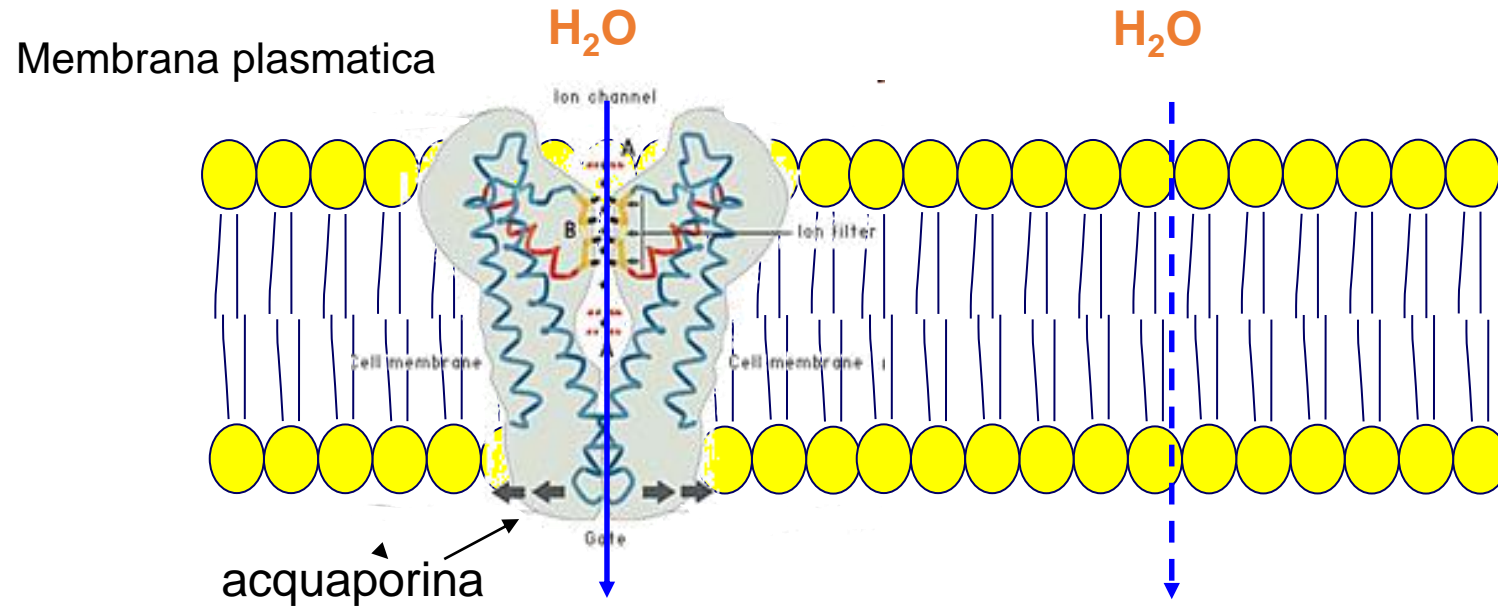


# **Trasporto d'acqua attraverso la membrana plasmatica e la regolazione del volume cellulare**

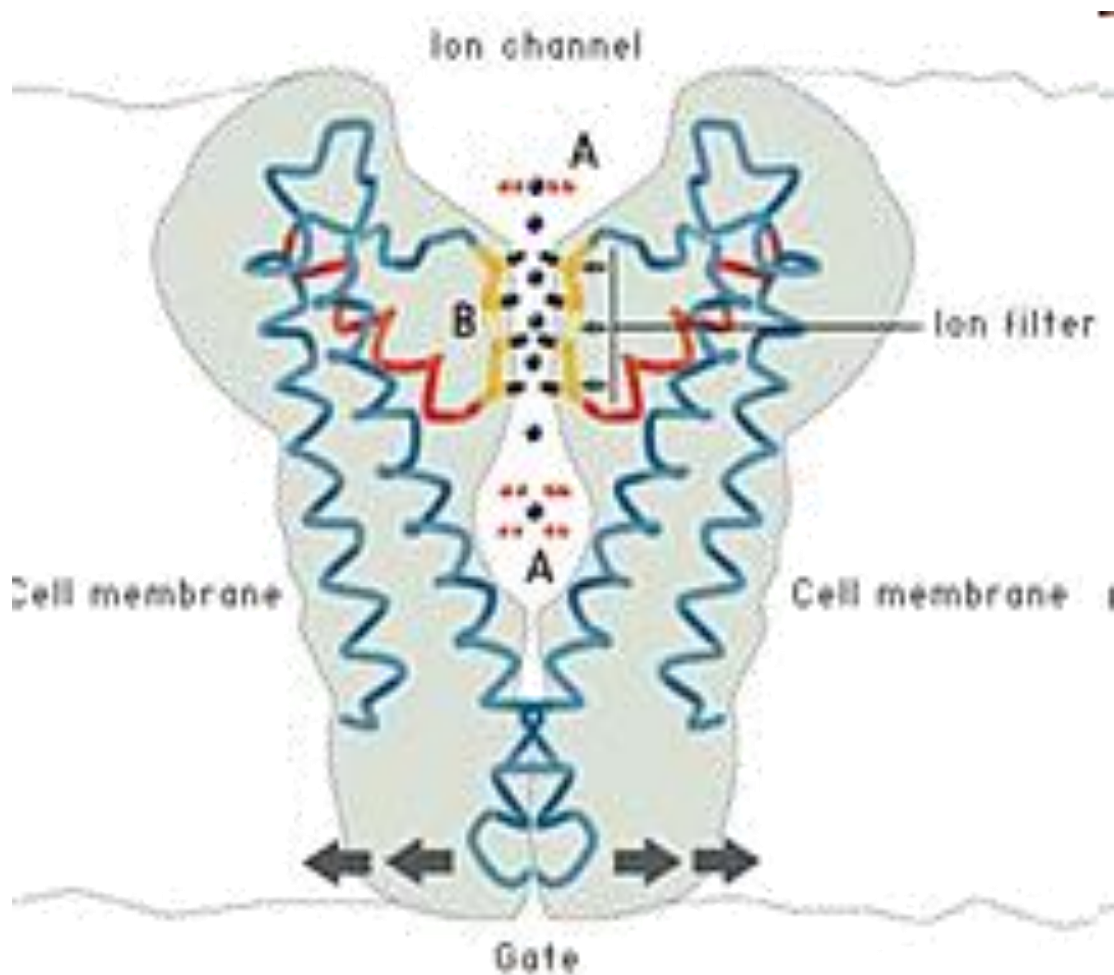
# Modalità di trasporto di acqua attraverso la membrana plasmatica



In genere la membrana plasmatica che riveste tutte le cellule di un organismo è permeabile all'acqua per due ragioni:

- l'acqua, essendo una molecola molto piccola, può passare tra molecole contigue di fosfolipidi per semplice diffusione
- la membrana plasmatica di gran parte delle cellule contiene proteine che formano canali per l'acqua (le cosiddette acquaporine) che aumentano notevolmente la permeabilità all'acqua della membrana plasmatica stessa.

