

# CAPITOLO 2

## Fenomeni di trasporto biologico

### Contenuti:

2.1 Introduzione .....	3
2.2 Termodinamica chimica.....	3
2.2.1 Primo e secondo principio della Termodinamica e potenziale chimico .....	3
2.2.2 Energia libera di Gibbs e condizione di equilibrio .....	4
2.2.3 Potenziale elettrochimico .....	5
2.2.4 Condizioni di equilibrio interfase.....	6
2.2.5 Potenziale chimico in termini di variabili misurabili della soluzione .....	8
2.2.5.1 Equazione di Gibbs–Duhem.....	8
2.2.5.2 Dipendenza del potenziale chimico dalla pressione .....	8
2.2.5.3 Dipendenza del potenziale chimico dalla composizione .....	9
2.2.6 Attività e coefficiente di attività .....	13
2.2.7 Differenza transmembrana del potenziale elettrochimico .....	13
2.2.8 Equilibrio ionico attraverso membrane .....	14
2.2.8.1 Equilibrio di Nernst .....	14
2.2.8.2 Equilibrio di Donnan .....	15
2.3 Trasporto per diffusione libera.....	18
2.3.1 Equazione di Teorell .....	18
2.3.2 Diffusione libera di non elettroliti .....	18
2.3.2.1 Prima legge di Fick.....	19
2.3.2.2 Integrazione della Prima legge di Fick .....	20
2.3.2.3 Coefficiente di diffusione, mobilità e viscosità .....	20
2.3.2.4 Formula di Stokes-Einstein .....	21
2.3.2.5 Convezione e strati stagnanti.....	22
2.3.2.6 Seconda legge di Fick.....	23
2.3.2.7 Diffusione convettiva .....	24
2.3.3 Diffusione libera di elettroliti .....	24
2.3.3.1 Equazione di Nernst-Planck (equazione di elettrodiffusione) .....	25
2.3.3.2 Integrazione dell'equazione di Nernst-Planck.....	26
2.3.3.3 Equazione di Goldman-Hodgkin-Katz .....	28
2.4 Trasporto per diffusione facilitata.....	30
2.4.1 Carrier e canali .....	30
2.4.2 Caratteristiche del trasporto facilitato .....	30
2.4.3 Selettività ionica dei canali .....	31
2.4.3.1 Solvatazione ionica.....	32
2.4.4 Energetica della selettività ionica ed effetti sterici .....	33
2.4.5 Modelli di canali ionici: filtri, gate e profili di energia .....	33
2.4.6 Classificazione dei canali .....	36
2.4.7 Modelli di carrier.....	36
2.4.8 Carrier e canali: similitudini e differenze.....	37
2.4.9 Cinetica del trasporto facilitato via carrier .....	38
2.4.9.1 Modello semplificato di carrier .....	39
2.4.9.2 Modelli più complessi di carrier .....	41

2.4.9.3 Inibizione.....	42
2.5 Trasporto attivo.....	43
2.5.1 Accoppiamento metabolico.....	44
2.5.2 Metabolismo e ATP.....	45
2.5.3 Trasporto primario e secondario.....	46
2.5.3.1 Trasporto primario.....	46
2.5.3.2 Trasporto secondario.....	47
2.5.4 Trasporto scalare e vettoriale.....	48
2.5.5 Trasporto scalare primario e secondario.....	48
2.5.5.1 Trasporto scalare primario.....	49
2.5.5.2 Trasporto scalare secondario.....	50
2.5.5.3 Trasporto scalare terziario.....	52
2.5.6 Trasporto vettoriale.....	53
2.5.7 Modelli della pompa sodio-potassio.....	54
2.5.7.1 Proprietà della pompa sodio-potassio.....	54
2.5.7.2 Modello basato sul trasporto vettoriale.....	55
2.5.7.3 Modello basato sul trasporto scalare.....	56
2.5.8 Cinetica del trasporto scalare secondario.....	57
2.5.9 Pompe e perdite.....	59
2.5.9.1 Perdite per slittamento.....	60
2.5.9.2 Perdite per shunt.....	60
2.6 Fenomeni di trasporto di natura cellulare.....	60
2.6.1 Endocitosi.....	61
2.6.2 Esocitosi.....	62
Riferimenti bibliografici.....	62

## 2.1 Introduzione

All'interno di ogni organismo vivente avvengono costantemente processi di trasporto e scambio di materia, sia tra diversi compartimenti dell'organismo, sia tra di esso e il suo esterno. A livello cellulare, fenomeni di trasporto, sia di specie ioniche che non, avvengono seguendo leggi diverse attraverso le membrane cellulari, caratterizzate da proprietà selettive di trasporto. Si distinguono, in particolare, le seguenti tipologie di trasporto biologico attraverso membrane: trasporto passivo (che include il trasporto per diffusione libera e quello per diffusione facilitata) e trasporto attivo. Tali differenti tipologie di trasporto sono analizzate nelle sezioni seguenti.

## 2.2 Termodinamica chimica

È opportuno iniziare la trattazione sui fenomeni di trasporto attraverso membrane esaminando lo stato di equilibrio, in quanto scostamenti da questo stato inducono i processi di trasporto che descriveremo in seguito. A causa della stretta relazione fra equilibrio e trasporto non deve sorprendere che un certo numero di concetti termodinamici di equilibrio siano diventati una parte integrante della descrizione di certi fenomeni di trasporto. Fra le varie definizioni equivalenti di *equilibrio termodinamico*, quella basata sui cosiddetti *potenziale chimico* e *potenziale elettrochimico* (definiti nel seguito) è particolarmente adatta agli scopi di questa analisi del trasporto. Ciò perché, come sarà descritto, i gradienti di potenziale chimico ed elettrochimico sono le forze motrici naturali per il flusso di soluto e solvente; essi governano anche i processi biochimici ai quali questi flussi possono essere accoppiati.

### **2.2.1 Primo e secondo principio della Termodinamica e potenziale chimico**

Richiamiamo il *I principio della Termodinamica* in forma differenziale:

$$dU = \delta Q - dL \quad (2.1)$$

dove  $dU$  è la variazione (differenziale) di energia interna nel sistema di interesse;  $\delta Q$  è una quantità differenziale (differenziale non esatto) di calore trasferito *nel* sistema;  $dL$  è una quantità differenziale di lavoro svolto *dal* sistema. Pertanto, dalla Eq. (2.1) si osserva che l'energia interna del sistema aumenta se vi è apporto di calore, mentre diminuisce quando il sistema compie lavoro.

Sistemi diversi possono compiere diversi tipi di lavoro, in relazione a diverse azioni, come ad esempio:

1. una variazione di volume, associata ad lavoro meccanico;
2. una variazione di carica, associata ad un lavoro elettrico;
3. una variazione di composizione/concentrazione, associata ad un lavoro chimico.

A questi termini corrispondono contributi diversi al lavoro complessivo compiuto dal sistema sul suo esterno:

$$dL = dL_{mec} + dL_{elett} + dL_{chim} = P \cdot dVol - \varphi \cdot dq - \sum_i \mu_i \cdot dn_i \quad (2.2)$$

dove  $P$  è la *pressione* del sistema,  $Vol$  è il *volume* del sistema,  $\varphi$  è il *potenziale elettrico* del sistema,  $q$  è la quantità di *carica elettrica* presente nel sistema,  $\mu_i$  è il cosiddetto *potenziale chimico* della specie  $i$ -esima presente nel sistema e  $n_i$  è il *numero di moli* della specie  $i$ -esima. La definizione di potenziale chimico risulterà dalla trattazione seguente. Si sottolinea che il segno meno del lavoro chimico è in analogia con quello del lavoro elettrico. L'Eq. (2.2) fornisce il lavoro differenziale fatto dal sistema per cambiare di quantità differenziali il proprio volume, la propria carica e la propria composizione.

L'aggiunta o la sottrazione reversibile di calore cambia l'entropia del sistema, in accordo con il *II principio della Termodinamica*:

$$dS \geq \frac{\delta Q}{T} \quad (2.3)$$

nella quale  $S$  è l'entropia, che nella termodinamica di equilibrio è una variabile di stato, e  $T$  è la temperatura assoluta. La disuguaglianza si applica ai processi irreversibili, e l'uguaglianza ai processi reversibili e all'equilibrio.

### 2.2.2 Energia libera di Gibbs e condizione di equilibrio

Per processi reversibili e all'equilibrio, sostituendo le Eq. (2.2) e (2.3) nell'Eq. (2.1) si ottiene l'equazione di Gibbs:

$$dU = T \cdot dS - P \cdot dVol + \varphi \cdot dq + \sum_i \mu_i \cdot dn_i \quad (2.4)$$

Viene definita *energia libera di Gibbs* del sistema (anch'essa variabile di stato) la grandezza:

$$G \equiv U + P \cdot Vol - T \cdot S \quad (2.5)$$

e, ricordando che viene definita *entalpia* la grandezza:

$$H \equiv U + P \cdot Vol \quad (2.6)$$

si può scrivere:

$$G = H - T \cdot S \quad (2.7)$$

Il differenziale totale di  $G$  si calcola come:

$$dG = dU + P \cdot dVol + Vol \cdot dP - T \cdot dS - S \cdot dT \quad (2.8)$$

Sostituendo l'Eq. (2.4) nell'Eq. (2.8) si ottiene:

$$dG = \varphi \cdot dq + \sum_i \mu_i \cdot dn_i + Vol \cdot dP - S \cdot dT \quad (2.9)$$

L'Eq. (2.9) specifica il cambiamento dell'energia libera di Gibbs di un sistema che risulta da cambiamenti reversibili nella sua carica, nel suo contenuto, nella sua pressione o nella sua temperatura.

L'entropia o l'energia interna possono non sempre essere le funzioni termodinamiche più appropriate per descrivere un dato sistema. In condizioni ordinarie di laboratorio, dove la pressione e la temperatura sono facilmente controllate, l'energia libera di Gibbs  $G$  è di solito più conveniente.

Per *condizioni isoterme e isobare* si ottiene dall'Eq. (2.8):

$$(dG)_{T,P} = dU + P \cdot dVol - T \cdot dS \quad (2.10)$$

Inoltre, se è presente solo lavoro meccanico, in accordo con il primo principio della termodinamica si ha:

$$dU = \delta Q - dL = \delta Q - P \cdot dVol \quad (2.11)$$

Introducendo l'Eq. (2.11) nella Eq. (2.10), troviamo:

$$(dG)_{T,P} = \delta Q - T \cdot dS \quad (2.12)$$

e quindi, dal II principio della Termodinamica ( $\delta Q \leq T \cdot dS$ ), si ha:

$$(dG)_{T,P} \leq 0 \quad (2.13a)$$

Si è così ottenuto un risultato di fondamentale importanza per il seguito della trattazione: *l'energia libera diminuisce in ogni processo isoterma ed isobara e raggiunge un valore minimo costante all'equilibrio:*

$$dG|_{eq} = 0 \quad (2.13b)$$

### 2.2.3 Potenziale elettrochimico

Nella trattazione presente le sole cariche di interesse sono quelle dei soluti ionici. La quantità di carica portata dalle  $n_i$  moli dell' $i$ -esimo ione è data da:

$$q_i = z_i \cdot f \cdot n_i \quad (2.14)$$

dove  $z_i$  è la *valenza* dell' $i$ -esimo ione e  $f = 96485$  C/mol è la *costante di Faraday* (quantità di carica di una mole di elettroni). La carica totale  $q$  nel sistema è pertanto data da:

$$q = \sum_i q_i = \sum_i z_i \cdot f \cdot n_i \quad (2.15)$$

Il suo differenziale è quindi:

$$dq = \sum_i dq_i = \sum_i z_i \cdot f \cdot dn_i \quad (2.16)$$

Sostituendo l'Eq. (2.16) nella (2.9), otteniamo:

$$dG = \sum_i \varphi \cdot z_i \cdot f \cdot dn_i + \sum_i \mu_i \cdot dn_i + Vol \cdot dP - S \cdot dT \quad (2.17)$$

È da notare che, sebbene le due somme siano estese a tutte le specie presenti nel sistema, solo le specie cariche ( $z_i \neq 0$ ) contribuiscono alla prima somma.

Si definisce *potenziale elettrochimico* della specie  $i$ -esima la grandezza:

$$\tilde{\mu}_i \equiv \mu_i + z_i \cdot f \cdot \varphi \quad (2.18)$$

Si noti che per una specie non carica ( $z_i = 0$ ) il proprio potenziale elettrochimico coincide con il potenziale chimico. Pertanto il potenziale elettrochimico è una generalizzazione del potenziale chimico. Si noti inoltre che, come è immediato dedurre dal termine  $z_i \cdot f \cdot \varphi$ , il potenziale chimico ed elettrochimico hanno dimensioni pari ad energia per mole, ossia:

$$[\tilde{\mu}_i] = J / mol \quad (2.18b)$$

L'Eq. (2.17) può essere ora riscritta come:

$$dG = \sum_i \tilde{\mu}_i \cdot dn_i + Vol \cdot dP - S \cdot dT \quad (2.19)$$

Da tale espressione si ricava che  $\tilde{\mu}_i$  coincide con l'*energia libera parziale molare* dell' $i$ -esima specie nel sistema a  $P$  e  $T$  costanti:

$$\tilde{\mu}_i = \left( \frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{P, T, n_{j \neq i}} \quad (2.20)$$

#### 2.2.4 Condizioni di equilibrio interfase

Consideriamo il sistema in Fig. 2.1, che consiste in una fase I e una fase II separate da una membrana permeabile alla specie  $i$ .

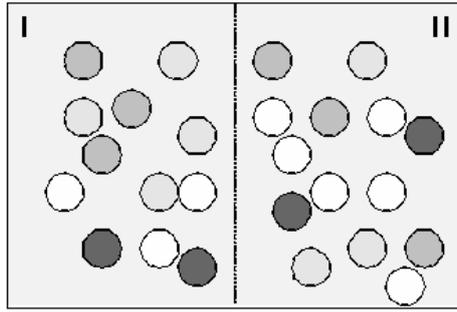


Fig. 2.1. Sistema costituito da due fasi separate da una membrana permeabile solo alla specie  $i$ -esima (ad esempio quella in bianco). I cerchi di varia tonalità di grigio rappresentano le diverse specie che si trovano nelle due fasi.

Si è interessati ad identificare una condizione di equilibrio utile a descrivere l'equilibrio dell' $i$ -esima specie attraverso la membrana. Come precedentemente ricavato, quando un sistema è all'equilibrio la sua *energia libera di Gibbs* è costante rispetto a piccoli cambiamenti dello stato del sistema. Corrispondentemente, una specie è detta essere in equilibrio attraverso la membrana se l'energia libera del sistema non cambia quando una quantità differenziale è trasferita da una fase all'altra.

Consideriamo il trasferimento di  $dn_i$  moli della specie  $i$ -esima dalla fase I alla fase II. Durante questo processo non c'è cambiamento né di pressione, né di temperatura, né del numero di moli di altre specie in entrambe le fasi. Inoltre si assume che la quantità trasferita sia troppo piccola da causare cambiamenti nella composizione o nelle proprietà molari parziali di entrambe le fasi. La fase I perde massa ( $-dn_i$ ) e la sua energia libera è ridotta in proporzione, secondo l'Eq. (2.20):

$$dG^I = -\tilde{\mu}_i^I \cdot dn_i \quad (2.21)$$

La massa è ricevuta dalla fase II e si ha:

$$dG^{II} = \tilde{\mu}_i^{II} \cdot dn_i \quad (2.22)$$

Se la specie  $i$  è in equilibrio, allora il cambiamento di *energia libera totale nel sistema* ( $G = G^I + G^{II}$ ) è  $dG = 0$ , quindi:

$$dG = dG^I + dG^{II} = -\tilde{\mu}_i^I \cdot dn_i + \tilde{\mu}_i^{II} \cdot dn_i = 0 \quad (2.23)$$

da cui:

$$\tilde{\mu}_i^I = \tilde{\mu}_i^{II} \quad (2.24)$$

Pertanto, *all'equilibrio il potenziale elettrochimico di tutte le specie mobili attraverso la membrana è il medesimo nelle due fasi.*

Si sottolinea che le specie mobili possono essere non soltanto i soluti ma anche il solvente, a seconda della permeabilità della membrana.

### 2.2.5 Potenziale chimico in termini di variabili misurabili della soluzione

Da un punto di vista pratico, una soluzione è facilmente caratterizzabile non mediante i valori dei potenziali chimici o elettrochimici dei propri costituenti, ma piuttosto secondo quantità misurabili quali la *temperatura*, la *pressione*, il *potenziale elettrico* o la *composizione*. Andiamo quindi a ricercare espressioni utili che permettano di esprimere i potenziali in funzione di variabili misurabili.

#### 2.2.5.1 Equazione di Gibbs–Duhem

Dall'equazione di Gibbs (Eq. (2.4)) si ha:

$$\begin{aligned} dU &= T \cdot dS - P \cdot dVol + \varphi \cdot dq + \sum_i \mu_i \cdot dn_i = \\ &= T \cdot dS - P \cdot dVol + \varphi \cdot \sum_i f \cdot z_i \cdot dn_i + \sum_i \mu_i \cdot dn_i = T \cdot dS - P \cdot dVol + \sum_i \tilde{\mu}_i \cdot dn_i \end{aligned} \quad (2.25)$$

La forma integrata di tale equazione è:

$$U = T \cdot S - P \cdot Vol + \sum_i \tilde{\mu}_i \cdot n_i \quad (2.26)$$

Il differenziale totale di  $U$  è pertanto ottenuto come:

$$dU = T \cdot dS + S \cdot dT - P \cdot dVol - Vol \cdot dP + \sum_i \tilde{\mu}_i \cdot dn_i + \sum_i n_i \cdot d\tilde{\mu}_i \quad (2.27)$$

Sottraendo, membro a membro, l'Eq.(2.4) dall'Eq.(2.27) si ottiene l'*equazione di Gibbs-Duhem*:

$$S \cdot dT - Vol \cdot dP + \sum_i n_i \cdot d\tilde{\mu}_i = 0 \quad (2.28)$$

#### 2.2.5.2 Dipendenza del potenziale chimico dalla pressione

Consideriamo una soluzione a temperatura e composizione costanti. Dalla definizione di potenziale elettrochimico, derivando rispetto a  $P$  si ottiene:

$$\tilde{\mu}_i = \mu_i + z_i \cdot f \cdot \varphi \Rightarrow \left( \frac{\partial \mu_i}{\partial P} \right)_{T, n_i} = \left( \frac{\partial \tilde{\mu}_i}{\partial P} \right)_{T, n_i} - z_i \cdot f \cdot \frac{\partial \varphi}{\partial P} \quad (2.29)$$

Il secondo termine al membro di destra è nullo perché  $\varphi$  e  $P$  sono variabili indipendenti:

$$\frac{\partial \varphi}{\partial P} = 0 \quad (2.30)$$

Dall'Eq. (2.20) si ottiene allora:

$$\left(\frac{\partial \mu_i}{\partial P}\right)_{T,n_i} = \left(\frac{\partial}{\partial P} \left[ \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{P,T,n_j} \right]\right)_{T,n_i} \quad (2.31)$$

L'energia libera è una funzione continua delle variabili indipendenti, cosicché l'ordine di derivazione può essere scambiato, ottenendo:

$$\left(\frac{\partial \mu_i}{\partial P}\right)_{T,n_i} = \left(\frac{\partial}{\partial n_i} \left[ \left(\frac{\partial G}{\partial P}\right)_{T,n_i} \right]\right)_{P,T,n_j} \quad (2.32)$$

e, per l'Eq. (2.19), a temperatura e composizione costanti si ha:

$$\left(\frac{\partial G}{\partial P}\right)_{T,n_i} = Vol \quad (2.33)$$

e quindi:

$$\left(\frac{\partial \mu_i}{\partial P}\right)_{T,n_i} = \left(\frac{\partial Vol}{\partial n_i}\right)_{P,T,n_j} \quad (2.34)$$

Il membro di destra di questa equazione è il *volume molare parziale* della specie *i*-esima ( $\bar{Vol}_i$ ), cosicché, a temperatura e composizione costanti si ha:

$$d\mu_i = \bar{Vol}_i \cdot dP \quad (2.35)$$

Siccome il volume molare parziale è essenzialmente indipendente dalla pressione, possiamo scrivere l'integrale indefinito:

$$\mu_i = \bar{Vol}_i \cdot P + \mu_i^c \quad (2.36)$$

dove la costante arbitraria  $\mu_i^c$  è funzione solo della temperatura e della composizione.

### 2.2.5.3 Dipendenza del potenziale chimico dalla composizione

Differenziando l'Eq. (2.36), si ottiene:

$$d\mu_i = \bar{Vol}_i \cdot dP + d\mu_i^c \quad (2.37)$$

Nell'ipotesi di specie non cariche ( $z_i = 0$ ) oppure di potenziale elettrostatico  $\varphi$  costante ( $d\varphi = 0$ ), per definizione di potenziale elettrochimico (Eq. (2.18)), otteniamo:

$$d\tilde{\mu}_i = d\mu_i = \bar{Vol}_i \cdot dP + d\mu_i^c \tag{2.38}$$

Sostituiamo ora l'Eq. (2.38) ottenuta nell'equazione di Gibbs-Duhem (Eq. (2.28)). Poichè cerchiamo la dipendenza di  $\mu_i^c$  dalla composizione, consideriamo l'altra variabile indipendente (la temperatura) come fissata ( $dT = 0$ ). Conseguentemente il termine  $S \cdot dT$  nell'equazione di Gibbs-Duhem svanisce, così:

$$-Vol \cdot dP + \sum_i n_i \cdot (\bar{Vol}_i \cdot dP + d\mu_i^c) = 0 \tag{2.39}$$

ossia:

$$(-Vol + \sum_i n_i \cdot \bar{Vol}_i) \cdot dP + \sum_i n_i \cdot d\mu_i^c = 0 \tag{2.40}$$

Il coefficiente che moltiplica  $dP$  è nullo, per la definizione stessa di volume molare parziale della specie  $i$ -esima:

$$-Vol + \sum_i n_i \cdot \bar{Vol}_i = 0 \tag{2.41}$$

Così, l'Eq. (2.40) si semplifica come:

$$\sum_i n_i \cdot d\mu_i^c = 0 \tag{2.42}$$

Essa può essere inoltre scomposta nella somma sui soluti più un termine per il solvente  $w$  (che si assume essere acqua pura):

$$n_w \cdot d\mu_w^c + \sum_{i \neq w} n_i \cdot d\mu_i^c = 0 \tag{2.43}$$

Si consideri adesso il sistema in Fig. 2.2, in cui una fase I, costituita da acqua pura, e una fase II, contenente una soluzione acquosa di differenti soluti, sono in equilibrio attraverso una membrana permeabile al solo solvente.

