

Le membrane plasmatiche non sono barriere

Il movimento delle molecole è controllato dalle leggi della chimica e della fisica

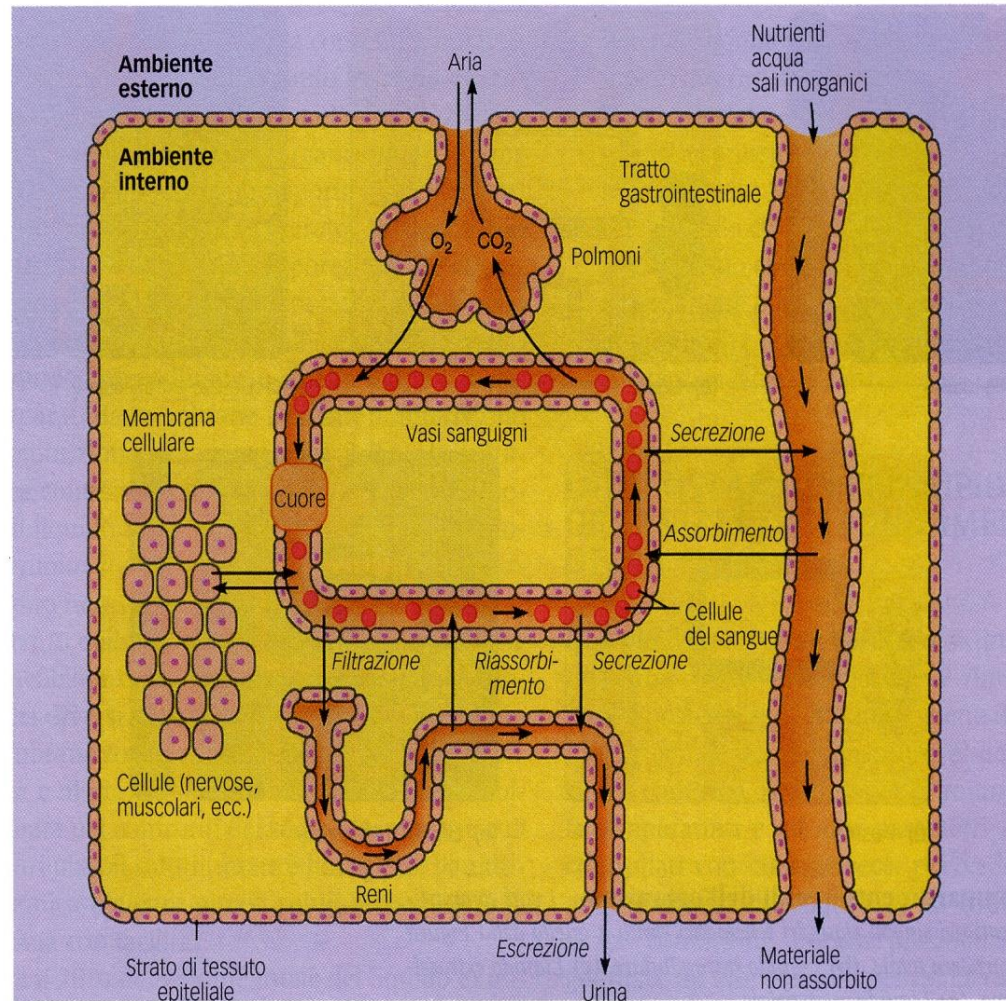
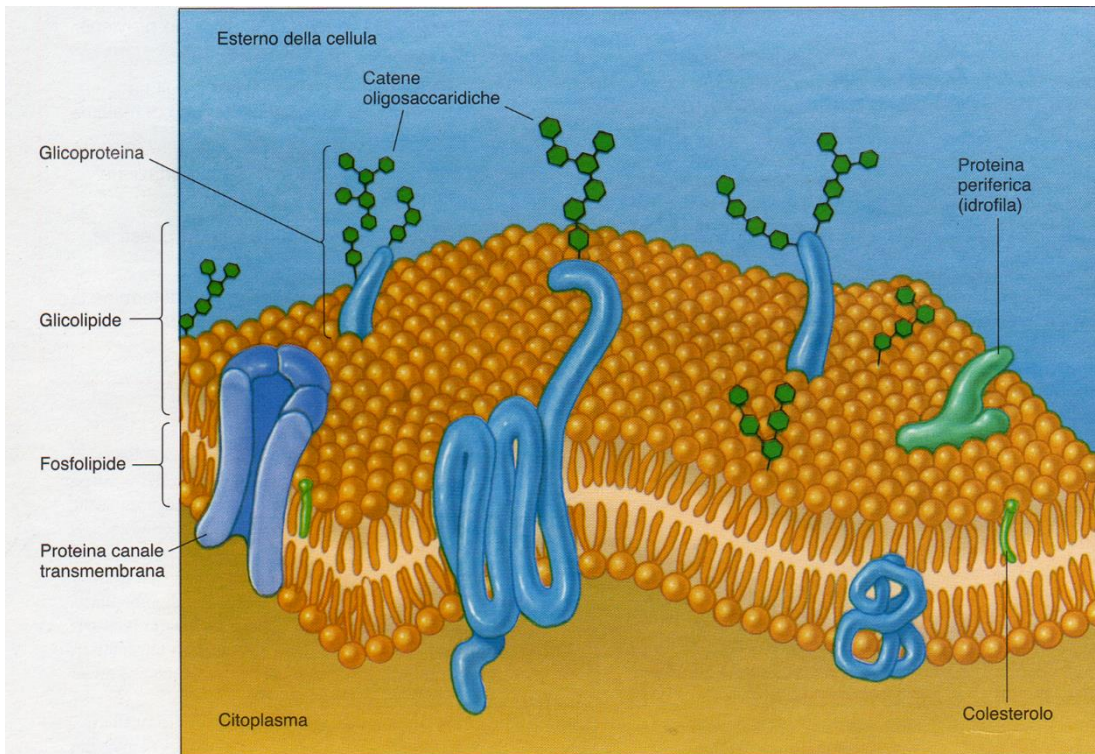


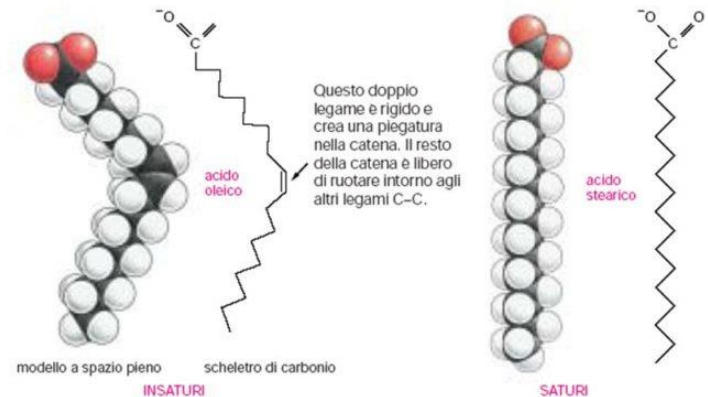
FIGURA 1.3 Visione semplificata dello schema organizzativo generale dell'organismo. I flussi delle varie sostanze sono indicati dalle frecce.

Il movimento delle molecole è controllato dalle leggi della chimica e della fisica



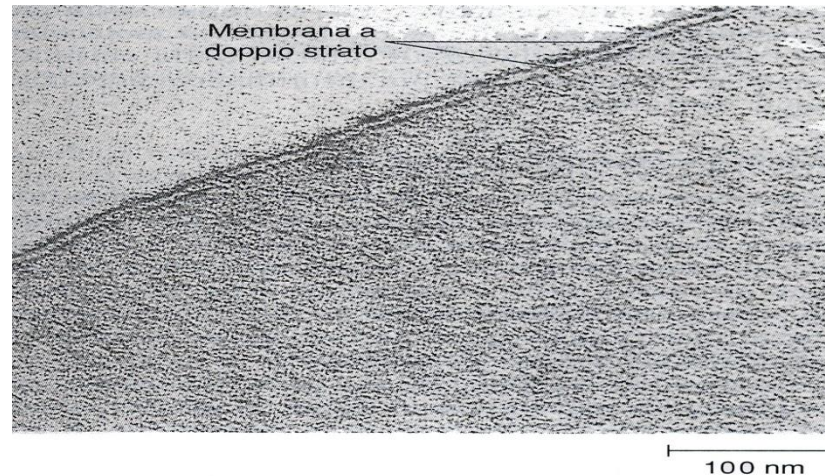
Acidi grassi saturi ed insaturi

Esistono centinaia di specie diverse di acidi grassi. Alcuni hanno uno o più doppi legami nelle loro code idrocarburiche e sono detti **insaturi**. Gli acidi grassi senza doppi legami sono **saturi**.



Il colesterolo rende le membrane meno fluide

Spessore 8 nm



La struttura della membrana è correlata alla sua funzione

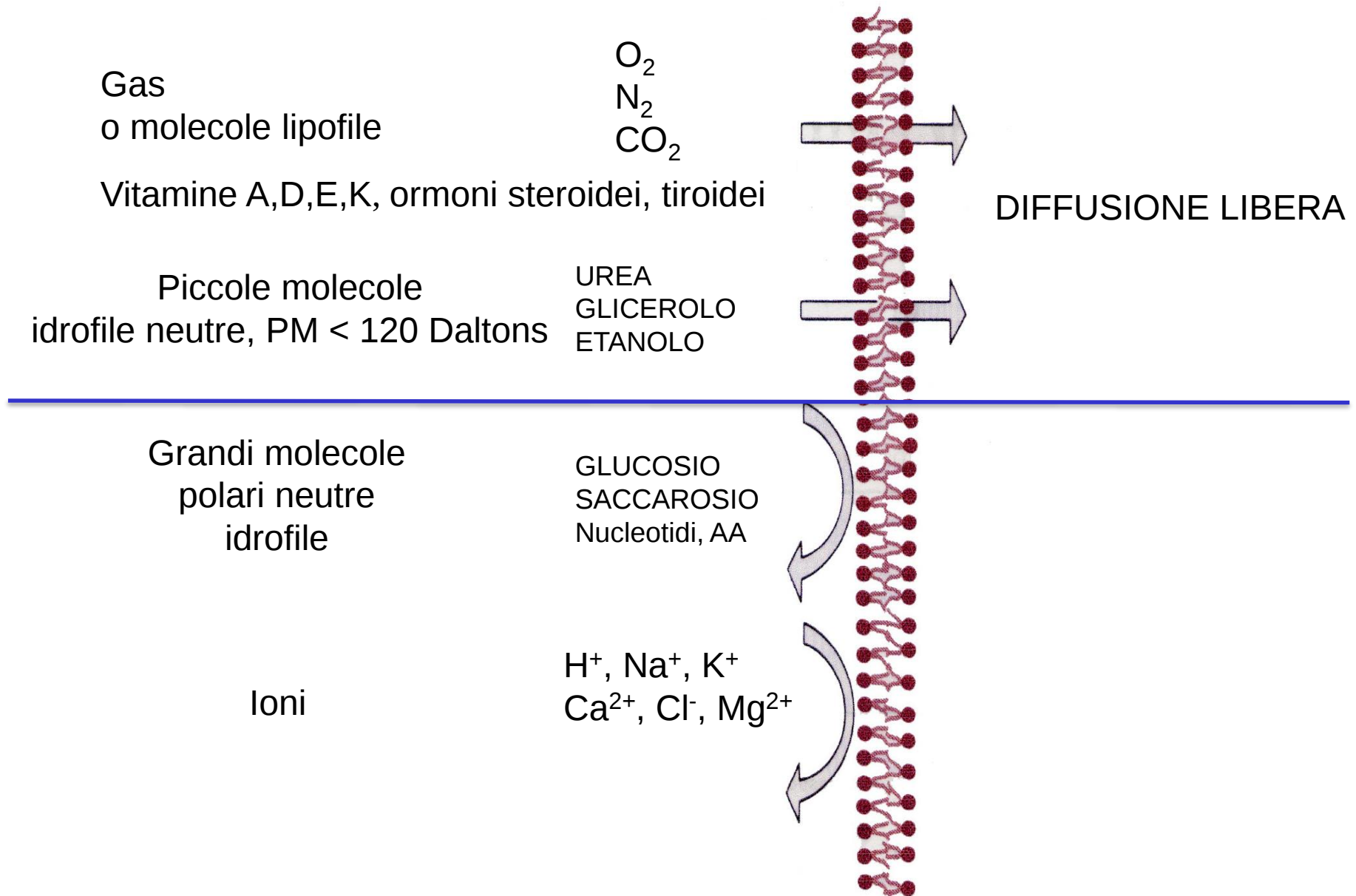
Membrane type	% protein	% lipid	% carbohydrate
Myelin	18	79	3
Mouse liver	44	52	4
Human erythrocyte	49	43	8
Bovine retinal rod	51	49	0
Mitochondrial outer membrane	52	48	0
Amoeba	54	42	4
Sarcoplasmic reticulum	67	33	0
Chloroplast spinach lamellae	70	30	0
<i>Halobacterium</i> purple membrane	75	25	0
Mitochondrial inner membrane	76	24	0

Funzioni della membrana plasmatica

- trasporto selettivo di molecole
- riconoscimento delle cellule attraverso recettori di superficie
- comunicazione intercellulare attraverso neurotrasmettitori, ormoni steroidei (cortisolo, aldosterone, testosterone, tiroidei)
- vie di trasduzione
- organizzazione tissutale tramite molecole di adesione
- attività enzimatica
- supporto strutturale attraverso il legame tra citoscheletro e membrana

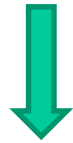
La **permeabilità** si riferisce a quanto facilmente una molecola può attraversare la membrana che separa l'ambiente intracellulare dal fluido interstiziale esterno.

Permeabilità del doppio strato lipidico nei confronti di diverse categorie di molecole



TRASPORTI A LIVELLO DI MEMBRANA CELLULARE

Trasporti passivi



- Diffusione semplice
libera o attraverso canali
- Diffusione facilitata

Trasporti attivi



- Primario
- Secondario

Diffusione semplice di molecole non cariche

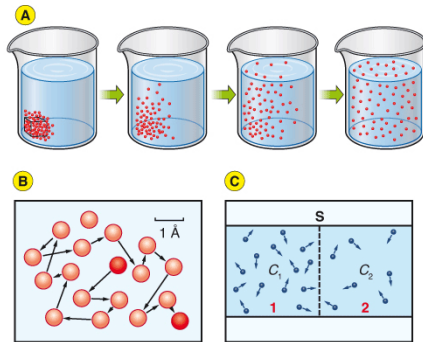
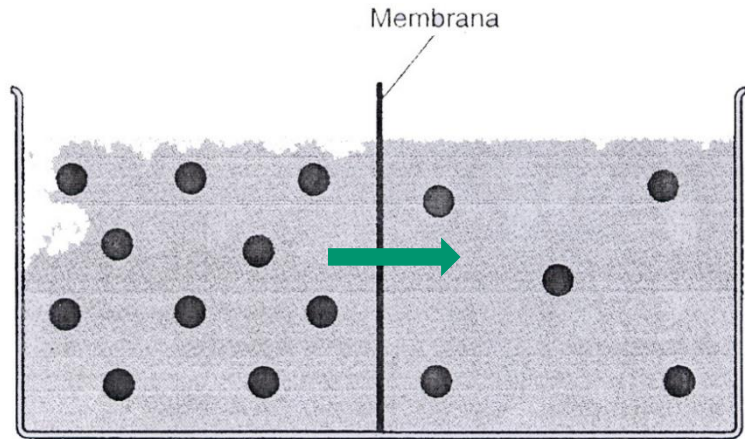
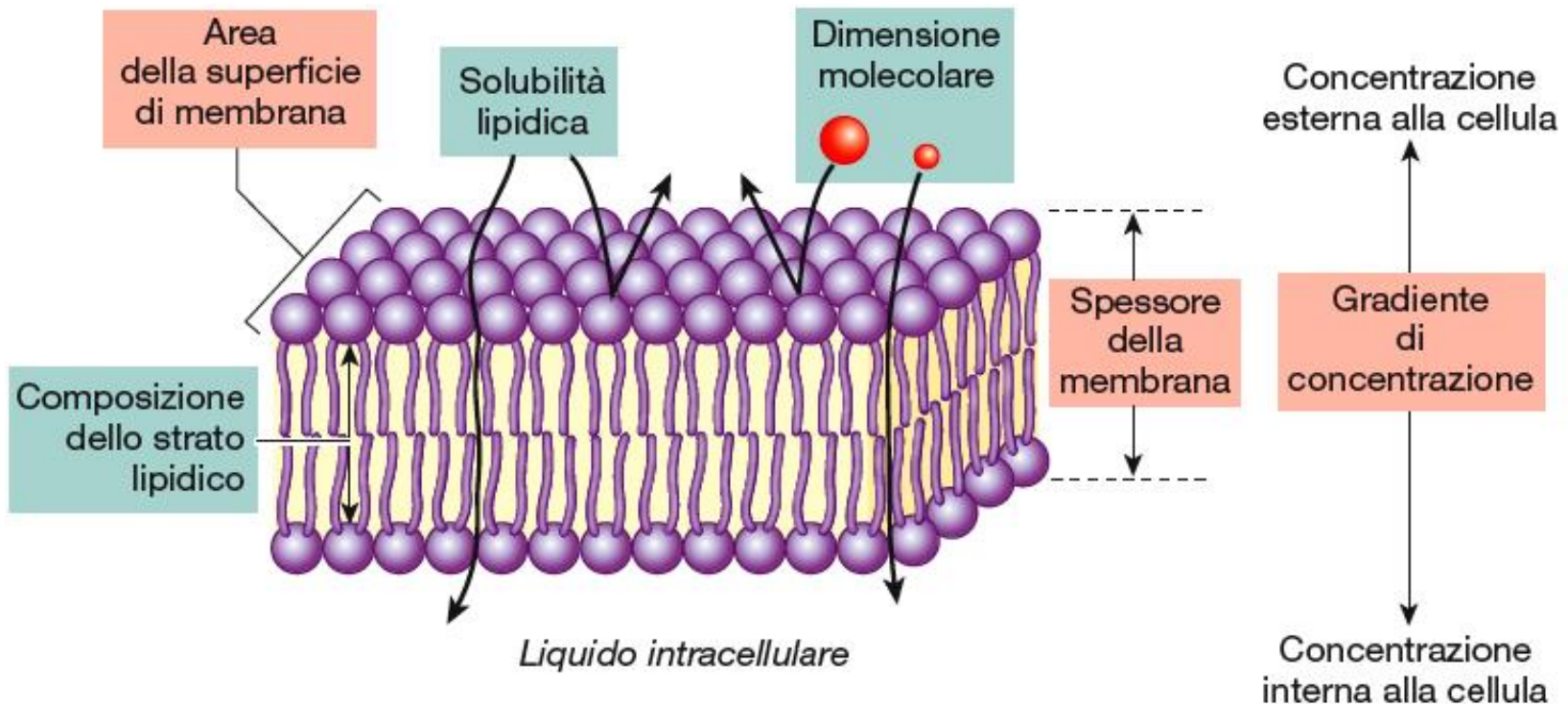


Figura 3-3 ▶ **A:** Le particelle di una zolletta di zucchero immersa in un becher diffondono nella soluzione fino a distribuirsi in modo omogeneo in tutto lo spazio disponibile. **B:** Moto casuale di una molecola in soluzione acquosa a causa delle collisioni con altre molecole (a 37°C la velocità media è dell'ordine delle migliaia di km/h, ma la distanza percorsa in direzione rettilinea è dell'ordine degli Å). **C:** Una sezione ideale (S) separa due ipotetici ambienti, contenenti lo stesso soluto alle concentrazioni C_1 e C_2 .



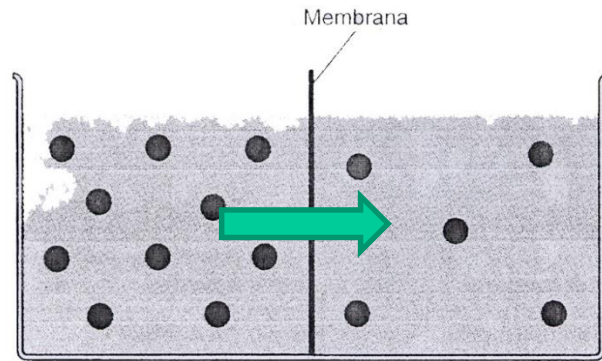
Il movimento casuale termico delle molecole in soluzione provoca la loro dispersione spontanea da regioni a più alta a quelle a più bassa concentrazione finchè le molecole non si distribuiscono uniformemente.

Cosa può influenzare la diffusione semplice di molecole non cariche?



