

Tamponi biologici per il controllo del pH

Si definisce una soluzione tampone una soluzione che si oppone alla variazione del pH per aggiunte moderate di acidi o basi

Si tratta generalmente di soluzioni

di un acido debole e il suo sale con una base forte (per esempio il sistema acido acetico - acetato di sodio) o,

di una base debole e il suo sale con un acido forte (per esempio il sistema ammoniaca - cloruro d'ammonio)

$$pH = pK_A + \log \frac{[C_S]}{[C_A]}$$

Tampone acido:

acido debole e il suo sale con una base forte

(per esempio il sistema acido acetico - acetato di sodio)

$$pH = pK_A + \log \frac{[C_S]}{[C_A]}$$

Tampone basico:

una base debole e il suo sale con un acido forte

(per esempio il sistema ammoniaca - cloruro d'ammonio)

$$pOH = pK_B + \log \frac{[C_S]}{[C_B]}$$

- Controllo del pH

Sistemi tampone

- Controllo della CO_2 (P_{CO_2})

Respirazione

- Controllo di HCO_3^-

Filtrazione renale

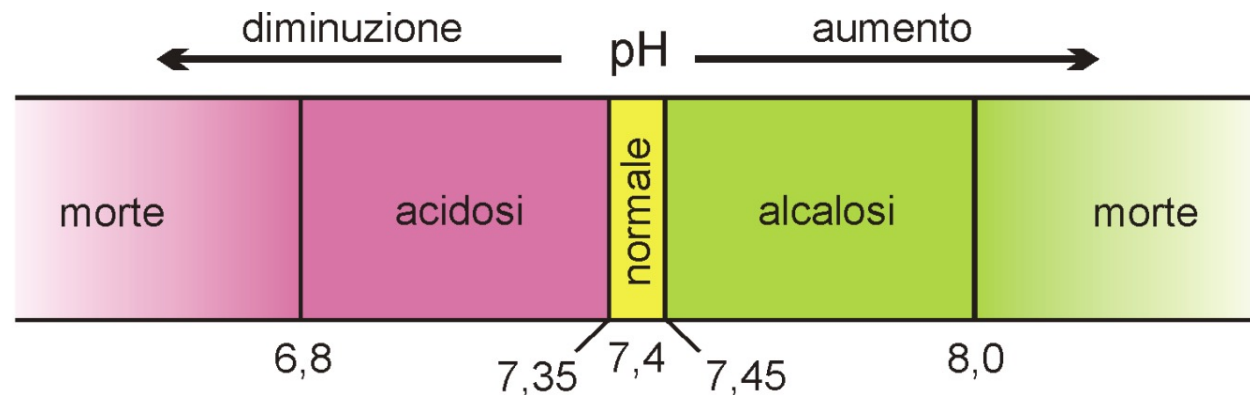
Quali sono i valori di pH nei fluidi extracellulari e intracellulari?

pH sangue arterioso = 7.40

pH sangue venoso = 7.35 (per la CO₂ rilasciata dai tessuti)

Valori di pH > 7.40 o < 7.35 definiscono condizioni patologiche di **alcalosi** o **acidosi**, rispettivamente.

pH intracellulare ~ 7.2 (il metabolismo cellulare produce acidi)



Concentrazione degli ioni H^+

Circa 50 -100 millimoli di ioni idrogeno sono rilasciati giornalmente dalle cellule nei fluidi extra-cellulari

La $[H^+]$ è mantenuta tra 35 and 45 nano mol\L.
(40nmol/L=pH 7.4)

Quantità di CO_2 prodotta giornalmente dall'uomo

Circa 0.7 Kg di CO_2 , pari a 16 moli, pari a circa 400 litri a $37^\circ C$

Tre meccanismi di controllo regolano la concentrazione di H^+ per prevenire condizioni di acidosi e alcalosi

Risposta rapida

Sistemi tampone acido-base: reazioni che consumano H^+ .
Controllo respiratorio: regolazione della P_{CO_2} e quindi dell'acido carbonico (H_2CO_3)

Risposta lenta

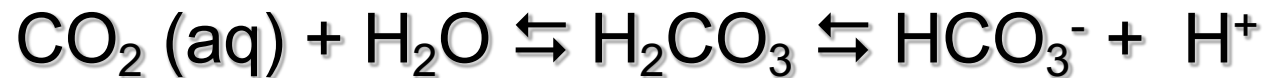
Funzione renale: regolazione della eliminazione di ione bicarbonato (HCO_3^-) attraverso le urine

Sistemi tampone acido-base: reazioni che consumano H^+

1. Sistema tampone bicarbonato → il più abbondante
2. Sistema tampone fosfato → il più adatto come pK_a
3. Sistema tampone delle proteine → importante a livello intra ed extracellulare

Sistema tampone bicarbonato

Il bicarbonato (HCO_3^-) rappresenta la base; l'acido carbonico (H_2CO_3) rappresenta l'acido.



sangue arterioso:



sangue venoso:



Queste reazioni, normalmente lente, sono catalizzate dall'*anidrase carbonica*

Nota: L' **anidrase carbonica ha un ruolo chiave nella regolazione del pH e anche nell'equilibrio dei fluidi** in diverse parti del nostro corpo.

Negli occhi influenza il contenuto di acqua nelle cellule di questi organi. Quando aumenta la quantità dei liquidi oculari che mantengono la forma dei nostri occhi, il liquido all'interno dell'occhio preme in modo eccessivo sul nervo ottico e può danneggiarlo (**glaucoma**). Gli inibitori dell'anidrase carbonica vengono usati per trattare il glaucoma.

Anidrase Carbonica: un enzima

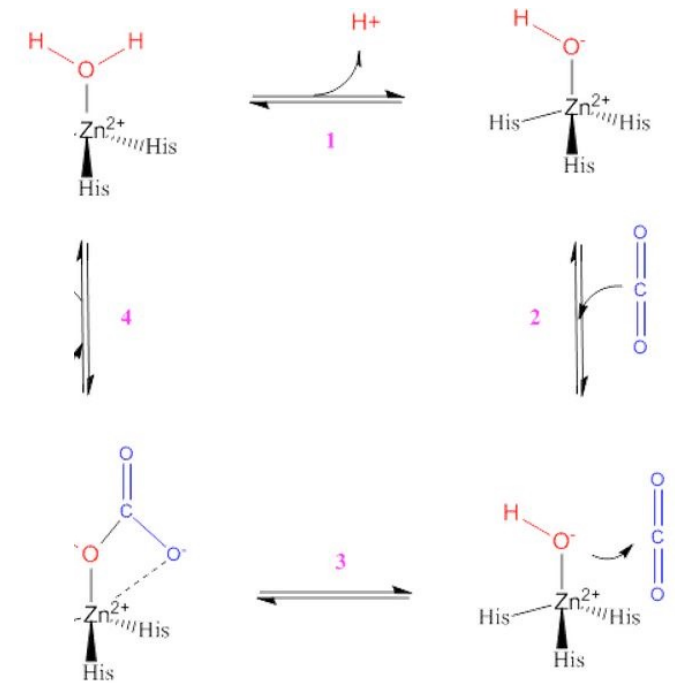
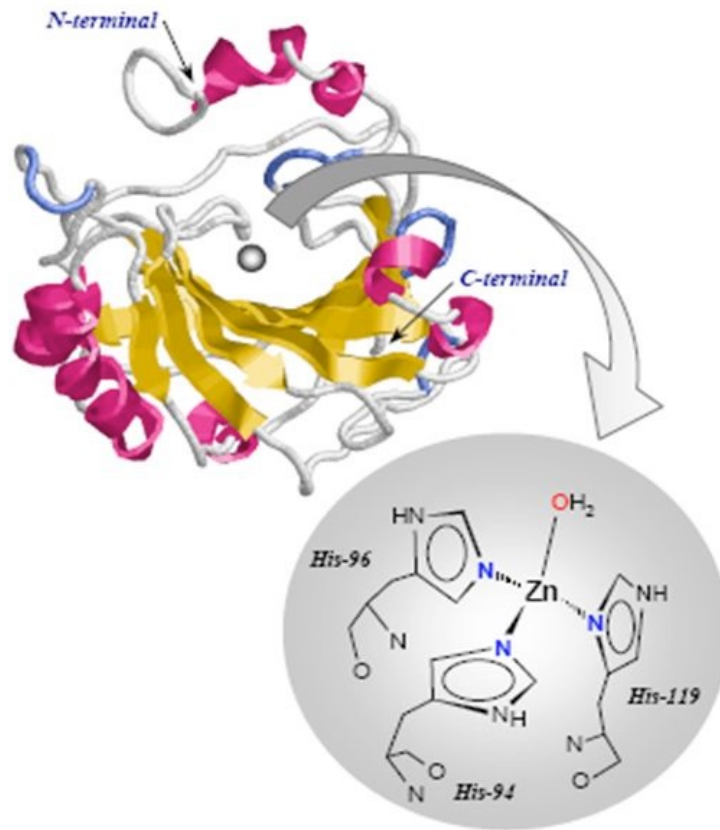
Struttura dell'anidrase carbonica umana II

