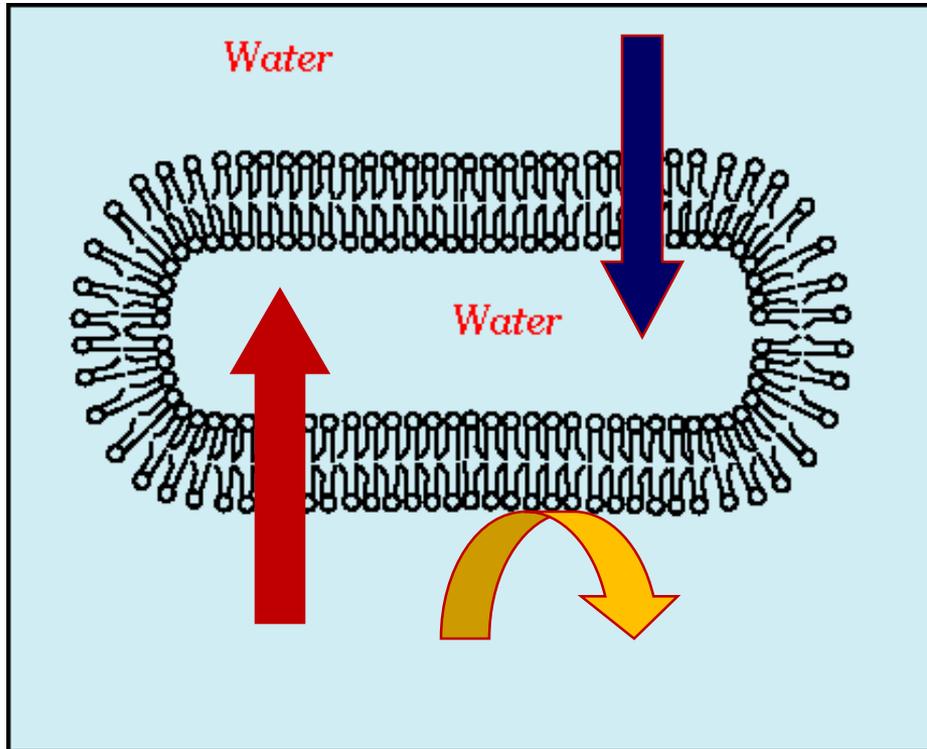
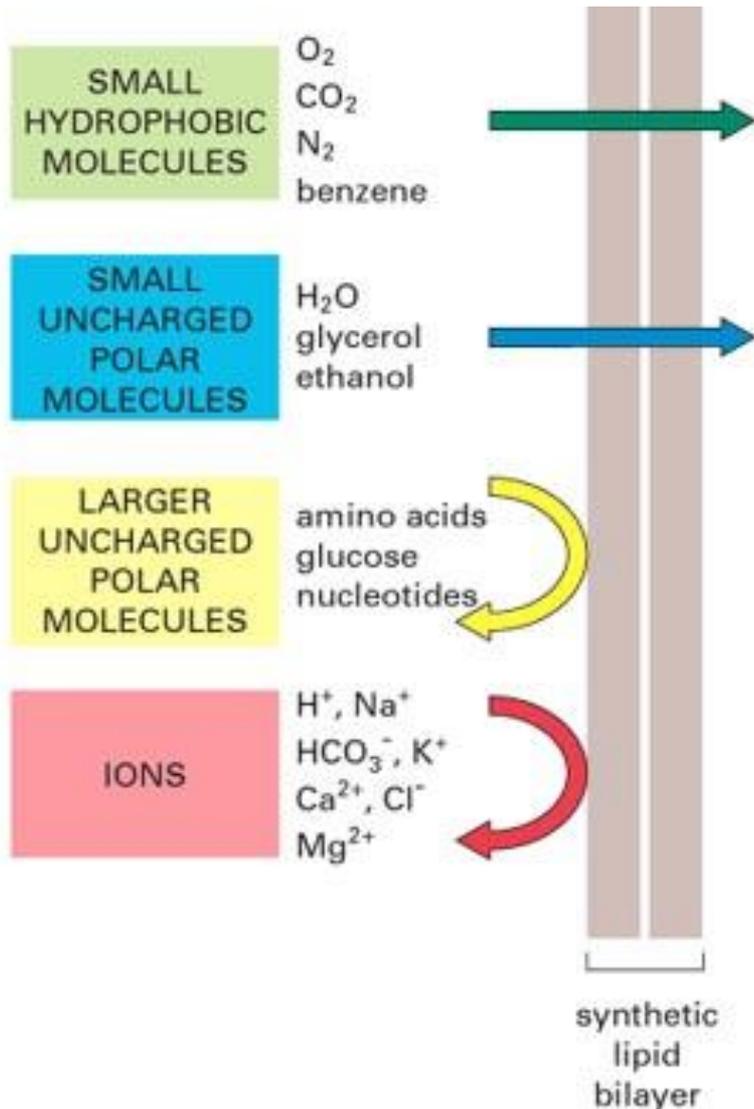


Le membrane nei sistemi biologici



- Tutti gli organismi viventi esplicano le loro funzioni biologiche regolando l'assorbimento e l'eliminazione di sostanze mediante le membrane

L'acqua attraversa liberamente le membrane

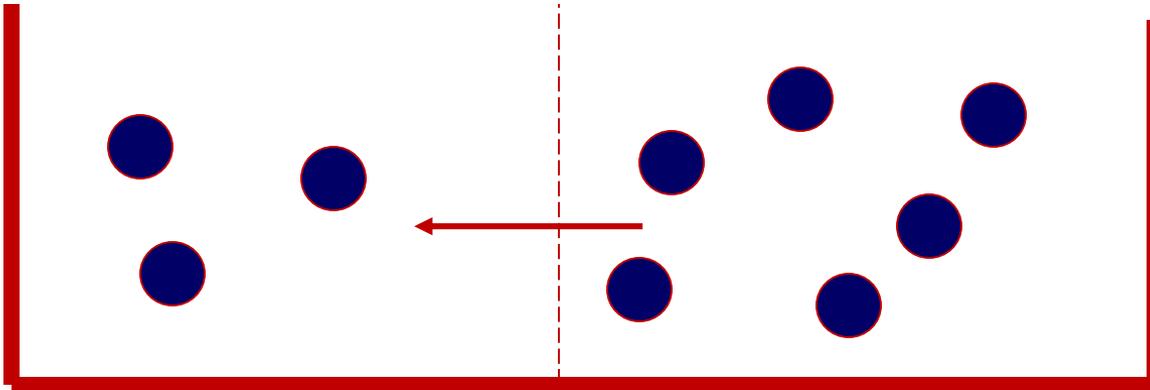


- Le molecole molto piccole e prive di carica elettrica possono attraversare le membrane molto rapidamente per semplice diffusione
- L'acqua attraversa le membrane molto più rapidamente di quanto si possa prevedere dalla diffusione semplice
- Gli elettroliti e le molecole polari di dimensioni maggiori non sono in grado di attraversare le membrane biologiche

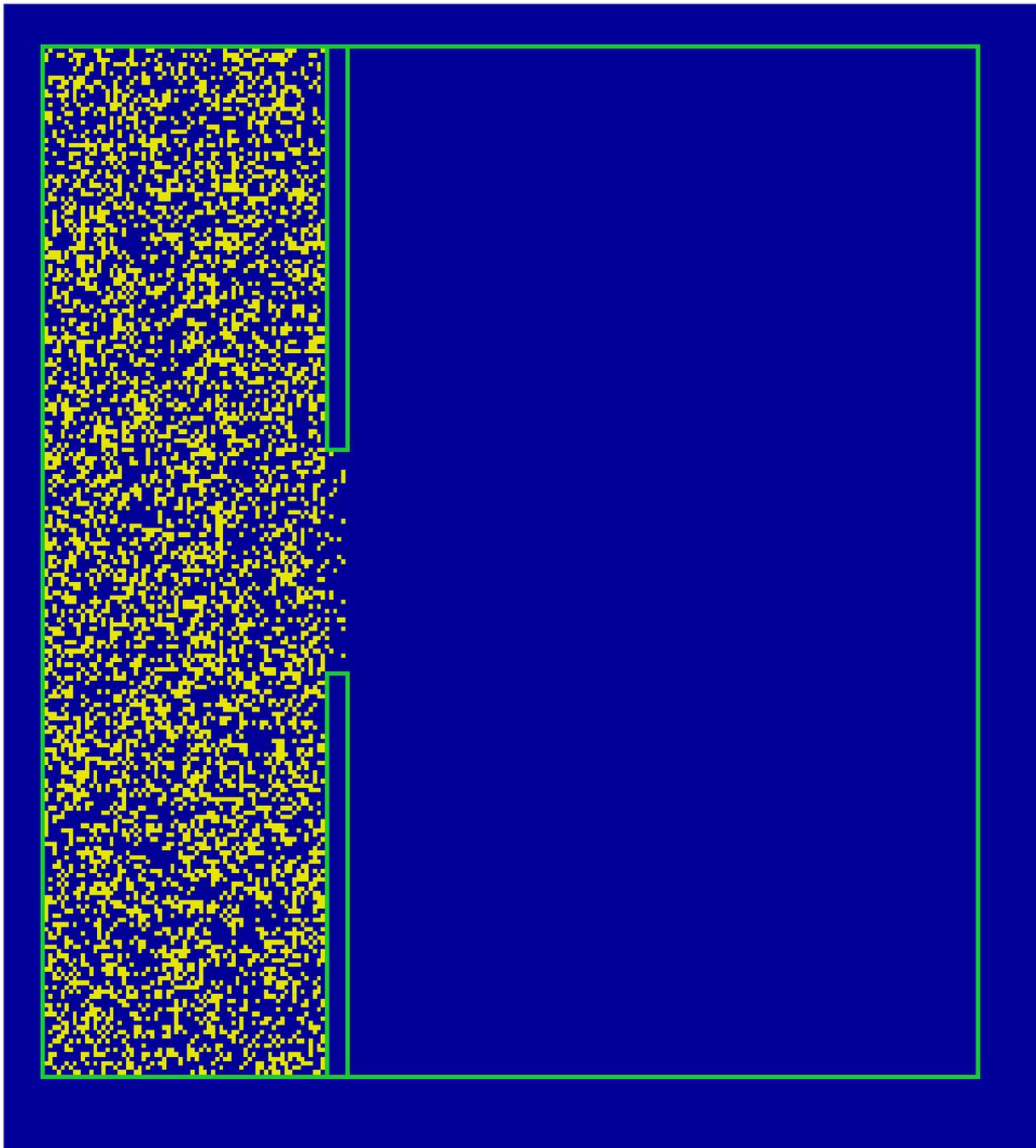
Il flusso di materia

- Il flusso (J_s) corrisponde al numero di moli di un soluto (s) che attraversa un piano immaginario nell'unità di tempo per unità di superficie

$$J = \frac{\text{numero di moli}}{\text{tempo} \cdot \text{superficie}}$$



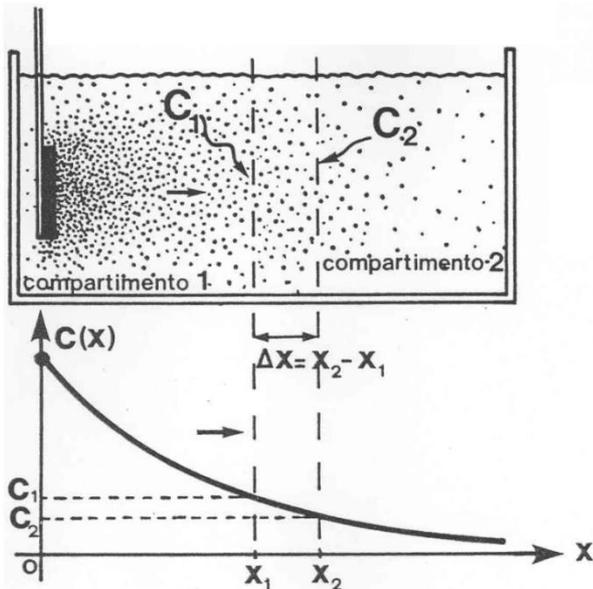
I flussi netti attraverso le membrane cessano quando viene raggiunta una situazione di equilibrio