N.B. acidi grassi saturi (tutti i C sono legati a H) aumentano la viscosità della membrana

Diffusione semplice di molecole non cariche



$$\frac{dQ_s}{dt} = D_s A \frac{dC_s}{dx}$$

Legge di Fick

$$D = \frac{kT}{6\pi r \eta}$$

Coefficiente di ripartizione (k):

Concentrazione in olio / concentrazione in acqua

r = raggio della molecola

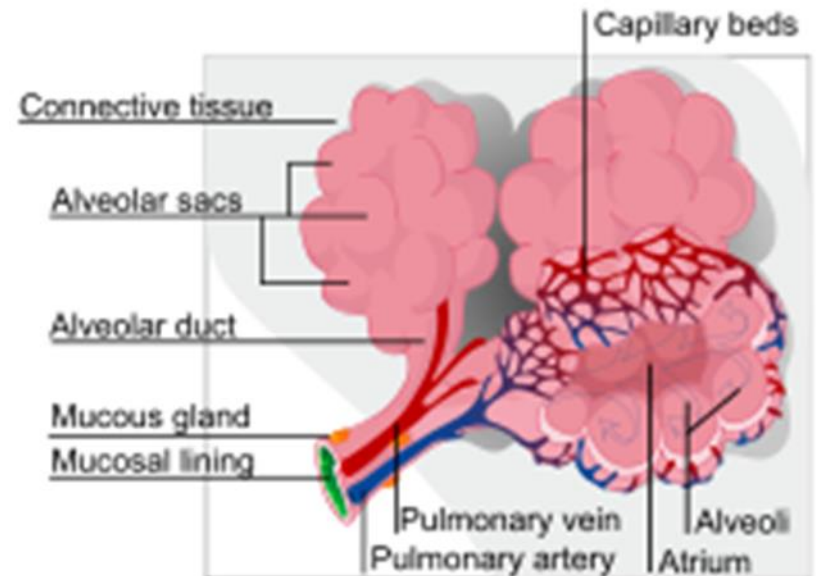
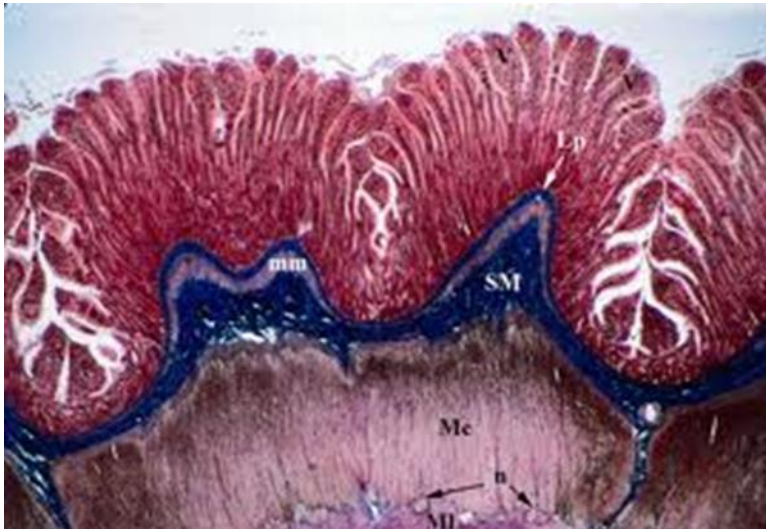
η = viscosità del mezzo

Dipende dalle caratteristiche chimico-fisiche della sostanza e dalla viscosità del mezzo

$$\frac{dQ_s}{dt} = D_s A \frac{dC_s}{dx}$$

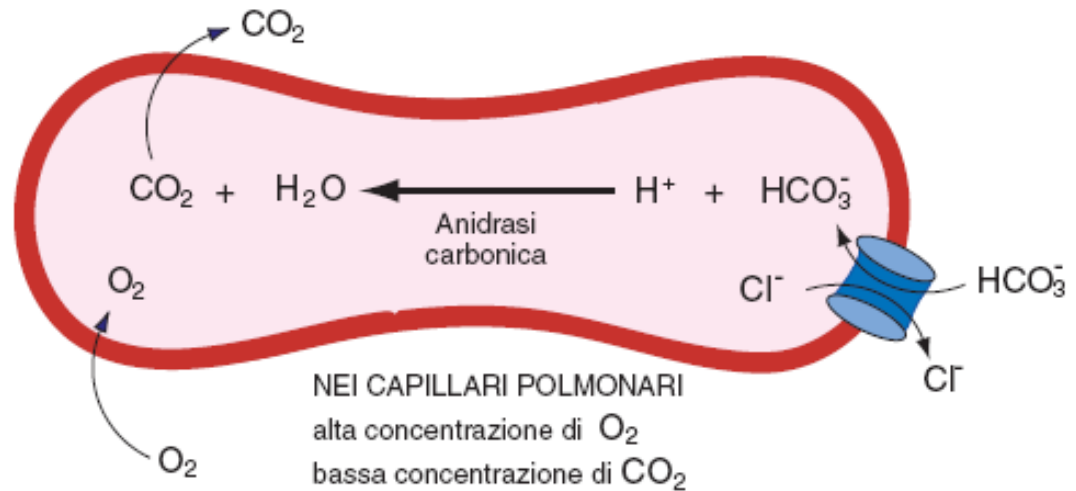
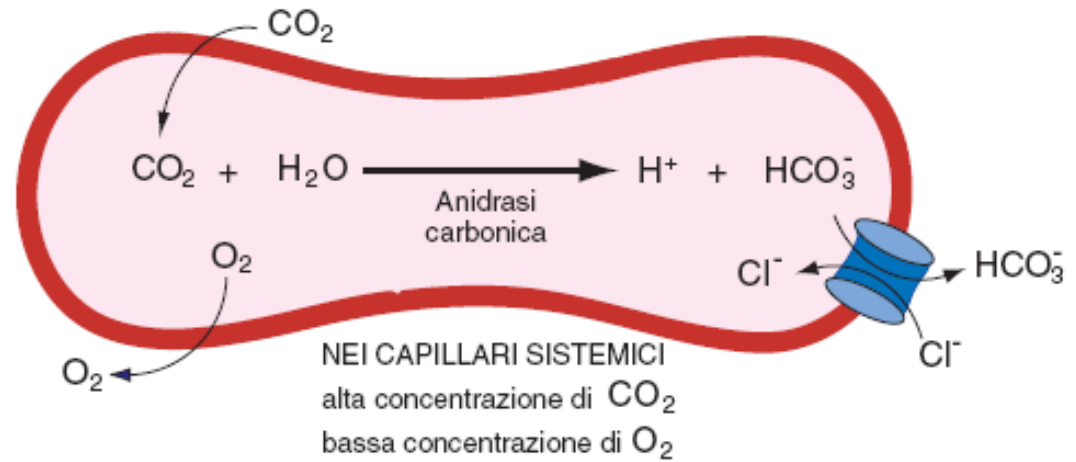
Legge di Fick

La velocità di trasporto varia in proporzione alla superficie e allo spessore della membrana



$$\frac{dQ_s}{dt} = D_s A \frac{dC_s}{dx}$$

Legge di Fick



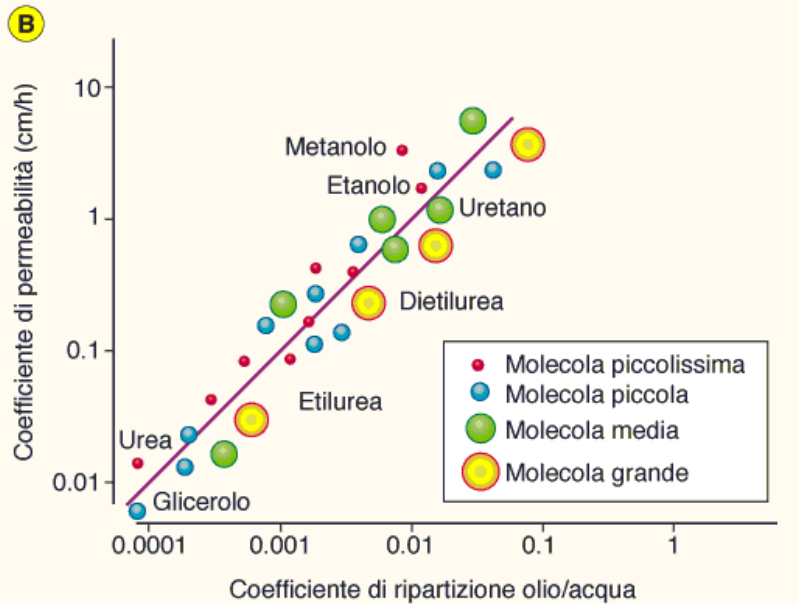
La direzione dello spostamento dipende dalla **differenza di concentrazione** delle molecole ai due lati della membrana quindi dal distretto corporeo in cui si trova l'eritrocita

Diffusione delle molecole in soluzione

La diffusione è efficiente nei percorsi brevi (es. tra capillari e cellule circostanti)

Il tempo necessario a una molecola per diffondere da A a B è proporzionale al quadrato della distanza tra A e B.

Se la distanza raddoppia, il tempo quadruplica.



V. Taglietti
FISIOLOGIA e BIOFISICA delle cellule - V Ed.
EdiSES EdiSES

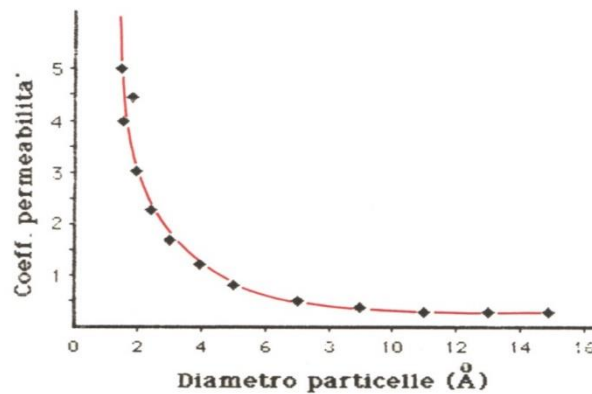


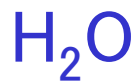
Fig. 5.10 - Relazione tra coefficiente di permeabilità della membrana cellulare e diametro di alcune particelle idrofile.

Sostanze che si muovono liberamente attraverso la membrana

Il coefficiente di permeabilità cresce in genere proporzionalmente alla liposolubilità delle molecole. Ac. grassi, ormoni steroidei, tiroidei, O_2 , CO_2 , vitamine liposolubili (A,D,E,K)

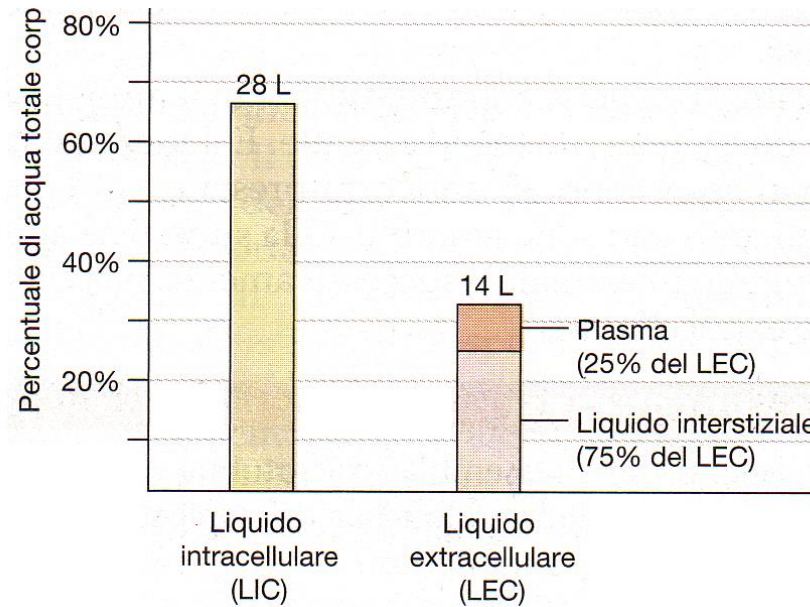
Sostanze idrofiliche (polari o ionizzate) sono le meno liposolubili

Per gli **elettroliti**, che in soluzione acquosa si dissociano in ioni (polari), la capacità di attraversare la membrana è strettamente correlata alla loro dimensione.



Contenuto di acqua come percentuale del peso corporeo totale per età e sesso

<i>Età</i>	<i>Maschi</i>	<i>Femmine</i>
Neonato	65%	65%
1-9	62%	62%
10-16	59%	57%
17-39	61%	51%
40-59	55%	47%
60+	52%	46%



ACQUA: Sostanza indispensabile per:

- mantenere il volume del sangue
- trasporto delle sostanze nell'organismo
- diluizione delle sostanze nell'organismo
- controllo della temperatura corporea
- eliminazione delle scorie
- lubrificazione delle cavità
- mantenere la regolarità intestinale

BILANCIO IDRICO GIORNALIERO

Apporto

cibo	1000 ml
liquidi	1200 ml
metabolismo	300 ml

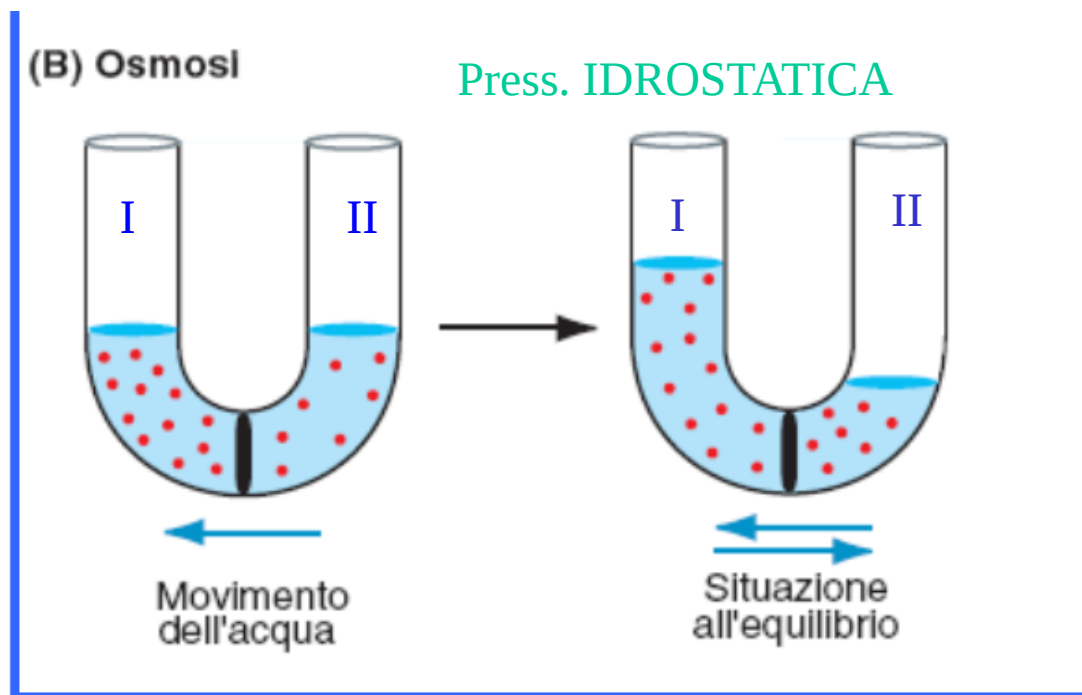
<u>Tot</u>	<u>2500 ml</u>
------------	----------------



Perdite

urina	1200 ml
feci	100 ml
sudore	850 ml
respiro	350 ml
<u>Tot</u>	<u>2500 ml</u>

Le molecole d'acqua diffondono per **OSMOSI** dalle zone a bassa concentrazione di soluti a zone ad alta concentrazione di soluti finchè la concentrazione di soluto è uguale.



La **pressione idrostatica in I** (pressione esercitata dal liquido sulla superficie del recipiente/membrana) **si oppone alla diffusione osmotica dell'acqua da II a I.**

La pressione idrostatica in I necessaria a bloccare la diffusione osmotica dell'acqua da II a I viene definita **PRESSIONE OSMOTICA DELLA SOLUZIONE**

Legge di van't Hoff

La pressione osmotica, intesa come pressione da applicare per impedire la diluizione del soluto, viene misurata quantitativamente con l'Equazione di van't Hoff:

$$\pi = i C R T$$

i = fattore di correzione che tiene conto del numero di molecole in soluzione

R = costante dei gas = $0.082 \text{ (l)(atm)(mol)}^{-1}$

T = temperatura assoluta in K

C = concentrazione della soluzione $(\text{mol})(\text{l})^{-1}$

iC = osmolarità della soluzione esprime la concentrazione di una soluzione, tenendo in considerazione il n. di particelle /L

120 mM KCl = 240 mosm

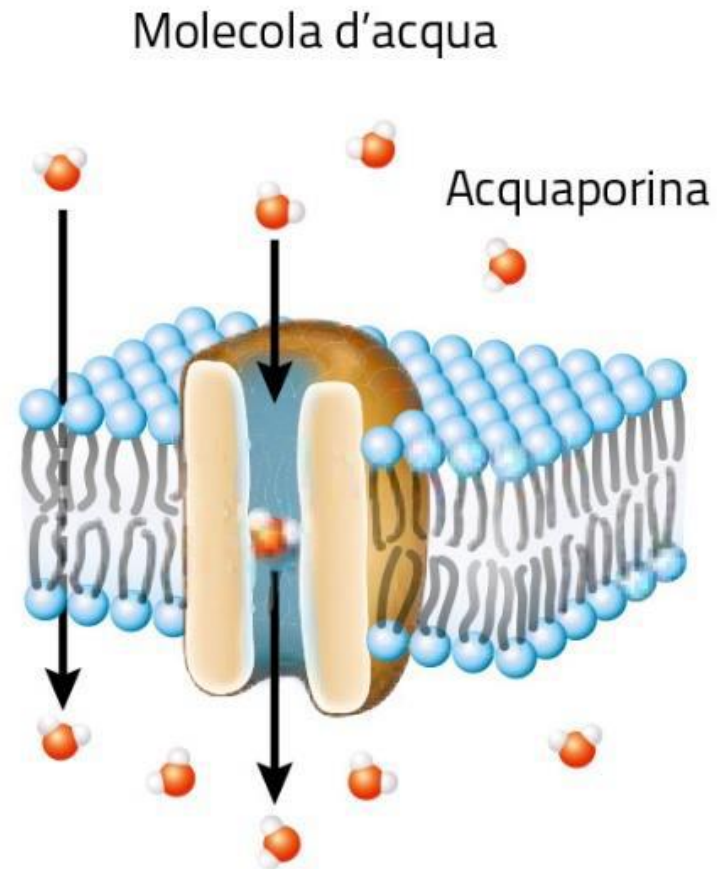
L'osmolarità dei liquidi biologici 300 mOsm /L

La pressione osmotica nei liquidi biologici:

$$\pi = 0.3 (iC) \times 0.082 \times 310 (37 \text{ C}) = 7.9 \text{ atm}$$

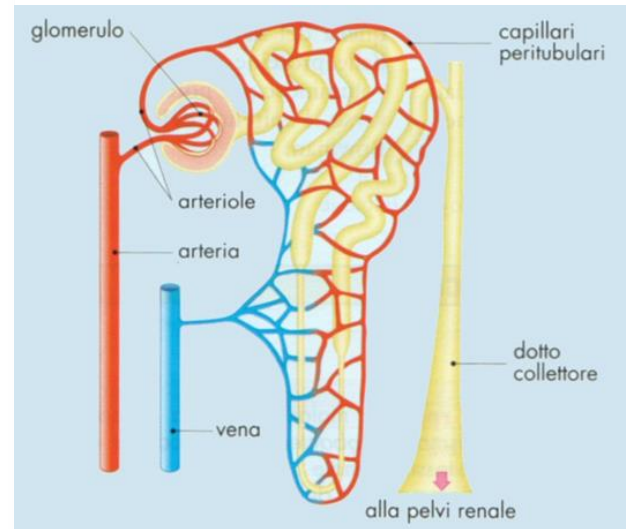
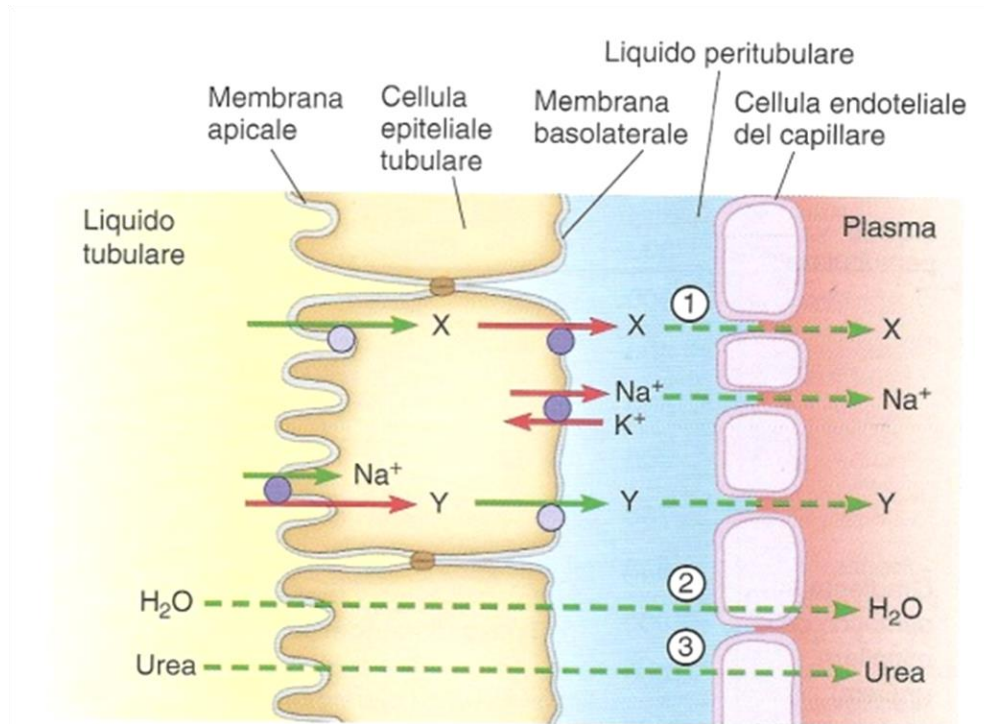
La permeabilità all'H₂O varia da cellula a cellula.

Un doppio strato lipidico fluido con espressione di **acquaporine** è indice di una maggiore permeabilità all'acqua.



In un **soggetto disidratato** il numero di acquaporine delle cellule epiteliali renali aumenta, permettendo ad una maggiore quantità d'acqua di passare nel sangue.

A livello dei tubuli renali l'acqua è riassorbita per osmosi nel plasma



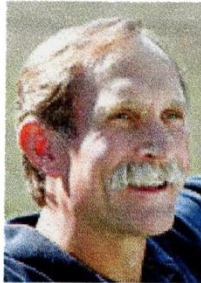
quando i soluti vengono riassorbiti nel plasma e l'osmolarità del liquido peritubulare e quella plasmatica aumentano.

PREMIO NOBEL PER LA CHIMICA 2003

Peter Agre, Roderick MacKinnon

La commissione per i Nobel dell'Accademia Reale delle Scienze Svedese ha deciso di assegnare il Premio Nobel 2003 per la Chimica, **"per la scoperta dei canali cellulari che fanno passare acqua e sali"**

per meta' congiuntamente a:



Peter Agre,
nato a 1949 a Baltimora
(U.S.A.), ed attualmente in
forza alla Johns Hopkins
University School of
Medicine

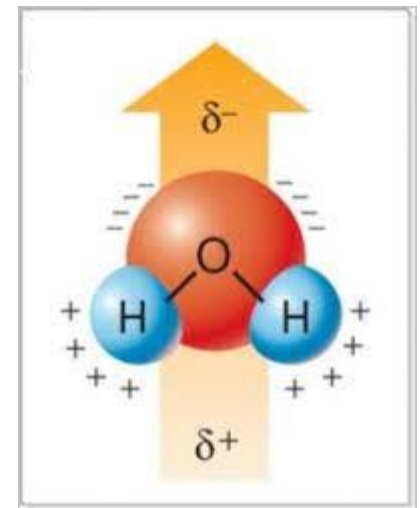
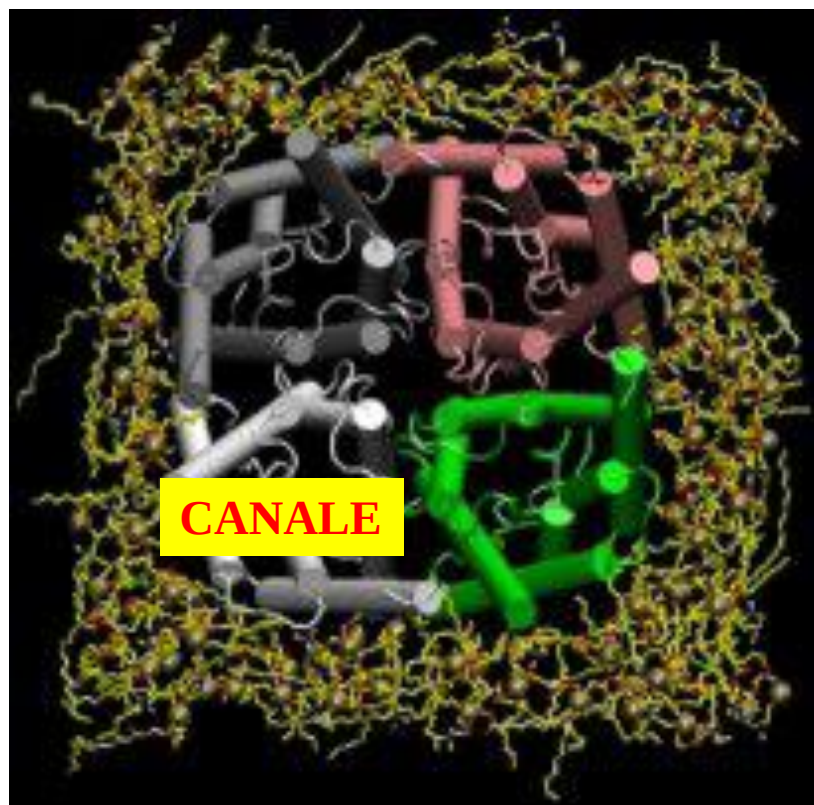


Roderick MacKinnon,
nato nel New York (U.S.A.),
ed attualmente in forza
alla Rockefeller University,
Howard Hughes Medical
Institute

"Ad essi si deve la scoperta dei canali che permettono alla membrana della cellula di lasciare entrare o uscire sostanze indispensabili come l'acqua e i sali"

Per rendersi conto di quanto il passaggio di acqua e sali sia di vitale importanza per la cellula è sufficiente pensare che di acqua e sali è composto il 70% dell'organismo. E' fondamentale, quindi, per le cellule, dosare esattamente l'ingresso di queste sostanze al loro interno. Comprendere questo meccanismo vuol dire conoscere più a fondo il funzionamento di molti organi e avere nuovi strumenti di cura. Conoscenze che si sono dimostrate fondamentali per comprendere come vengono generati e trasmessi i segnali elettrici nelle cellule nervose, così come hanno permesso di capire più a fondo il funzionamento di muscoli, cuore e reni.

Acquaporine



L' H_2O è una molecola polarizzata e tende a legarsi con altre molecole di H_2O mediante legami elettrostatici.