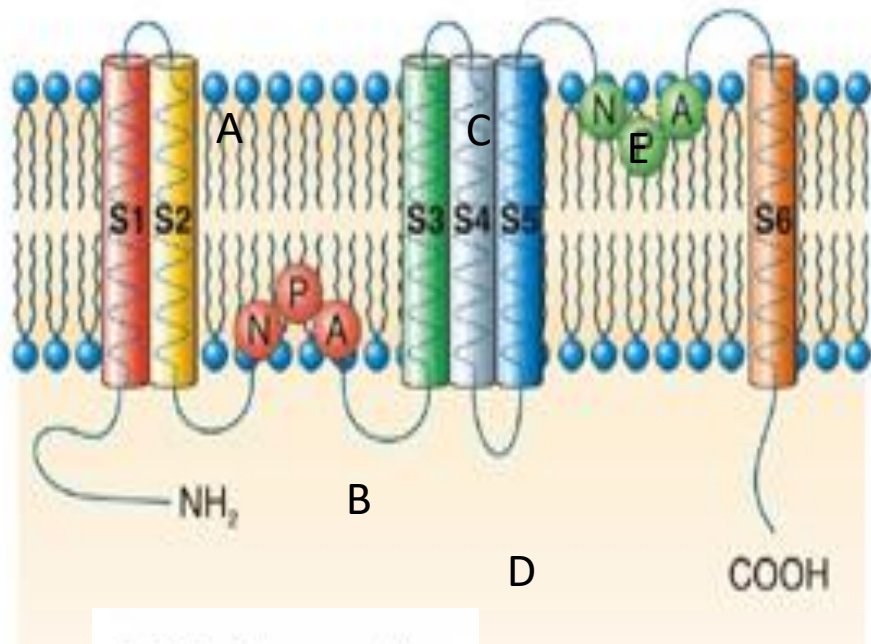
# Acquaporine



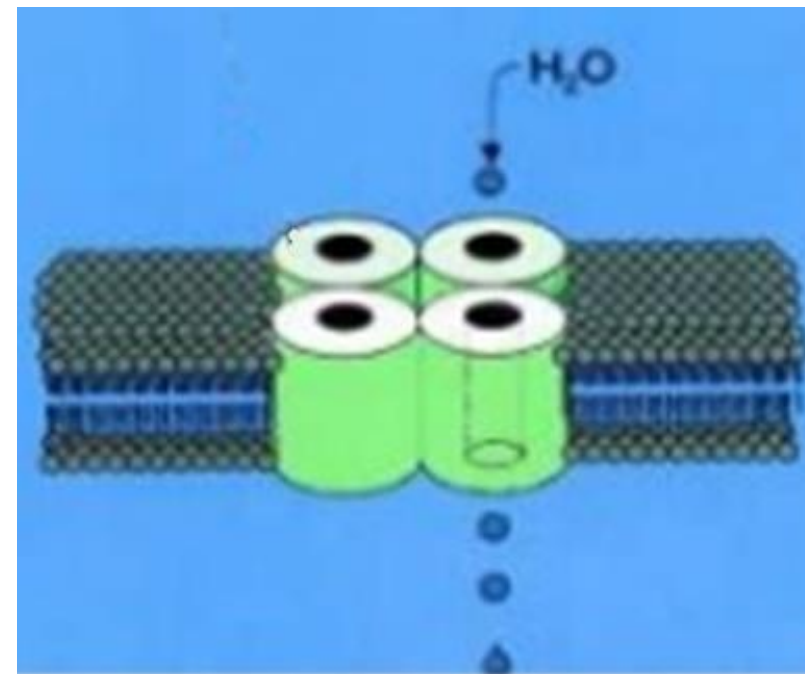
- ✓ La presenza di canali idrici nella membrana plasmatica è stata per lungo tempo solo ipotizzata. Nel 1992 le acquaporine sono state scoperte dal premio Nobel Peter Agre.
- ✓ Aquaporine sono state identificate in tutti gli organismi viventi, dai batteri alle piante agli organismi animali.

# Acquaporine

Le acquaporine sono proteine integrali di membrana associate a formare tetrameri. Ogni proteina acquaporinica costituisce un canale idrico.

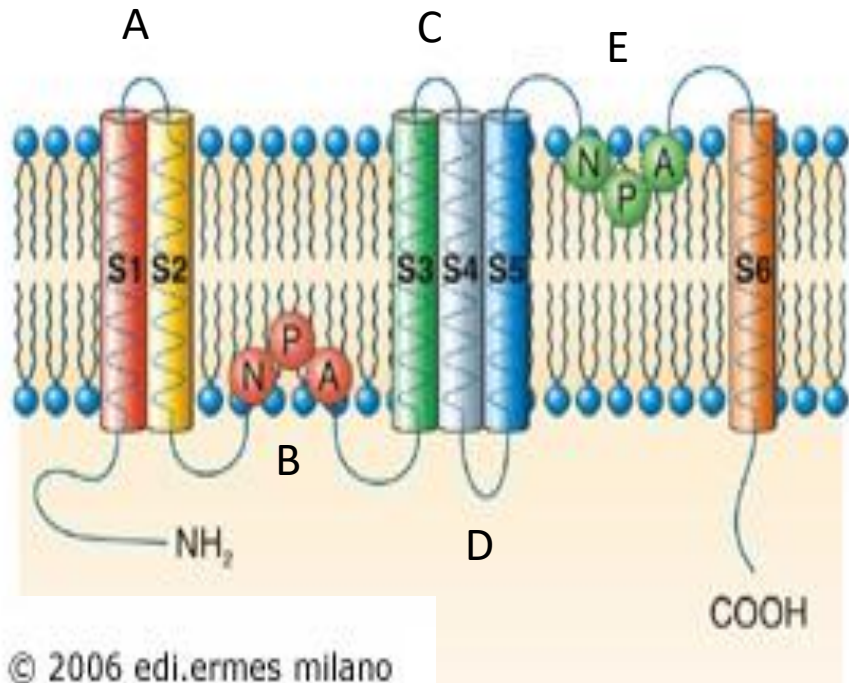


© 2006 edi.ermes milano



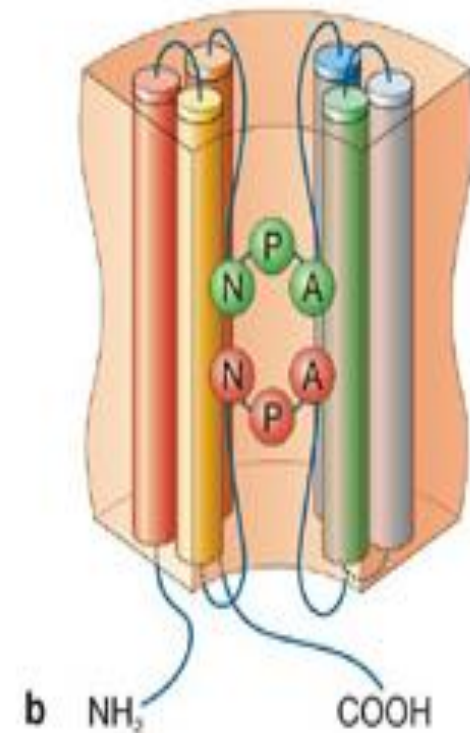
Ogni molecola acquaporinica consta di 6  $\alpha$ -eliche transmembrana collegate da anse intra ed extracellulari (anse A,B,C,D,E).

# Acquaporine

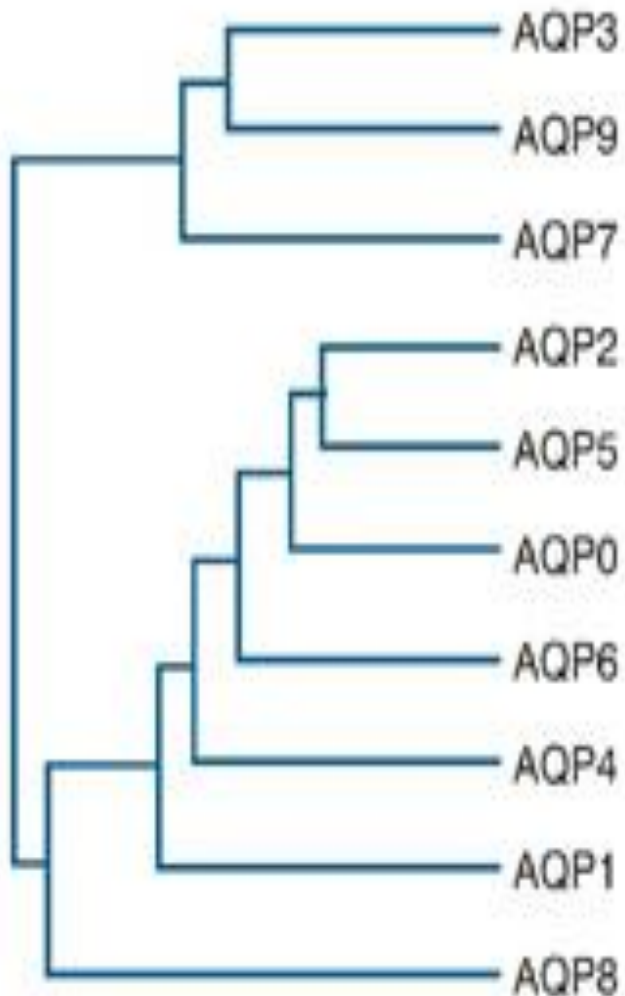


A alanina; P prolina; N asparagina

Le anse B ed E affondano nello spessore della membrana con andamento antiparallelo formando uno stretto poro del diametro di 3,8 Å, estremamente selettivo per le molecole d'acqua.