Si osserva
un
apparente
moto
direzionale
di materia

La prima legge di Fick

- Il flusso di materia è maggiore quanto più elevata è la differenza di concentrazione (ΔC) che esiste tra i due piani immaginari e diminuisce all'aumentare della distanza tra i due piani (Δx)



$$J_s = -D \cdot \frac{\Delta C}{\Delta x}$$

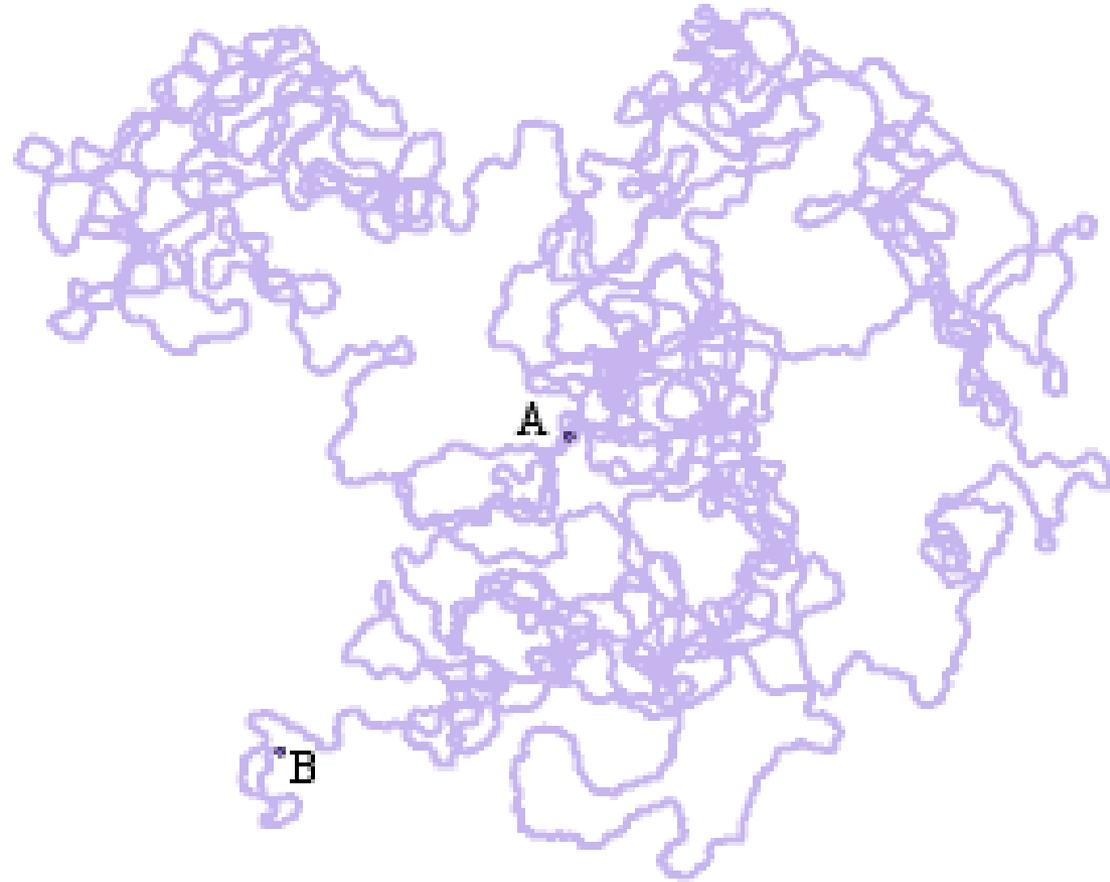
Dove:

D è il coefficiente di diffusione

ΔC è la differenza di concentrazione

Δx è la distanza tra i due piani immaginari

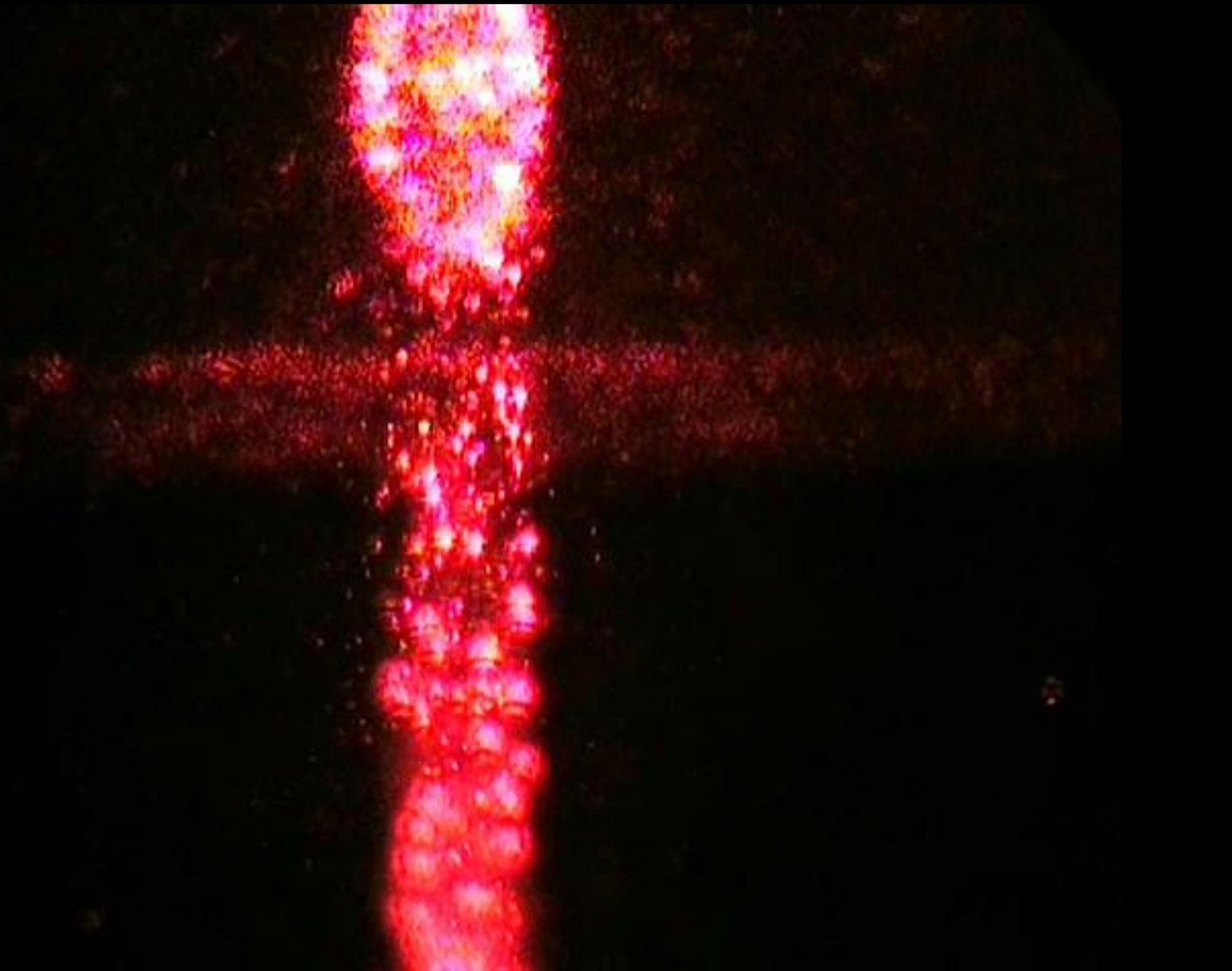
I moti molecolari



- La velocità di diffusione dipende da:
 - Dimensione
 - Forma
 - Carica elettrica
- Per semplicità si assume che le molecole abbiano forma sferica

Il moto browniano è la manifestazione visibile dell'agitazione termica delle molecole che dà luogo ad un moto casuale

La diffusione libera



Il virus dell'influenza

La relazione di Stokes-Einstein

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

- Nel caso di collisioni multiple, se si approssima una molecola ad una sfera, è possibile utilizzare la relazione di Stokes-Einstein per calcolare il coefficiente di diffusione

Dove:

k_B è la costante di Boltzmann ($1.38 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$)

T è la temperatura assoluta

η è la viscosità della soluzione (per l'acqua è $8.9 \cdot 10^{-4} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$)

r è il raggio della molecola, se supposta sferica.

Il moto casuale delle molecole nel verso descritto dalla legge di Fick

- È possibile calcolare la distanza percorsa da una molecola conoscendo il suo coefficiente di diffusione:

Lo spostamento quadratico medio

$$\overline{x^2} = 2 \cdot D \cdot t$$

Esercizio n. 1

- Quale è il coefficiente di diffusione del virus della poliomielite a 37°C sapendo che è di forma sferica e che possiede un peso molecolare di 10^7 Da ed un diametro di 30 nm?

Utilizzando la relazione di Stokes-Einstein

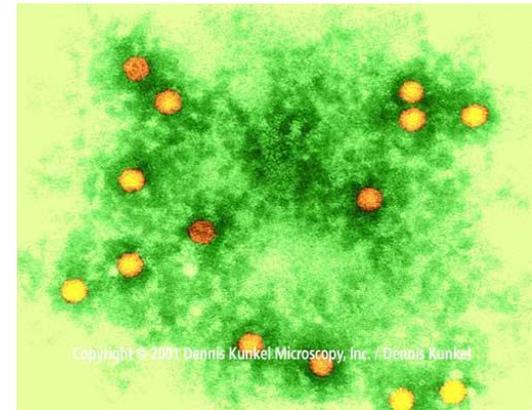
$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} = \frac{1.38 \cdot 10^{-23} \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot 310 \text{ K}}{6 \cdot 3.14 \cdot 8.9 \cdot 10^{-4} \text{ kgm}^{-1} \text{ s}^{-1} \cdot 15 \cdot 10^{-9} \text{ m}} = 1.63 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$$

- Stimare il tempo medio richiesto perché diffonda ad una distanza uguale ad un diametro cellulare ($10 \mu\text{m} = 10^{-5} \text{ m}$)
- Utilizzando la relazione sullo spostamento quadratico medio:

$$\overline{x^2} = 2 \cdot D \cdot t$$

Per cui:

$$t = \frac{\overline{x^2}}{2 \cdot D} = \frac{10^{-10} \text{ m}^2}{2 \cdot 1.63 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}} \cong 3 \text{ s}$$



Esercizio n. 2

- Una soluzione contenente insulina è mantenuta a temperatura costante (20°C) senza agitazione per un anno. Calcolare di quanto si sposta una molecola di insulina, sapendo che il suo coefficiente di diffusione $D = 8.2 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$.

In un anno ci sono:

$$365 \text{ giorni/anno} \cdot 24 \text{ ore/giorno} \cdot 3600 \text{ secondi/ora} = 3.156 \cdot 10^7 \text{ s}$$

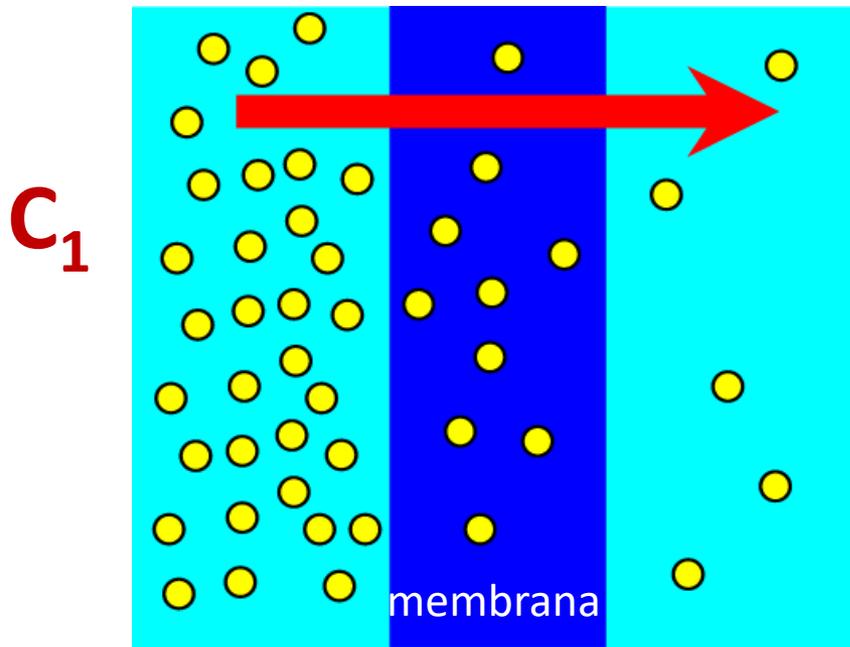
Utilizzando la relazione sullo spostamento quadratico medio:

$$\overline{x^2} = 2 \cdot D \cdot t = 2 \cdot 8.2 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2\text{s}^{-1} \cdot 3.156 \cdot 10^7 \text{ s} = 5.18 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$$

