

I processi fondamentali di un organismo pluricellulare

Omeostasi

“Mantenimento di condizioni stabili mediante meccanismi fisiologici coordinati”

- 1) Comunicazione tra cellule
(chimica ed elettrica)
- 2) Interazione con l'esterno
- 3) Reazione agli stimoli

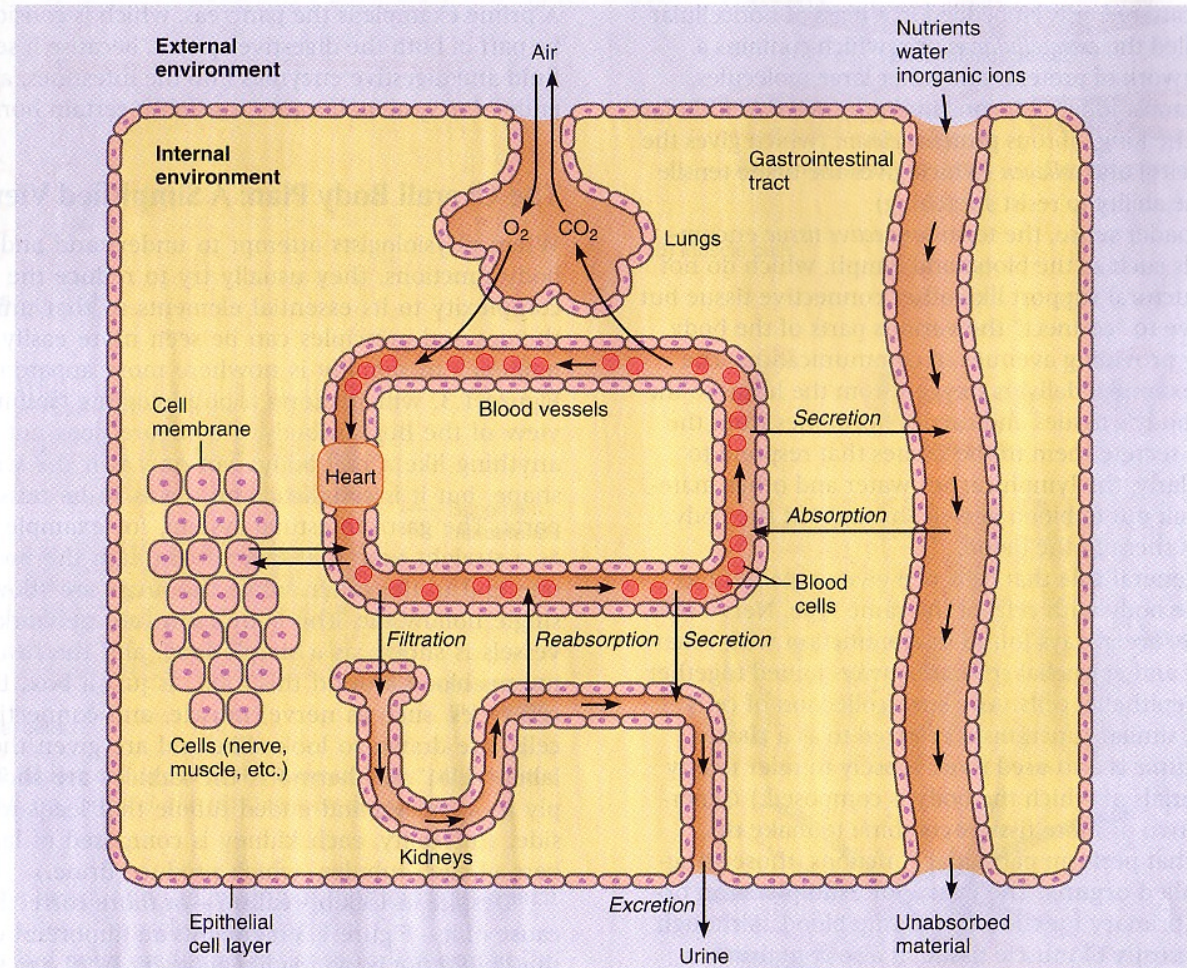


FIGURE 1.3 A highly simplified view of the overall plan of the human body. Flows of material are indicated by arrows.

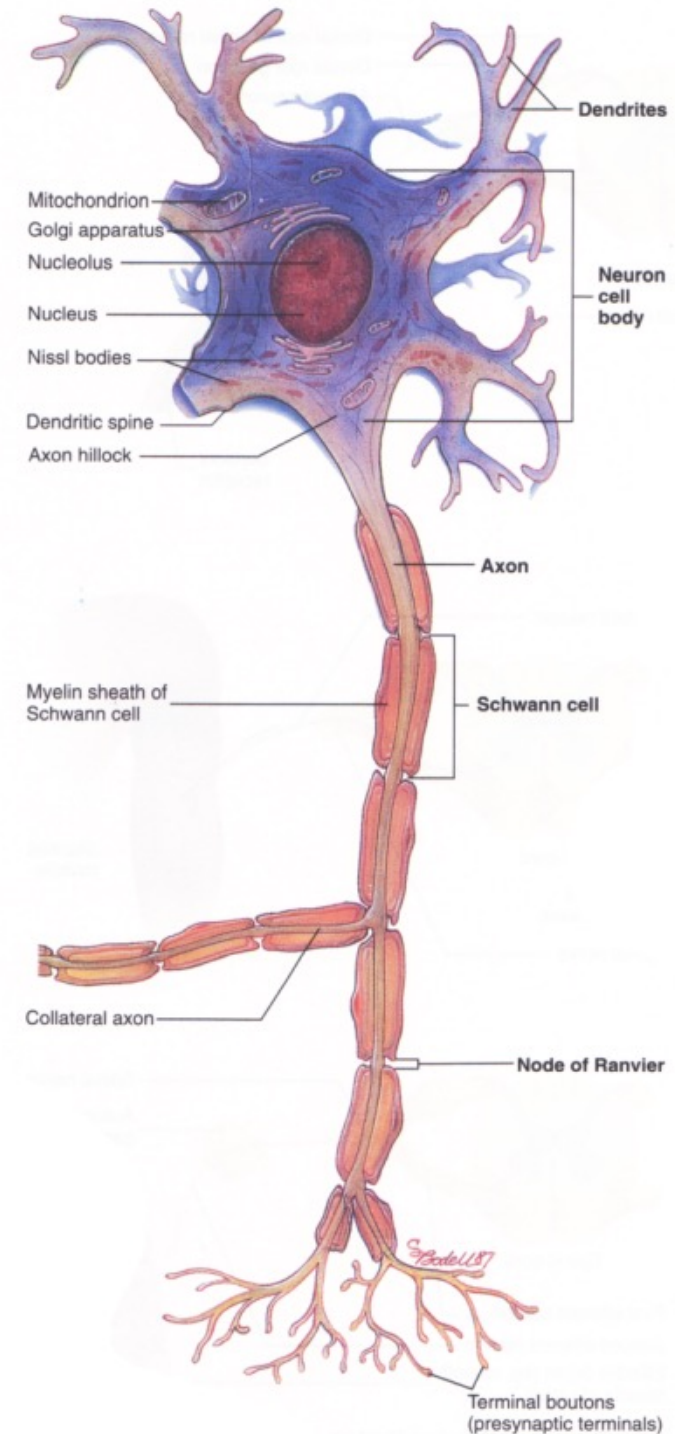
La comunicazione elettrica (rapida)

Le cellule “chiave”:

i neuroni

I messaggi “chiave”:

i segnali elettrici
(potenziali d'azione)



La comunicazione elettrica (rapida)

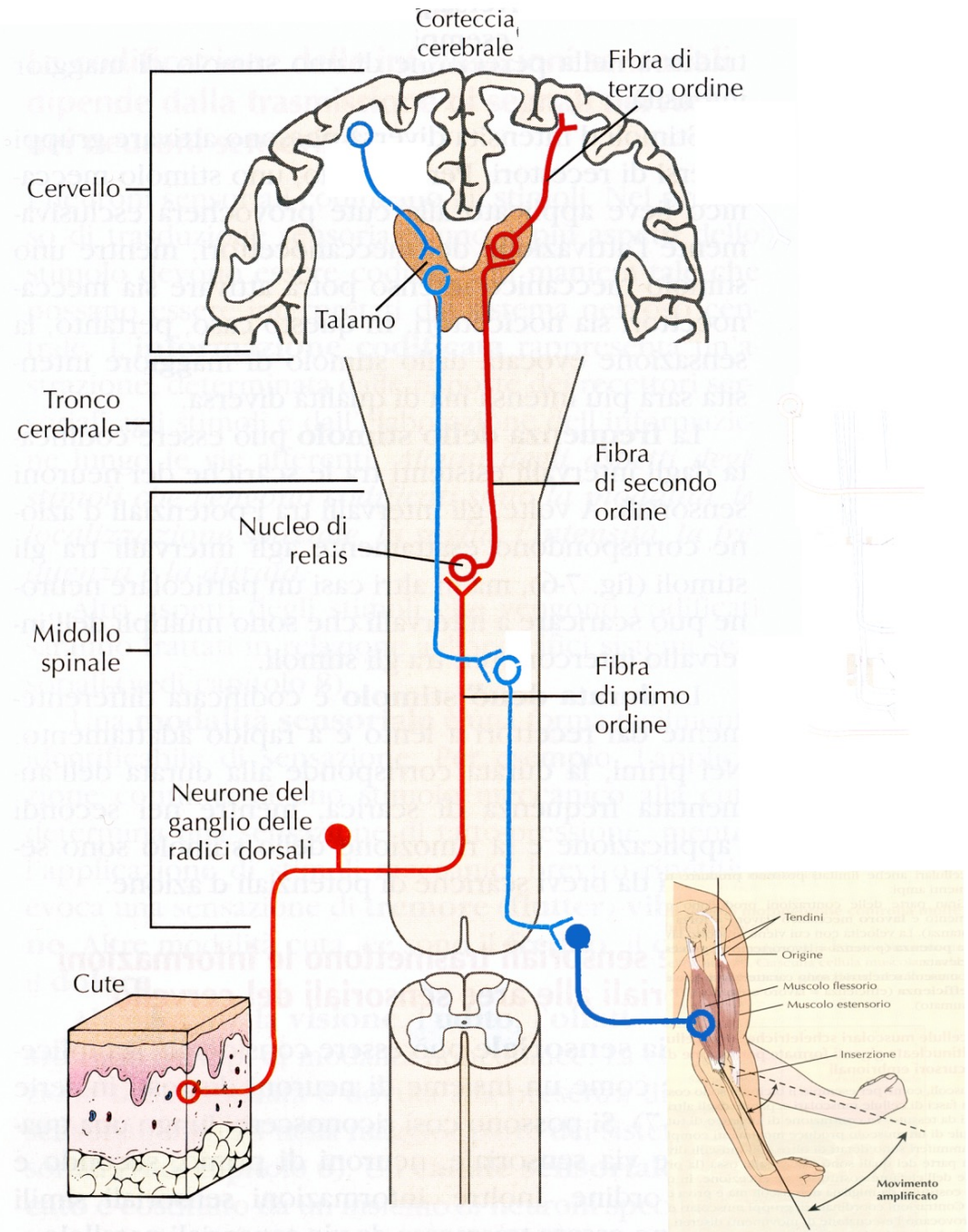
le vie nervose

- afferenti
- efferenti

il centro integratore

Sistema Nervoso Centrale (SNC)