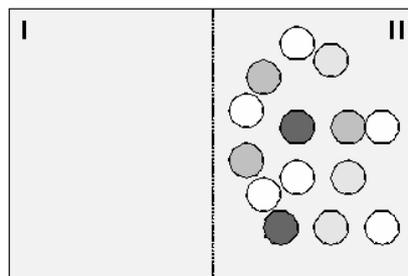


Fig. 2.2. Sistema costituito da due fasi in equilibrio attraverso la membrana, permeabile al solo solvente. La fase I contiene solo il solvente (acqua) e la fase II contiene una soluzione (acquosa) contenente differenti soluti, rappresentati dai cerchi di diversa tonalità di grigio.

Esaminiamo la conseguenza di una piccola variazione di composizione nella fase II. Prima del cambiamento di composizione, il solvente acqua ha lo stesso potenziale chimico nelle due fasi ( $\mu_w^I = \mu_w^{II}$ ). Il potenziale chimico dell'acqua nella fase II è alterato in seguito alla variazione di composizione. Come risultato, l'acqua attraversa la membrana per riportare il proprio potenziale chimico nella fase II uguale a quello nella fase I. L'acqua, tuttavia, non attraversa la membrana indefinitamente. Ogni cambiamento del potenziale chimico determina una variazione della pressione idrostatica, che a sua volta, cambia il potenziale chimico della fase II secondo l'Eq. (2.36) e l'equilibrio tende ad essere ripristinato.

Si supponga inoltre di essere in presenza di un processo differenziale (che inizia prima del cambiamento di composizione e termina dopo il ristabilimento dell'equilibrio) tale che nella fase II venga ripristinato un potenziale chimico dell'acqua esattamente uguale a quello posseduto prima della variazione di composizione, ossia:

$$d\mu_w^{II} = 0 \quad (2.44)$$

Pertanto dall'Eq. (2.37) si ha:

$$\bar{V}ol_w^{II} \cdot dP^{II} + d\mu_w^{cII} = 0 \quad (2.45)$$

Il primo termine riflette il cambiamento di pressione che compensa la variazione del potenziale chimico causata dalla variazione della composizione. L'effetto dell'acqua trasportata sulla composizione della fase II è trascurabile. Sostituendo l'Eq. (2.45) nell'Eq. (2.43) si ha:

$$\sum_{i \neq w} n_i^{II} \cdot d\mu_i^{cII} = n_w^{II} \cdot \bar{V}ol_w^{II} \cdot dP^{II} \quad (2.46)$$

A questo punto, risulta utile considerare la seguente relazione empirica valida per soluzioni diluite:

*Legge di Van t'Hoff:*

quando la fase II è *diluata*, la variazione di pressione necessaria per fermare il flusso d'acqua attraverso la membrana è proporzionale alla variazione iniziale di concentrazione nella fase II, secondo la relazione:

$$\Delta P = R \cdot T \cdot \sum_i \Delta c_i \quad (2.47)$$

dove  $\Delta P$  è la variazione di pressione dell'intera fase contenente tutte le specie,  $R$  è la costante universale dei gas ( $R=8.3144 \text{ J}/(\text{mol } ^\circ\text{K})$ ),  $T$  è la temperatura assoluta e  $\Delta c_i$  è la variazione di concentrazione della specie  $i$ -esima. Sebbene questa equazione sia basata su misure per cambiamenti finiti di pressione causati da cambiamenti finiti di concentrazione, è ragionevole attendersi che valga anche per cambiamenti differenziali; pertanto:

$$dP = R \cdot T \cdot \sum_i dc_i \quad (2.48)$$

Volendo applicare la legge di Van t'Hoff al caso in esame, è necessario dunque assumere che la soluzione sia diluita; in tal caso, il prodotto  $n_w \cdot \bar{Vol}_w$  nell'Eq. (2.46) può essere sostituito da  $Vol$  (volume della soluzione), ossia:

$$n_w^{II} \cdot \bar{Vol}_w^{II} \cong Vol^{II} \quad (2.49)$$

Considerando le Eq. (2.48) e (2.49), l'Eq. (2.46) diventa:

$$\sum_{i \neq w} n_i^{II} \cdot d\mu_i^{cII} = Vol^{II} \cdot R \cdot T^{II} \cdot \sum_i dc_i^{II} \quad (2.50)$$

Inoltre, in soluzioni diluite le molecole (o gli ioni individuali) del soluto sono molto lontane, separate l'una dall'altra da numerose molecole di solvente. Così, ciascuna particella di soluto non interagisce con le altre, e le *interazioni soluto-soluto* sono *assenti*. La trascurabilità di tali interazioni è difatti la condizione secondo la quale una soluzione possa essere effettivamente assunta come *diluita*. Da ciò discende anche una considerazione fondamentale: *per una soluzione diluita l'energia libera ed il potenziale chimico di un dato soluto possono essere assunti non dipendere dalla concentrazione degli altri soluti*. Pertanto, l'Eq.(2.50) vale anche se applicata a ciascun soluto:

$$n_i^{II} \cdot d\mu_i^{cII} = Vol^{II} \cdot R \cdot T \cdot dc_i^{II} \quad (2.51)$$

Facendo uso della definizione di *concentrazione molare*:

$$c_i^{II} = \frac{n_i^{II}}{Vol^{II}} \quad (2.52)$$

si ricava dall'Eq.(2.51) la seguente espressione:

$$d\mu_i^{cII} = R \cdot T^{II} \cdot \frac{dc_i^{II}}{c_i^{II}} \quad (2.53)$$

il cui integrale indefinito vale:

$$\mu_i^{cII} = R \cdot T^{II} \cdot \ln c_i^{II} + \mu_i^{0II} \quad (2.54)$$

dove la costante di integrazione  $\mu_i^{0II}$  è funzione della sola temperatura:  $\mu_i^{0II} = \mu_i^{0II}(T)$ .

Generalizzando tale risultato (eliminando l'apice II) e sostituendo l'Eq. (2.54) nell'Eq. (2.36), otteniamo l'espressione del potenziale chimico di un soluto in una soluzione diluita:

$$\mu_i = \bar{Vol}_i \cdot P + R \cdot T \cdot \ln c_i + \mu_i^0 \quad (2.55)$$

### 2.2.6 Attività e coefficiente di attività

L'Eq. (2.55) ha un'applicabilità limitata, in quanto basata sulla legge di Van t'Hoff, che è da ritenersi valida per soluzioni molto diluite, assai di più di quanto non siano in realtà le soluzioni biologiche. Si tende a rimuovere questa limitazione attraverso l'introduzione di una quantità chiamata *attività del soluto* ( $a_i$ ), definita dall'equazione ottenuta sostituendo  $c_i$  con  $a_i$  nell'Eq. (2.55), ossia:

$$\mu_i \equiv \bar{Vol}_i \cdot P + R \cdot T \cdot \ln a_i + \mu_i^0 \quad (2.56)$$

Pertanto, l'attività del soluto è definita come il valore che si deve dare ad  $a_i$  nell'Eq. (2.56) per ottenere il valore corretto di  $\mu_i$ . Così, per definizione, l'Eq. (2.56) è applicabile sia a soluzioni concentrate che diluite. La complessità delle soluzioni biologiche rende di fatto impossibile ricorrere a metodi teorici per la valutazione di  $a_i$ , che è quindi misurata sperimentalmente. Molto spesso la distinzione tra attività e concentrazione viene trascurata e si ritiene che l'errore così commesso si confonda con quello dei dati ottenuti per via sperimentale. Lo scostamento della concentrazione dall'attività è misurato dal *coefficiente di attività*:

$$\gamma_i = \frac{a_i}{c_i} \quad (2.57)$$

con  $0 \leq \gamma_i \leq 1$ , essendo sempre  $0 \leq a_i \leq c_i$ . Per *soluzioni assunte ideali* (ossia *soluzioni molto diluite*) l'attività coincide con la concentrazione:  $a_i \equiv c_i$ .

Le interazioni che portano a scostamenti dall'idealità nelle soluzioni biologiche sono in genere di natura elettrostatica, cosicché la distinzione tra attività e concentrazione viene operata soltanto per specie cariche. Si considerano usualmente due tipi di interazioni fra specie cariche. La prima di queste è l'interazione fra piccoli ioni vicini fra loro e la seconda è l'iterazione con le molecole del solvente.

La più nota fra le teorie che trattano queste interazioni è la teoria di Debye-Huckel e le sue estensioni. Queste teorie prevedono che il coefficiente di attività di un singolo elettrolita in soluzione inizialmente diminuisca rispetto al valore unitario al crescere della sua concentrazione. A concentrazioni più alte, la pendenza della curva del *coefficiente di attività* in funzione della *concentrazione* diventa positiva, ma ciò accade a concentrazioni maggiori di quelle fisiologiche.

Un altro tipo di interazione, che è più frequente nelle soluzioni biologiche, è costituito dal legame di soluti carichi a particelle solubili o insolubili in soluzione. Questo tipo di legame può essere reversibile o irreversibile. Spesso questi soluti legati non sono disponibili al trasporto, cosicché l'attività del soluto diminuisce. Tuttavia, molto spesso il coefficiente di attività è vicino ad 1.

### 2.2.7 Differenza transmembrana del potenziale elettrochimico

Poichè la condizione di equilibrio è espressa dalla uguaglianza dei potenziali elettrochimici, si evince che ciò che conta nel generare il trasporto è la *differenza* o, meglio, *il gradiente di potenziale elettrochimico*. Considerando un sistema bifase come quello di Fig. 2.1, e tenendo conto delle Eq. (2.18) e (2.56), per ogni specie possiamo esprimere la differenza di potenziale elettrochimico come:

$$\Delta \tilde{\mu}_i = \tilde{\mu}_i^I - \tilde{\mu}_i^{II} = \left( \bar{Vol}_i \cdot P^I + R \cdot T^I \cdot \ln a_i^I + \mu_i^{0I} + z_i \cdot f \cdot \varphi^I \right) - \left( \bar{Vol}_i \cdot P^{II} + R \cdot T^{II} \cdot \ln a_i^{II} + \mu_i^{0II} + z_i \cdot f \cdot \varphi^{II} \right) \quad (2.58)$$

e, nelle ipotesi che sia:

$$P^I = P^{II} ; T^I = T^{II} ; \mu_i^{0I} = \mu_i^{0II} \quad (2.59)$$

si ha:

$$\Delta \tilde{\mu}_i = R \cdot T \cdot \ln \left( \frac{a_i^I}{a_i^{II}} \right) + z_i \cdot f \cdot (\varphi^I - \varphi^{II}) \quad (2.60)$$

## 2.2.8 Equilibrio ionico attraverso membrane

### 2.2.8.1 Equilibrio di Nernst

L'equilibrio di Nernst esplicita la condizione di equilibrio di uno ione fra due fasi. Consideriamo qui le due fasi separate da una membrana permeabile ad uno ione  $i$ -esimo. La condizione di equilibrio è data dall'Eq. (2.24), che riscriviamo per comodità:

$$\tilde{\mu}_i^I = \tilde{\mu}_i^{II} \quad (2.61)$$

Nella maggior parte degli equilibri ionici nei sistemi biologici, l'effetto della pressione sullo stato di equilibrio può essere trascurato e il sistema è generalmente in condizioni isoterme. In tali ipotesi, dalle Eq. (2.60) e (2.61) si ha:

$$R \cdot T \cdot \ln \left( \frac{a_i^I}{a_i^{II}} \right) + z_i \cdot f \cdot (\varphi^I - \varphi^{II}) = 0 \quad (2.62)$$

Per i non elettroliti ( $z_i=0$ ), la condizione di equilibrio è soddisfatta solo quando l'attività del soluto (o, se vogliamo, la sua concentrazione) è la stessa nelle due fasi. Per specie cariche ( $z_i \neq 0$ ), vale una condizione analoga nel caso di assenza di una differenza di potenziale transmembrana. Nel caso più generale, invece, differenze interfase in attività possono essere compensate da una differenza di potenziale attraverso la membrana. Questa differenza di potenziale è ricavabile dall'Eq. (2.62) come:

$$\Delta \varphi = \varphi^I - \varphi^{II} = \frac{R \cdot T}{z_i \cdot f} \cdot \ln \frac{a_i^{II}}{a_i^I} \quad (2.63)$$

La Eq. (2.63) è detta *equazione di Nernst* e  $\Delta \varphi$  è detto *potenziale di Nernst* dello ione  $i$ -esimo.

Ciascuno ione in soluzione ha il proprio potenziale di Nernst, dato dall'equazione di Nernst. In generale, si osserva che il potenziale di Nernst di un dato ione può essere diverso dal potenziale di membrana. *Solo quegli ioni per i quali il potenziale di Nernst eguaglia il potenziale di membrana sono all'equilibrio*. Alternativamente, se il potenziale di membrana è noto, l'equazione di Nernst specifica il rapporto di attività per il quale lo ione è all'equilibrio.

A titolo di esempio, la Tab. 2.1 riporta, per diversi esseri viventi, valori tipici delle concentrazioni intra- ed extra-cellulari di ioni di fondamentale interesse fisiologico, quali  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  e  $Ca^{2+}$ , unitamente ad i relativi potenziali di Nernst, calcolati (alla temperatura specificata e considerando le concentrazioni al posto delle attività) secondo l'Eq. (2.63).

Tab. 2.1. Esempi di concentrazioni intra- ed extra- cellulari e relativo potenziale di Nernst degli ioni  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  e  $Ca^{2+}$  per diversi esseri viventi.

Ione	Concentrazione interna [mM]	Concentrazione esterna [mM]	Potenziale di Nernst [mV]
Cellula muscolare di rana (T=20°C):			
$K^+$	124	2.25	-101
$Na^+$	10.4	109	+59
$Cl^-$	1.5	77.5	-99
$Ca^{2+}$	$10^{-4}$	2.1	+125
Assone di calamaro (T=20°C):			
$K^+$	400	20	-75
$Na^+$	50	440	+55
$Cl^-$	da 40 a 150	560	da -66 a -33
$Ca^{2+}$	$10^{-4}$	10	+145
Cellula di mammifero (T=37°C):			
$K^+$	140	5	-89.4
$Na^+$	da 5 a 15	145	da +90 a +61
$Cl^-$	4	110	-89
$Ca^{2+}$	$10^{-4}$	da 2.5 a 5	da 136 a 145

2.2.8.2 Equilibrio di Donnan

L'equilibrio di Donnan definisce le condizioni che si creano quando due fasi contenenti un elettrolita sono in equilibrio e una o entrambe le fasi contengono anche altre specie cariche che non possono attraversare la membrana. Consideriamo a tale riguardo il sistema mostrato in Fig. 2.3.

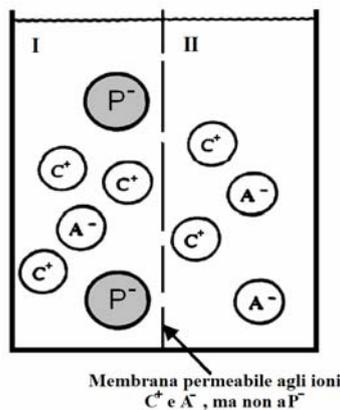


Fig. 2.3. Sistema bifase contenente un elettrolita CA e un soluto carico negativamente P. La fase I è separata dalla fase II da una membrana permeabile agli ioni A<sup>-</sup> e C<sup>+</sup>, ma non al soluto P.

La fase II contiene solo un elettrolita CA, alla concentrazione  $C^II = C_C^II = C_A^II$ . Sia il catione ( $C^+$ ) che l'anione ( $A^-$ ) possono attraversare la membrana e conseguentemente sono presenti anche nella fase I. La fase I, che

potrebbe anche essere vista come l'interno di una cellula immersa nella fase II, contiene del soluto (P<sup>-</sup>) carico negativamente (ad esempio una proteina) che non può attraversare la membrana. Definiamo la concentrazione di carica di questo soluto non permeabile come  $C_P^I \cdot z_P$ . Svolgiamo la trattazione seguente usando le concentrazioni al posto delle attività. Per C<sup>+</sup> ed A<sup>-</sup>, che possono attraversare la membrana, la condizione di equilibrio può essere scritta come l'uguaglianza dei loro potenziali di Nernst, i quali devono anche eguagliare il potenziale di membrana:

$$\Delta\varphi = \frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \frac{C_C^{II}}{C_C^I} = -\frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \frac{C_A^{II}}{C_A^I} = \frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \frac{C_A^I}{C_A^{II}} \quad (2.64)$$

Pertanto, si ricava la seguente *condizione di equilibrio*:

$$\frac{C_C^{II}}{C_C^I} = \frac{C_A^I}{C_A^{II}} \quad (2.65)$$

Tale rapporto è detto *rapporto Donnan*.

Inoltre, ponendo la *condizione di elettroneutralità* per ciascuna delle due fasi si ha:

$$\sum_i z_i \cdot C_i^j = 0 \quad (j=I,II) \quad (2.66)$$

Per la fase II, questa condizione si esprime come:

$$C_C^{II} - C_A^{II} = 0 \Rightarrow C_C^{II} = C_A^{II} = C^{II} \quad (2.67)$$

mentre per la fase I:

$$C_C^I - C_A^I + z_P \cdot C_P^I = 0 \quad (2.68)$$

Risolvendo il sistema dato dalle Eq. (2.65), (2.67) e (2.68) si ha:

$$(C_A^I)^2 - C_A^I z_P C_P^I - (C^{II})^2 = 0 \quad (2.69a)$$

le cui soluzioni sono:

$$(C_A^I)_{1,2} = \frac{z_P \cdot C_P^I \pm \sqrt{(z_P \cdot C_P^I)^2 + 4 \cdot (C^{II})^2}}{2} \quad (2.69b)$$

Per la soluzione

$$C_A^I = \frac{z_p \cdot C_p^I + \sqrt{(z_p \cdot C_p^I)^2 + 4 \cdot (C^{II})^2}}{2} \tag{2.70a}$$

dalla Eq. (2.68) si ottiene anche

$$C_C^I = \frac{-z_p \cdot C_p^I + \sqrt{(z_p \cdot C_p^I)^2 + 4 \cdot (C^{II})^2}}{2} \tag{2.70b}$$

Si definisce *potenziale di Donnan*  $\Delta\phi_D$  il potenziale di membrana all'equilibrio per tale tipo di sistema e pertanto esso è ottenuto esplicitando il potenziale di Nernst mediante le espressioni precedenti:

$$\Delta\phi_D = \frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \frac{C_A^I}{C_A^{II}} = \frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \frac{z_p \cdot C_p^I + \sqrt{(z_p \cdot C_p^I)^2 + 4 \cdot (C^{II})^2}}{2 \cdot C^{II}} \tag{2.71a}$$

L'Eq. (2.71a) esprime pertanto il cosiddetto *effetto Donnan*: un soluto carico non mobile attraverso la membrana (ad esempio una macromolecola proteica) è in grado di influenzare (con la propria concentrazione) l'equilibrio degli ioni mobili attraverso la membrana.

Si noti dalle Eq. (2.70) e (2.71a) che:

$$\text{per } C^{II} \gg C_p^I \Rightarrow C_C^I, C_A^I \rightarrow C^{II} \Rightarrow \begin{cases} \Delta\phi_D \rightarrow 0 \\ \frac{C^{II}}{C_C^I} = \frac{C_A^I}{C^{II}} \rightarrow \frac{C^{II}}{C^{II}} = 1 \end{cases} \tag{2.71b}$$

ossia per concentrazioni dei cationi e degli anioni molto maggiori di quelle del soluto non mobile attraverso la membrana si ha che il potenziale di Donnan tende a 0 mV mentre il rapporto Donnan tende ad 1. Questo fenomeno è noto come *soppressione dell'effetto Donnan*.

La Fig. 2.4 mostra un esempio di variazione del potenziale di Donnan e del rapporto Donnan al variare del rapporto fra la concentrazione del catione e quella del soluto.

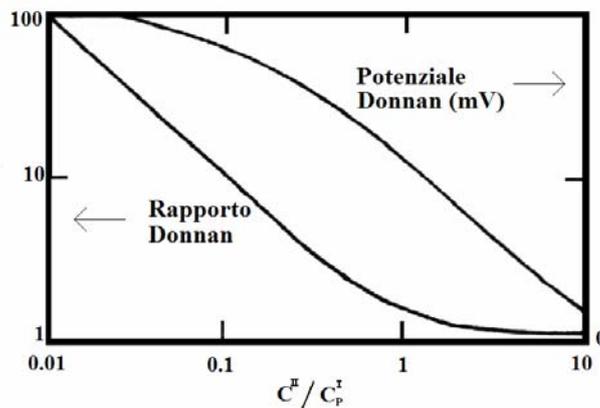


Fig. 2.4. Esempio di andamenti del potenziale di Donnan e del rapporto Donnan in funzione del rapporto  $C^{II}/C_p^I$ .

### **2.3 Trasporto per diffusione libera**

Consideriamo in questo paragrafo il più semplice dei fenomeni di trasporto attraverso una membrana: la *diffusione libera* di un soluto. Essa consiste in un processo *passivo* che avviene in generale quando i potenziali elettrochimici del soluto sui due lati della membrana permeabile sono differenti. Questo fenomeno verrà trattato sia nel caso di diffusione di non elettroliti che nel caso di elettroliti. Uno strumento fondamentale per la descrizione di tali processi è l'equazione di Teorell, di seguito descritta.

