

CANALI IONICI

I **canali ionici** sono delle proteine che presentano un **poro idrofilico** che consente agli ioni di attraversare la membrana

Termodinamicamente, i canali ionici si comportano come **enzimi**, in cui il reagente è lo ione da un lato della membrana, il prodotto della reazione è lo ione dall'altro lato e il complesso attivo è costituito dall'interazione tra lo ione e il suo sito di legame lungo il poro.

I canali ionici quindi consentono di **abbattere una barriera energetica**.

In base al meccanismo di *gating*, distinguiamo:

- **Canali voltaggio-dipendenti:** il cui poro diventa accessibile agli ioni quando la membrana si depolarizza
- **Canali ligando-dipendenti attivati da un mediatore extracellulare** (recettori ionotropici): un esempio è rappresentato dai recettori nicotinici presenti nella placca neuromuscolare, dove innescano la contrazione muscolare
- **Canali ligando-dipendenti attivati da messaggeri intracellulari:** esempi di messaggeri intracellulari sono l'AMPc o il GMPc, il diacilglicerolo (che attiva PKC e anche tre tipi di canali di membrana, alcuni importanti nella trasmissione sinaptica) oppure, infine, l'acido arachidonico e i suoi derivati
- **Canali mecano-sensibili:** attivati dalla stimolazione meccanica
- **Canali termo-sensibili:** attivati dalla temperatura fredda, calda o ambiente. Ci fanno anche provare dolore quando poggiamo una mano sul fuoco o sul ghiaccio secco
- **Canali foto-sensibili:** attivati dalla luce, presenti nei Procarioti o nelle alghe. Meccanismo che collega le **riserve di Ca^{2+}** con alcuni canali ionici

PATCH CLAMP

è una tecnica usata in elettrofisiologia per misurare le correnti che attraversano singoli canali ionici presenti nella membrana cellulare

Già prima della cristallografia, **partendo dalla sequenza aminoacidica** di un canale ionico era possibile predire la sua **struttura a livello della membrana**.

Ogni aminoacido può essere classificato in base al suo **grado di idrofilicità o idrofobicità**.

In particolare, ad ogni amminoacido viene assegnato un valore compreso tra -4.5 (molto idrofilico) e +4.5 (molto idrofobico).

La sequenza primaria viene poi suddivisa in tanti segmenti, ciascuno costituito da **17-20 amminoacidi**, che è il numero di aminoacidi necessari per attraversare il doppio strato lipidico.

Per esempio, per semplicità, il primo segmento va dal primo al quinto amminoacido ed il secondo segmento dal secondo al sesto amminoacido.

A questo punto si calcola la **media dei valori di idrofilia di ciascun amminoacido** contenuto nel segmento e la inserisco nel **grafico di idropaticità**.

Andando a leggere questo grafico, possiamo dedurre che le regioni con un **alto grado di idrofobia** sono le **regioni transmembrana**, mentre le regioni con un **alto grado di idrofilia** sono le **regioni citosoliche o extracellulari**.

Queste ipotesi furono poi confermate dai successivi **studi cristallografici**.

Inizialmente vigeva l'**ipotesi del setaccio**, secondo cui i canali operassero come un setaccio che consentiva agli ioni di attraversare la membrana. Quindi, secondo questa ipotesi, per esempio, i canali permeabili al K^+ avevano un raggio tale da far passare solo gli ioni K^+ . Questo però non poteva essere corretto, infatti, prendendo in considerazione il fatto che il Na^+ ha un raggio di 0.98\AA , mentre il K^+ un raggio di 1.33\AA , come mai i canali per il K^+ non facevano passare anche gli ioni Na^+ ?

Per spiegare la **selettività dei canali ionici** bisogna tenere in considerazione che gli ioni sono **particelle cariche**, immerse in una soluzione acquosa e tendono ad esercitare una **forza elettrostatica sulle molecole di acqua**. Quindi gli ioni, in soluzione, non viaggiano mai da soli ma sempre accompagnati da un guscio di molecole di acqua, che costituiscono il **guscio di solvatazione**.

Per la **legge di Colomb**, la **forza elettrica** esercitata in un particolare punto dello spazio da una certa quantità di carica distribuita uniformemente su una superficie, è **tanto più forte quanto è più piccola la superficie della carica**.

Ne consegue che il Na^+ , che è più piccolo, eserciterà una forza elettrica maggiore rispetto al K^+ , e quindi sarà circondato da un guscio di solvatazione con un raggio maggiore rispetto al guscio di solvatazione che circonda il K^+ .

Per cui, quando consideriamo il flusso di uno ione attraverso il poro di conduzione di un canale ionico dobbiamo considerare il **raggio idrato dello ione** e non il suo raggio anidro.

Per poter attraversare il poro di un canale, lo **ione deve essere privato del suo guscio di solvatazione** e, ovviamente, l'energia che si deve spendere per liberare il Na^+ dal suo guscio di solvatazione è maggiore dell'energia richiesta per il K^+ .

Anche il Ca^{2+} , per esempio, con le sue due cariche positive richiede un'energia di deidratazione molto elevata.

Selettività

Il **filtro di selettività** permette di spiegare la selettività dei canali ionici e presenta dei residui aminoacidici che possono portare una carica (**forte o parziale** a seconda che siano presenti, rispettivamente, **gruppi carbossilici o carbonilici**).

Quindi, sostanzialmente, nella **parete interna del poro di conduzione** del canale ionico sono presenti delle **cariche elettriche fisse** che consentono l'eliminazione delle **molecole d'acqua che circondano lo ione**.

Tutte queste ipotesi vennero formulate intorno agli **anni '70** e vennero poi confermate con gli **studi cristallografici**.

Probabilità di apertura di un canale

I canali ionici fluttuano stocasticamente da uno stato aperto ad uno chiuso, quindi non si registrerà mai un'attività elettrica continua.

Studiando l'attività elettrica di un canale ionico è possibile registrare la sua **apertura anche in assenza di uno stimolo**, come può essere l'acetilcolina per i recettori nicotinici.

La **presenza di un stimolo** (chimico, fisico, luminoso) fa aumentare la frequenza delle transizioni dallo stato chiuso a quello aperto, quindi **aumenta la probabilità che il canale passi allo stato aperto**.

Non è possibile prevedere esattamente quando un canale ionico si aprirà, quello che possiamo studiare è la **probabilità di apertura**.

La probabilità di apertura di un canale può essere calcolata svolgendo **esperimenti di singolo canale in un arco di tempo molto lungo**. Dopo aver acquisito tutte le registrazioni, può essere usato un **programma di analisi** che identifica, per ogni registrazione, i due stati (aperto o chiuso) e, per ogni registrazione, misura per **quanto tempo i canali sono stati aperti e chiusi**. Lo stesso programma calcola poi la probabilità di apertura del canale, che sarà data dal **rappporto tra il tempo totale in cui il canale è stato aperto e la durata totale dell'esperimento**.

Cambiando l'**intensità dello stimolo somministrato**, si può studiare le probabilità di apertura del canale. Per esempio, per sapere come cambia la probabilità di apertura nei canali voltaggio-dipendenti si applicano delle depolarizzazioni diverse e osservo che quando la depolarizzazione è meno intensa il canale ha una bassa probabilità di apertura, mentre quando la depolarizzazione aumenta, la probabilità di apertura è più alta.