Per cui

$$\overline{x} = \sqrt{\overline{x^2}} = \sqrt{5.18 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2} = 7.19 \cdot 10^{-2} \text{ m} = 7.2 \text{ cm}$$

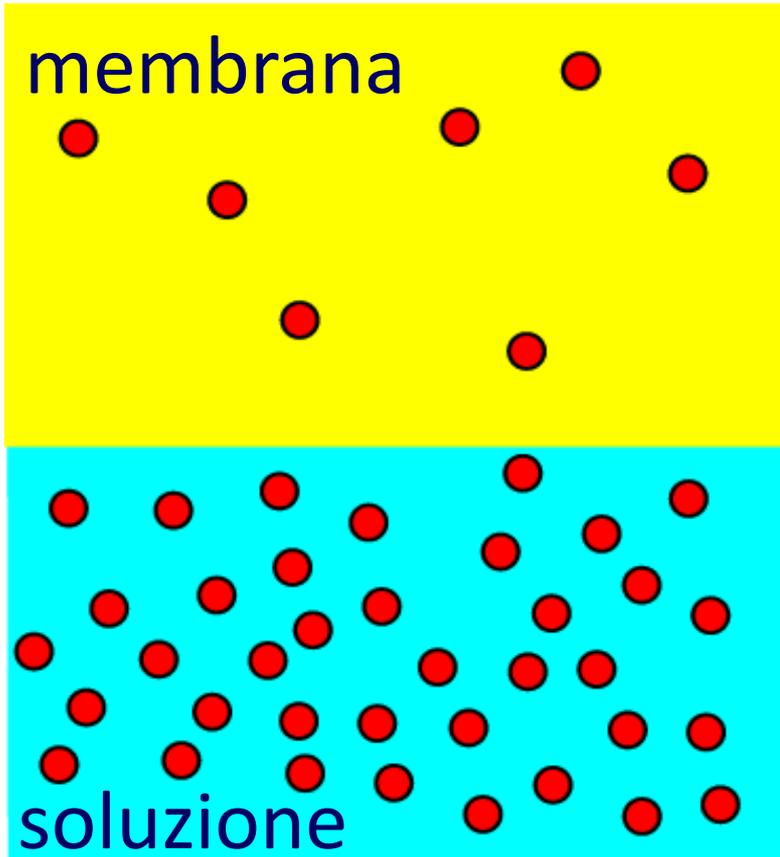
Il flusso di soluto attraverso la membrana è determinato dalle caratteristiche della membrana



- Le molecole che si sciolgono nei lipidi (sostanze apolari) possono diffondere all'interno della membrana cellulare ed attraversarla per semplice diffusione
- Non sono necessarie particolari proteine trasportatrici di membrana

Le sostanze si muovono secondo gradiente di concentrazione nel verso favorito dal punto di vista termodinamico

Il coefficiente di partizione

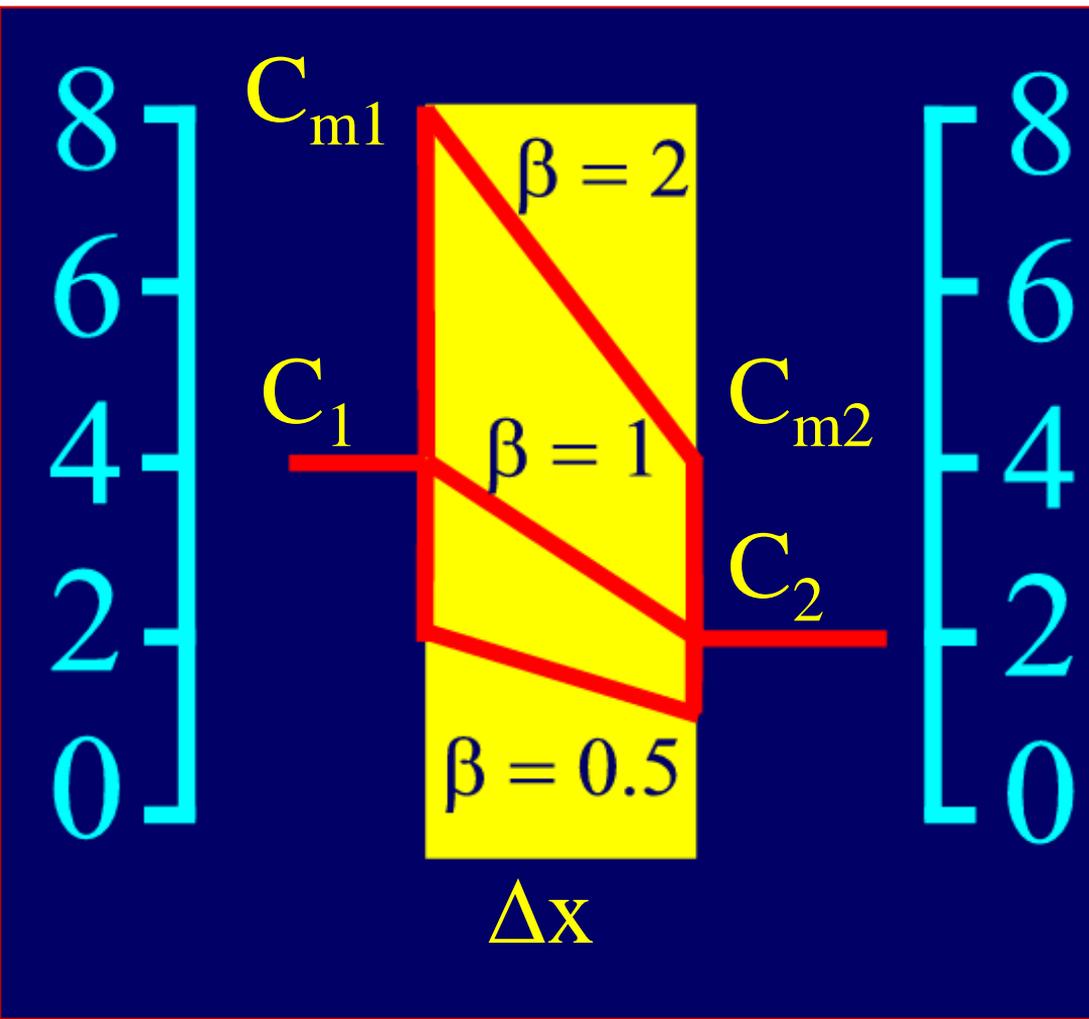


- La concentrazione all'interno della membrana sarà differente della concentrazione in soluzione in funzione delle dimensioni e della polarità delle molecole

$$\beta = \frac{C_{membrana}}{C_{soluzione}}$$

β è il coefficiente di partizione

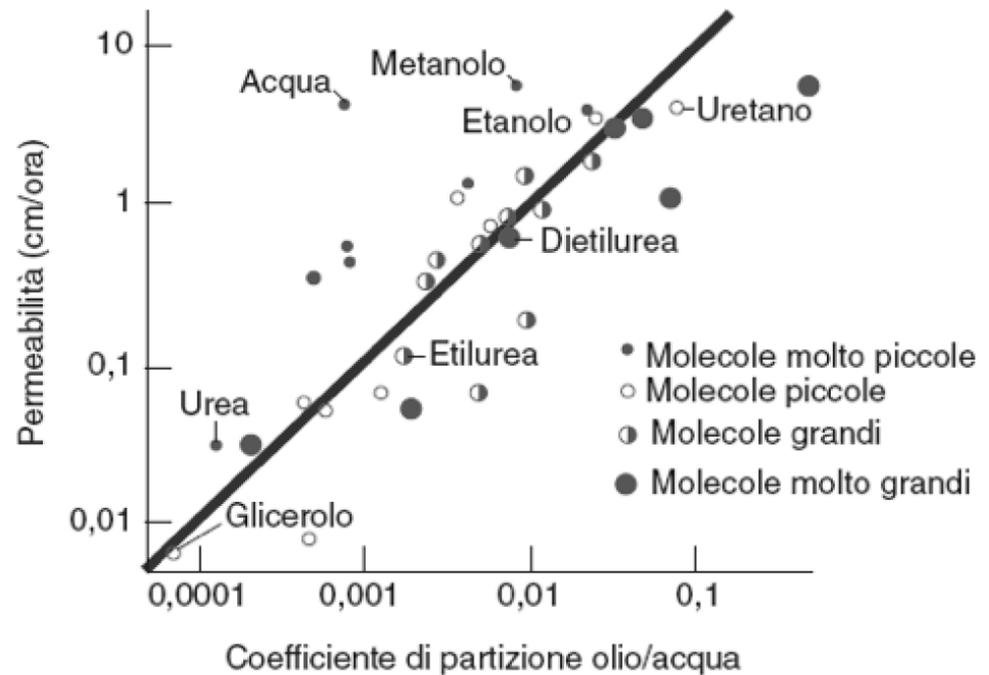
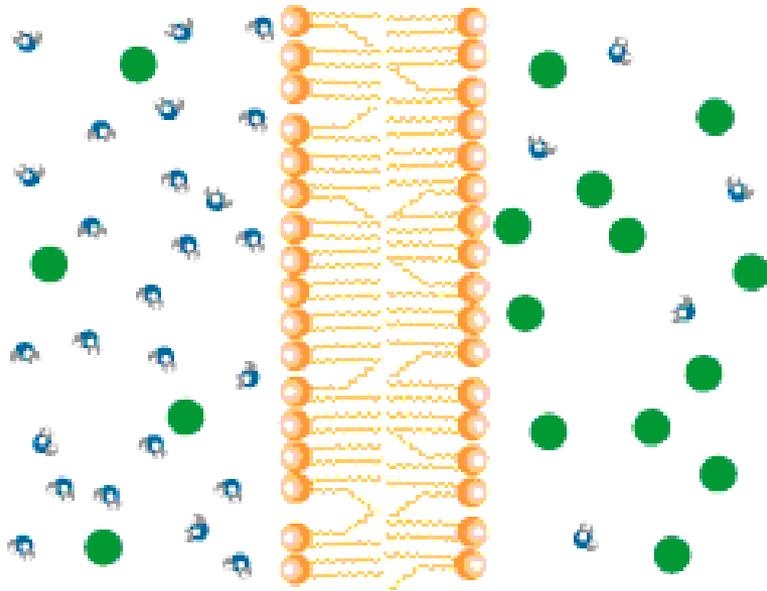
La velocità di diffusione dipende dalla lipofilicità della sostanza