L'**acquaporina** è un **tetramero** costituito da 4 monomeri ognuno dei quali costituisce un canale permeabile all'acqua. La struttura del canale è tale da separare le molecole e di consentirne il passaggio in singola fila.

Ogni monomero di acquaporina è formato da una catena polipeptidica con 2 metà speculari

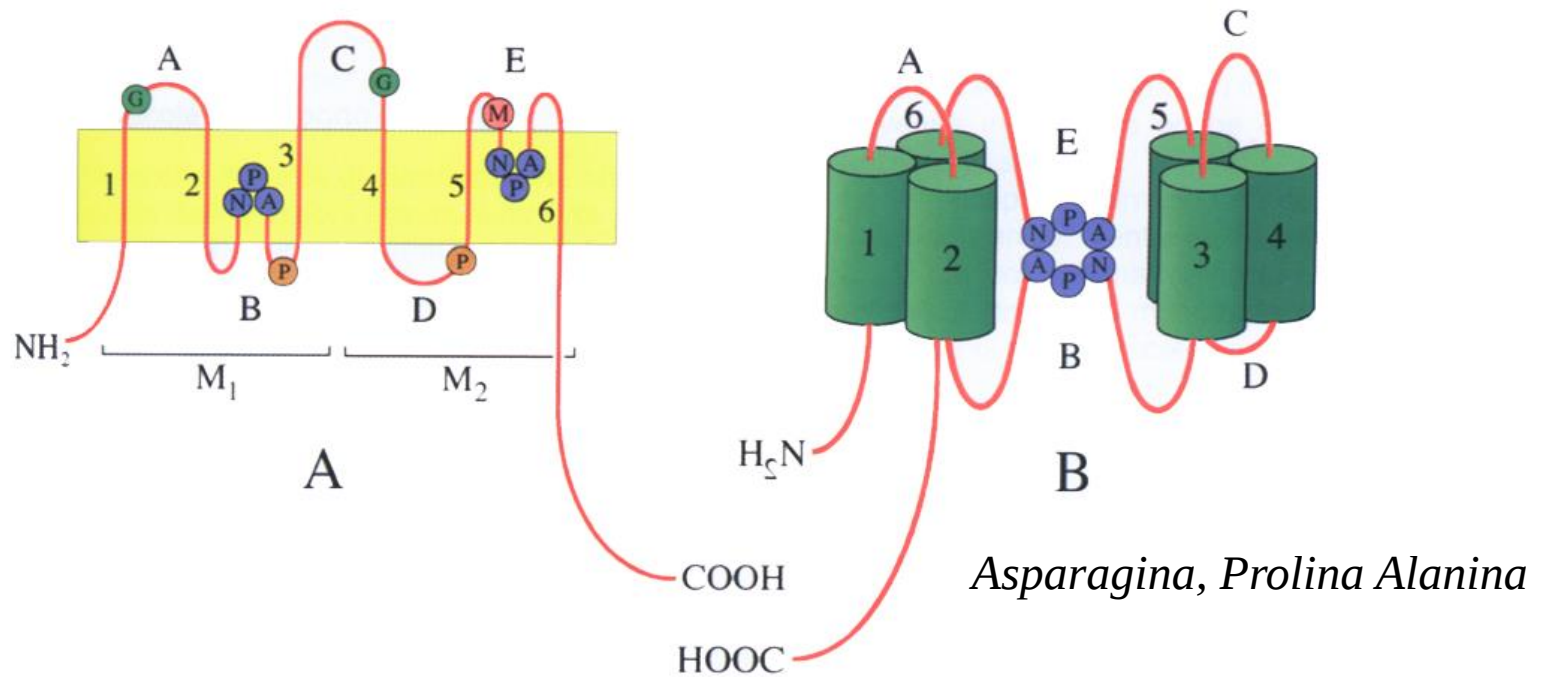


Fig. 4.19 – Struttura generale delle aquaporine. A: la catena polipeptidica, formata da due metà pressoché speculari (M₁ ed M₂), presenta sei segmenti transmembranari (1-6) ed ambedue le estremità rivolte verso il citosol. Le anse extracellulari presentano almeno due siti di glicosilazione (G) ed una *cisteina* che costituisce il sito di legame per i mercuriali (M); quelle intracellulari presentano almeno due siti che possono essere oggetto di fosforilazione mediata dalla PKA (P). Le anse “B” ed “E” sono immerse nello spessore della membrana e presentano al loro apice lo stesso “motivo” N-P-A. B: ogni monomero di aquaporina forma nella membrana un canale specifico per l’acqua perché presenta uno stretto “poro” dato dalla giustapposizione dei due “motivi” N-P-A. Questo poro consente il passaggio delle molecole d’acqua (una alla volta) ma è impermeabile sia agli anioni che ai cationi.

Aquaporine (AQP1-AQP11)

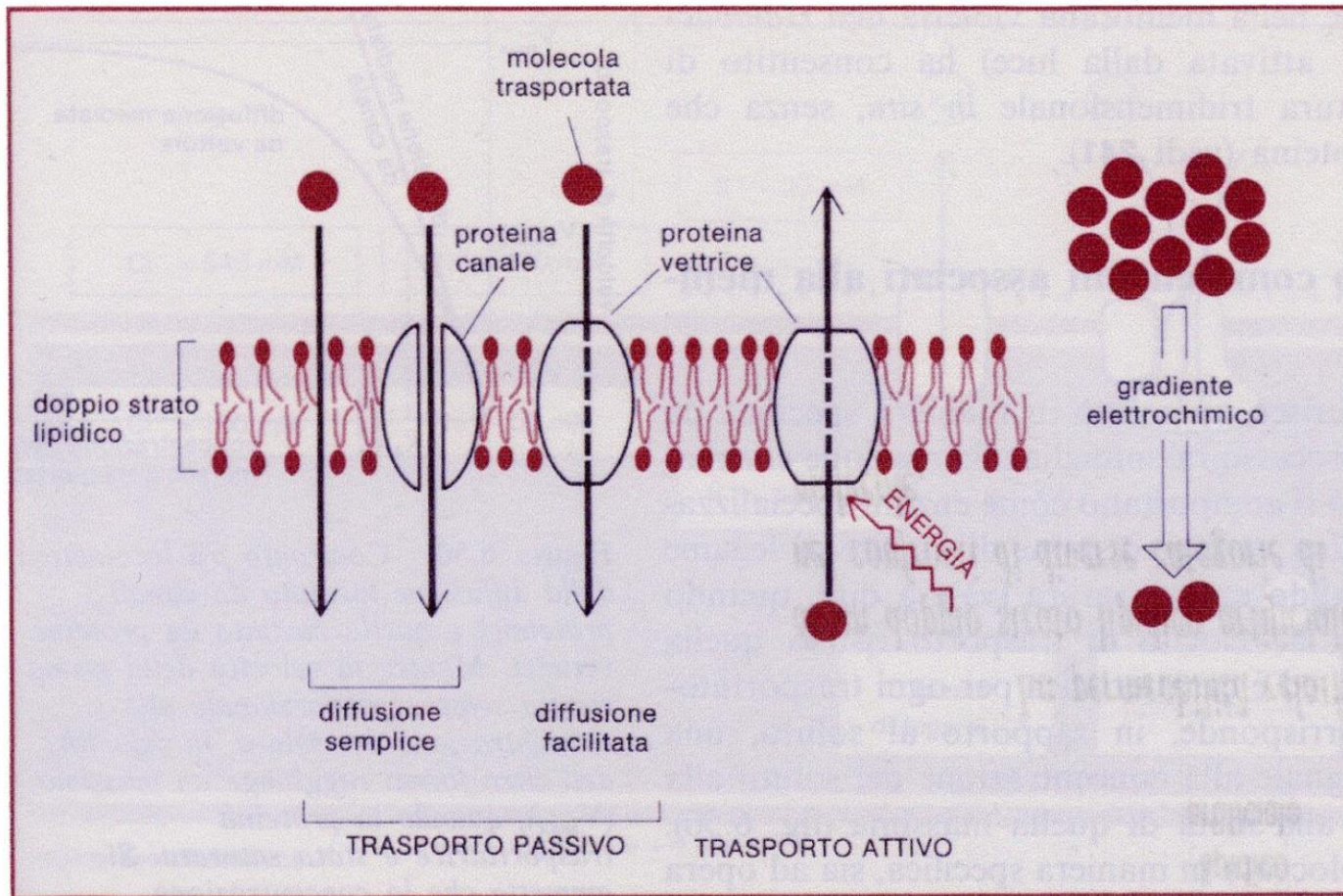
Tab. 4.2 – Caratteristiche delle più importanti aquaporine umane.

	<i>AQP1</i>	<i>AQP2</i>	<i>AQP3</i>	<i>AQP4</i>	<i>AQP5</i>
<i>No. aminoacidi</i>	269	271	ca.290	341	265
<i>Selettività</i>	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O, (urea, glicerolo)	H ₂ O	H ₂ O
<i>Sensibilità ai mercuriali</i>	+	+	+	-	+
<i>Regolazione fosforilativa (PKA)</i>	-	+	-	+	+
<i>Sensibilità all'ADH</i>	-	+	-	-	-
<i>Espressione</i>	Eritrociti Rene (<i>tubulo contorto prossimale</i>) Numerosi altri tessuti	Rene (<i>dotto collettore, membrana apicale</i>)	Rene (<i>dotto collettore, membrana baso-laterale</i>) Altri tessuti	Rene (<i>dotto collettore, membrana baso-laterale</i>)	Epiteli ghiandolari

I neuroni del nucleo sopraottico e paraventricolare nell'**ipotalamo** sono **osmocettori** che sentono l'aumento di osmolarità del plasma e liberano vasopressina = ADH che facilita il riassorbimento renale di acqua facilitando l'espressione di acquaporine nei tubuli renali

- Individui che mancano di AQP1, espressa nel tubulo prossimale e ansa discendente del nefrone, non sono in grado di attivare il processo controcorrente per concentrare l'urina
- L'occhio è ricco di AQP
- AQP anche nel muscolo scheletrico e nel SNC

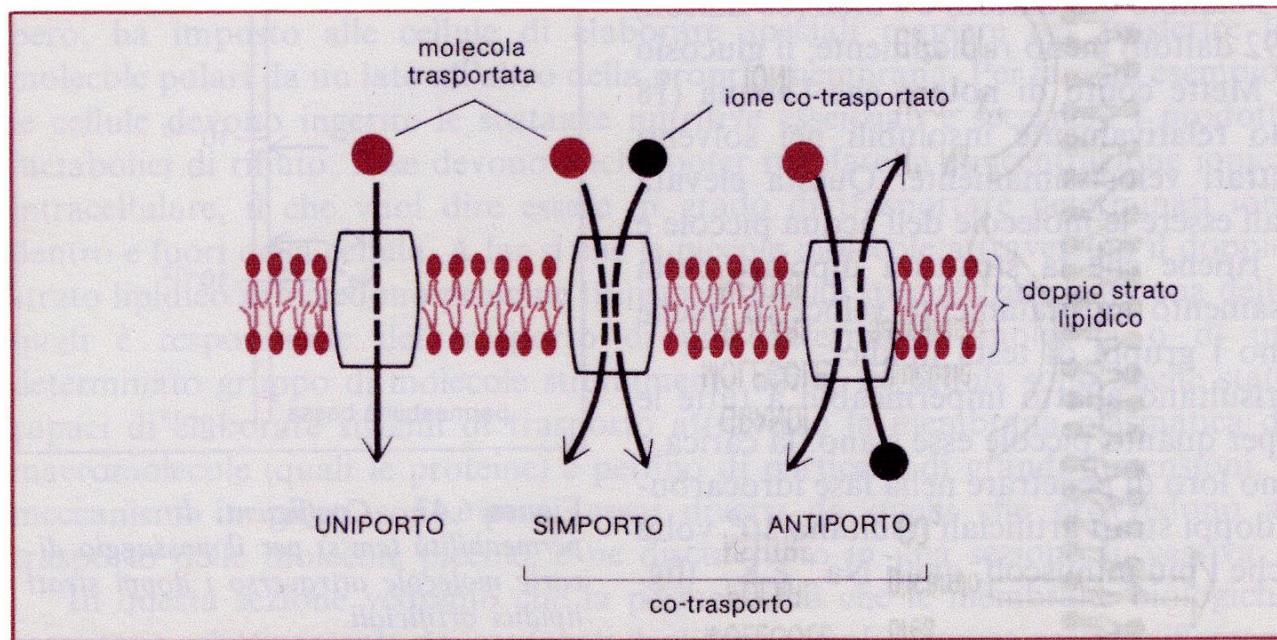
Meccanismi di trasporto passivo ed attivo



Il trasporto delle molecole tramite proteine trasportatrici
è detto

Trasporto mediato

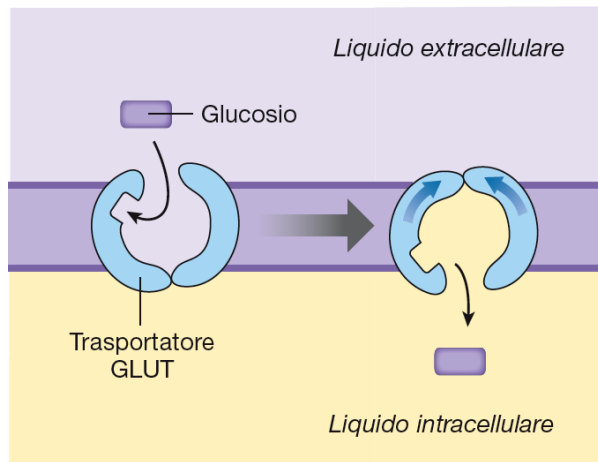
che può essere **passivo** (DIFFUSIONE FACILITATA) o
attivo (SECONDARIO)



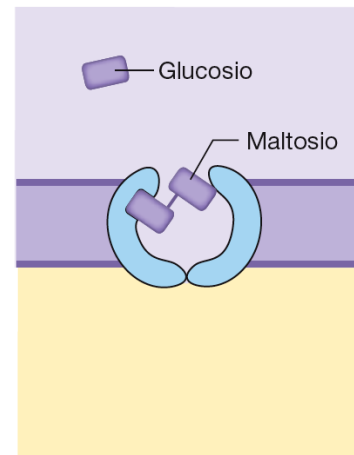
TRASPORTO PASSIVO di diffusione facilitata

GLUT: Trasportatori di glucosio e monosaccaridi a 6 atomi di carbonio

Il GLUCOSIO è una molecola grande idrofila con diversi gruppi -OH



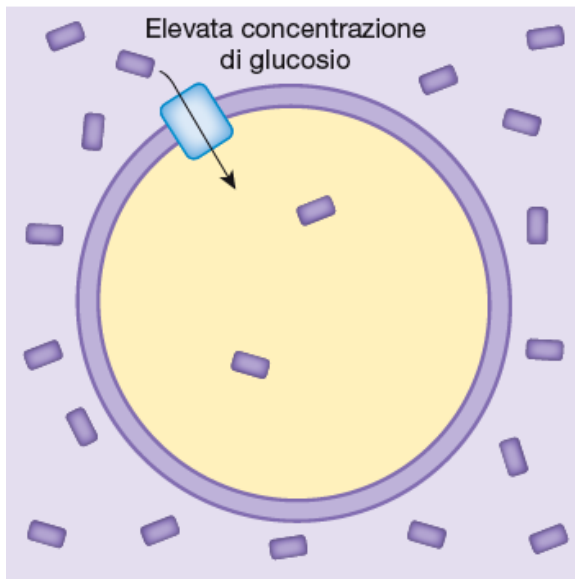
(a) Il trasportatore GLUT porta il glucosio attraverso le membrane cellulari.



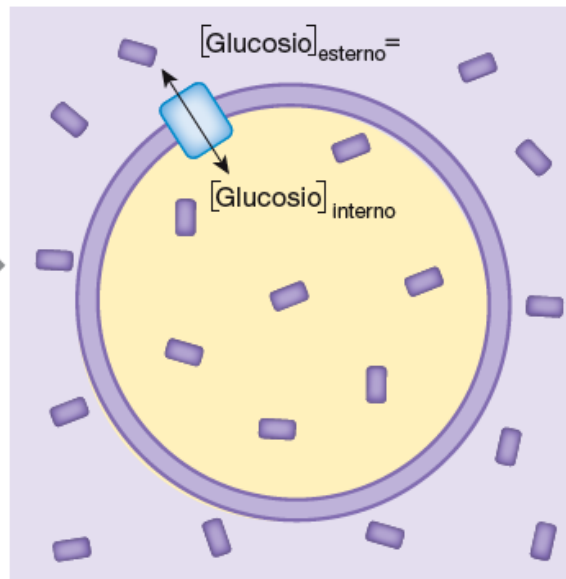
(b) Il maltosio è un inibitore competitivo che si lega al trasportatore GLUT ma non viene trasportato attraverso la membrana.

I GLUT spostano glucosio, galattosio, mannosio, fruttosio

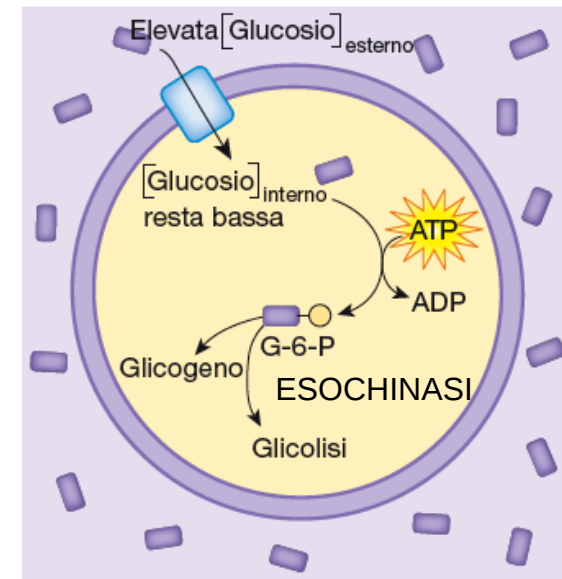
La diffusione del glucosio non raggiunge mai un equilibrio



(a) La **diffusione facilitata** porta il glucosio all'interno della cellula lungo il suo gradiente di concentrazione.



(b) La diffusione raggiunge l'equilibrio quando le concentrazioni di glucosio all'interno e all'esterno della cellula si uguagliano.

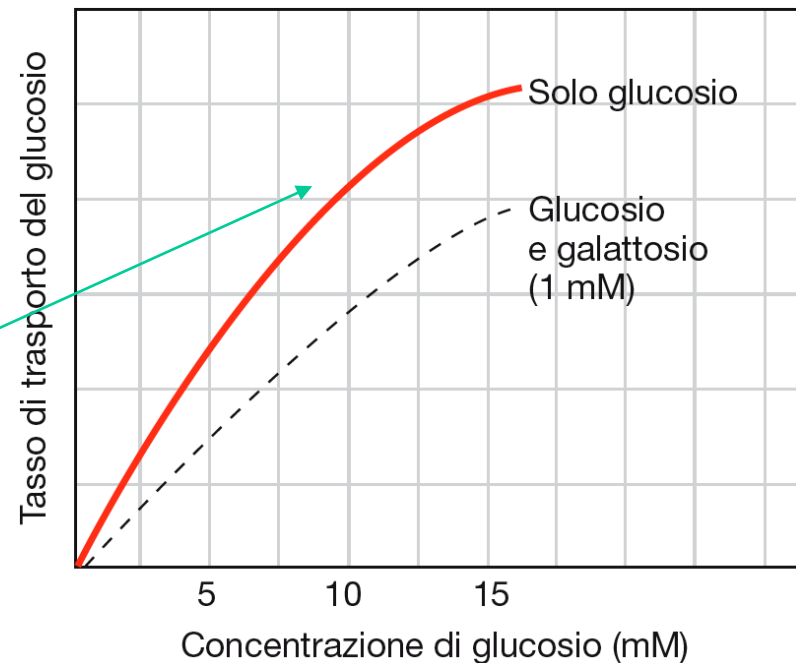


(c) La conversione del glucosio importato in glucosio-6-fosfato (G-6-P) mantiene le concentrazioni di glucosio intracellulare basse, in modo che la diffusione non raggiunga mai l'equilibrio.

DIFFUSIONE FACILITATA per zuccheri e AA

STEREOSPECIFICITA'
COMPETIZIONE
SATURAZIONE

Tutti i siti di legame del
trasportatore sono legati
al substrato



I GLUT spostano glucosio, galattosio, mannosio, fruttosio con diversa affinità.

Il galattosio compete per i siti di legame sui GLUT e spiazza alcune molecole di glucosio

Isoforme di trasportatori GLUT, con diversa distribuzione tissutale e diversa specificità per la molecola trasportata

TRANSITO DELLE SOSTANZE NELLA MEMBRANA

Tab. 4.3 – Isoforme della glucosio-permeasi e loro espressione nei diversi tessuti. L'affinità apparente per il glucide (il fruttosio nel solo caso della GLUT5) è espressa come K_M (in mMoli/litro); è anche indicata la dipendenza di ogni isoforma dall'ormone *insulina*.

Nome	Espressione	K_M	Dipendenza dall'insulina
GLUT1	Globuli rossi; capillari del SNC; rene	5	No
GLUT2	Fegato; cellule β del pancreas, intestino; rene	7	No
GLUT3	Neuroni; glia	1.8	No
GLUT4	Fibrocellule muscolari striate; cellule adipose	4.6	Sì
GLUT5	Intestino	(6)	No

GLUT5 più specifico per il fruttosio

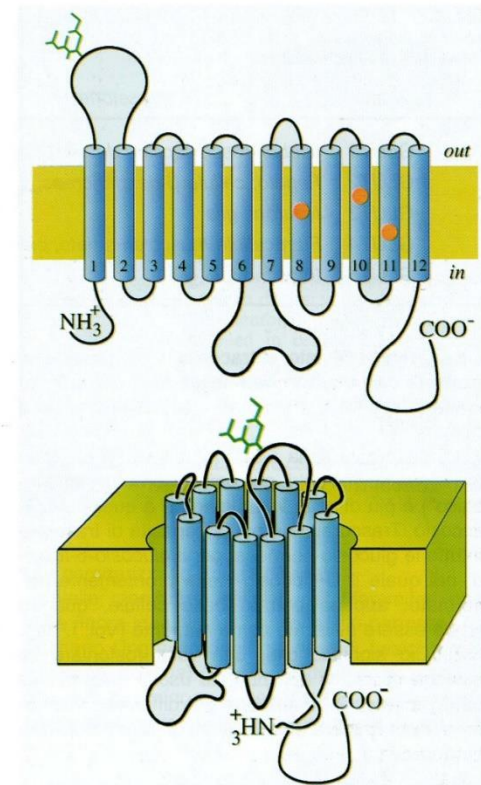
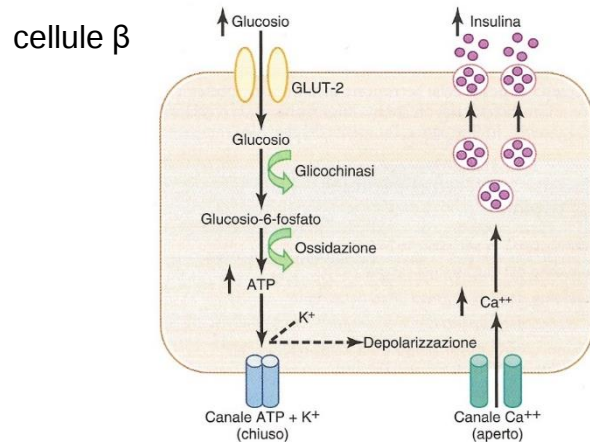


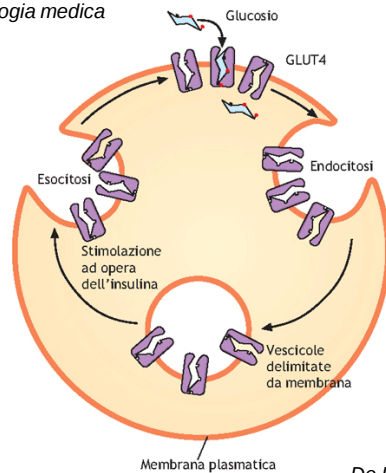
Fig. 4.25 – La molecola della glucosio-permeasi eritrocitaria (GLUT1) ha 12 segmenti idrofobici transmembrana (α-eliche), disposti in cerchio. L'ansa extracellulare tra i segmenti 1 e 2 è glicosilata. I cerchi rossi indicano i "siti" ai quali si presume si leghi il D-glucosio (e gli inibitori della sua diffusione facilitata).