La struttura dell'anidrase carbonica umana di tipo II mostra lo zinco, in una cavità idrofobica, legato a 3 gruppi imidazolici di residui istidinici (His-94, 96 e 119).

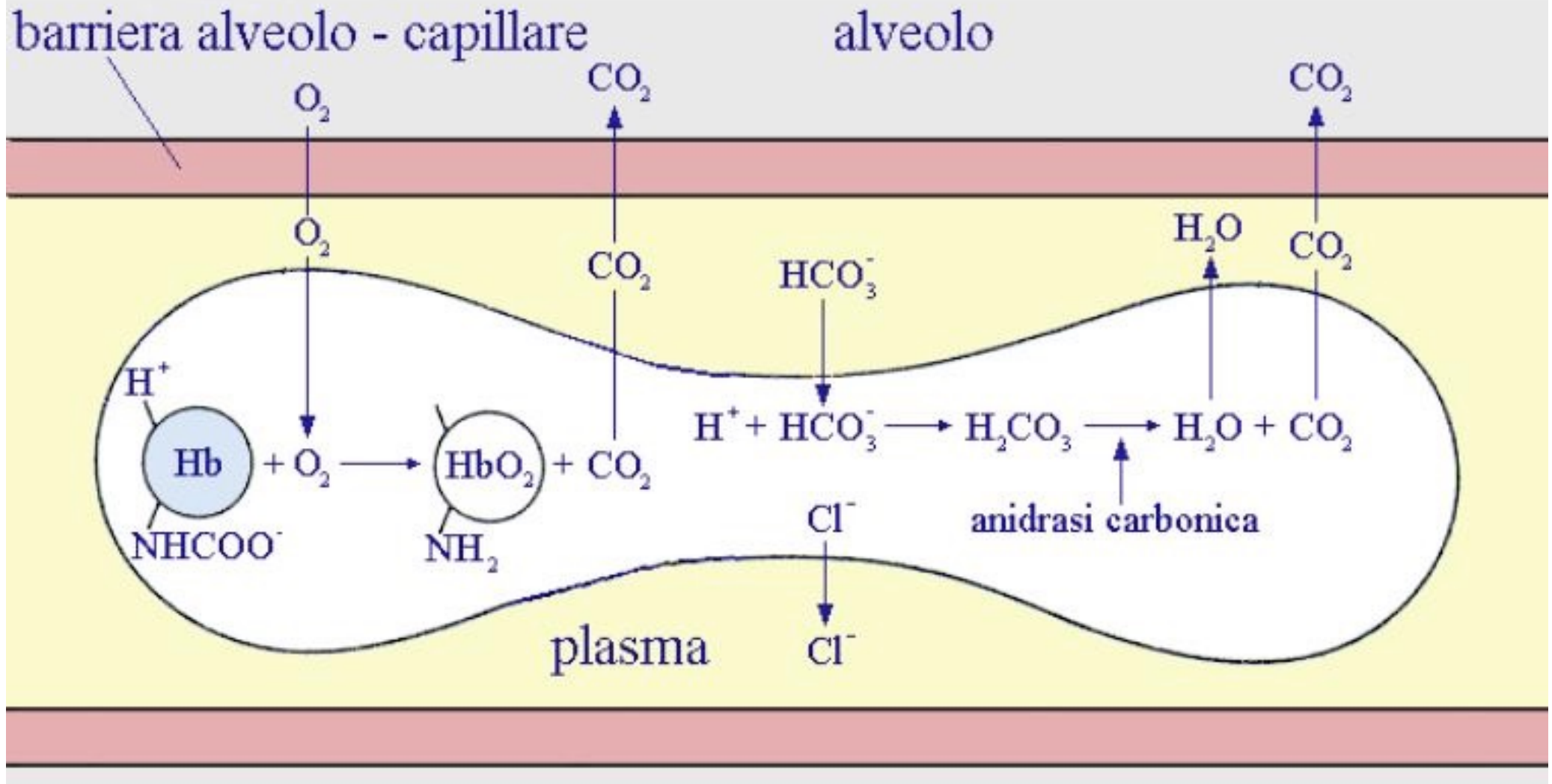
Lo studio dell'effetto del pH sull'attività dell'enzima indica la presenza di un gruppo acido con $pK_a = 7.1$.

Ciò ha suggerito la presenza di una molecola di H_2O resa particolarmente acida dalla coordinazione allo Zn

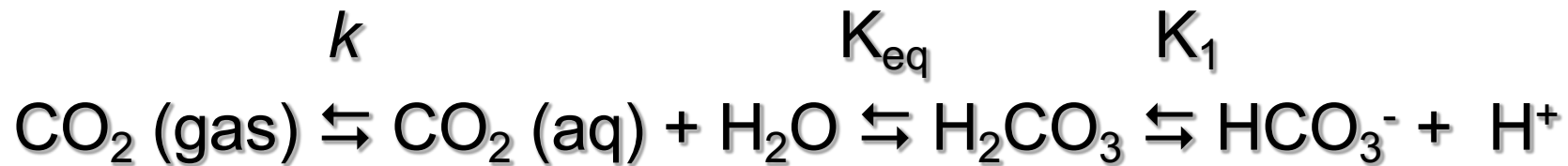
N.B. La sostituzione di Zn con Co non modifica le proprietà catalitiche dell'enzima



Gli scambi gassosi a livello polmonare



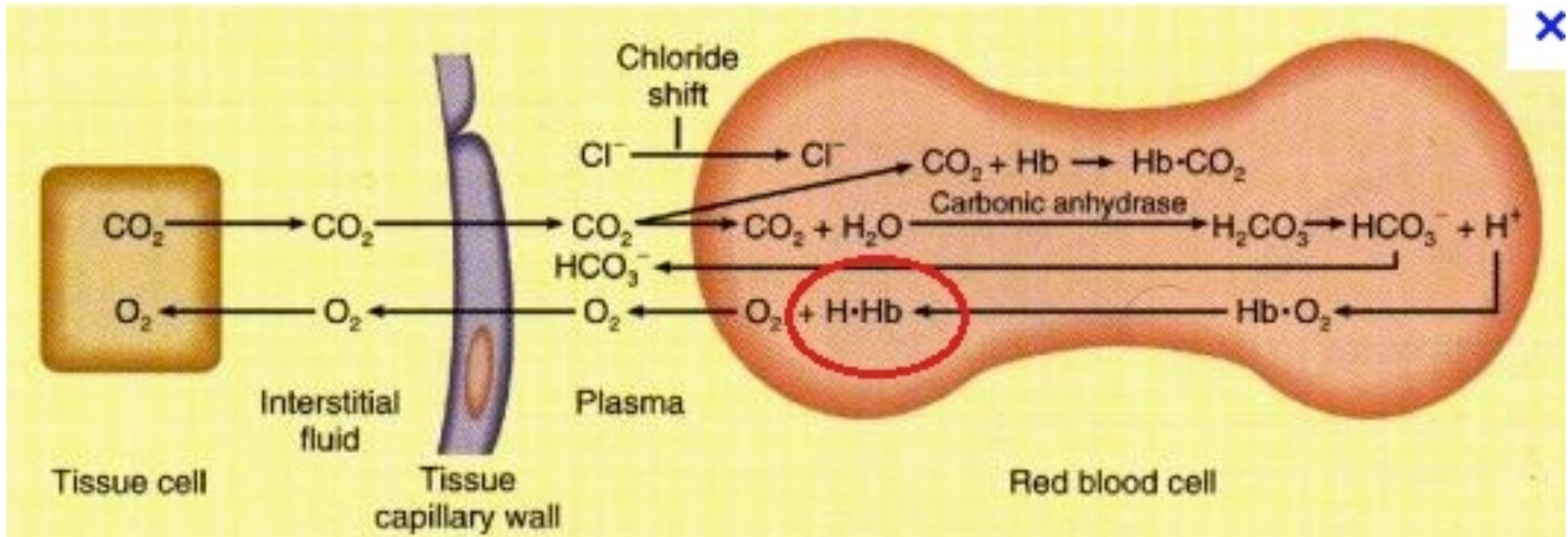
La coppia acido carbonico-bicarbonato rappresenta un importante sistema tampone per i fluidi extracellulari



