

Il materiale didattico (diapositive delle lezioni e altro) sarà disponibile su

www.giorgioventurini.net/lezioni

Testi consigliati.

La maggior parte degli argomenti sono trattati nei testi consigliati per il corso di Citologia ed Istologia.

Per altri argomenti verranno suggeriti siti internet adeguati per la consultazione

La luce, la vista e altri sensi



Oltre a fornirci l'energia per tutte le nostre funzioni, il sole ci mette a disposizione la possibilità di ottenere informazioni sul mondo che ci circonda, grazie al fatto che un flusso continuo di fotoni inonda continuamente la superficie terrestre e rimbalza su ogni oggetto fino a raggiungere il nostro corpo.

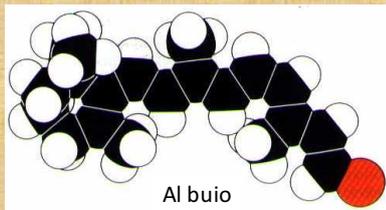


Disporre di un senso capace di rilevare i fotoni, come la vista, ci mette a disposizione un sistema di navigazione a distanza che ci permette di percepire la presenza di oggetti (ad esempio una preda, un predatore o un ostacolo) e i loro movimenti, molto prima che vengano a contatto con il nostro organismo.

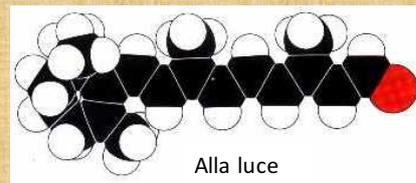
In realtà disponiamo anche di sensi che ci permettono di percepire segnali chimici (pensiamo agli odori) o fisici (ad esempio le vibrazioni, il suono o il calore), ma certamente la velocità di propagazione dei fotoni (300.000 km/s) e la loro presenza ubiquitaria rendono la vista un senso di importanza primaria.

Come possiamo percepire i fotoni che giungono al nostro organismo?

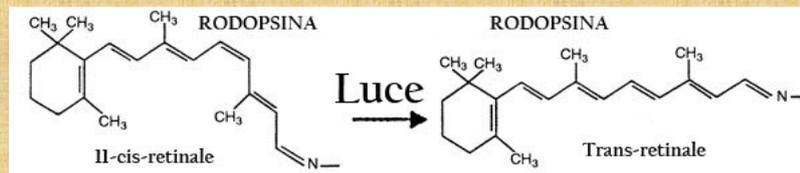
I meccanismi che permettono la percezione dei fotoni sono basati su una molecola che cambia di forma quando viene esposta alla luce, il retinale



retinale11-cis

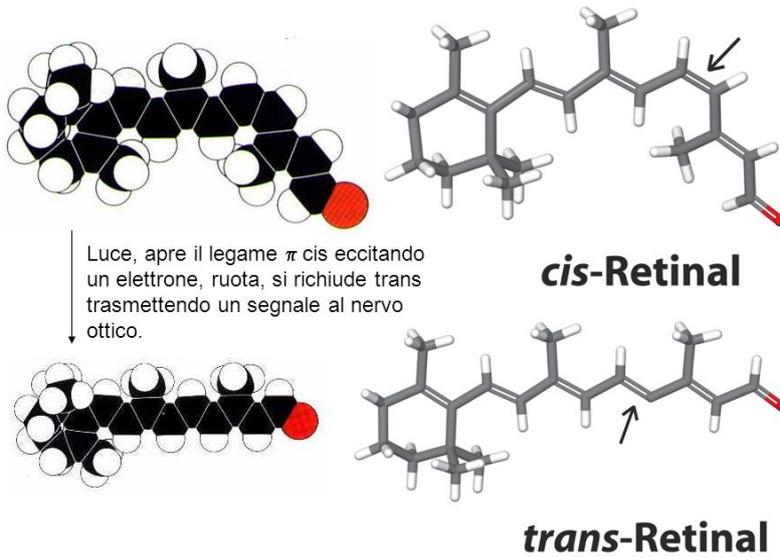


Retinale tutto - trans



Il retinale è legato ad una proteina di membrana delle cellule nervose visive, una OPSINA, formando così una rodopsina

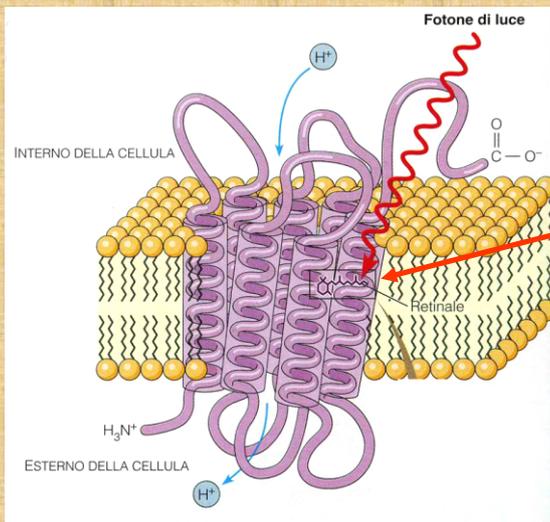
La visione si basa sulla forma del retinale, presente sulla retina



Il cambiamento di conformazione del retinale provoca un cambiamento di conformazione della proteina opsina.

Questo cambiamento della proteina regola le funzioni della opsina e porta alla generazione di un impulso nervoso.

Mentre la trasformazione del retinale cis \rightarrow trans indotta dalla luce è velocissima, la reazione inversa trans \rightarrow cis è più lenta pensate all'abbagliamento



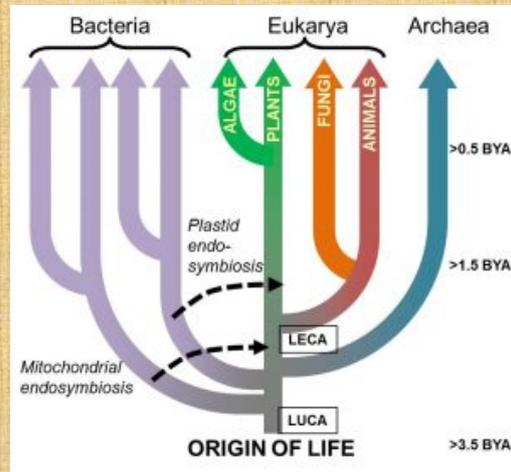
Pompa foto-alimentata: La batteriorodopsina degli Archea

La rodopsina ha una lunga storia evolutiva: in alcuni procarioti (sapete cosa sono e quali sono le differenze tra eucarioti e procarioti?) è presente una batteriorodopsina che, eccitata dalla luce, pompa protoni dall'interno all'esterno della cellula. Il gradiente protonico generato serve ad attivare una ATP sintasi simile a quella dei mitocondri o dei cloroplasti

**Cerchiamo di capire come funziona:
gradienti ed energia, salite e discese**

Nel caso di questi batteri (archea) la batteriorodopsina utilizza l'energia luminosa per attivare una pompa protonica che crea un gradiente di protoni.
Nei mitocondri l'energia che proviene dalla ossidazione dei nutrienti viene utilizzata da pompe per creare un gradiente di protoni
Nei cloroplasti, nella fase luminosa della fotosintesi, l'energia luminosa viene utilizzata per creare un gradiente di protoni.

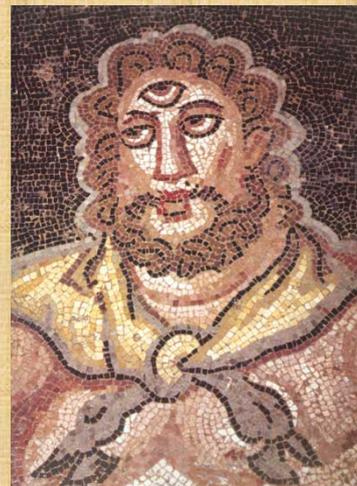
In tutti e tre i casi i protoni rientrano secondo il gradiente, passando attraverso un canale presente in un enzima, una ATPsintasi, che produce ATP utilizzando l'energia del gradiente.



LUCA = Last Universal Common Ancestor
LECA = Last Eukaryotic Common Ancestor

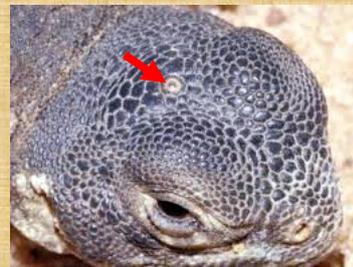
Conoscete altre azioni della luce sul nostro organismo?

Quanti occhi abbiamo?