- **cervello**
(comportamenti complessi)
- **midollo spinale**
(comportamenti stereotipati)



Il riflesso da stiramento

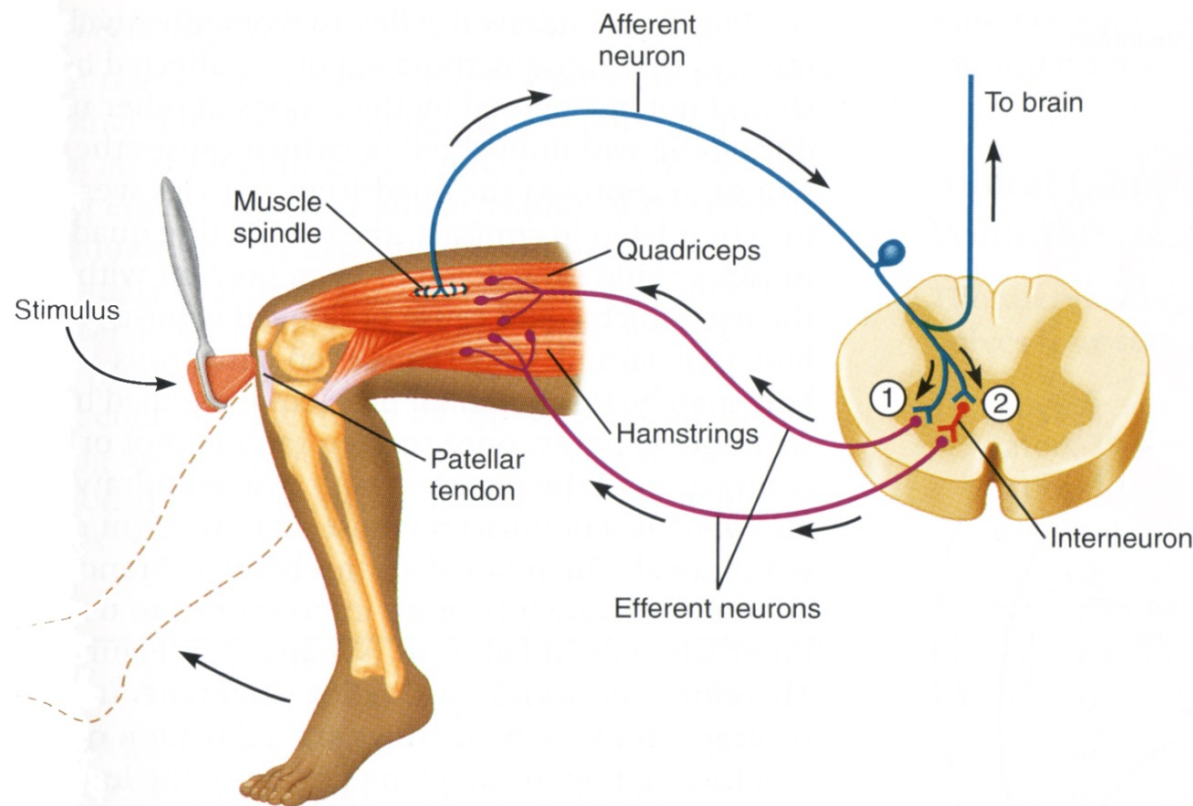


FIGURE 8.18 The muscle spindle stretch reflex. The knee jerk reflex, an example of the monosynaptic muscle spindle stretch reflex, by which a tap on the patellar tendon causes contraction of the quadriceps muscle. Muscle spindle afferent neurons make two synaptic communications in the spinal cord: (1) excitatory synapses with efferent neurons to the quadriceps muscle, and (2) inhibitory synapses with interneurons that communicate with efferent neurons to the hamstring muscles in the same leg. The afferent neurons also have collaterals that travel in the white matter of the spinal cord to the brainstem, where they form synapses with interneurons that transmit information about muscle length to various areas of the brain.

Tempo di latenza ~ 3.5 ms

I segnali elettrici sfruttano
le proprietà elettriche di membrana

i canali ionici

il potenziale di membrana

I trasporti attraverso la membrana cellulare

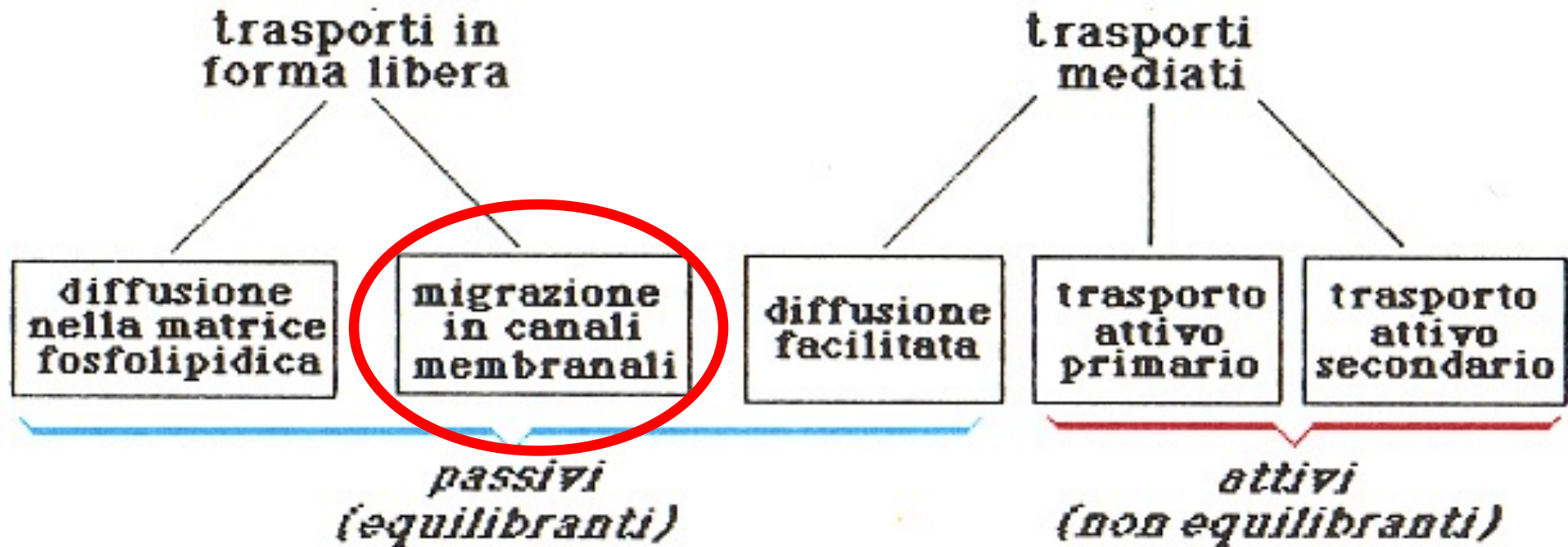


Fig. 5.13 - Classificazione delle diverse modalità di trasporto delle sostanze attraverso la membrana plasmatica delle cellule.

A causa della natura idrofila gli ioni non possono attraversare la membrana plasmatica

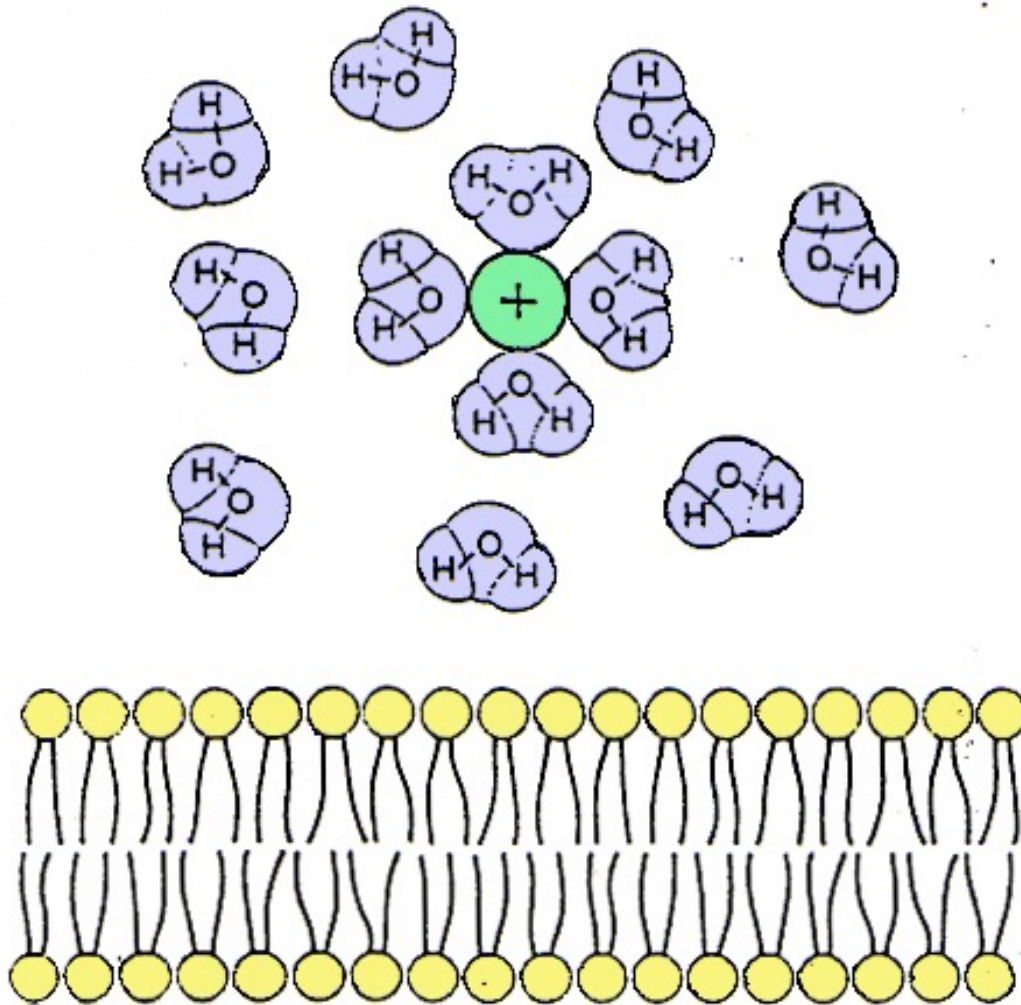
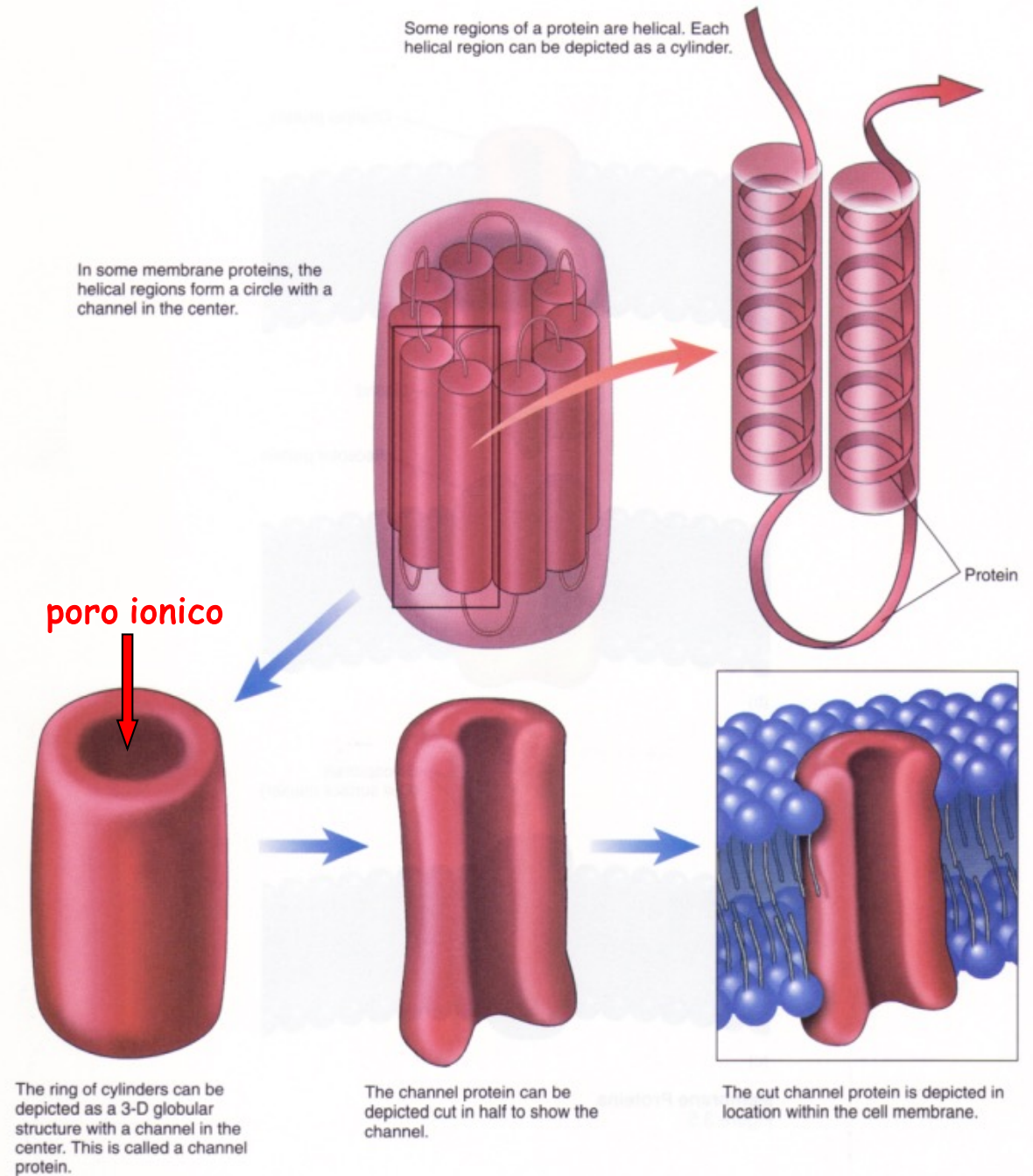