#### **2.3.1 Equazione di Teorell**

Si definisce flusso  $J$  di una grandezza (ad esempio massa, energia, carica) la quantità di tale grandezza che attraversa l'unità di superficie nell'unità di tempo. Il flusso di un soluto in soluzione avrà pertanto le seguenti dimensioni:  $[J]=\text{mol}/(\text{m}^2\text{s})$ .

L'*equazione di Teorell* (1953) prevede che il flusso di un soluto in diffusione libera sia esprimibile come:

$$\text{Flusso} = \text{Mobilità} \cdot \text{Concentrazione} \cdot \text{ForzaMotrice} \quad (2.72)$$

L'identificazione della forza motrice appropriata dipende, oltre che naturalmente dal tipo di sistema in esame, da considerazioni termodinamiche di non equilibrio. Al fine di identificare la forza motrice utile per i sistemi di interesse in questa trattazione, si procede mediante un'analogia elettrica. In particolare, come noto risulta che quando due punti dello spazio si trovano a differenza di potenziale elettrico nullo, il flusso di cariche interposte è nullo; al contrario, quando la differenza di potenziale è non nulla, si instaura un campo elettrico che induce una forza elettrica agente sulle cariche, provocandone il loro moto (flusso di carica). Analogamente, quando il potenziale elettrochimico o chimico di un soluto carico o meno è lo stesso nelle due fasi separate da una membrana si ha che, come precedentemente ricavato, il soluto è in equilibrio e il suo flusso è nullo. Al contrario, una differenza tra i valori del potenziale elettrochimico o chimico determina il flusso del soluto attraverso la membrana. È pertanto immediato identificare nella differenza di potenziale elettrochimico  $\tilde{\mu}_s$  o chimico  $\mu_s$  la forza motrice per il flusso di un soluto carico o meno. Più precisamente, come il gradiente di potenziale elettrico è responsabile di un flusso di cariche, così il gradiente di potenziale elettrochimico o chimico saranno le forze motrici di interesse per il flusso di soluti:

$$\text{ForzaMotrice} = -\nabla\mu_s \quad \text{per soluti non carichi} \quad (2.73)$$

$$\text{ForzaMotrice} = -\nabla\tilde{\mu}_s \quad \text{per soluti carichi} \quad (2.74)$$

Il segno meno davanti al gradiente è in analogia con il caso elettrico:

$$E = -\nabla\varphi \quad (2.75)$$

#### **2.3.2 Diffusione libera di non elettroliti**

Per una diffusione libera di un non elettrolita, l'equazione di Teorell può essere scritta come:

$$J_s = u_s \cdot c_s \cdot (-\nabla\mu_s) \quad (2.76)$$

essendo  $u_s$  la *mobilità del soluto* (definita nel seguito),  $c_s$  la sua concentrazione e  $\mu_s$  il suo potenziale chimico. Nel caso unidimensionale l'Eq. (2.75) naturalmente si riduce a:

$$J_s = u_s \cdot c_s \cdot \left(-\frac{d\mu_s}{dx}\right) \quad (2.77)$$

La forza motrice integrale su una lunghezza  $a$ , ad esempio lo spessore della membrana, nel caso unidimensionale sarà quindi:

$$\int_0^a -\frac{d\mu_s}{dx} \cdot dx = \mu_s^I - \mu_s^{II} \quad (2.78)$$

dove gli apici *I* e *II* stanno ad indicare le due fasi separate dalla membrana (ad esempio, interno ed esterno, rispettivamente, di una cellula).

### 2.3.2.1 Prima legge di Fick

In un sistema in cui la temperatura è spazialmente uniforme, trascurando l'effetto della pressione sul potenziale chimico ed assumta la soluzione ideale (ossia molto diluita, ossia l'attività del soluto è assunta essere coincidente con la sua concentrazione), si potrà scrivere, per l'Eq. (2.55):

$$\mu_s = R \cdot T \cdot \ln c_s + \mu_s^0 \quad (2.79)$$

Derivando l'Eq. (2.79) rispetto ad  $x$ , si ha:

$$\frac{d\mu_s}{dx} = R \cdot T \cdot \left(\frac{1}{c_s} \cdot \frac{dc_s}{dx}\right) \quad (2.80)$$

e, sostituendo l'Eq. (2.80) nell'Eq. (2.77), si ottiene:

$$J_s = -u_s \cdot R \cdot T \cdot \frac{dc_s}{dx} \quad (2.81)$$

Definendo come *coefficiente di diffusione*  $D_s$  del soluto la grandezza:

$$D_s \equiv u_s \cdot R \cdot T \quad (2.82)$$

si ricava la *I legge di Fick*:

$$J_s = -D_s \cdot \frac{dc_s}{dx} \quad (2.83)$$

Si noti che da tale espressione è immediato evincere le dimensioni del coefficiente di diffusione:  $[D_s]=\text{m}^2/\text{s}$ . Nel caso tridimensionale la I legge di Fick diventa:

$$J_s = -D_s \cdot \nabla c_s \quad (2.84)$$

Nel caso in cui la soluzione non possa essere considerata ideale, si dovrà considerare l'attività ( $a_s$ ) e il coefficiente di attività ( $\gamma_s$ ); pertanto:

$$\begin{aligned}\frac{d\mu_s}{dx} &= R \cdot T \cdot \frac{d \ln a_s}{dx} = R \cdot T \cdot \left( \frac{d \ln c_s}{dx} + \frac{d \ln \gamma_s}{dx} \right) = \\ &= R \cdot T \cdot \left( \frac{d \ln c_s}{dx} + \frac{d \ln \gamma_s}{d \ln c_s} \cdot \frac{d \ln c_s}{dx} \right) = R \cdot T \cdot \left( \frac{1}{c_s} \cdot \frac{dc_s}{dx} \right) \cdot \left( 1 + \frac{d \ln \gamma_s}{d \ln c_s} \right)\end{aligned}\quad (2.85)$$

ne segue che:

$$J_s = -u_s \cdot R \cdot T \cdot \left( 1 + \frac{d \ln \gamma_s}{d \ln c_s} \right) \cdot \frac{dc_s}{dx} \equiv -D_s^* \cdot \frac{dc_s}{dx}\quad (2.86)$$

con:

$$D_s^* = D_s \cdot \left( 1 + \frac{d \ln \gamma_s}{d \ln c_s} \right)\quad (2.87)$$

### 2.3.2.2 Integrazione della Prima legge di Fick

Assumendo uno stato stazionario (ossia  $J_i$  costante), assumendo che  $D_i$  sia costante rispetto ad  $x$  ed integrando l'Eq. (2.83) per  $x$  compreso tra 0 e una certa lunghezza  $a$  (ad esempio lo spessore della membrana), si ottiene:

$$J_s \cdot a = -D_s \cdot \Delta c_s\quad (2.88)$$

e, per definizione, si ha:

$$|J_s| \equiv P_s \cdot |\Delta c_s|\quad (2.89)$$

dove il rapporto  $P_s \equiv D_s / a$  è definito *permeabilità del mezzo al soluto s*. Le Eq. (2.83) e (2.88) identificano l'andamento di  $c_s$  in funzione di  $x$ , all'interno della lunghezza  $a$ , con una retta di pendenza  $\Delta c_s / a$ .

### 2.3.2.3 Coefficiente di diffusione, mobilità e viscosità

Come introdotto dall'Eq. (2.82), il coefficiente di diffusione  $D_s$  di un soluto è legato alla sua mobilità  $u_s$  dalla seguente espressione:

$$D_s \equiv u_s \cdot R \cdot T\quad (2.90)$$

Si consideri che vale la seguente relazione:

$$K_B = \frac{R}{N_A}\quad (2.91)$$

dove  $K_B = 1.381 \times 10^{-23} \text{ J/}^\circ\text{K}$  è la *costante di Boltzmann*,  $R = 8.3144 \text{ J/(mol}^\circ\text{K)}$  è la *costante universale dei gas* e  $N_A = 6.022 \times 10^{23}$  è il *numero di Avogadro* (numero di elementi contenuti in una mole di una sostanza). Pertanto l'Eq. (2.90) può essere riscritta come:

$$D_s = u_s \cdot N_A \cdot K_B \cdot T \quad (2.92)$$

La *mobilità*  $u_s$  può essere definita come il *rapporto tra la velocità  $v_s$  di una particella di soluto e la forza  $F$  ad essa applicata che ne determina il movimento*:

$$u_s \equiv \frac{v_s}{F} \quad (2.93)$$

Inoltre, per un fluido caratterizzato da bassi valori del Numero di Reynolds  $Re$  (ossia per un fluido in cui le forze viscoso dominano le forze inerziali), ossia per flussi uniformi (non turbolenti), la mobilità è pari all'inverso del *coefficiente di attrito viscoso*  $b_s$ :

$$u_s \equiv \frac{1}{b_s} \quad (2.94)$$

Per una particella di soluto assunta sferica il *coefficiente di attrito viscoso* è dato dalla cosiddetta *formula di Stokes*:

$$b_s = 6\pi \cdot \eta_f \cdot r_s \quad (2.95)$$

dove  $r_s$  è il raggio della particella e  $\eta_f$  è la viscosità del fluido (solvente). Si ricorda inoltre che la viscosità ha le seguenti dimensioni:  $[\eta] = \text{Pa} \cdot \text{s} \equiv 10 \text{ poise}$  e dipende dalla temperatura:

$$\eta = \eta(T) \quad (2.96)$$

L'acqua presenta ad esempio i seguenti valori di viscosità:

$$\eta_w(20^\circ\text{C}) \equiv 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s} = 10^{-2} \text{ poise} = 1 \text{ centipoise}$$

$$\eta_w(25^\circ\text{C}) \equiv 8.9 \cdot 10^{-4} \text{ Pa} \cdot \text{s} = 8.9 \cdot 10^{-3} \text{ poise} = 8.9 \cdot 10^{-1} \text{ centipoise}$$

#### 2.3.2.4 Formula di Stokes-Einstein

Combinando le Eq. (2.92) e (2.94) si ottiene la cosiddetta *Formula di Stokes-Einstein* per il coefficiente di diffusione di un soluto (a meno del numero di Avogadro):

$$D_s = \frac{K_B \cdot T}{6\pi \cdot \eta_f \cdot r_s} \quad (2.97)$$

Si noti che le dimensioni del coefficiente di diffusione risultanti da tale espressione sono coerenti con quanto già ricavato:

$$[D_s] = \frac{(\text{J}/\text{K}) \cdot \text{K}}{\text{Pa} \cdot \text{s} \cdot \text{m}} = \frac{\text{m}^2}{\text{s}} \tag{2.98}$$

Dall’Eq. (2.97) risulta anche che se  $T$  è costante, il prodotto  $D_s \cdot r_s$  è costante, ossia soluti di dimensioni maggiori presentano ragionevolmente coefficienti di diffusione inferiori. La Formula di Stokes-Einstein è in buon accordo con i valori del coefficiente di diffusione misurati sperimentalmente per molte tipologie di soluti. A titolo di esempio, la Tab. 2.2 riporta i valori sperimentali per due soluti di particolare interesse fisiologico.

Tab. 2.2. Valori sperimentali di  $r_s$  e  $D_s$  per due esempi di soluti.

Soluto	Raggio $r_s$ del soluto [Å]	Coefficiente di diffusione $D_s$ per $T=25^\circ\text{C}$ [ $\text{cm}^2/\text{s}$ ]
Glucosio	3.9	$6.75 \cdot 10^{-10}$
Urea	2.4	$1.16 \cdot 10^{-5}$

2.3.2.5 Convezione e strati stagnanti

Si assuma  $c_s^I > c_s^{II}$ : il soluto fluisce pertanto dalla fase I alla fase II. Prima che una molecola di soluto possa attraversare la membrana, deve raggiungere l’interfaccia ad  $x = 0$  attraversando un volume di soluzione. Due meccanismi vengono considerati per la copertura di tale tragitto: la diffusione e la convezione, mediante la quale il soluto è mosso dal moto dell’intero fluido.

Se si considera l’interno di una cellula, la convezione è limitata ed il processo è ridotto alla diffusione. Similmente, la diffusione è il meccanismo di trasporto dominante nello spazio extracellulare.

In sistemi diversi, invece, la convezione può avere anche un peso notevole, a causa di moti in blocco della soluzione (agitazione). Tuttavia, anche nel caso di agitazione, l’effetto della convezione non raggiunge mai l’interfaccia con la membrana; rimane infatti un effettivo sottile strato non agitato, detto *strato stagnante*, adiacente a ciascun lato della membrana. In generale, i due strati sui due lati della membrana possono avere diversi spessori  $\delta^I$  e  $\delta^{II}$ . Gli strati stagnanti non sono una grandezza definibile in senso stretto, in quanto la loro estensione varia con l’agitazione.

Il soluto attraversa ciascuno di questi strati soltanto per diffusione libera e il suo flusso è pertanto descritto da:

$$J_s = -D_s \cdot \frac{dc_s}{dx} \tag{2.99}$$

Assumendo uno *stato stazionario* (ossia  $J_s$  costante) e assumendo che il coefficiente di diffusione  $D_s^I$  dello strato stagnante della fase I sia uniforme in tale strato, l’integrazione dell’Eq. (2.99) sullo spessore  $\delta^I$  di tale strato fornisce:

$$J_s = \frac{D_s^I}{\delta^I} \cdot (c_{sb}^I - c_s^I) \tag{2.100}$$

dove il pedice *sb* denota la concentrazione del soluto nel volume (bulk). Le Eq. (2.99) e (2.100) identificano l’andamento di  $c_s$  in funzione di  $x$  all’interno dello strato non agitato con una retta di pendenza  $-(c_{sb}^I - c_s^I)/\delta^I$ . Naturalmente, relazioni analoghe valgono sia all’interno dello spessore della membrana, sia nell’altro strato stagnante. La situazione risultante è descritta dalla Fig. 2.5.

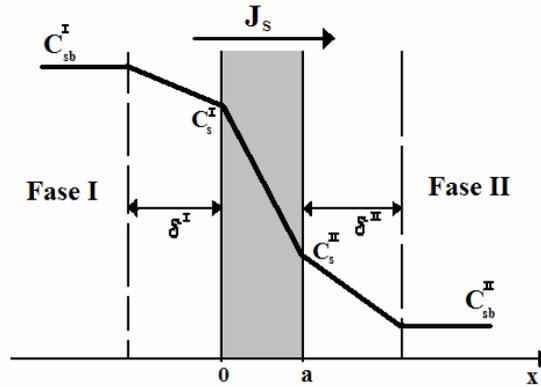


Fig. 2.5. Sistema costituito da due fasi separate da una membrana. Sono evidenziati gli spessori degli strati stagnanti a ridosso della membrana e le concentrazioni del soluto nei diversi strati in cui il sistema è suddiviso.

Il flusso di soluto totale è uguale alla differenza complessiva di concentrazione divisa per la somma delle resistenze meccaniche in serie dovute alla membrana e agli strati stagnanti. Ogni resistenza è inversamente proporzionale ad una permeabilità:

$$J_s = \frac{c_{sb}^I - c_{sb}^{II}}{\frac{\delta^I}{D_s^I} + \frac{1}{P_s} + \frac{\delta^{II}}{D_s^{II}}} \tag{2.101}$$

Si osservi che in termini di analogia elettrica il sistema è equivalente alla serie di tre resistenze elettriche (Fig. 2.6), in cui la corrente (flusso di carica) e le differenze di potenziale elettrico sono l'equivalente rispettivamente del flusso di soluto e delle sue differenze di concentrazione.

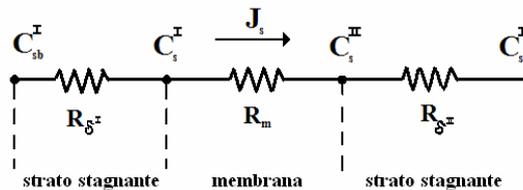


Fig. 2.6. Equivalente elettrico della membrana e dei propri strati stagnanti.

La permeabilità apparente del sistema è data dal rapporto  $J_s / \Delta c_{sb}$ , ossia è il reciproco del denominatore dell' Eq. (2.101).

### 2.3.2.6 Seconda legge di Fick

La prima legge di Fick è l'equazione più comunemente usata per descrivere il trasporto biologico per diffusione libera. Tale equazione può essere combinata con la legge di conservazione della massa (descritta in Appendice)

$$-\frac{dc_s}{dt} = \vec{\nabla} \cdot \vec{J}_s \tag{2.102}$$

per ottenere la II Legge di Fick, o equazione di diffusione:

$$-\frac{dc_s}{dt} = \vec{\nabla} \bullet (-D_s \cdot \vec{\nabla} c_s) \quad (2.103)$$

ossia:

$$\frac{dc_s}{dt} = D_s \cdot \nabla^2 c_s \quad (2.104)$$

Nel caso monodimensionale essa diviene:

$$\frac{dc_s}{dt} = D_s \cdot \frac{d^2 c_s}{dx^2} \quad (2.105)$$

In *condizioni stazionarie* la legge di conservazione della massa si esprime come

$$\vec{\nabla} \bullet \vec{J}_s = 0 \quad (2.106)$$

e la seconda legge di Fick diventa:

$$\vec{\nabla} \bullet (D_s \cdot \vec{\nabla} c_s) = 0 \quad (2.107)$$

### 2.3.2.7 Diffusione convettiva

Un contributo addizionale al flusso di soluto è dato nel caso di moto dell'intera soluzione. Difatti, se la soluzione fluisce nella direzione  $x$  ad una velocità  $v_x$ , il flusso di soluto aumenta a causa di un termine convettivo dato dal prodotto della velocità della soluzione per la concentrazione locale:

$$J_s = -D_s \cdot \frac{dc_s}{dx} + v_x \cdot c_s \quad (2.108)$$

Il processo descritto da questa equazione è chiamato pertanto *diffusione convettiva*.

### 2.3.3 Diffusione libera di elettroliti

La diffusione libera di elettroliti è più complessa di quella di non elettroliti. Tra la diffusione libera di elettroliti e di non elettroliti vi sono sostanzialmente due notevoli differenze:

- i soluti carichi sono soggetti a forze elettriche quando sono presenti gradienti di potenziale elettrico, quindi la forza motrice del trasporto di elettroliti è il gradiente di potenziale elettrochimico  $\tilde{\mu}$  invece del gradiente del potenziale chimico  $\mu$ ;
- poiché una soluzione di elettroliti deve contenere almeno un anione ed un catione, vi sono sempre almeno due specie di soluti.

L'esistenza di specie multiple e, corrispondentemente, di flussi multipli, porta alla necessità di prendere in considerazione due concetti di base.

Il primo di questi è *la condizione di elettroneutralità*, che può essere espressa come:

$$\sum_i z_i \cdot f \cdot c_i = 0 \quad (2.109)$$

con  $f =$  costante Faraday. Tale condizione vale per lunghezze aventi ordini di grandezza maggiori di quelli delle lunghezze che entrano in gioco nella teoria di Debye-Huckel. Inoltre, se anche la membrana risulta carica, nella condizione di elettroneutralità bisogna includere anche le cariche fisse derivanti dalla membrana:

$$\sum_i z_i \cdot f \cdot c_i + z_m \cdot f \cdot c_m = 0 \quad (2.110)$$

dove  $c_m$  è la concentrazione di carica sulla membrana e  $z_m = \pm 1$ .

Il secondo concetto è quello di *densità di corrente ionica*. Il contributo di ciascuna specie ionica alla densità di corrente totale è uguale al prodotto tra il flusso della specie e la sua carica molare. La densità di corrente totale si ottiene sommando questi contributi:

$$J_I = \sum_i z_i \cdot f \cdot J_i \quad (2.111)$$

È da notare che le dimensioni di tale densità di corrente sono:  $[J_I] = C/(m^2 \cdot s) = A/m^2$ . L'equazione fondamentale per descrivere il flusso di elettroliti è l'equazione di Nernst-Planck, di seguito presentata.

### 2.3.3.1 Equazione di Nernst-Planck (equazione di elettrodiffusione)

Per ricavare tale equazione, si consideri l'equazione di Teorell impiegando il potenziale elettrochimico:

$$J_i = u_i \cdot c_i \cdot (-\nabla \tilde{\mu}_i) \quad (2.112)$$

che nel caso monodimensionale diventa:

$$J_i = u_i \cdot c_i \cdot \left( \frac{-d\tilde{\mu}_i}{dx} \right) \quad (2.113)$$

Essendo  $\tilde{\mu}_i \equiv \mu_i + z_i \cdot f \cdot \varphi$ , si ha:

$$\frac{-d\tilde{\mu}_i}{dx} = \frac{-d\mu_i}{dx} - z_i \cdot f \cdot \frac{d\varphi}{dx} \quad (2.114)$$

e, valendo l'Eq. (2.80), che per comodità riscriviamo:

$$\frac{d\mu_i}{dx} = R \cdot T \cdot \left( \frac{1}{c_i} \cdot \frac{dc_i}{dx} \right) \quad (2.115)$$

avremo:

$$J_i = u_i \cdot c_i \cdot \left( -R \cdot T \cdot \frac{1}{c_i} \cdot \frac{dc_i}{dx} - z_i \cdot f \cdot \frac{d\varphi}{dx} \right) \quad (2.116)$$

Aggiungendo il termine convettivo, otteniamo:

$$J_i = -u_i \cdot R \cdot T \cdot \frac{dc_i}{dx} - u_i \cdot c_i \cdot z_i \cdot f \cdot \frac{d\varphi}{dx} + v_x \cdot c_i \tag{2.117}$$

che esprime l'equazione di elettrodiffusione, nota anche come equazione di Nernst-Planck. Si noti che, per specie non cariche, naturalmente tale equazione coincide con la prima legge di Fick.