Regolazione dell'attività del GLUT



Quando il glucosio ematico sale, la secrezione di insulina da parte delle cellule β del pancreas promuove l'inserimento di **GLUT4** in membrana in cellule adipose e muscolari.

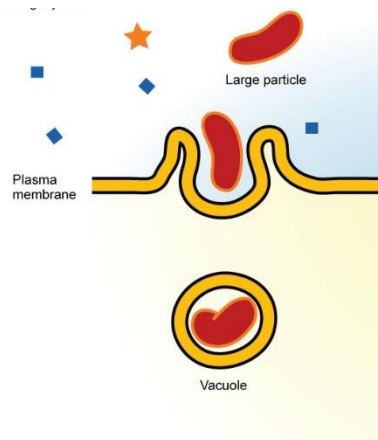
Guyton, Fisiologia medica



Quando il glucosio ematico scende cala la produzione di insulina e GLUT viene internalizzato.

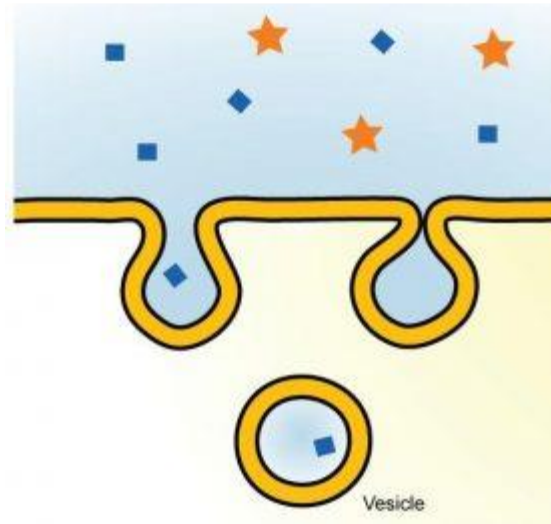
De Leo, Ginelli, Fasano
Biologia e Genetica
EdiSES

FAGOCITOSI



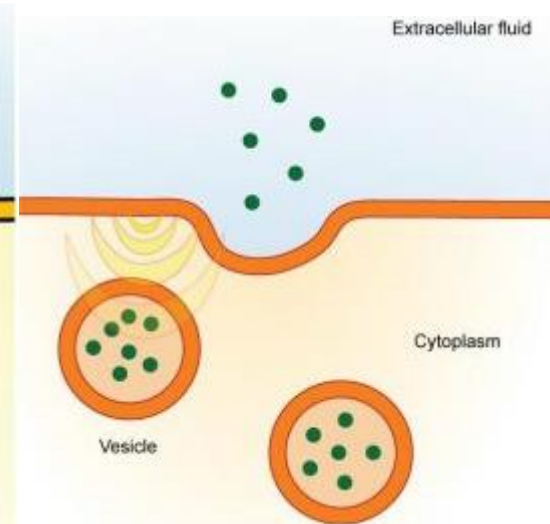
Interessa grandi
particelle o cellule.
Permette alle cellule
di inglobare virus,
batteri

PINOCITOSI



molecole di piccole
dimensioni vengono
internalizzate

ENDOCITOSI



molecole specifiche
riconosciute da recettori
sono internalizzate;
sfruttata anche da virus

Trasporto passivo facilitato

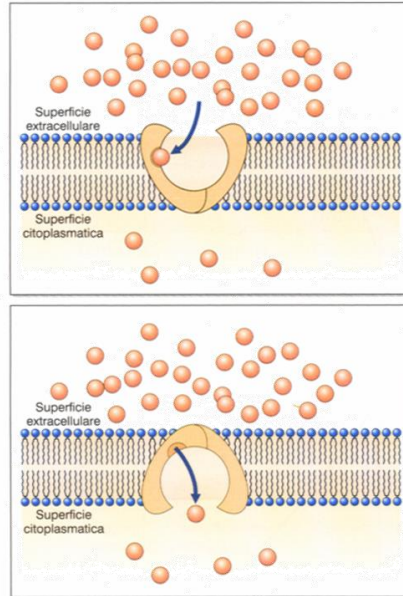


Figura 2.2 Rappresentazione schematica del trasporto passivo facilitato: il trasportatore espone alternativamente il sito di legame all'esterno e all'interno. Il substrato tende a legarsi sul lato dove è più concentrato e a essere liberato dove lo è meno.

Fisiologia medica, edi-ermes

Trasporto attivo primario

POMPE

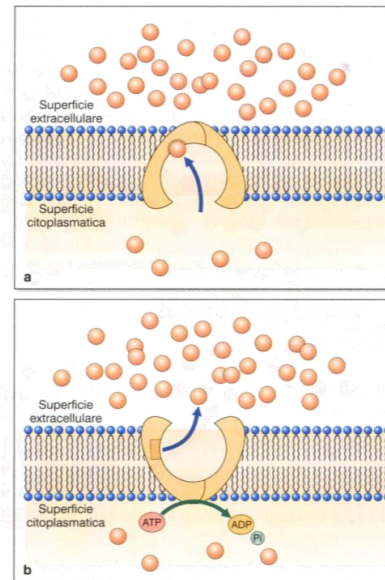
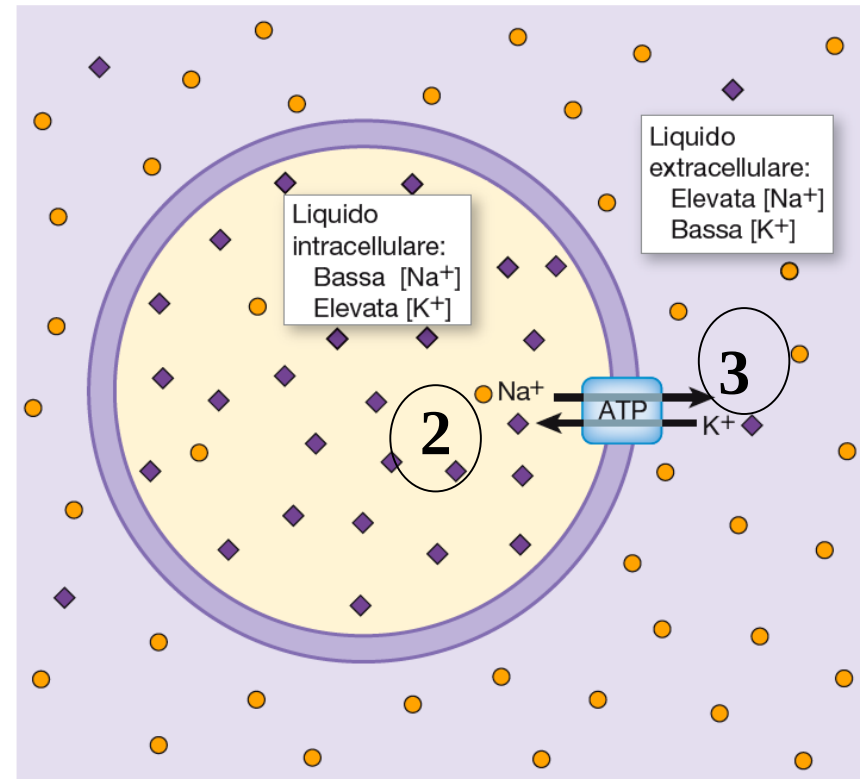


Figura 2.3 Rappresentazione schematica del trasporto attivo primario (pompa): ATPasi protoniche (e calcio-ATPasi). **a.** Scambio intracellulare: la pompa carica il substrato (H^+ o Ca^{2+}), nonostante la bassa concentrazione, grazie all'alta affinità. **b.** Idrolisi dell'ATP: l'energia è usata per produrre il cambiamento di conformazione con riduzione dell'affinità per il substrato. Segue lo scambio extracellulare: la pompa libera il substrato, nonostante l'alta concentrazione, grazie alla bassa affinità.

Trasportatori e pompe sono proteine integrate nello strato lipidico

La pompa $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasi

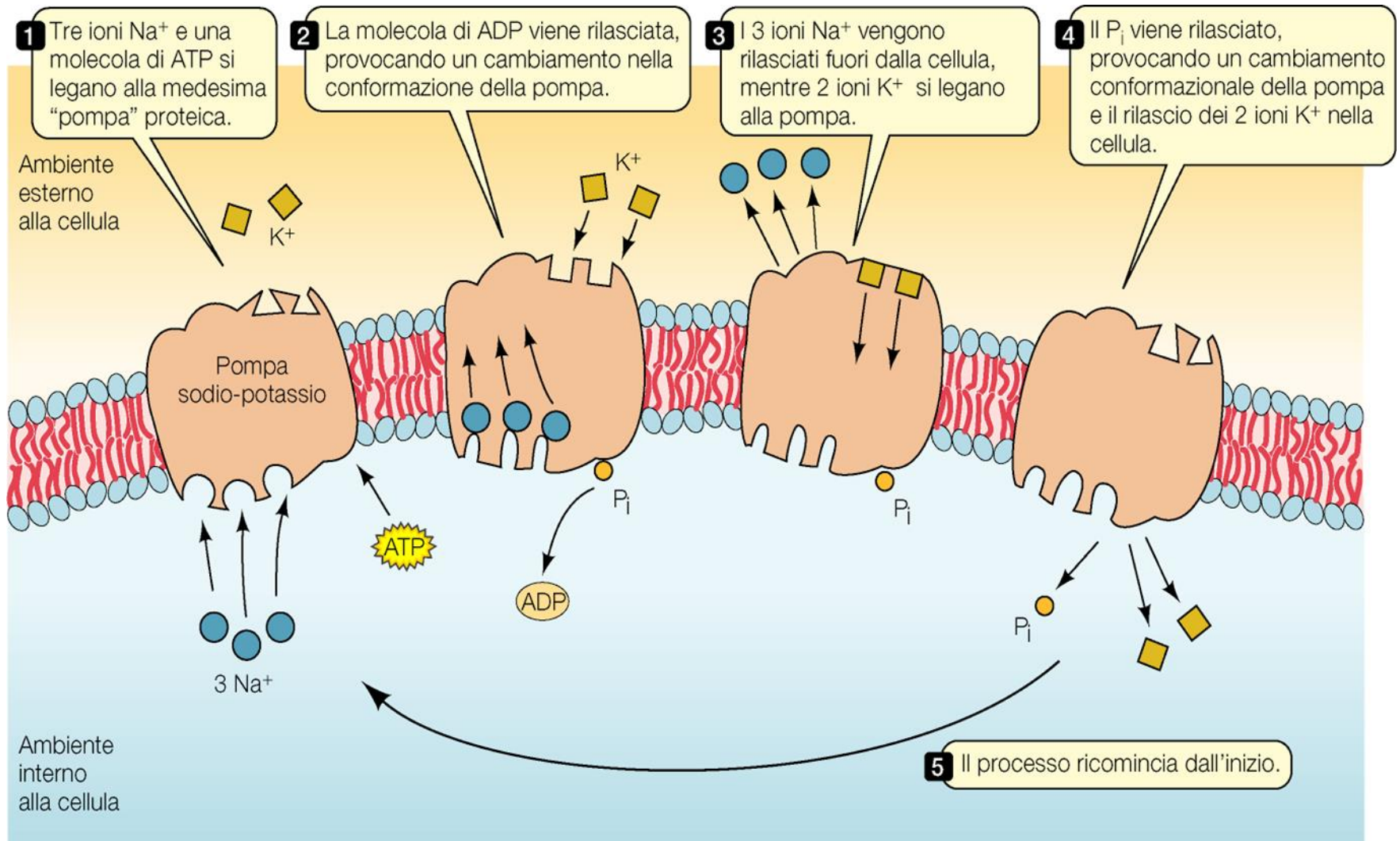


La $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPasi utilizza energia dall'ATP per pompare Na^+ fuori dalla cellula e K^+ all'interno della cellula.

Presente nella membrana plasmatica di tutte le cellule, nelle cellule epiteliali è sulla membrana basolaterale. Costituita da una subunità catalitica α e una regolatrice β .

Antiporto con stechiometria 3:2. Pompa elettrogenica

Presunto meccanismo di funzionamento della pompa

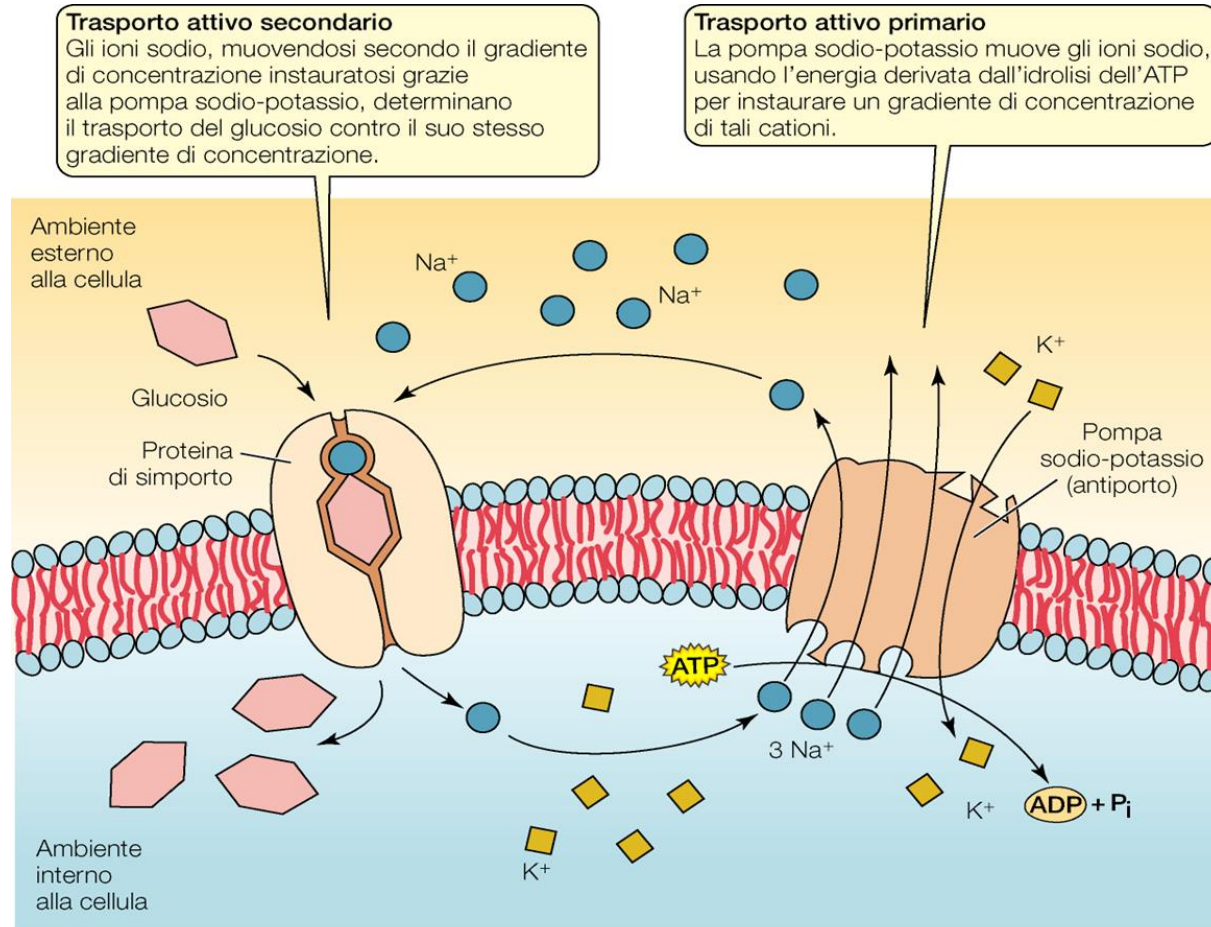


Due stati conformazionali, uno con siti di legame per gli ioni rivolti verso il citoplasma, l'altro con siti rivolti verso l'ambiente extracellulare.

TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO

Simporto Na^+ -glucosio

Il Na^+ favorisce l'affinità della molecola carrier per il glucosio



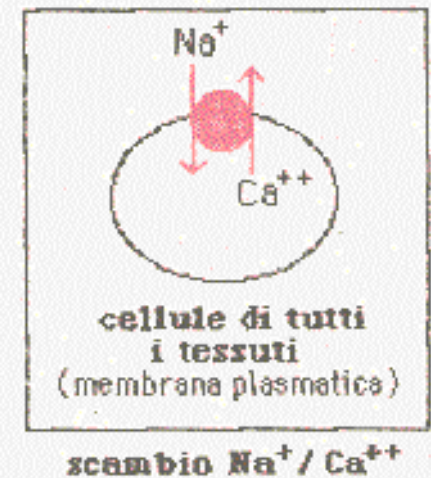
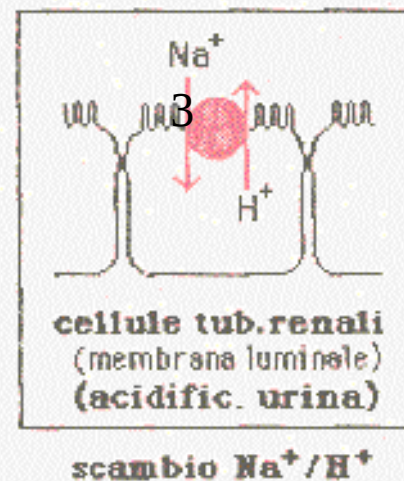
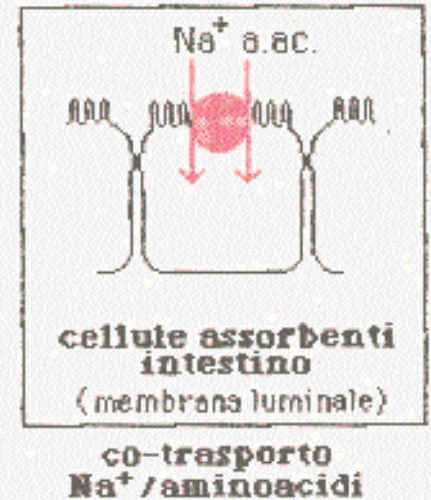
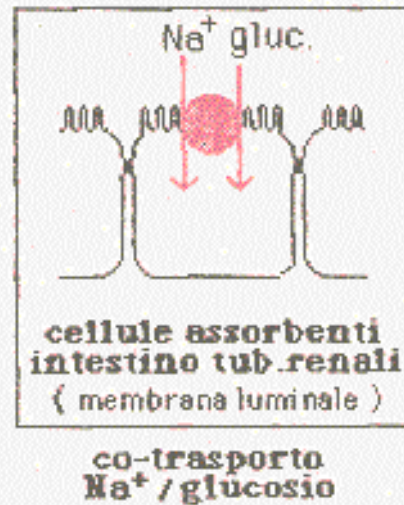
Il TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO

utilizza un gradiente elettrochimico transmembrana per spingere altre molecole contro il loro gradiente di concentrazione. Il movimento di uno ione che segue il suo gradiente elettrochimico è accoppiato al trasporto di un'altra molecola (glucosio o un AA).

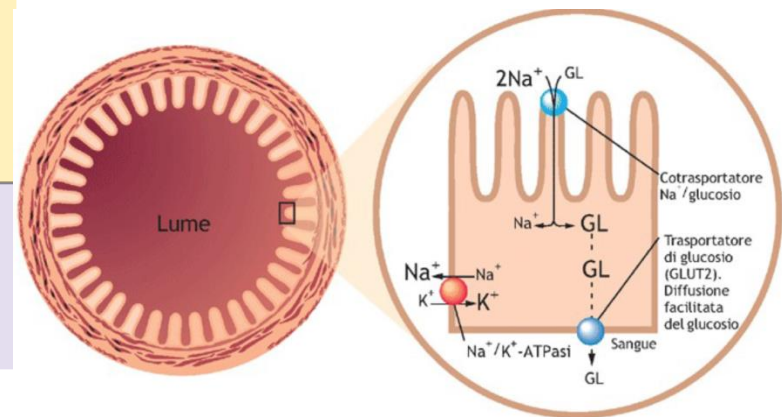
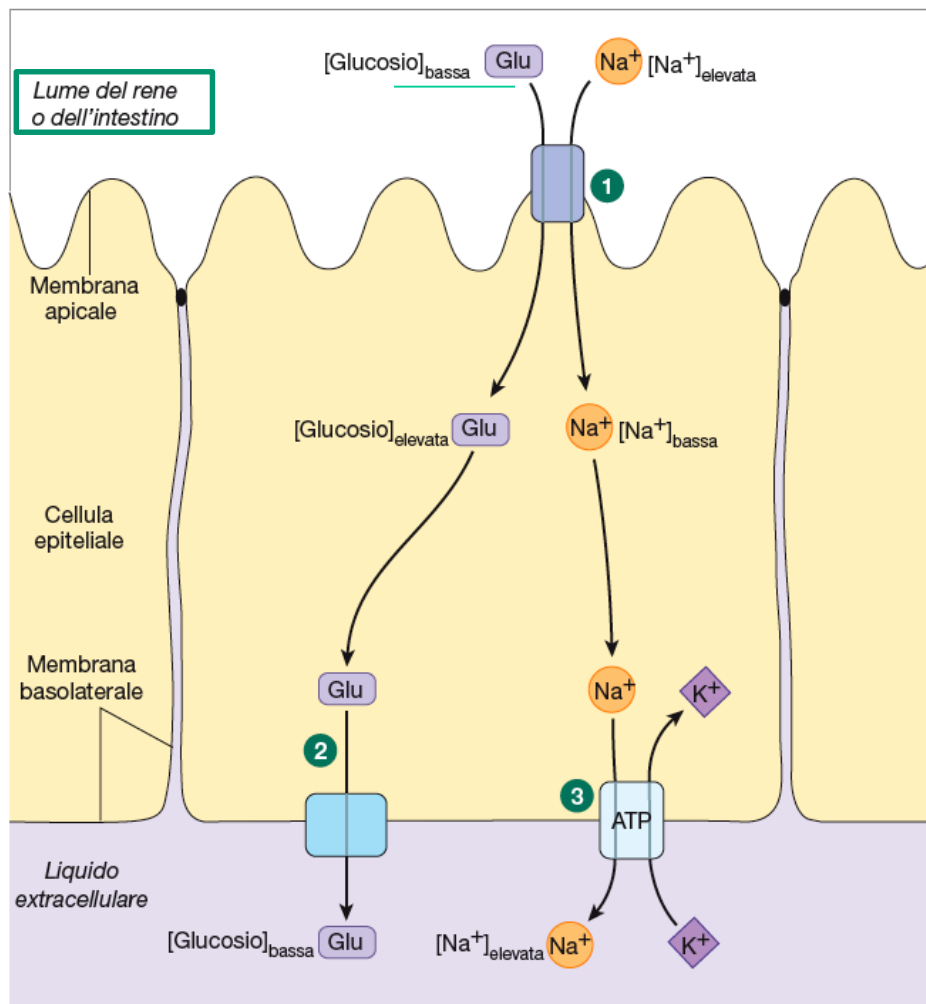
Tutti i trasporti attivi secondari dipendono dal trasporto attivo primario