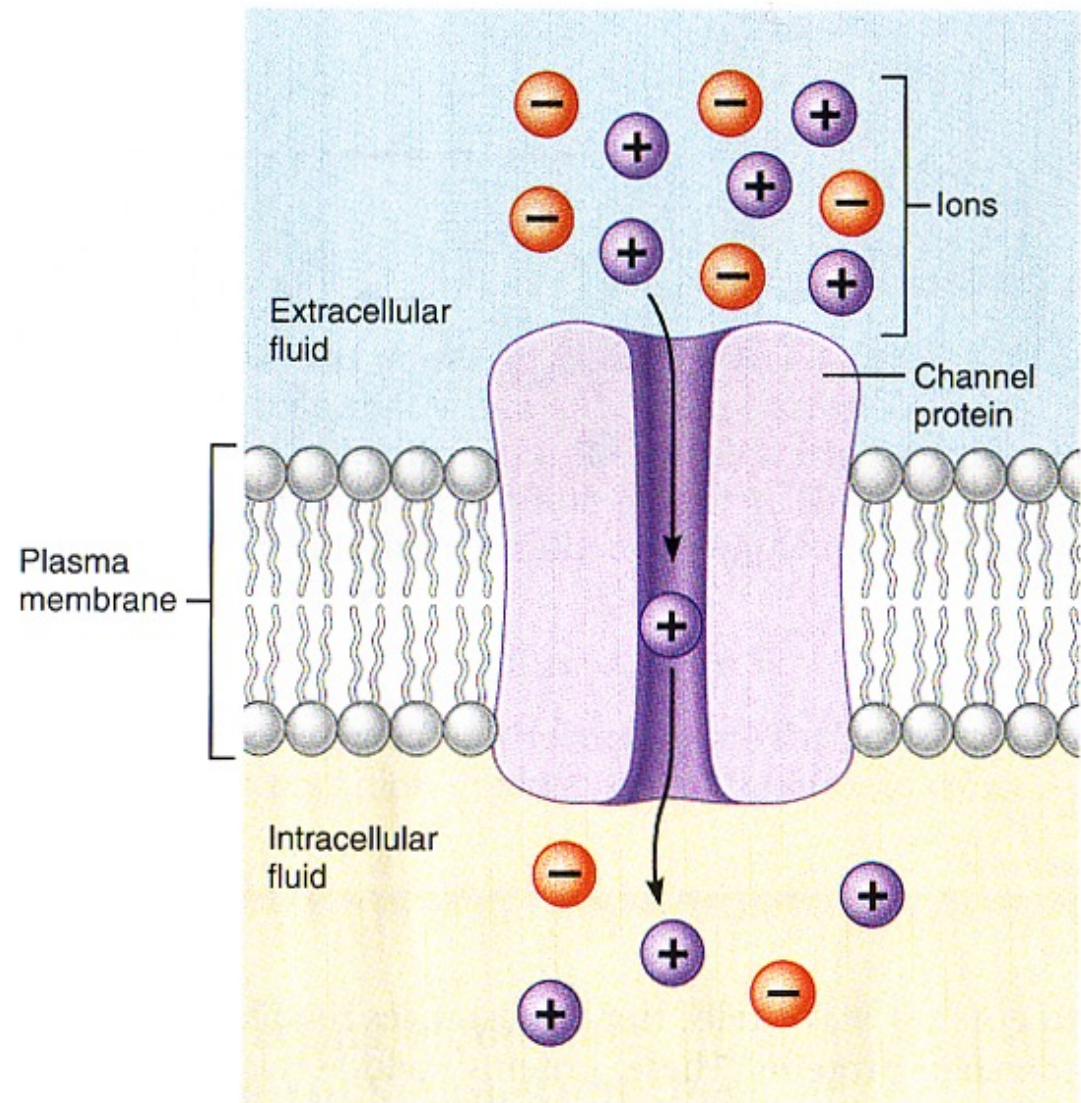
FIGURA 5-1

Gli ioni in soluzione sono circondati da una nuvola di molecole d'acqua (acqua di idratazione) che sono attratte dalla carica elettrica netta degli ioni stessi. Questa nuvola di molecole accompagna in permanenza gli ioni nei loro processi di diffusione nelle soluzioni aumentandone le dimensioni effettive. Dal punto di vista energetico, per uno ione, l'abbandonare l'ambiente polare rappresentato dalle molecole d'acqua per entrare in quello non polare costituito dal doppio strato lipidico delle membrane, costituisce un evento fortemente sfavorevole e perciò improbabile.

I canali ionici: proteine transmembrana



Il flusso di ioni attraverso un canale ionico



La forza che guida gli ioni:

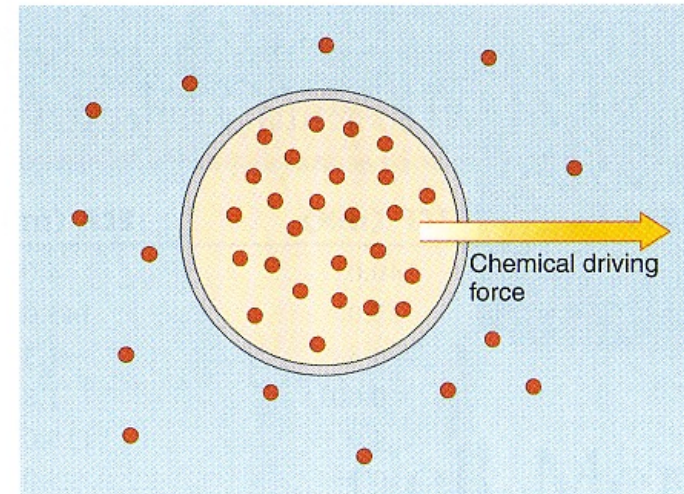
1) il gradiente chimico

Prima legge di Fick: $F_d = K_d (c_1 - c_2)$

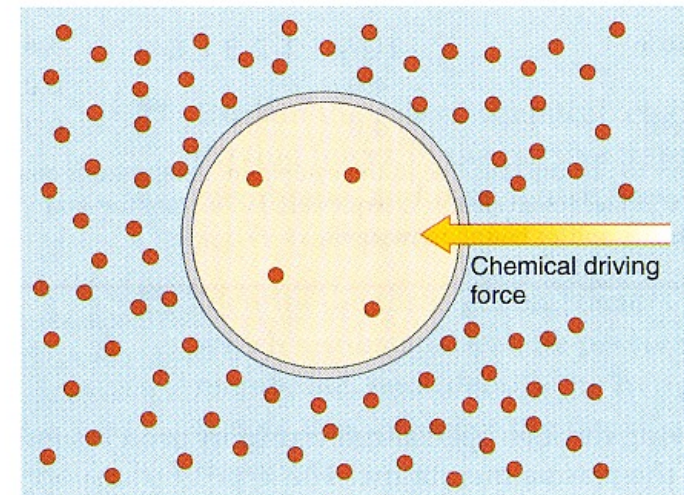
TABLE 4.1 MILLIMOLAR CONCENTRATIONS OF SELECTED SOLUTES IN INTRACELLULAR FLUID (ICF) AND EXTRACELLULAR FLUID (ECF)

SOLUTE	ICF (mM)	ECF (mM)
K ⁺	140.0	4.0
Na ⁺	15.0	145.0
Mg ²⁺	0.8	1.5
Ca ²⁺	<0.001*	1.8
Cl ⁻	4.0	115.0
HCO ₃ ⁻	10.0	25.0
P _i	40.0	2.0
Amino acids	8.0	2.0
Glucose	1.0	5.6
ATP	4.0	0.0
Protein	4.0	0.2

*Refers to calcium ions free in the cytoplasm. A significant quantity of intracellular calcium is sequestered in membrane-bounded organelles and/or bound to proteins.