2.3.3.2 Integrazione dell'equazione di Nernst-Planck

Si consideri una membrana che separa due soluzioni I e II dello stesso soluto  $i$ , avente concentrazioni  $c_{i(x)}^I$  e  $c_{i(x)}^{II}$ .  $J_i$  esprima la densità di flusso del soluto  $i$ , orientato dalla fase I verso la fase II, come rappresentato in Fig. 2.7

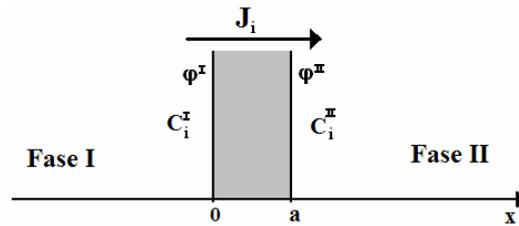


Fig. 2.7. Schematizzazione del sistema in esame.

Consideriamo l'equazione di Nernst-Planck, priva del termine convettivo:

$$J_i = -u_i \cdot R \cdot T \cdot \frac{dc_i}{dx} - u_i \cdot c_i \cdot z_i \cdot f \cdot \frac{d\varphi}{dx} \tag{2.118}$$

essendo  $D_i = u_i \cdot R \cdot T$ , l'equazione può essere riscritta come:

$$J_i = -D_i \cdot \left( \frac{dc_i}{dx} + \frac{c_i \cdot z_i \cdot f}{R \cdot T} \cdot \frac{d\varphi}{dx} \right) \tag{2.119}$$

Moltiplicando entrambi i membri per  $\exp\left(\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi}{R \cdot T}\right)$  e riarrangiando, otteniamo:

$$J_i \cdot e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi}{R \cdot T}} = -D_i \cdot \frac{d}{dx} \cdot \left( c_i \cdot e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi}{R \cdot T}} \right) \tag{2.120}$$

Assumendo uno stato stazionario (ossia  $J_i$  costante) e che  $D_i$  sia costante attraverso la membrana, l'integrazione dell'Eq. (2.120) sullo spessore  $a$  della membrana produce:

$$J_i \cdot \int_0^a e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi}{R \cdot T}} dx = -D_i \cdot \int_{c_i^I, \varphi^I}^{c_i^{II}, \varphi^{II}} d(c_i e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi}{R \cdot T}}) \tag{2.121}$$

Il membro a destra di questa espressione può essere immediatamente integrato, mentre per eseguire l'integrazione della parte sinistra, bisogna conoscere la dipendenza di  $\varphi$  da  $x$  all'interno della membrana.

*Ipotesi di campo costante:*

Una ipotesi semplice e frequentemente usata, proposta da Goldman nel 1943, è che  $\varphi$  sia una funzione lineare di  $x$ :

$$\varphi = \varphi^I + \frac{\varphi^{II} - \varphi^I}{a} \cdot x = \varphi^I + \frac{\Delta\varphi}{a} \cdot x \quad (2.122)$$

L'Eq. (2.122) è nota come *ipotesi di campo costante*, in quanto se il potenziale elettrico è una funzione lineare di  $x$ , allora il campo elettrico è costante. In virtù di questa assunzione, l'Eq. (2.121) diventa:

$$J_i \cdot \int_0^a e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi^I}{RT}} e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi \cdot x}{R \cdot T \cdot a}} dx = -D_i \cdot (c_i^{II} \cdot e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi^{II}}{RT}} - c_i^I \cdot e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi^I}{RT}}) \quad (2.123)$$

moltiplicando entrambi i membri per  $\exp(-\frac{z_i \cdot f \cdot \varphi^I}{R \cdot T})$ , integrando e riarrangiando si ottiene:

$$J_i = -\frac{D_i \cdot z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T \cdot a} \cdot \left[ \frac{c_i^{II} \cdot e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}} - c_i^I}{e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}} - 1} \right] = -\frac{P_i \cdot z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T} \cdot \left[ \frac{c_i^{II} \cdot e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}} - c_i^I}{e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}} - 1} \right] \quad (2.124)$$

dove

$$P_i \equiv \frac{D_i}{a} \quad (2.125)$$

è la permeabilità della membrana al soluto  $i$ .

L'Eq. (2.124) viene generalmente utilizzata per la descrizione di trasporto di ioni attraverso membrane biologiche. Si osservi che per  $c_i^I \neq c_i^{II}$  la relazione tra  $J_i$  e  $\Delta\varphi$  è non lineare.

*Caso particolare:*

per  $c_i^I = c_i^{II} \equiv c_i$  la relazione tra  $J_i$  e  $\Delta\varphi$  si linearizza, rappresentando una retta passante per l'origine:

$$J_i = -\frac{P_i \cdot z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T} \cdot c_i \quad (2.126)$$

Moltiplicando entrambi i membri dell'Eq. (2.125) per  $z_i \cdot f$  otteniamo la *densità di corrente dello ione i-esimo*:

$$J_{I,i} = z_i \cdot f \cdot J_i = \left[ -\frac{P_i \cdot z_i^2 \cdot f^2 \cdot c_i}{R \cdot T} \right] \cdot \Delta\varphi \quad (2.127)$$

Si noti che, essendo  $J_i$  e  $J_{I,i}$  rispettivamente il flusso e la densità di corrente ionica della specie  $i$ -esima secondo una orientazione che va dalla fase I alla fase II (Fig. 2.7), i segni delle Eq. (2.126) e (2.127) sono coerenti. Infatti, ad esempio, per  $\Delta\varphi = \varphi^{II} - \varphi^I < 0$ , ossia per  $\varphi^I > \varphi^{II}$ , si ha  $J_i > 0$  solo per  $z_i > 0$  (cationi), invece  $J_{I,i} > 0$  sia per  $z_i > 0$  che per  $z_i < 0$  (sia cationi che anioni): ciò concorda con la definizione di corrente che esprime sempre il verso di cariche positive.

Condizione di equilibrio (flusso nullo) per ciascun soluto:

Tornando al caso generale per cui  $c_i^I \neq c_i^{II}$ , è interessante verificare il risultato fornito dalla condizione di flusso nullo per ciascun soluto:

$$J_i = 0 \Rightarrow c_i^{II} \cdot e^{\frac{z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}} - c_i^I = 0 \quad (2.128)$$

quindi si ottiene:

$$\frac{z_i \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T} = \ln\left(\frac{c_i^I}{c_i^{II}}\right) \quad (2.129)$$

Pertanto la condizione di flusso nullo (condizione di equilibrio) dà luogo correttamente al potenziale di equilibrio di Nernst:

$$\Delta\varphi = \varphi^{II} - \varphi^I = \frac{R \cdot T}{z_i \cdot f} \cdot \ln\left(\frac{c_i^I}{c_i^{II}}\right) \quad (2.130)$$

### 2.3.3.3 Equazione di Goldman-Hodgkin-Katz

La forma integrata dell'equazione di Nernst-Planck permette di ricavare la cosiddetta *equazione di Goldman-Hodgkin-Katz*. Essa rappresenta uno strumento analitico fondamentale per quantificare il potenziale di membrana che si instaura nelle membrane cellulari in condizioni di riposo. Come sarà meglio argomentato in capitoli successivi, per una cellula che si trova in condizioni di riposo elettrico il relativo potenziale transmembrana (potenziale di riposo) è tale che gli ioni preponderanti coinvolti nei processi di trasporto transmembrana che regolano il potenziale stesso (come ad esempio gli ioni  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) non sono in condizioni di equilibrio. Infatti, la membrana è provvista di pompe proteiche adibite al trasporto attivo di ioni, le quali pompano tali ioni da un lato all'altro della membrana contro i propri gradienti di potenziale elettrochimico, al fine di mantenere opportune differenze transmembrana di concentrazione. Conseguentemente, la membrana cellulare è attraversata in modo continuo da flussi di cationi e anioni, che determinano relative componenti di corrente elettrica. Tuttavia, in condizioni stazionarie la *corrente netta* transmembrana (e non le correnti individuali dei vari ioni) deve essere *nulla*, affinché non esista un flusso netto di cariche che perturbi il valore costante del potenziale di riposo transmembrana. Si ha quindi:

$$J_{I,tot} = \sum_c z_c \cdot f \cdot J_c + \sum_a z_a \cdot f \cdot J_a = 0 \quad (2.131)$$

Tale condizione permette di ricavare l'*equazione di Goldman-Hodgkin-Katz*. Si consideri in particolare una soluzione che contenga *anioni e cationi univalenti*. In tal caso, il flusso di ciascun catione è dato da:

$$J_c = -\frac{P_c \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T} \cdot \left[ \frac{c_c^{II} \cdot e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_c^I}{e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - 1} \right] \quad (2.132)$$

mentre il flusso di ciascun anione è dato da:

$$J_a = \frac{P_a \cdot f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T} \cdot \left[ \frac{c_a^{II} \cdot e^{\left(\frac{-f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_a^I}{e^{\left(\frac{-f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - 1} \right] \quad (2.133)$$

Pertanto, combinando le Eq. (2.131)-(2.133) si ottiene:

$$\Delta\varphi \cdot \left[ \sum_c P_c \cdot \frac{c_c^{II} \cdot e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_c^I}{e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - 1} + \sum_a P_a \cdot \frac{c_a^{II} \cdot e^{\left(\frac{-f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_a^I}{e^{\left(\frac{-f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - 1} \right] = 0 \quad (2.134a)$$

Considerando la generica uguaglianza  $e^{-x} - 1 = (1 - e^x)/e^x$  l' Eq. (2.134a) è equivalente a:

$$\Delta\varphi \cdot \left[ - \sum_c P_c \cdot \frac{c_c^{II} \cdot e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_c^I}{1 - e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)}} + \sum_a P_a \cdot \frac{c_a^{II} \cdot e^{\left(\frac{-f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_a^I}{1 - e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)}} e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} \right] = 0 \quad (2.134b)$$

Ponendo nullo il termine racchiuso in parentesi quadra si ha:

$$- \sum_c P_c \cdot \left( c_c^{II} \cdot e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_c^I \right) + \sum_a P_a \cdot \left( c_a^{II} \cdot e^{\left(\frac{-f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} - c_a^I \right) e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} = 0 \quad (2.134c)$$

ossia

$$e^{\left(\frac{f \cdot \Delta\varphi}{R \cdot T}\right)} = \frac{\sum_c P_c \cdot c_c^I + \sum_a P_a \cdot c_a^{II}}{\sum_c P_c \cdot c_c^{II} + \sum_a P_a \cdot c_a^I} \quad (2.134d)$$

Risolvendo rispetto a  $\Delta\varphi$  si ottiene l'equazione di Goldman-Hodgkin-Katz:

$$\Delta\varphi = \frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \left( \frac{\sum_c P_c \cdot c_c^I + \sum_a P_a \cdot c_a^{II}}{\sum_c P_c \cdot c_c^{II} + \sum_a P_a \cdot c_a^I} \right) \quad (2.135)$$

Prendendo in considerazione soltanto gli ioni predominanti  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , l'Eq. (2.135) si riduce a:

$$\varphi_i - \varphi_o = \frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \left( \frac{P_{\text{Na}} \cdot c_{\text{Na}}^o + P_{\text{K}} \cdot c_{\text{K}}^o + P_{\text{Cl}} \cdot c_{\text{Cl}}^i}{P_{\text{Na}} \cdot c_{\text{Na}}^i + P_{\text{K}} \cdot c_{\text{K}}^i + P_{\text{Cl}} \cdot c_{\text{Cl}}^o} \right) \quad (2.136)$$

avendo sostituito gli apici I e II rispettivamente con *o* (outside) ed *i* (inside) per indicare le regioni esterne ed interne ad una cellula. L'Eq. (2.136) viene frequentemente utilizzata per calcolare la caduta di potenziale attraverso la membrana cellulare in condizioni di riposo. Si noti che essa può anche essere riscritta nel modo seguente, utile quando siano noti soltanto i rapporti tra le permeabilità:

$$\varphi_i - \varphi_o = \frac{R \cdot T}{f} \cdot \ln \left( \frac{P_{Na} / P_K \cdot c_{Na}^o + c_K^o + P_{Cl} / P_K \cdot c_{Cl}^i}{P_{Na} / P_K \cdot c_{Na}^i + c_K^i + P_{Cl} / P_K \cdot c_{Cl}^o} \right) \quad (2.137)$$

A titolo di esempio, al fine di ottenere una stima di un potenziale di membrana servendosi dell'equazione di Goldman-Hodgkin-Katz, la Tab. 2.3 riporta i parametri di interesse relativi ad un assone di calamaro (gli assoni di questi molluschi sono relativamente semplici da studiare a causa delle loro grandi dimensioni).

Tab. 2.3. Concentrazioni intra- ed extra- cellulari e rapporti tra le permeabilità degli ioni Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> per un assone di calamaro.

Ione	c <sup>i</sup> [mM]	c <sup>o</sup> [mM]
K <sup>+</sup>	400	10
Na <sup>+</sup>	50	460
Cl <sup>-</sup>	40	540
<i>P<sub>K</sub>:P<sub>Na</sub>:P<sub>Cl</sub> = 1:0.03:0.1</i>		

Utilizzando i valori della Tab. 2.3, l'Eq. (2.137) fornisce un valore del potenziale di membrana a 20 °C pari a circa -71 mV. Nei mammiferi, a 37 °C il potenziale di membrana a riposo raggiunge un valore tipico di circa -94 mV.

## 2.4 Trasporto per diffusione facilitata

La *diffusione facilitata* è, come la diffusione libera, un processo di trasporto *passivo* e anche per esso la forza motrice è rappresentata da gradienti di potenziale chimico o elettrochimico. Tuttavia, a differenza della diffusione libera, in questo meccanismo di trasporto i soluti o classi di soluti interagiscono con particolari componenti strutturali delle membrane biologiche, che ne regolano il trasporto attraverso le membrane stesse. Tali componenti responsabili della diffusione facilitata sono strutture proteiche dette *mediatori di trasporto*; pertanto, questo processo è anche conosciuto come *diffusione mediata*. Le due classi principali di mediatori di trasporto sono i *carrier* ed i *canali*.

### 2.4.1 Carrier e canali

I *carrier* si legano con le molecole di soluto e le trasportano al di là della membrana. I canali perforano la membrana, creando delle vie di diffusione la cui resistenza è minore di quella della membrana stessa. Nel primo processo i carrier si muovono formando un unico complesso con il soluto, mentre nel secondo caso il soluto si muove da solo verso il canale. Le differenze tra questi due tipi di mediatori di trasporto sono analizzate nei paragrafi seguenti.

### 2.4.2 Caratteristiche del trasporto facilitato

1) *Specificità e selettività*: a differenza della diffusione libera, il trasporto facilitato è caratterizzato da una superiore specificità e selettività. In particolare, i carrier sono dotati di siti di legame molto selettivi; la configurazione del sito di legame e le cariche in gioco distribuite sul sito interagiscono con una porzione ben distinta del soluto. I legami sono di tipo debole, in modo da consentire al soluto di staccarsi non appena ha attraversato la membrana. Ciò permette ai carrier di trasportare più soluti. I canali lasciano passare solo ioni e possono esibire permeabilità differenti a specie ioniche distinte. È da notare che esiste una stretta relazione tra

la velocità di trasporto e la selettività. Le interazioni tra i soluti selezionati ed i siti di legame sono generalmente più forti quando il canale è più selettivo e quando entrano in gioco più siti. Queste interazioni forti tendono a ritardare il trasporto.

- 2) *Saturabilità*: in contrasto con la linearità della forma integrata della legge di Fick, il flusso del trasporto facilitato presenta una tendenza alla saturazione. Per i carrier questo avviene perché esiste una velocità massima del processo di trasferimento. I canali invece possono saturare sia perché hanno dimensione limitata sia perché contengono una barriera locale che deve essere attraversata.
- 3) *Inibizione e attivazione*: la velocità con la quale un dato soluto è trasportato attraverso la membrana può essere influenzata da altri soluti coinvolti nel sistema, secondo un meccanismo noto come *cooperazione*. Essa può variare la velocità sia favorevolmente, dando luogo ad una attivazione (cooperazione positiva) sia sfavorevolmente determinando una inibizione (cooperazione negativa).
- 4) *Effetti trans (solo per i carrier)*: la parte trans della membrana è la parte verso la quale è diretto il flusso passivo del soluto. Il flusso di quest'ultimo attraverso la membrana tramite il carrier può essere variato alterando la concentrazione di altri soluti sulla parte trans della membrana.
- 5) *Coefficiente di temperatura*: la barriera di energia associata alle variazioni conformazionali dei carrier è generalmente più alta dell'energia di attivazione della viscosità del solvente, che determina la dipendenza della temperatura dalla velocità di diffusione libera. Quindi per il trasporto facilitato la velocità aumenta con l'alzarsi della temperatura. In particolare, secondo alcuni modelli (non riportati in questa sede) è possibile ricavare una variazione esponenziale della temperatura del flusso per il trasporto facilitato, a differenza della dipendenza lineare caratteristica della diffusione libera.

### 2.4.3 Selettività ionica dei canali

I canali possono trasportare solo ioni (al contrario dei carrier). I più piccoli hanno un diametro di circa 4-5 Å (ossia analogo a quello degli ioni, e non più largo della distanza tra gli atomi di ossigeno nelle molecole di H<sub>2</sub>O). La selettività dipende dall'interazione tra gli ioni e le pareti dei pori. A canali differenti corrispondono selettività differenti. La selettività è di solito espressa tramite la permeabilità dei differenti ioni. Si sarebbe tentati di pensare che a ioni più piccoli corrisponda una permeabilità maggiore, ma ciò è confutato dal fatto che uno ione in H<sub>2</sub>O si circonda di un *alone di idratazione* che ne aumenta il raggio, come descritto nella sezione seguente. Perciò la permeabilità in realtà dipende dal fatto che lo ione passi con o senza la sua *nube idrata*. Inoltre, molti canali sono rafforzati da gruppi con cariche nette o dipoli, in grado di dare origine a forze elettrostatiche che influenzano la permeabilità di ogni ione nel canale. Queste cariche sono di segno opposto a quello degli ioni verso i quali il canale è selettivo. Ad esempio, cariche negative sulla parete del canale possono aumentare la concentrazione di cationi nel canale stesso mentre escludono gli anioni. La Fig 2.8 riporta alcuni possibili gruppi carichi e dipoli.

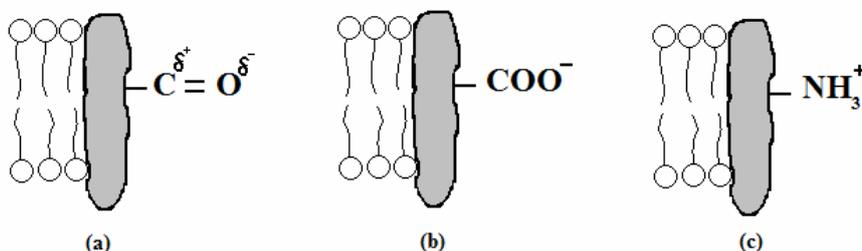


Fig. 2.8. Esempio di dipoli (a) e di gruppi carichi (b,c) che possono affacciarsi sulle pareti di un canale (per semplicità è raffigurata schematicamente soltanto una metà di un canale e una porzione di membrana cellulare).

Quanto più un canale è largo, tanto meglio gli ioni possono passare in forma idrata, che rappresenta lo stato favorito nelle soluzioni acquose. Per canali stretti, invece, gli ioni interagiscono con i siti di carica sulle pareti, alternando associazioni e dissociazioni.

2.4.3.1 Solvatazione ionica

Il processo denominato *solvatazione ionica* consiste nella formazione di legami più o meno stabili tra gli ioni di una soluzione e le molecole del solvente, quando quest'ultimo sia costituito da molecole polari, ossia da molecole (come nel caso dell'acqua) nelle quali la distribuzione asimmetrica degli elettroni di legame genera una zona a carica elettrica positiva ed una a carica negativa. Ad esempio, nel caso di soluzioni acquose, uno ione viene circondato da molecole di acqua (formando uno *ione solvatato*), le quali si legano ad esso mediante forze di natura elettrostatica, originate dall'attrazione tra lo ione (monopolo elettrico) e l'estremità della molecola dell'acqua (dipolo elettrico) avente carica di segno opposto. Le molecole di acqua legate allo ione formano un cosiddetto *anello di solvatazione* intorno allo ione stesso, che ne altera il raggio effettivo. La Fig. 2.9 mostra una schematizzazione di tale anello attorno ad uno ione positivo.

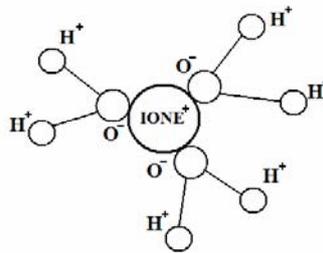


Fig. 2.9. Schematizzazione di un anello di solvatazione ionica in soluzione acquosa attorno ad un catione.

A titolo di esempio, la Tab. 2.4 riporta per cinque tipi di ioni di metalli alcalini il raggio di un cristallo del metallo (calcolato come la metà della distanza tra i baricentri degli ioni) e il raggio dello ione solvatato.

Tab. 2.4. Raggio nel cristallo, raggio solvatato e permeabilità relativa rispetto a quella dello ione potassio per gli ioni  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Rb^+$  e  $Cs^+$ .

Ione	Raggio nel cristallo [Å]	Raggio solvatato [Å]	$P_i/P_K$
$Li^+$	0.60	2.31	0.09
$Na^+$	0.95	1.78	0.07
$K^+$	1.33	1.22	1.00
$Rb^+$	1.48	1.18	0.74
$Cs^+$	1.69	1.16	0.18

Si nota da tale tabella che per gli ioni considerati (elencati secondo pesi atomici crescenti) si ha che al crescere del peso atomico e, coerentemente, del raggio dello ione del cristallo, si ha un decremento del raggio dello ione solvatato. Tale evidenza sperimentale è ragionevolmente attribuibile al seguente fatto. Per tali ioni positivi, le molecole d'acqua vengono attratte, dal lato dell'ossigeno, dall'azione della carica positiva del nucleo; tuttavia, all'aumentare del peso atomico, aumenta anche il numero di elettroni, i quali tendono a schermare in modo sempre più deciso la carica positiva del nucleo. Pertanto, all'aumentare del peso atomico, gli ioni tendono ad attrarre a sé un numero inferiore di dipoli d'acqua. Nella Tab. 2.4 sono riportati per ogni ione anche il valore del rapporto tra la propria permeabilità  $P_i$  e quella del potassio  $P_k$  (determinata da misure su un canale per il potassio in una membrana di neurone). Si nota che per valori decrescenti dei raggi solvatati non necessariamente corrispondono valori crescenti della permeabilità. Ciò è dovuto al fatto che, come meglio descritto nel seguito, la permeabilità di un soluto è determinata dall'azione combinata di diversi effetti e non semplicemente dalle dimensioni effettive del soluto stesso.