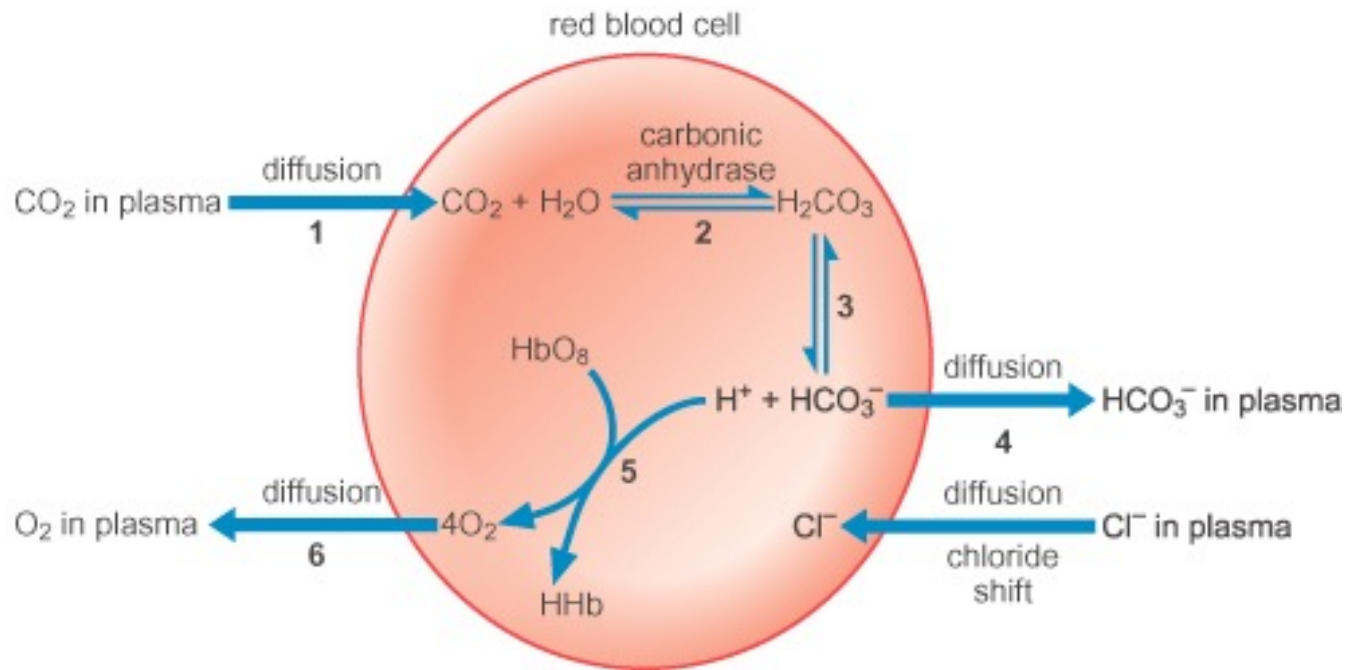
Lo ione carbonato (CO_3^{--}) è poco popolato al pH del sangue ($\text{pK}_{\text{a}2} = 10.8$)

H_2CO_3 è in equilibrio con la CO_2 disciolta la cui pressione parziale (P_{CO_2}) può essere stimata.

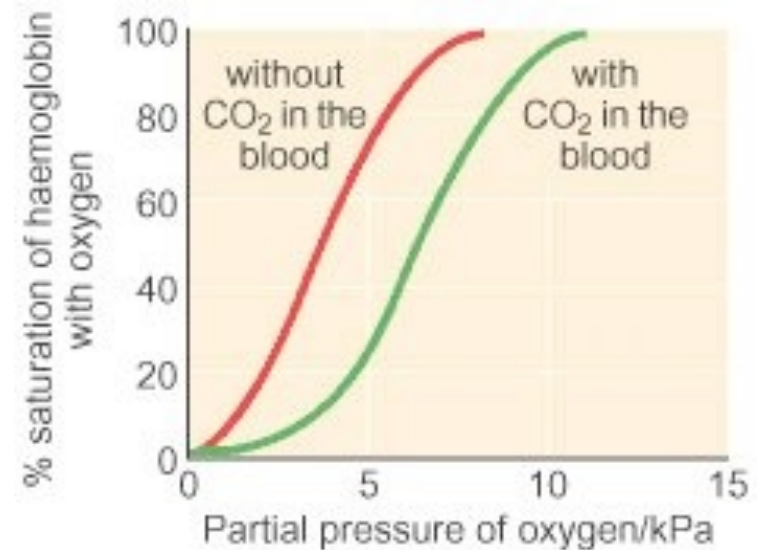
La coppia acido carbonico-bicarbonato rappresenta un importante sistema tampone per i fluidi extracellulari