(a)



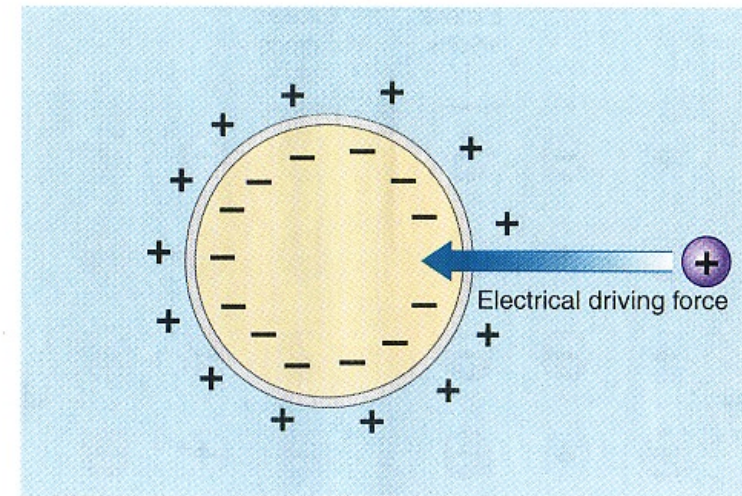
(b)

FIGURE 4.1 Chemical driving forces. (a) When the concentration of molecules (dots) is higher inside a cell than in extracellular fluid, the direction of the chemical driving force (arrow) is outward. (b) When the concentration of molecules is higher in extracellular fluid, the direction of the chemical driving force is inward. In both cases, molecules will move passively in the direction of the driving force, or down the concentration gradient.

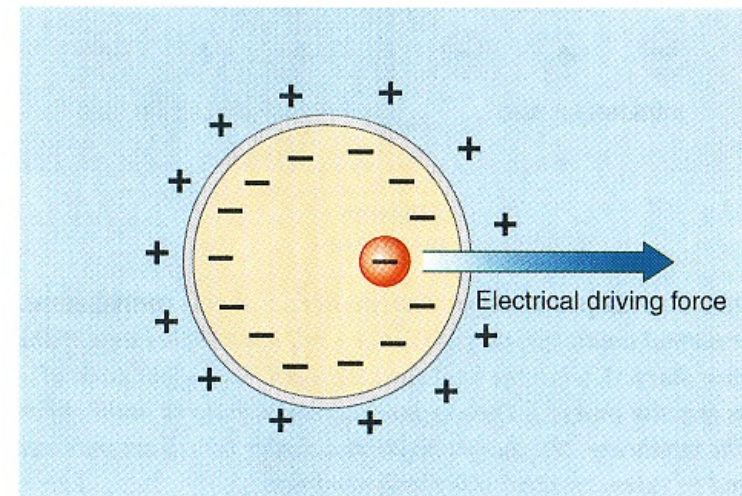
La forza che guida gli ioni:

2) il gradiente elettrico

$$\text{Legge di Ohm: } F_e = zK_e (V_a - V_c)$$



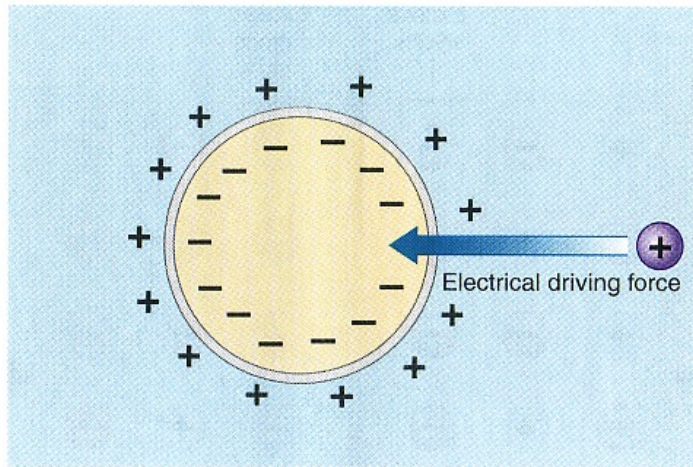
(a)



(b)

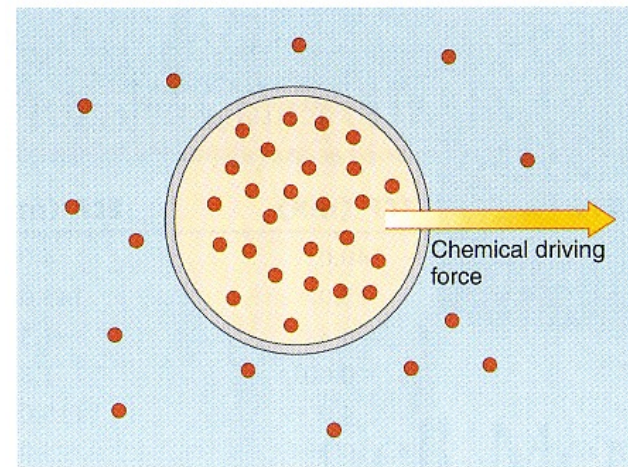
FIGURE 4.3 Electrical driving forces. (a) When a positively charged ion crosses a cell membrane, the direction of the electrical driving force (arrow) is inward. (b) When a negatively charged ion crosses the membrane, the direction of the electrical driving force is outward. In both cases, it is assumed that the membrane potential is negative, as indicated by (+) and (-) signs on either side of the membrane.

La forza che guida gli ioni: il gradiente elettrochimico



gradiente elettrico

+



gradiente chimico

gradiente elettrochimico

Legge di Nernst-Planck:

$$F_{ed} = K_d (c_1 - c_2) + zK_e (V_1 - V_2)$$

F_{ed} = flusso di cariche netto

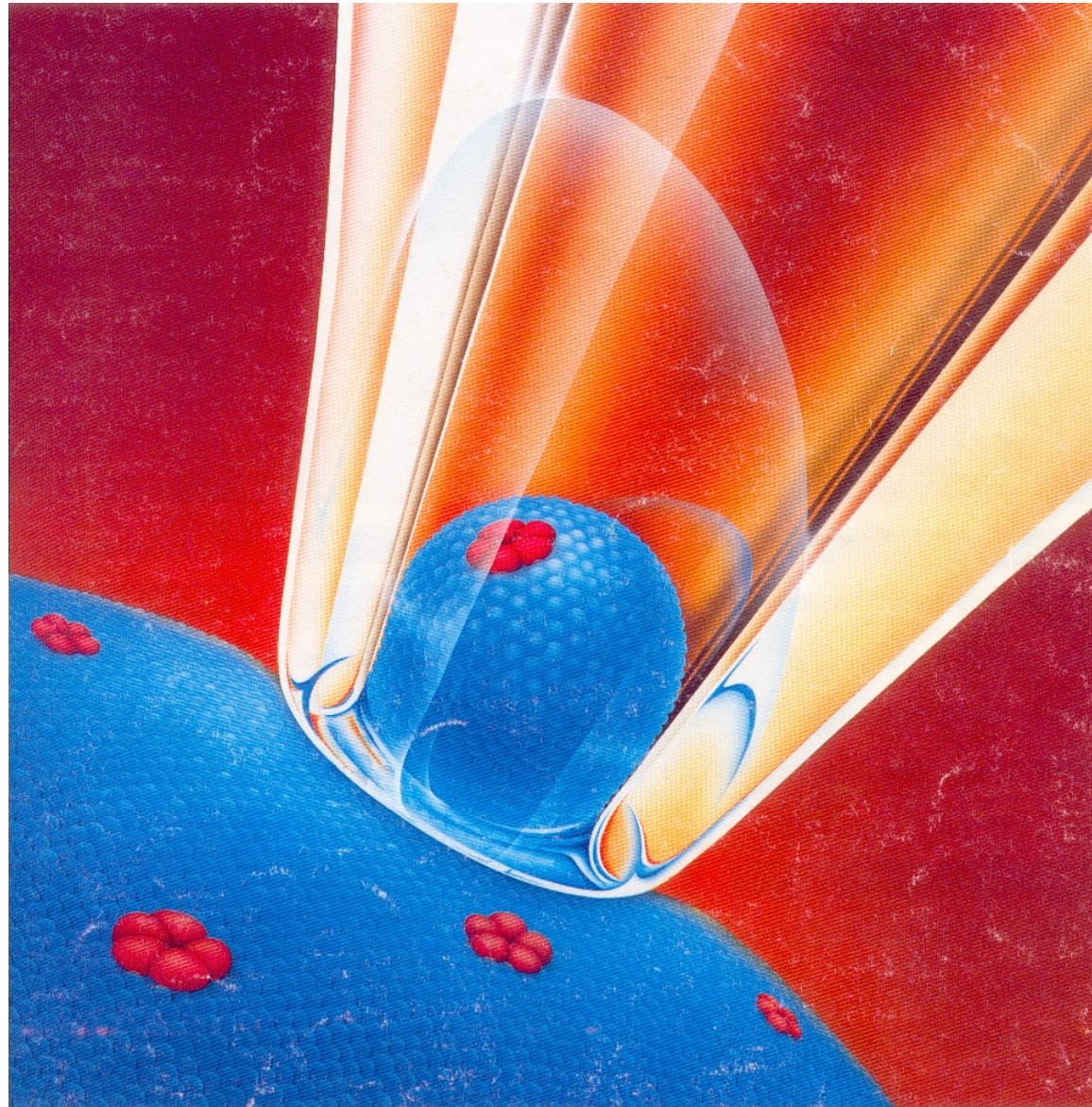
Le proprietà dei canali ionici

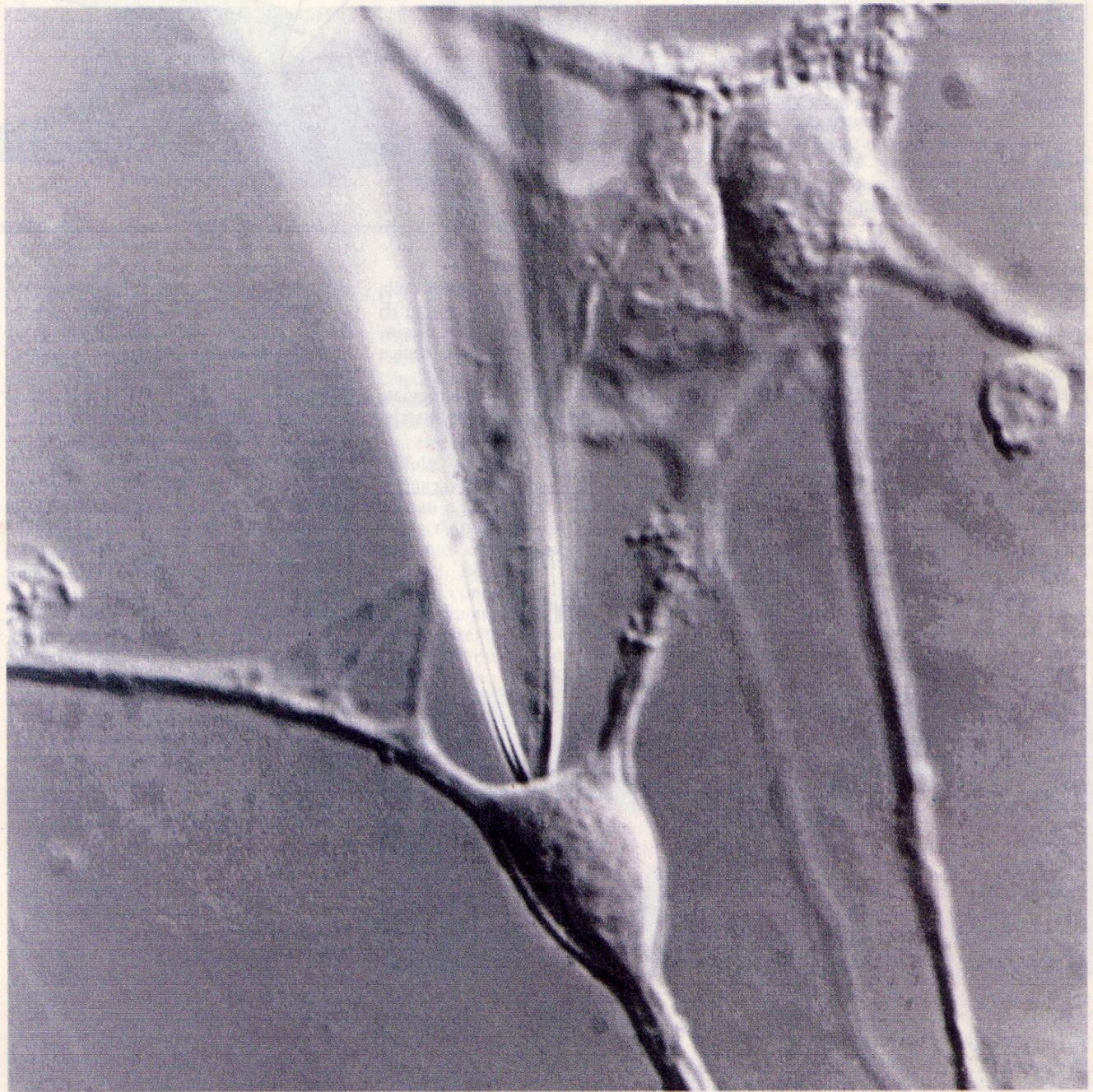
Meccanismo di apertura

Cinetica e conduttanza

Permeabilità (selettività)

Come si studiano i canali ionici: il *patch clamp*

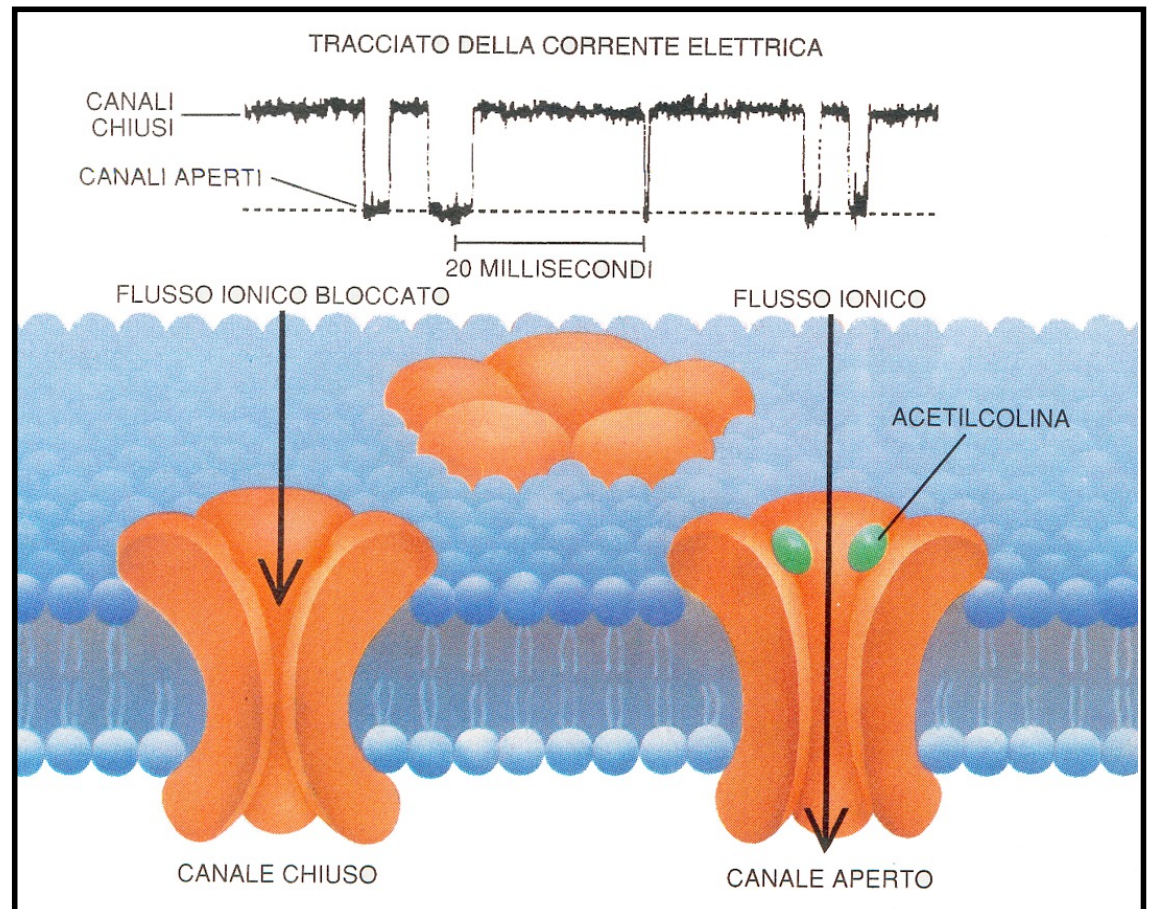
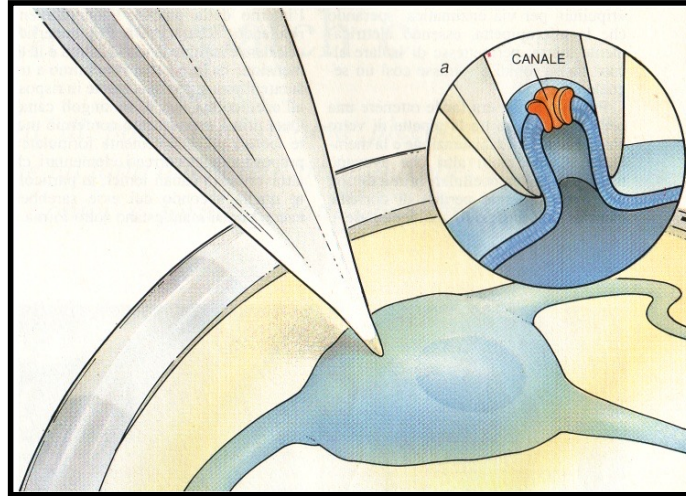




Facendo aderire saldamente una pipetta alla superficie di un neurone è possibile studiare i canali ionici della membrana plasmatica. La pipetta, il cui diametro è 1/100 di quello di un capello umano, isola fisicamente ed elettricamente i canali dell'area interessata. Nota con il nome di *patch clamp* (blocco

della differenza di potenziale a un valore predeterminato in un minuscolo lembo della membrana cellulare), questa tecnica permette di registrare l'apertura e la chiusura dei canali ionici. In laboratori di tutto il mondo essa viene oggi impiegata per studiare le reti di segnalazione tra cellula e cellula.

Le singole aperture del canale ionico



I meccanismi di apertura identificano le categorie dei canali ionici

FIGURE 5-12

Channel gating is controlled by several types of stimuli.

A. Ligand-gated channels open in response to binding of the ligand to its receptor. The energy from ligand binding drives channel gating toward an open state.

B. Protein phosphorylation and dephosphorylation regulate the opening and closing of some channels. The energy for channel opening comes from the transfer of the high-energy phosphate, P.

C. Changes in membrane voltage can open and close some channels. The energy for channel gating comes from changes in the electrical potential difference across the membrane.

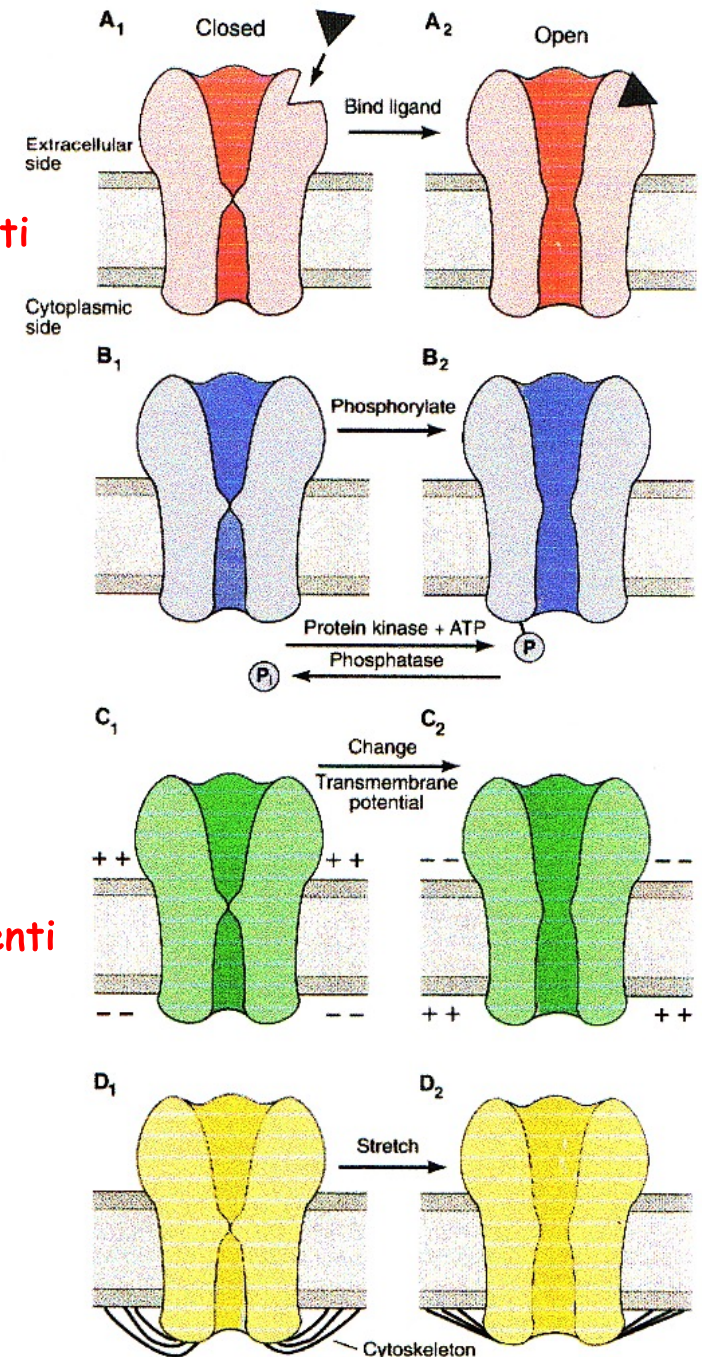
D. Other channels are activated by stretch or pressure. The energy for gating may come from mechanical forces due to channel-cytoskeleton interactions.