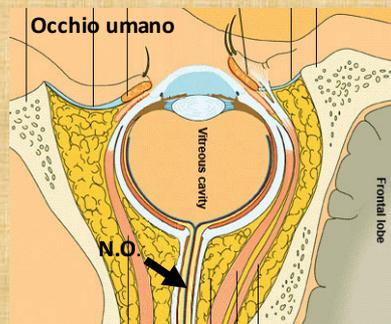


Alcuni vertebrati, oltre ai due occhi comuni a tutti, hanno un terzo occhio, l'occhio parietale o pineale, in genere protetto da una squama semitrasparente.

La sua funzione non è visiva, ma è quella di percepire l'intensità della illuminazione e di inviare i segnali alla ghiandola pineale, o epifisi, che con i suoi ormoni, tra cui la melatonina, regola i ritmi circadiani legati a sonno/veglia e cicli riproduttivi



Occhio parietale di tuatara

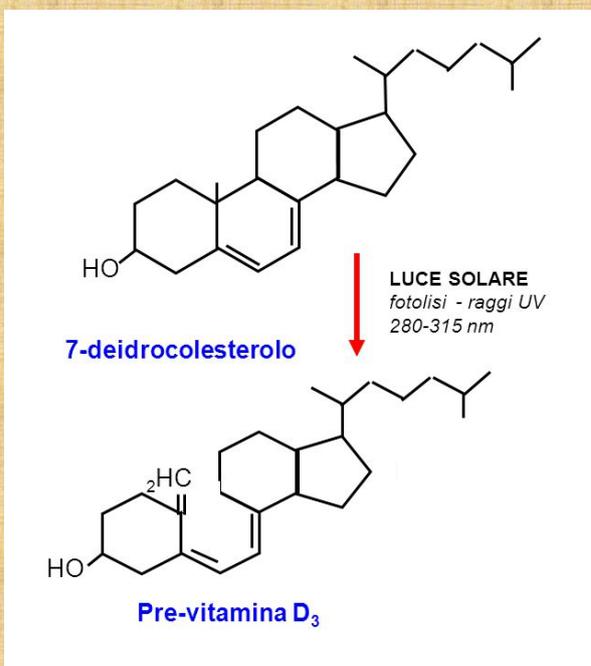


La struttura dell'occhio parietale è molto simile a quella dei nostri occhi. Mentre il nostro nervo ottico (N.O.) raggiunge il cervello, il nervo pineale del terzo occhio raggiunge la ghiandola pineale o epifisi



Nell'uomo, come negli altri mammiferi e negli uccelli, l'occhio pineale è assente. Come vengono quindi regolati i ritmi circadiani?

La nostra epifisi riceve informazioni sull'illuminazione ambientale attraverso nervo che giungono dagli occhi.



Un'altra azione della luce nel nostro organismo

La vitamina D, essenziale tra l'altro per la mineralizzazione delle ossa e dei denti, viene prodotta grazie all'azione dei raggi ultravioletti a partire da un precursore, il 7-deidrocolesterolo, presente negli alimenti

Prima di spiegare come cambiamento di forma di una molecola presente nell'occhio possa generare un segnale che stimola il nostro cervello dovremo chiarirci alcuni concetti importanti a proposito delle membrane cellulari.

**Quali sono le forze che spingono le molecole a spostarsi ?
Lo spostamento da una regione dove una sostanza è più concentrata ad una dove è meno concentrata è spontaneo e libera energia; il movimento in direzione opposta richiede la somministrazione di energia**

Condizione ordinata

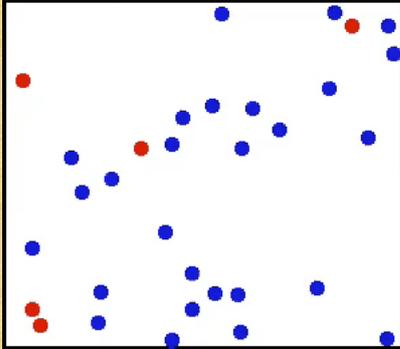


Condizione disordinata

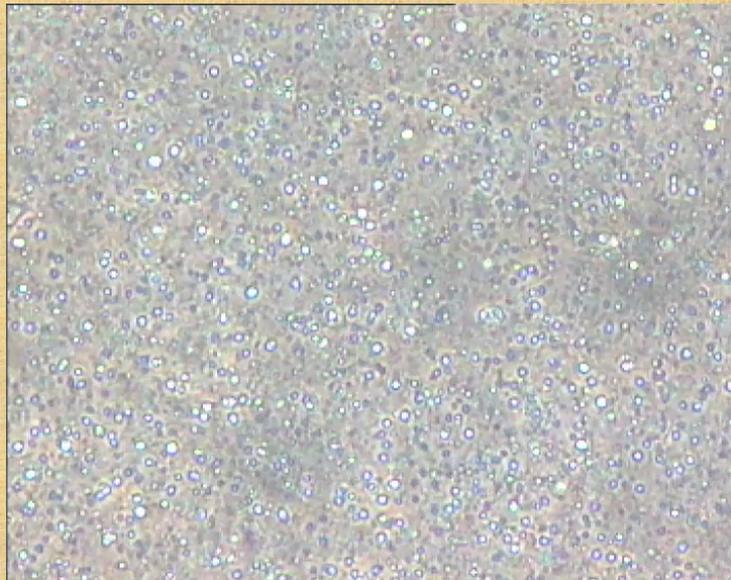


**Aumento di entropia (disordine):
reazione spontanea**





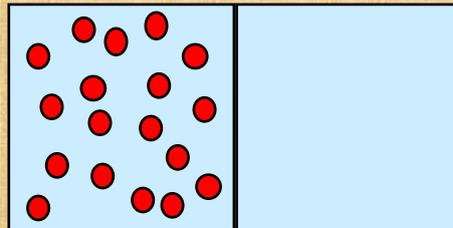
In fondo è come il disordine in una stanza: se non metti in ordine, faticando e quindi utilizzando energia, presto diventa un caos!



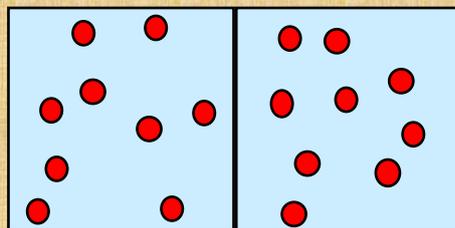
Moti Browniani Siamo osservando, al microscopio, del latte molto diluito in acqua. I pallini che si muovono sono le piccolissime gocce di grasso presenti nel latte che oscillano quando sono urtate dalle molecole di acqua in continuo movimento per la agitazione termica.

(guardate con attenzione il filmato).

PRODURRE UN GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE O UNA DIFFERENZA DI POTENZIALE CONSUMA ENERGIA, ANNULARLI LIBERA ENERGIA

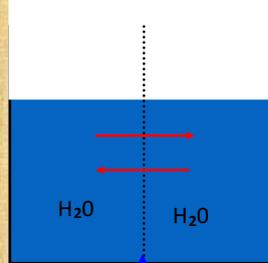


CONDIZIONE INSTABILE, ORDINATA



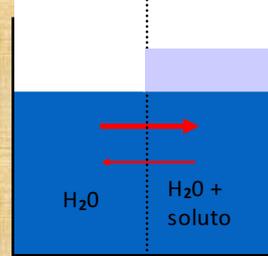
CONDIZIONE STABILE, DISORDINATA

UNA DIFFERENZA DI CONCENTRAZIONE E' FONTE DI ENERGIA



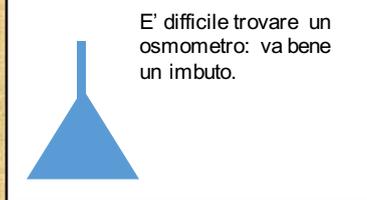
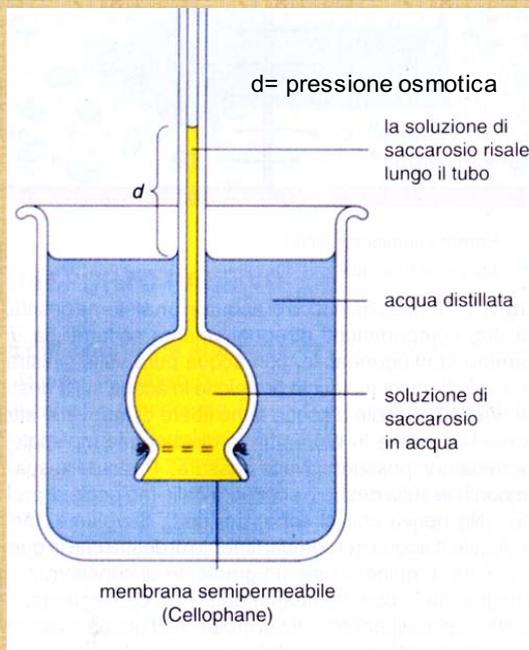
Membrana permeabile all'acqua ma non ai soluti