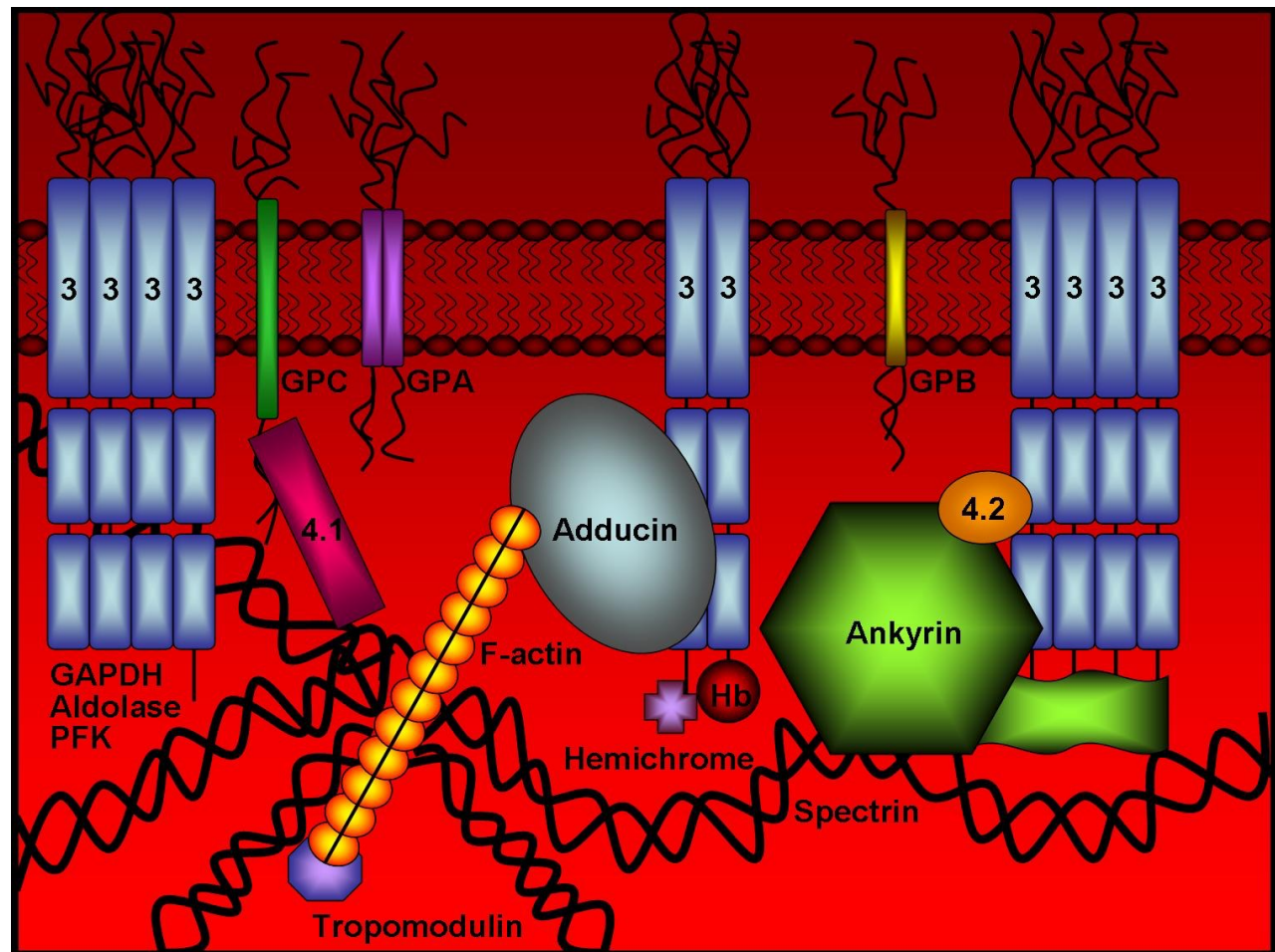
Shift dei cloruri (scambio bicarbonato/cloruro): viene mantenuta la neutralità elettrica della cellula
(Banda 3: scambiatore di anioni)

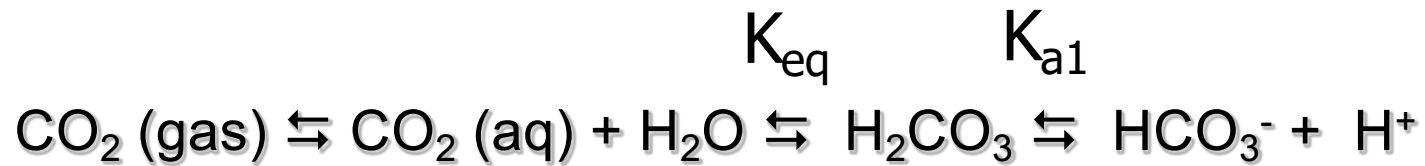


L'acido carbonico facilita il rilascio dell'O₂ da parte dell'emoglobina grazie alla liberazione di ioni H⁺



La banda 3 è una proteina di membrana presente nel globulo rosso che permette l'uscita del bicarbonato scambiato con il Cl^-



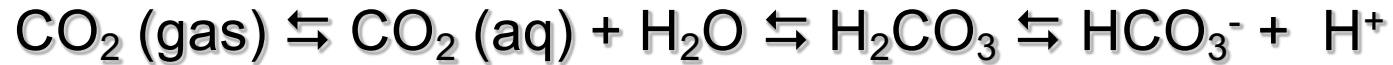


La costante di equilibrio K_{eq} per la reazione $\text{CO}_2 (\text{aq}) + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$

$$K_{eq} = \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_2]_{AQ}} = 5 \times 10^{-3}$$

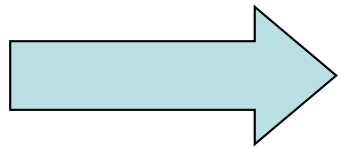
La costante di dissociazione K_{a1} per la reazione $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$

$$K_{a1} = \frac{[\text{H}^+] \times [\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 1.58 \times 10^{-4}$$



La costante di equilibrio totale (K'_{a1} fra la CO_2 disciolta ($[\text{CO}_2]_{\text{AQ}}$), $[\text{H}^+]$ e $[\text{HCO}_3^-]$ è data da

$$K'_{a1} = K_{eq} \times K_{a1} = \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_2]_{\text{AQ}}} \times \frac{[\text{H}^+] \times [\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 7.9 \times 10^{-7}$$



$$pK'_{a1} = 6.1$$

Per i nostri scopi pratici, possiamo considerare che il sistema tampone sia formato dalla base e dall'acido coniugati HCO_3^- e CO_2 disciolta, rispettivamente. L'equazione può essere scritta come

$$K'_{a1} = \frac{[H^+] \times [HCO_3^-]}{k \times P_{CO_2}}$$

Da cui, risolvendo per $[H^+]$ e ricordando la definizione di pH, ricaviamo la equazione di Henderson-Hasselbach


$$pH = pK'_{a1} + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]_{AQ}}$$

Il pH del sangue a 37 ° C è normalmente pari a 7.4.
Dalla equazione di Henderson-Hasselbach

$$7.4 = 6.1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]_{AQ}}$$

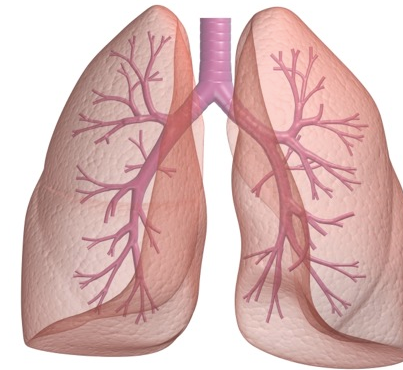
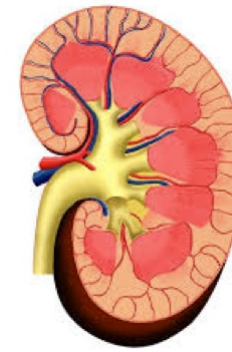
possiamo quindi ricavare il rapporto Base/Acido in condizioni fisiologiche normali

$$\log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]_{AQ}} = 7.4 - 6.1 = 1.3$$