1. ligando-dipendenti

2. attivati da fosforilazione

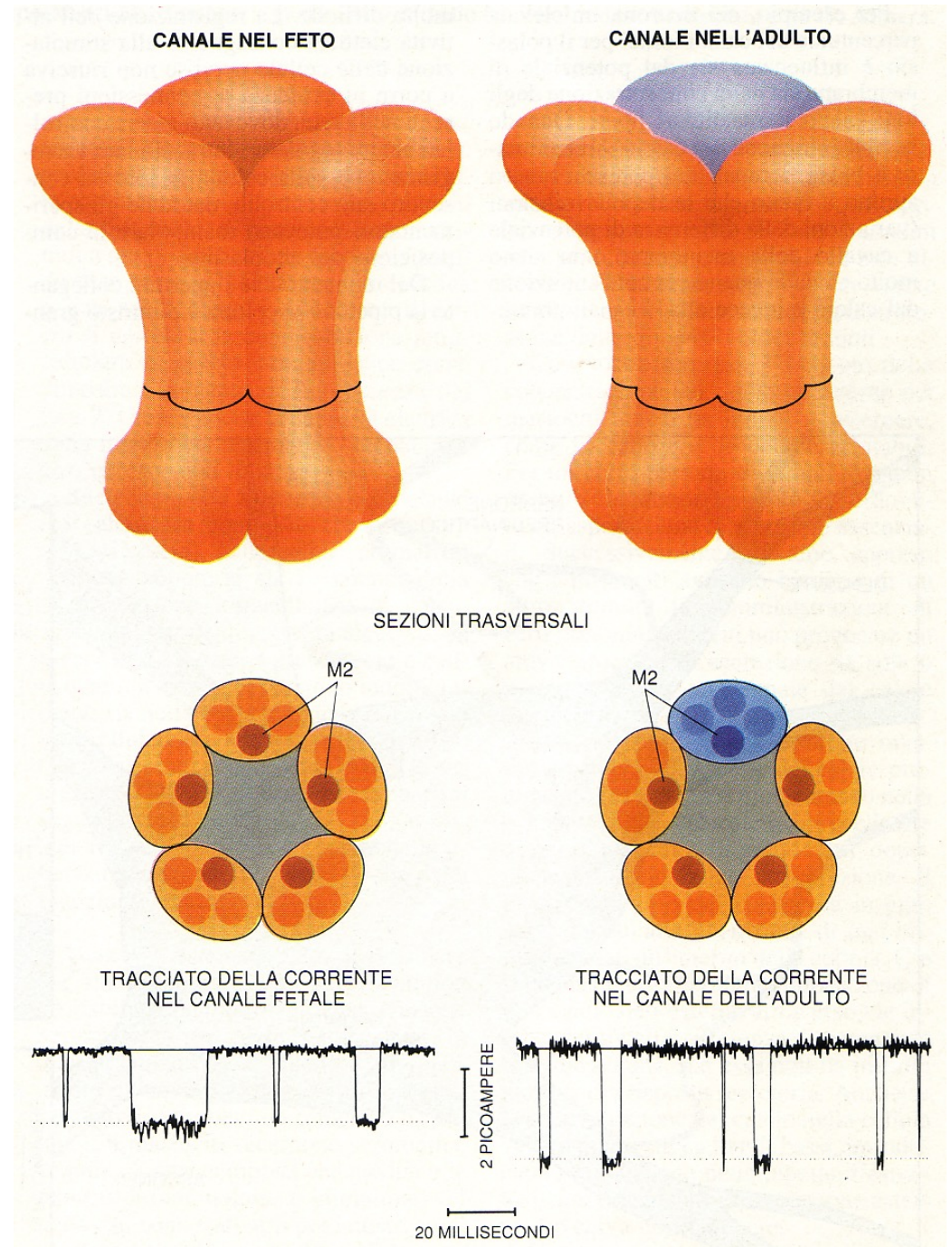
3. voltaggio-dipendenti

4. attivati da stiramento



Cinetica e conduttanza:

- tempo medio di apertura
- ampiezza della corrente



La permeabilità: il canale ionico è un filtro meccanico

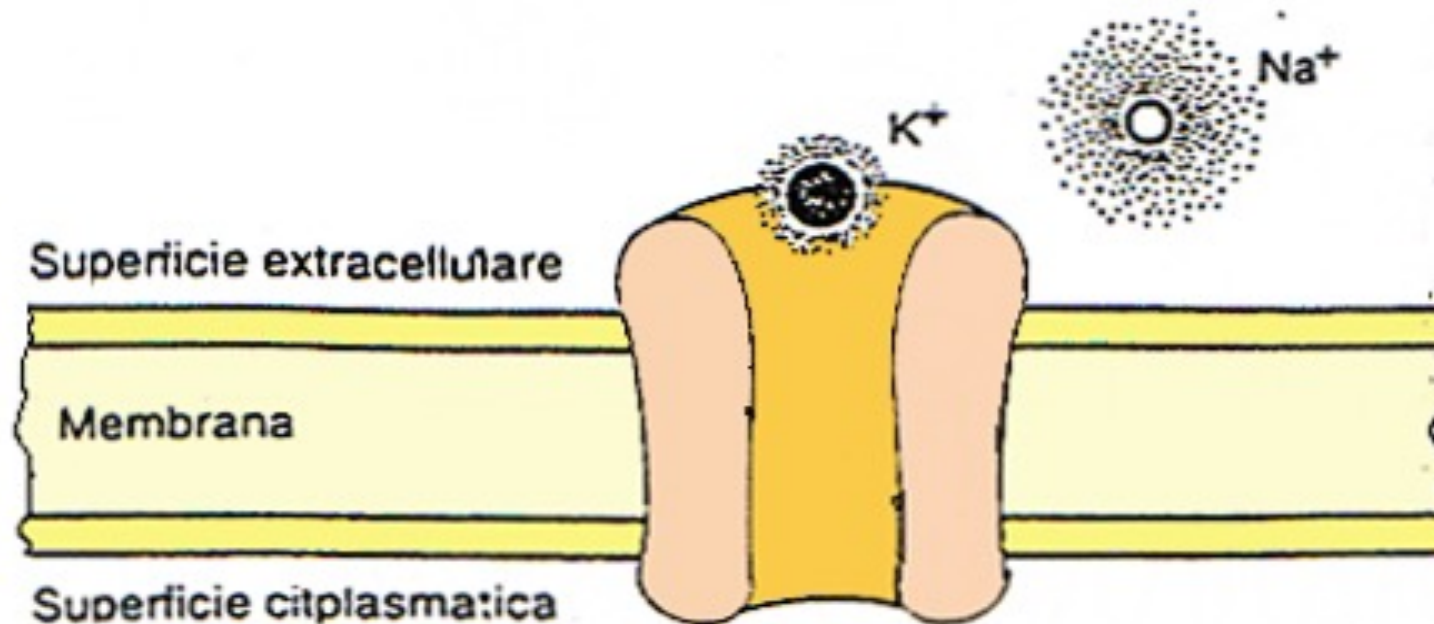


FIGURA 5-2

Modello di selettività per uno ione K^+ basato sulla sua diffusione attraverso un poro-canale riempito di un mezzo acquoso. Sebbene gli ioni Na^+ siano di per sé più piccoli degli ioni K^+ , il loro diametro effettivo, in soluzione, è maggiore in quanto il loro campo elettrico è localmente più intenso e fa sì che esso finisca con l'attrarre un numero più elevato di molecole d'acqua. Perciò, in teoria, un canale selettivo per i K^+ può favorire l'ingresso dei K^+ rispetto a quello degli Na^+ , in quanto non permette il passaggio di ioni, allo stato idrato, di dimensioni maggiori di un determinato diametro (prefissato dal diametro del poro stesso).

Ione	Raggio anidro Å	Raggio idrato Å
Na^+	0,98	2,91
K^+	1,33	1,88
NH_4^+	1,45	1,89
Cl^-	1,80	1,92

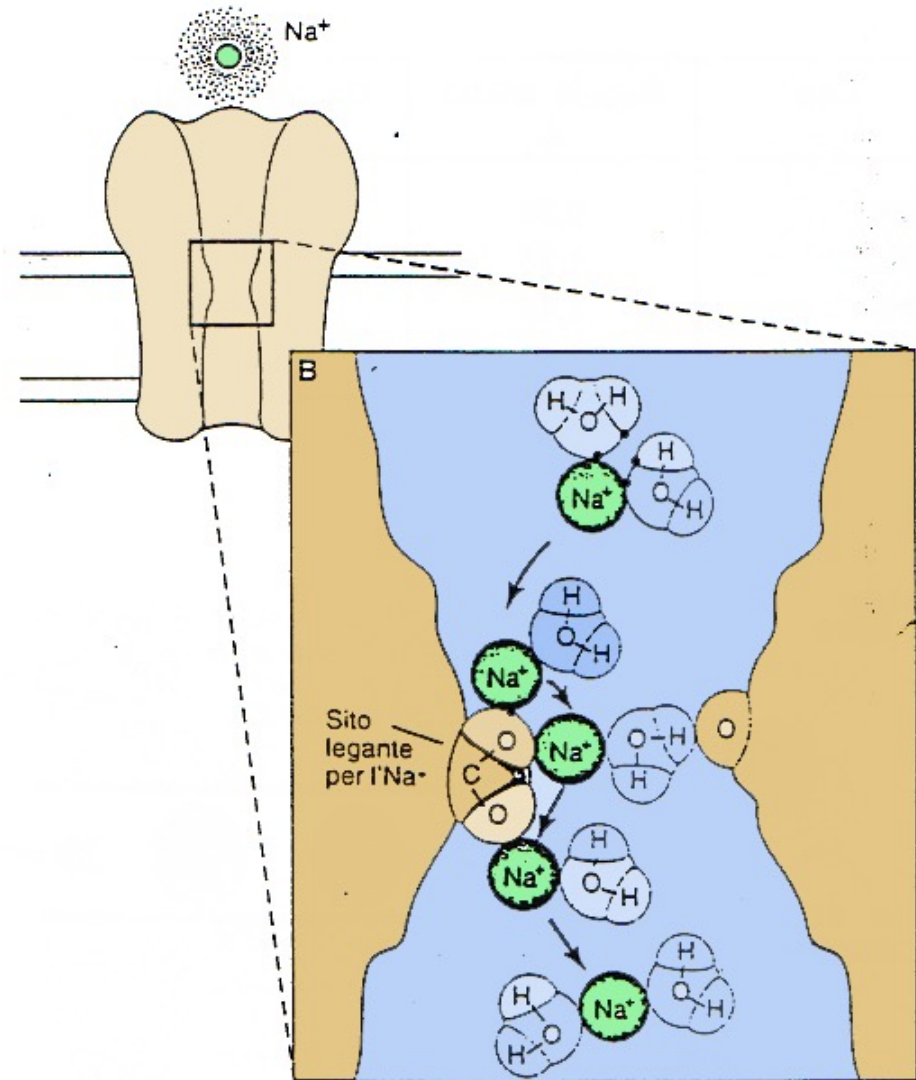
La permeabilità: il canale ionico è un filtro chimico

FIGURA 5-3

I canali per gli Na^+ posseggono un filtro di selettività situato lungo la parete interna del canale stesso e caratterizzato dalla presenza di un sito specifico che lega blandamente gli Na^+ .