Trasporto attivo secondario Na^+ dipendenti

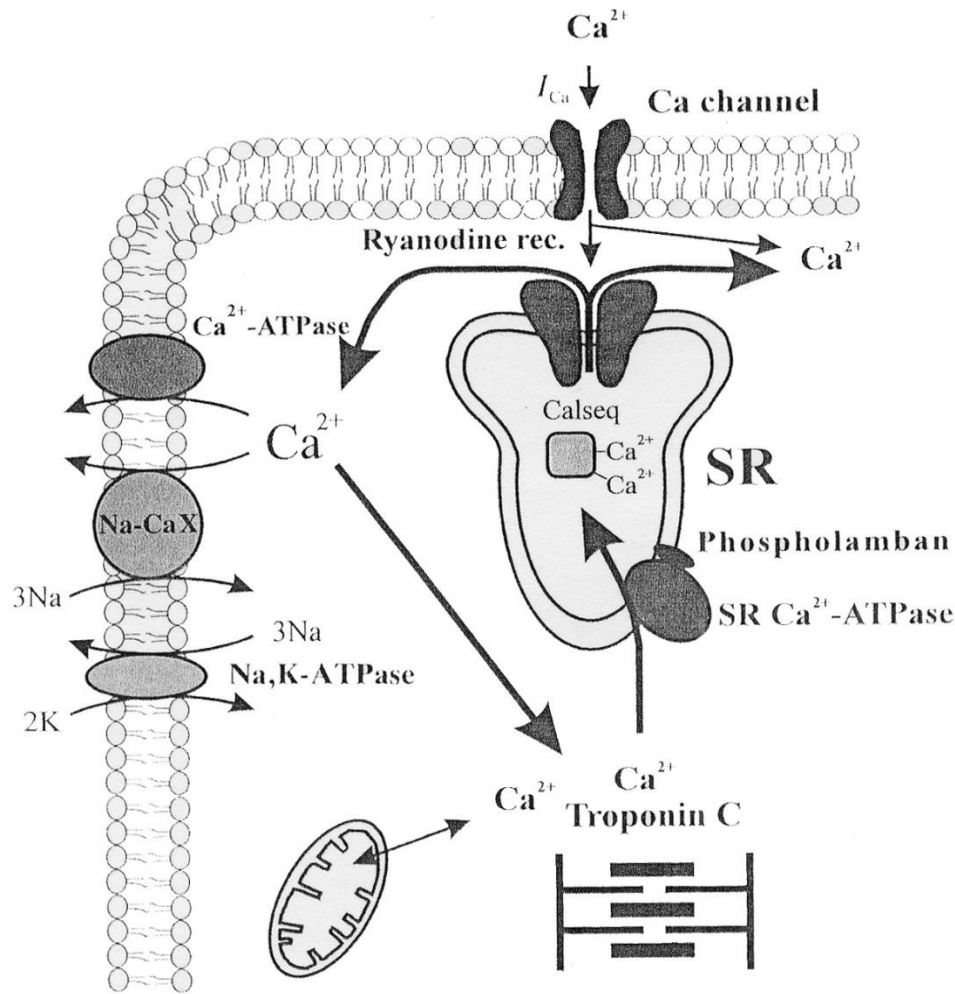
Il carrier ha due siti di legame,
uno per lo ione
e l'altro per la molecola trasportata



Solo in cellule assorbenti dell'intestino e tubuli renali nella stessa cellula il trasporto di glucosio può seguire diverse modalità

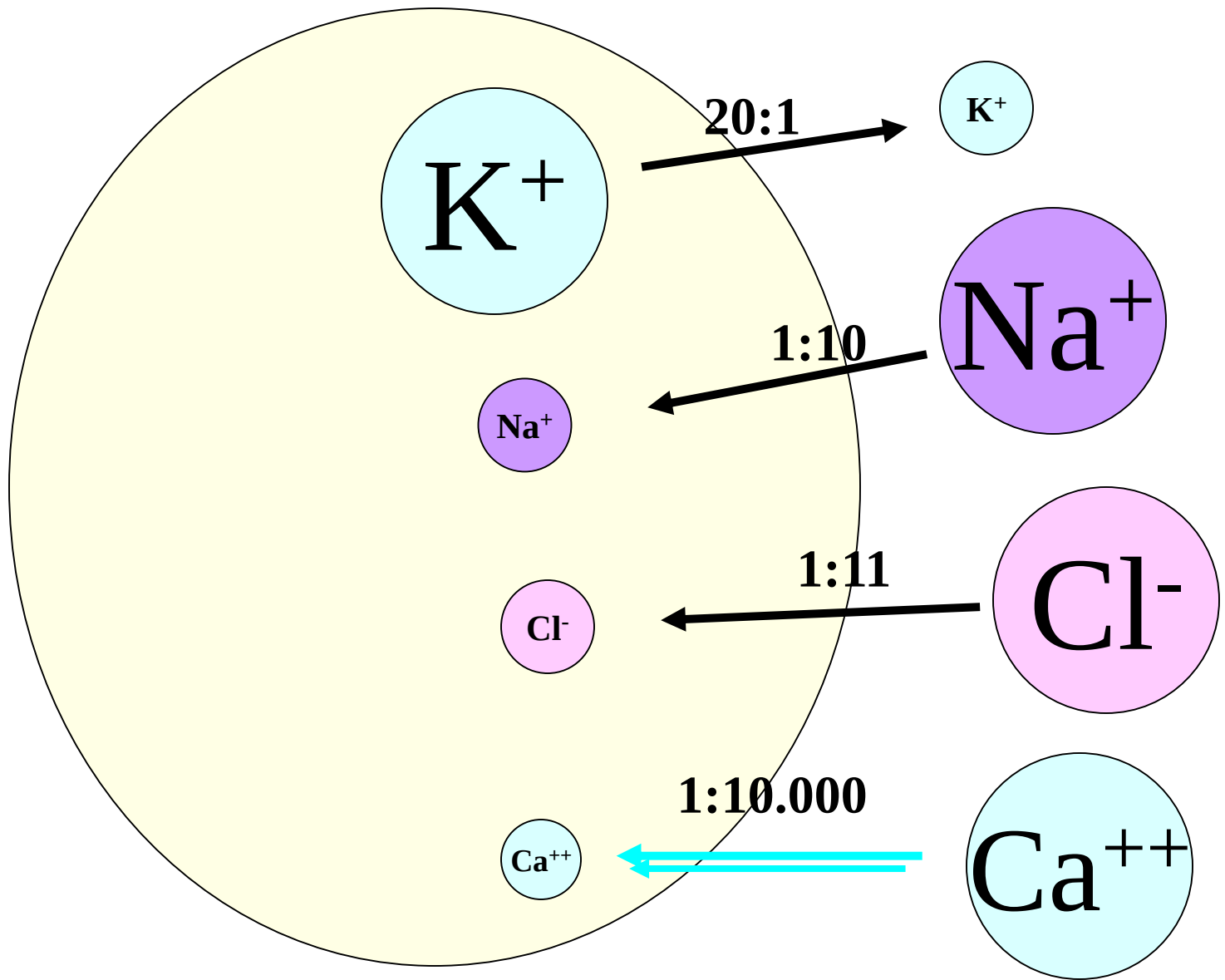


Pompa ionica Ca^{2+} -ATPasica



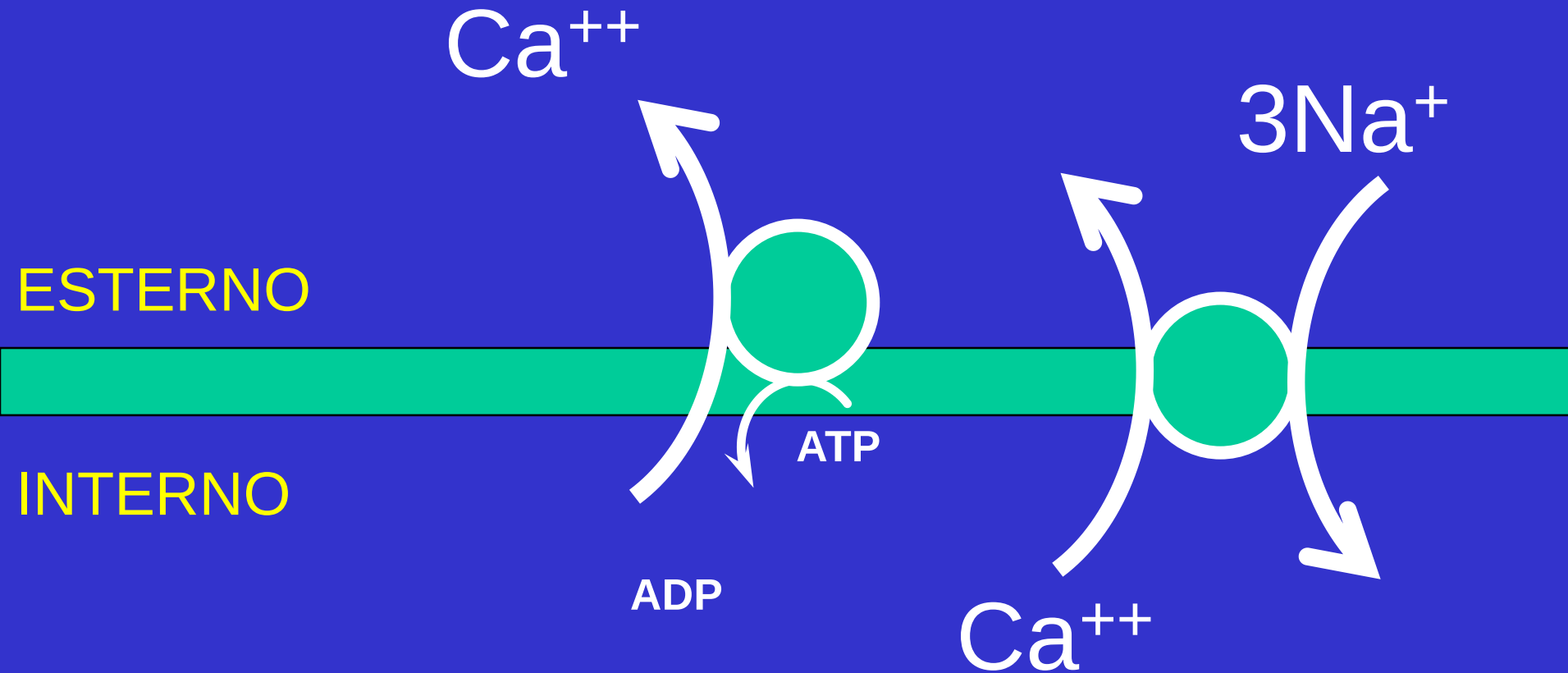
Nel lume di SR il $[\text{Ca}^{2+}]$
può arrivare a 10^{-2} M

Schematic diagram of Ca^{2+} fluxes in cardiac cell. Na-CaX, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger; Calseq, calsequestrin; Ryanodine rec., ryanodine receptor; I_{Ca} , slow inward Ca^{2+} current; SR, sarcoplasmic reticulum.



Ci sono 4 ioni importanti, K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Cl^- . Tre sono più concentrati all'esterno, uno (K^+) all'interno

Meccanismi responsabili del gradiente di Ca^{2+}



Pompa del Ca^{2+}

Scambiatore $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$

Con affinità minore per il Ca^{2+}

Trasporti attraverso membrane cellulari

Trasporti mediati

Diffusione libera
nella matrice
fosfolipidica

Migrazione
in canali
di membrana

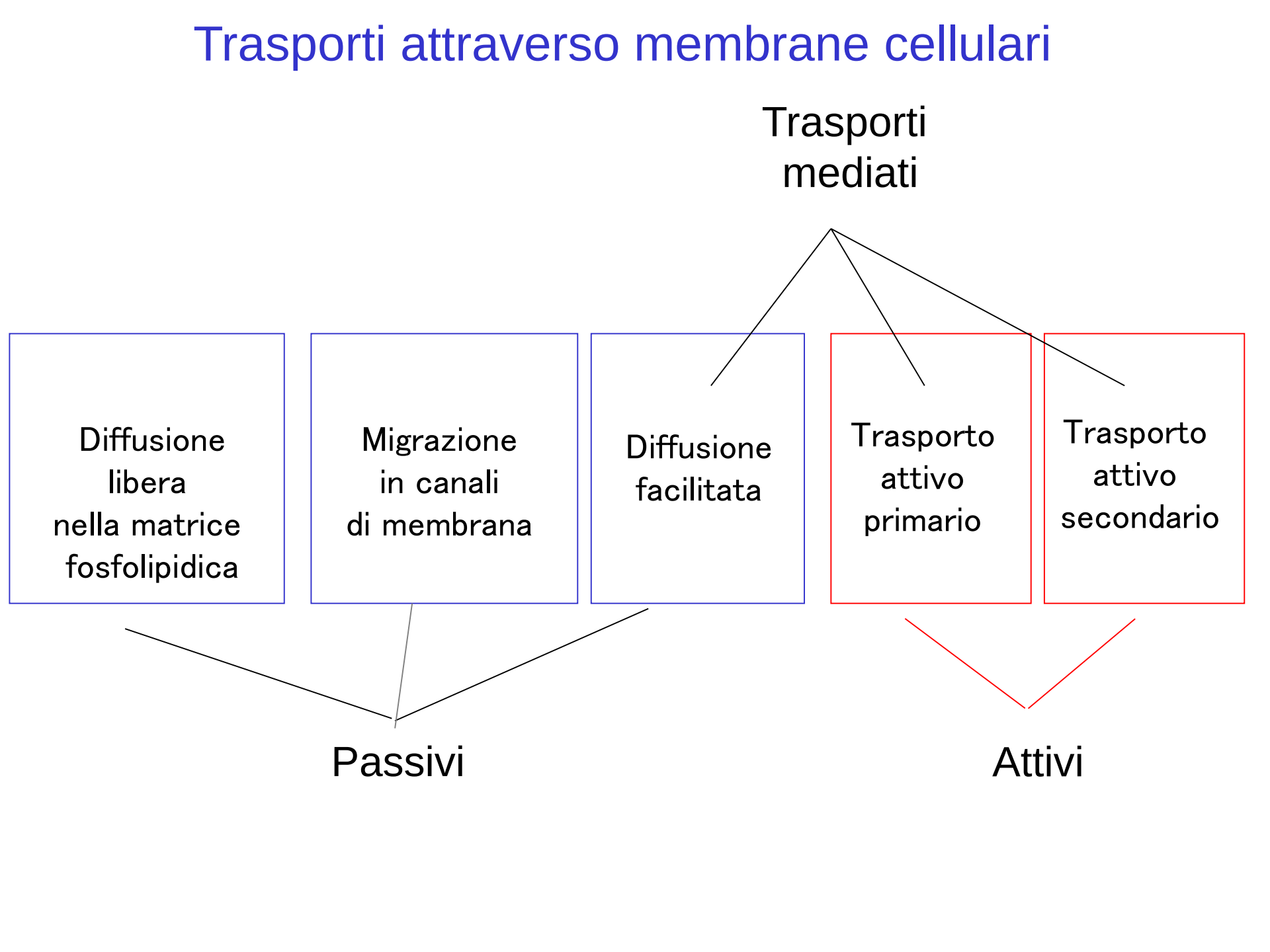
Diffusione
facilitata

Trasporto
attivo
primario

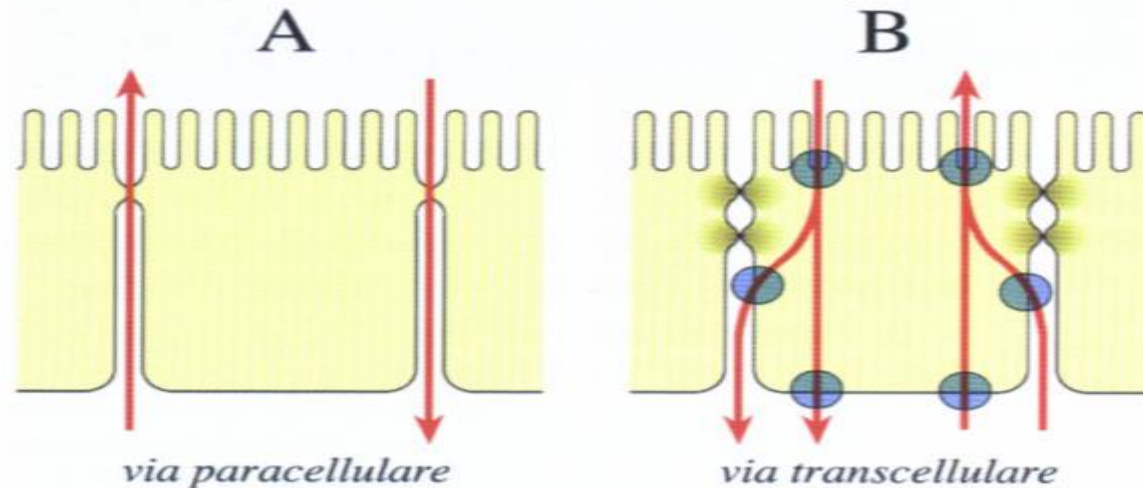
Trasporto
attivo
secondario

Passivi

Attivi



Trasporto epiteliale per via paracellulare o transcellulare



Principi di Fisiologia e Biotisica della cellula, La Goliardica

Via paracellulare: passaggio a favore del gradiente negli interstizi tra le cellule, lasciati liberi dalle giunzioni intercellulari (intestino tenue, tubuli contorti prossimali; la capacità di tenuta delle *zonule occludens* dei complessi giunzionali non è alta)

Via transcellulare: passaggio attraverso il corpo cellulare (colon, dotti collettori del rene)

Canali ionici: a cosa servono?

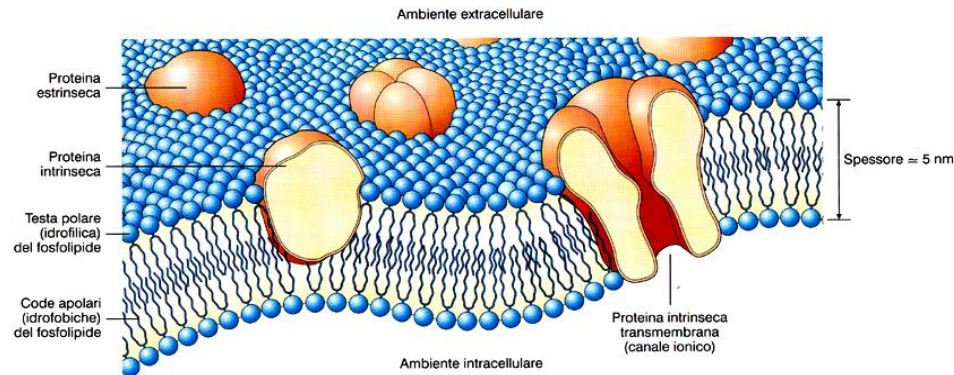


Figura 3.2 Canali ionici. Essi rappresentano la via prevalentemente utilizzata dagli ioni per transitare attraverso la membrana cellulare. Sono costituiti da grosse macromolecole proteiche che attraversano da parte a parte il doppio strato fosfolipidico (proteine transmembrana).

Rappresentano un modo **efficace** e **controllato** per facilitare il passaggio di ioni attraverso le membrane.

Il **controllo** è necessario per mantenere un esatto **equilibrio** tra concentrazione interna ed esterna degli ioni affinché le strutture cellulari svolgano al meglio le loro funzioni.

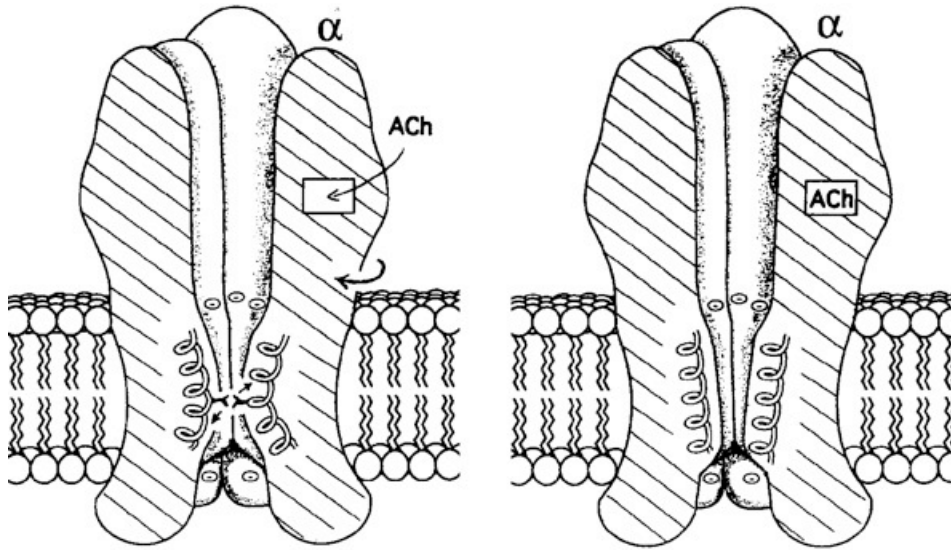
Perché studiare i canali ionici?

- Sono alla base dell'omeostasi ionica
- Regolano funzioni vitali
- Rappresentano il sito bersaglio di moltissimi farmaci per il trattamento di patologie quali:

- ☐ Aritmie cardiache
 - ☐ Miotonie
 - ☐ Diabete
 - ☐ Depressione
 - ☐ Epilessia
- e molte altre...

Diverse patologie sono associate a mutazioni che riguardano canali ionici: le **CANALOPATIE**

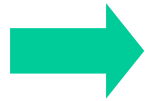
CANALI IONICI



Sono ben conservati a livello filogenetico: lo stesso canale si può trovare nella drosophila e nell'uomo.