Essendo la concentrazione dell'acqua identica sui due lati della membrana, il flusso netto di acqua sarà nullo

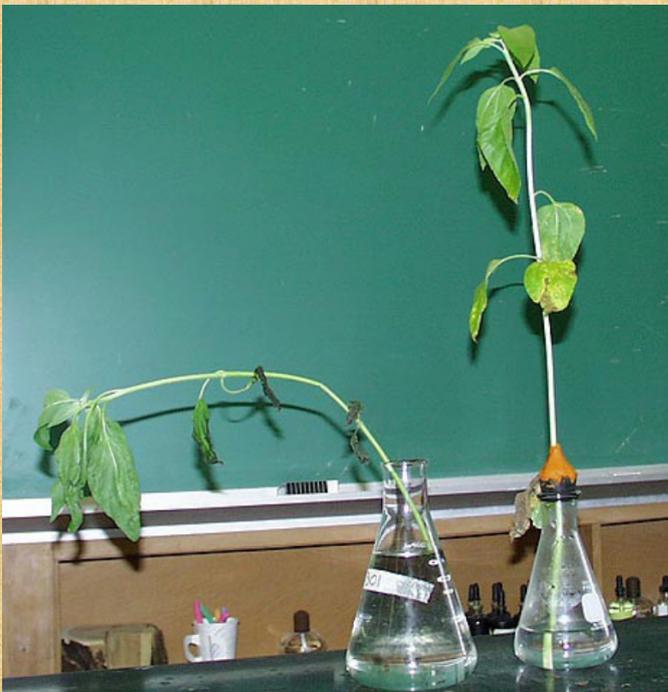


Membrana permeabile all'acqua ma non ai soluti

Essendo la concentrazione dell'acqua maggiore a sinistra della membrana, si avrà un flusso netto di acqua verso destra, che continuerà fino a quando l'aumento del liquido a destra della membrana avrà generato una pressione idrostatica tale da bilanciare il flusso = pressione osmotica



IL FLUSSO NETTO DI MOLECOLE DI SOLVENTE DALL' ESTERNO VERSO L' INTERNO DETERMINA UN AUMENTO DI VOLUME CHE PORTA AD INNALZARE IL LIVELLO DEL LIQUIDO, FINO A QUANDO LA PRESSIONE IDROSTATICA GENERATA ARRIVERA' A BILANCIARE IL MOVIMENTO PER OSMOSI DELLE MOLECOLE DI ACQUA

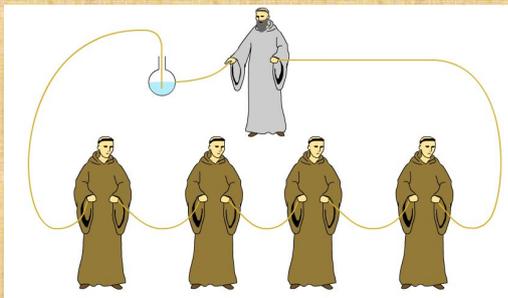


Una piantina recisa, immersa in acqua e sale rapidamente appassisce: il sale per effetto osmotico sottrae acqua ai tessuti diminuendone il turgore.

E se invece del sale usassimo dello zucchero?

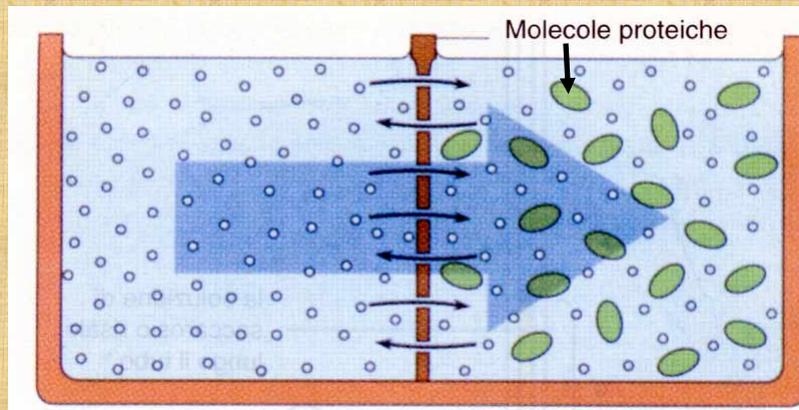
Il fenomeno della pressione osmotica fu descritto per la prima volta dall'Abate Nollet (**Jean-Antoine Nollet** 1700 –1770) in seguito alla osservazione che una vescica di maiale, piena di alcol, immersa in acqua si rigonfiava vistosamente).

Nollet è più famoso per i suoi studi sull'elettricità, inventore di uno dei primi elettroscopi e propugnatore dell'ipotesi della conduzione dell'elettricità da parte di alcuni corpi, come i metalli o gli esseri viventi.



Nollet, utilizzando 200 frati collegati l'uno con l'altro con del filo di ferro, formò un circuito di 1.5 km: applicando la corrente i frati si contorcevano e saltavano con grande gioia di Nollet!

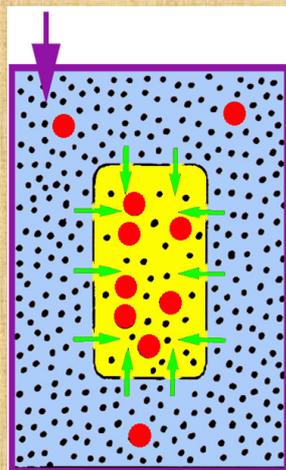




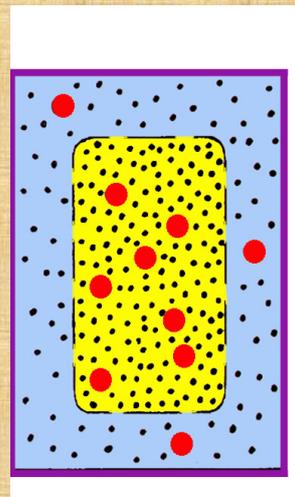
SE UNA MEMBRANA SEMIPERMEABILE SEPARA DUE AMBIENTI A DIFFERENTE CONCENTRAZIONE, SI GENERA UN FLUSSO NETTO DELLE MOLECOLE DEL SOLVENTE CHE TENDE AD EQUILIBRARE LE CONCENTRAZIONI

TRASPORTO PASSIVO (DIFFUSIONE) E OSMOSI

SOLUZIONE MENO CONCENTRATA
(IPOTONICA = IPOOSMOTICA)



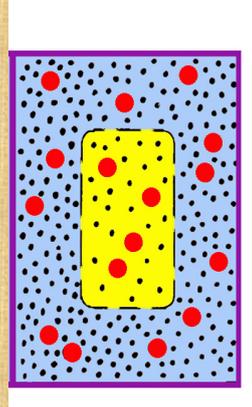
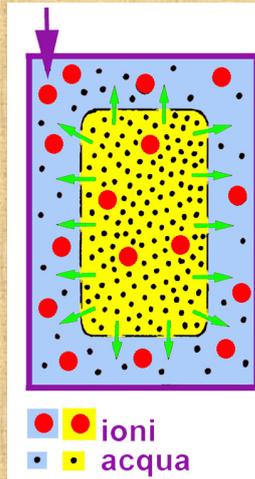
La cellula si rigonfia



TRASPORTO PASSIVO (DIFFUSIONE) E OSMOSI

SOLUZIONE PIU' CONCENTRATA
(IPERTONICA o IPEROSMOTICA)