# Acquaporine



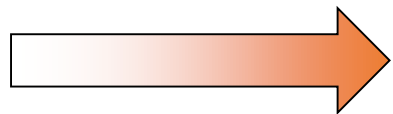
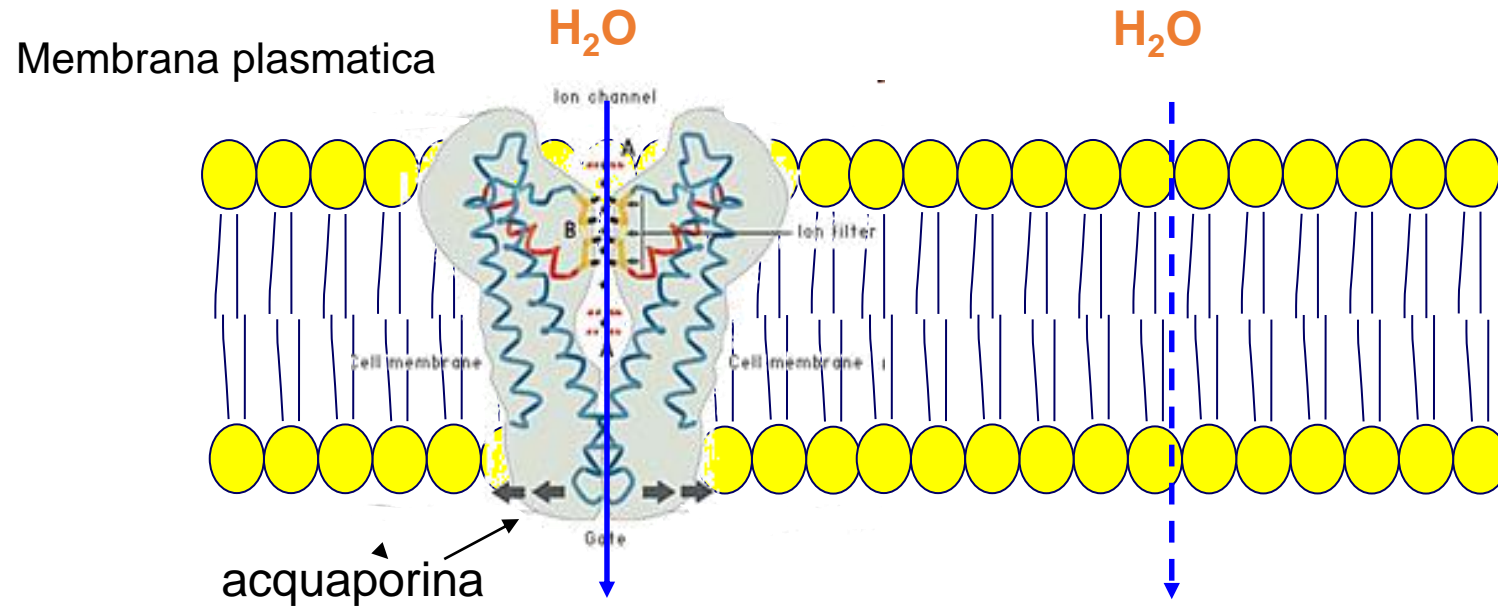
Le acquaporine comprendono un'ampia famiglia di proteine transmembrinarie.

Nella specie umana si riconoscono 8 isoforme.

Le acquaporine sono presenti in tutti gli organi, ma il numero maggiore di acquaporine si riscontra nel rene.



# Trasporto di acqua attraverso la membrana plasmatica



L'acqua si muove attraverso la membrana plasmatica secondo il suo gradiente di concentrazione.

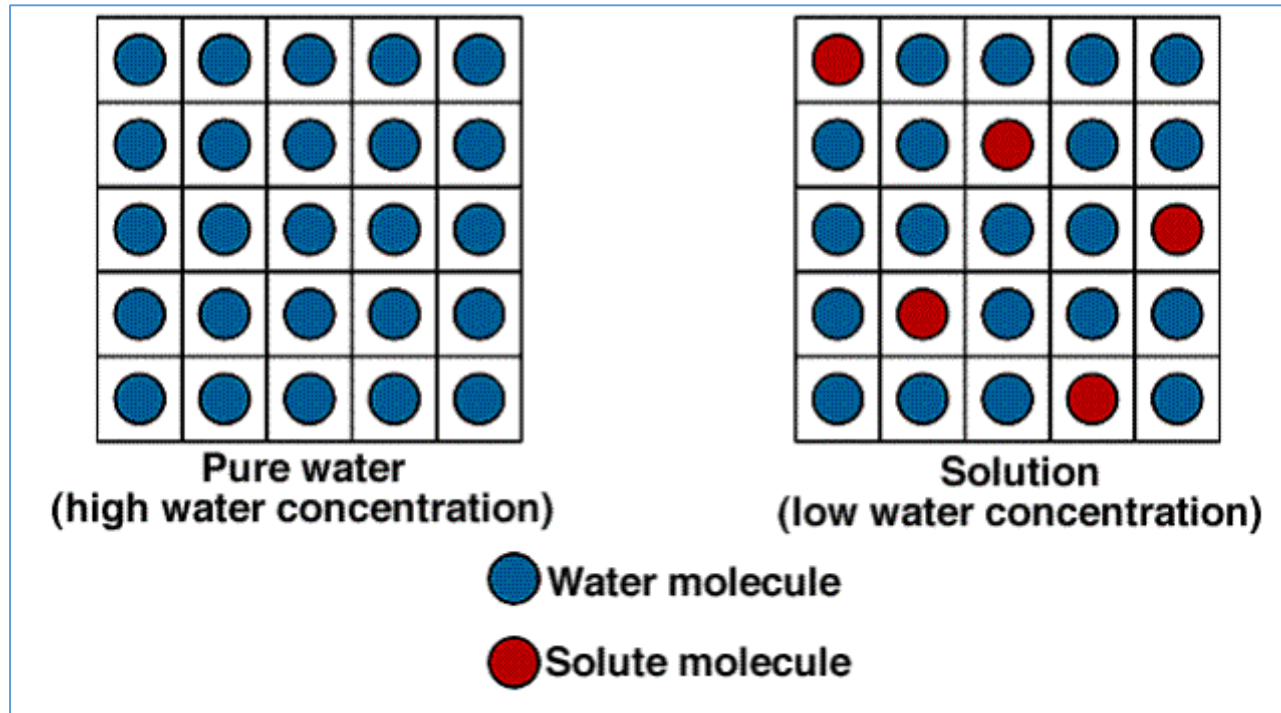


La concentrazione dell'acqua è alterabile aggiungendo soluto alla soluzione: all'aumentare della concentrazione di soluto diminuisce quella dell'acqua

# La concentrazione dell'acqua è alterabile addizionando soluto alla soluzione

(1)

(2)



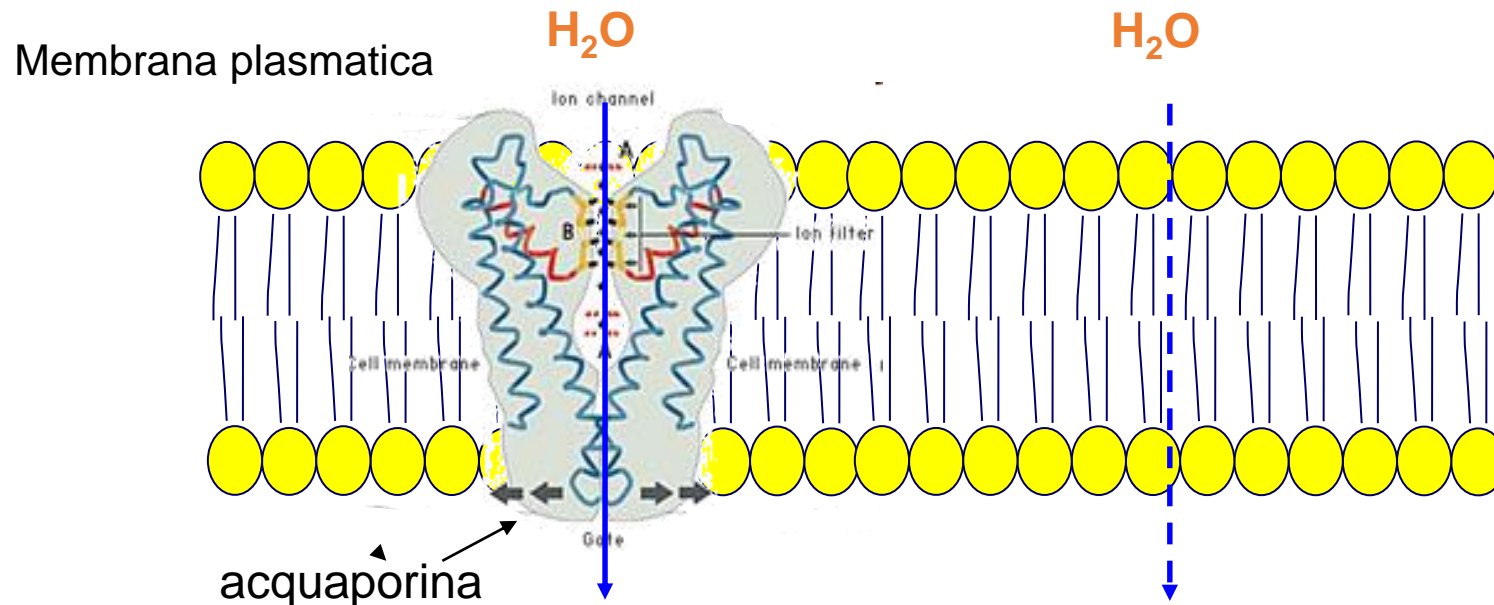
La concentrazione dell'acqua è tanto maggiore quanto più diluita è la soluzione.

