca e il substrato può anch'esso venire liberato nella cellula sebbene sia presente in più alta concentrazione.

Processi attivi

- **TRASPORTO SECONDARIO**

- **ANTIPORTI**. I principali sistemi di cotrasporto in direzione opposta sono lo scambiatore $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ e gli scambiatori protonici;

- **Scambiatore sodio/calcio** è in grado di legare tre ioni sodio e uno ione calcio sui due lati opposti della membrana e quindi scambiare l'esposizione dei siti di legame; il ciclo è guidato dall'equilibrio elettrochimico complessivo determinato dalla concentrazione di ioni sodio extracellulari e calcio intracellulari; su tale equilibrio agisce la digitale
 - **Scambiatori sodio/protoni e cloro/bicarbonato**, sono importanti per mantenere il pH intracellulare ed il riassorbimento di bicarbonati nelle cellule epiteliali del tubulo renale prossimale: $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
 - **Neurotrasportatori vescicolari**, espressi sulle membrane delle vescicole sinaptiche, consentono di concentrare i neurotrasmettitori all'interno delle vescicole, sfruttando il gradiente di idrogenioni e la differenza di potenziale tra le vescicole ed il citosol

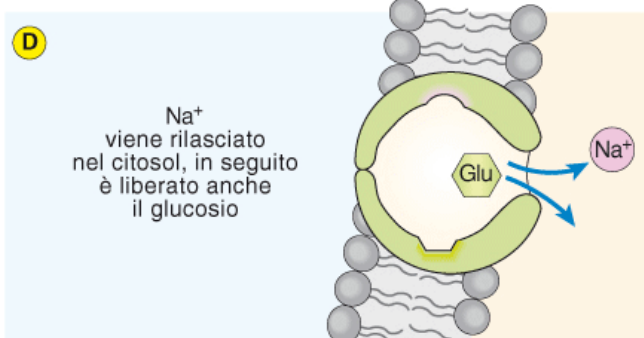
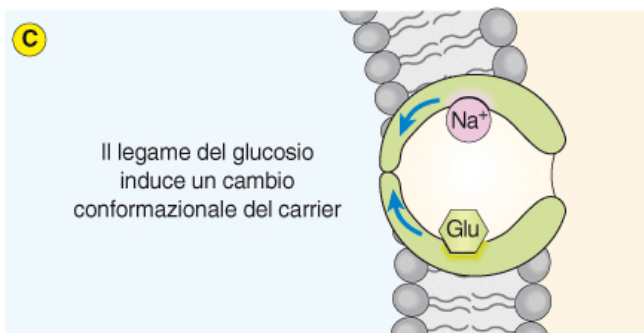
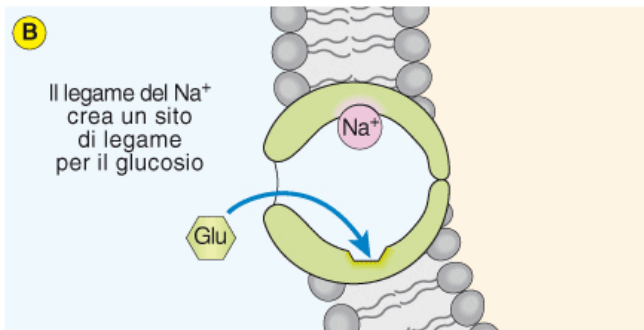
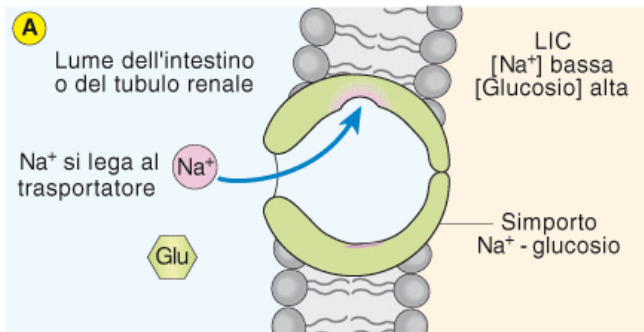
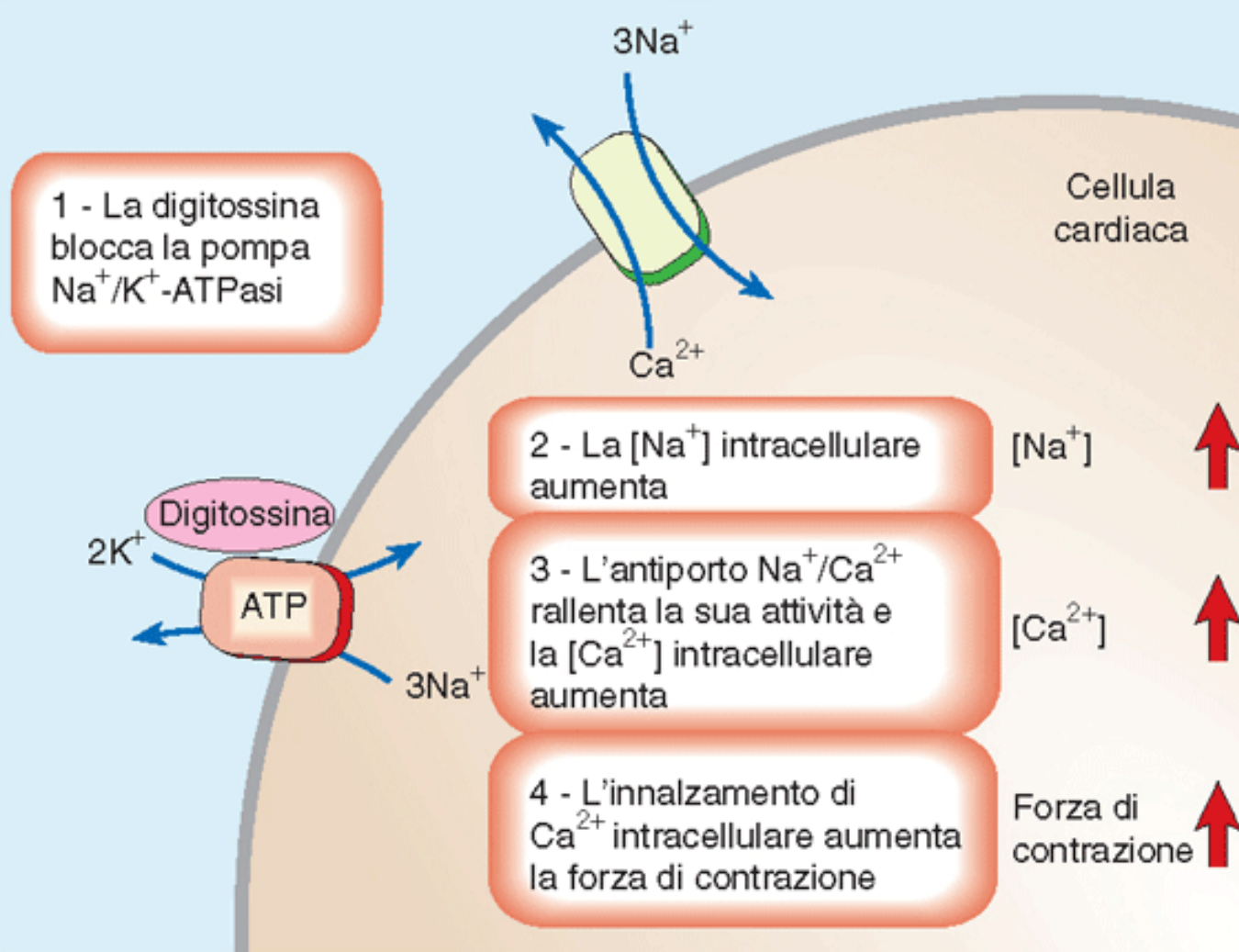
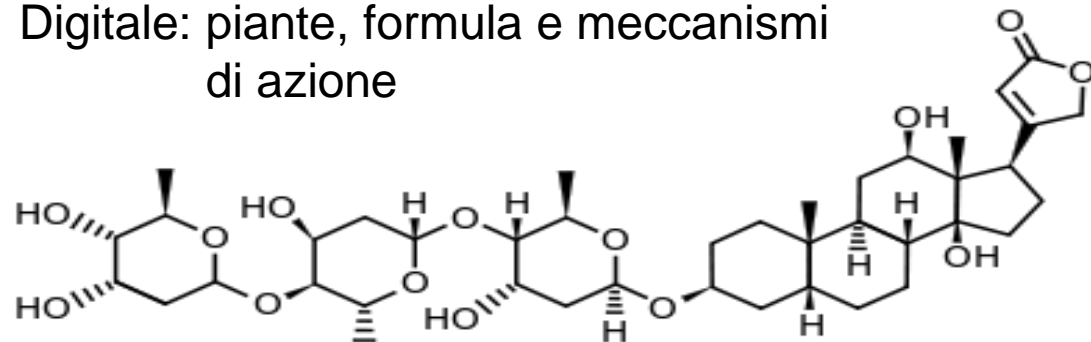
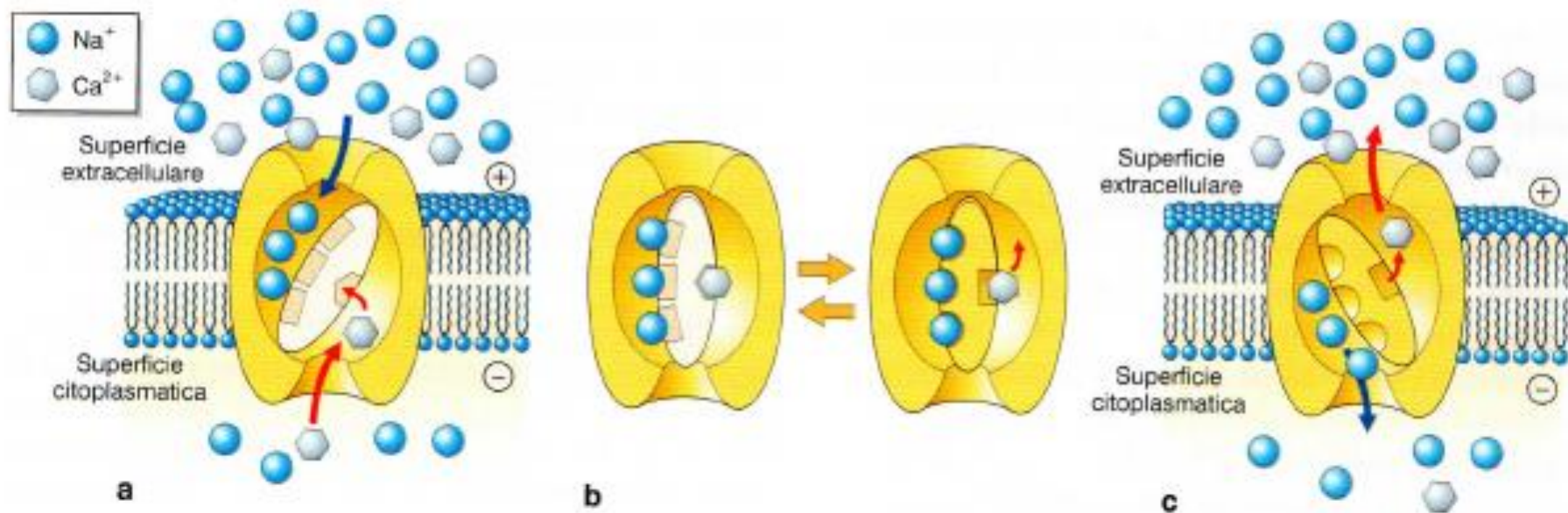