La cellula si raggrinzisce



raggrinzito



normale



rigonfiato



lisato



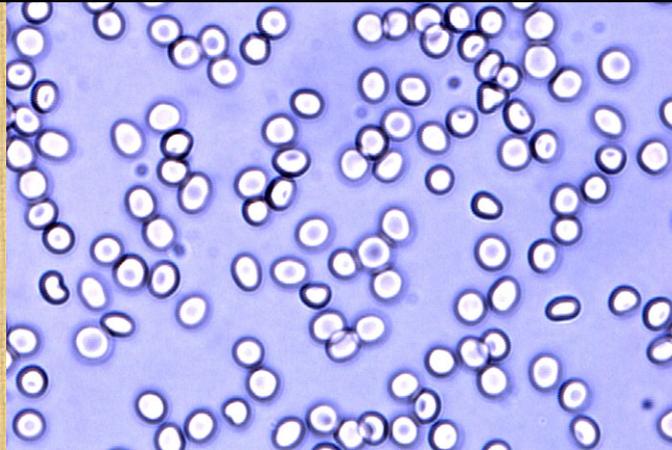
IPERTONICA

ISOTONICA

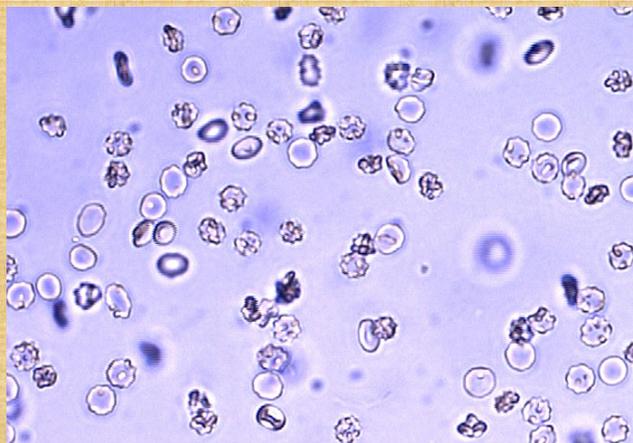
IPOTONICA

MOLTO
IPOTONICA

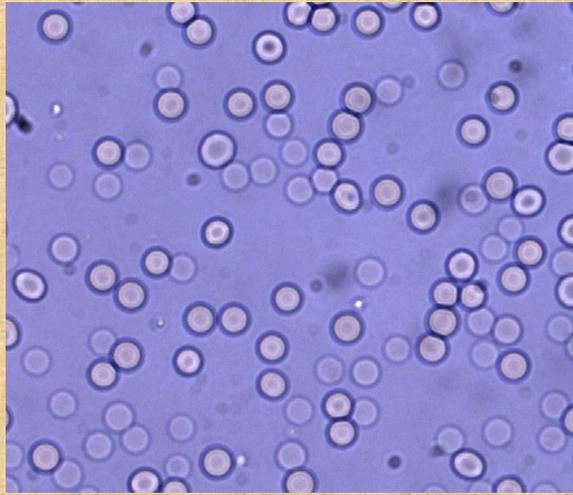
Effetti della pressione osmotica su globuli rossi: immerse in un mezzo ipertonico rispetto alla cellula, i globuli si raggrinziscono. In ambiente ipotonico al contrario si rigonfiano fino a scoppiare (emolisi)



Globuli rossi diluiti in un mezzo isotonico (stessa pressione osmotica del citoplasma : Cloruro di Sodio 9 g/litro). Cellule di forma normale



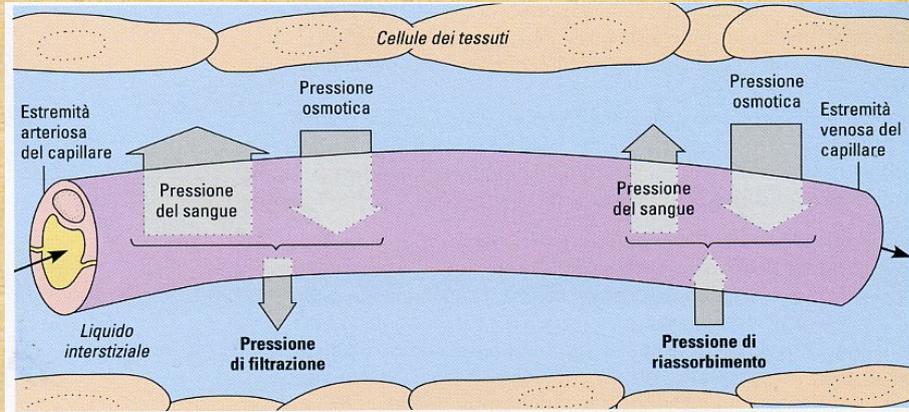
Globuli rossi diluiti in un mezzo ipertonico (pressione osmotica superiore a quella del citoplasma : Cloruro di Sodio 12 g/litro). Cellule raggrinzite per perdita di acqua



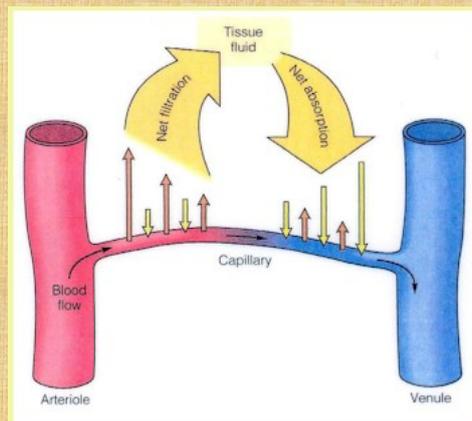
Globuli rossi diluiti in un mezzo ipotonico (pressione osmotica inferiore a quella del citoplasma : Cloruro di Sodio 4,5 g/litro). Cellule rigonfie, alcune, essendo scoppiate, appaiono pallide per la perdita di emoglobina

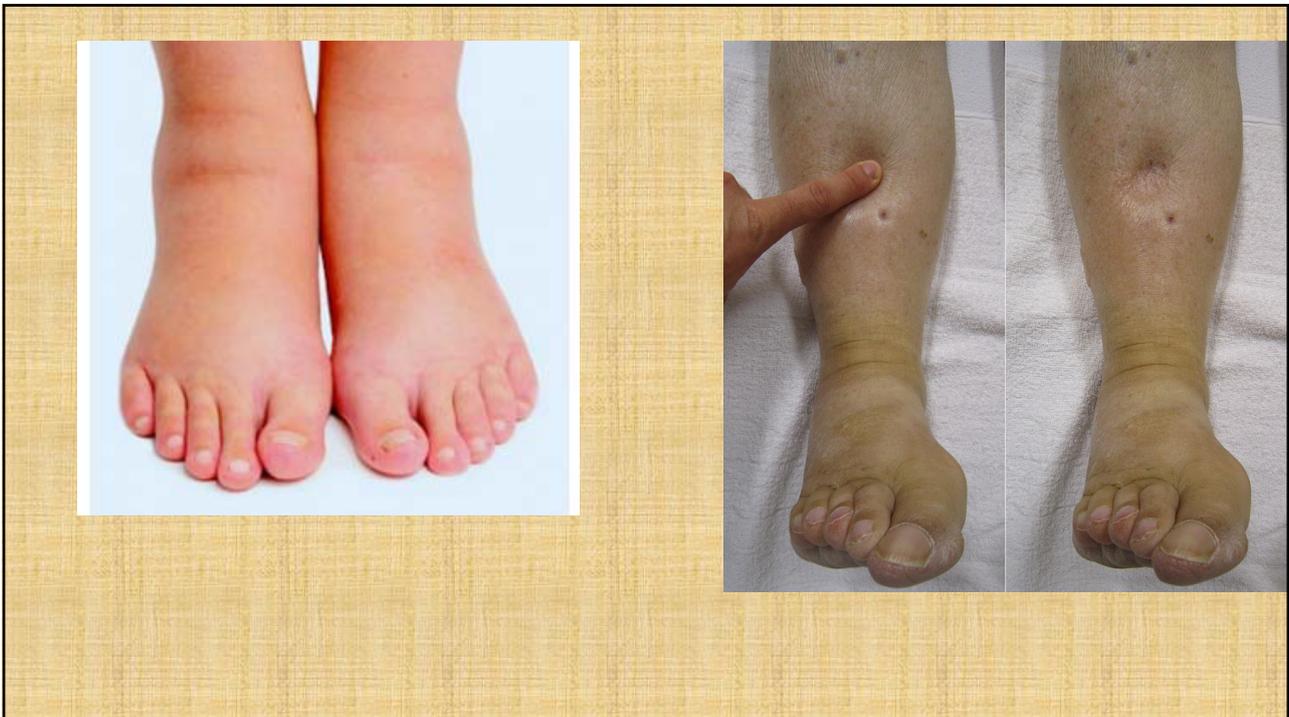
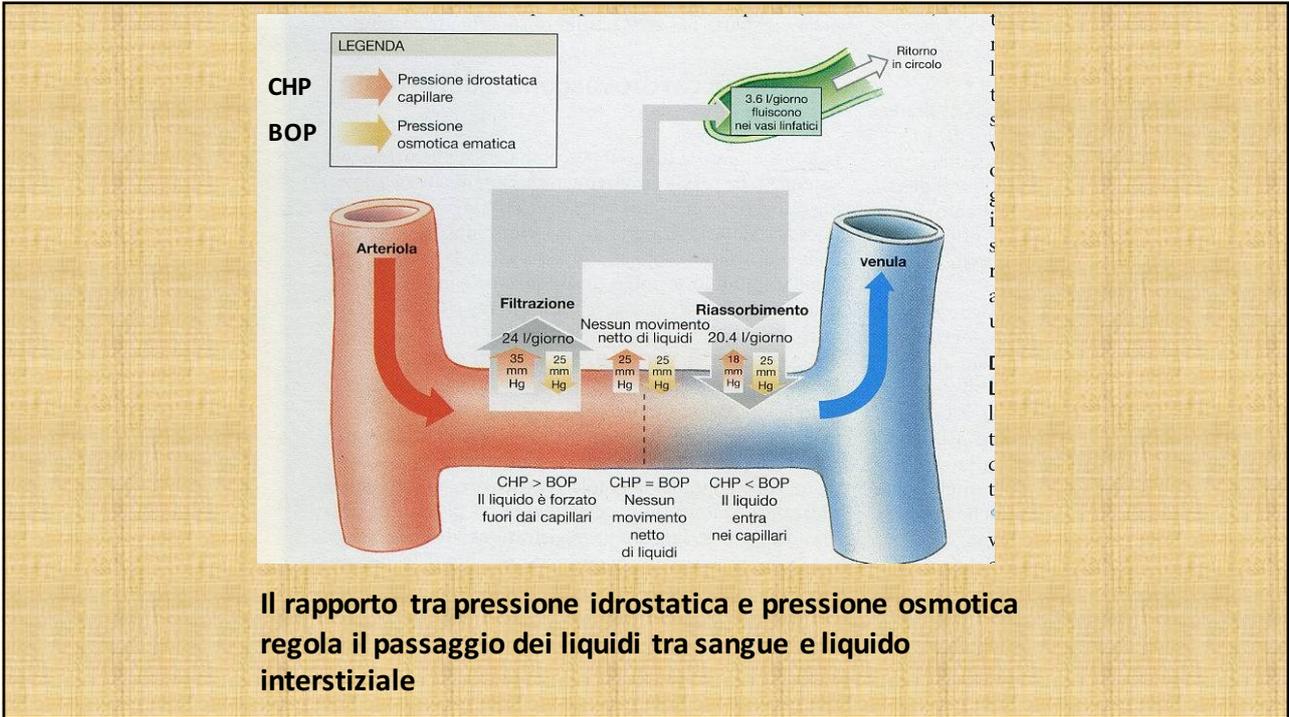