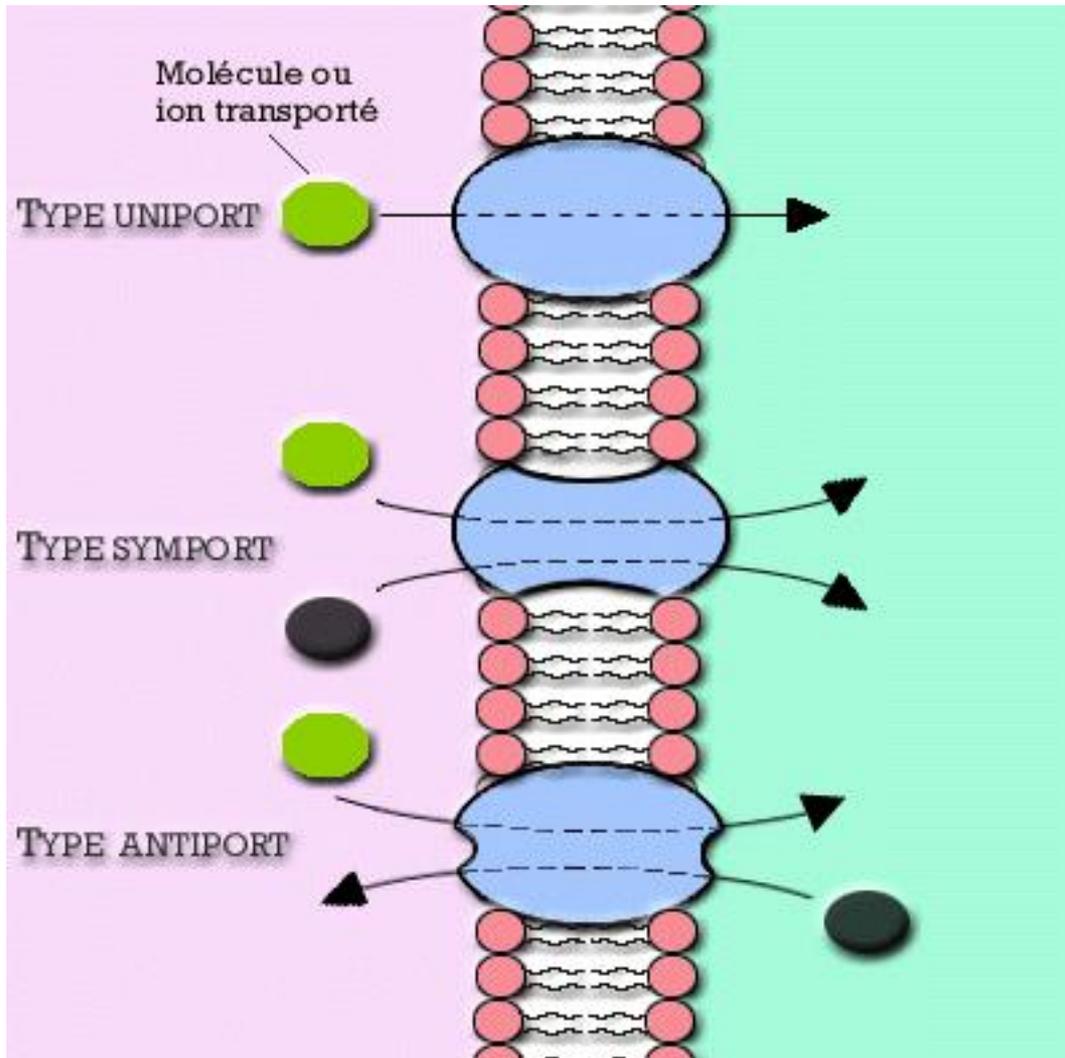
$$J_m = -D_m \cdot \frac{\Delta C}{\Delta x}$$

- Il trasporto passivo per diffusione libera è troppo lento per sostenere i processi metabolici

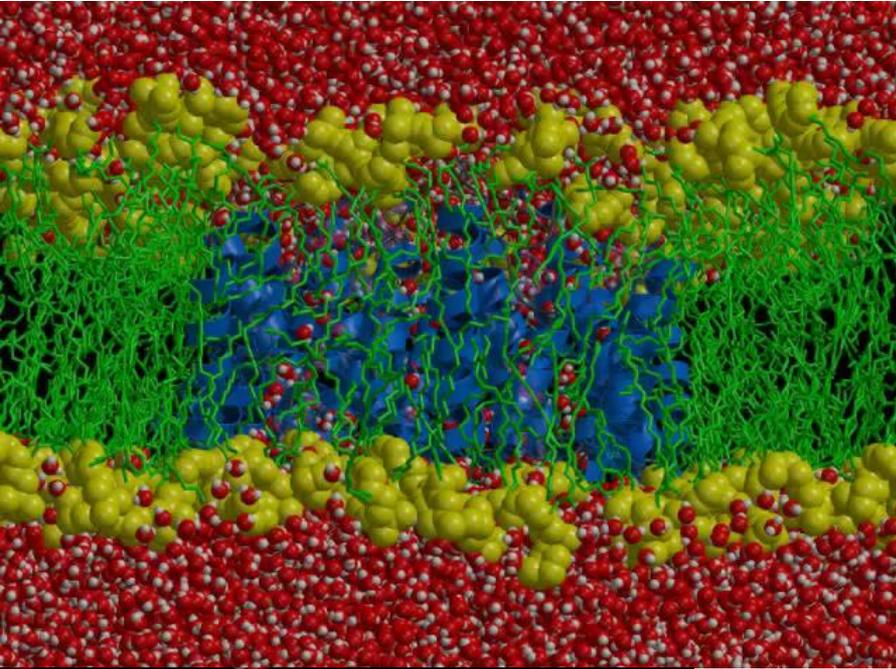
La permeabilità dipende dal coefficiente di partizione



Il trasporto attraverso le membrane biologiche

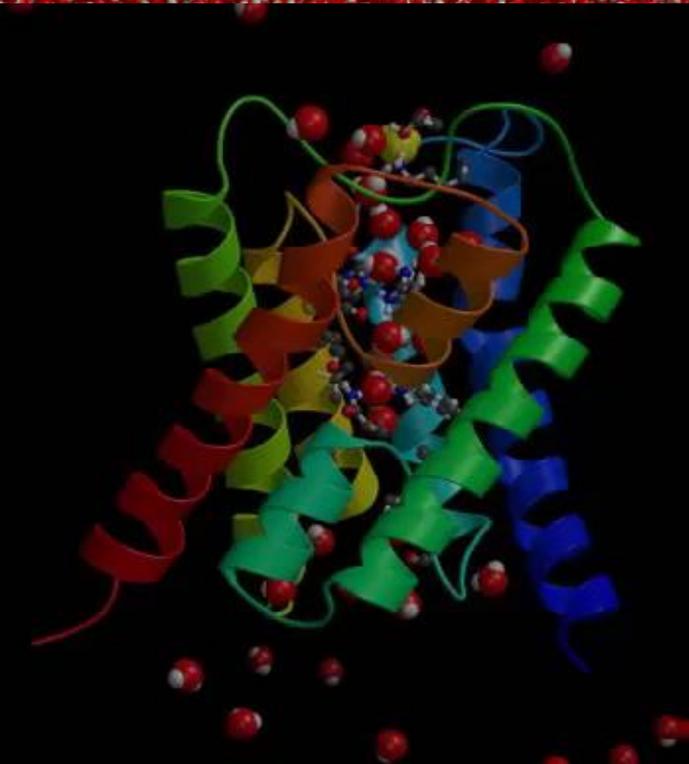


- Esistono vari modi per trasportare molecole che non diffondono liberamente attraverso le membrane cellulari

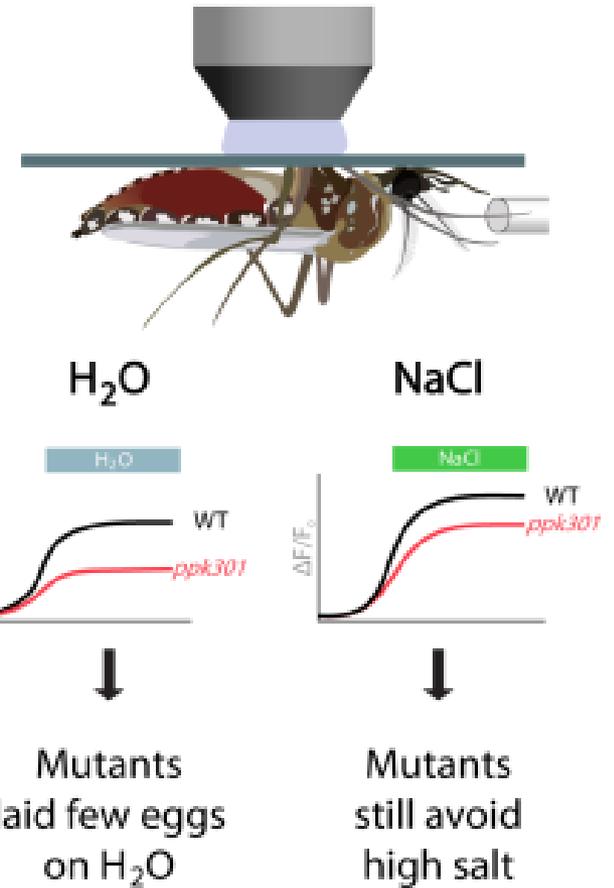
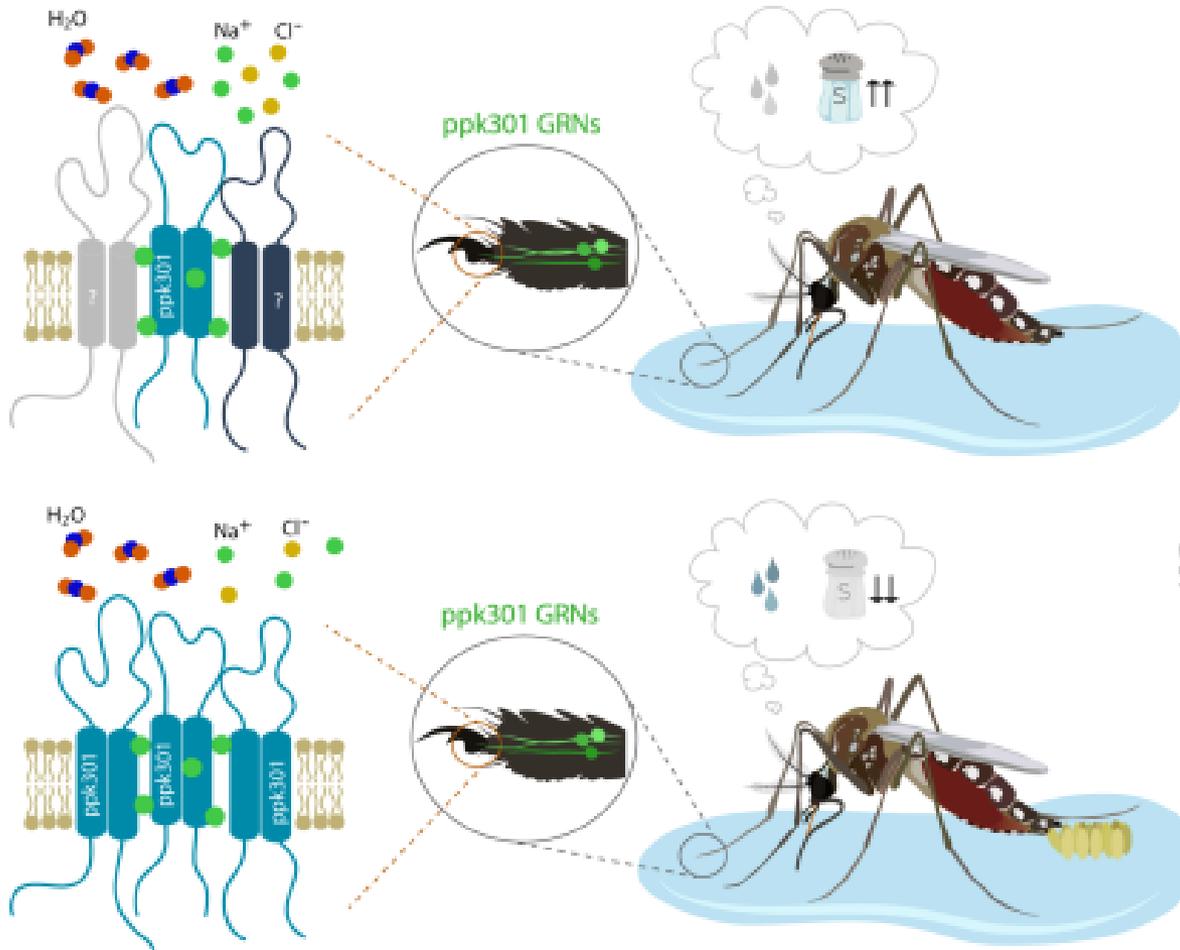