$$\frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]_{AQ}} = 20$$

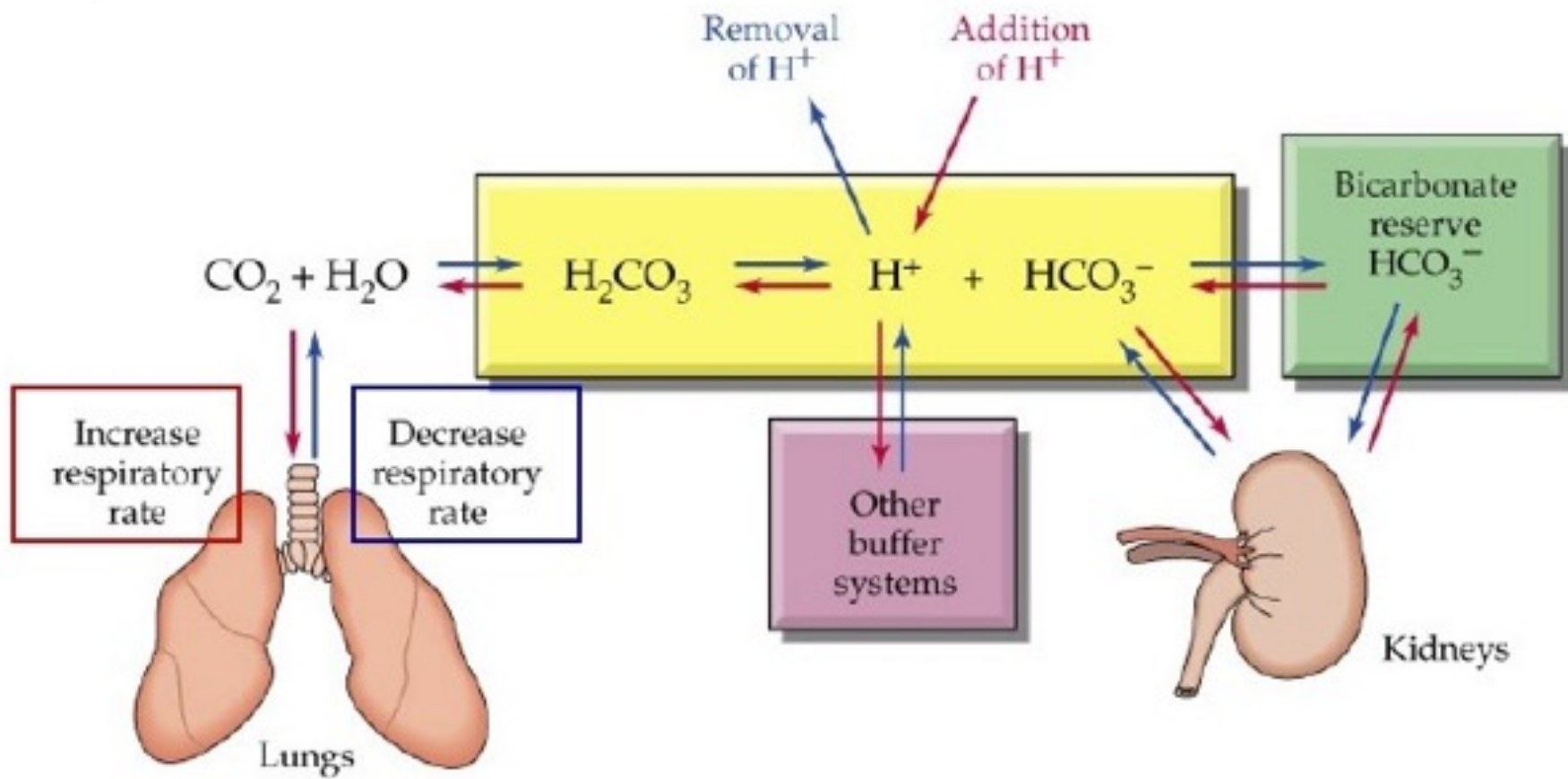
Il pH del sangue non dipende dalla quantità assoluta di HCO_3^- e CO_2 ma dal loro rapporto

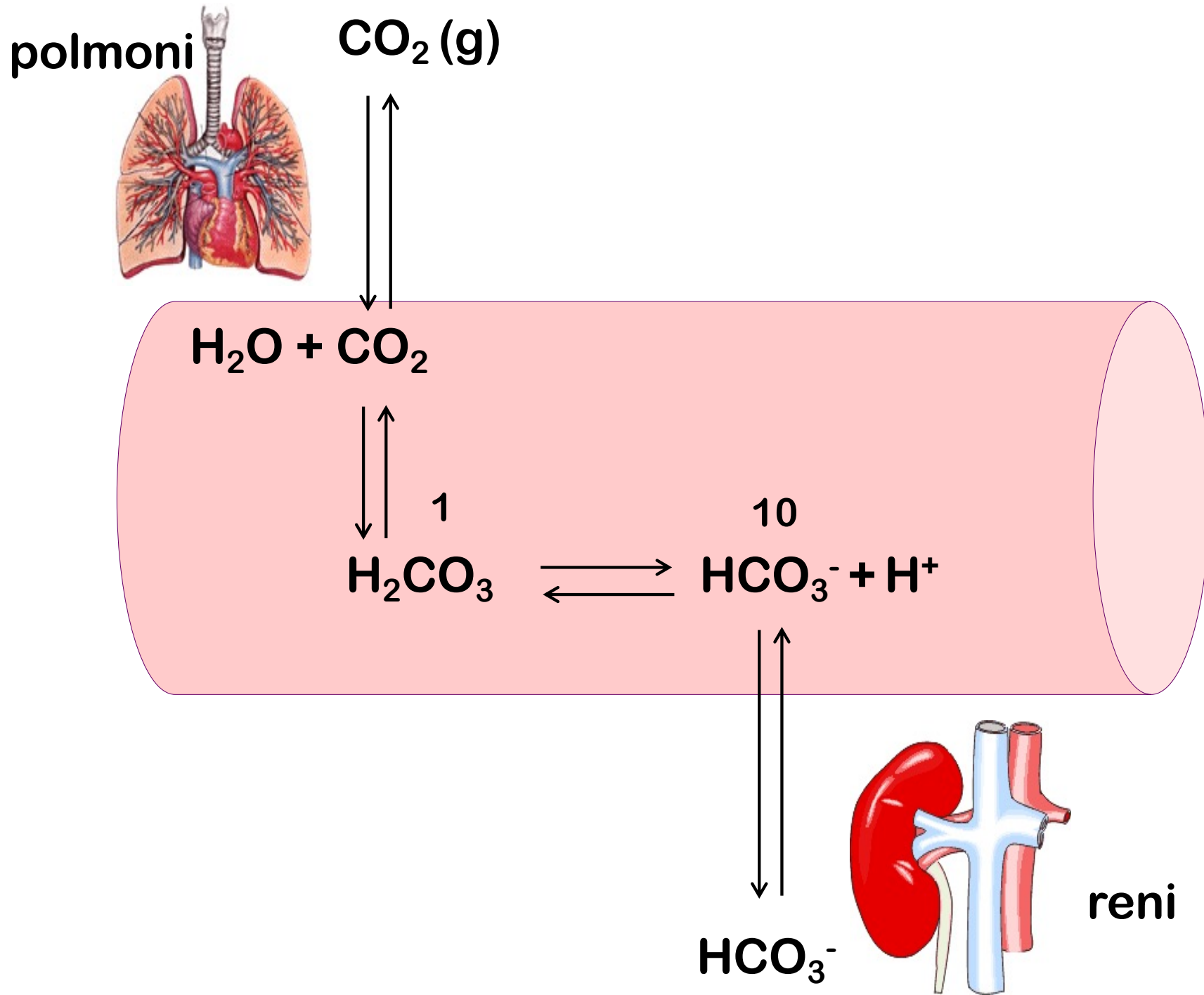
$$pH = pK'_{a1} + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]_{AQ}}$$