Infatti, se consideriamo un ugual volume di acqua (1) e di soluzione (2), nel primo caso il 100% di molecole contenute nel volume considerato è rappresentato dalle sole molecole d'acqua, nel secondo caso, rispetto al numero totale di molecole della soluzione, la percentuale di molecole d'acqua nello stesso volume è inferiore. Pertanto, la concentrazione d'acqua in (1) è maggiore che in (2).



# Osmosi

La membrana cellulare, grazie alla presenza delle acquaporine, presenta una permeabilità all'acqua molto maggiore rispetto a quella dei soluti; questa caratteristica consente di assimilarla ad una membrana semipermeabile.

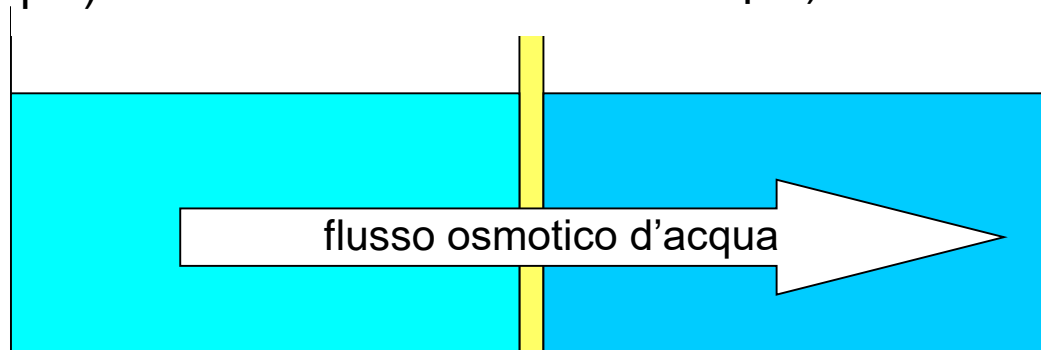


Il passaggio diffusivo di acqua secondo il suo gradiente di concentrazione attraverso una membrana semipermeabile (cioè una membrana permeabile al solvente, in questo caso l'acqua, ma non ai soluti) prende il nome di **osmosi**.

# Osmosi

Soluzione meno concentrata in soluti (maggiore concentrazione di acqua)

Soluzione più concentrata in soluti (minore concentrazione di acqua)

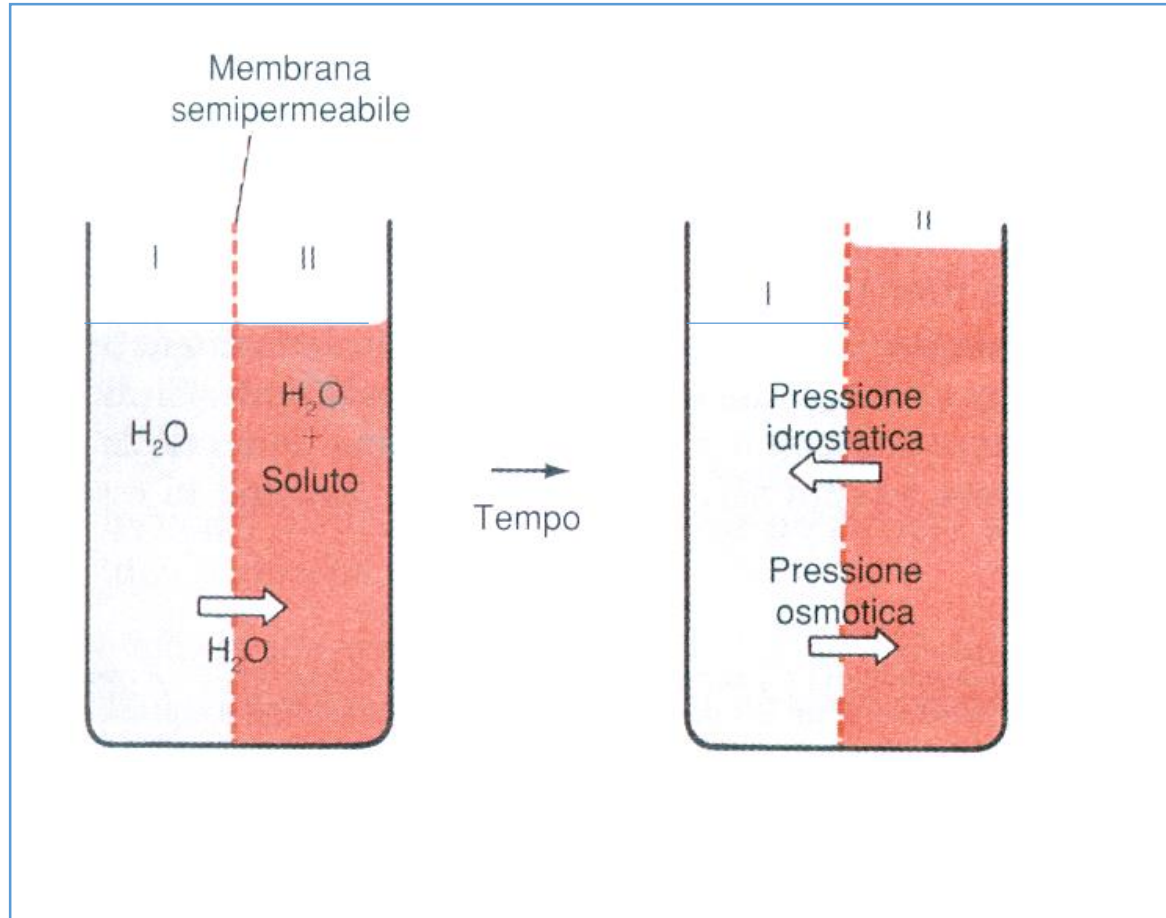


membrana semipermeabile

L'osmosi è un processo fisico spontaneo, vale a dire senza apporto esterno di energia, che tende a diluire la soluzione più concentrata e a ridurre la differenza di concentrazione tra due soluzioni separate da una membrana semipermeabile.

La forza che determina il flusso diffusionale dell'acqua riferita all'unità di superficie prende il nome di **pressione osmotica**