Figura 3.10 Trasporto attivo secondario attuato dal simporto sodio-glucosio: sfruttando la bassa concentrazione intracellulare del sodio creata dalla Na⁺/K⁺-ATPasi, il carrier trasporta il sodio nella cellula, ma contemporaneamente lega una molecola di glucosio che viene anch'essa trasportata nella cellula, anche contro gradiente, senza consumo diretto di energia.



Digitale: piante, formula e meccanismi di azione



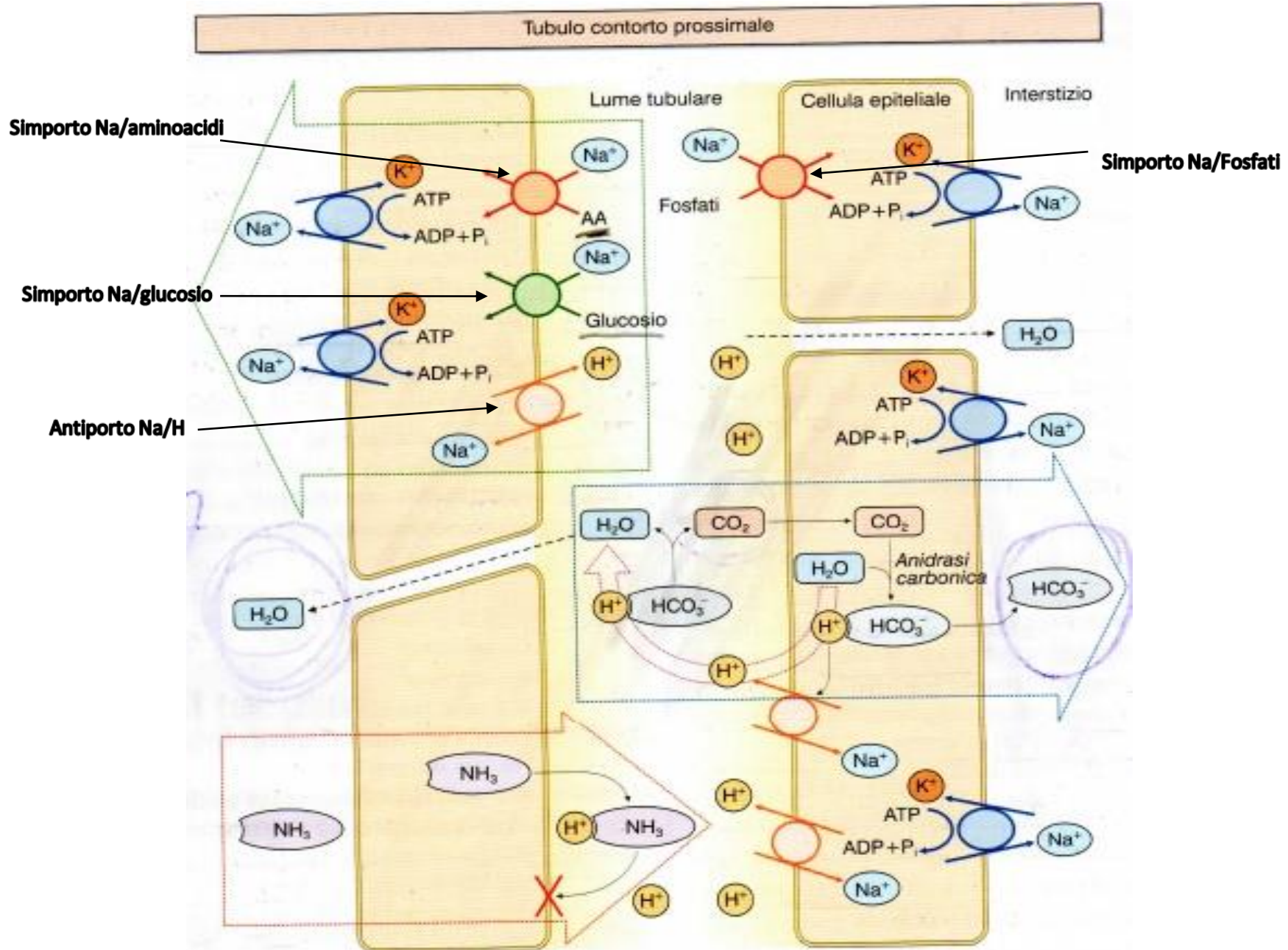


- Entrano 3 ioni Na⁺
- Entra 1 carica netta
- ← Esce 1 ione Ca²⁺

- Na⁺: da 140 a 10 mM
 $\log(10/140) = -2,6$
 equivale a $2,6 \cdot R \cdot T/F =$
 $-66 \text{ mV} \cdot 3 = -200 \text{ mV}$
- 1 carica: $V_m = -80 \text{ mV}$

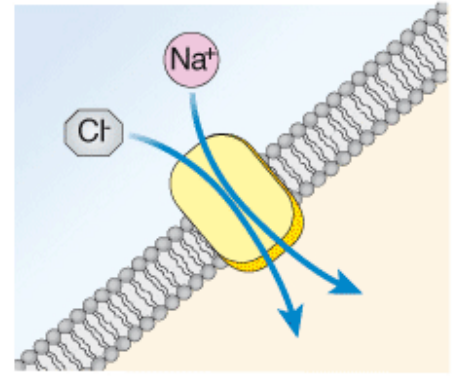
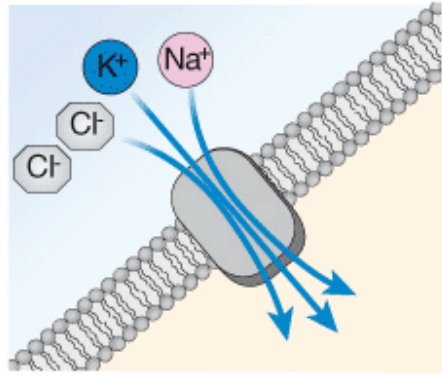
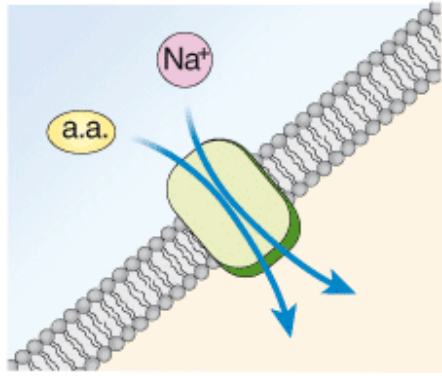
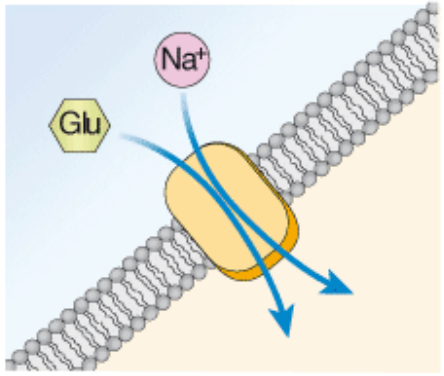
- ← Totale: equivale a -280 mV
 può spostare Ca²⁺ contro
 rapporto di concentrazione
 $e^{(280/66)} = 5 \cdot 10^4$
 da 0,1 μM a 5 mM

Figura 2.7 Rappresentazione schematica del trasporto attivo secondario (antiporto): scambiatore Na⁺/Ca²⁺. **a**, Superficie citoplasmatica: lo scambiatore ha grande affinità per il calcio (Ca²⁺) e lo carica nonostante la bassa concentrazione. Superficie extracellulare: lo scambiatore carica sodio (Na⁺) anche se l'affinità non è alta. **b**, La transizione conformazionale comporta aumento di affinità per il Na⁺ e diminuzione di affinità per il Ca²⁺. **c**, Superficie citoplasmatica: lo scambiatore libera il Na⁺, nonostante la maggiore affinità, per la bassa concentrazione intracellulare. Superficie extracellulare: lo scambiatore libera invece il Ca²⁺ per la bassa affinità.