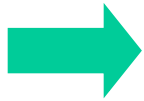
Proteine con segmenti trans-membranari organizzati in subunità proteiche; la giustapposizione di subunità a cerchio crea un poro idrofilo attraverso la membrana fosfolipidica

Canali ionici **DI LEAK**

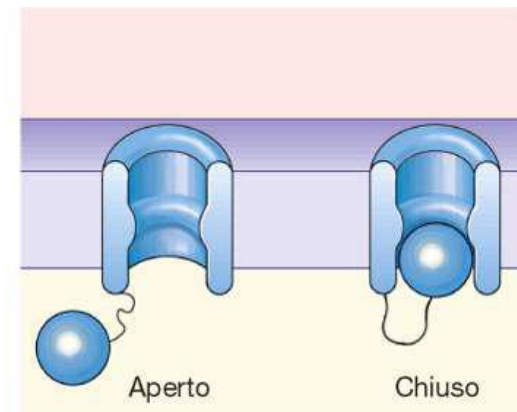
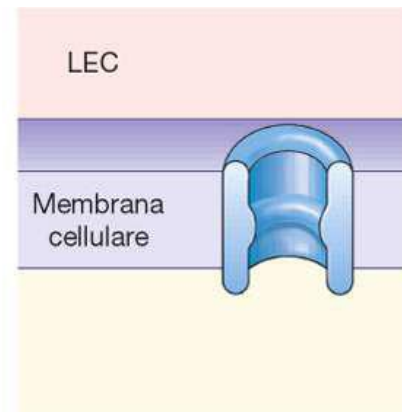


sono sempre aperti e determinano
il potenziale di membrana a riposo

Canali ionici **AD ACCESSO VARIABILE**



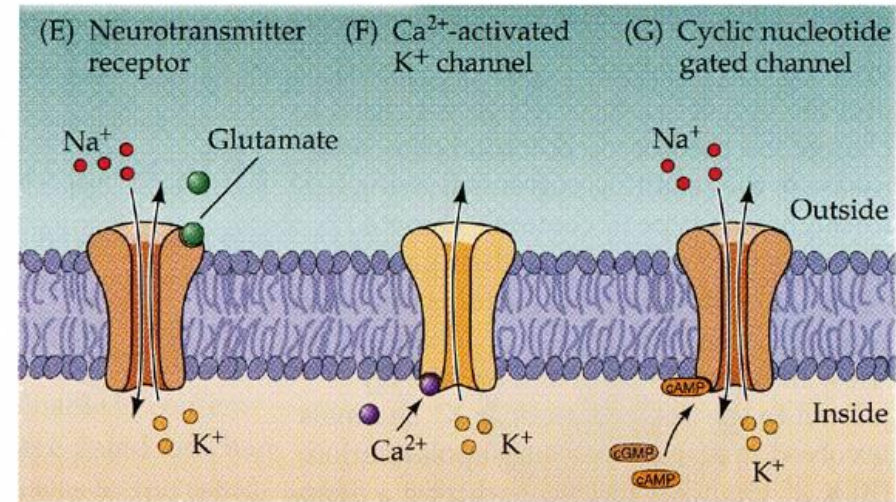
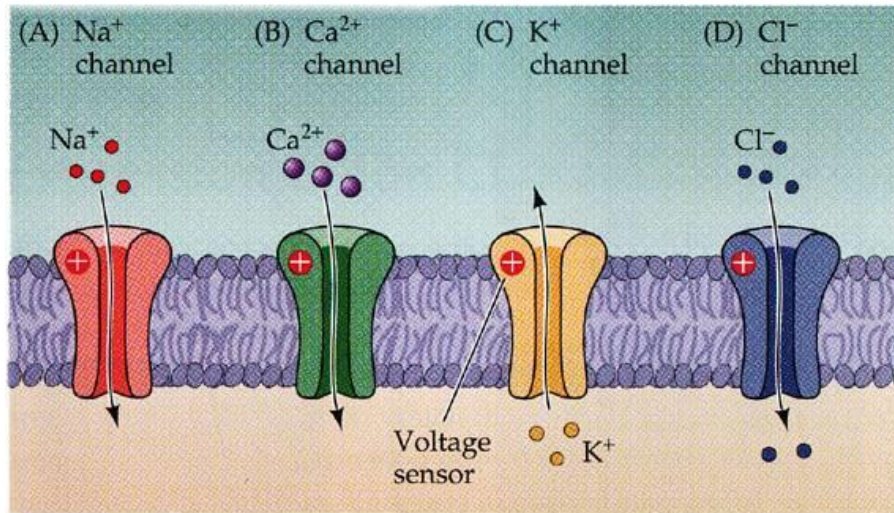
si aprono in risposta a degli stimoli



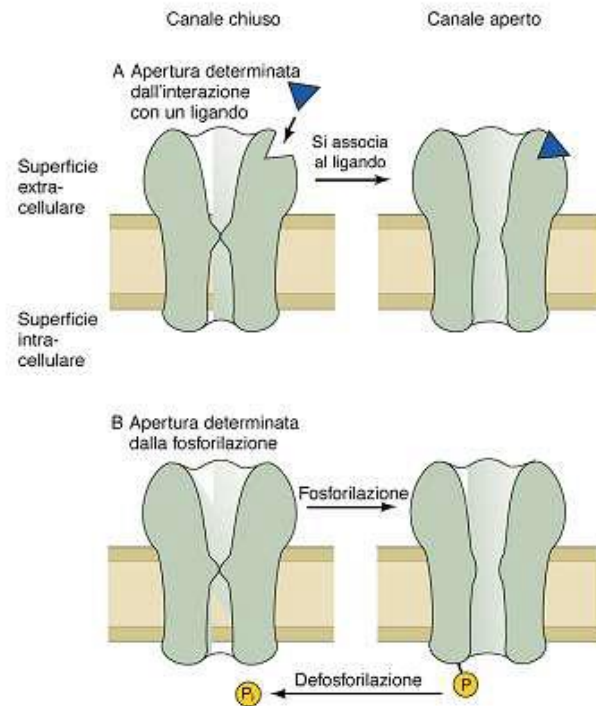
Canali ad accesso variabile: chi è responsabile della loro apertura?

Canali sensibili a :

- ligandi (neurotrasmettitori, secondi messaggeri)
- voltaggio (variazioni del potenziale di membrana)
- stimolo meccanico (stiramento o pressione)
- processi di fosforilazione



4. Modulazione del canale-Fosforilazione



L'apertura di alcuni canali può essere regolata dallo stato di fosforilazione di siti specifici ad opera di secondi messaggeri intracellulari

Cosa differenzia i vari tipi di canali ionici?

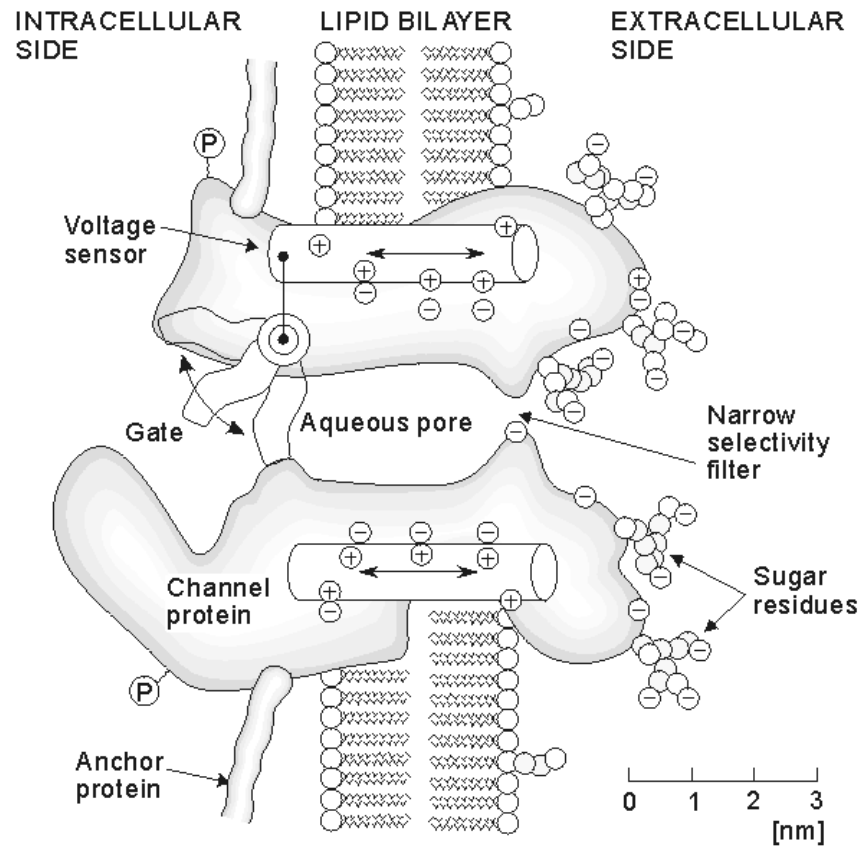
1. SELETTIVITÀ IONICA

2. MECCANISMO DI ATTIVAZIONE

3. MECCANISMO DI
INATTIVAZIONE/DESENSITIZZAZIONE

4. MODULAZIONE: interazione con diverse molecole:
di membrana, extracellulari o intracellulari
(es: fosforilazione)

I canali ionici voltaggio-dipendenti



Nota bene la dimensione delle molecole...

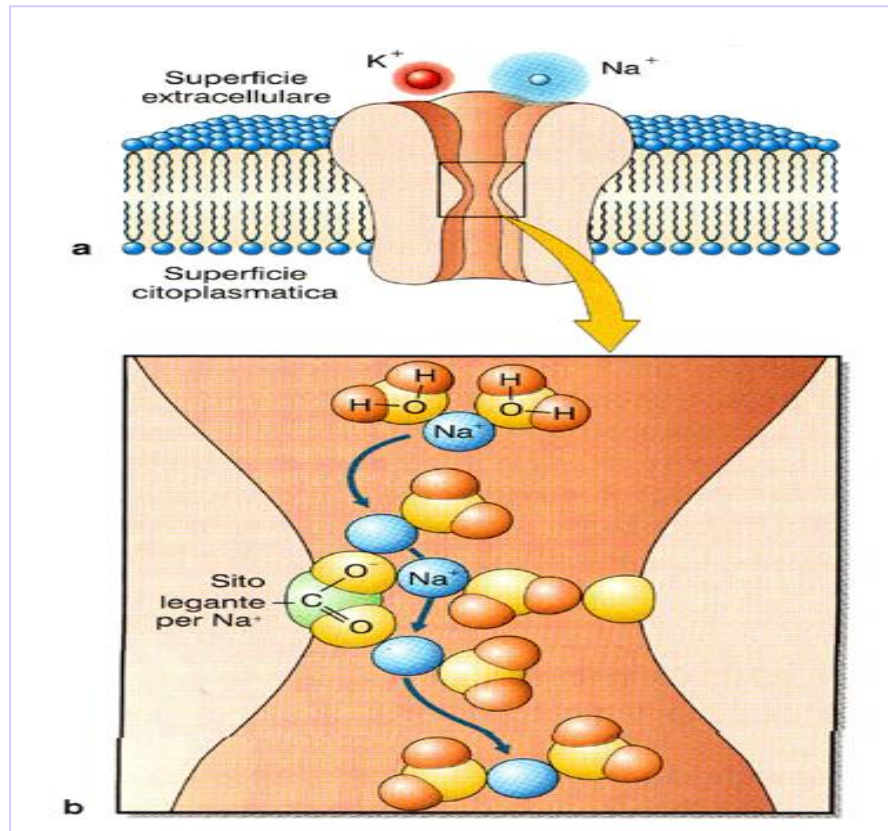
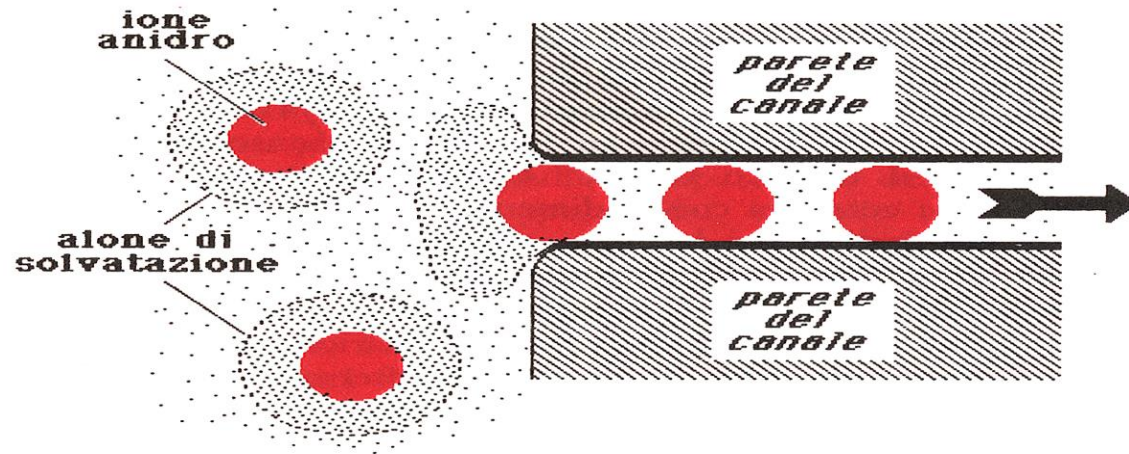


Figura 3.4 Selettività dei canali ionici. **a**, Gli ioni sono circondati da una corona di molecole d'acqua di dimensioni tanto più grandi quanto maggiore è la concentrazione della carica elettrica. Se si confrontano gli ioni Na^+ e K^+ , entrambi posseggono la stessa carica elettrica ma, avendo lo ione Na^+ dimensioni minori, la sua carica elettrica risulta più concentrata e, quindi, la "nuvola" di molecole di H_2O che lo circonda risulta più grande di quella attorno allo ione K^+ . **b**, Gli ioni interagiscono con residui aminoacidici presenti nel lume del canale (filtro di selettività), che si sostituiscono in parte all'acqua di solvatazione.

ione	raggio anidro	raggio idrato	strato idrico
Na ⁺	0.98	2.91	1.93
K ⁺	1.33	1.88	0.55
NH ₄ ⁺	1.45	1.89	0.44
Cl ⁻	1.80	1.92	0.12

A parità di carica, al crescere del raggio anidro diminuisce lo spessore dell'*alone di solvatazione*; le molecole di acqua sono trattenute tanto di più quando si trovano vicine al centro dello ione.

1. Selettività ionica



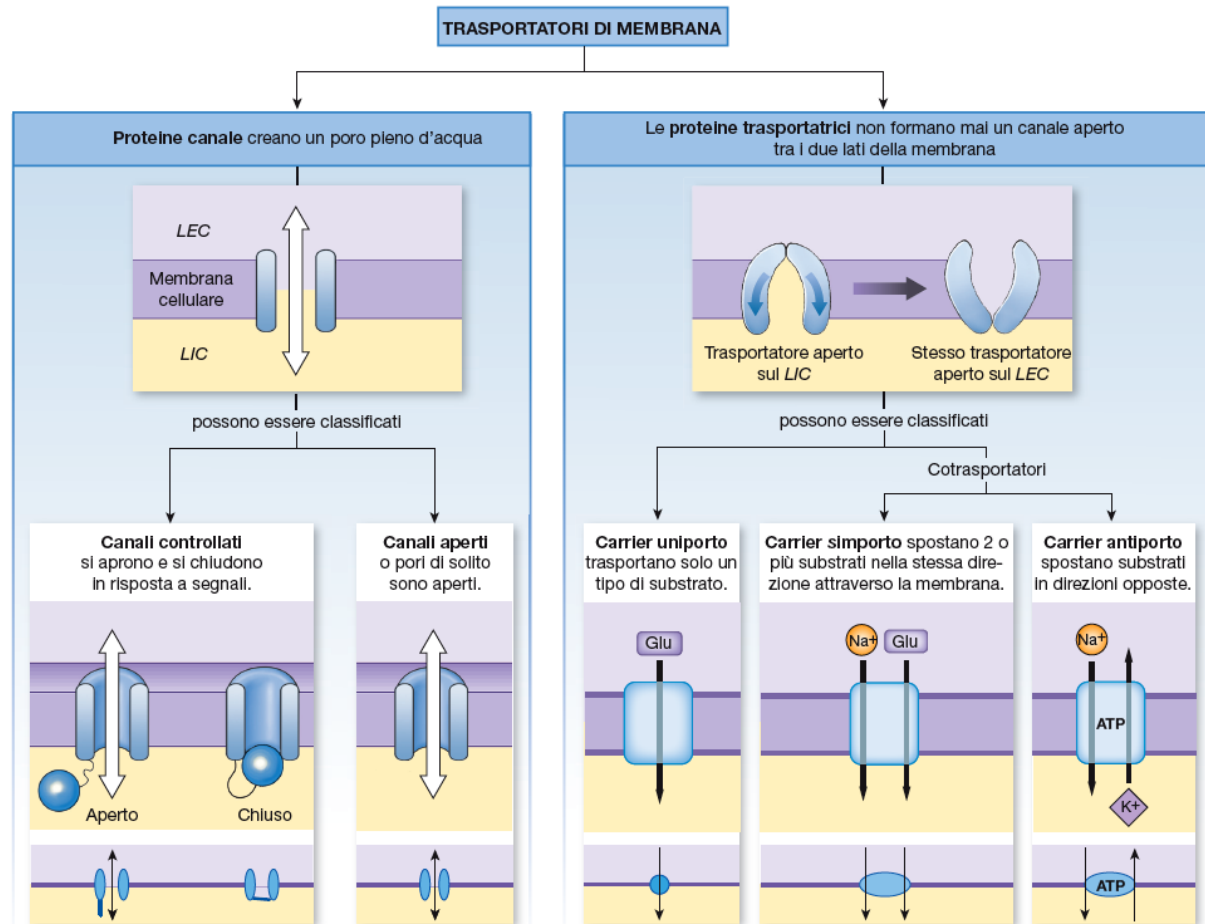
Disidratazione di un ione all'ingresso di un canale ionico.

Un **FILTRO DI SELETTIVITA'** molecolare carico stabilisce legami elettrici con lo ione.

La selettività ionica del canale dipende

- dal diametro del poro
- dalla carica degli AA che rivestono il canale
- dalla energia di idratazione

Non confondiamo i trasportatori con i canali...



Canali ad accesso variabile Canali di leak

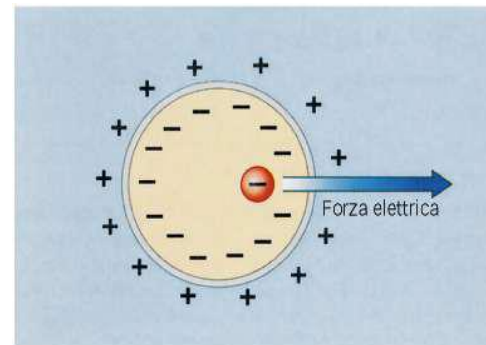
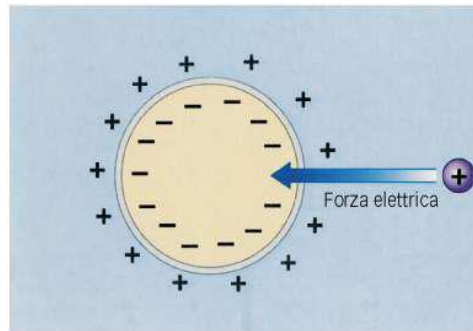
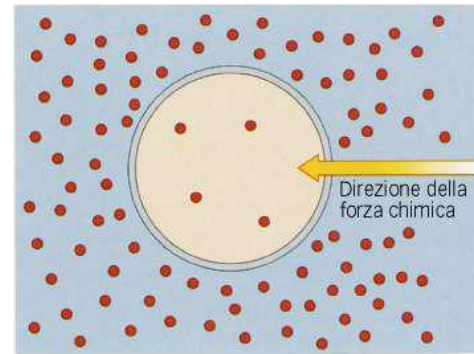
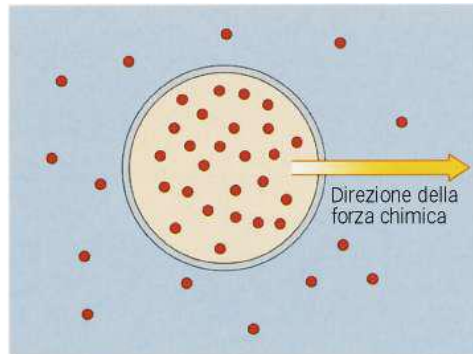
Canali ionici & Trasportatori

Nel CANALE il legame elettrostatico che si stabilisce tra il filtro di selettività e lo ione ha una forza inferiore a quella che nelle proteine TRASPORTATRICI si stabilisce tra particella trasportata e il sito attivo.

La durata del legame tra ione e canale è brevissima. Il ciclo operativo di un canale ionico è rapidissimo 10^4 - 10^5 ioni / sec
contro 10^2 particelle / sec per i trasportatori.

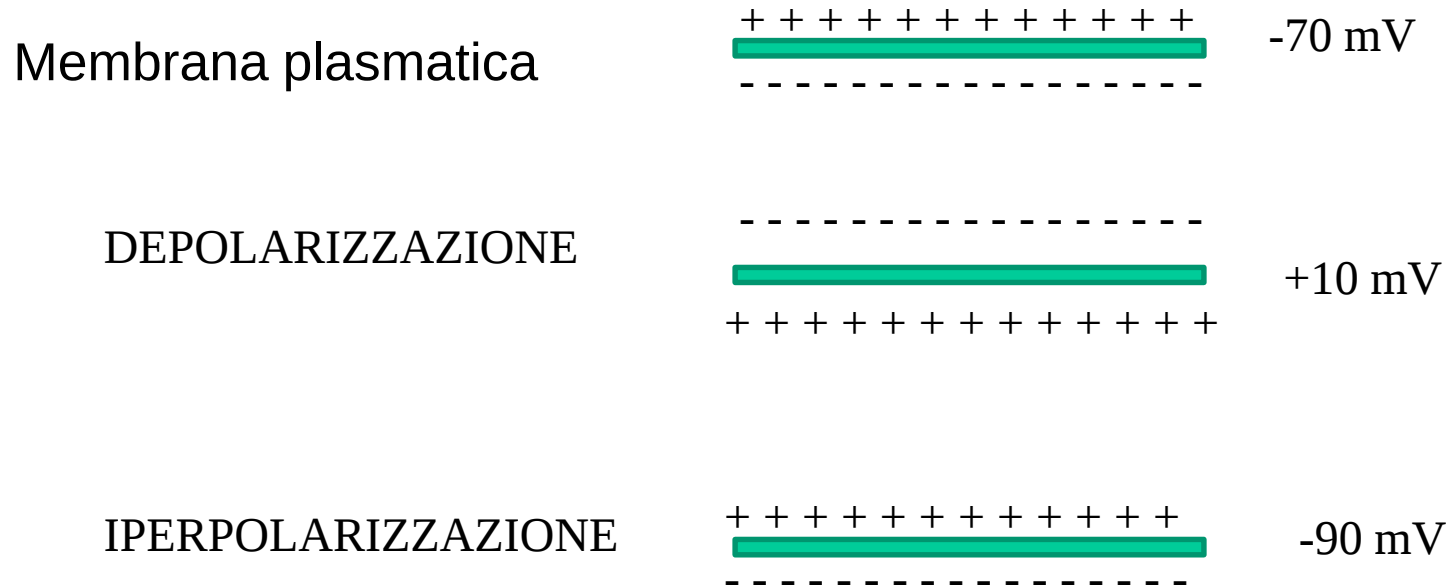
Nel canale la direzione del flusso ionico dipende dal **gradiente elettro-chimico** esistente ai capi della membrana:

Gradiente di concentrazione (forza chimica)



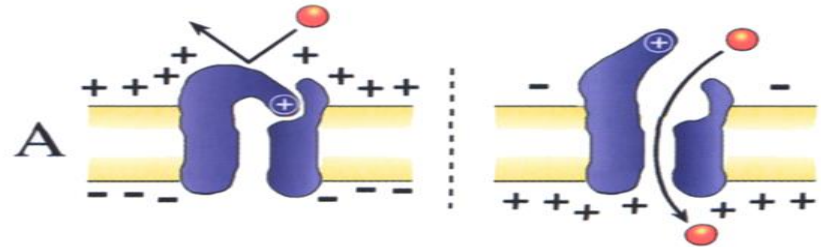
Differenza di potenziale elettrico (forza elettrica)