I canali proteici nella membrana

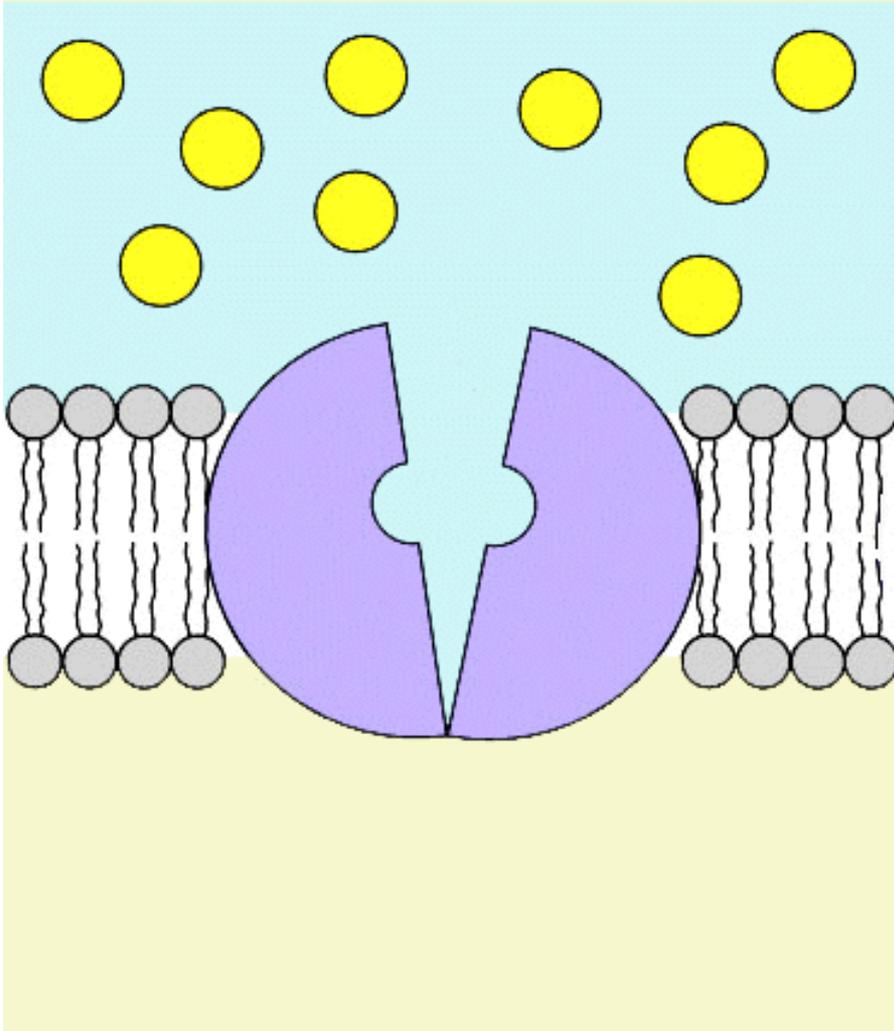
- Le molecole fortemente polari o elettricamente cariche che in soluzione sono solvate non riescono ad attraversare le membrane lipidiche
- I canali proteici facilitano l'allontanamento delle molecole d'acqua ed, interagendo con le molecole di soluto, ne consentono il passaggio



La zanzara

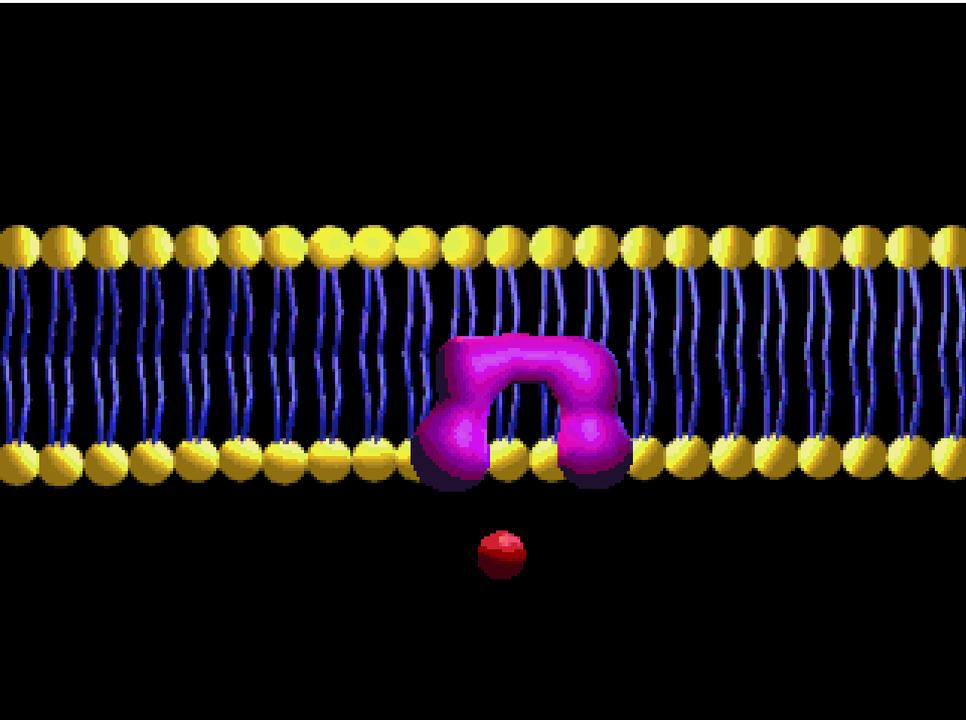


La diffusione facilitata



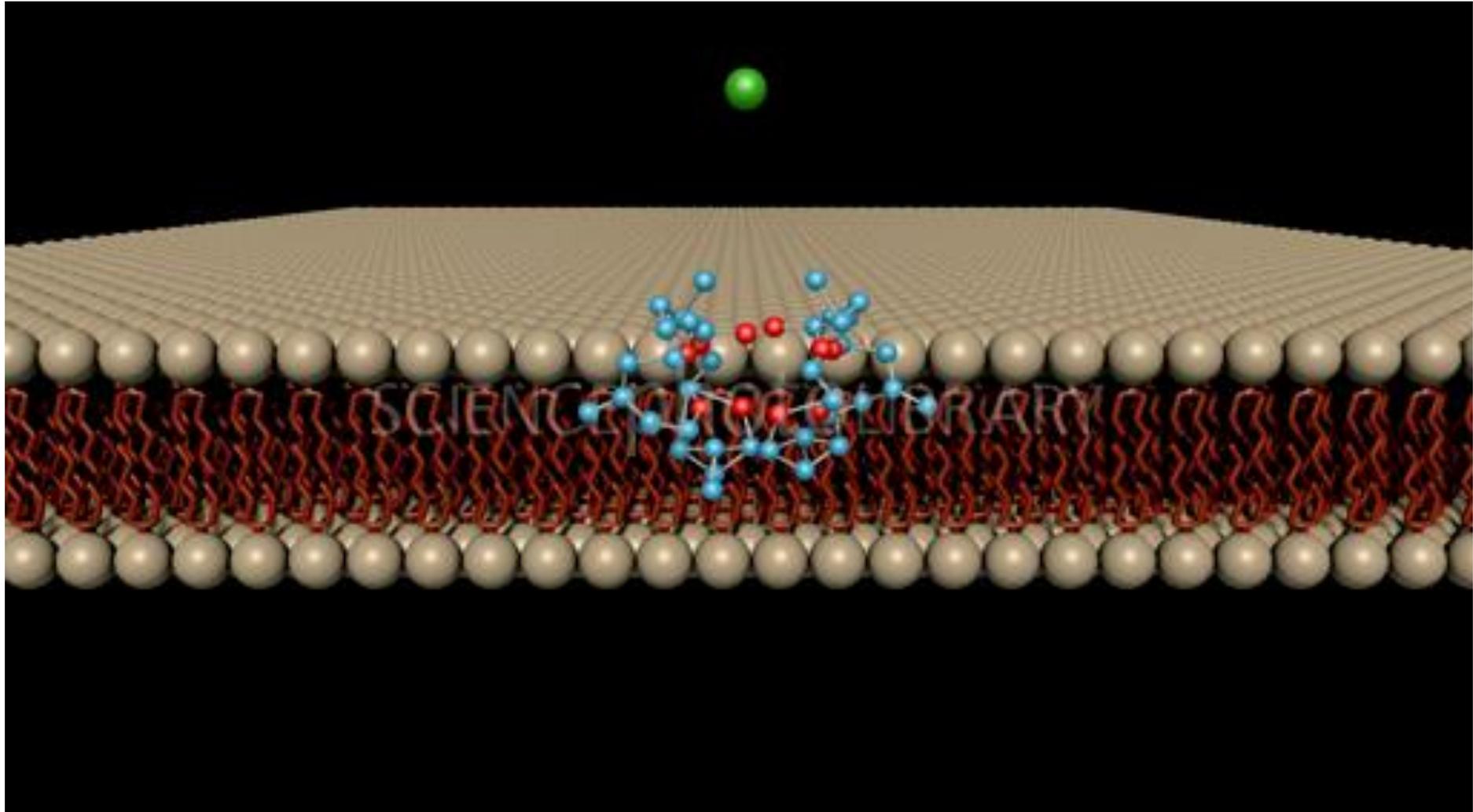
- La proteina canale risiede nella membrana lipidica
- Possiede accessi alla soluzione da entrambi i lati della membrana
- È selettiva
- Può solamente eguagliare la concentrazioni ai due lati della membrana
- Mostra una cinetica di tipo saturativo

Diffusione facilitata 2



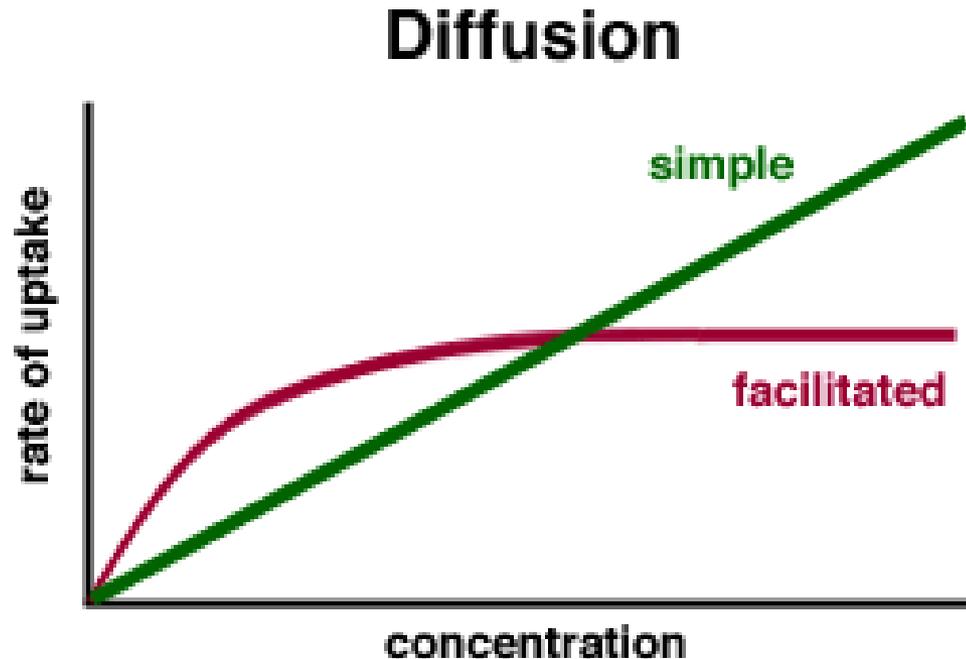
- Le proteine trasportatrici non si estendono attraverso l'intero doppio strato lipidico
- Si legano reversibilmente alla molecola che deve essere trasportata , assieme a questa, diffondono attraverso il doppio strato lipidico
- Rilasciano infine la molecola dall'altro lato della membrana
- Possono solamente eguagliare la concentrazioni ai due lati della membrana
- Mostrano una selettività ed una cinetica di tipo saturativo

Gli ionofori



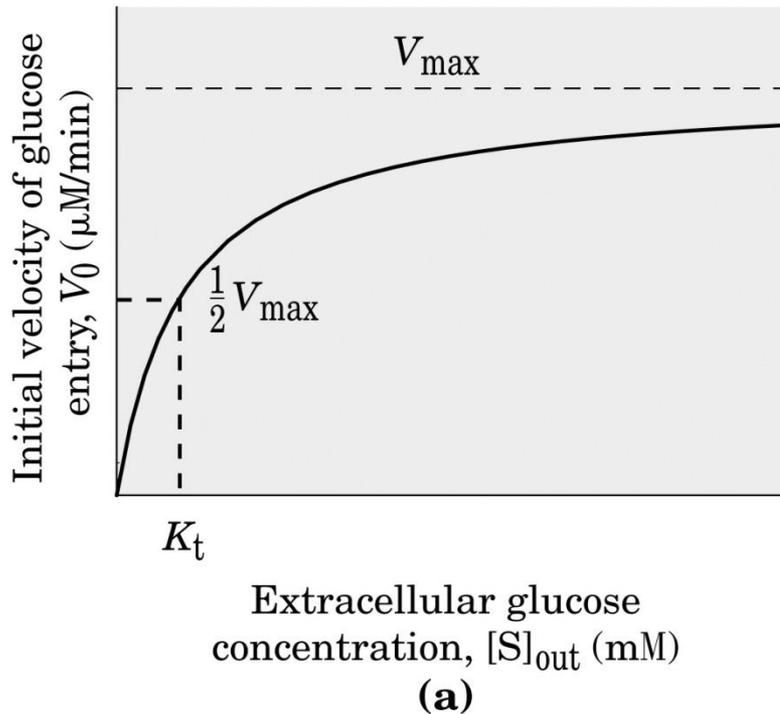
Confronto tra la diffusione semplice e la diffusione facilitata

- In entrambi i tipi di trasporto la direzione netta del flusso di materia è regolata dalla differenza di concentrazione ed il flusso netto si arresta quando vengono uguagliate le concentrazioni ai due lati della membrana



- Nella diffusione semplice il flusso è direttamente proporzionale alla differenza di concentrazione della molecola ai due lati della membrana, mentre nella diffusione facilitata la cinetica è di tipo saturativo.