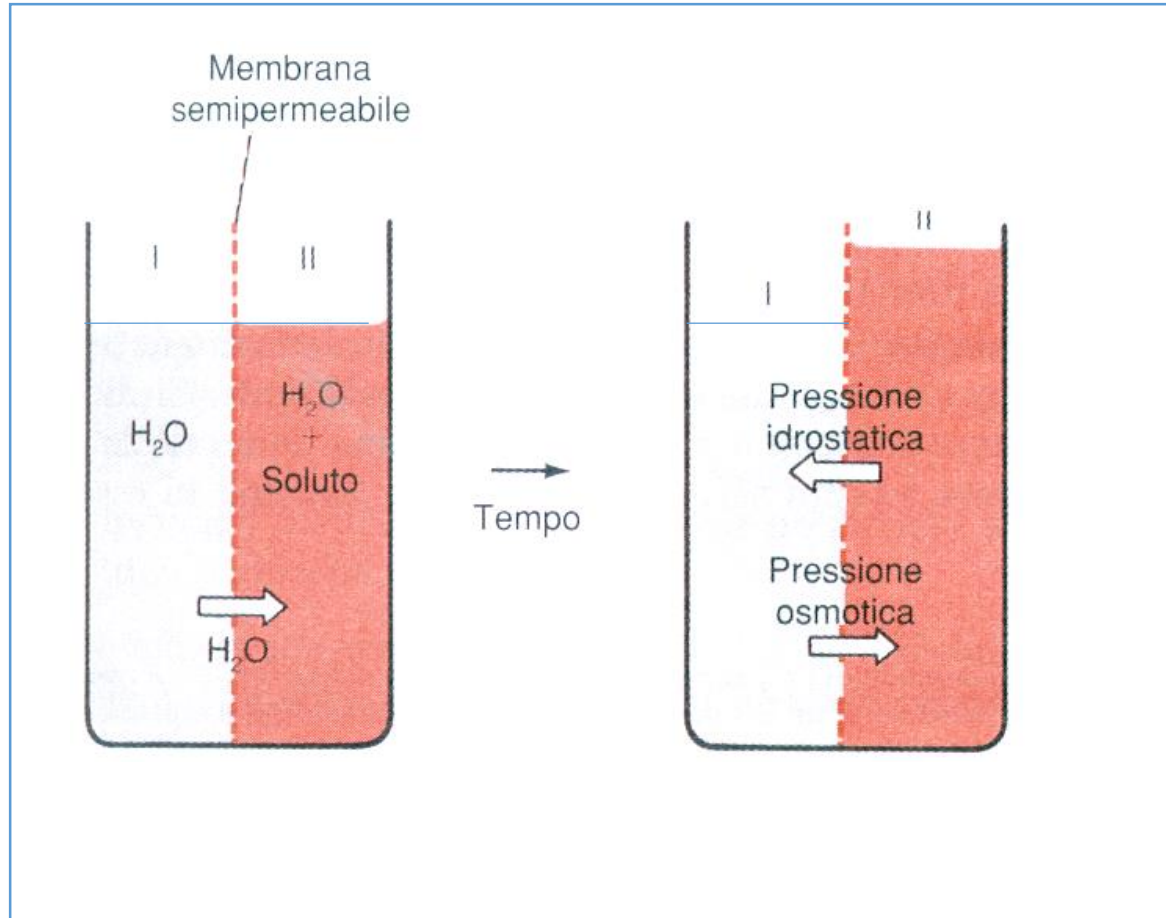
# Pressione osmotica



1) Per definire la pressione osmotica, si consideri un sistema costituito da una soluzione e dal relativo solvente puro separati da una membrana perfettamente semipermeabile (ossia permeabile esclusivamente al solvente ma non al soluto). Un dispositivo di tale tipo è alla base della struttura di un osmometro (ossia il dispositivo utilizzato per misurare la pressione osmotica).

2) Si osserva un passaggio delle molecole d'acqua dal compartimento 1, dove le molecole d'acqua sono più concentrate, verso il compartimento 2, dove lo sono meno. In virtù della natura semipermeabile della membrana non si osserva alcun passaggio di soluto

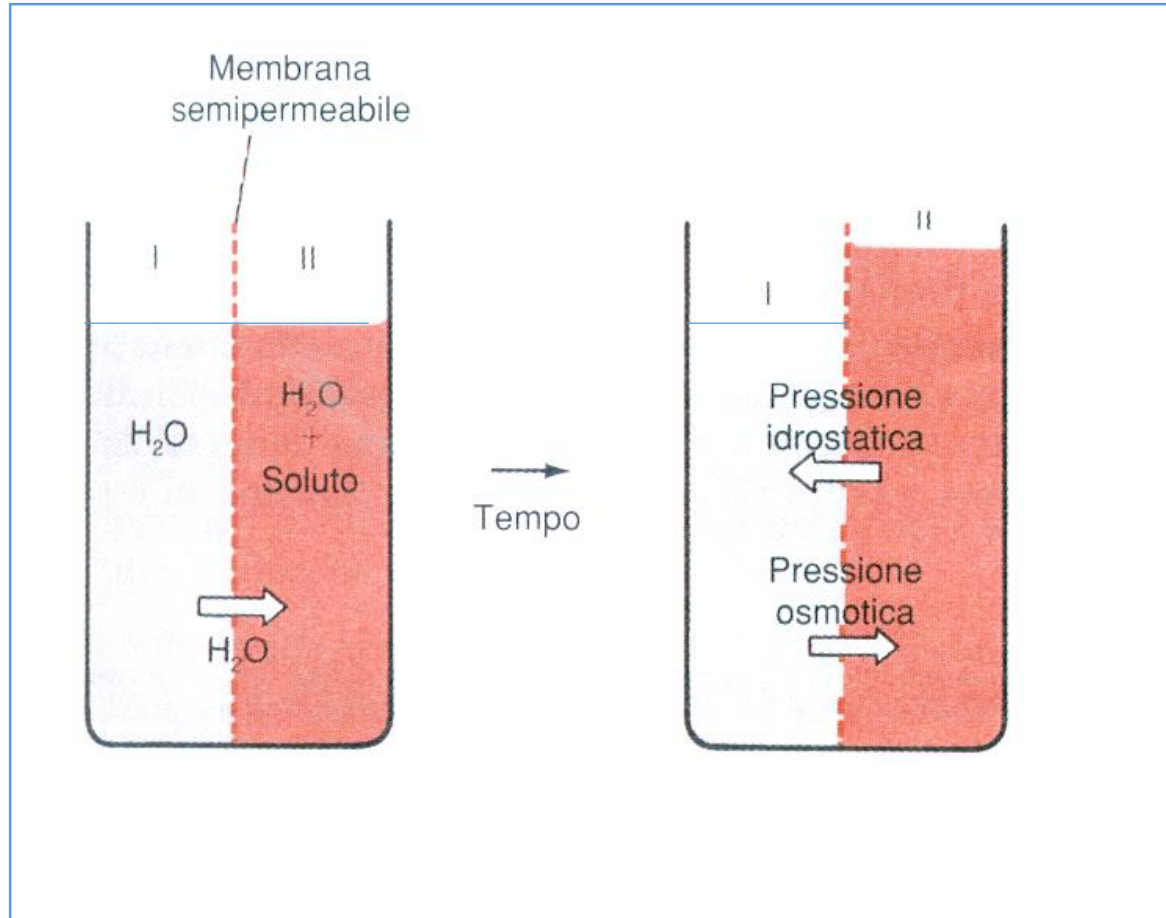
# Pressione osmotica



3) La forza che spinge le molecole d'acqua a passare attraverso la membrana semipermeabile si traduce in un aumento del volume d'acqua e conseguentemente della pressione idrostatica all'interno del compartimento 2. Tale pressione aumenta fino ad equilibrare esattamente, a livello della membrana, la forza che spinge le molecole d'acqua ad attraversarla.

4) Il valore di pressione idrostatica necessaria per annullare la diffusione osmotica dell'acqua rappresenta una misura indiretta della pressione idrostatica stessa.

# Pressione osmotica – legge di van't Hoff



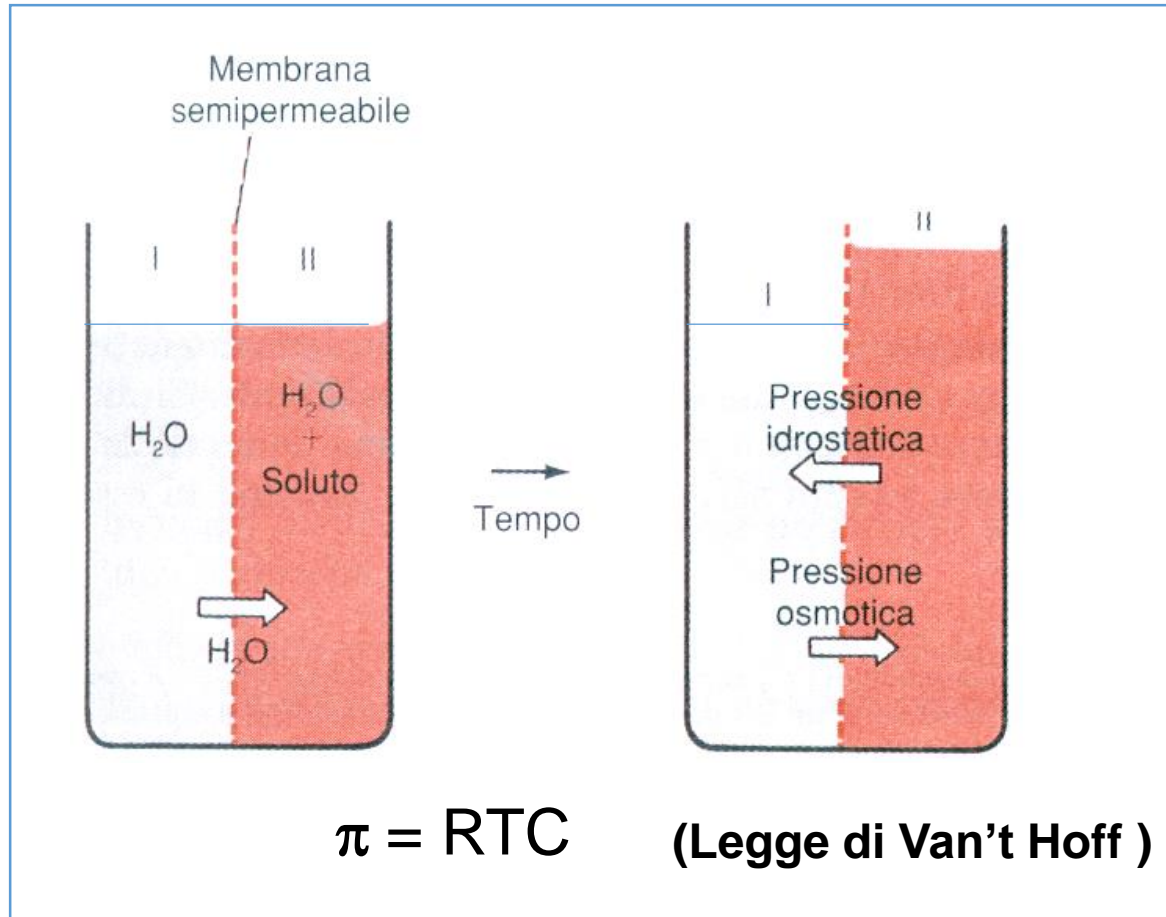
La legge di Van't Hoff esprime la relazione quantitativa tra la differenza di pressione osmotica che si crea tra due ambienti a concentrazione  $C_1$  e  $C_2$  di soluto e la differenza stessa di concentrazione:

$$\Delta\pi = RT(C_1 - C_2)$$

Considerando un osmometro perfetto in cui  $C_1=0$ , la legge di van't Hoff consente di definire la pressione osmotica di una soluzione come:

$$\pi = RT \cdot C$$

# Pressione osmotica – legge di van't Hoff

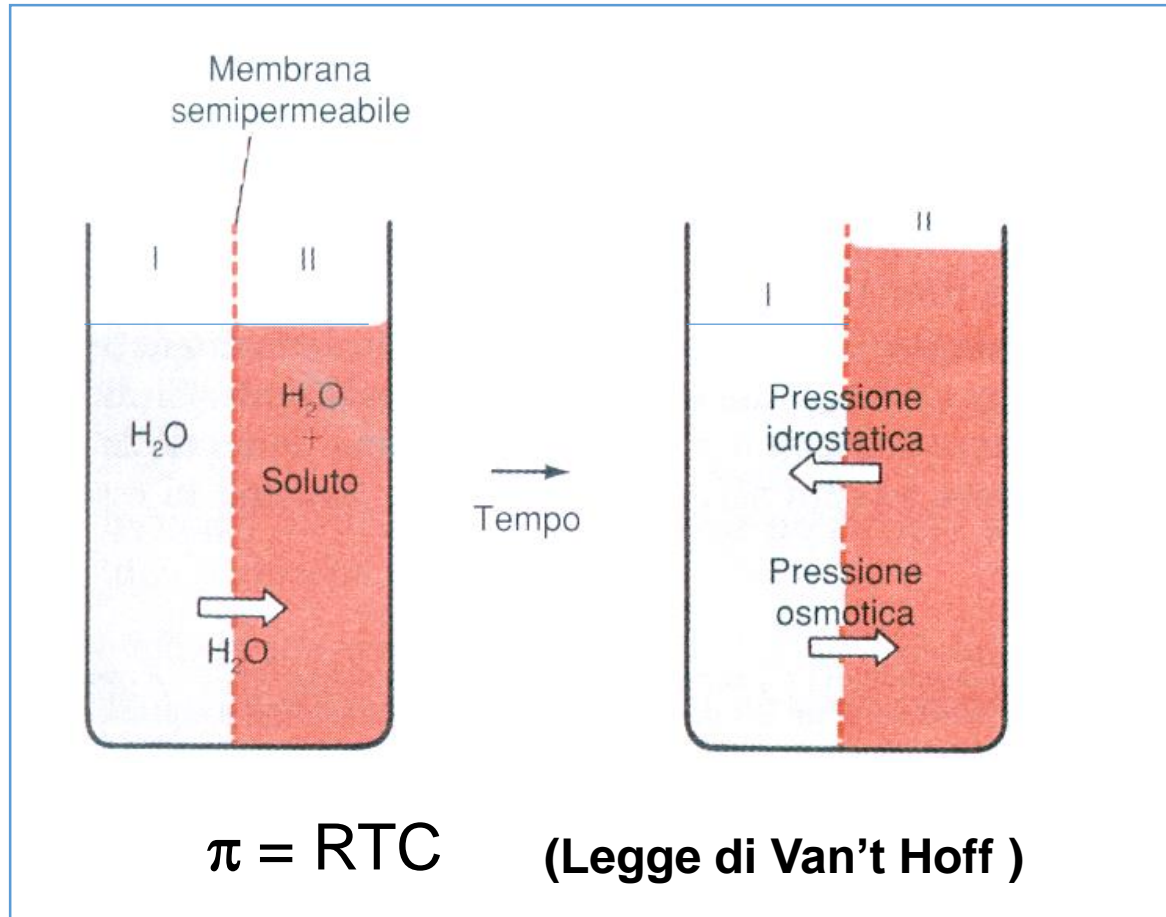


La pressione osmotica ( $\pi$ ) è proporzionale:

- alla concentrazione di soluto (C) (in quanto questa influenza la concentrazione di acqua e quindi il gradiente di concentrazione di acqua che determina il movimento diffusionale dell'acqua)
- alla temperatura assoluta in quanto dipende da un fenomeno diffusivo e quindi dall'energia cinetica posseduta dalle molecole.



# Pressione osmotica come proprietà colligativa



La pressione osmotica appartiene alle cosiddette proprietà colligative delle soluzioni, cioè essa non dipende dalla natura delle particelle di soluto, ma dal loro numero per unità di volume.

Pertanto, una soluzione di una sostanza che in acqua si dissocia in due ioni (es. NaCl), esercita una pressione osmotica doppia di una soluzione di uguale molarità di una sostanza che non si dissocia (es. glucosio).

L'**osmole** (simbolo **Osm**) è l'unità di misura del numero di particelle che contribuiscono alla pressione osmotica di una soluzione. Essa Una **osmole** contiene un numero di Avogadro di particelle osmoticamente attive. L'osmolarità di una soluzione è definita come il numero di **osmoli** per litro di soluzione.

Il liquido extracellulare dei mammiferi ha una osmolarità di circa 300 mOsm

# Pressione osmotica teorica e pressione osmotica reale

Se la membrana è perfettamente semipermeabile la pressione osmotica reale è pari a quella calcolata con la legge di Van't Hoff.

Se però il soluto presenta un certa permeabilità attraverso la membrana (è questo il caso della membrana plasmatica), anche se inferiore a quella dell'acqua, la  $\Delta\pi$  misurata è inferiore a quella teorica fino ad azzerarsi se il soluto permea liberamente.

$$\sigma = \frac{\Delta\pi \text{ reale}}{\Delta\pi \text{ teorica}} \quad 0 < \sigma < 1$$

(coefficiente di riflessione)

Se la membrana “riflette” completamente le molecole del soluto, essa è impermeabile al soluto ( $s=1$ ); se non le “riflette” per niente essa lascia passare soluto e acqua come in ambiente libero ( $s = 0$ ); se le riflette parzialmente essa ostacola parzialmente il passaggio del soluto ( $0 < s < 1$ ). E' questo il caso della membrana plasmatica che non è una membrana semipermeabile perfetta in quanto presenta una certa permeabilità ai soluti.

# Osmolarità e tonicità

- L'osmolarità di una soluzione è definita in base al suo comportamento attraverso membrane semipermeabili perfette e attraverso la legge di Van't Hoff.
- La tonicità di una soluzione è definita in base al suo comportamento attraverso membrane reali (come la membrana plasmatica, quindi parzialmente permeabili ai soluti).

# Osmolarità e tonicità

- **L'osmolarità di una soluzione è definita in base al suo comportamento attraverso membrane semipermeabili perfette e attraverso la legge di Van't Hoff.**