Depolarizzazione/iperpolarizzazione

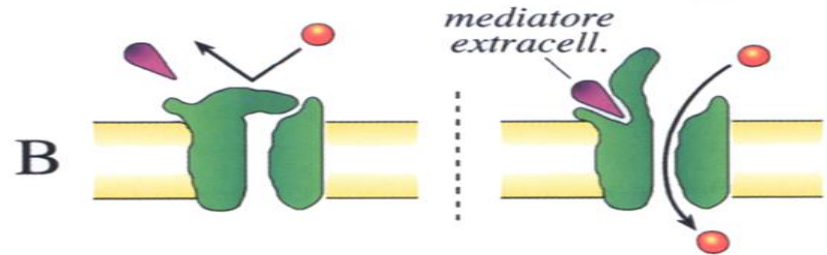


2. Attivazione

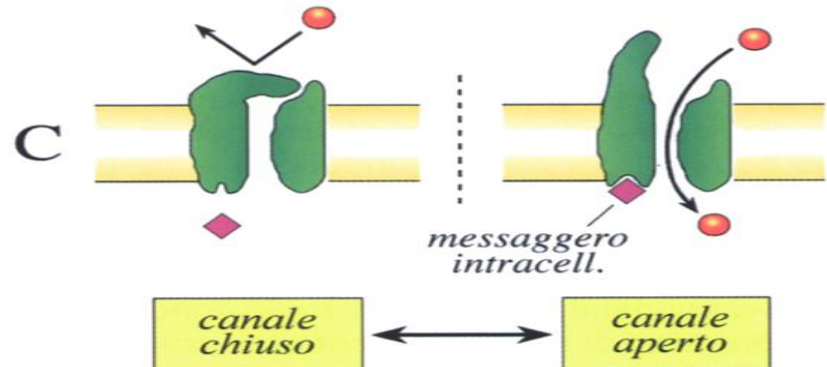
canale
voltaggio-dipendente



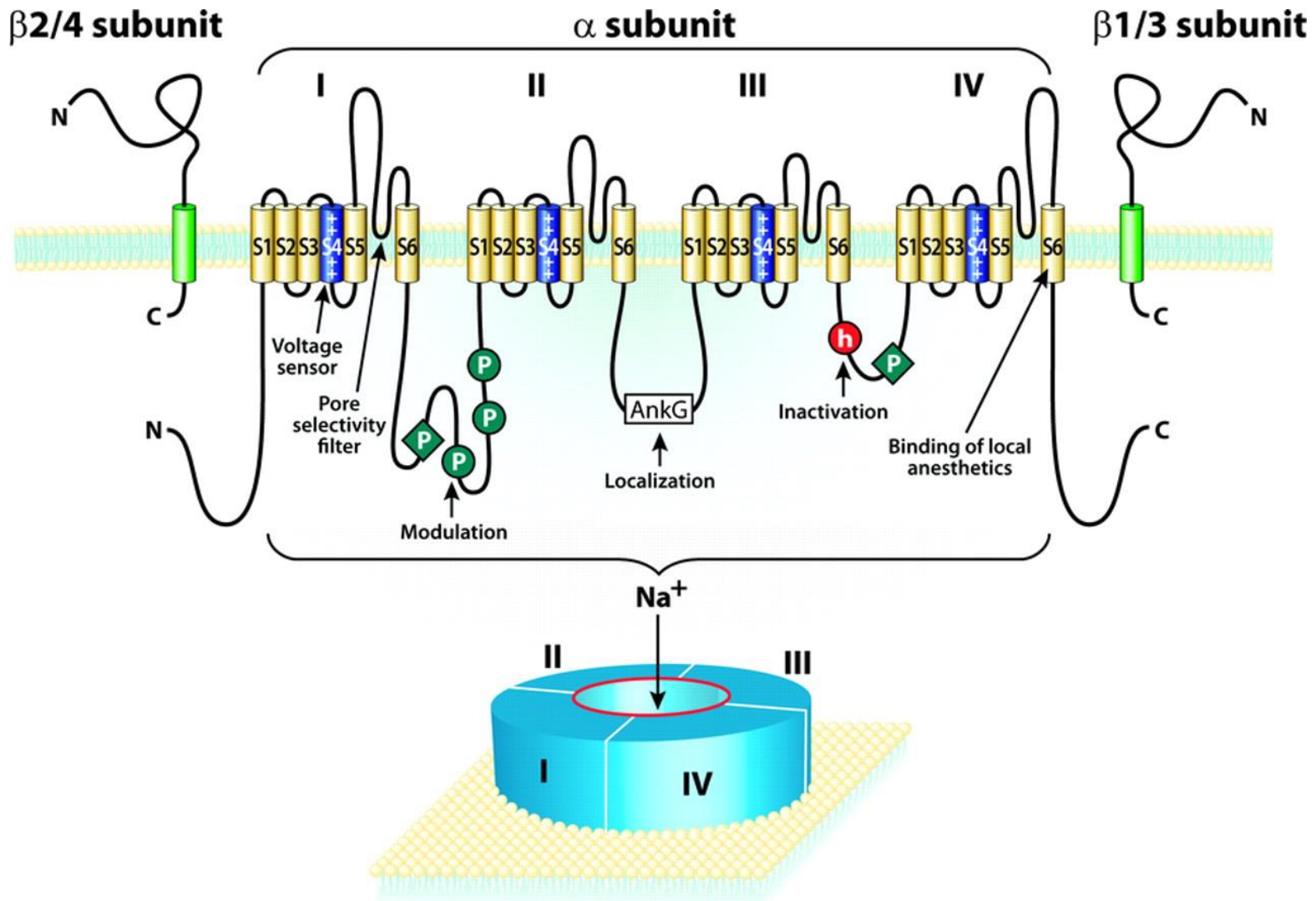
canale
ligando-dipendente
(recettore canale)



canale
attivato da messaggeri
intracellulari



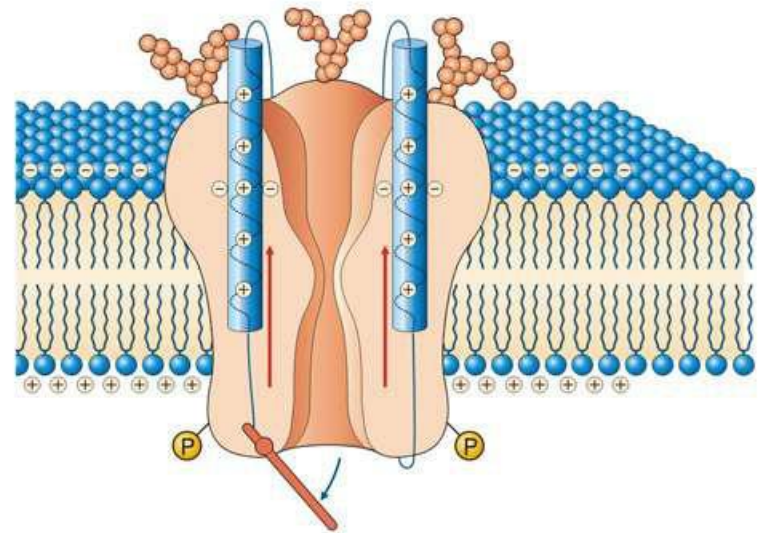
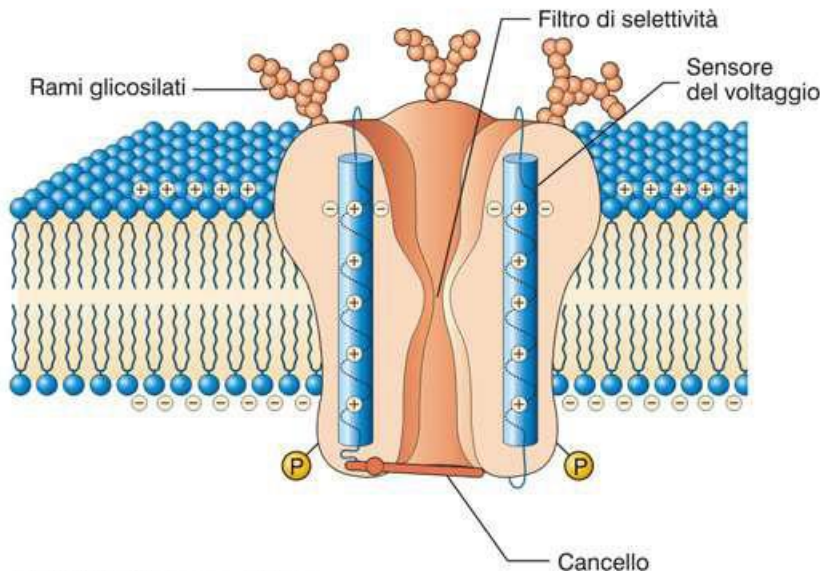
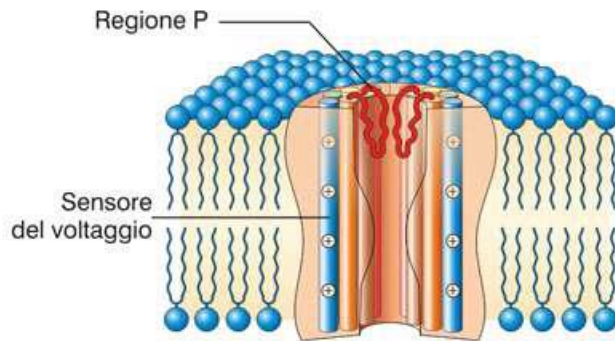
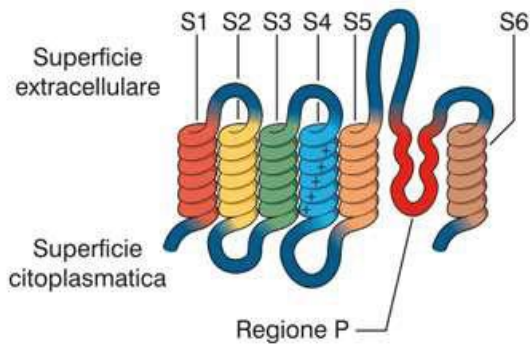
La struttura tridimensionale del canale Na^+ volt-dep



Canale Na^+ voltaggio-dipendente

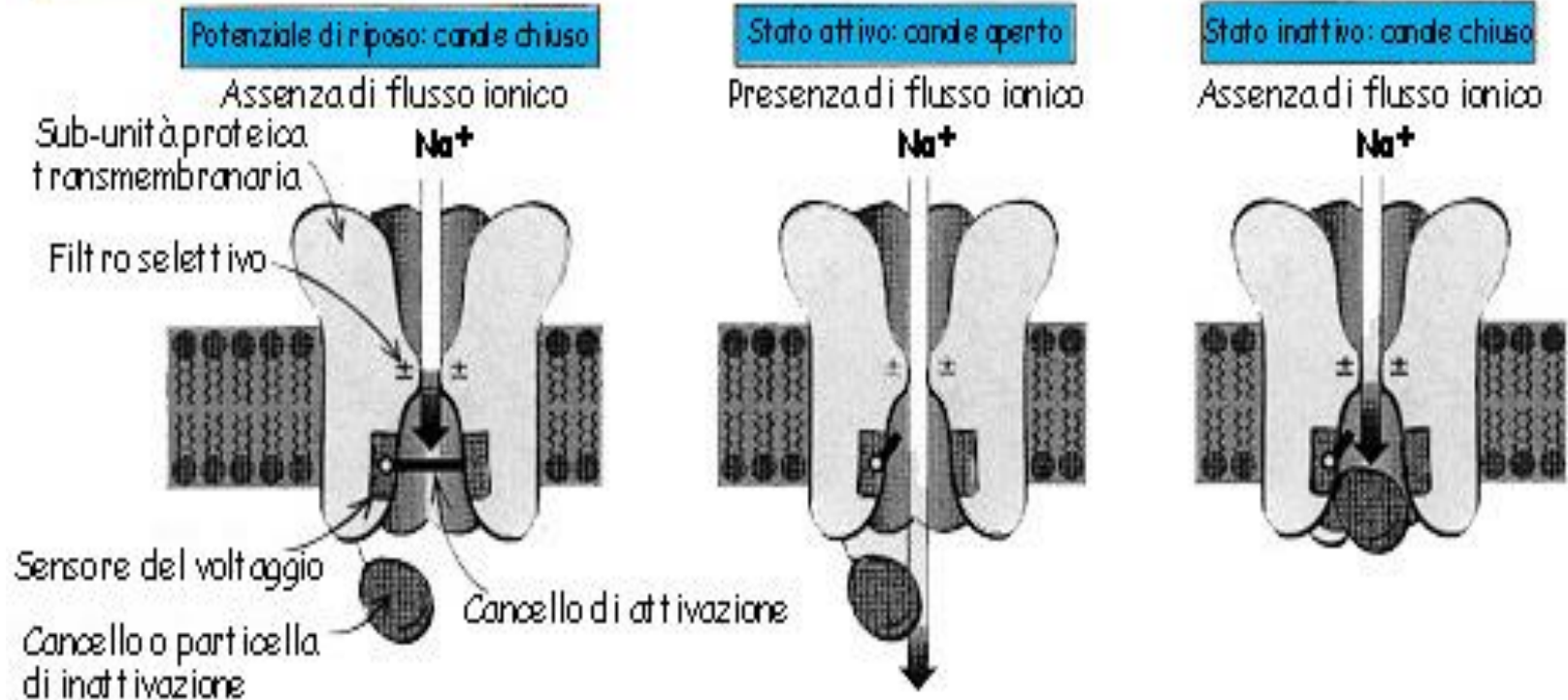
APERTURA

- La depolarizzazione determina uno spostamento verso l'esterno del segmento S4 (carico positivamente), che viene trasmesso al filtro di selettività.



il canale Na^+ voltaggio-dipendente

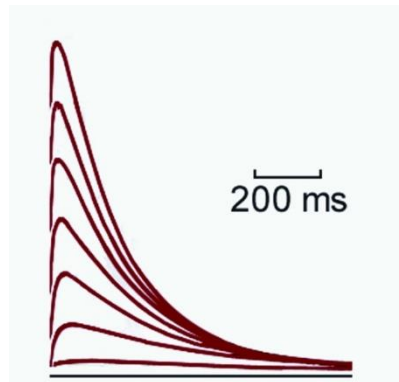
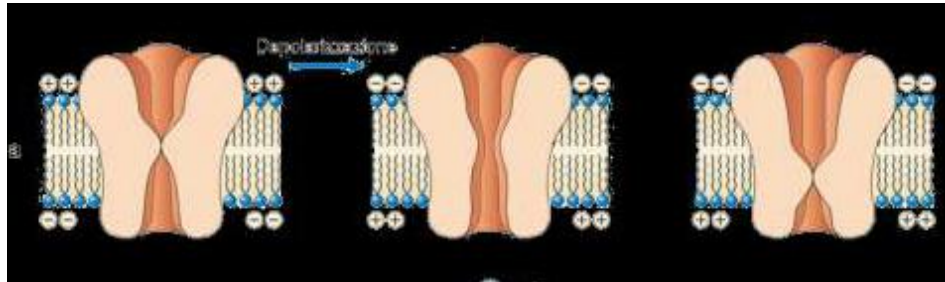
Schema di un canale per il Na^+



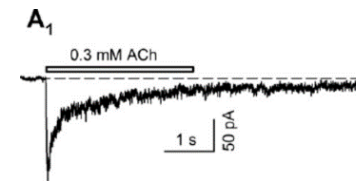
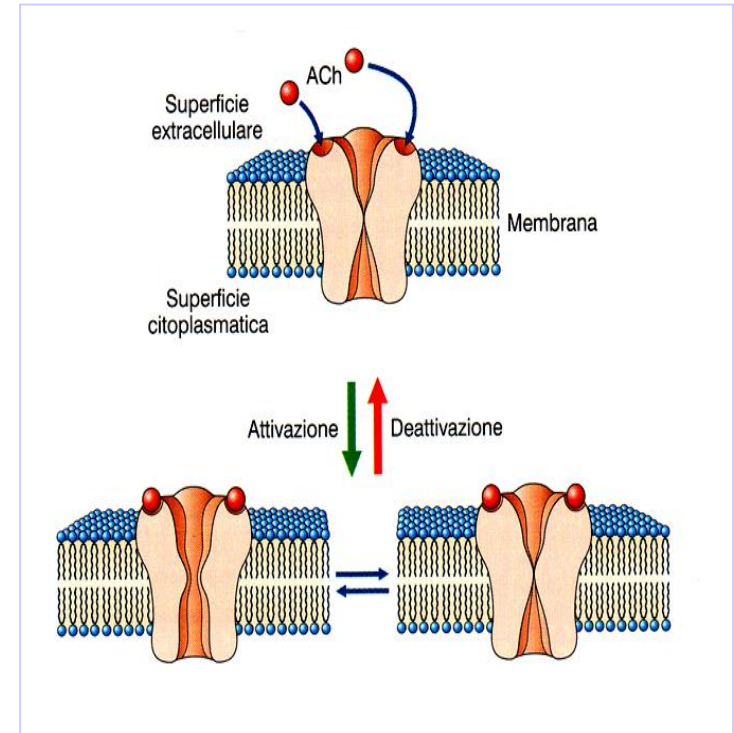
3. Inattivazione/Desensibilizzazione del canale

Canali voltaggio-dipendenti

Canali ligando-dipendenti



INATTIVAZIONE



DESENSIBILIZZAZIONE

Le subunità β modulano la cinetica di inattivazione dei canali per il sodio voltage-dipendenti

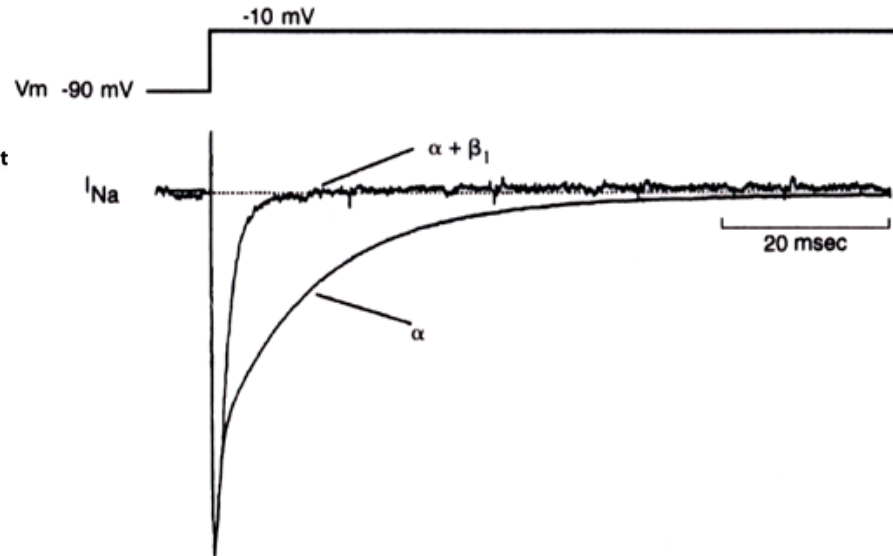
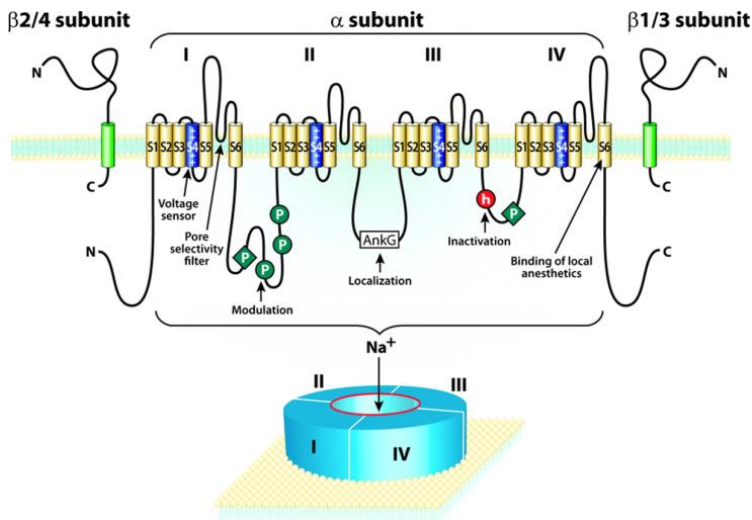
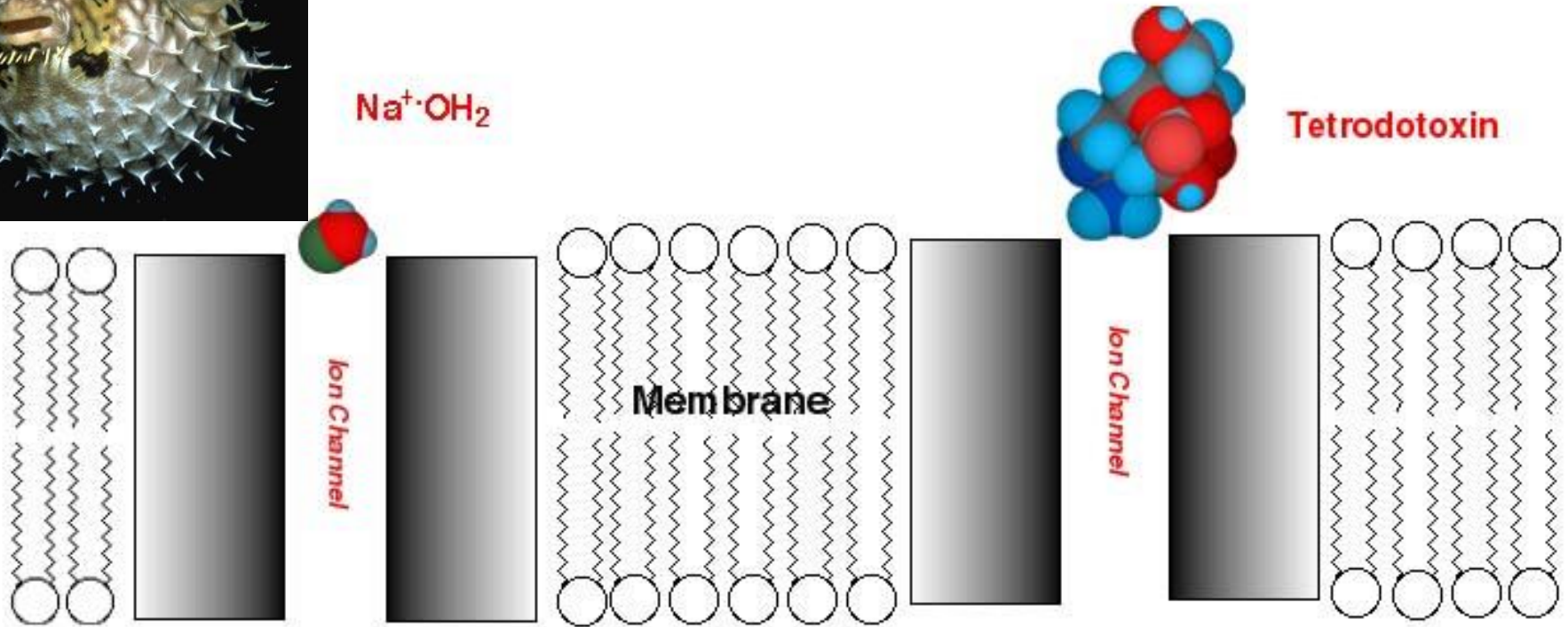


FIGURE 5.1 THE β -SUBUNIT REGULATES Na^+ CHANNEL INACTIVATION

Na^+ currents recorded from two different *Xenopus* oocytes expressing either the α -subunit of the rat Na^+ channel alone, or the α -subunit in combination with the β_1 -subunit. The traces have been normalized to the peak current level. From Ji *et al.* (1994).

Blocco del canale Na^+ da TTX (tetrodotossina)

Pufferfish (*Fugu*)



TTX blocca la zona extracellulare del poro del canale Na^+ con un'affinità molto alta ($K_d = 5\text{-}15 \text{ nM}$)

TTX è una potente tossina presente nel fegato, uova e ovaia del pesce palla giapponese (~100 morti /anno)

Blocco da TTX e anestetici

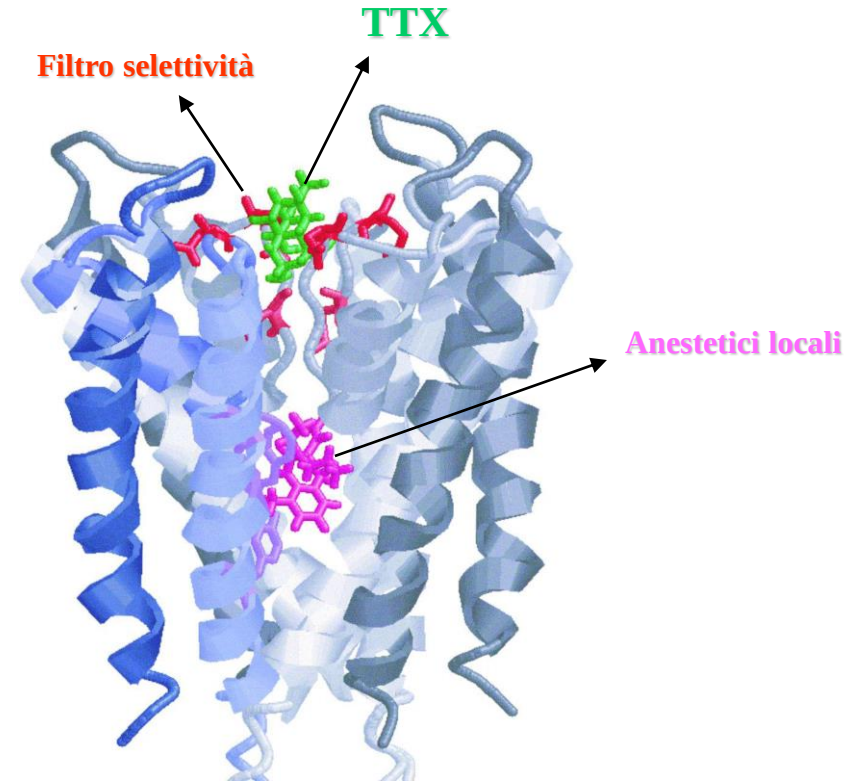
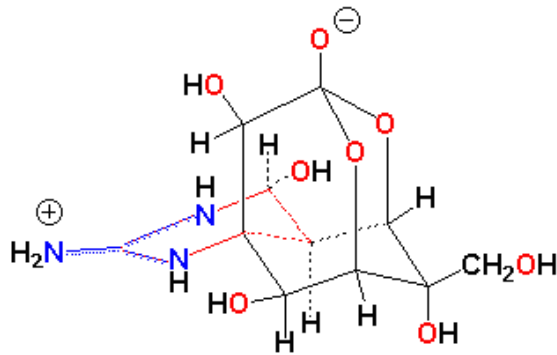


Figure 2. A Model of the Pore of the Sodium Channel The α -helical fold of the Kcsa potassium channel is used as a model for the sodium channel pore. Domain IV of the sodium channel is in blue while others are in gray. M2 segments (equivalent to S6) are in light gray or light blue. M1 segments (equivalent to S5) are in darker gray or blue. The amino acid residues of the selectivity filter in the outer pore are superimposed on the potassium channel structure: outer ring of acidic residues (EEDD) inner ring of DEKA residues in red. Tetrodotoxin (green) is shown approaching the outer mouth of the pore. Phe-1764 and Tyr-1771, which form part of the local anesthetic receptor site, are illustrated in dark blue in transmembrane segment IVS6, and etidocaine illustrated in purple is shown approaching the local anesthetic receptor site in the cavity in the inner pore.