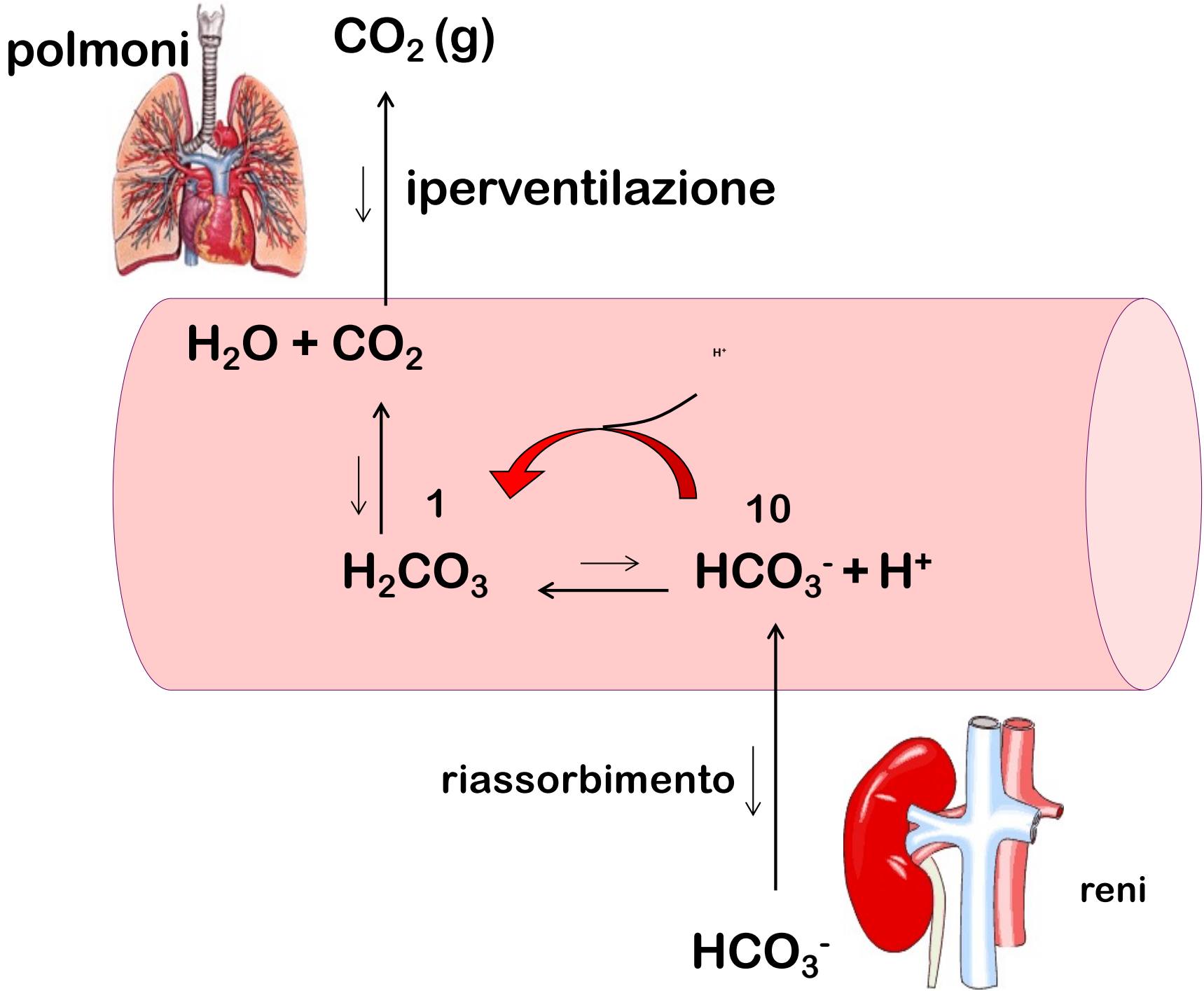


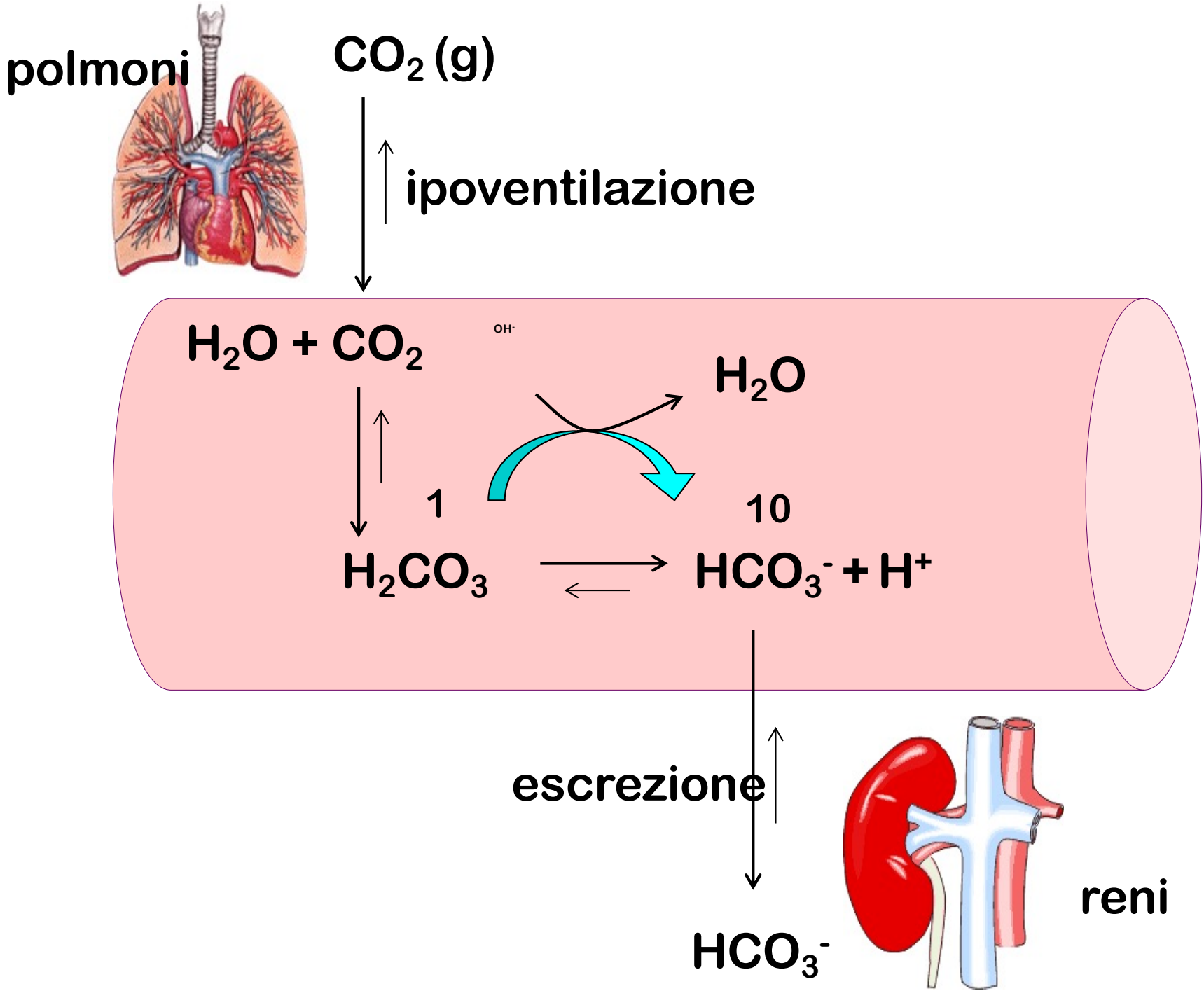
La concentrazione di HCO_3^- è regolata dalla funzione renale, mentre la concentrazione di CO_2 in soluzione dipende dalla P_{CO_2} ed è quindi regolata dalla respirazione.

Il tampone bicarbonato è quindi sotto il controllo di altri due sistemi che sono in grado di regolare indirettamente il pH.