Principali processi di trasporto a livello delle cellule del tubulo renale contorto prossimale

A Simporti Na^+ -dipendenti



B Antiporti Na^+ -dipendenti

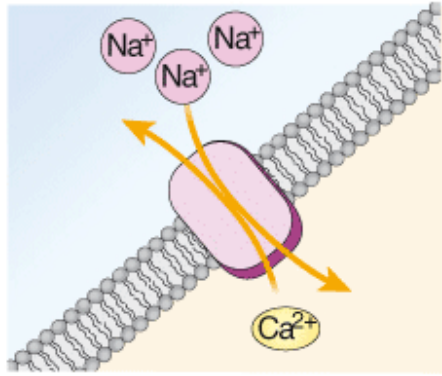
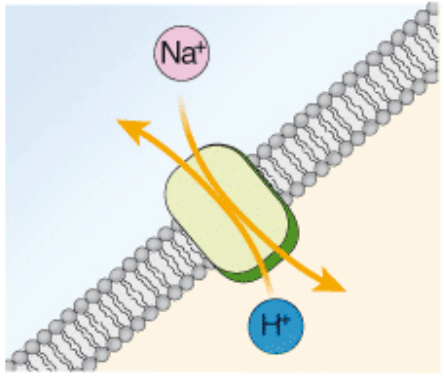
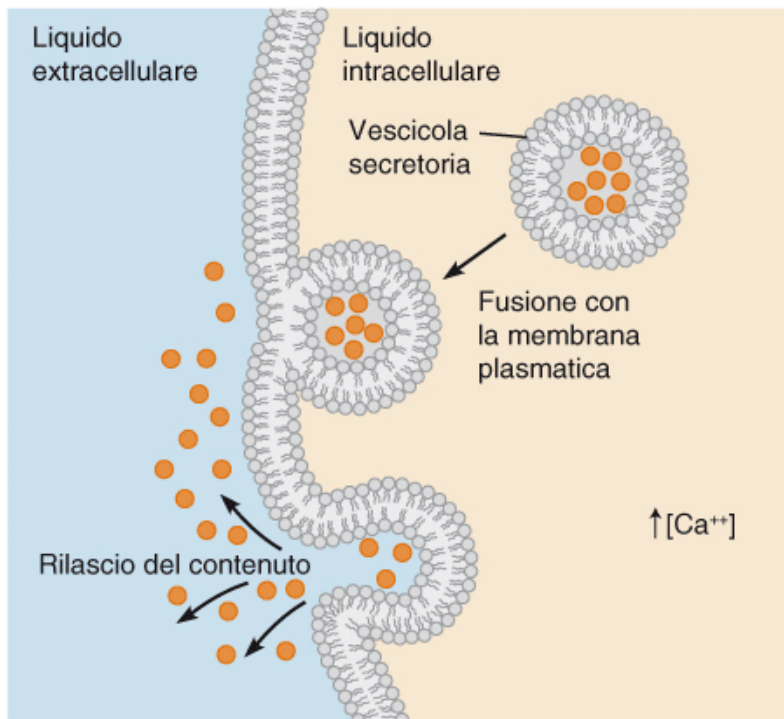


Figura 3.12 Esempi di trasporto attivo secondario di soluti accoppiato al trasporto di sodio (sodio-dipendenti). a.a., aminoacidi.

A Esocitosi



B Endocitosi

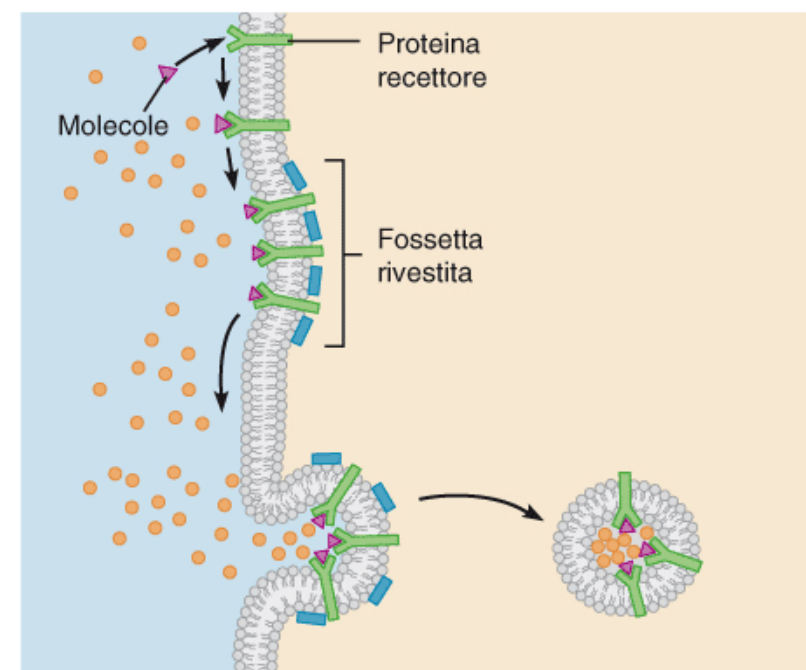


Figura 3.13

Rappresentazione schematica dei processi di trasporto di macromolecole attraverso la membrana cellulare. **(A)** Esocitosi. La molecola è contenuta in vescicole nel citoplasma; un segnale (generalmente, l'aumento della concentrazione intracellulare di calcio), provoca la fusione della membrana della vescicola con la membrana cellulare, la vescicola si apre verso l'esterno e rilascia la molecola. **(B)** Endocitosi. La molecola si lega a specifici recettori presenti sul lato esterno della membrana cellulare, l'interazione molecola-recettore provoca un ripiegamento della membrana verso l'interno, fino a che una vescicola, contenente la molecola, si stacca dalla membrana nell'ambiente intracellulare.