Globuli rossi diluiti in un mezzo fortemente ipotonico (pressione osmotica molto inferiore a quella del citoplasma : Cloruro di Sodio 3 g/litro). Cellule rigonfie, la maggior parte, essendo scoppiate, appaiono pallide per la perdita di emoglobina



Il rapporto tra pressione idrostatica e pressione osmotica regola il passaggio dei liquidi tra sangue e liquido interstiziale







L' ostruzione dei vasi linfatici dovuta a un verme parassita (una filaria, *Wuchereria bancrofti* o specie simili), trasmesso con la puntura di una zanzara, determina un ristagno della linfa che provoca la **ELEFANTIASI**

Gli esperimenti sull'osmosi ci dimostrano che la membrana cellulare è permeabile all'acqua, ma come si comporta nei confronti dei soluti, ad esempio degli ioni?

Studi condotti fin dalla fine del XIX secolo mostrano che la membrana è dotata di una permeabilità selettiva e, almeno in condizioni di base, risulta scarsamente permeabile agli ioni, anche se non del tutto impermeabile

Concentrazioni ioniche intra- ed extracellulari

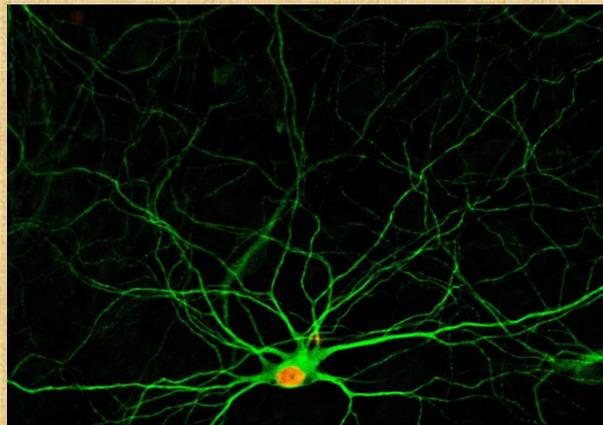
Concentrazioni espresse in mMoli/litro

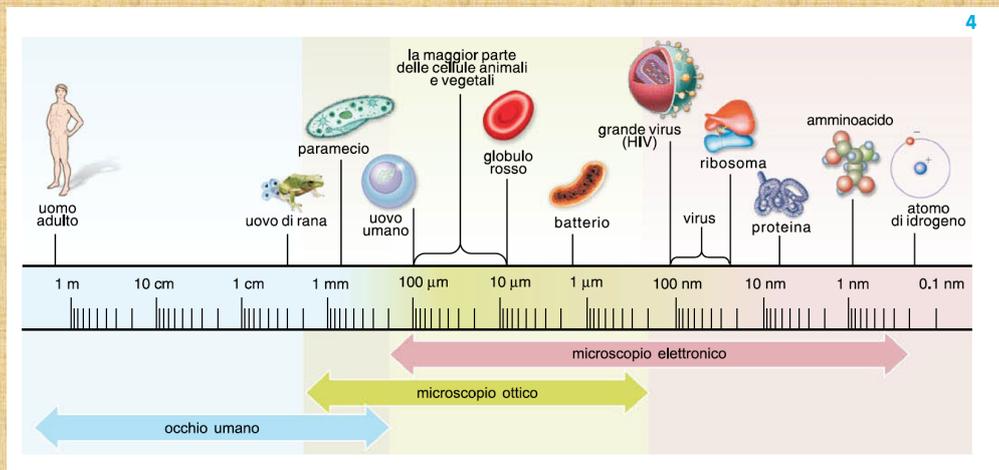
	Intracellulare	Extracellulare
Na^+	5 -15	145
K^+	140	5
Mg^{++}	30	1-2
Ca^{++}	0.0001	2-5
Cl^-	4	110
Anioni non permeabili	abbondanti	scarsi

Il lato interno della membrana e' carico negativamente rispetto al lato esterno (circa 70-90 mV = POTENZIALE DI MEMBRANA). Queste differenze di concentrazioni ioniche e di carica elettrica scompaiono in una cellula morta o con il metabolismo inibito, non in grado di produrre ATP

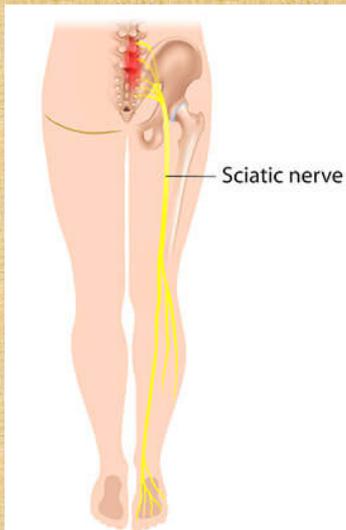
Come è possibile misurare le concentrazioni ioniche e la carica elettrica di una cellula, date le sue dimensioni?
I valori che abbiamo visto si riferiscono a una cellula nervosa (neurone).

Quanto sono grandi i neuroni ? Quanto sono grandi le cellule?





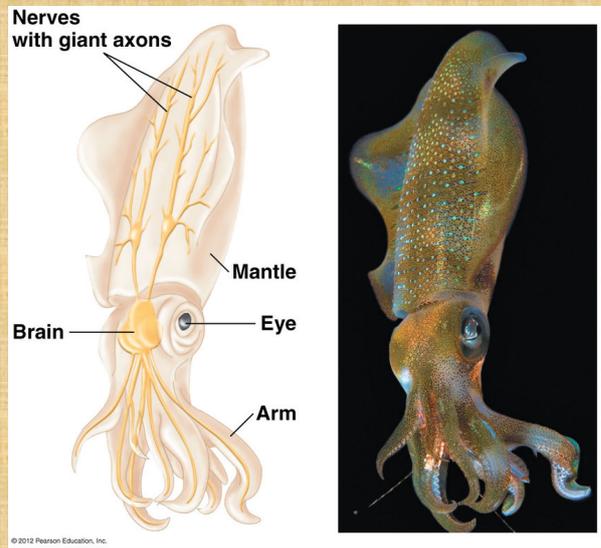
Dimensioni cellulari e potere di risoluzione



Anche nel caso dei neuroni del nervo sciatico, i cui prolungamenti possono essere lunghi più di un metro., Il diametro è di pochissimi millesimi di millimetro.

Come possiamo prelevare il citoplasma di un neurone per misurarne le concentrazioni o inserire degli elettrodi per effettuare delle misurazioni elettriche?

Come è fatto un calamaro?



Gli assoni giganti del calamaro raggiungono il diametro di mezzo millimetro. E' dunque possibile eseguire accurate misurazioni



47

Concentrazioni ioniche intra- ed extracellulari

Concentrazioni espresse in mMoli/litro

	Intracellulare	Extracellulare
Na^+	5 -15	145
K^+	140	5
Mg^{++}	30	1-2
Ca^{++}	0.0001	2-5
Cl^-	4	110
Anioni non permeabili	abbondanti	scarsi

Se la membrana cellulare è, anche se modestamente, permeabile agli ioni, come è possibile che le concentrazioni ioniche intra- e extra- cellulari siano così diverse?