#### 2.4.4 Energetica della selettività ionica ed effetti sterici

La forza di legame tra siti carichi del canale e ioni trasportati è maggiore quando le cariche di interazione sono più vicine; questo accade quando si hanno ioni non idrati e piccoli. In particolare, quando il canale è così piccolo che lo ione non può entrare con la nube idrata, le forze di legame diventano predominanti. Due variazioni di energia sono coinvolte in questo processo:

1) *energia di idratazione*:  $\Delta E_h = E_{\text{ioneidratato}} - E_{\text{ionenonidrato}}$ . Poiché lo stato idrato è favorito, si ha  $\Delta E_h < 0$ ;

2) *energia di legame* (tra ione non idrato e un sito nel canale):  $\Delta E_b = E_{\text{ionelegato}} - E_{\text{ionenonidrato}}$ . Essendo in presenza di una forza di legame attrattiva, si ha:  $\Delta E_b < 0$ .

La tendenza di uno ione che viaggia nel canale a legarsi con i siti del canale dipende dal valore della seguente differenza:

$$\Delta E_t = \Delta E_b - \Delta E_h = E_{\text{ionelegato}} - E_{\text{ioneidratato}} \quad (2.137)$$

Le due variazioni di energia sono tanto più negative quanto più piccoli sono gli ioni. L'*energia di idratazione* è una proprietà degli ioni, ma l'*energia di legame* dipende dal campo di forza del sito di legame, come nell'esempio mostrato in Tab. 2.5.

Tab. 2.5. Esempio di effetti di una diversa intensità dei campi di forza dei siti di legame sulle energie di idratazione e di legame dei canali.

<i>Intensità campo di forza di legame</i>	<i>Media</i>	<i>Alta</i>	<i>Bassa</i>
$\Delta E_b$ (unità arbitrarie)			
Ione piccolo	-12	-16	-8
Ione grande	-9	-12	-6
$\Delta E_h$ (unità arbitrarie)			
Ione piccolo	-5	-5	-5
Ione grande	-2	-2	-2
$\Delta E_t$ (unità arbitrarie)			
Ione piccolo	-7	-11	-3
Ione grande	-7	-10	-4

Altri effetti che influenzano la selettività sono relativi alle dimensioni dello ione idrato o dello ione non idrato e sono detti pertanto *effetti sterici*. Ad esempio, un piccolo ione il cui legame sarebbe energeticamente favorito può avere una nube di idratazione così grande che non può avvicinarsi alle pareti del canale. Pertanto la sua permeabilità è nulla. Quando il canale è piccolo, solo gli ioni più piccoli e non solvatati possono passare; quindi il canale è altamente selettivo per tali ioni.

#### 2.4.5 Modelli di canali ionici: filtri, gate e profili di energia

Un *canale ionico* è una struttura proteica transmembrana (detta anche *proteina ionoforica*) simile ad un tubo con un buco nel centro che trasporta i soluti per diffusione facilitata (Fig. 2.10a). Come precedentemente accennato, la struttura presenta inoltre residui polari o carichi di aminoacidi. Altri modelli schematizzano le proteine ionoforiche come un insieme di strutture disposte su assi paralleli, con uno spazio libero tra di esse (Fig. 2.10b).

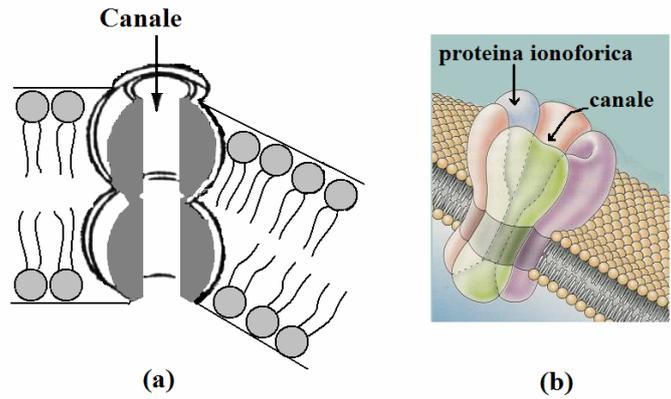


Fig. 2.10. Modelli schematici della struttura di un canale ionico.

Molti canali presentano una variazione lungo la propria lunghezza della densità di carica localizzata sulle pareti. Un esempio è il canale selettivo per il potassio (Fig. 2.11), nel quale solo una piccola porzione ha proprietà selettive ed è pertanto detta *filtro di selezione*. Gli ioni potassio interagiscono elettrostaticamente con le pareti del filtro (che è molto stretto) mentre il resto del canale non è selettivo.

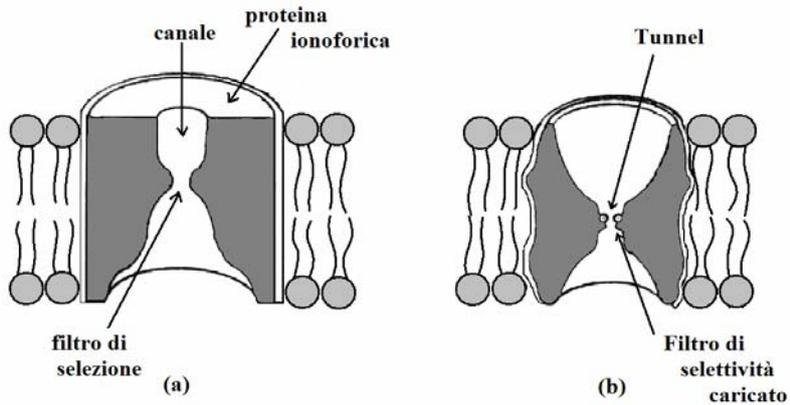


Fig. 2.11. Modello strutturale di un canale per il potassio.

Le Fig. 2.12 - 2.14 riportano recenti modelli molecolari di alcuni canali.

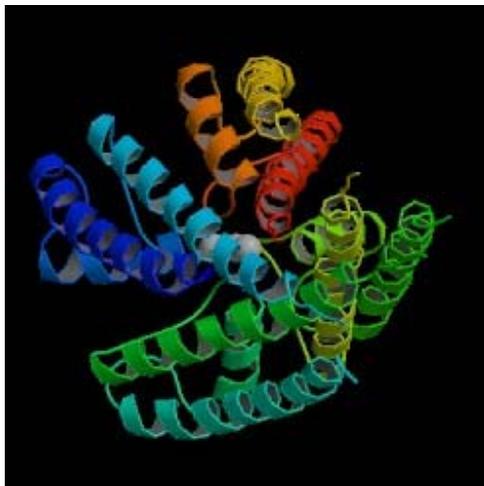


Fig. 2.12. Modello molecolare della struttura di un canale voltaggio-dipendente per il potassio [1,2].

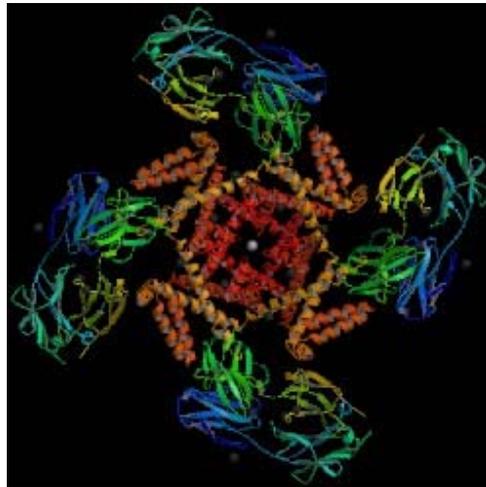


Fig. 2.13. Modello molecolare della struttura di un canale voltaggio-dipendente per il potassio [1,3].

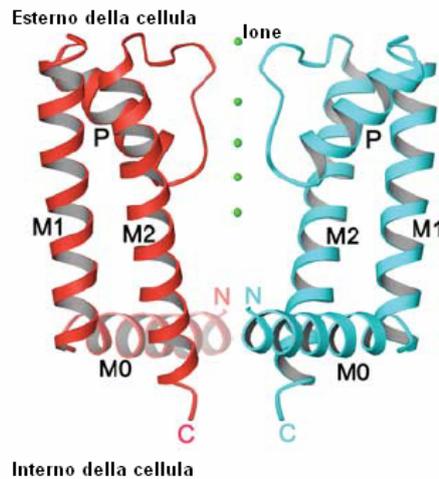


Fig. 2.14. Modello molecolare della struttura di un canale selettivo sia per il sodio che per il potassio [4].

Molti filtri si differenziano anche per la *rigidezza*: i canali con filtri più rigidi sono più selettivi, quelli con filtri meno rigidi possono cedere per lasciare passare altre specie. Benché i canali siano sempre aperti, molti alternano stati di conduzione a stati di non conduzione. Il trasporto è quindi controllato da *gate* (o *porte*), così chiamati per la propria funzione regolatrice. Il resto del canale è aperto e può essere meno selettivo. Bisogna sottolineare che i gate non si comportano come delle semplici barriere, anche se sono dei restringimenti del cammino ionoforico. Infatti, il processo di *gating* è spesso controllato da un sito di legame selettivo nei confronti delle varie specie. Più in generale, un gate può essere modulato in apertura/chiusura sia da fattori endogeni alla cellula, sia da fattori esogeni. Il gate si apre tramite un cambiamento conformazionale non appena il soluto si lega al sito. La durata dell'apertura è di solito dell'ordine del ms. I gate possono essere situati ovunque nel canale e ce ne possono essere più di uno per ogni canale. Per uno ione  $i$  che transita attraverso il canale (tramite spostamento da sito a sito) vale un profilo di energia  $E_i$  del tipo dell'esempio riportato in Fig. 2.15.

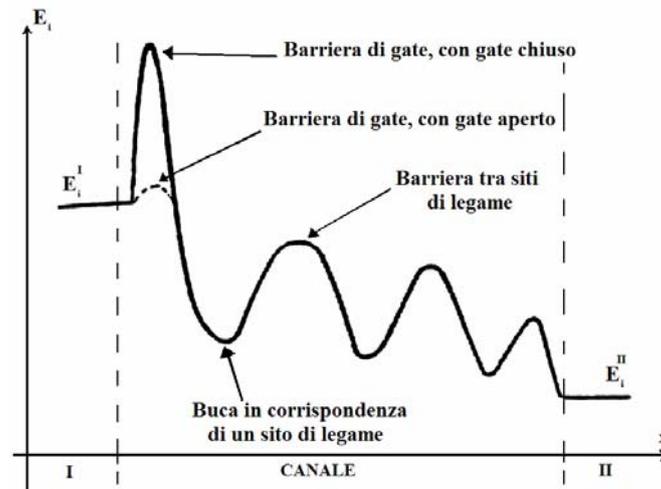


Fig. 2.15. Esempio di profilo di energia per uno ione durante l'attraversamento, lungo una direzione  $x$ , di un canale transmembrana che separa una fase I da una fase II (regioni intra- ed extra-cellulari).

Naturalmente, i siti di legame energeticamente favoriti sono quelli corrispondenti ai minimi locali del grafico dell'energia. Inoltre l'altezza della barriera di energia corrispondente al gate dipenderà dalla apertura o chiusura del gate stesso.

#### 2.4.6 Classificazione dei canali

I canali possono essere classificati in base alla loro selettività e conduzione nel modo seguente:

- *canali iono-selettivi*: lasciano passare solo ioni specifici; di solito vengono identificati con il nome dello ione per cui sono selettivi (canali del potassio, del sodio, ecc.). La loro conduttanza è bassa, di solito dell'ordine di 1-10 pS;
- *canali valenza-selettivi*: lasciano passare ioni con una data valenza e non sono molto selettivi. Possono contenere un filtro valenza-selettivo che opera sfruttando un'alta densità di carica lungo la parete del canale. La limitata selettività si riflette sulla conduttanza che può essere di un ordine di grandezza maggiore di quella dei canali ionoselettivi;
- *canali non selettivi*: hanno un diametro di 20-30 Å e la loro conduttanza, in contrasto con quella dei canali più stretti, non satura in soluzioni concentrate. Per differenze di potenziale transmembrana dell'ordine di 100 mV questi canali lasciano passare circa  $10^8$ - $10^9$  ioni al secondo;
- *maxi canali del potassio*: sono molto selettivi per il potassio e la loro conduttanza può essere da 10 a 50 volte maggiore di quella dei canali iono-selettivi. Sono modulati in apertura dal potenziale transmembrana (ossia sono voltaggio-dipendenti).

#### 2.4.7 Modelli di carrier

Un carrier è anch'esso una proteina transmembrana, che però trasporta i soluti da una faccia all'altra della membrana con un meccanismo diverso dalla diffusione. Essi infatti svolgono il processo di trasporto tramite cambiamenti conformazionali. In particolare, il soluto attraversa la membrana con una serie di passi successivi in cui il trasporto avviene tramite un cambiamento di forma e di esposizione dei siti di legame. Infatti, il soluto si lega ad un sito specifico del carrier, al quale rimane legato durante l'attraversamento della membrana, che avviene mediante variazioni conformazionali del carrier stesso. In nessun momento si possono trovare passaggi

da una parte all'altra della membrana non ostruiti da monomeri proteici, che bloccano l'accesso ai siti di legame. La Fig. 2.16 mostra alcuni semplici modelli di carrier.

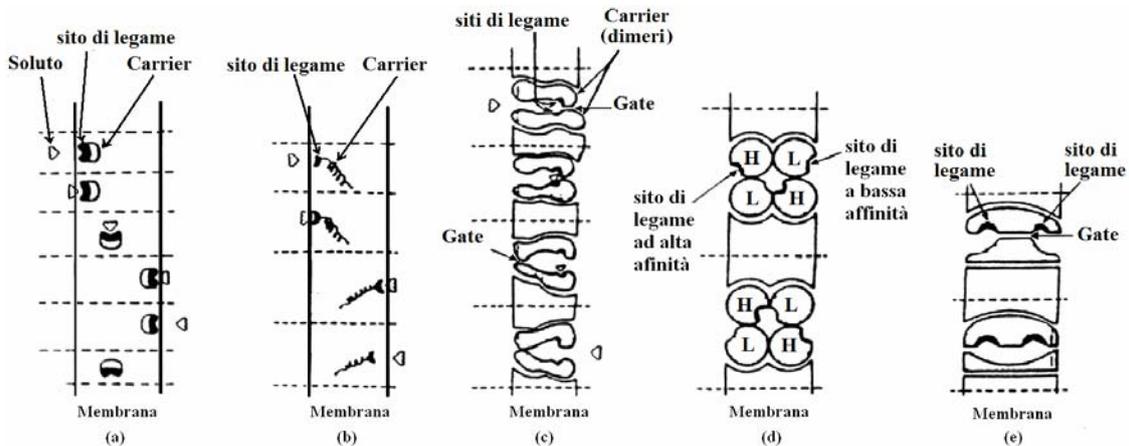


Fig. 2.16. Esempi di semplici modelli di carrier.

#### 2.4.8 Carrier e canali: similitudini e differenze

Sebbene i meccanismi di trasporto siano differenti per canali e carrier, è possibile identificare almeno una similitudine: l'azione dei monomeri proteici che nel carrier blocca l'accesso ai siti di legame è simile a quella dei gate nei canali. Si hanno tuttavia alcune differenze rilevanti; tra di esse si segnalano le seguenti:

- 1) La velocità di trasporto dei carrier è di solito più sensibile alla temperatura di quanto lo sia il flusso mediato dai canali. Infatti, passando attraverso il canale, il soluto è soggetto ad attrito viscoso quando sposta il solvente attraverso il canale.
- 2) Le velocità di trasporto dei carrier sono minori delle velocità dei canali mediati. Un solo carrier può spostare  $10^2-10^4$  unità di soluto per secondo attraverso la membrana, mentre gli ioni possono passare attraverso un canale alla velocità di  $10^6-10^9$  al secondo.
- 3) Nel trasporto mediato dai carrier il flusso di soluto può essere influenzato dalle concentrazioni di altri soluti. In particolare, si possono verificare due fondamentali meccanismi di trasporto: il *cotrasporto* (o *simporto*) ed il *controtrasporto* (o *antiporto*) (Fig. 2.17). Nel cotrasporto si ha il passaggio con il carrier del *soluti primario* e di un *cosoluti* come un unico complesso dalla parte *cis* alla parte *trans* della membrana. Il flusso del soluto primario dalla fase I alla fase II è accelerato dall'aumento di concentrazione del cosoluti nella fase I. Nel controtrasporto il flusso (mediato dal carrier) del soluto primario è stimolato dall'aggiunta di un cosoluti nella parte *trans* della membrana. Si precisa che, benché tali interazioni tra soluti abbiano un grande effetto sul trasporto via carrier, anche i canali possono non essere immuni ad esse. Nessun canale, infatti, è assolutamente selettivo per una singola specie. Per esempio, la permeabilità del potassio nei canali sodio è il 5% di quella del sodio. Quanto più alto è il numero di specie ioniche in grado di competere per il trasporto in un canale, tanto più probabile sarà la comparsa di possibili effetti inibitori molto simili all'inibizione del trasporto via carrier. Di conseguenza la selettività di un canale può dipendere dalla concentrazione dei soluti. I canali possono anche essere bloccati da ioni che possono entrare nel canale, ma che non possono passare attraverso il filtro di selettività. Inoltre le velocità di trasporto attraverso canali dotati di gate sono influenzate da una varietà di soluti che hanno a che fare con la dinamica del gate.

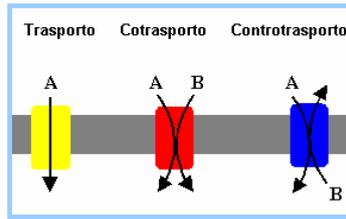


Fig. 2.17. Schematizzazione di tre differenti modalità di trasporto.

- 4) I carrier trasportano sia ioni sia non elettroliti, mentre la maggior parte dei canali lasciano passare solo ioni. I non elettroliti possono attraversare solo canali larghi e non selettivi. Così, se un sistema di trasporto facilitato è selettivo per un particolare non elettrolita, il mediatore è quasi certamente un carrier.

**2.4.9 Cinetica del trasporto facilitato via carrier**

Il più semplice modello di carrier prevede un trasporto di soluto tramite *assunzione*. La cinetica di questo tipo di trasporto può essere schematizzata nel modo di seguito descritto, con riferimento alla Fig. 2.18:

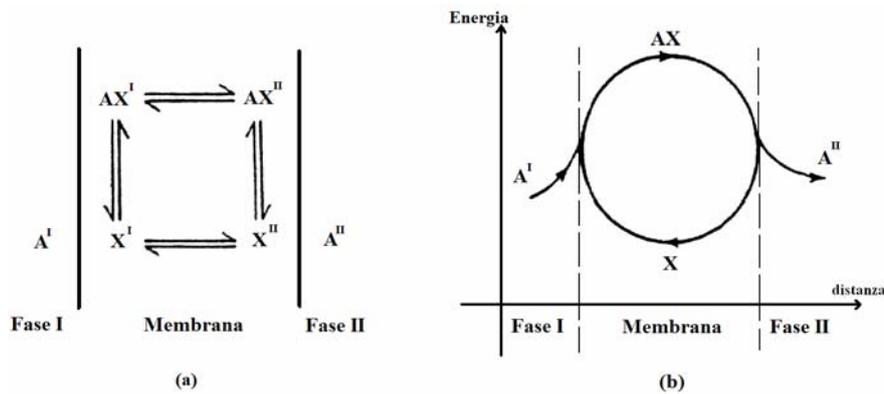


Fig. 2.18. Schematizzazione del più semplice modello di trasporto via carrier: (a) ciclo di trasporto; (b) diagramma energetico.

- 1) il carrier X trasporta un singolo soluto A e non può lasciare la membrana;
- 2) ogni molecola di X si lega ad una singola molecola di A. Il carrier può transitare dalla parte I alla parte II, o viceversa, con o senza A, ma A può passare solo come AX;
- 3) la reazione di legame  $A + X \rightleftharpoons AX$ , reversibile, è rapida ed è in equilibrio da entrambe le parti della membrana. La costante di equilibrio  $K_A$  è la stessa per le due interfacce:

$$K_A = \frac{c_A^i \cdot c_X^i}{c_{AX}^i} \quad (i = I, II) \tag{2.138}$$

Di solito si ipotizza che le soluzioni da entrambe le parti siano ben mescolate (assenza di strati stagnanti); ciò permette di rimpiazzare, all'equilibrio, la concentrazione  $c_A^i$  con la concentrazione del bulk.

- 4) le fasi da entrambe le parti della membrana sono idealmente assunte con estensione infinita, così che le concentrazioni siano costanti (ossia idealmente si trascurano le quantità trasportate) e si possa raggiungere

uno stato stazionario. Questa condizione non si verifica però a livello sperimentale. Quando il livello del soluto cambia, col tempo la condizione di stazionarietà è rimpiazzata da una condizione di quasi stazionarietà: si considera che il sistema di trasporto risponda velocemente alle variazioni delle condizioni di frontiera, in modo che il flusso in ogni istante possa essere descritto dalle equazioni di regime utilizzando le concentrazioni istantanee nelle due fasi;

- 5) si definisce per tale tipo di trasporto una permeabilità generalizzata  $P_j'$ , che esprime il fattore di proporzionalità tra il flusso del carrier e la sua differenza transmembrana di concentrazione:

$$J_j = P_j' \cdot (c_j^I - c_j^{II}) \quad (j = X, AX) \quad (2.139)$$

$P_j'$  è una misura della velocità con cui il carrier attraversa la membrana. Il suo significato fisico dipende dal modello assunto per il meccanismo di trasporto. Se il carrier è considerato come una sorta di *traghetto* che diffonde attraverso la membrana,  $P_j'$  coincide con la sua permeabilità; se invece si modella la transizione come dovuta a cambiamenti conformazionali,  $P_j'$  è legata alla frequenza di transizione.