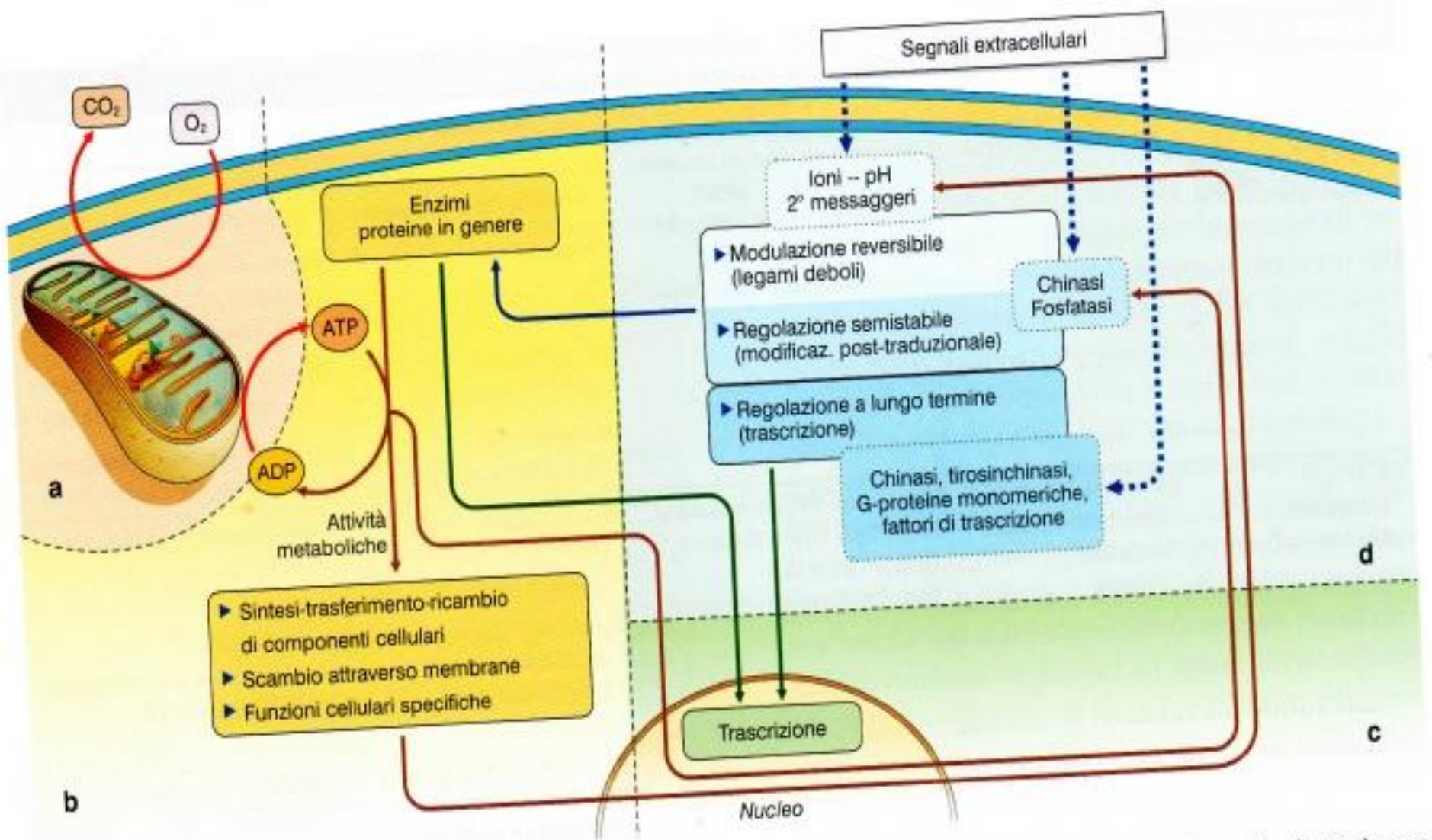
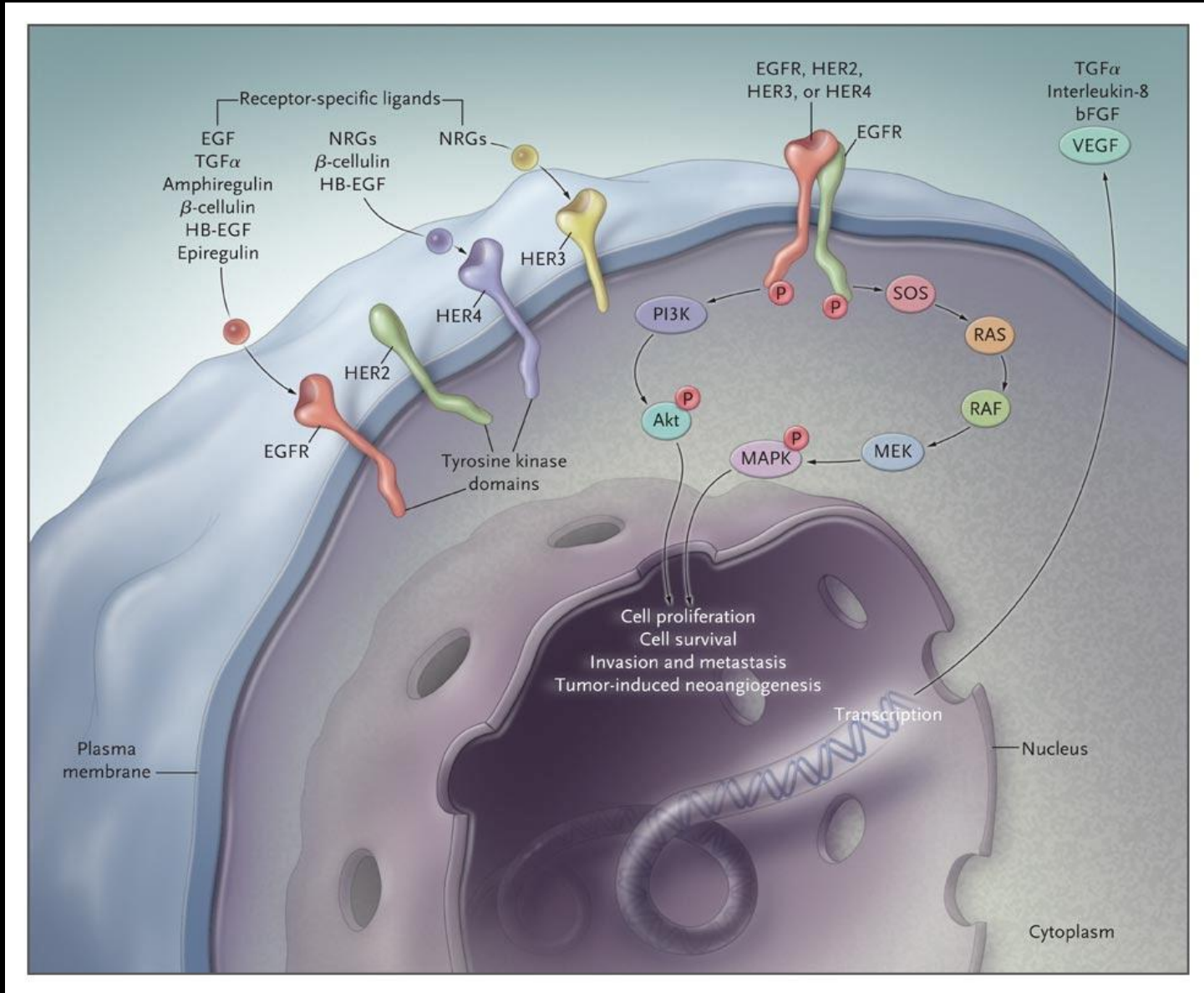


Figura 2.11 Schema delle fondamentali attività cellulari. **a**, Produzione di ATP attraverso la combustione di substrati energetici. **b**, Attività biochimiche e metaboliche che consumano ATP, regolate da enzimi e proteine in generale. **c**, Attività nucleari di trascrizione per la regolazione dell'espressione di proteine e del ciclo cellulare. **d**, Gli enzimi che governano le attività cellulari sono modulati direttamente e indirettamente dalle attività intracellulari stesse (*feedback*) e da segnali extracellulari (*feedforward*), su scale temporali diverse.