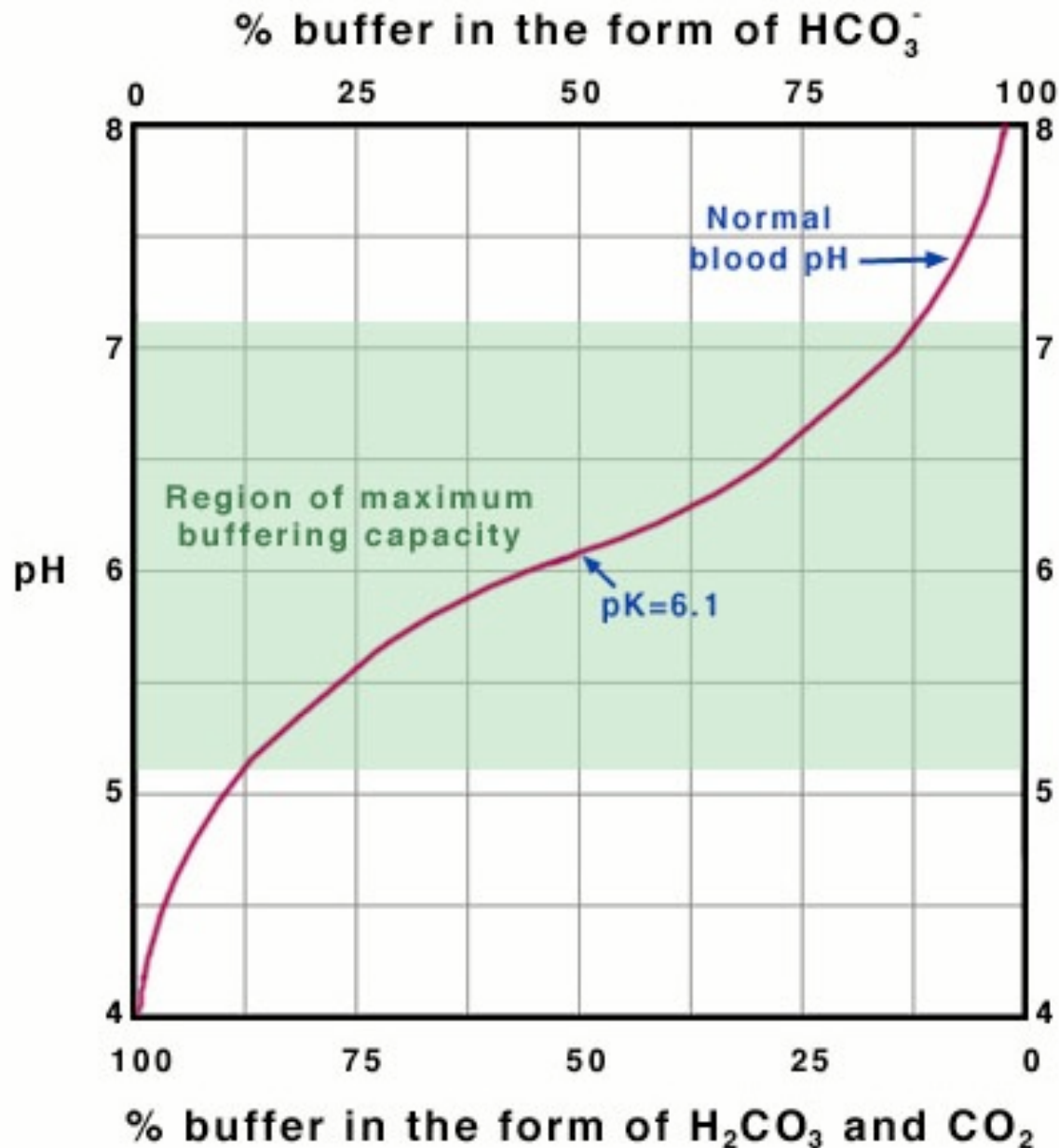
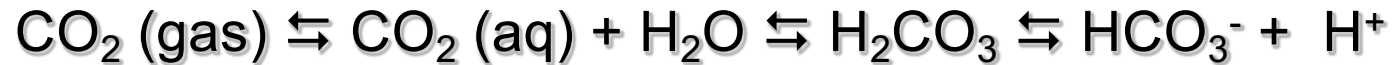






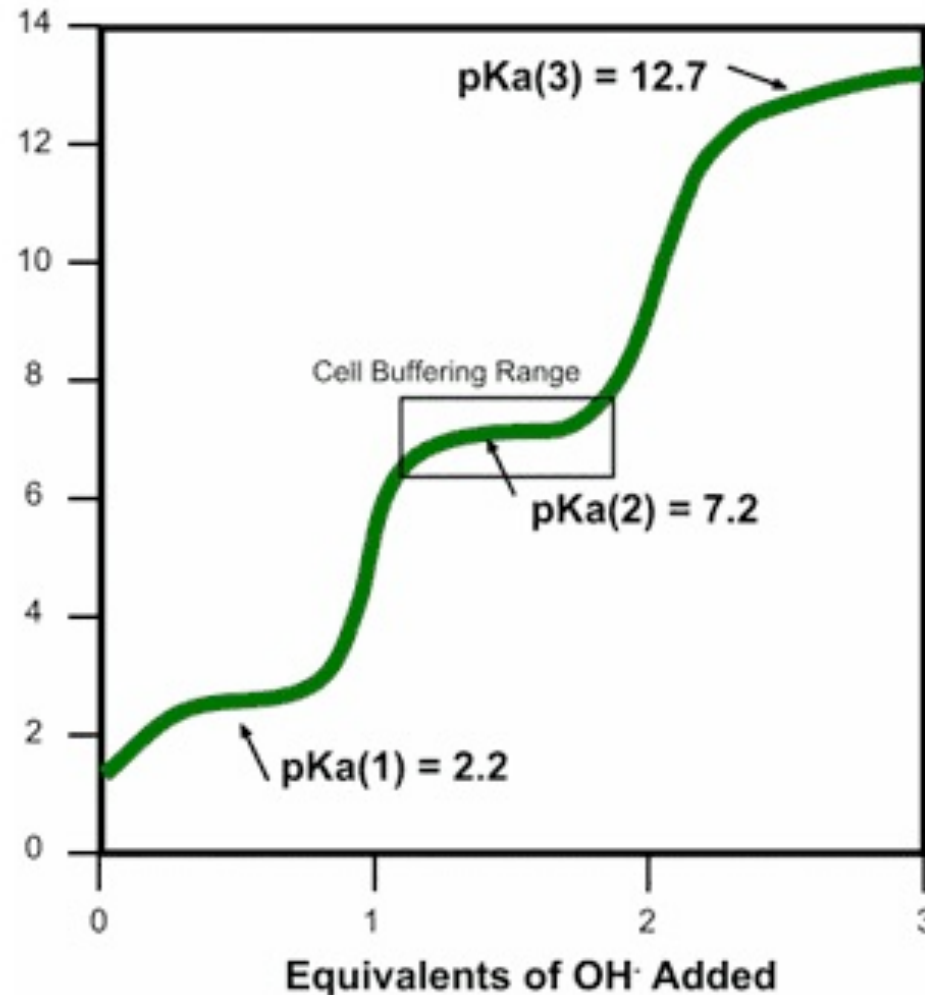
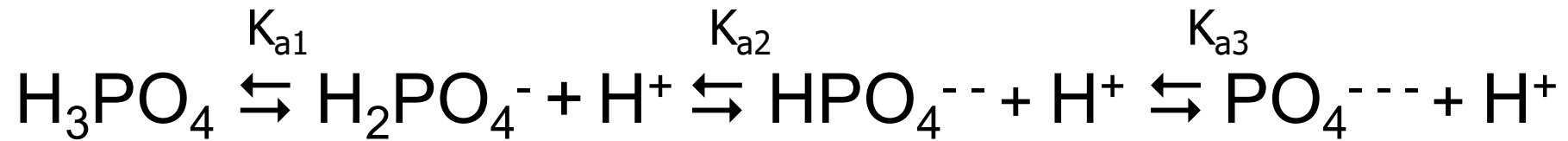


CURVA DI TITOLAZIONE DEL TAMPONE BICARBONATO



A pH = 7.4, il pH fisiologico del sangue, altri meccanismi aiutano a controllare le quantità di HCO_3^- e CO_2 necessarie per mantenere il pH costante

La coppia diidrogeno fosfato - idrogeno fosfato è importante per il mantenimento del pH intracellulare



CURVA DI TITOLAZIONE DEL TAMPONE FOSFATO

La coppia diidrogeno fosfato - idrogeno fosfato è importante per il mantenimento del pH intracellulare



$$7.4 = 7.2 + \log \frac{[HPO_4^{--}]}{[H_2PO_4^-]}$$

possiamo quindi ricavare il rapporto Base/Acido in condizioni fisiologiche normali

$$\log \frac{[HPO_4^{--}]}{[H_2PO_4^-]} = 7.4 - 7.2 = 0.2$$



$$\frac{[HPO_4^{--}]}{[H_2PO_4^-]} = 1.6$$

ALTERAZIONI DEGLI EQUILIBRI ACIDO-BASE

ACIDOSI RESPIRATORIA: il pH del sangue diminuisce a causa di una ridotta respirazione che determina un aumento della CO_2 disciolta e quindi dell'acido carbonico. (*asma, enfisema, fumo*)

ACIDOSI METABOLICA: il pH del sangue diminuisce a causa dell'aumento di sostanze acide presenti nel sangue (*intenso esercizio fisico, diabete, alimentazione*).