La variabile  $c_x^I$  esprime la concentrazione di carrier con siti di legame non occupati dal soluto.

- 6) Il carrier semplice che opera tramite rapidi cambiamenti conformazionali è sempre in uno dei seguenti quattro stati:

- dalla parte I con soluto legato;
- dalla parte I senza soluto legato;
- dalla parte II con soluto legato;
- dalla parte II senza soluto legato.

Sono quindi necessarie e sufficienti quattro concentrazioni per descrivere gli stati del carrier. Se però si considera che il carrier transita da una parte all'altra della membrana tramite molteplici variazioni conformazionali, andando a prendere in esame anche gli stati intermedi, sono allora necessarie più concentrazioni per definire il sistema.

#### 2.4.9.1 Modello semplificato di carrier

Le seguenti equazioni definiscono il più semplice modello di carrier:

- 1) *Conservazione del carrier*: il carrier è sempre in uno dei quattro stati sopra enunciati, quindi, indicando con  $X_t$  la concentrazione totale del carrier, si ha:

$$c_{AX}^I + c_{AX}^{II} + c_X^I + c_X^{II} = X_t \quad (2.140)$$

- 2) *Stato stazionario*: poiché il carrier è confinato nella membrana, esso non può uscire dalla essa per passare dalla fase I alla fase II o viceversa. Pertanto, il flusso combinato netto transmembrana di X e AX deve essere nullo:

$$J_X + J_{AX} = 0 \quad (2.141)$$

3) *Uniformità delle permeabilità generalizzate del carrier*: si suppone che, a causa del movimento dei carrier da una parte all'altra della membrana,  $P'_j$  sia la stessa in ogni direzione. Inoltre si assume che  $P'_j$  sia la stessa per X e AX, ossia:

$$P'_x = P'_{AX} \equiv P' \tag{2.142}$$

Dall'Eq. (2.141) si ottiene pertanto:

$$P' \cdot (c'_x - c''_x + c'_A - c''_A) = 0 \tag{2.143}$$

4) Il flusso incognito del soluto A è uguale al flusso di AX, dato che A non può passare in altra forma:

$$J_A = J_{AX} \tag{2.144}$$

pertanto:

$$J_A = P' \cdot (c'_{AX} - c''_{AX}) \tag{2.145}$$

Combinando le equazioni precedenti, si ottiene quindi il flusso del soluto, in funzione delle proprie concentrazioni ( $c'_A, c''_A$ ) e delle proprietà del sistema carrier ( $X_t, P', e K_A$ ):

$$J_A = \frac{P' \cdot X_t}{2} \cdot \left( \frac{c'_A}{K_A + c'_A} - \frac{c''_A}{K_A + c''_A} \right) \tag{2.146}$$

La dipendenza del flusso del soluto dalla propria concentrazione è mostrata in Fig. 2.19.

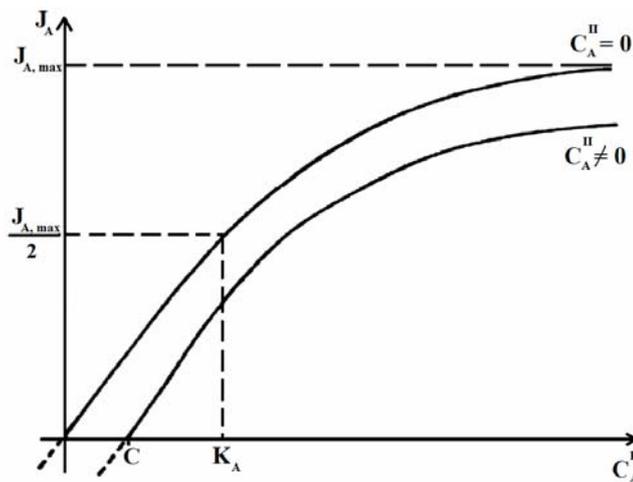


Fig. 2.19. Andamento qualitativo del flusso di soluto in funzione della propria concentrazione in fase I, a seconda che la concentrazione in fase II sia nulla o meno.

Si osserva una tendenza alla saturazione, come previsto per qualsiasi processo di trasporto facilitato (si ricorda che, invece, nel caso di diffusione libera il grafico sarebbe costituito da linee rette). In particolare, dall'Eq. (2.146) si nota che il flusso massimo raggiungibile  $J_{A,\max}$  (alla saturazione) corrisponde, come è ragionevole che sia, alla concentrazione nulla del soluto in fase II:

$$J_{A,\max} = \lim_{c_A^I \rightarrow \infty} J_A \Big|_{c_A^{\text{II}}=0} = \frac{P' X_t}{2} \quad (2.147)$$

*Caso particolare:*

Quando le concentrazioni del soluto in entrambe le fasi sono sufficientemente basse, nella misura in cui  $c_A^i \ll K_A$  ( $i = I, II$ ), si ha:

$$J_A \cong \frac{P' \cdot X_t}{2 \cdot K_A} \cdot (c_A^I - c_A^{\text{II}}) \quad (2.148)$$

Sotto queste condizioni la maggior parte dei siti di legame sono liberi e l'equazione di flusso è simile a quella in diffusione libera. Questa è detta *diffusione limite del sistema*. L'Eq. (2.148) descrive il primo tratto lineare della curva di Fig. 2.19.

*Caso particolare:*

Quando le concentrazioni del soluto in entrambe le fasi sono invece sufficientemente alte, nella misura in cui  $c_A^i \gg K_A$  ( $i = I, II$ ), i siti di legame sono quasi tutti occupati e si ha:

$$J_A \cong 0 \quad (2.149)$$

#### 2.4.9.2 Modelli più complessi di carrier

Rispetto al modello semplificato sopra riportato, nelle equazioni che descrivono i modelli più complicati si possono avere differenti varianti. Tra queste si citano le seguenti:

1) *Differenze tra le permeabilità generalizzate:* è possibile avere una differenza tra le due costanti,  $P_X'$  e  $P_{AX}'$ , che regolano il flusso del carrier vuoto o caricato del soluto:

$$J_j = P_j' \cdot (c_j^I - c_j^{\text{II}}) \quad (j = A, AX) \quad (2.150)$$

Modificando le equazioni del modello precedente in base all'Eq. (2.150) e risolvendo per  $J_A$  si ottiene:

$$J_A = \frac{P_{AX}' \cdot P_X' \cdot X_t \cdot K_A \cdot (c_A^I - c_A^{\text{II}})}{2 \cdot P_{AX}' \cdot c_A^I \cdot c_A^{\text{II}} + K_A \cdot (c_A^I + c_A^{\text{II}}) \cdot (P_{AX}' + P_X') + 2 \cdot P_X' \cdot K_A^2} \quad (2.151)$$

Si osserva che l'Eq. (2.151) diventa l'Eq. (2.146) se  $P'_X = P'_{AX} = P'$ .

- 2) *Asimmetria delle costanti di equilibrio*: le costanti di equilibrio differiscono dalle due parti della membrana e pertanto  $K_A$  è sostituito con  $K_A^i$  ( $i = I, II$ ).
- 3) *Asimmetria delle permeabilità generalizzata*: il valore di tale costante può dipendere dal senso di attraversamento della membrana (dalla fase I alla fase II o viceversa). Se, in aggiunta, si considera anche che tali costanti possono differire per X e per AX, la singola costante di permeabilità del modello più semplice viene ad essere sostituita da quattro permeabilità generalizzate:

$$J_j = P'_j \cdot c_j^I - P'_{-j} \cdot c_j^{II} \quad (j = A, AX) \quad (2.152)$$

dove il pedice  $-j$  indica una transizione in verso opposto. Tutte le altre equazioni del modello cambiano di conseguenza.

- 4) *Il complesso carrier-soluto porta una carica*: se per esempio X è neutro e A è uno ione, AX è caricato in qualche modo. La cinetica di transizione del complesso attraverso la membrana può allora essere influenzata dal potenziale elettrico di quest'ultima.
- 5) *Il soluto attraversa la membrana tramite una serie di carrier*: in tal caso la cinetica è naturalmente diversa da quella di un trasporto a singolo carrier.

#### 2.4.9.3 Inibizione

Nei sistemi finora discussi la velocità di trasporto di un soluto dipende solo dalla concentrazione del soluto stesso e non da quella di altre specie. Tuttavia, ciò è raro nei casi reali. Altri soluti, infatti, possono competere con A per legarsi ai siti del carrier o per bloccare l'accesso di A a tali siti. Quando questo accade,  $J_A$  diminuisce di conseguenza e si ha il processo di *inibizione*. In particolare, nella cosiddetta *inibizione competitiva*, altri soluti oltre ad A si possono legare ad X. Consideriamo il caso più semplice in cui un soluto B sia in grado di legarsi al carrier alla stessa stregua di A. Le equazioni del modello semplificato devono pertanto essere modificate come di seguito descritto:

- 1) *Conservazione del carrier*: si hanno due concentrazioni in più,  $c_{BX}^I$  e  $c_{BX}^{II}$ , al primo membro:

$$c_{BX}^I + c_{BX}^{II} + c_{AX}^I + c_{AX}^{II} + c_X^I + c_X^{II} = X_t \quad (2.153)$$

- 2) *Stato stazionario*: l'equazione che governa il flusso è:

$$J_X + J_{AX} + J_{BX} = 0 \quad (2.154)$$

dove:

$$J_{BX} = P'_{BX} \cdot (c_{BX}^I - c_{BX}^{II}) \quad (2.155)$$

3) *Equilibrio*: due equazioni vengono aggiunte per descrivere l'equilibrio  $BX \longleftrightarrow B + X$  dalle due parti della membrana:

$$K_B = \frac{c_B^i \cdot c_X^i}{c_{BX}^i} \quad (i = I, II) \quad (2.156)$$

Risolviendo per  $J_A$ , si ottiene:

$$J_A = \frac{P' \cdot X_t}{2} \cdot \left( \frac{c_A^I}{c_A^I + K_A \cdot \left(1 + \frac{c_B^I}{K_B}\right)} - \frac{c_A^{II}}{c_A^{II} + K_A \cdot \left(1 + \frac{c_B^{II}}{K_B}\right)} \right) \quad (2.157)$$

Confrontando le Eq. (2.146) e (2.157) si osserva che il fatto che anche B possa legarsi al carrier ha un effetto equivalente ad un aumento del valore di  $K_A$  di un fattore  $K_A \cdot \frac{c_B^i}{K_B}$ . Dunque, l'inibitore B ha come effetto

equivalente quello di spostare verso sinistra l'equilibrio della reazione  $A + X \longleftrightarrow AX$ , aumentando le concentrazioni di A e di X e diminuendo quella di AX. Il carrier X disponibile si lega a B formando il complesso BX. Il rapporto tra le concentrazioni risultanti di AX e BX è correlato a quello tra le costanti di equilibrio delle rispettive reazioni:  $K_A / K_B$ . L'efficacia di B come inibitore dipende da tale rapporto, che diviene pertanto un indice della selettività del carrier.

Se B si lega irreversibilmente al carrier, l'inibitore occupa tutti i siti di legame del carrier e a regime  $J_A$  è nullo. Si riporta come esempio di inibizione competitiva l'effetto di un veleno: il curaro. Esso è in grado di agire efficacemente come inibitore competitivo per il trasporto dell'acetilcolina (neurotrasmettitore) attraverso la membrana cellulare a livello delle sinapsi. In pratica B è così affine a X che si forma un complesso BX che non si dissocia, e pertanto non rimangono siti liberi per legare A, portando come conseguenza  $J_A = 0$ .

Come secondo caso di inibizione si ha che B può entrare in inibizione competitiva con A anche senza attraversare la membrana. Supponiamo che sia  $P'_{BX} = 0$ , ossia che il carrier sia immobilizzato quando è legato a B. Modificando l'Eq. (2.157) con  $P'_{BX} = 0$ , che implica  $J_{BX} = 0$ , ed assumendo che sia  $c_B^{II} = 0$ , avremo:

$$J_A = \frac{P' \cdot X_t \cdot K_A \cdot K_B \cdot (c_A^I - c_A^{II})}{(K_A + c_A^{II}) \cdot (2 \cdot K_B \cdot c_A^I + 2 \cdot K_A \cdot K_B + K_A \cdot c_B^I)} \quad (2.158)$$

## **2.5 Trasporto attivo**

Nella diffusione libera e nel trasporto facilitato descritti nelle sezioni precedenti la forza motrice per il flusso di un particolare soluto dipende solo dalla differenza di concentrazione o di potenziale elettrochimico della specie

nelle due parti della membrana di trasporto. Questi processi di trasporto, noti come *passivi*, possono avere uno dei due seguenti esiti:

- 1) se almeno una delle due fasi non è infinita in estensione e il soluto non è né consumato né sintetizzato, il flusso procede fino al raggiungimento di un equilibrio in cui i potenziali elettrochimici sui due lati della membrana sono uguali;
- 2) se il soluto è consumato o sintetizzato, si può raggiungere una condizione di flusso stazionario, tale che il flusso attraverso la membrana eguagli il ritmo di consumo o di sintesi.

Tuttavia, lo studio di sistemi biologici rivela invece situazioni che possono essere in alcuni casi anche molto diverse dalle due sopra descritte. Si osserva infatti che i soluti possono muoversi in alcuni casi anche *contro gradiente* di potenziale elettrochimico, ossia procedendo verso una fase in cui il loro potenziale elettrochimico è più alto che nella fase di partenza. In altri casi è possibile trovare un soluto non metabolizzato su entrambi i lati di una membrana permeabile a questo tipo di soluto, senza registrare nessun flusso netto delle specie, anche se in presenza di una differenza di potenziale elettrochimico tra le due parti della membrana. Inoltre, come caso contrario, sono anche possibili flussi non nulli in corrispondenza di gradienti nulli di potenziale elettrochimico. Queste osservazioni, riassunte schematicamente in Fig. 2.19b, sembrano violare l'equazione di Nernst. In realtà queste situazioni sono l'espressione di un differente meccanismo di trasporto, detto *attivo*. Esso è il risultato di un'interazione fra metabolismo e fenomeni di trasporto, come descritto nelle sezioni seguenti.

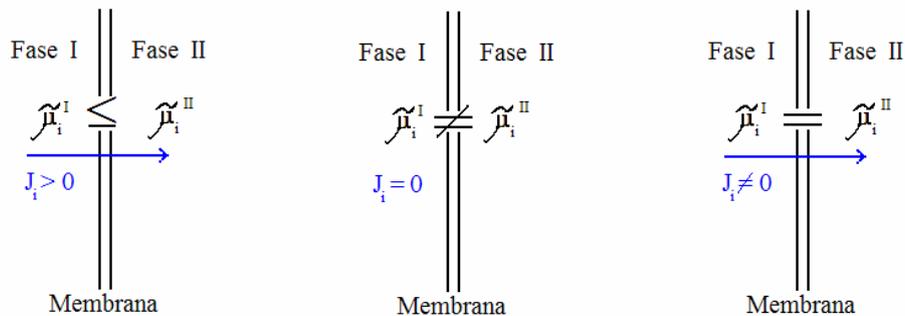


Fig. 2.19b. Fenomeni di trasporto non spiegabili in termini di trasporto passivo: flusso contro gradiente di potenziale elettrochimico (figura a sinistra); flusso nullo in presenza di gradiente di potenziale non nullo (figura centrale); flusso non nullo per gradiente nullo (figura a destra).

### 2.5.1 Accoppiamento metabolico

Le situazioni di Fig. 2.19b possono essere facilmente distinte dal trasporto passivo nel momento in cui si considera un grafico del flusso in funzione della differenza di potenziale elettrochimico (Fig. 2.20). In tutti i processi passivi considerati fino ad ora, il flusso del soluto è nullo quando questo è in equilibrio attraverso la membrana, cioè  $J_i = 0$  quando  $\Delta\tilde{\mu}_i = 0$ . Come descritto in precedenza,  $\Delta\tilde{\mu}_i$  è chiamata forza motrice coniugata per il flusso della specie  $i$ -esima. Il flusso aumenta quando la differenza di potenziale elettrochimico cresce, ed è sempre diretto verso la fase in cui il potenziale elettrochimico è minore.

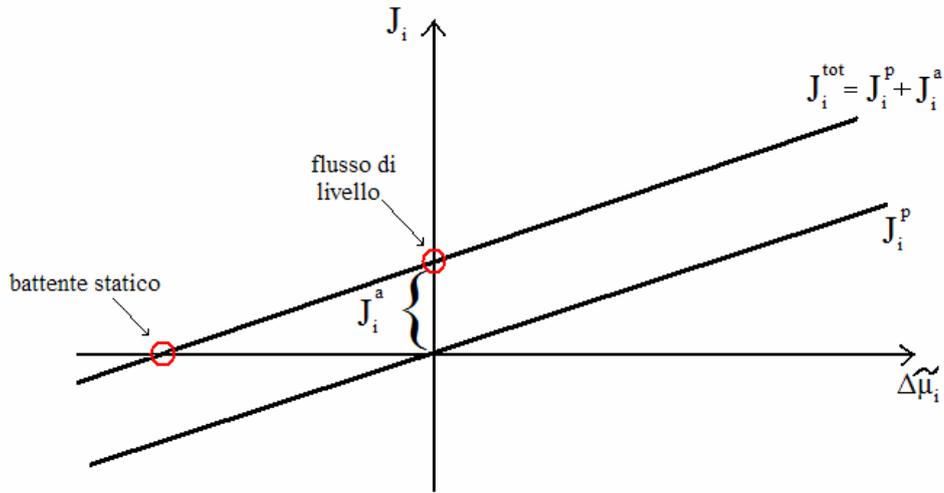


Fig. 2.20. Andamenti qualitativi del flusso di un soluto  $i$ -esimo attraverso una membrana in funzione della propria differenza di potenziale elettrochimico, nei casi di trasporto passivo ( $J_i^p$ ) e di trasporto passivo combinato con trasporto attivo ( $J_i^{tot}$ ).

Pertanto, in Fig. 2.20 la retta (a meno di una eventuale regione di saturazione) per il *trasporto passivo* giace nel primo e nel terzo quadrante e passa attraverso l'origine. Differentemente, in presenza di trasporto attivo si ha una retta che occupa anche il secondo quadrante. In particolare, si ha una traslazione della retta relativa al processo puramente passivo, secondo un fattore  $J_i^a$  che esprime la componente di *flusso attivo*:

$$J_i^{tot} = J_i^p + J_i^a \tag{2.159}$$

In termini termodinamici,  $J_i^a$  è il risultato dell'accoppiamento del flusso ad una forza motrice che non è la sua coniugata. In particolare, tale aumento di flusso  $J_i^a$  deriva da una reazione metabolica, ed è pertanto chiamato *contributo metabolico* al flusso della specie  $i$ -esima, o tasso di trasporto attivo della specie  $i$ -esima.

I meccanismi di trasporto attivo possono essere ricondotti a sistemi di trasduzione che convertono energia chimica, ottenuta da reazioni metaboliche, in lavoro di trasporto. Tali trasduzioni avvengono mediante cambiamenti conformazionali in proteine di trasporto di tipo carrier. In particolare, le proteine carrier adibite al trasporto attivo utilizzano energia estratta da molecole di ATP (adenosintrifosfato), in cui è precedentemente immagazzinata con processi metabolici (come descritto nel prossimo paragrafo), per attivare le proprie variazioni conformazionali, che permettono loro di effettuare un trasporto di tipo attivo. Tale tipo di trasporto è caratterizzato da un legame tra  $J_i$  e  $\Delta\tilde{\mu}_i$  analogo a quello mostrato in Fig. 2.20, ed è pertanto in grado di operare, ad esempio, trasporti contro gradiente.

Molti sistemi di trasporto attivo convertono energia chimica in energia elettrica, contribuendo alla differenza di potenziale attraverso la membrana cellulare. Il potenziale di membrana influenza a sua volta un gran numero di eventi cellulari, tra cui anche processi di trasporto attraverso la membrana stessa: è questo il caso, ad esempio, della modulazione della attività dei canali di membrana dipendenti dal voltaggio.

### 2.5.2 Metabolismo e ATP

Il processo metabolico comincia con l'assunzione di cibo. Le molecole complesse che compongono il cibo vengono convertite dal processo digestivo in composti più semplici: i carboidrati in zuccheri semplici, come il

glucosio; le proteine nei propri aminoacidi costituenti; i grassi in glicerolo e acidi grassi. Queste molecole sono poi assorbite dal sangue per venire trasportate a tutte le cellule del corpo. Nelle cellule, i prodotti della digestione sono convertiti in un limitato numero di substrati che fungono da “frumento per il mulino metabolico” proprio della cellula, che risiede in speciali strutture, dette *mitocondri*. Nel mitocondrio questi substrati sottostanno ad una lunga serie di reazioni catalizzate attraverso le quali essi sono ossidati ad anidride carbonica ed acqua; in carenza di ossigeno, un processo meno efficiente, conosciuto come *glicolisi anaerobica*, porta all'acido lattico come prodotto finale. L'energia estratta durante la combustione di questi substrati è conservata al fine di eseguire una reazione endotermica, la *fosforilazione* (aggiunta di un gruppo fosfato) dell'adenosindifosfato (ADP). Dato che i substrati sono ossidati durante il processo di estrazione energetica, questo si chiama *fosforilazione ossidativa*. Il prodotto della fosforilazione è un complesso altamente energetico, l'adenosintrifosfato (ATP). L'ATP è il principale trasportatore di energia metabolica nella cellula. La reazione inversa (defosforilazione) è accompagnata dal rilascio dell'energia impegnata nel legame del fosfato terminale, circa pari a  $7.8 \pm 0.5$  kcal/mol. La liberazione di energia da parte dell'ATP è indotta da enzimi (ATPasi) che catalizzano la reazione di idrolisi. Nei sistemi di trasporto attivo, gli enzimi ATPasi accompagnano il processo di trasporto stesso, come descritto nelle sezioni seguenti. Ad esempio, l'enzima Na-K-ATPasi è responsabile per il sistema di trasporto attivo che porta gli ioni sodio al di fuori della cellula e gli ioni potassio all'interno.