A. Diagramma schematico del canale Na^+ .

B. Diagramma schematico del sito specifico del canale che seleziona i tipi di ioni che possono attraversarlo. Secondo l'ipotesi formulata da Bertil Hille e coll., quando un Na^+ si muove nella zona ove è collocato il filtro selettivo, si lega ad esso in maniera reversibile. La carica positiva dello ione viene quindi stabilizzata dal residuo di un aminoacido idrofilo (polare) che costituisce una delle pareti del canale in quel punto, e da una molecola d'acqua che viene invece attratta dal residuo di un secondo aminoacido polare che sta sull'altro lato della parete del canale. Si ritiene che un K^+ , cui sia associata una molecola d'acqua, non possa venir stabilizzato con la stessa facilità per ragioni steriche e che venga perciò escluso dal filtro. (Da Hille, 1984).

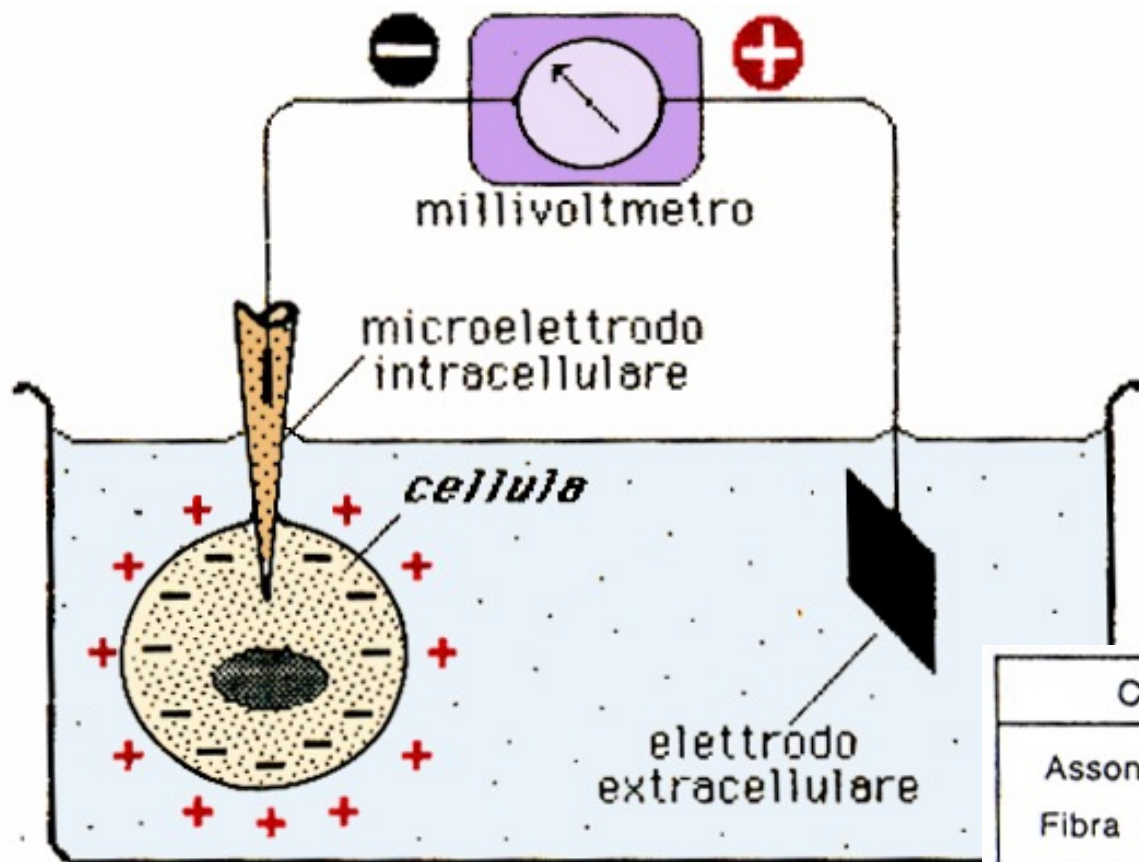


1) Canali cationici

2) Canali anionici

Il potenziale di membrana

Misura del potenziale di membrana mediante microelettrodo.



Cellula	Pot. di membrana
Assone gigante	- 70 mV
Fibra muscolare	- 90 mV
Globulo rosso	- 10 mV
Neurone di gatto	- 80 mV
Uovo di riccio	- 40 mV

Il potenziale di equilibrio

Equazione di Nernst

$$V_m = E_i = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{[i]_2}{[i]_1}$$

R è la costante dei gas

T la temperatura assoluta,

z_i è la valenza dello ione (i)

F la costante di Faraday

$[i]_1$, $[i]_2$ sono le concentrazioni dello ione (i) ai due lati della membrana

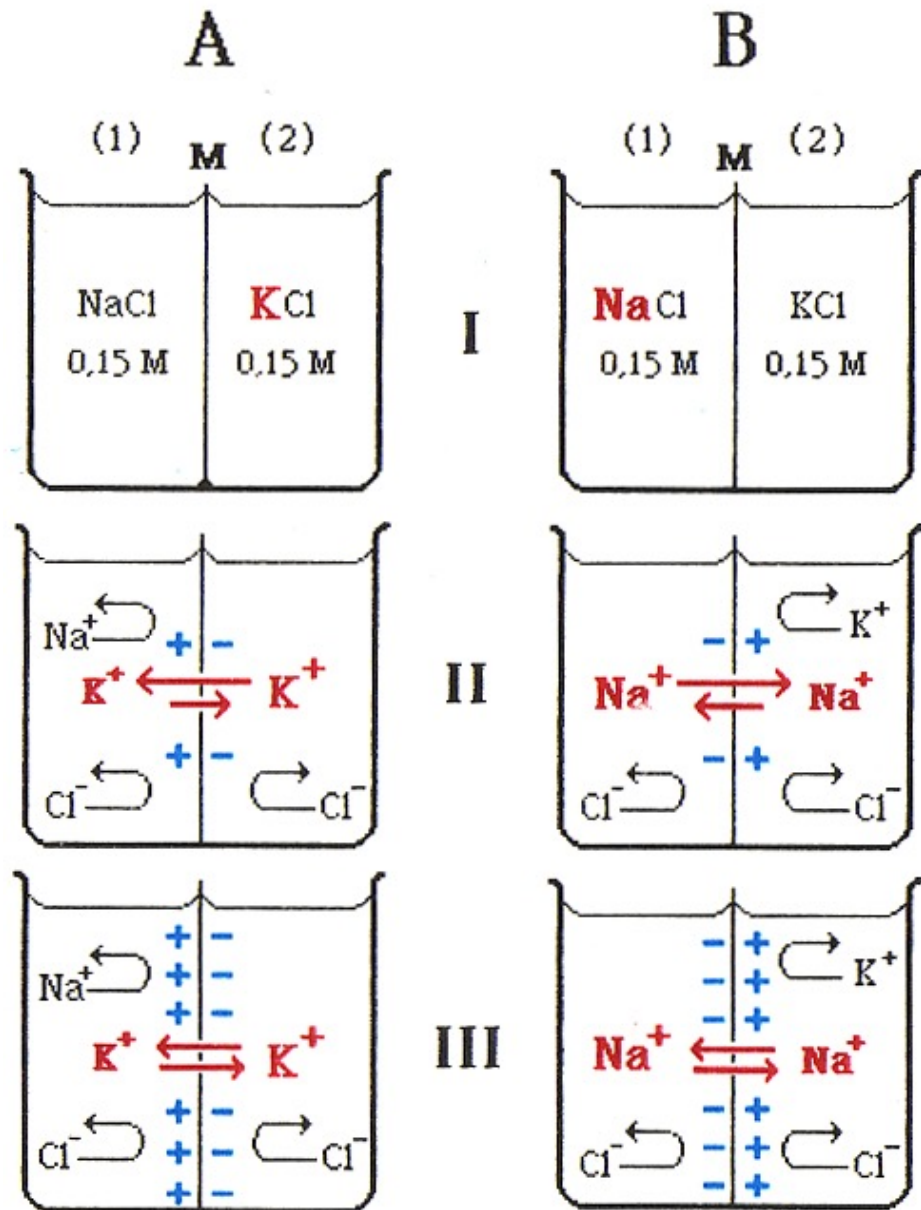
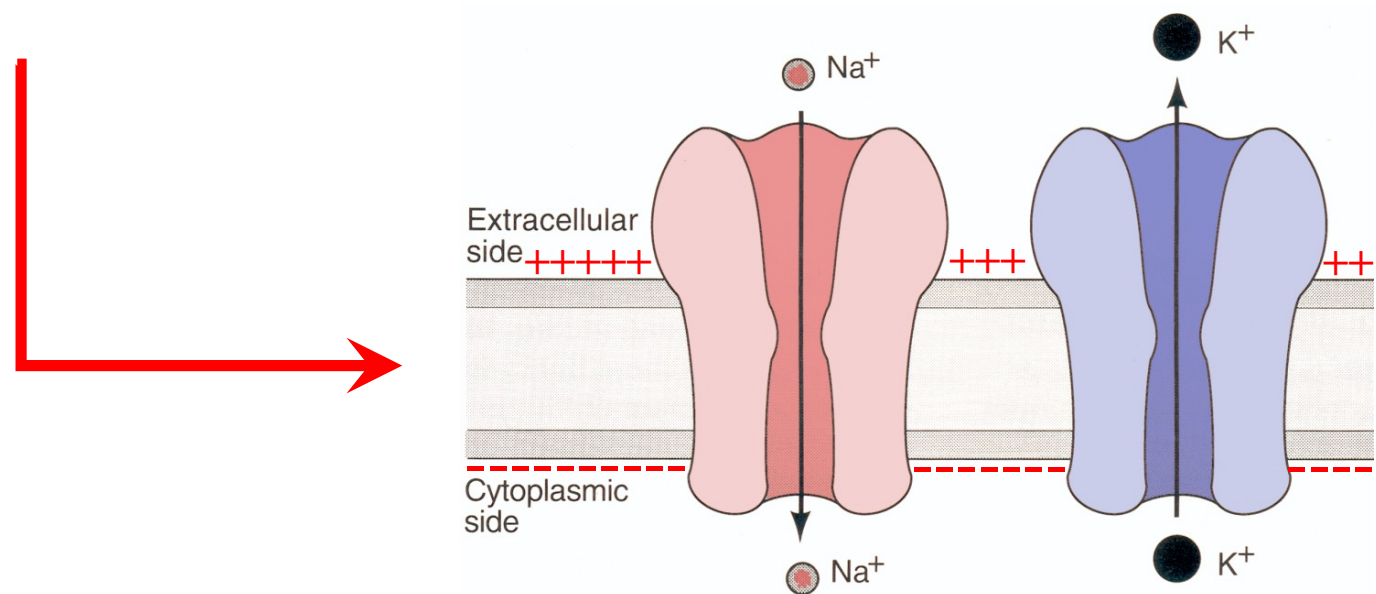


Fig. 6.1 - Due esempi (A e B) di potenziale di equilibrio. I, II, III: istanti successivi del processo con cui si stabilisce l'equilibrio. In rosso sono indicati gli ioni permeanti. Il corpo più grande vuole indicare una concentrazione più elevata.