La diffusione dovrebbe annullare le differenze



Studi condotti sul calamaro e altri invertebrati come i granchi, e poi su moltissime altre specie, hanno dimostrato che nella membrana sono presenti delle pompe ioniche, che, consumando energia, trasportano attivamente ioni attraverso la membrana producendo e mantenendo quindi dei gradienti di concentrazione

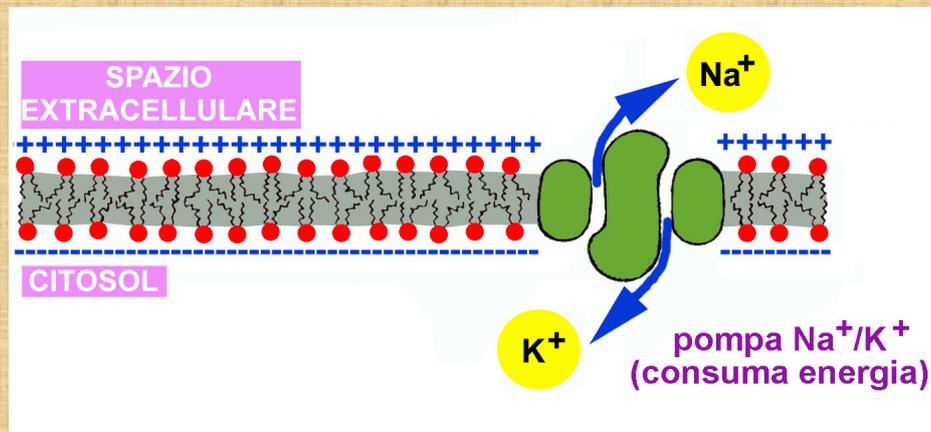
Concentrazioni ioniche intra- ed extracellulari

Concentrazioni espresse in mMoli/litro

	Intracellulare	Extracellulare
Na ⁺	5 -15	145
K ⁺	140	5
Mg ⁺⁺	30	1-2
Ca ⁺⁺	0.0001	2-5
Cl ⁻	4	110
Anioni non permeabili	abbondanti	scarsi

Le concentrazioni di ioni tra i due lati della membrana sono diverse grazie alla attività delle pompe ioniche

Il lato interno della membrana e' carico negativamente rispetto al lato esterno (circa 70-90 mV = POTENZIALE DI MEMBRANA)



LA POMPA SODIO-POTASSIO GENERA UN GRADIENTE NELLE CONCENTRAZIONI DI SODIO E POTASSIO TRA I DUE LATI DELLA MEMBRANA

Esistono pompe specifiche anche per altri ioni

Concentrazioni ioniche intra- ed extracellulari
Concentrazioni espresse in mMoli/litro

	Intracellulare	Extracellulare
Na ⁺	5 -15	145
K ⁺	140	5
Mg ⁺⁺	30	1-2
Ca ⁺⁺	0.0001	2-5
Cl ⁻	4	110
Anioni non permeabili	abbondanti	scarsi

Il lato interno della membrana e' carico negativamente rispetto al lato esterno (circa 70-90 mV = POTENZIALE DI MEMBRANA).

Quale e la causa di questa differenza di potenziale?

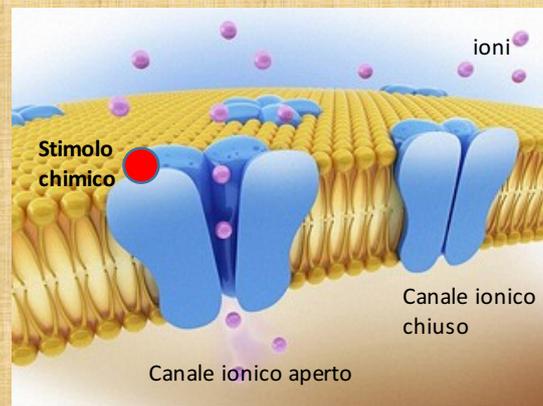
I gradienti di concentrazione sono presenti in cellule metabolicamente attive e in grado di produrre ATP.

Nella membrana, oltre alle pompe ioniche, capaci di trasportare ioni attivamente, generando dei gradienti di concentrazione, sono presenti anche numerosi di canali ionici, che permettono selettivamente il passaggio passivo di ioni, secondo il loro gradiente di concentrazione.

Esistono canali selettivi per Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- e molti altri.

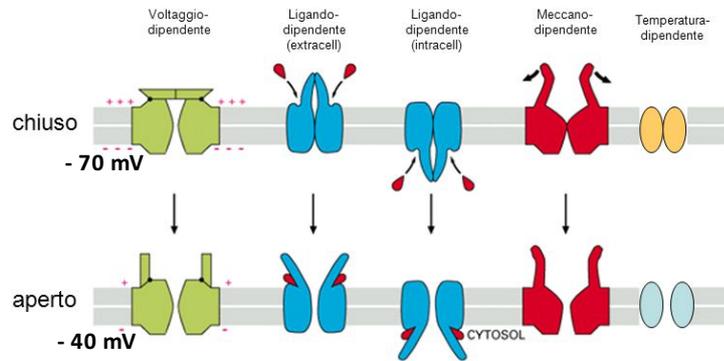
La maggior parte dei canali possono essere aperti o chiusi in seguito a stimoli specifici, ad esempio:

- Canali a controllo chimico, che si aprono in seguito al legame con specifiche molecole.
- Canali a controllo di potenziale, che si aprono se il potenziale di membrana si modifica fino a raggiungere un valore soglia.
- Canali a controllo meccanico, che si aprono in seguito a stimoli meccanici



I canali ionici possono venire aperti da stimoli di varia natura. Esistono canali controllati da stimoli chimici, meccanici o elettrici

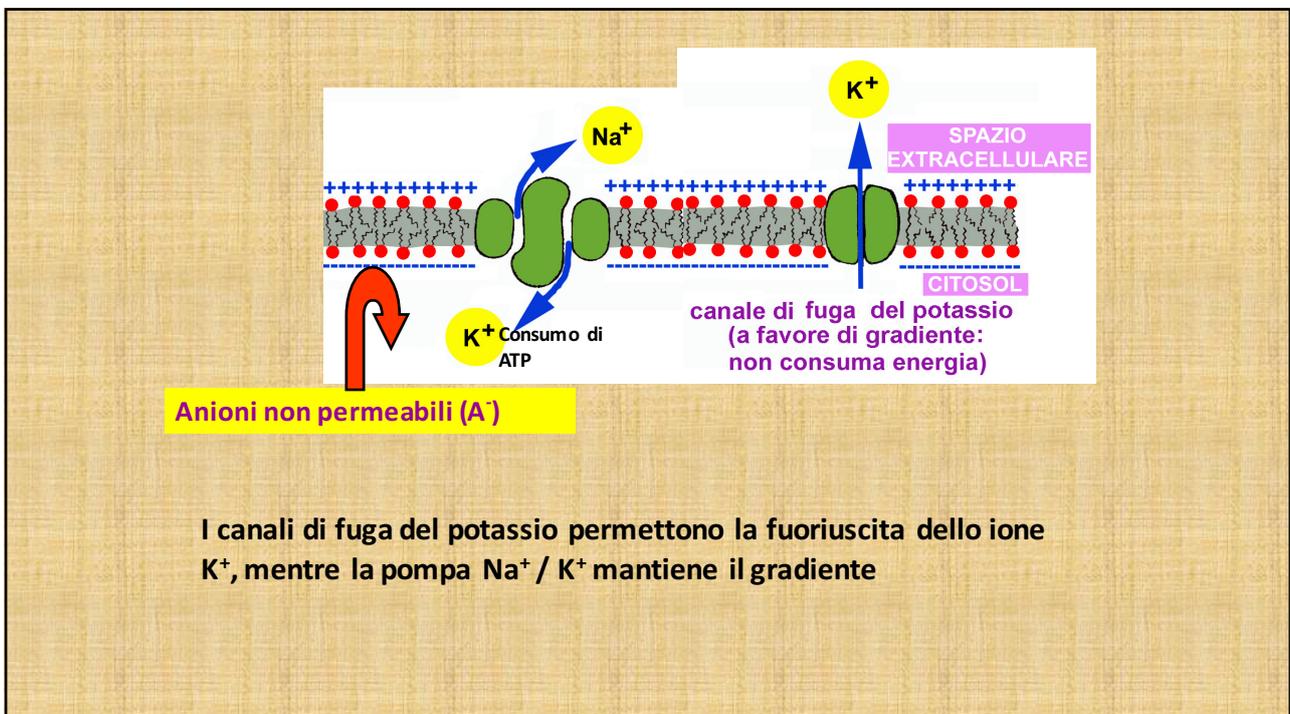
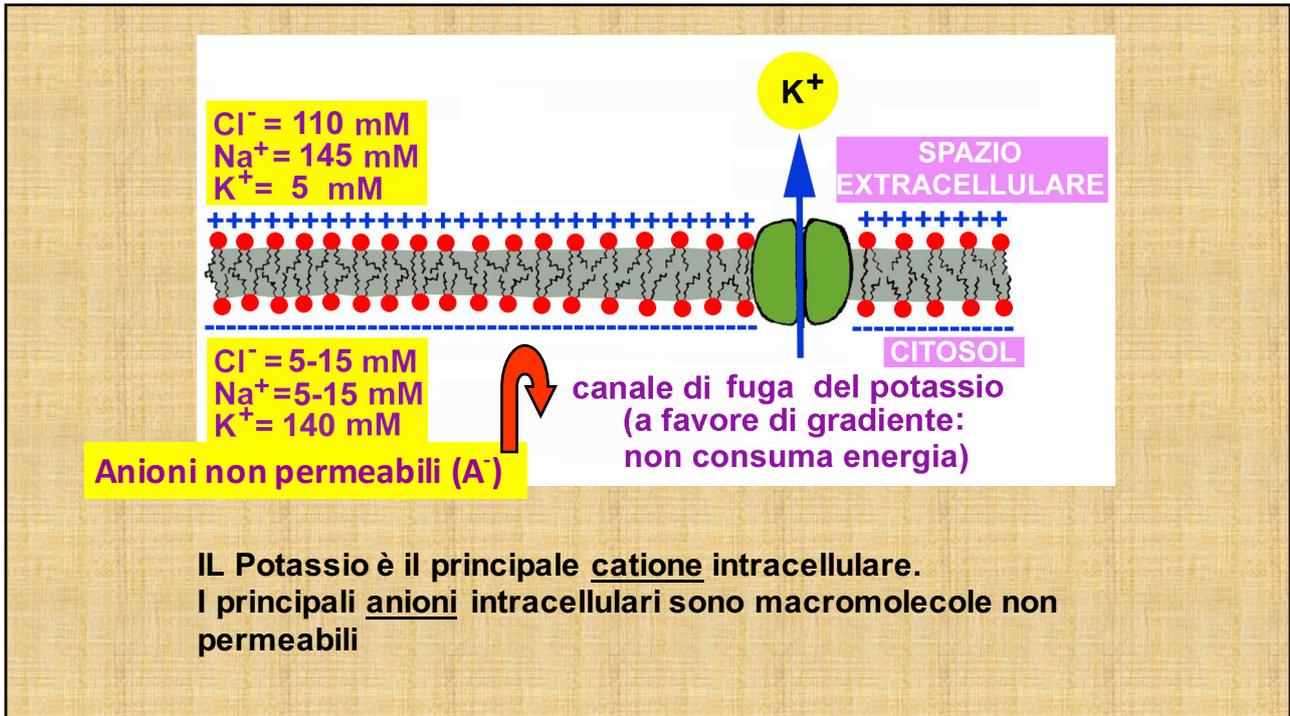
Classi di canali ionici