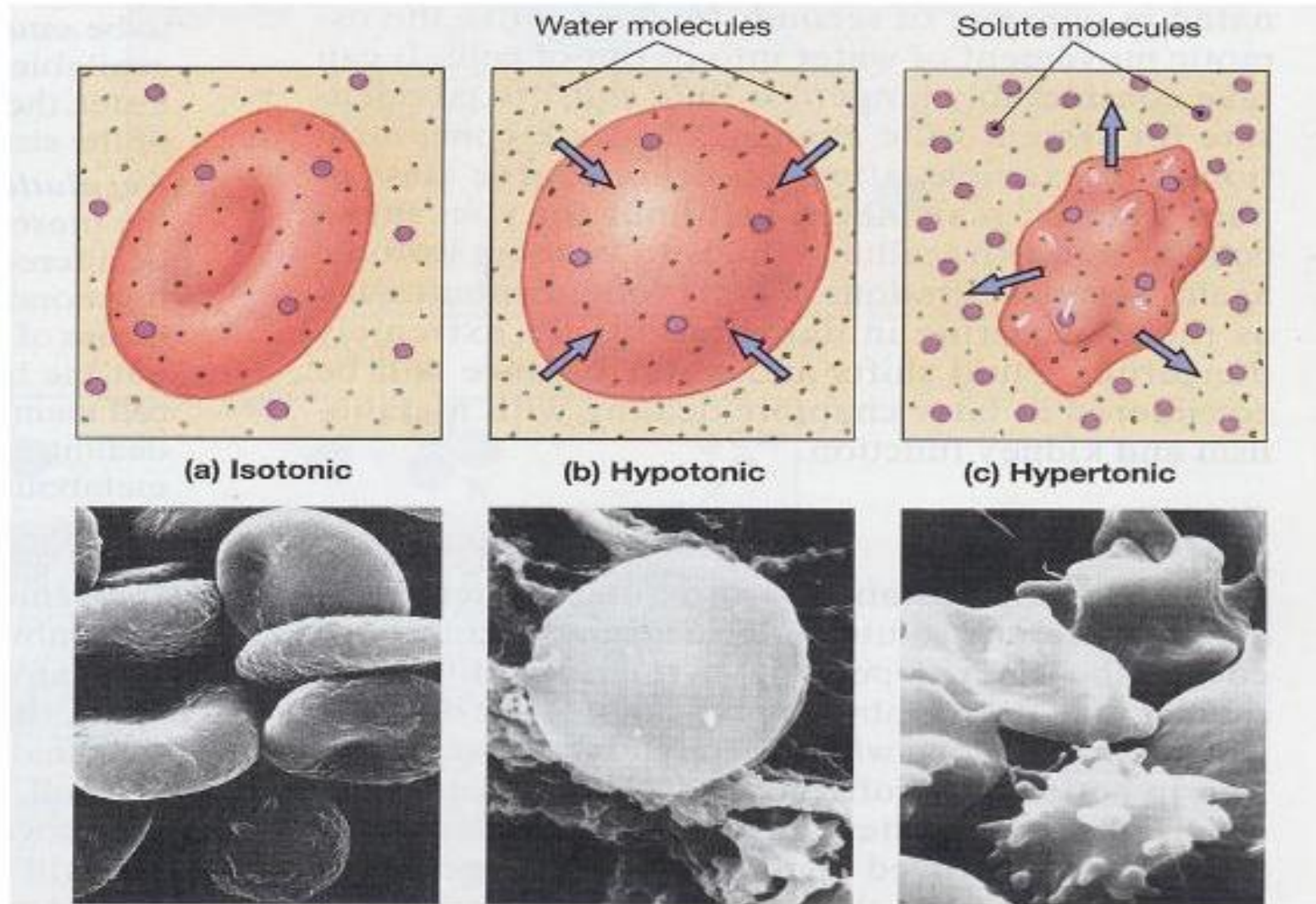
Due soluzioni che esercitano la stessa pressione osmotica attraverso una membrana semipermeabile perfetta sono dette isosmotiche tra loro. Esse, per la legge di Van't Hoff, contengono lo stesso numero di particelle. Se una soluzione esercita una pressione osmotica (attraverso una membrana semipermeabile perfetta) inferiore ad un'altra si dice iposmotica rispetto a quest'ultima; se esercita, invece, una pressione osmotica maggiore si dice iperosmotica.

# Osmolarità e tonicità

- **La tonicità di una soluzione è definita in base al suo comportamento attraverso membrane reali (come la membrana plasmatica, quindi parzialmente permeabili ai soluti).**

Una soluzione è isotonica con una data cellula o un dato tessuto se questi, una volta immersi in essa, non si restringono e non si rigonfiano. Se la cellula si rigonfia la soluzione è detta ipotonica (quindi acqua tende a passare osmoticamente dalla soluzione alla cellula), mentre, se la cellula si restringe, la soluzione è detta ipertonica (per cui acqua si muove osmoticamente dalla cellula verso l'esterno).

# Concetto di tonicità: comportamento della cellula in soluzione



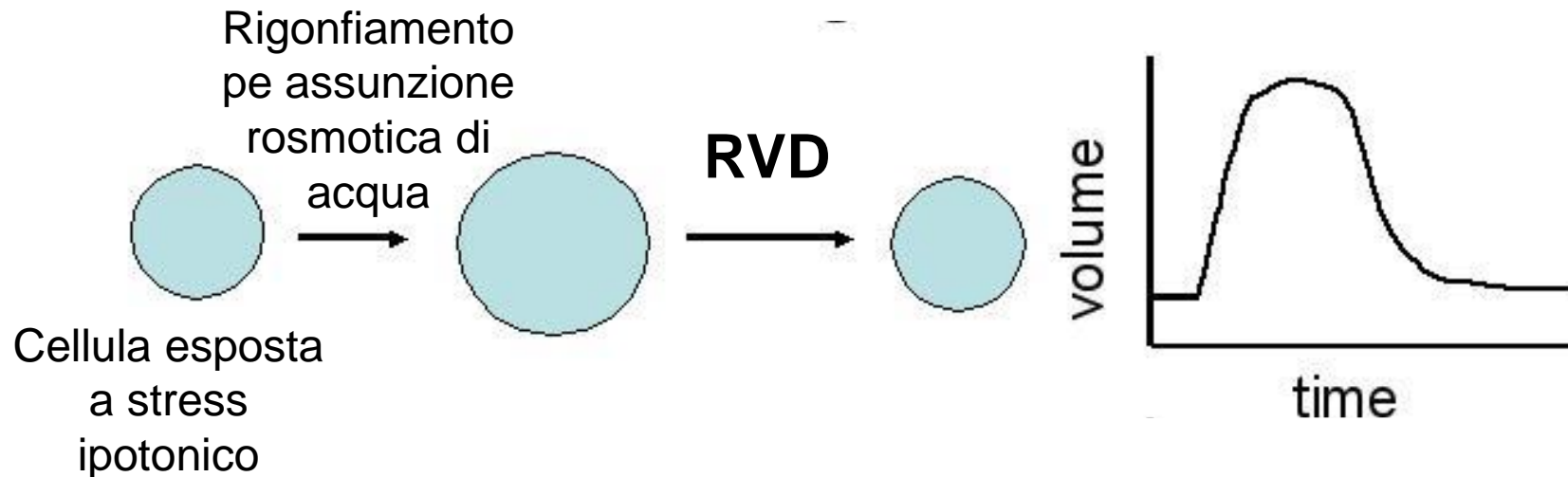


# Regolazione del volume cellulare

- Quando la cellula è esposta ad uno stress ipotonico o ad uno stress ipertonico, essa subisce una variazione di volume in seguito al movimento osmotico di acqua attraverso la membrana plasmatica.
- Essa attiva meccanismi di trasporto transmembrana che consentono specifici movimenti di acqua e soluti, permettendo, così, di regolare il volume cellulare. Tali meccanismi di trasporto sono rappresentati da antiporti, scambiatori, cotrasportatori, canali per  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $H^+$ ,  $Cl^-$ ,  $HCO_3^-$  e piccole molecole organiche (zuccheri, metilamine, aminoacidi).

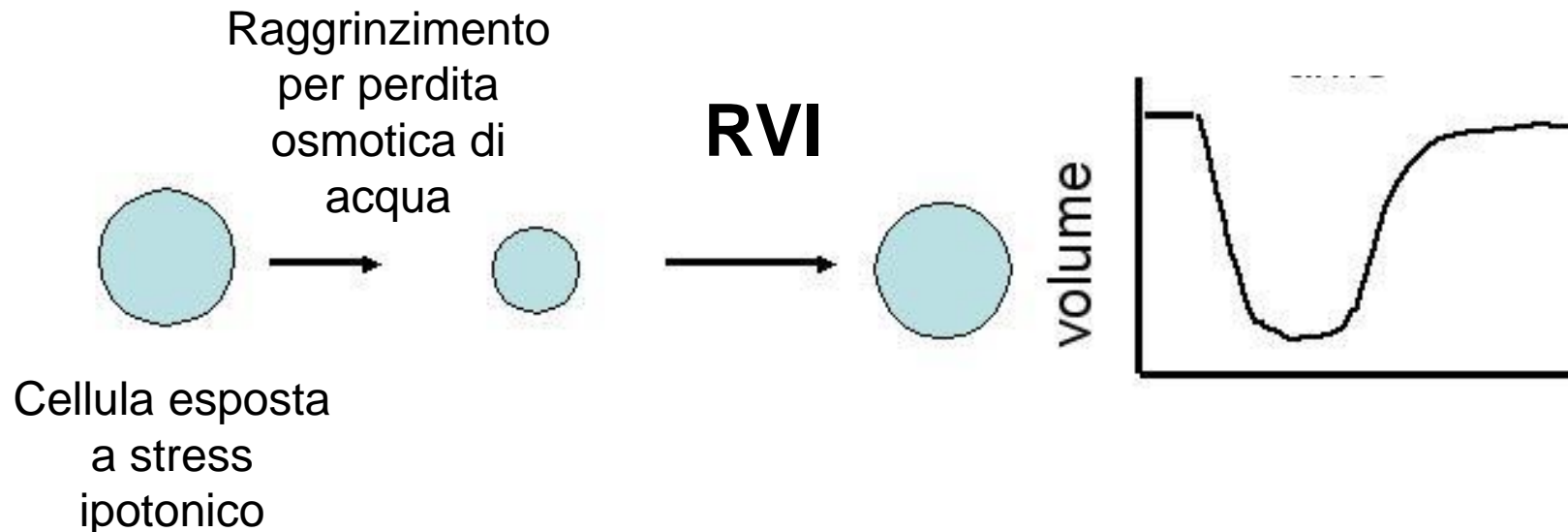
# Regolazione del volume cellulare - RVD

Quando la cellula è esposta a stress ipotonico si rigonfia per assunzione osmotica di acqua. Successivamente, mediante l'attivazione di meccanismi attivi di regolazione del volume cellulare (detti in questo caso Regulatory volume decrease, RVD) recupera il volume iniziale.