Nella cellula: le correnti ioniche passive o di fondo

$$E_{Na} = (0,058 \cdot \text{Log } \frac{120}{20}) \text{ Volt} = 45 \text{ mV}$$

$$E_K = (0,058 \cdot \text{Log } \frac{2,5}{139}) \text{ Volt} = -102 \text{ mV}$$



Il potenziale di membrana è:

- uno stato di equilibrio
- un potenziale diffusivo

La formula del
potenziale di membrana:

l'equazione
di Goldman-Hodgkin-Katz
(o equazione GHK)

Tab. 6.2 - Concentrazioni dei tre più importanti ioni inorganici nei liquidi intra- ed extracellulare, espresse in mM/litro.

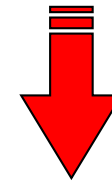
	Concentrazione nel liquido intracellulare (mM/litro)		Concentrazioni nel liquido extracellulare (mM/litro)	
	anfibo	mammifero	anfibo	mammifero
Na ⁺	20	15	120	150
K ⁺	139	150	2.5	5
Cl ⁻	3.8	10	120	125

$$E_{Na} = (0,058 \cdot \log \frac{120}{20}) \text{ Volt} = 45 \text{ mV}$$

$$E_K = (0,058 \cdot \log \frac{2,5}{139}) \text{ Volt} = -102 \text{ mV}$$

$$E_{Cl} = (0,058 \cdot \log \frac{3,8}{120}) \text{ Volt} = -88 \text{ mV}$$

$$V_m = 0.058 \log \frac{2,5 \cdot (2 \cdot 10^{-6}) + 120 \cdot (2 \cdot 10^{-8}) + 3,8 \cdot (4 \cdot 10^{-6})}{139 \cdot (2 \cdot 10^{-6}) + 20 \cdot (2 \cdot 10^{-8}) + 120 \cdot (4 \cdot 10^{-6})} = 0,088 \text{ V}$$



$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_e \cdot P_K + [Na^+]_e \cdot P_{Na} + [Cl^-]_i \cdot P_{Cl}}{[K^+]_i \cdot P_K + [Na^+]_i \cdot P_{Na} + [Cl^-]_e \cdot P_{Cl}}$$

L'equilibrio di Donnan: il ruolo delle proteine

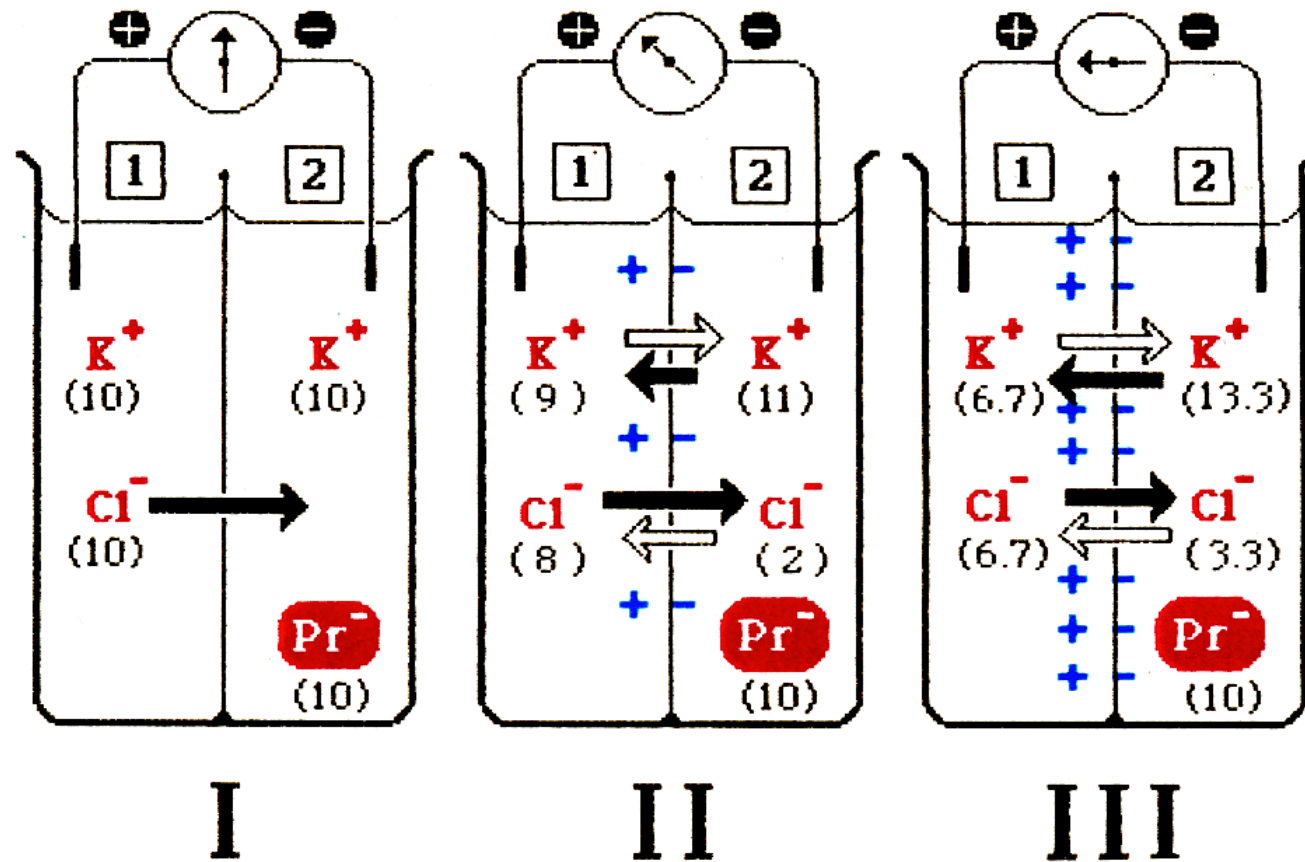


Fig. 6.2 - Esempio di equilibrio di Donnan. I, II, III indicano tre istanti successivi del processo. Le frecce vuote indicano la direzione dei flussi secondo gradiente elettrico, le frecce piene la direzione dei flussi secondo gradiente di concentrazione. La lunghezza delle frecce indica l'intensità dei flussi corrispondenti.

Il confronto tra potenziale di membrana
e potenziali di equilibrio degli ioni diffusibili (equazioni di Nernst)
consente di prevedere la direzione delle correnti ioniche
attraverso i canali ionici

1) Poniamo il valore del potenziale di membrana pari a -80 mV

2) Supponiamo che applicando l'equazione di Nernst per gli ioni diffusibili,
i potenziali di equilibrio risultino essere i seguenti:

$E_{Na} = + 45 \text{ mV}$ $\longrightarrow$ corrente cationica entrante

$E_K = - 102 \text{ mV}$ $\longrightarrow$ corrente cationica uscente

$E_{Cl} = - 88 \text{ mV}$ $\longrightarrow$ corrente anionica entrante

$E_{Ca} = + 35 \text{ mV}$ $\longrightarrow$ corrente cationica entrante

Il ruolo della pompa Na^+/K^+ : il mantenimento dei gradienti di Na^+ e K^+

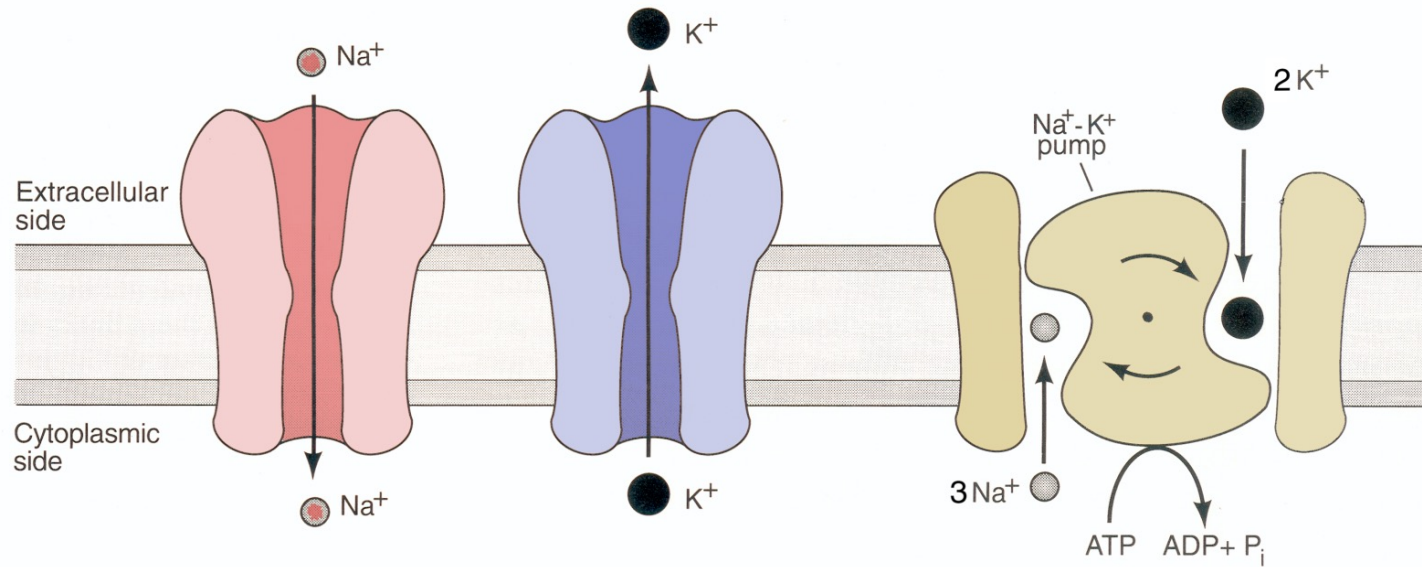


FIGURE 6–7

When the cell is at rest the passive fluxes of Na^+ and K^+ into and out of the cell are balanced by active transport driven in the opposite direction by the ATP-dependent Na^+/K^+ pump.

La stechiometria della pompa 3 (Na⁺): 2 (K⁺)

- elettrogenica
- contributo al valore del potenziale di membrana trascurabile (alcuni mV)