Cinetica della diffusione facilitata



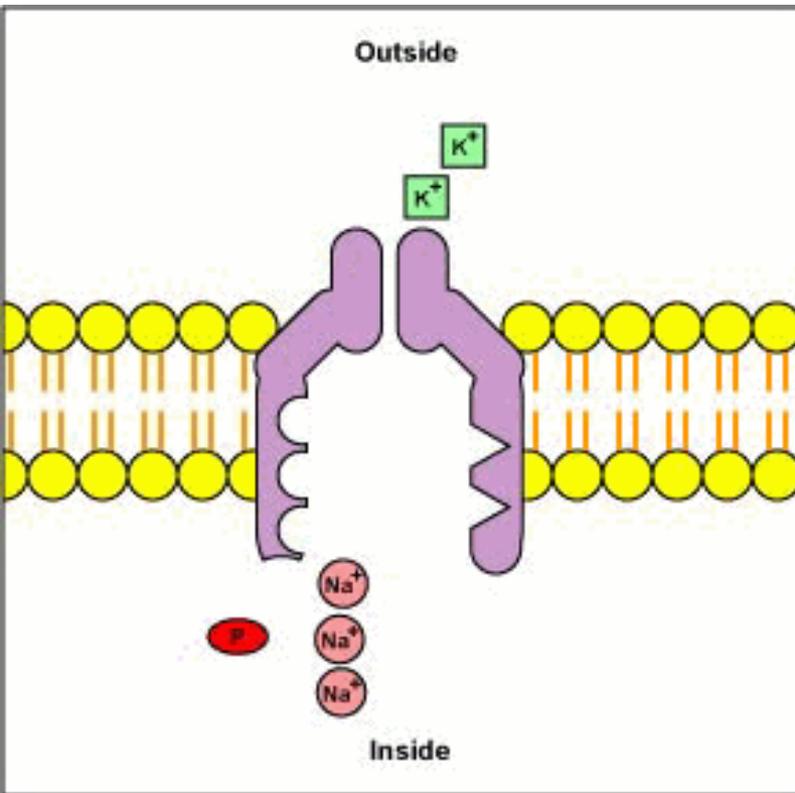
- La cinetica del trasporto per diffusione facilitata mostra un comportamento saturativo ed è possibile individuare:
 - Velocità massima (V_{max})
 - Costante di affinità (K_m)
- Il trasporto è soggetto ad inibizione competitiva

Facilitated Diffusion

Quando si rende necessario trasportare le sostanze contro gradiente di concentrazione vengono utilizzati i trasporti attivi

- **Trasporto attivo primario**
 - Prevede l'utilizzo di ATP che fornisce energia al trasporto
- **Trasporto attivo secondario**
 - Prevede l'accoppiamento del trasporto di due sostanze ed la differenza di concentrazione dell'una fornisce l'energia al trasporto dell'altra

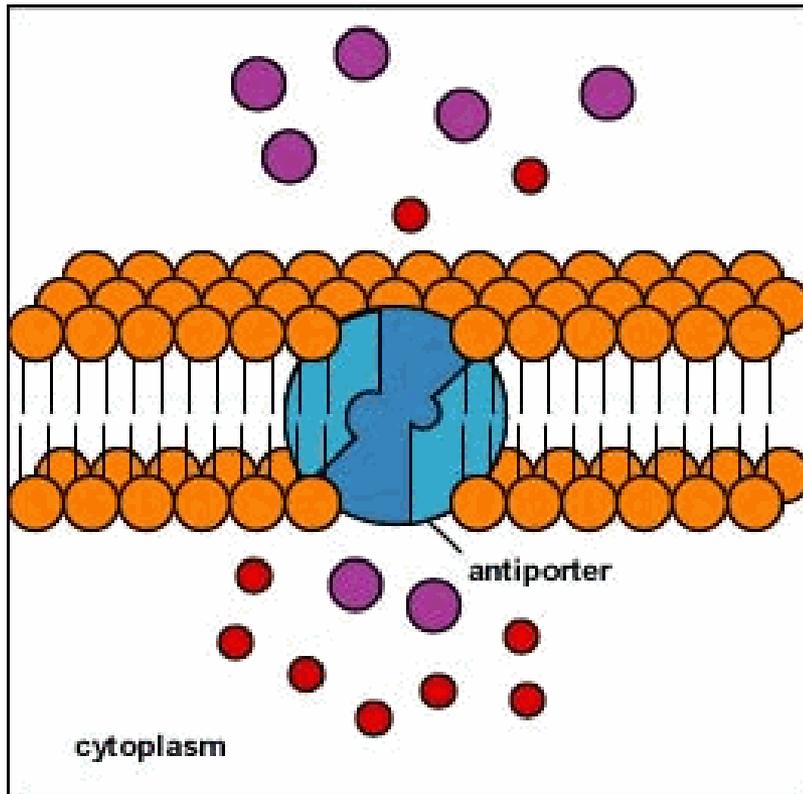
Trasporto attivo primario



ATPasi Na/K

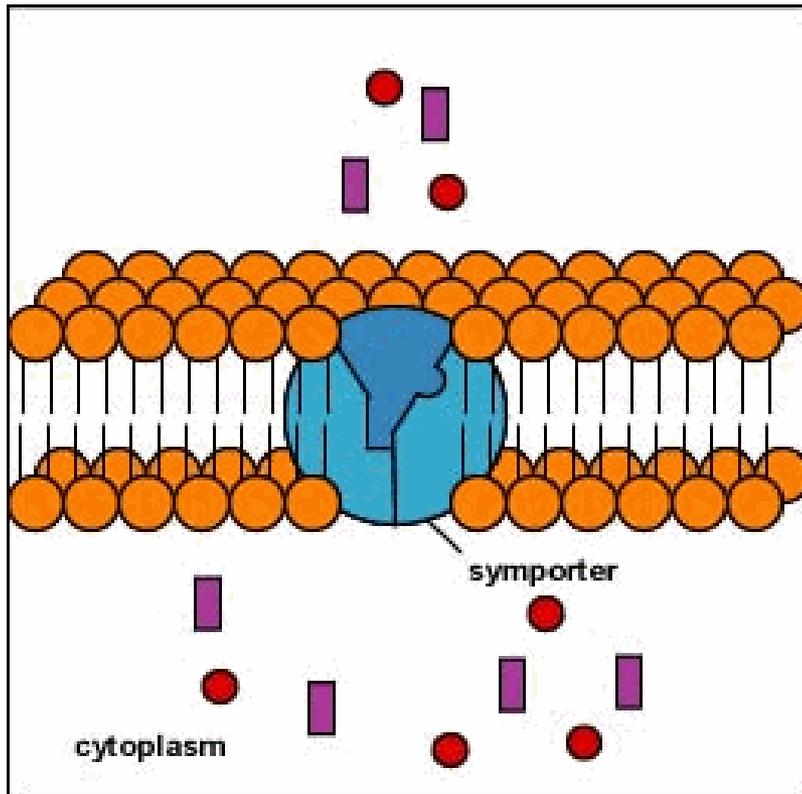
- Coinvolge direttamente l'energia ricavata dal metabolismo (ATP) che viene accoppiata al trasporto
- Più di un terzo dell'ATP prodotto dal nostro corpo è utilizzato per mantenere i gradienti di concentrazione ionica transmembrana
- È elettrogenico

Il trasporto attivo secondario 1: l'antiporto



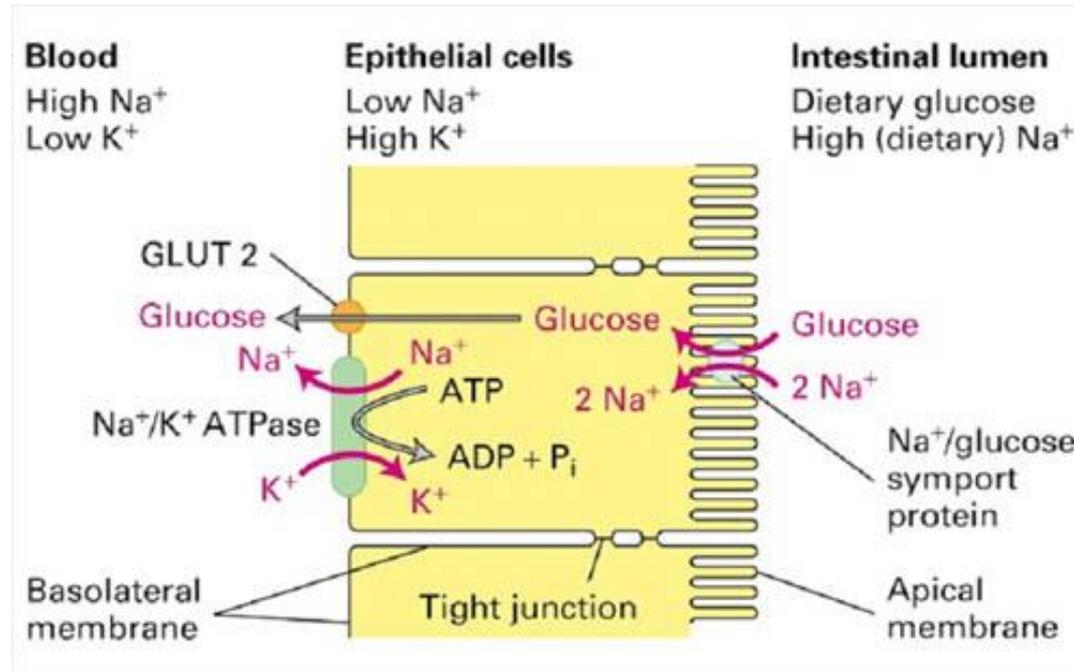
- Prevede il trasporto di due sostanze nella direzione opposta
- Viene sfruttata la differenza di concentrazione di una specie per far avvenire il trasporto della seconda nella direzione opposta
- Il flusso delle due sostanze è accoppiato

Il trasporto attivo secondario 2: il simporto



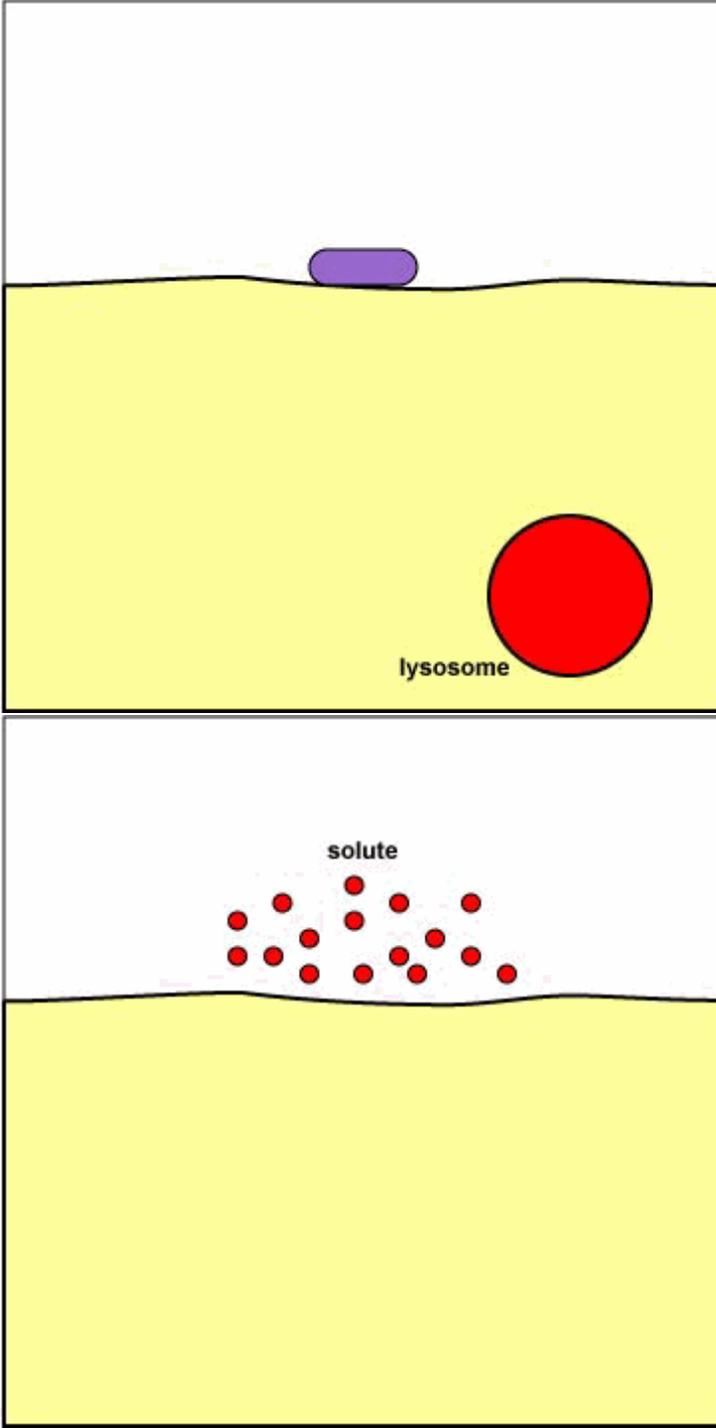
- Prevede il trasporto di due sostanze simultaneamente nella stessa direzione
- Viene sfruttata la differenza di concentrazione di una specie per far avvenire il trasporto della seconda specie nella stessa direzione
- Il flusso delle due sostanze è accoppiato