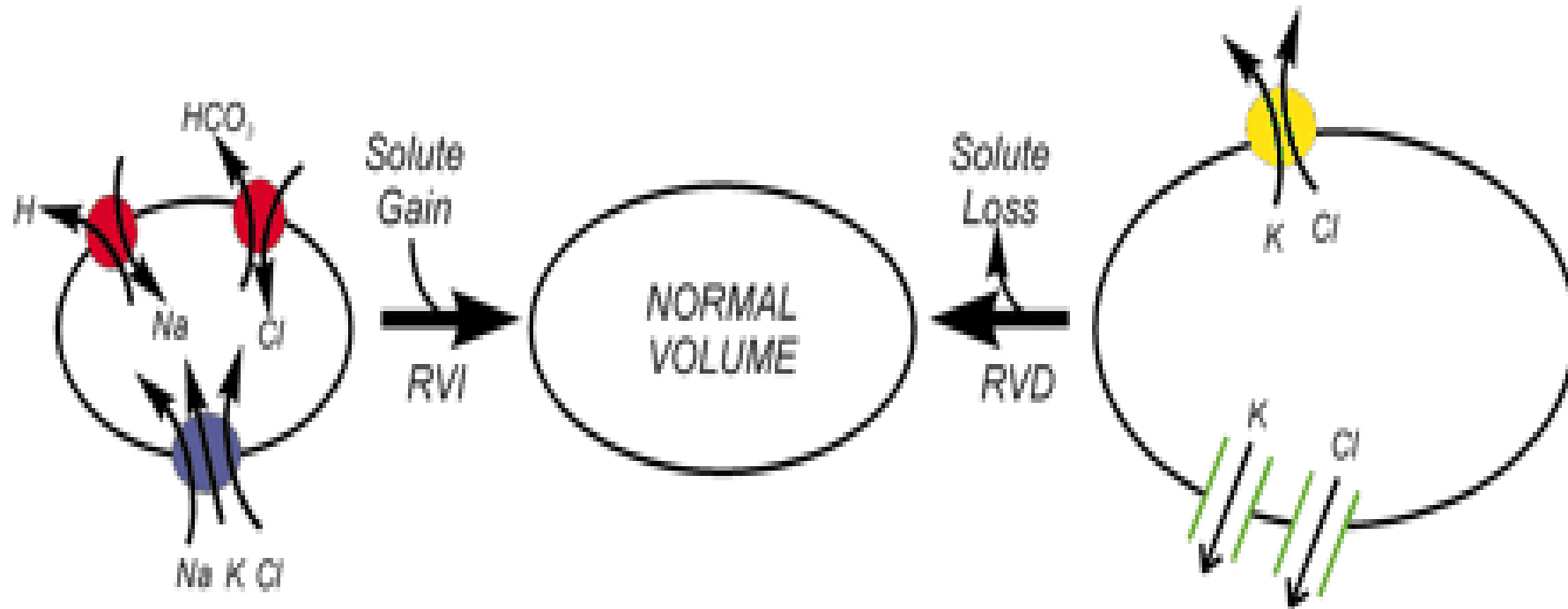


# Regolazione del volume cellulare - RVI

Quando la cellula è esposta a stress ipertonico si raggrinzisce per perdita osmotica di acqua. Successivamente, mediante l'attivazione di meccanismi attivi di regolazione del volume cellulare (detti in questo caso Regulatory volume increase, RVI) recupera il volume iniziale.

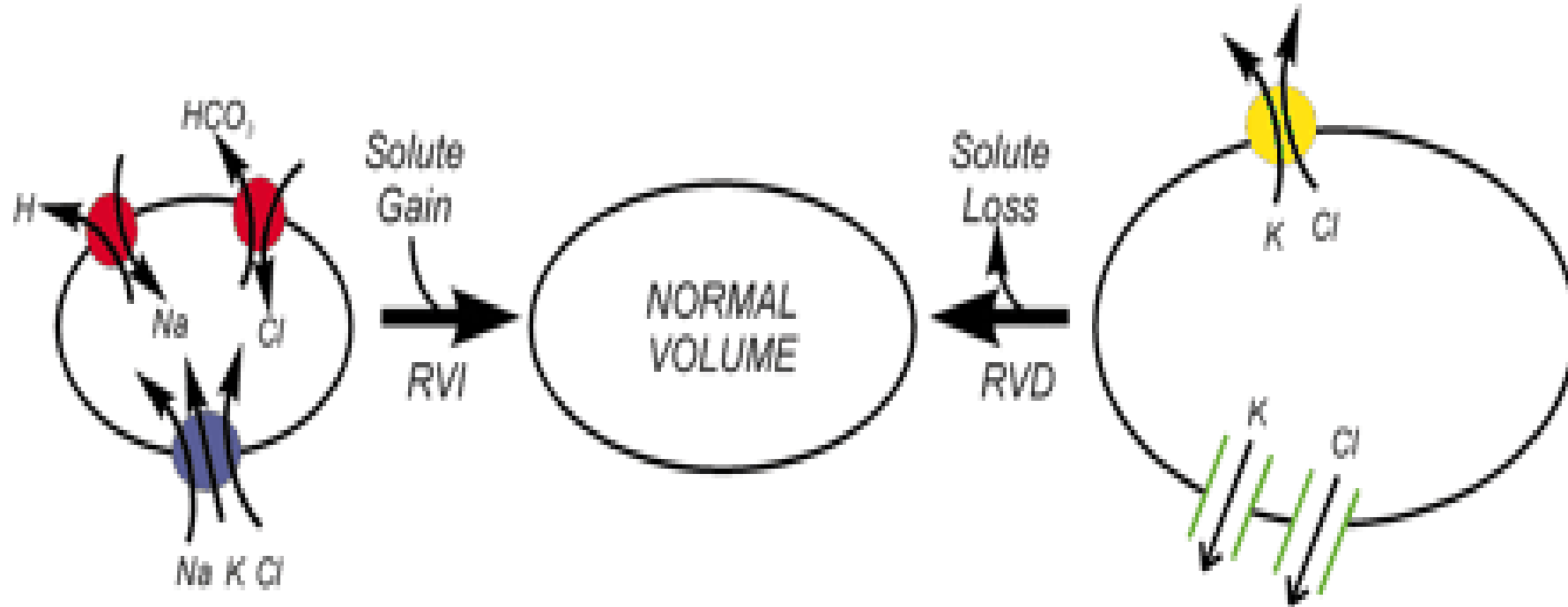


# Meccanismi di RVD ed RVI



L'RVD si realizza attraverso la l'attivazione di meccanismi di trasporto che fanno perdere soluti dalla cellula. Conseguentemente, la cellula, diventando ipotonica rispetto all'ambiente circostante, perde acqua per osmosi recuperando il volume iniziale. I meccanismi di trasporto che si attivano durante l'RVD sono rappresentati dal cotrasporto K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> e da canali per il K<sup>+</sup> e il Cl<sup>-</sup>. Tali meccanismi di trasporto sono attivati dall'incremento di volume indotto dallo stress ipotonico.

# Meccanismi di RVD ed RVI



L'RVI si realizza attraverso la l'attivazione di meccanismi di trasporto che fanno guadagnare soluti alla cellula. Conseguentemente, la cellula, diventando ipertonica rispetto all'ambiente circostante, assume acqua per osmosi recuperando il volume iniziale. I meccanismi di trasporto che si attivano durante l'RVD sono rappresentati dal cotrasporto  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ , dall'antiporto  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  e dall'antiporto  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . Tali meccanismi di trasporto sono attivati dalla diminuzione di volume indotto dallo stress ipertonico.