Signal Transduction Pathways Controlled by the Activation of EGFR.



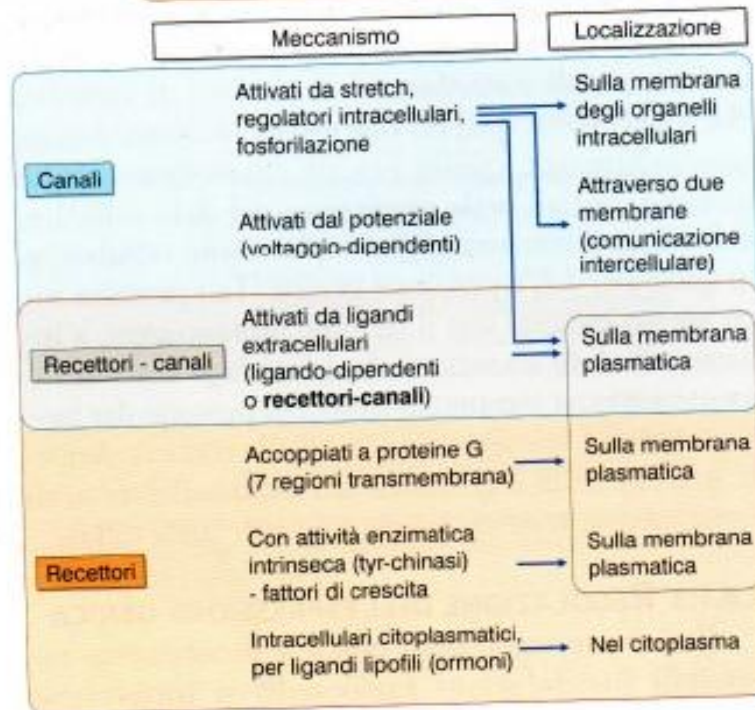
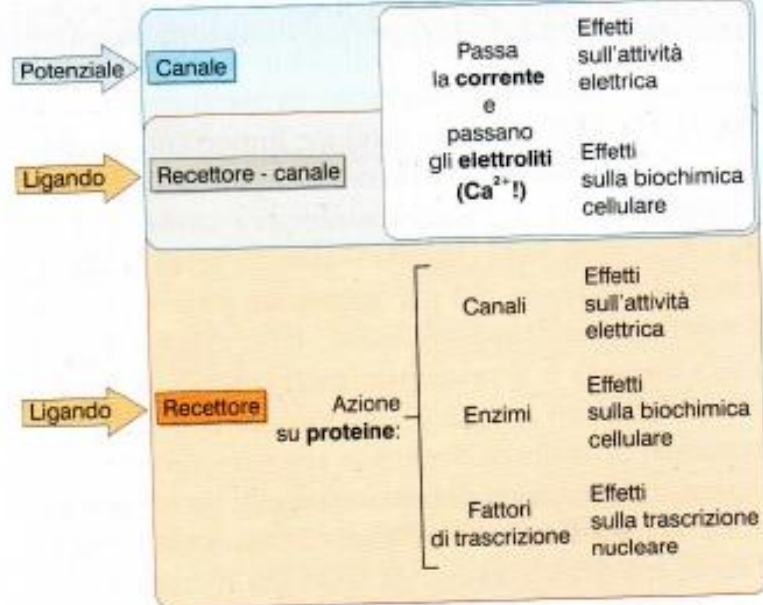
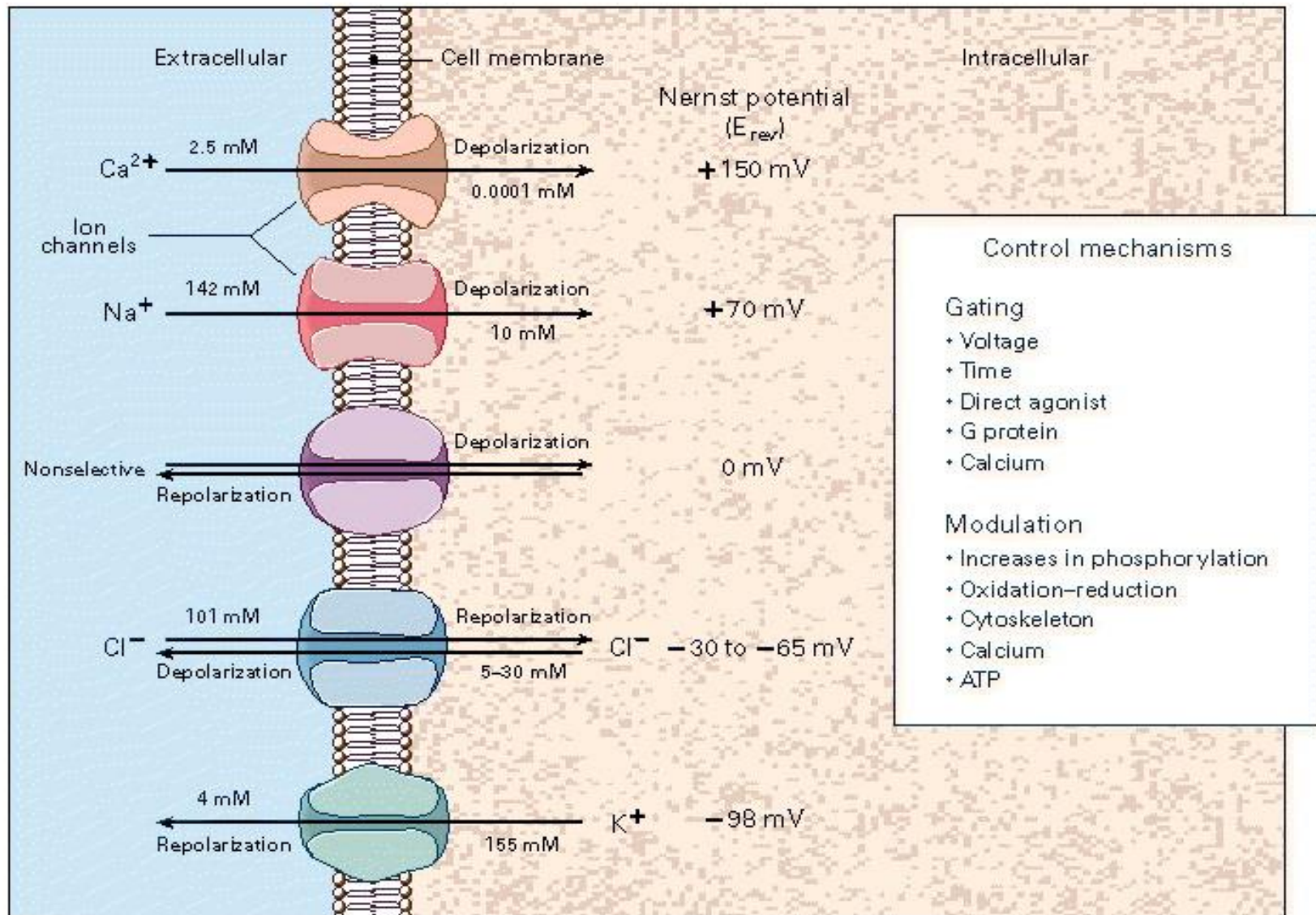
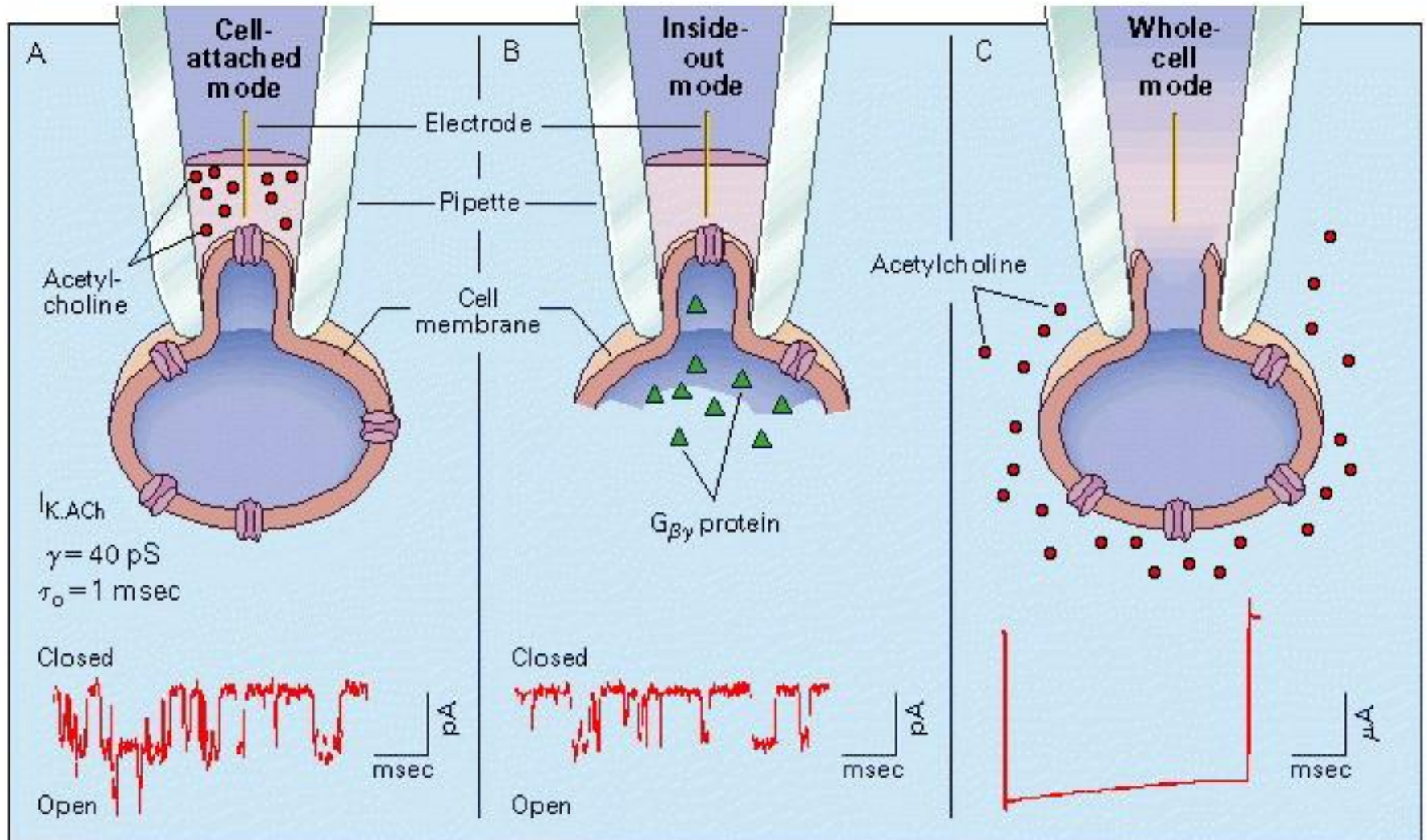