L'assorbimento del glucosio



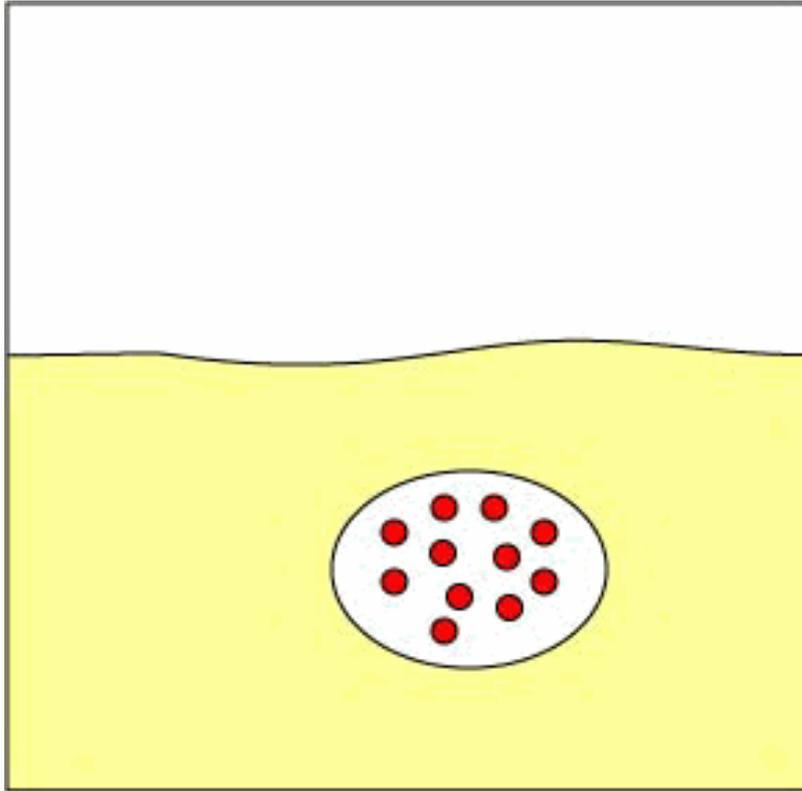
- Il glucosio viene assorbito dalla cellula intestinale mediante un meccanismo di simporto con lo ione sodio
- Il sodio viene eliminato attivamente dalla cellula mediante una pompa (ATPasi Na/K) in antiporto con il potassio
- Il glucosio viene trasferito dall'interno della cellula al sangue per diffusione facilitata

Fagocitosi e pinocitosi



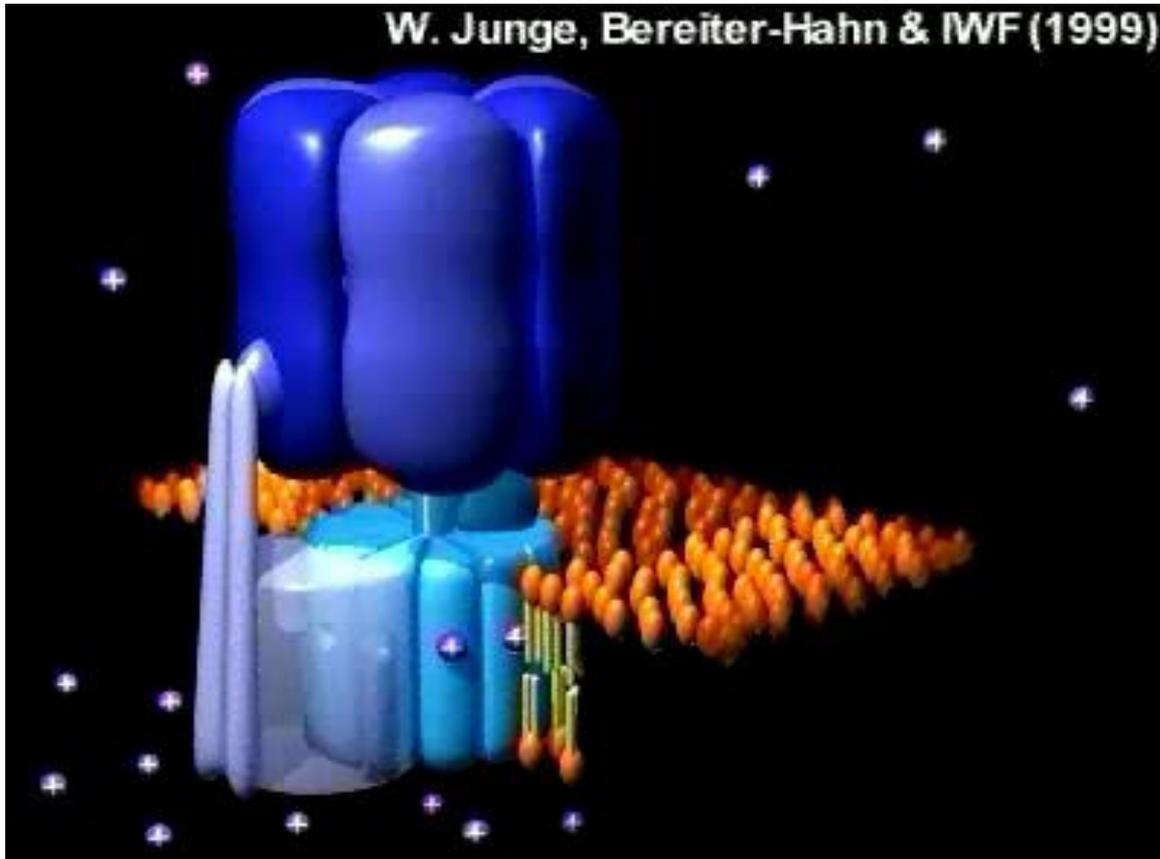
- Il trasporto di sostanze all'interno della cellula può avvenire mediante meccanismi molto complessi che prevedono l'utilizzo di strutture di riconoscimento specializzate di membrana
- L'endocitosi (fagocitosi e pinocitosi) viene utilizzata per particelle di dimensioni elevate che non possono attraversare le membrane cellulari

L'esocitosi



- La cellula è in grado di secernere sostanze mediante un complesso meccanismo che prevede il riconoscimento di membrane

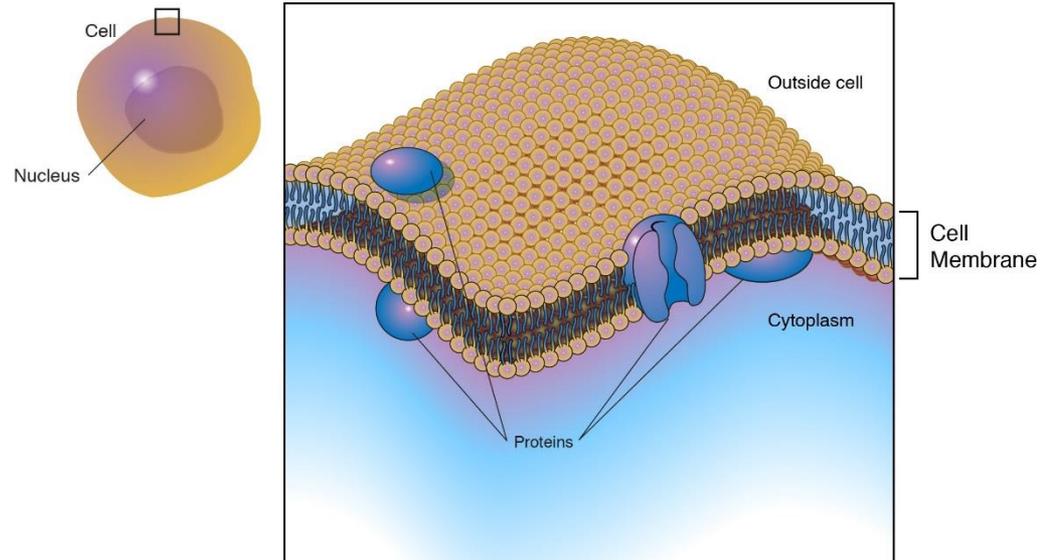
La sintesi di ATP



La sintesi di ATP viene effettuata da un particolare complesso proteico sulla membrana interna del mitocondrio che sfrutta la differente concentrazione di ione H^+ tra l'interno e l'esterno del mitocondrio

I trasportatori del glucosio

- L'ossidazione del glucosio rappresenta una delle principali fonti di energia metabolica per le cellule di mammifero.
- Poiché la membrana plasmatica è impermeabile alle molecole polari come il glucosio, l'assorbimento cellulare di questo nutriente è ottenuto da speciali proteine.

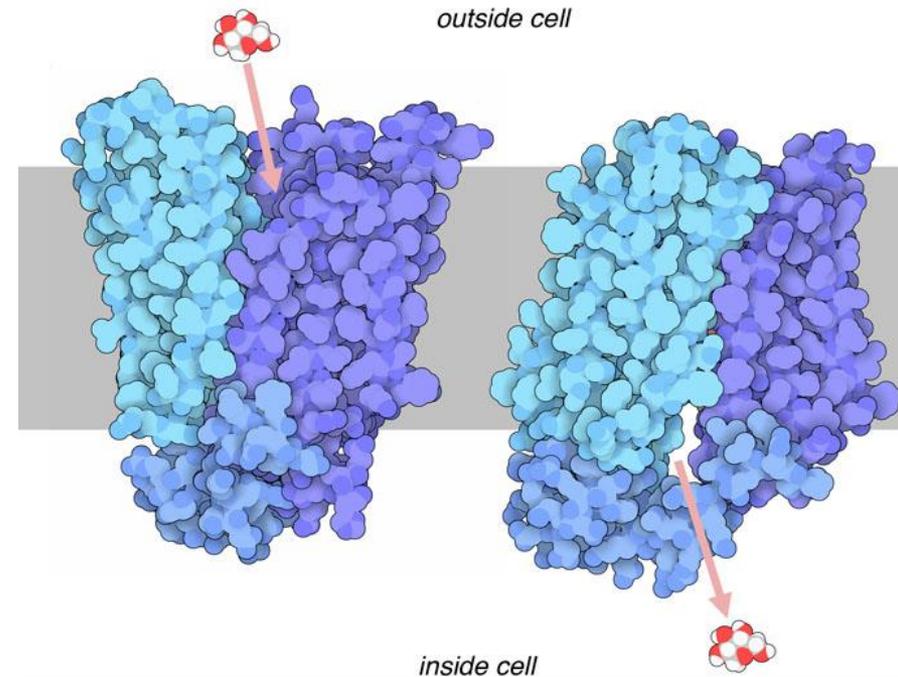


Ci sono due famiglie di trasportatori di glucosio

- I trasportatori del glucosio facilitati (**GLUT**).
 - Mediano il trasporto del glucosio bidirezionale ed indipendente dall'energia secondo il suo gradiente di concentrazione.
- I co-trasportatori glucosio- Na^+ (**SGLT**)
 - Trasportano attivamente il glucosio contro il suo gradiente di concentrazione accoppiandolo a quello del Na^+ , che viene trasportato secondo il suo gradiente di concentrazione. Il gradiente Na^+ viene mantenuto dal trasporto attivo mediante l'ATPasi Na^+ - K^+ .