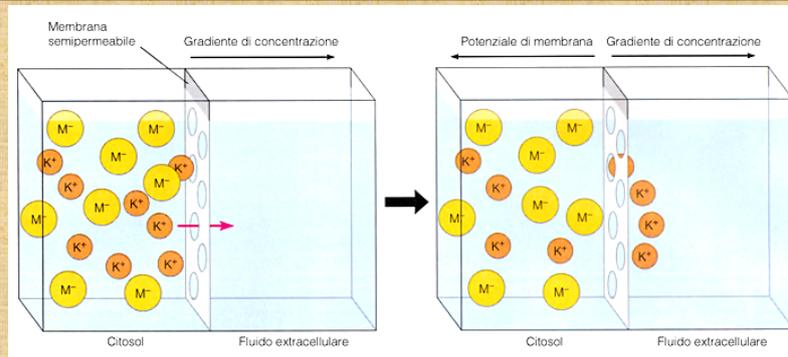


- L'apertura dei canali ionici può venire controllata da vari parametri

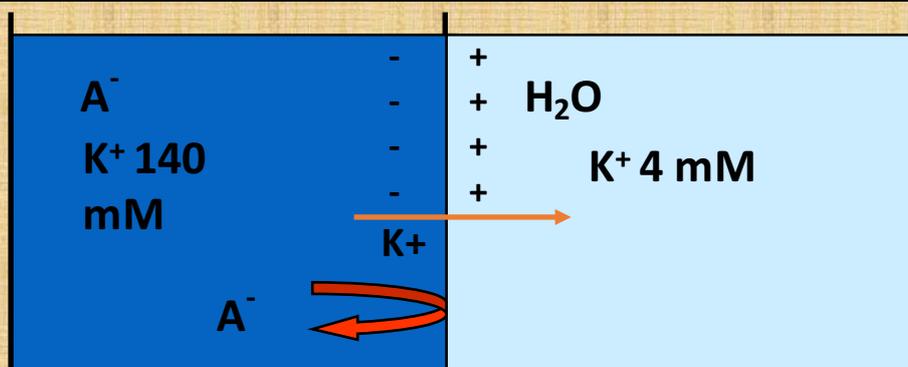
La membrana plasmatica, in assenza di stimoli che determinino la apertura di canali, è poco permeabile alla maggior parte degli ioni tranne che al potassio.

Un tipo di canale per il potassio (CANALIDI FUGA PER K^+), presente nella maggior parte delle cellule è normalmente in stato di apertura.

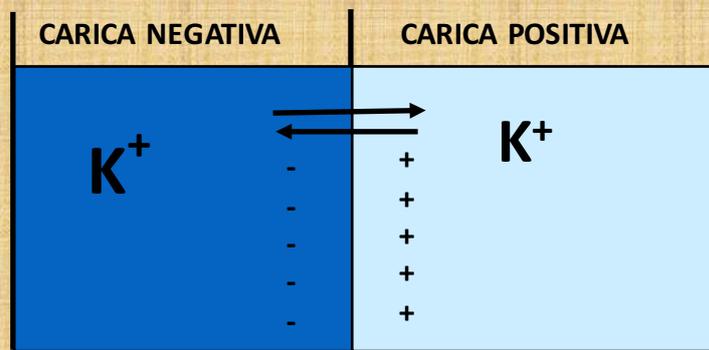




NEL CITOPLASMA IL POTASSIO È IL PRINCIPALE CATIONE E NELLA MEMBRANA SONO PRESENTI CANALI PER IL POTASSIO. I PRINCIPALI ANIONI SONO RAPPRESENTATI DA MACROMOLECOLE INCAPACI DI ATTRAVERSARE LA MEMBRANA K^+ QUINDI FUORIESCE DALLA CELLULA, SPINTO DAL SUO GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE: NE RISULTA UN ECCESSO DI CARICHE POSITIVE ALL'ESTERNO E DI CARICHE NEGATIVE ALL'INTERNO = POTENZIALE DI MEMBRANA



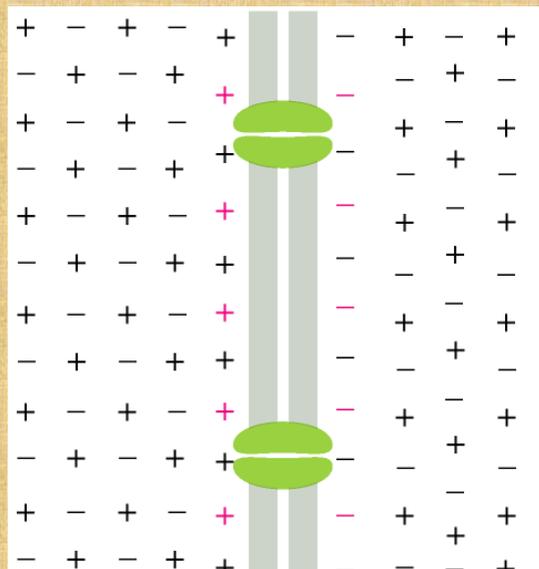
Se la membrana che divide i due ambienti è permeabile a K^+ ma non ad A^- , si determinerà un eccesso di cariche positive a destra e un residuo di cariche negative a sinistra: si genera quindi una DIFFERENZA DI POTENZIALE

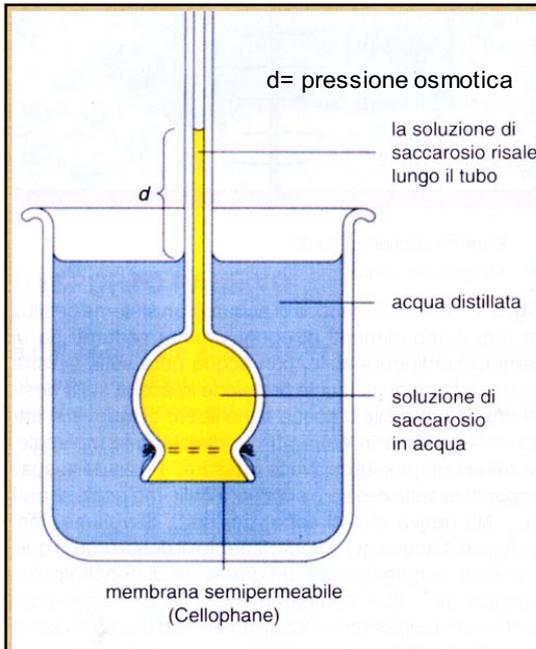


Il flusso di K^+ continua fino a quando la differenza di potenziale (gradiente elettrico) sarà abbastanza grande da controbilanciare la differenza di concentrazione (gradiente chimico) = **POTENZIALE DI MEMBRANA A RIPOSO**. Nelle cellule questo potenziale ha un valore di **alcune decine di mV**, con interno negativo rispetto all'esterno

Grazie alla continua attività della pompa Na^+K^+ e dei canali di fuga per il potassio, si mantiene una differenza di potenziale tra i due lati della membrana.