Figura 2.10 Regolazione delle funzioni cellulari dall'esterno.

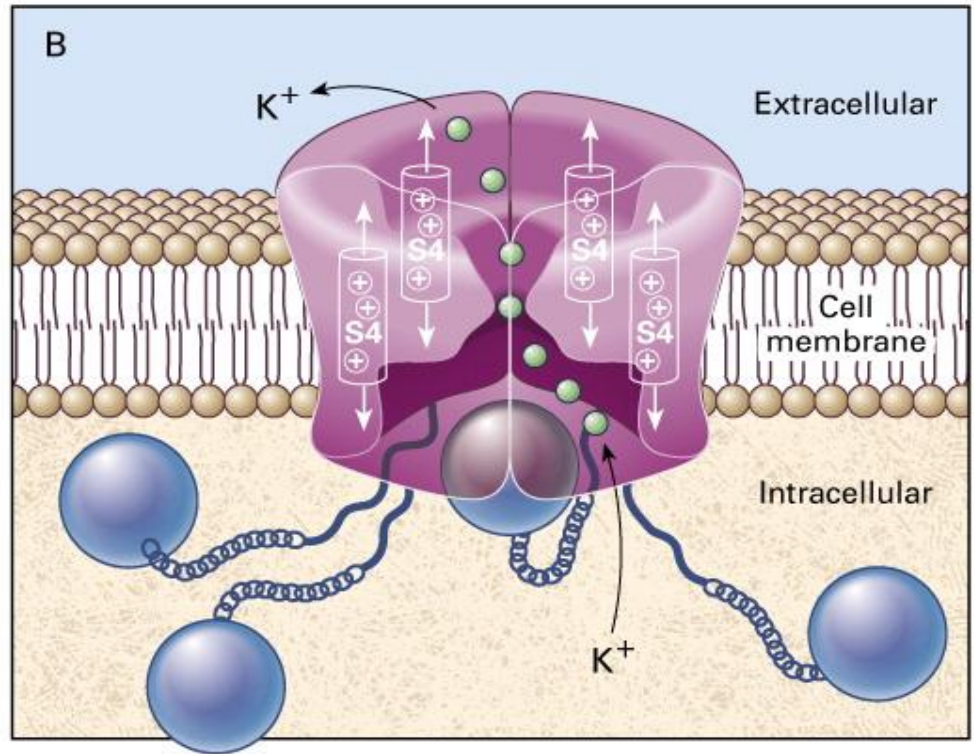
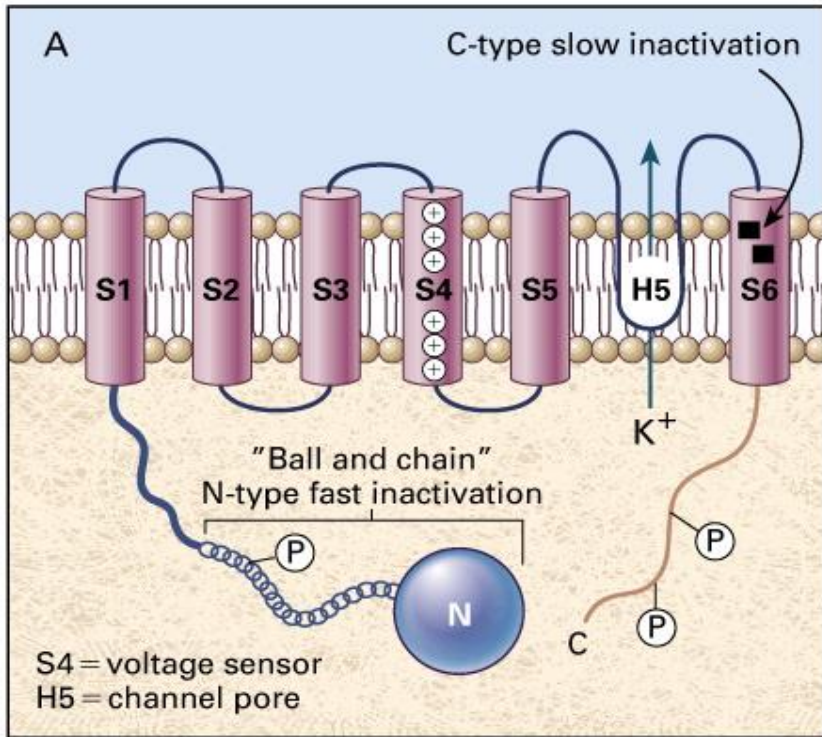
Physiology of Ion Channels.