Distribuzione dei canali Na⁺ voltaggio-dipendenti

	Tissue	Na _v Subtype	Effect of Na _v Dysfunction on Physiology
A	Central nervous system	1.1, 1.2, 1.3, 1.6	Epilepsy, migraine, autism, ataxia ³⁶
B	Retina	1.8, 1.9	Altered visual processing ⁶²
C	Olfactory sensory neurons	1.7	Anosmia ^{40,42}
D	Sensory neurons and vagal sensory neurons innervating airways	1.7, 1.8, 1.9	Cough ^{36,68}
E	Heart muscle	1.5, 1.8	Brugada syndrome, QT syndrome, atrial fibrillation ^{66,67}
F	Nerves, musculature involved in ventilation	TTX-s Na _v s	Respiratory cessation (TTX poisoning) ⁶⁹
G	Pancreatic β-cells	1.7	Diabetes ³⁶
H	Skeletal muscle	1.4	Hyperkalaemic periodic paralysis, paramyotonia congenita, hypokalaemic periodic paralysis ³⁶
I	Skin	1.7, 1.8	Pain disorders, paroxysmal itch ^{37,39}
J	DRG neurons	1.6, 1.7, 1.8, 1.9	Pain disorders, paroxysmal itch ^{37,39,51}
K	Metastatic cancer cells	1.1-1.9 and β-subunits	Ovarian, cervical, prostate, breast, colon, small cell lung cancer, melanoma, lymphoma ^{35,70,71}

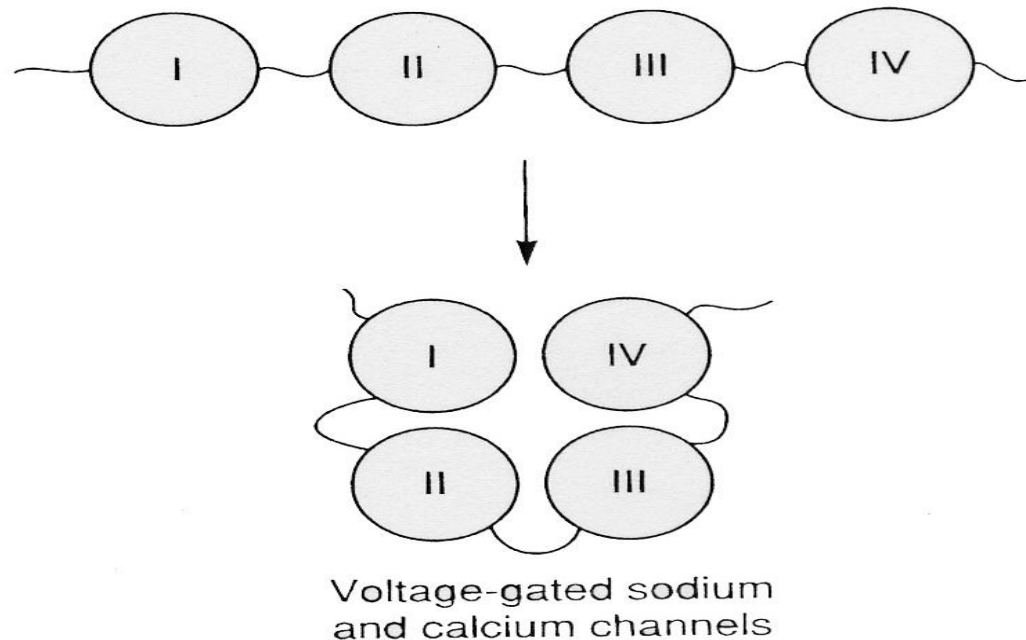
Canali TTX resistenti:

Nav1.5 Heart muscle

Nav1.8 PNS sensory

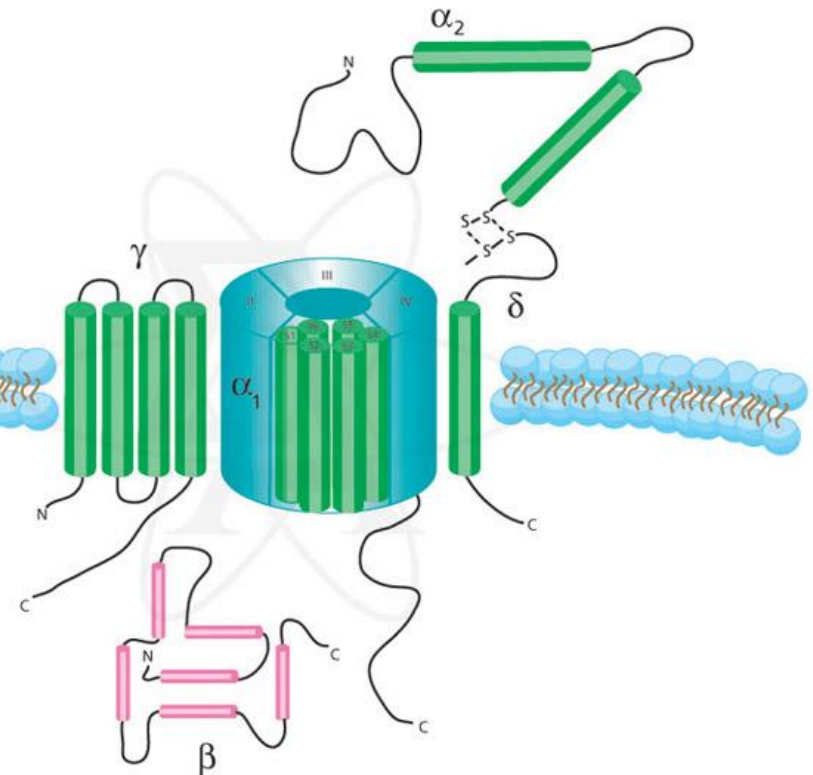
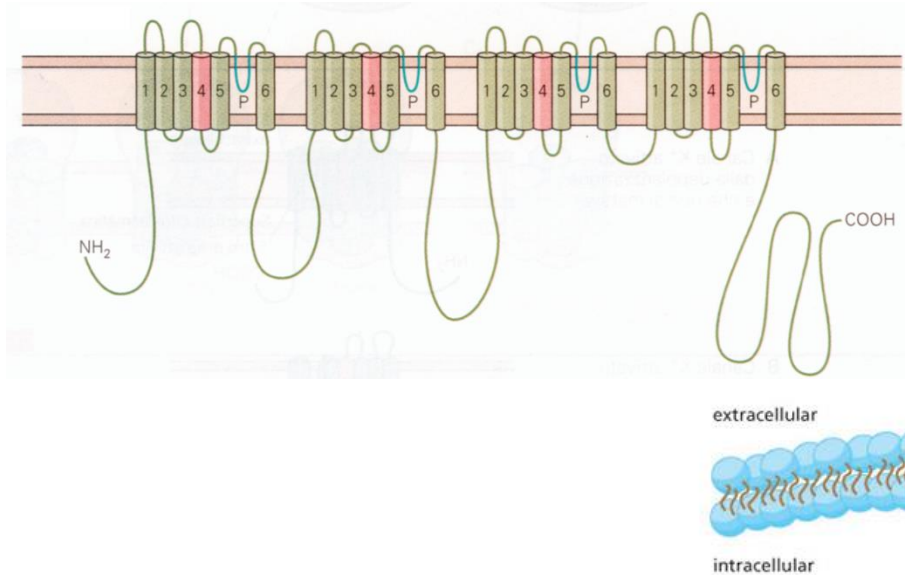
Nav1.9 PNS (DRG)

La componente principale del canale Na^+ e Ca^{2+} voltaggio-dipendenti è una grossa catena polipeptidica (subunità α) con 4 domini omologhi in ognuno dei quali ci sono 6 segmenti transmembranari.



Canale Ca^{2+} voltaggio-dipendente

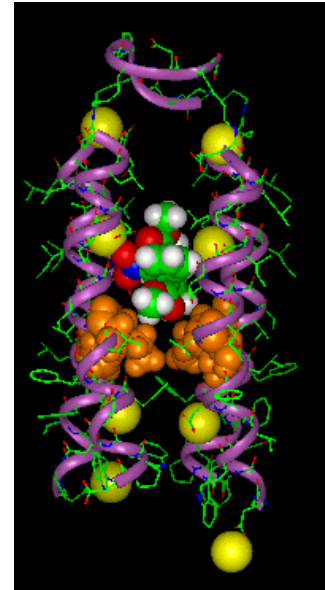
La subunità principale α forma il poro del canale, esistono numerose isoforme.
Subunità accessorie: β , α_2 – δ , γ



La subunità α del canale Ca^{2+} è organizzata in 4 domini, ognuno con 6 segmenti trans-membrana

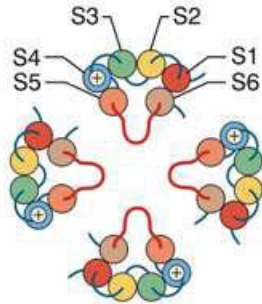
Classificazione canali Ca^{2+} voltaggio-dipendenti

- Proprietà elettrofisiologiche:
 - conduttanza di singolo canale
 - voltaggio-dipendenza
 - cinetiche di apertura e chiusura
- Sensibilità a bloccanti farmacologici (diidropiridine, w-conotossine, w-agatossine)
- **LVA**: *Low Voltage Activated* (si aprono in seguito a piccole depolarizzazioni a partire dal potenziale di membrana; tipo **T**)
- **HVA**: *High Voltage Activated* (richiedono una depolarizzazione maggiore per aprirsi; tutti gli altri tipi: L, N, P, Q, R ...)

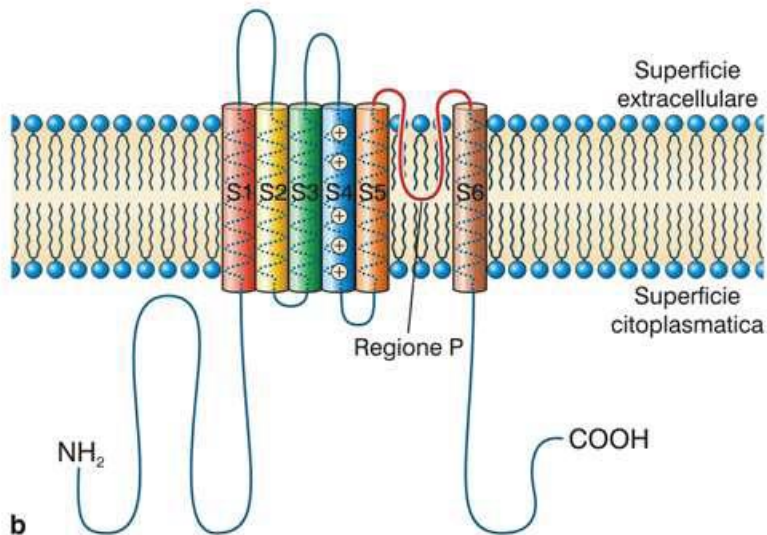


Canale K⁺ voltaggio-dipendente

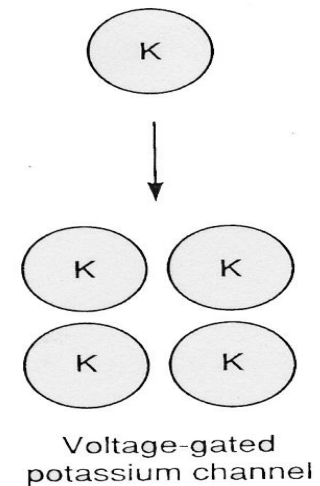
Principalmente formati da quattro subunità identiche, ciascuna delle quali presenta un singolo dominio con 6 segmenti transmembranari.



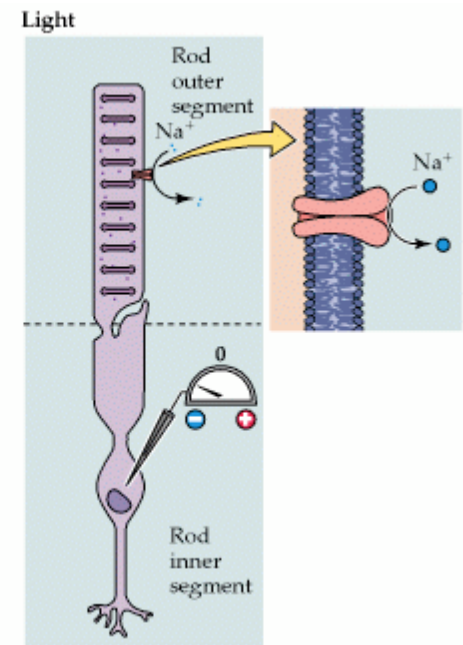
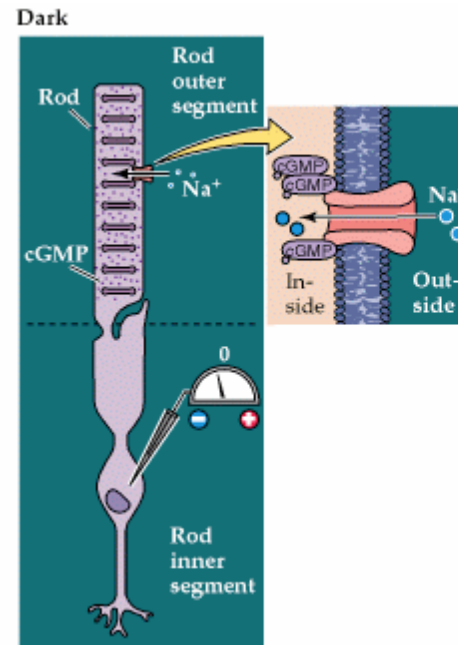
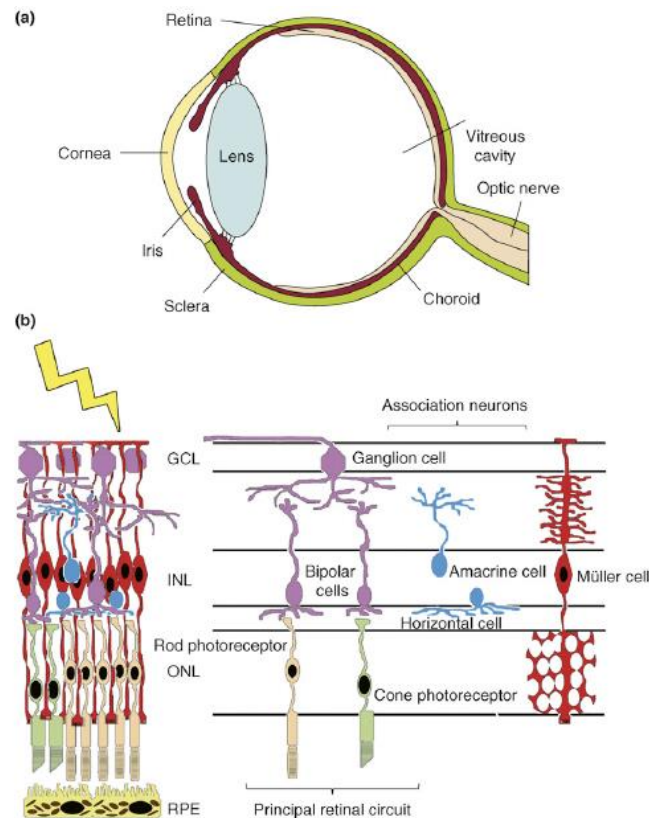
a



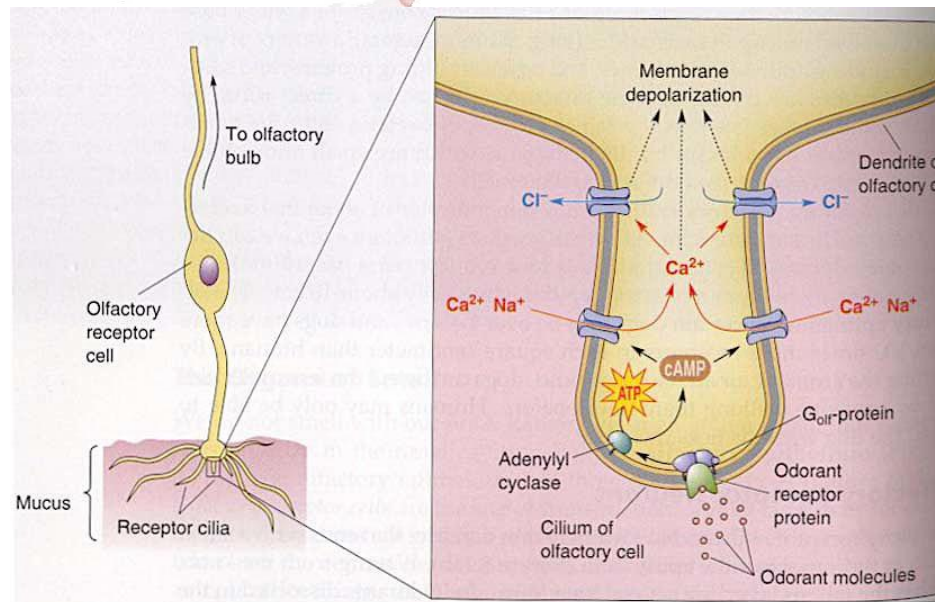
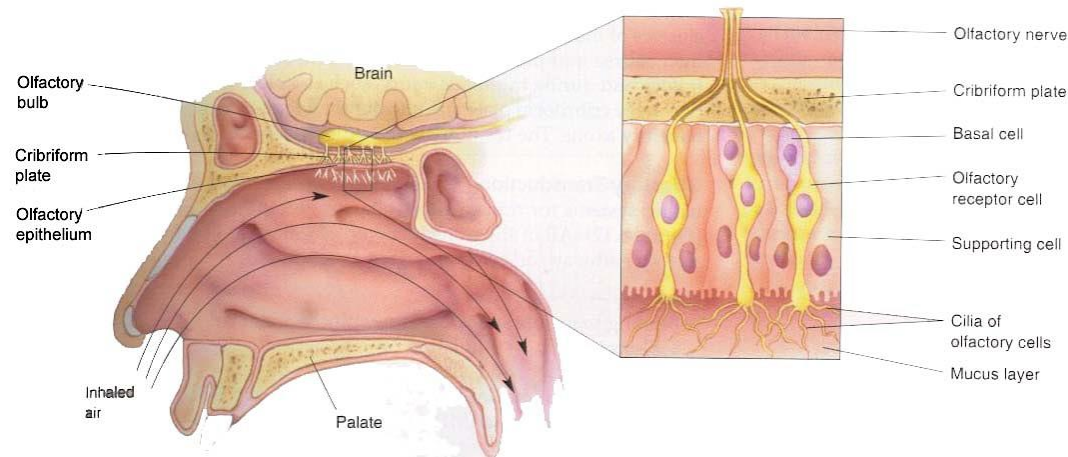
b



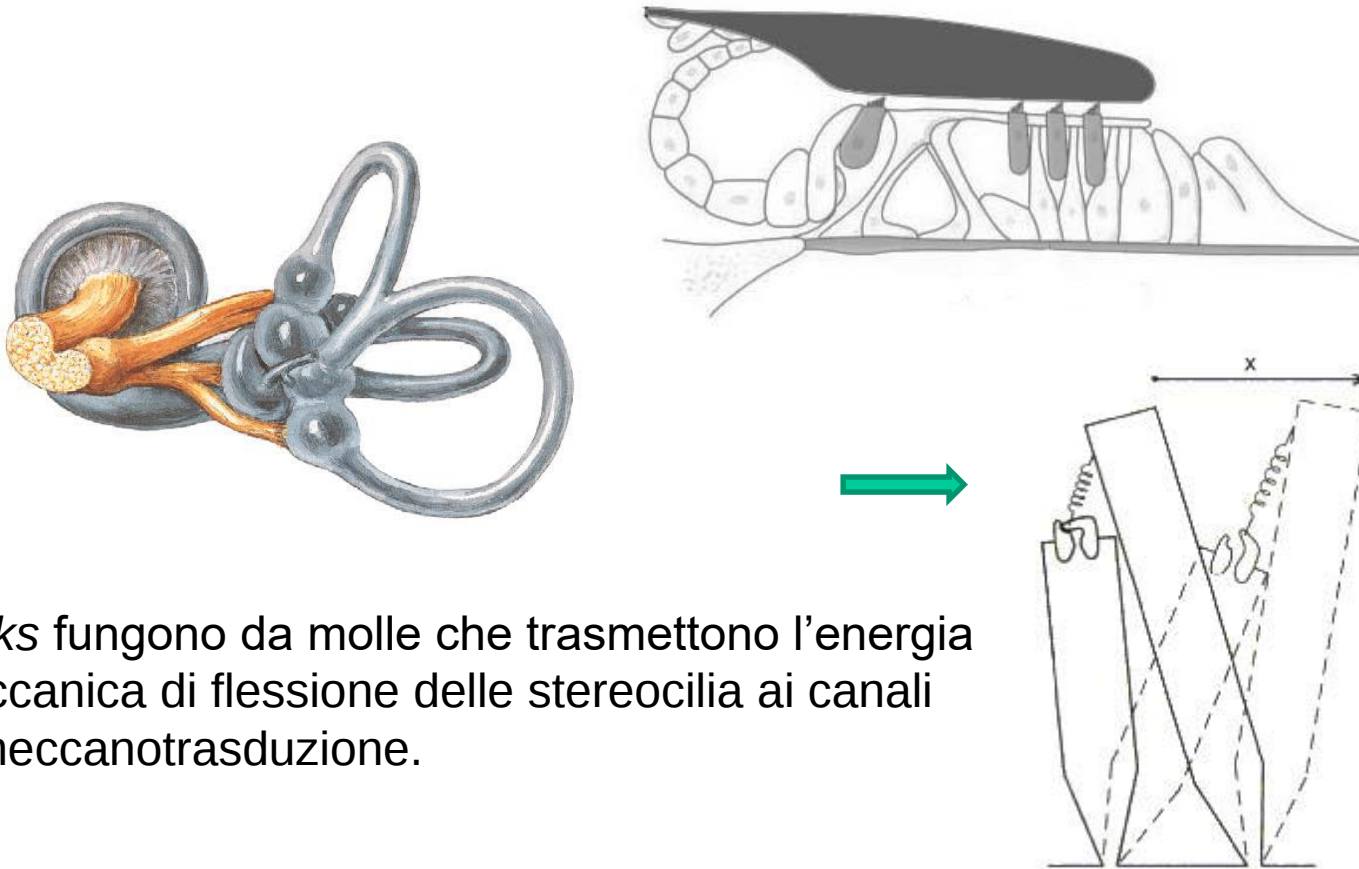
Un canale attivato da cGMP alla base della fototrasduzione



Un canale attivato da cAMP alla base della trasduzione del segnale olfattivo



Stiramento meccanico alla base della trasduzione del segnale acustico



I *links* fungono da molle che trasmettono l'energia meccanica di flessione delle stereocilia ai canali di meccano-trasduzione.