POTENZIALE DI MEMBRANA (o POTENZIALE DI RIPOSO):
IN GENERE TRA -60 e -90 mV





IL FLUSSO NETTO DI MOLECOLE DI SOLVENTE DALL' ESTERNO VERSO L' INTERNO DETERMINA UN AUMENTO DI VOLUME CHE PORTA AD INNALZARE IL LIVELLO DEL LIQUIDO, FINO A QUANDO LA PRESSIONE IDROSTATICA GENERATA ARRIVERA' A BILANCIARE IL MOVIMENTO PER OSMOSI DELLE MOLECOLE DI ACQUA

RICORDATE L'ESPERIMENTO DELLA PRESSIONE OSMOTICA? IN QUEL CASO IL FLUSSO DI ACQUA VENIVA BILANCIATO DALLA PRESSIONE IDROSTATICA.

NEL CASO DEL POTENZIALE DI MEMBRANA IL FLUSSO DI IONI DOVUTO AL GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE VIENE BILANCIATO DALLA DIFFERENZA DI POTENZIALE: EQUILIBRIO ELETTROCHIMICO

Il potenziale di equilibrio può essere calcolato in base all'equazione di NERST:

$$V = RT/zF \ln (C_{est} / C_{int})$$

dove z è la valenza dello ione , F la costante di Faraday, C_{est} e C_{int} le concentrazioni dello ione all'esterno e all'interno

Per uno ione con una sola carica positiva, come il potassio:

$$V = 58 \log_{10} (C_{est} / C_{int})$$

Se applichiamo l'equazione alla situazione del potassio (K^+)

$$V = 58 \log_{10} (K^+ \text{ est} / K^+ \text{ int})$$

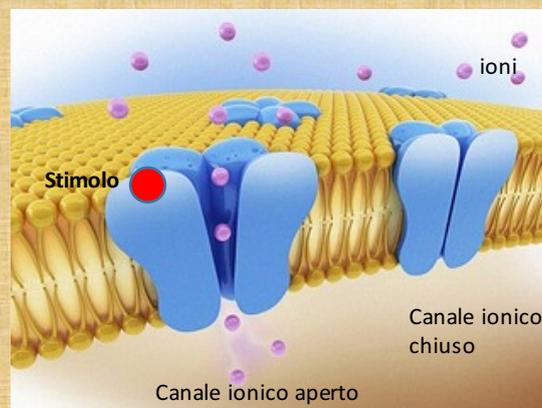
$$K^+ \text{ est} = 5; K^+ \text{ int} = 140$$

$$V = \underline{-90 \text{ mV}}$$

Otteniamo un valore molto simile a quello reale: la differenza è dovuta alla presenza degli altri ioni, la cui permeabilità è a riposo piccola, ma diversa da zero.

ABBIAMO FINO AD ORA ESAMINATO L' INFLUENZA DEL SOLO IONE POTASSIO. QUESTA SEMPLIFICAZIONE È ACCETTABILE IN CONDIZIONI DI BASE, QUANDO LA PERMEABILITÀ DELLA MEMBRANA AD ALTRI IONI RISULTA MOLTO LIMITATA.

COSA AVVIENE IN SEGUITO ALLA APERTURA DI CANALI PERMEABILI AD ALTRI IONI ?



COSA AVVIENE, AD ESEMPIO, IN SEGUITO ALLA APERTURA DI CANALI PERMEABILI AL SODIO IN UNA CELLULA NERVOSA?

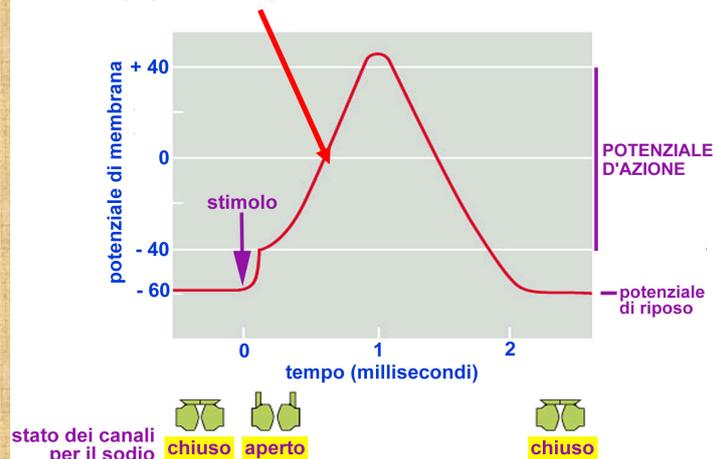
	Intracellulare	Extracellulare
Na ⁺	5 -15	145
K ⁺	140	5
Mg ⁺⁺	30	1-2
Ca ⁺⁺	0.0001	2-5
Cl ⁻	4	110
Anioni non permeabili	abbondanti	scarsi

Il lato interno della membrana è carico negativamente rispetto al lato esterno (circa 70-90 mV)

In seguito alla apertura di un canale per il sodio, Na⁺ entrerà nella cellula, spinto dal suo gradiente di concentrazione e dalla differenza di potenziale esistente tra i due lati della membrana.

Il potenziale di membrana diventerà quindi meno negativo o addirittura positivo (inversione di potenziale). Dal momento che la apertura del canale per il sodio è transitoria (pochi millisecondi) si genera una rapida e transitoria variazione del potenziale.

IL POTENZIALE D'AZIONE E I CANALI DEL SODIO
INVERSIONE DI POTENZIALE



Un impulso nervoso (potenziale di azione)

La ampiezza di un potenziale di azione è sempre la stessa, non possiamo produrre potenziali più o meno ampi. Perché?
 Se lo stimolo iniziale modifica il potenziale fino a raggiungere il valore soglia, cominciano ad aprirsi i canali del sodio a controllo di potenziale, il sodio entra nella cellula modificando ulteriormente il potenziale e quindi aprendo altri canali, con un andamento che si auto-amplifica, e il sodio entra nella cellula fino a raggiungere il suo potenziale di equilibrio.

Se si aprono i canali per Na^+

$$V = 58 \log_{10} (\text{Na}^+ \text{ est} / \text{Na}^+ \text{ int})$$

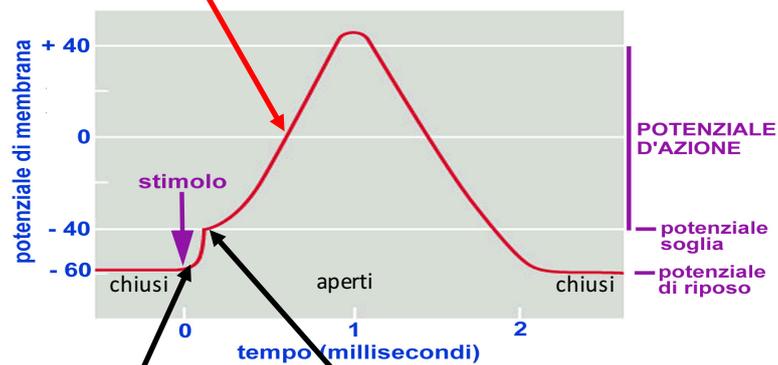
$$\text{Na}^+ \text{ est } 145 ; \text{Na}^+ \text{ int } = 15$$

$$V = + 60 \text{ mV}$$

Il valore che osserviamo sperimentalmente è in realtà inferiore a + 60 mV, dal momento che sono aperti anche i canali per il potassio

IL POTENZIALE D'AZIONE E I CANALI DEL SODIO

INVERSIONE DI POTENZIALE



Apertura canali a controllo chimico

L'entrata di sodio attraverso i canali a controllo chimico provoca una depolarizzazione della membrana che, se raggiunge il valore soglia, provoca la apertura dei canali a controllo di potenziale