Patch-Clamp Measurement of Ion-Channel Activity, with the Acetylcholine-Sensitive Potassium Channel ($I_{K,ACh}$) Used as an Example.



Structure of Ion Channels.

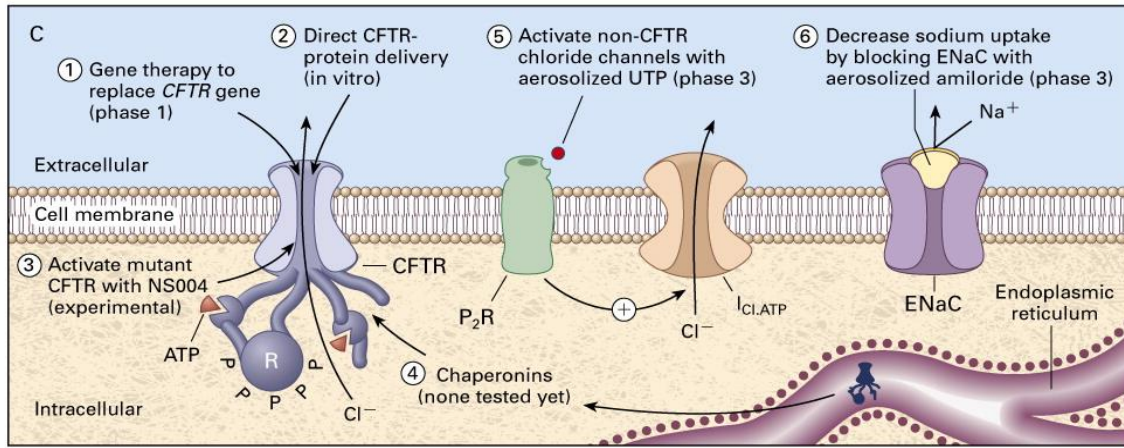
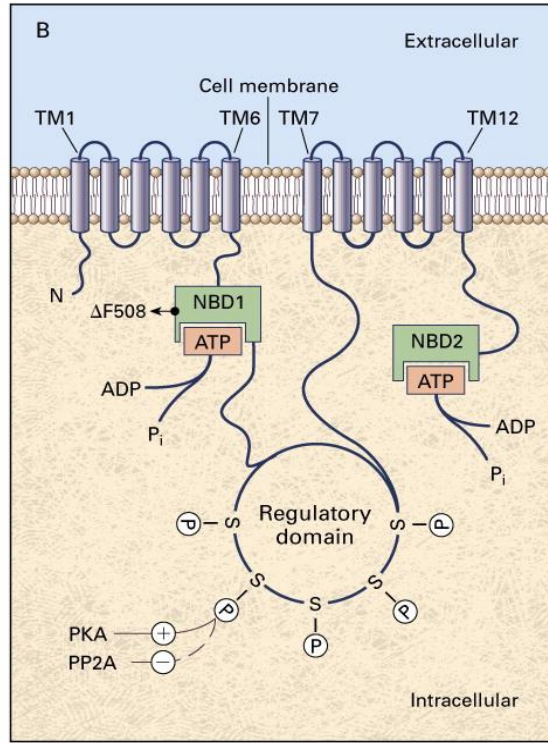
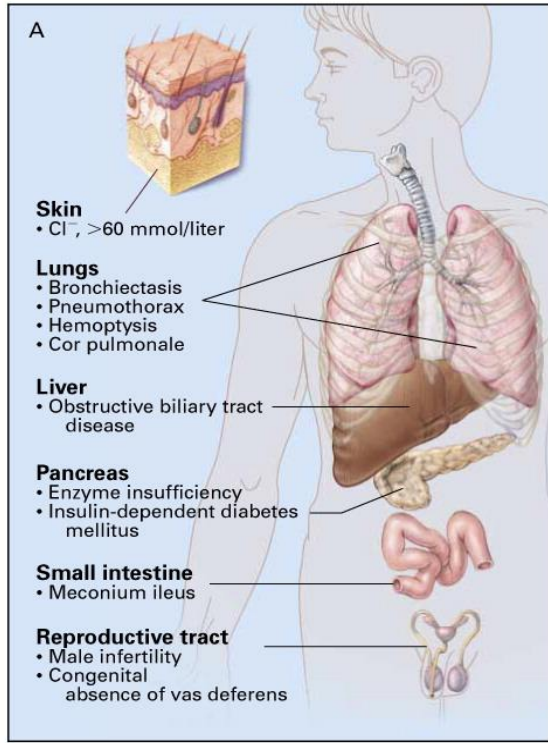


Ackerman MJ, Clapham DE. N Engl J Med 1997;336:1575-1586.



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

Cystic Fibrosis and CFTR.



Mechanisms of Action of Anti-EGFR Drugs in Cancer Cells.