### 2.5.3 Trasporto primario e secondario

I processi di trasporto attivo possono essere classificati in primari e secondari, come di seguito descritto.

#### 2.5.3.1 Trasporto primario

In questo tipo di trasporto il carrier funge contemporaneamente:

1. sia da enzima ATPasi, che opera la defosforilazione di molecole di ATP per ricavarne energia da impiegare per attivare variazioni conformazionali;
2. sia da elemento di trasporto del soluto A contro gradiente, sfruttando l'energia ricavata dall'ATP (Fig. 2.21).

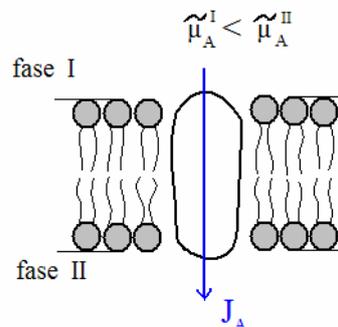


Fig. 2.21. Trasporto attivo primario di un soluto A.

Pertanto, il carrier funziona come una vera e propria pompa, in grado di operare trasporti contro gradienti di potenziale elettrochimico. Per tale motivo, le proteine carrier/enzima ATPasi che operano il trasporto attivo primario sono chiamate *pompe metaboliche*.

Nelle cellule animali sono conosciuti tre sistemi di trasporto primario fondamentali:

- 1) *Pompa sodio-potassio* ( $Na^+$ ,  $K^+$ ): essa trasporta due ioni potassio dentro la cellula e tre ioni sodio fuori di essa, per ogni molecola di ATP idrolizzata (defosforilata);
- 2) *Pompa calcio*: essa trasporta uno o due ioni calcio attraverso la membrana, per ogni molecola di ATP idrolizzata;

3) *Pompa ione idrogeno-potassio o protone-potassio ( $H^+$ ,  $K^+$ )*: pompa un protone dentro la cellula e due ioni potassio fuori da essa, per ogni molecola di ATP idrolizzata. A titolo di esempio, si ricorda che esistono farmaci in grado di inibire tale pompa per diminuire l'acidità dello stomaco, utilizzati frequentemente in casi di ulcera.

Avendo a che fare con sistemi di pompaggio, spesso si utilizza anche per essi una terminologia adottata per pompe meccaniche centrifughe. Si parla in particolare di *flusso di livello*, definito come il flusso di trasporto quando la differenza di potenziale elettrochimico della specie pompata è nulla. Si parla anche di *battente statico*, definito come la differenza di potenziale elettrochimico che annulla il flusso. I punti operativi corrispondenti a tali condizioni nel grafico di  $J_i$  in funzione di  $\Delta\tilde{\mu}_i$  sono mostrati in Fig. 2.20.

### 2.5.3.2 Trasporto secondario

Questo tipo di trasporto attivo è presente in carrier che abbiano due tipi di siti di legame distinti: uno per il soluto A ed uno per un cosoluto B. Il trasporto attivo secondario del soluto A avviene in concomitanza con il trasporto di B (secondo un meccanismo di seguito descritto) e si può avere:

- o un *cotrasporto* (o *simporto*, o *accoppiamento positivo*): se A e B fluiscono nello stesso verso;
- o un *controtrasporto* (o *antiporto*, o *accoppiamento negativo*): se A e B fluiscono in versi opposti.

Il meccanismo del trasporto attivo secondario consiste nella coesistenza dei tre seguenti sotto-meccanismi:

1. un trasporto attivo primario del cosoluto B, in cui il carrier utilizza energia ricavata dalla defosforilazione di molecole di ATP per trasportare il cosoluto B contro il proprio gradiente di potenziale elettrochimico, come nell'esempio di Fig. 2.22.

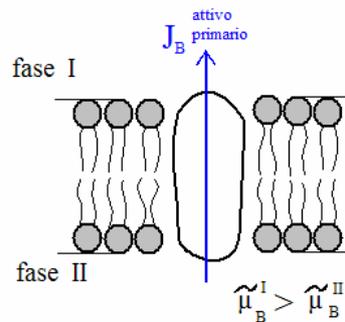


Fig. 2.22. Trasporto attivo primario del cosoluto B.

Tale trasporto attivo contribuisce a creare una differenza di concentrazione transmembrana del cosoluto B, la quale accresce ulteriormente la differenza di potenziale elettrochimico transmembrana del cosoluto stesso.

2. Il gradiente di potenziale elettrochimico del cosoluto B (accresciuto dal trasporto primario) diviene la forza motrice per un trasporto secondario dello stesso cosoluto B, secondo un meccanismo di trasporto passivo per diffusione facilitata da carrier e sostenuta dal naturale gradiente di potenziale elettrochimico. Si ha pertanto un retroflusso passivo del cosoluto B, secondo il proprio gradiente.
3. Tale retroflusso, essendo spontaneo, cede energia al carrier, che la impiega per operare variazioni conformazionali atte ad un trasporto attivo del soluto A, contro il proprio gradiente di potenziale elettrochimico. Pertanto, come particolarità si ha che il trasporto attivo del soluto A (a differenza del



(forma disattivata), che lega il soluto A debolmente. La forma X è in uno stato attivo (forma attivata), caratterizzata da un'alta affinità per il soluto. Il ciclo di trasporto per questo carrier è mostrato in Fig. 2.24. La trasformazione del carrier da Y ad X è chiamata attivazione e avviene nel lato I: permette al carrier di legare il soluto. Il soluto attraversa passivamente la membrana come AX. Dopo che il soluto è stato rilasciato sul lato II, X si disattiva ad Y, che ritorna passivamente al lato I. Assumiamo per ora che Y non leghi A. Tuttavia, i principi discussi continuano a valere anche se Y può trasportare A, ma legandolo con meno affinità di X (ossia se le costanti di equilibrio delle reazioni di legame di X e Y con A sono diverse) e/o avendo una minor velocità di transizione verso il lato II.

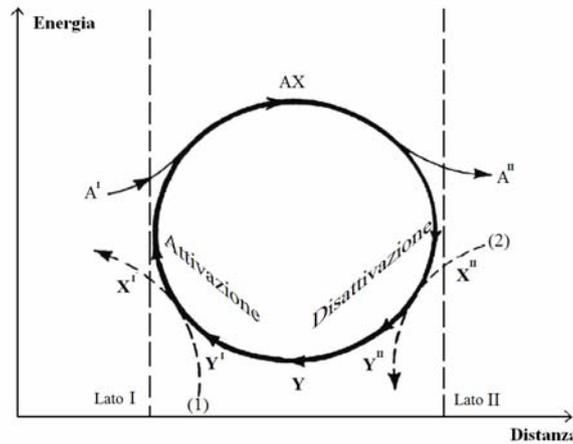


Fig. 2.24. Ciclo energetico per un trasporto attivo scalare. L'attivazione del carrier avviene nella fase I, mentre la disattivazione nella fase II. Le linee tratteggiate indicano i processi attivazione (1) e disattivazione (2).

Il metabolismo può guidare questo processo di trasporto in due modi:

1.  $c_{AX}^I$  può essere aumentata facilitando la conversione di Y in X al lato I, quindi incrementando la disponibilità del carrier attivo X;
2.  $c_{AX}^{II}$  può essere diminuita accelerando la disattivazione di X in Y al lato II.

Ognuno di questi due effetti incrementerà la forza motrice per il trasporto di AX, in quanto rende positiva e aumenta la differenza  $c_{AX}^I - c_{AX}^{II}$ . Pertanto, si avrà un flusso positivo e passivo del complesso AX, anche contro gradiente di concentrazione A, ossia per  $c_A^I < c_A^{II}$ .

### 2.5.5.1 Trasporto scalare primario

In tale tipo di trasporto il carrier è attivato e disattivato mediante un apporto energetico derivante dalla defosforilazione dell'ATP. Pertanto, le reazioni che descrivono le fasi di questo processo di trasporto sono le seguenti:

i) Attivazione del carrier:



ii) Formazione del complesso carrier-soluto (alta affinità):



iii) Translocazione (passiva) del complesso:



iv) Rilascio del soluto (perdita di affinità):



v) Disattivazione del carrier:



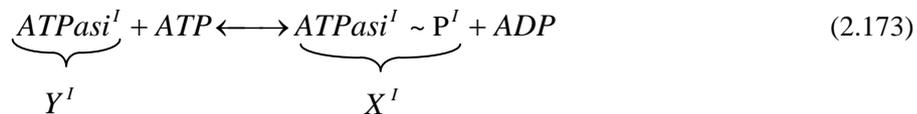
vi) Translocazione (passiva) del carrier:



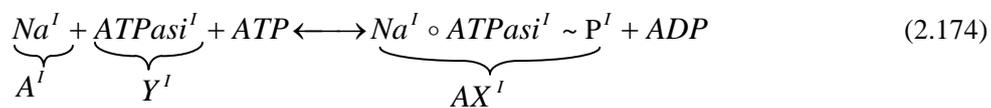
Si precisa che nelle reazioni precedenti (e nel seguito) il simbolo  $P$  rappresenta il gruppo fosfato, ossia:



L'attivazione di Y attraverso l'Eq. (2.166) è catalizzata da un enzima ATPasi incluso o attaccato alla membrana. Normalmente l'ATPasi e il carrier sono la stessa proteina e l'enzima/carrier è attivato dal trasferimento di un fosfato ( $P$ ) ad alta energia proveniente dall'idrolisi dell'ATP:



Inoltre, è opportuno sottolineare che l'attivazione e gli stadi di legame con il soluto avvengono tipicamente nello stesso momento, formando AX da un Y sul lato I. Questo meccanismo è stato suggerito, ad esempio, per lo stadio di legame per la pompa sodio-potassio:



Il sodio è legato sul lato citoplasmatico della membrana cellulare. AX si porta sulla faccia esterna e deposita il sodio nel fluido extracellulare. Tale meccanismo è descritto in modo più approfondito nel seguito.

### 2.5.5.2 Trasporto scalare secondario

Il trasporto scalare secondario è il mezzo di trasporto principale che permette alle cellule di incamerare soluti di tipo non elettrolita. Come visto in precedenza, la forza motrice del trasporto scalare secondario è il gradiente transmembrana di potenziale elettrochimico di un cosoluto B, che generalmente è uno ione. Molto spesso è lo

ione sodio che viene portato in una condizione di non equilibrio dalla pompa sodio-potassio, attraverso la membrana. Il flusso retroattivo di questo ione porta il soluto dentro la cellula.

Prendiamo in esame un cotrasporto. In particolare, in tale meccanismo di trasporto si hanno le seguenti fasi. In una prima fase, avviene un trasporto primario del cosoluto B. Successivamente, il carrier per il soluto A è attivato (dalla forma Y alla forma X) dallo stesso cosoluto che è stato trasportato. X a sua volta lega il soluto A e il complesso AX transita passivamente verso la parte II. Da notare che il complesso che subisce la transizione è formato dal carrier, dal cosoluto e dal soluto. Una volta avvenuta la translocazione, il soluto A perde affinità con il carrier e viene liberato nella parte II. Inoltre, il cosoluto disattiva il carrier nella parte II. Infine, il carrier disattivato attraversa passivamente la membrana dalla parte II alla parte I. Riassumendo, si hanno gli stadi descritti di seguito.

i) Trasporto primario del cosoluto B dalla fase II alla fase I (si vedano le reazioni per il trasporto scalare primario descritte nel paragrafo precedente), che può essere sinteticamente descritto come:



ii) Attivazione del carrier, per il soluto A, da parte del cosoluto B:



iii) Formazione del complesso carrier-soluto (alta affinità):



iv) Translocazione (passiva) del complesso:



v) Rilascio del soluto (perdita di affinità):



vi) Disattivazione del carrier da parte del cosoluto:



vii) Translocazione (passiva) del carrier:



Il cotrasporto scalare secondario è caratterizzato da proprietà specifiche, tra le quali si segnalano le seguenti:

- 1) Aumentando la concentrazione del cosoluto B in fase I, si riscontra un aumento del flusso attivo del soluto A. Tale effetto è noto come *stimolazione cis* della pompa. Ciò avviene perché un incremento nella concentrazione di B determina, mediante la reazione data dall'Eq. (2.176), un aumento della concentrazione di carrier attivato disponibile a legarsi con A. Analogamente, un trasporto contrario è *trans-stimolato* dall'aumento di  $c_B^{II}$ .
- 2) Aumentando la concentrazione di A in fase I, si riscontra un aumento del flusso attivo del cosoluto B. Tale effetto è noto come *stimolazione reciproca* della pompa. Ciò avviene perché alzando la concentrazione di A in fase I (mentre si tiene quella della fase II costante), si ha che, affinché aumenti il flusso di A da I verso II,

deve aumentare il trasporto primario di B da II verso I, in modo che possa successivamente aumentare il cotrasporto di A con B che fluisce passivamente da I a II.

- 3) Quando il potenziale elettrochimico del soluto è lo stesso su entrambi i lati della membrana (ossia  $\Delta\tilde{\mu}_A = 0$ ), cambiando il segno di  $\Delta\tilde{\mu}_B$  cambia il segno di  $J_A$ . Ciò avviene perché l'unica forza motrice per un *flusso di livello* (Fig. 2.20) di A rimane il gradiente di potenziale elettrochimico del cosoluto.
- 4) Aggiungendo *inibitori* alle soluzioni che bagnano il tessuto, i processi di trasporto primario e secondario rispondono in modo differente. In particolare, il primario si estingue rapidamente poiché il trasporto del soluto è direttamente inibito. Nel caso di un trasporto secondario, invece, il processo risponde meno rapidamente rispetto al primario. Infatti, poiché il gradiente di cosoluto tende progressivamente a dissolversi, non essendo più mantenuto dal processo di trasporto primario (inibito), si ha che il processo di trasporto secondario decade lentamente come i flussi del cosoluto stesso. Tuttavia, è significativo sottolineare che se il gradiente di cosoluto è mantenuto artificialmente tramite l'aggiunta di cosoluto nella fase appropriata, il processo di trasporto attivo di A e la sua dipendenza dalle concentrazioni di B non sono affetti dagli inibitori del trasporto primario.

Esempi di simporto includono l'accumulazione di aminoacidi e zuccheri da parte dell'epitelio assorbente, come nell'intestino e nei reni. Un tipico processo di antiporto è il ricambio di bicarbonato di cloruro attraverso le membrane dei globuli rossi.

#### 2.5.5.3 Trasporto scalare terziario

E' utile sottolineare che i meccanismi di tipo primario e secondario non sono gli unici possibili. Sono infatti stati osservati processi di trasporto biologico che avvengono secondo meccanismi che prevedono anche un numero di specie coinvolte superiore a due. Esistono ad esempio meccanismi di *trasporto attivo terziario*. In questo caso, tre differenti specie influenzano reciprocamente il loro trasporto attraverso una membrana cellulare.

Ad esempio, è possibile che il gradiente di concentrazione di un aminoacido, accumulato da un sistema di trasporto secondario, possa produrre, con un trasporto contrario, l'accumulazione di un secondo aminoacido attraverso la cellula. La Fig. 2.25 mostra i cicli accoppiati per il processo di trasporto terziario e per quello primario e secondario che lo accompagnano.

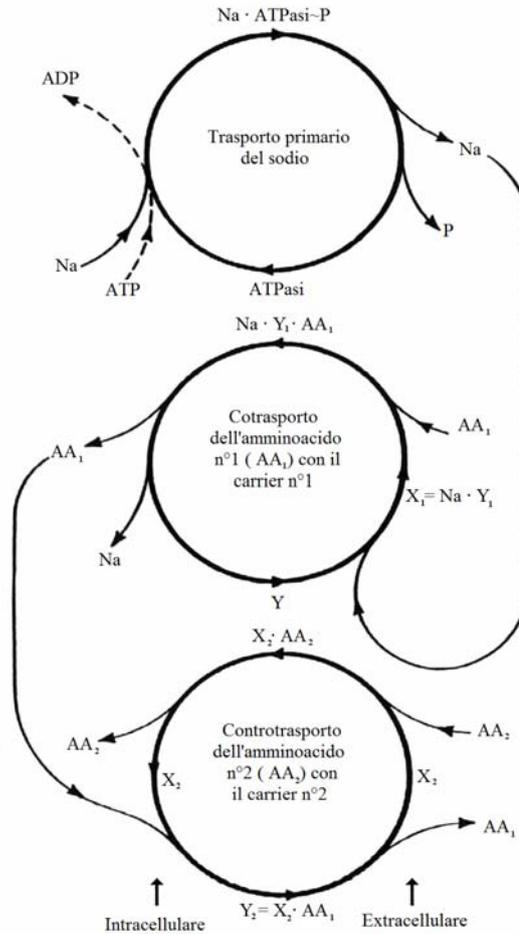
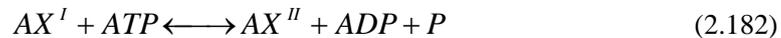


Fig. 2.25. Esempio di trasporto attivo terziario.

### 2.5.6 Trasporto vettoriale

Nel trasporto vettoriale la defosforilazione dell'ATP conduce carrier carichi dal lato I al lato II e, talvolta, anche carrier non carichi in verso opposto. In prima istanza si ha:

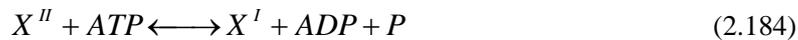


La reazione di defosforilazione è catalizzata da un enzima che opera selettivamente su AX. La reazione provoca nel carrier carico un cambio conformazionale, esponendo il soluto legato alla fase II. A questo punto il soluto perde affinità con il carrier, il quale lo rilascia nella fase II. La successiva transizione del carrier nel verso opposto (per andare ad esporre i propri siti di legame nuovamente verso la fase I) tipicamente procede passivamente, ossia senza l'apporto di energia:



Ciò avviene perché  $c_X^{II} \geq c_X^I$  e lo stato del carrier libero ha un minimo di energia nella fase I. E' questo il caso ad esempio della pompa sodio-potassio, come descritto nel seguito. Tuttavia si sottolinea che in alcuni sistemi è

stata riscontrata una tendenza del carrier a tornare nello stato I in modo attivo, sfruttando nuovamente un'idrolisi di ATP, ossia:



L'ATPasi che opera per condurre AX dal lato I al lato II deve essere in grado di distinguere i carrier carichi da quelli scarichi, altrimenti porterebbe insieme AX e X al lato II. Ciò è possibile perché quando  $X'$  si lega ad A può subire un cambio conformazionale che l'enzima è in grado di riconoscere. Quindi l'enzima deve identificare A, oppure un cambio conformazionale del carrier indotto dai legami di A.

Si sottolinea, infine, che dal punto di vista generale anche per il trasporto vettoriale sono possibili meccanismi sia primari che secondari.

## 2.5.7 Modelli della pompa sodio-potassio

### 2.5.7.1 Proprietà della pompa sodio-potassio

La pompa sodio-potassio è un sistema di trasporto attivo *primario* e pertanto tale proteina carrier funge anche da enzima ATPasi (Na-K-ATPasi). Tale pompa trasporta ioni sodio fuori dalla cellula e ioni potassio dentro di essa. Per ogni molecola di ATP idrolizzata, tre ioni sodio e due ioni potassio sono trasportati attraverso la membrana cellulare. Entrambe le specie sono trasportate contro i propri gradienti di potenziale elettrochimico.

Una delle proprietà fondamentali di questa pompa consiste nella sua *selettività* per gli ioni sodio e potassio. In particolare, si ritiene che questo carrier di trasporto attivo primario possieda due insiemi di siti leganti, uno per ogni ione. Ogni sito presenta una più alta affinità per il relativo soluto quando fronteggia la parte *cis* della membrana per quello ione (per il sodio l'interno della cellula, per il potassio l'esterno). In effetti, nella pompa sodio-potassio esiste una considerevole asimmetria nelle costanti di legame per i due ioni.

Tale tipo di carrier mostra anche altre proprietà, quali ad esempio la *saturabilità* e l'*inibizione*, caratteristiche di tutti i carrier. Esse sono condivise non solo da questo tipo di carrier ATPasi, ma anche da carrier di trasporto secondario. Similmente, questa pompa ATPasi condivide le configurazioni strutturali tipiche di ogni carrier. Questa pompa è infatti oligomerica e, come già osservato, ha orientazioni preferenziali nella membrana per permettere il legame selettivo con gli ioni sodio e potassio sui due lati della membrana stessa.

In aggiunta, i meccanismi tramite i quali una pompa sodio-potassio opera fisicamente il trasporto delle specie da una parte all'altra della membrana sono analoghi a quelli descritti in precedenza per i carrier passivi. In particolare, evidenze sperimentali suggeriscono che per questa pompa siano applicabili modelli di tipo *canale con gate* (*gated pore*). Un semplice modello di questo tipo per la pompa enzimatica Na-K-ATPasi è mostrato in Fig. 2.27.

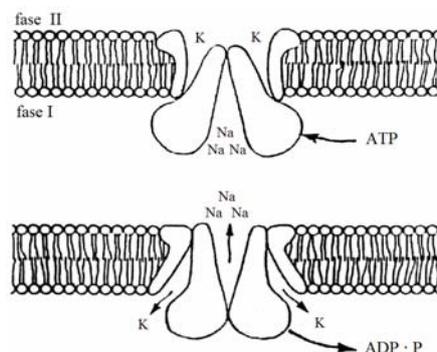
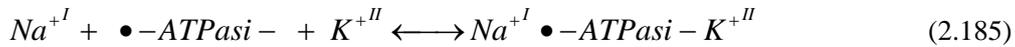


Fig. 2.27. Modello di Na-K-ATPasi di tipo canale con gate.