La famiglia dei trasportatori facilitati del glucosio

- Ci sono 14 geni GLUT nel genoma.
- Gli isotipi presentano diverse specificità del substrato, caratteristiche cinetiche e profili di espressione, consentendo in tal modo un adattamento specifico del tessuto dell'assorbimento del glucosio attraverso la regolazione della loro espressione genica.



I trasportatori del glucosio

Sono proteine di membrana integrali.

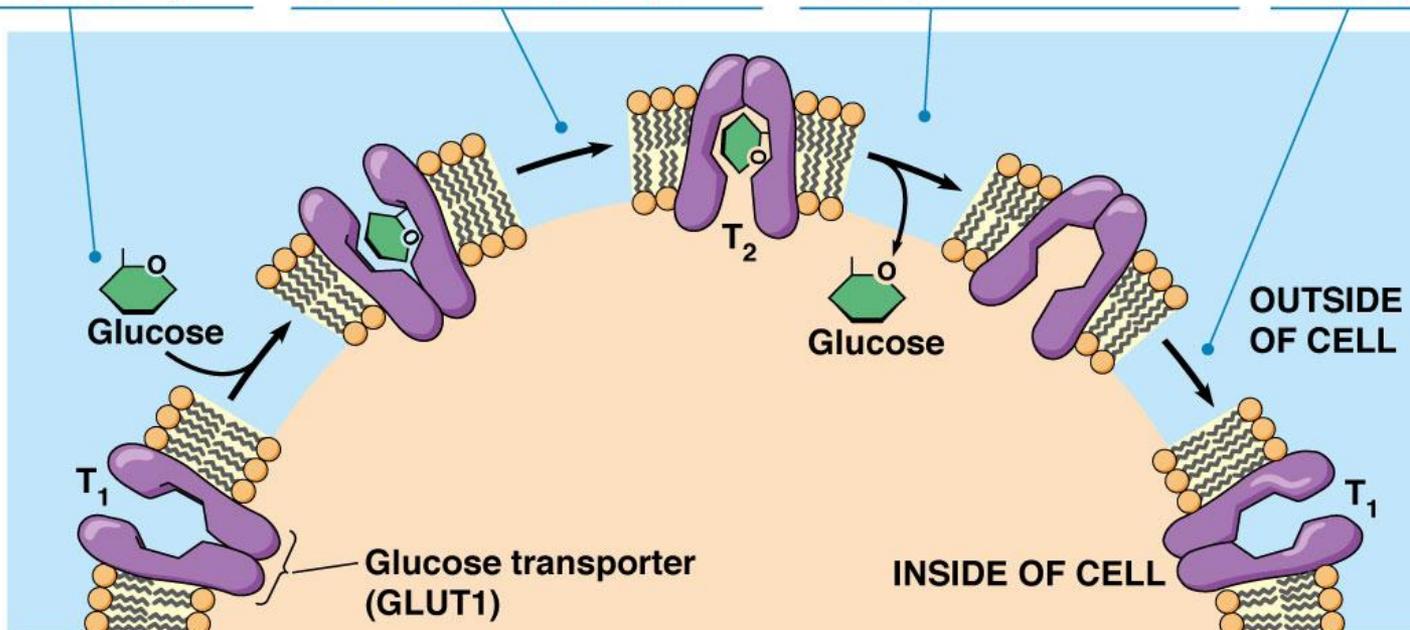
La velocità di trasporto del glucosio è limitata dal numero di trasportatori di glucosio sulla superficie

1 Glucose binds to a GLUT1 transporter protein that has its binding site open to the outside of the cell (T_1 conformation).

2 Glucose binding causes the GLUT1 transporter to shift to its T_2 conformation with the binding site open to the inside of the cell.

3 Glucose is released to the interior of the cell, initiating a second conformational change in GLUT1.

4 Loss of bound glucose causes GLUT1 to return to its original (T_1) conformation, ready for a further transport cycle.



I trasportatori del glucosio

Table 1. The glucose transporter (GLUT) family of facilitative sugar and polyol transporters (gene name SLC2A)

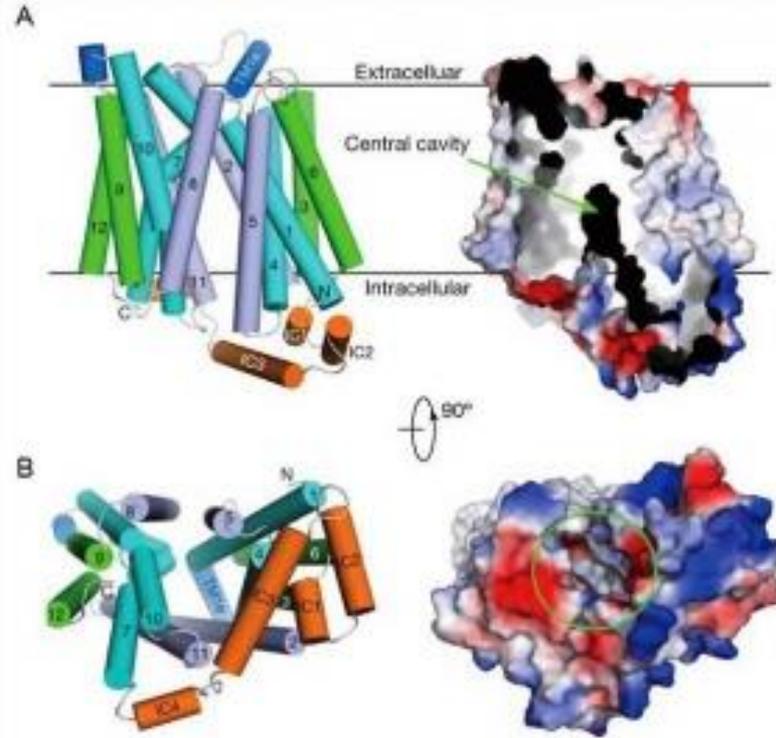
Isoform	Previous name	Class	Main tissue localization	Insulin sensitive?	Functional characteristics (transport)	Present in skeletal muscle?*	Present in white adipose tissue?*
GLUT1	–	I	Erythrocytes, brain, ubiquitous	No	Glucose	Yes	Yes
GLUT2	–	I	Liver, pancreas, intestine, kidney	No	Glucose (low affinity); fructose	No	No
GLUT3	–	I	Brain	No	Glucose (high affinity)	No	Yes (m)
GLUT4	–	I	Heart, muscle, WAT, BAT, brain	Yes	Glucose (high affinity)	Yes	Yes
GLUT5		II	Intestine, testes, kidney	No	Fructose; glucose (very low affinity)	Yes	Yes
GLUT6	GLUT 9	III	Brain, spleen, leucocytes	No	Glucose	No	n.d.
GLUT7		II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
GLUT8	GLUT X1	III	Testes, brain and other tissues	No (yes in blastocytes)	Glucose	Yes (m)	Yes (m)
GLUT9	GLUT X	II	Liver, kidney	n.d.	n.d.	No	n.d.
GLUT10		III	Liver, pancreas	No	Glucose	Yes (m)	n.d.
GLUT11†	GLUT 10	II	Heart, muscle	No	Glucose (low affinity); Fructose (long form)	Yes (m)	No
GLUT12	GLUT 8	III	Heart, prostate, muscle, small intestine, WAT	Yes	n.d.	Yes	Yes
HMIT		III	Brain	n.d.	H ⁺ -myo-inositol	No (m)	Yes (m)

WAT, white adipose tissue; BAT, brown adipose tissue; m, mRNA only; n.d., not determined; HMIT, H⁺-coupled myo-inositol transporter.

* The presence of each transporter in skeletal muscle and WAT is shown since these are the major sites of insulin-stimulated glucose uptake.

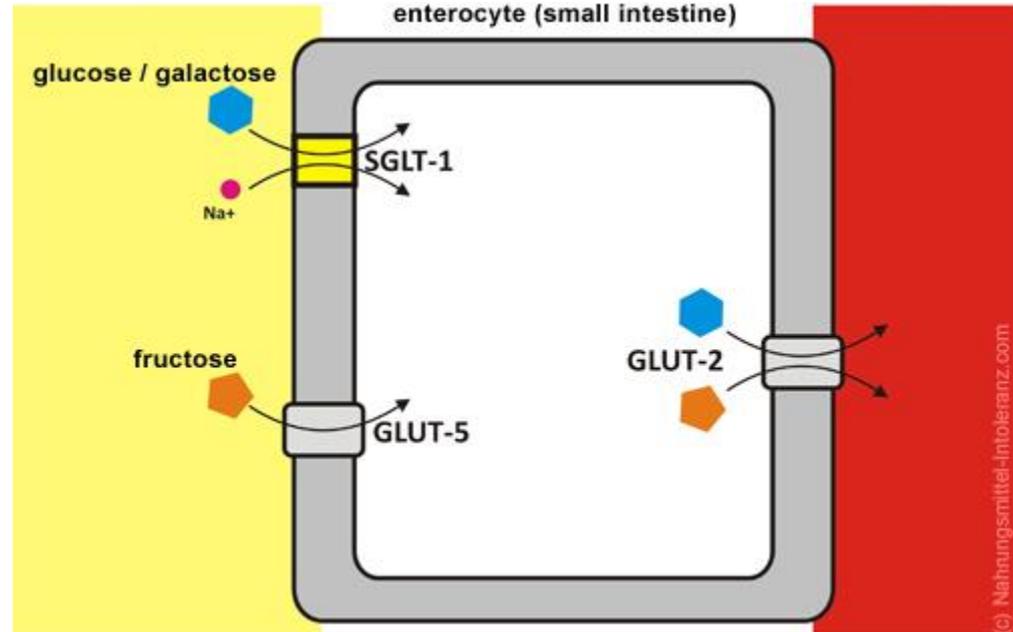
† GLUT11 occurs in two splice variants: a short form (low-affinity glucose transport) and a long form (which may be a fructose transporter).

GLUT1 è una proteina di 492 amminoacidi e si estende 12 volte nella membrana plasmatica



- GLUT1 è un trasportatore di glucosio ad alta affinità con una K_m per il glucosio di circa 1.5 mM. Tale valore è inferiore alla concentrazione media di glucosio nel sangue (5-7 mM), consentendo ai tessuti di assumere glucosio indipendentemente dalle variazioni della sua concentrazione.
- È espresso nella maggior parte dei tessuti con i più alti livelli di espressione nei tessuti fetali, compresa la placenta.
- Negli adulti i livelli più alti si trovano nei microvasi cerebrali, nei reni, nel fegato e nei muscoli scheletrici.

GLUT2



- Il GLUT2 ha una Km relativamente alta. Funziona a velocità sostenute solo quando la concentrazione ematica di glucosio è elevata (ad esempio dopo i pasti).
- Ciò serve a non sottrarre glucosio nei periodi di digiuno a quei tessuti che si servono esclusivamente di glucosio come fonte di energia metabolica, in primis il cervello.
- Il GLUT2 funziona anche in senso opposto, ovvero immette fuori dagli epatociti il glucosio che è derivato dalla lisi del glicogeno.

Trasporto attivo secondario

- Il simporto Na^+ -glucosio è un co-trasportatore, SGLT (*Sodium GLUcose Transporter*), presente nella membrana apicale degli enterociti, che permette l'introduzione nella cellula di una molecola di glucosio e di due ioni di sodio.
- Il legame con il sodio provoca una modificazione conformazionale che facilita il legame del glucosio e viceversa.
- Dato che la concentrazione di Na^+ è molto più alta nello spazio extracellulare che nel citoplasma (grazie all'attività della pompa sodio-potassio), il trasportatore riesce quindi ad immagazzinare glucosio nella cellula contro il suo gradiente di concentrazione.

Ci sono 12 membri della famiglia SGLT

- I trasportatori di glucosio includono SGLT1, SGLT2, SGLT4 e SGLT5, mentre SGLT3 funziona come sensore della concentrazione di glucosio.