Tale pompa è di grandissima importanza fisiologica, essendo responsabile di funzioni molto diverse, come ad esempio l'assorbimento intestinale o la trasmissione dei segnali nervosi. Le pompe sodio-potassio sono anche, come precedentemente menzionato, le pompe di elezione per pilotare trasporti attivi secondari. Due meccanismi sono stati proposti per spiegare il funzionamento di questa pompa: un meccanismo di trasporto scalare ed uno vettoriale.

2.5.7.2 Modello basato sul trasporto vettoriale

Secondo un modello vettoriale, la proteina/enzima ATPasi ha due tipi di siti leganti: uno lega il potassio nella fase II (esterno della cellula) e sarà designato con il simbolo - ; l'altro lega il sodio nella fase I (interno della cellula) e sarà designato con il simbolo —●. All'arrivo dell'ATP la proteina è in grado di cambiare conformazione invertendo, simultaneamente, le posizioni dei propri siti di legame (dal lato I al lato II e viceversa) e quindi conducendo Na<sup>+</sup> fuori dalla cellula e K<sup>+</sup> dentro. Lo schema proposto è il seguente:



In tale espressione, il primo membro descrive la proteina/enzima libera, mentre il secondo membro esprime i legami di essa con gli ioni sodio e potassio. Successivamente, a seguito dell'idrolisi dell'ATP, si ha una rotazione della proteina, che espone ciascun sito di legame sulla fase opposta. Si ha pertanto:



Una volta avvenuta la variazione conformazionale, i legami divengono meno affini e quindi vengono rilasciati gli ioni K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup>:



Infine, l'enzima ritorna spontaneamente (senza apporto di energia) alla sua conformazione originale (corrispondente ad uno stato di minima energia), ossia:



Uno schema del processo è mostrato in Fig. 2.26.

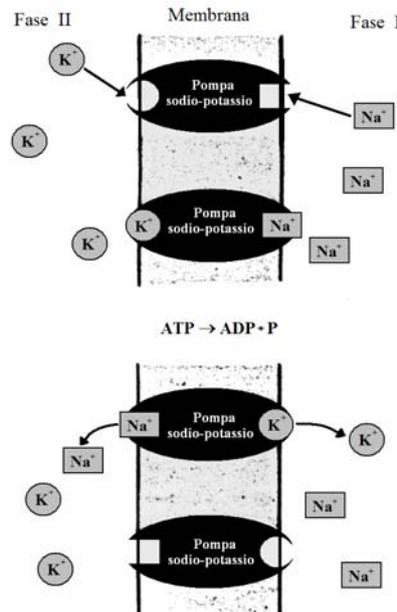
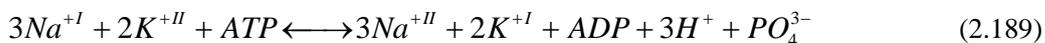


Fig. 2.26. Schematizzazione del trasporto attivo primario di ioni sodio e potassio dovuto alla pompa sodio-potassio.

Si noti che lo schema descritto è non stechiometrico, in quanto presupporrebbe lo scambio di uno ione sodio con uno di potassio in ogni ciclo. In realtà il rapporto di tali ioni è, come ricordato, tre a due. Pertanto, a prescindere dai singoli stadi dell'intero processo, si ha che esso può essere riassunto dalla seguente espressione stechiometrica:



### 2.5.7.3 Modello basato sul trasporto scalare

Secondo un modello scalare, la proteina/enzima ATPasi esiste in due conformazioni (stati): una forma  $E_I$  (enzima nello stato I), in cui i siti leganti dell'enzima sono nel lato I ed hanno una più alta affinità per il sodio che per il potassio; una forma  $E_{II}$ , i cui siti si affacciano al lato II ed hanno una più alta affinità verso il potassio. A differenza del modello vettoriale, secondo il modello scalare il trasporto del sodio e del potassio attraverso la membrana avviene consecutivamente, piuttosto che simultaneamente. Una versione di questo schema è di seguito descritta:

1) Trasporto degli ioni sodio:

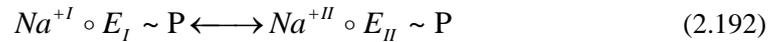
Affinità del carrier per  $Na^+$  :



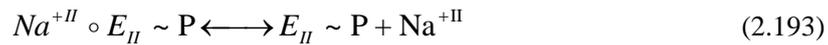
Attivazione del carrier  $E_I$  :



Trasporto attraverso la membrana dovuto al cambio conformazionale della proteina:



Affacciandosi al lato II, l'enzima  $E_{II}$  non ha più un'alta affinità per il sodio e lo rilascia:

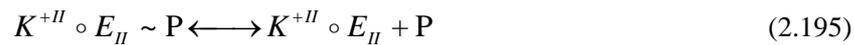


2) Trasporto degli ioni potassio:

Affinità del carrier  $E_{II}$  per il potassio:



Rilascio del fosfato da parte dell'enzima  $E_{II}$ :



Ritorno dell'enzima  $E_{II}$  alla sua conformazione  $E_I$ :



Affacciandosi al lato I, l'enzima  $E_I$  perde affinità per il potassio e lo rilascia:



E' opportuno precisare che esistono tuttavia molte varianti dello schema scalare descritto sopra. In una di queste, ad esempio, l'ATP entra nel ciclo legandosi alla forma  $K \circ E_{II}$  dell'enzima. In un'altra, il sodio lascia il ciclo nella forma  $E_I \sim P$ .

Inoltre, analogamente al modello vettoriale, si sottolinea che gli schemi precedenti sono scritti in modo non stechiometrico, ossia come se la pompa operasse lo scambio di uno ione di sodio con uno di potassio in ogni ciclo.

E' infine utile citare che il modello scalare rappresentato dalle precedenti equazioni è stato anche usato per descrivere le pompe del calcio e del protone.

### 2.5.8 Cinetica del trasporto scalare secondario

Al fine di ricavare un modello semplificato per tale tipo di trasporto, si consideri il caso di un simporto. Le equazioni cinetiche che descrivono tale meccanismo di trasporto sono estensioni delle equazioni che governano il più semplice modello di carrier analizzato in precedenza. In particolare, esse sono basate su assunzioni simili:

- 1) Il carrier, sia nella sua forma attiva X che inattiva Y, è confinato nella membrana. Y si lega solo al cosoluto B e X si lega solo al soluto A.
- 2) Le sole specie che possono attraversare la membrana sono Y, X e AX; A non legato non può attraversare la membrana.
- 3) Gli equilibri sulle due interfacce della membrana sono definiti dalle due costanti di equilibrio che producono le quattro equazioni seguenti:

Attivazione e disattivazione del carrier (per il soluto A) da parte del cosoluto B:

$$K_B = \frac{c_B^i \cdot c_Y^i}{c_X^i} \quad (i = I, II) \quad (2.199)$$

Formazione e scioglimento del complesso tra il soluto A ed il carrier attivato X:

$$K_A = \frac{c_A^i \cdot c_X^i}{c_{AX}^i} \quad (i = I, II) \quad (2.200)$$

- 4) Esiste uno stato stazionario, o quasi stazionario.
- 5) Espressione del flusso passivo con il quale ogni forma di carrier passa da una parte all'altra della membrana:

$$J_j = P^i \cdot (c_j^I - c_j^{II}) \quad (j = X, Y, AX) \quad (2.201)$$

Un punto debole di questa assunzione, che è particolarmente rilevante nel trasporto attivo, è il suo insuccesso nell'includere l'effetto della differenza di potenziale elettrico transmembrana sul trasporto. Infatti in molti processi di trasporto secondario il cosoluto è di solito il sodio. Di conseguenza, essendo esso una specie carica, si ha che il trasporto attivo è generalmente influenzabile dal potenziale di membrana. Pertanto l'omissione del potenziale di membrana dalla trattazione limita l'applicabilità delle equazioni di flusso che ne conseguono, specialmente per lo studio di membrane fortemente depolarizzate.

Sotto tali ipotesi semplificative, le equazioni che descrivono un simporto scalare sono le seguenti:

- 1) *Conservazione del carrier.* Il carrier ha sei possibili stati: inattivo (Y), attivato ( $X = YB$ ) e legato ( $AX = AYB$ ), sul lato I o sul lato II:

$$c_Y^I + c_Y^{II} + c_X^I + c_X^{II} + c_{AX}^I + c_{AX}^{II} = X_t \quad (2.202)$$

- 2) *Stato stazionario:*

$$J_Y + J_X + J_{AX} = 0 \quad (2.203)$$

ossia:

$$P^i \cdot (c_Y^I - c_Y^{II} + c_X^I - c_X^{II} + c_{AX}^I - c_{AX}^{II}) = 0 \quad (2.204)$$

3) Il flusso di A è uguale al flusso di AX:

$$J_A = J_{AX} = P' \cdot (c_{AX}^I - c_{AX}^{II}) \tag{2.205}$$

Si ottengono pertanto dieci equazioni in dieci incognite ( $c_Y^I, c_Y^{II}, c_X^I, c_X^{II}, c_{AX}^I, c_{AX}^{II}, J_A, J_{AX}, J_X, J_Y$ ). Il flusso del soluto dipende dalla concentrazione di A e di B nelle fasi I e II ( $c_A^I, c_A^{II}, c_B^I, c_B^{II}$ ) e dalle proprietà del sistema carrier ( $X_i, P', K_A$  e  $K_B$ ). Risolvendo per  $J_A$  si ha:

$$J_A = \frac{P' \cdot X_i \cdot K_A}{2} \cdot \frac{c_A^I \cdot c_B^I \cdot (K_B + c_B^{II}) - c_A^{II} \cdot c_B^{II} \cdot (K_B + c_B^I)}{(K_A \cdot (K_B + c_B^{II}) + c_A^{II} \cdot c_B^{II}) \cdot (c_A^I \cdot c_B^I + K_A \cdot (K_B + c_B^I))} \tag{2.206}$$

L'effetto del gradiente del cosoluto sul flusso di A risulta particolarmente evidente al *flusso di livello*, ossia per  $c_A^I = c_A^{II} = c_A$  (concentrazioni del soluto A livellate):

$$J_A = P' \cdot X_i \cdot K_A \cdot \frac{c_A \cdot K_B \cdot (c_B^I - c_B^{II})}{2 \cdot (K_A \cdot (K_B + c_B^{II}) + c_A \cdot c_B^{II}) \cdot (c_A \cdot c_B^I + K_A \cdot (K_B + c_B^I))} \tag{2.207}$$

Come osservazione, si sottolinea che esistono formulazioni analoghe per modelli semplificati del trasporto scalare primario. Per brevità, questi sono omessi nella presente trattazione.

### 2.5.9 Pompe e perdite

Il gradiente di un potenziale elettrochimico creato da una pompa biologica può portare a due tipi di *perdite*: perdite per *slittamento o scivolamento (slippage)* e perdite per *shunt*. Esse sono analoghe alle perdite che si possono avere in una pompa meccanica centrifuga (Fig. 2.28) e sono di seguito descritte.

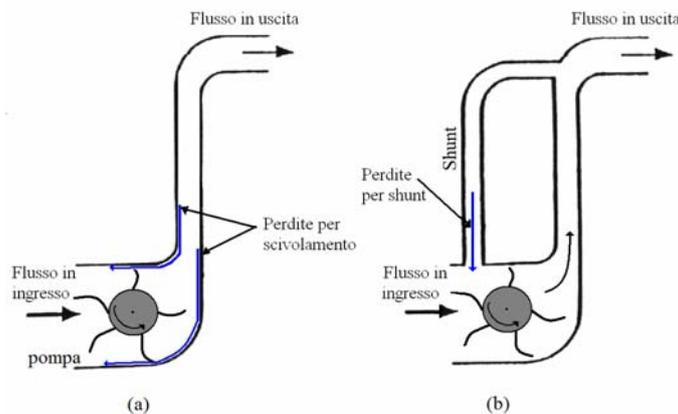


Fig. 2.28. Pompa centrifuga con perdite per slippage (a) e per shunt (b).

### 2.5.9.1 Perdite per slittamento

Per un valore fissato di  $c_A^I$ , il flusso di soluto  $J_A$  dato dall'Eq. (2.206) decresce in modo monotono al crescere di  $c_A^{II}$ . Questa diminuzione di flusso riflette uno *slittamento* nella pompa stessa, analogo al fenomeno che si ha in una pompa centrifuga quando essa opera contro un battente troppo elevato. In particolare, quando  $c_A^{II}$  aumenta, la dissociazione di AX al lato II diminuisce. Come risultato, aumenta la probabilità che il carrier ritorni al lato I con i suoi siti leganti ancora occupati dal soluto. Analogamente, riducendo  $c_A^I$  si ha che la maggior parte delle transizioni sul lato II sono di carrier libero. Al battente statico il processo secondo il quale AX va dal lato II al lato I diviene uguale al processo secondo cui esso va dal lato I al lato II ed il flusso netto di soluto diventa nullo ( $J_A = 0$ ).

Dalla Eq. (2.206) si ricava per un trasporto secondario la seguente condizione di battente statico:

$$\frac{c_A^{II}}{c_A^I} = \frac{c_B^I}{c_B^{II}} \cdot \frac{K_B + c_B^{II}}{K_B + c_B^I} \quad (2.208)$$

### 2.5.9.2 Perdite per shunt

Ogni volta che la pompa solleva il potenziale elettrochimico del suo soluto nella fase II rispetto a quella in fase I si crea una forza motrice per un trasporto passivo in opposizione alla pompa. Pertanto, se sono presenti percorsi passivi paralleli alla pompa, il soluto migra attraverso questi, dal lato *trans* della pompa alla parte *cis*. Tali sentieri secondari sono detti *shunt*. Quando la fase II è un compartimento chiuso, come l'interno di una cellula, in stato stazionario il flusso netto (attivo più passivo) del soluto attraverso la membrana cellulare deve uguagliare il processo che consuma il soluto. Indicando con  $J_A^a$  il flusso attivo di A ed assumendo che il processo di perdita per shunt segua l'equazione di diffusione libera (caratterizzata da una permeabilità  $P_{A_{Shunt}}$ ), si ha:

$$\left( J_A^a + P_{A_{Shunt}} \cdot (c_A^I - c_A^{II}) \right) \cdot A_{cell} = v_A \cdot Vol_{cell} \quad (2.209)$$

dove  $A_{cell}$  e  $Vol_{cell}$  sono rispettivamente l'area della superficie ed il volume della cellula, e  $v_A$  è la velocità (*rate*) con cui viene consumato il soluto per unità di volume, ossia  $[v_A] = \text{mol}/(\text{s m}^3)$ . Quando il soluto non è consumato dalla cellula o la velocità di consumo è trascurabile, il membro di destra dell'Eq. (2.209) può essere considerato nullo. Allora, in stato stazionario, il processo di pompaggio uguaglia quello di perdita:

$$J_A^a = P_{A_{Shunt}} \cdot (c_A^{II} - c_A^I) \quad (2.210)$$

## 2.6 Fenomeni di trasporto di natura cellulare

I meccanismi di trasporto di soluti attraverso la membrana sin qui trattati, sia di tipo passivo che di tipo attivo, si fondano su processi di natura molecolare. In aggiunta ad essi, esistono anche meccanismi di trasporto che implicano processi di natura cellulare, ossia ad un livello strutturale superiore. È questo il caso, ad esempio, del trasporto di agenti macroscopici, quali proteine o batteri, attraverso la membrana cellulari. Le dimensioni di tali agenti non consentono meccanismi di trasporto di natura molecolare (come ad esempio trasporti passivi o attivi

mediati da carrier proteici). Tra tali differenti tipologie di trasporto si distinguono l'*endocitosi* (nelle sue forme di *fagocitosi*, *pinocitosi* ed *endocitosi mediata da recettori*) e l'*esocitosi*. Le leggi che regolano tali processi di trasporto sono ad oggi ancora scarsamente conosciute. Si riporta di seguito una breve descrizione qualitativa di tali fenomeni.

### 2.6.1 Endocitosi

L'endocitosi è un meccanismo mediante il quale le cellule possono inglobare macrosoliti provenienti dai fluidi extracellulari. Questi soluti possono consistere in batteri, proteine, fattori nutritivi, fattori di crescita, ormoni, enzimi, ecc. Come mostrato schematicamente in Fig. 2.29, con tale meccanismo la membrana cellulare involupa una porzione del liquido esterno, formando *vescicole* intracellulari contenenti il materiale extracellulare fagocitato.

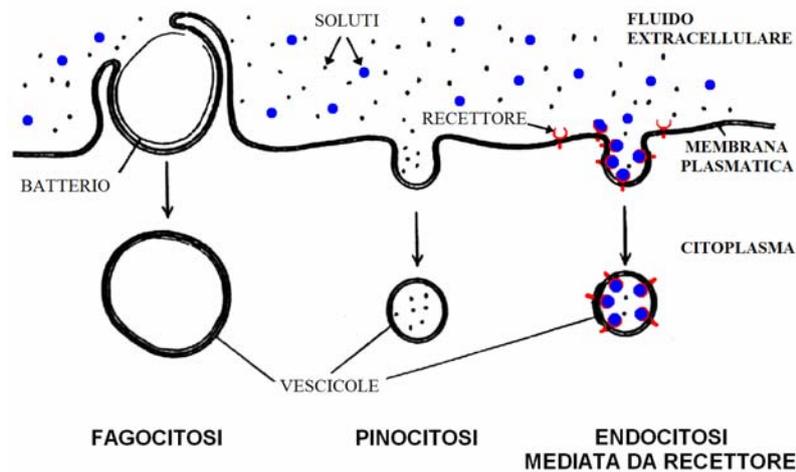


Fig. 2.29. Tipologie di endocitosi: fagocitosi, pinocitosi ed endocitosi mediata da un recettori sulla superficie della cellula.

Il tipo più comune di endocitosi è la *pinocitosi*. Le *vescicole pinocitiche* sono piccole e contengono solo soluzione. Alcune cellule (come ad esempio i globuli bianchi) possono invece formare vescicole più larghe in grado di contenere anche grandi porzioni di materia solida; i processi di inglobamento cellulare in questo caso sono chiamati *fagocitosi*. Ad esempio, alcuni batteri sono catturati per fagocitosi da alcune cellule specializzate del sistema immunitario come i macrofagi.

Alcuni processi endocitici possono essere facilitati mediante l'unione di un soluto ad un recettore sulla superficie cellulare. Si ha pertanto, in tali casi, un'*endocitosi mediata da recettori*. I recettori sono presenti in regioni specializzate della membrana chiamate *cavità coperte*. Una cellula potrebbe avere migliaia di queste zone rivestite di proteine sulla sua superficie. Sono necessari da diversi secondi a diversi minuti per la cellula per formare una vescicola nella zona della cavità. L'invaginazione della membrana plasmatica e la formazione della vescicola richiede un incremento nell'area della membrana. Ciò avviene grazie a locali assottigliamenti della membrana (presumibilmente il risultato di un cambio conformazionale) ed è accompagnato da vigorose sintesi di componenti della membrana da parte della cellula. A titolo di esempio, si consideri che un *fibroblasto attivato* può interiorizzare ogni ora una quantità di membrana pari a metà della sua area di superficie, mentre ingerisce una quantità di soluzione extracellulare che varia dal 5 al 10% del suo volume.

I soluti possono essere portati nelle cellule in due modi: o dissolti nel fluido vescicolare o legati ai recettori nella parete vescicolare. La loro distruzione può avvenire in maniera diversa ma la maggior parte dei soluti sono assimilati enzimaticamente. In particolare, essi vengono scomposti in singole molecole che la cellula può usare. La membrana vescicolare invece è riciclata sulla stessa superficie della cellula.

Il processo endocitico è anche usato per portare grossi soluti extracellulari, come le lipoproteine e le immunoglobuline, attraverso le membrane cellulari endoteliali o epiteliali, da un lato ad un altro. Questa forma di trasporto transcellulare è detto *transocitosi*.

Per realizzare l'endocitosi è richiesta energia dall'ATP; pertanto, tale processo potrebbe essere considerato come un'altra forma di trasporto attivo.

### 2.6.2 Esocitosi

Il processo di trasporto inverso all'endocitosi è chiamato *esocitosi*. In questo caso, alcune cellule ripongono dei soluti specifici in vescicole citoplasmatiche; al bisogno, le vescicole migrano per fondersi con la membrana cellulare, per poi allontanarsi da essa, rilasciando i loro contenuti nella matrice extra-cellulare. Ad esempio, le *cellule secernenti*, come quelle presenti nelle ghiandole del sistema endocrino, sono capaci di esocitosi, grazie alla quale i materiali sintetizzati dalle cellule (tipicamente *ormoni*) sono liberati nello spazio intercellulare. È questo ad esempio il caso dell'ipofisi (o ghiandola pituitaria) che, tra i vari ormoni secreti, libera in questo modo un ormone antidiuretico che controlla l'escrezione dell'urina da parte del rene (regolando quindi il ricambio idrico ed elettrolitico dei liquidi organici).

### Riferimenti bibliografici

- [1] Membrane Proteins of Known Structure, Stephen White Laboratory at UC Irvine. Sito web: [http://blanco.biomol.uci.edu/Membrane\\_Proteins\\_xtal.html](http://blanco.biomol.uci.edu/Membrane_Proteins_xtal.html).
- [2] Doyle D.A., Morais Cabral J., Pfuetzner R.A., Kuo A., Gulbis J.M., Cohen S.L., Chait B.T., MacKinnon R. (1998) The structure of the potassium channel: molecular basis of K<sup>+</sup> conduction and selectivity, *Science*, 280 pp. 69-77.
- [3] Jiang Y., Lee A., Chen J., Ruta V., Cadene M., Chait B.T., MacKinnon R. (2003) X-ray structure of a voltage-dependent K<sup>+</sup> channel, *Nature*, 423, pp.33-41.
- [4] Shi N., Ye S., Alam A., Chen L., Jiang Y. (2006) Atomic structure of a Na<sup>+</sup>- and K<sup>+</sup>-conducting channel, *Nature*, 440, pp.570-574.
- [5] Guyton A., (1995) Trattato di fisiologia medica, Piccin.