ALCALOSI RESPIRATORIA: il pH aumenta a causa di iperventilazione che determina una eccessiva eliminazione di CO_2 dal sangue con conseguente diminuzione di H_2CO_3 . (*svenire in caso di iperventilazione rallenta la respirazione*)

ALCALOSI METABOLICA: il pH aumenta a causa del rilascio di sostanze alcaline nel sangue. (*uso eccessivo di bicarbonato, vomito prolungato*)

Il controllo della CO_2 (P_{CO_2}) attraverso i centri respiratori e i polmoni

La pressione parziale della CO_2 nel plasma è normalmente 5.3 kpa (40 mmHg) e dipende dall'equilibrio tra la velocità di produzione attraverso il metabolismo e l'eliminazione attraverso i polmoni.

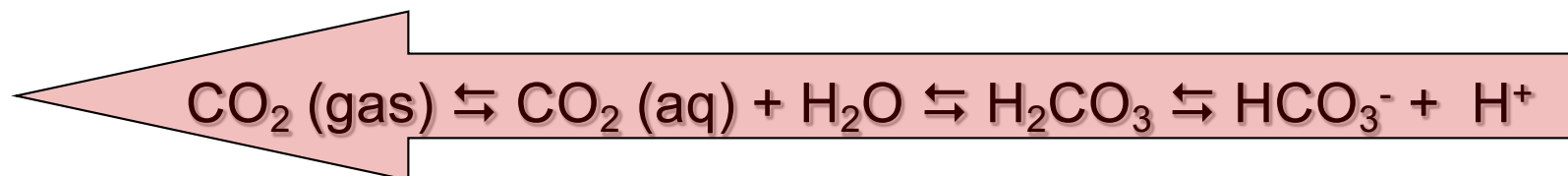
CONTROLLO DELLA CO₂

- La velocità della respirazione, e quindi la velocità di eliminazione di CO₂, è controllata da **chemorecettori del centro respiratorio** a livello cerebrale. I recettori rispondono a variazioni della [CO₂] e della [H⁺] del plasma o del fluido cerebrospinale.

Se

- 1 - la PCO₂ sale molto sopra i 5.3 kpa.
 - 2 - **il pH diminuisce.**
- Asma, enfisema, polmonite, fumo

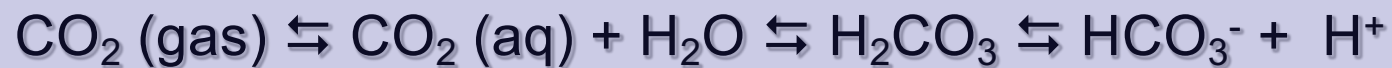
→ La velocità di respirazione aumenta.



CONTROLLO DELLA CO₂

Un aumento di sostanze basiche nel sangue determina l'aumento della [HCO₃⁻] e quindi del rapporto [HCO₃⁻] / [H₂CO₃] con conseguente **aumento del pH (ALCALOSI)**.

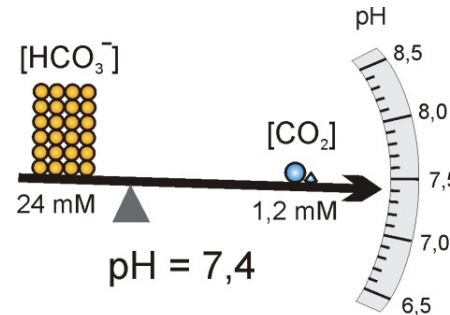
→ La velocità di respirazione diminuisce e aumenta la [CO₂].



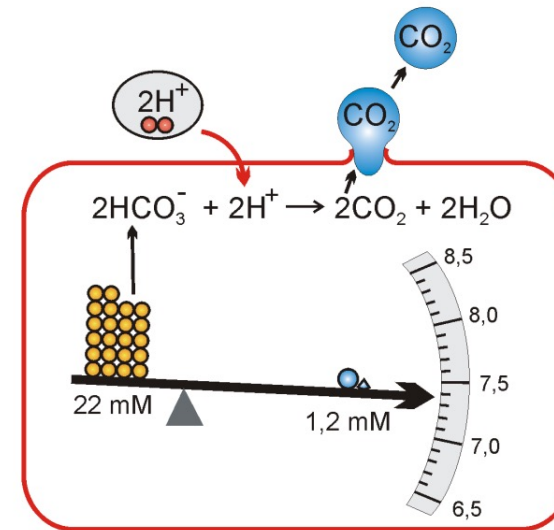
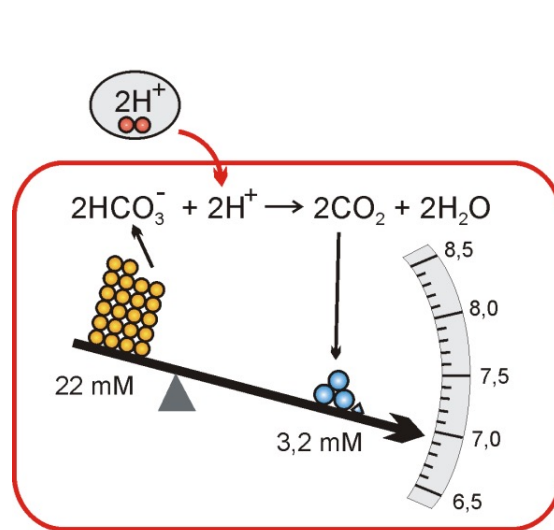
in condizioni normali

$$\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} = \frac{20}{1}$$

$$\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} = \frac{20}{1}$$



umentata acidità



Un aumento della velocità di scambio della CO₂ tra capillare e alveolo è sufficiente in un sistema aperto per compensare parzialmente l'aumento di H⁺ (acidosi) o di OH⁻ (alcalosi)

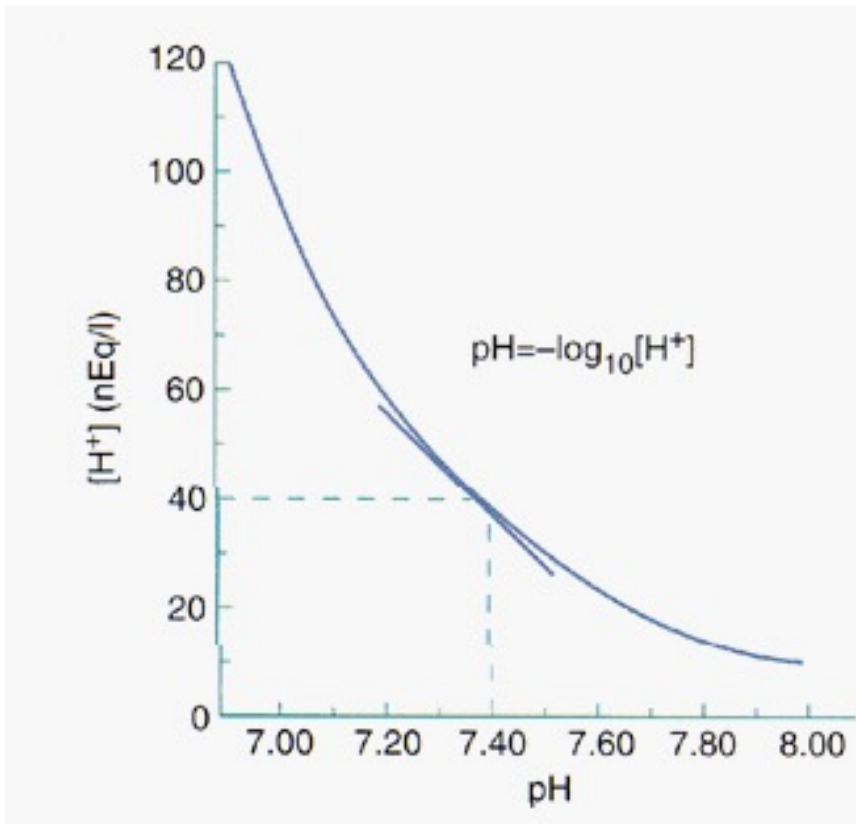
Come si misura l'equilibrio acido-base?

EMOGAS-analisi: misura del pH e delle concentrazioni di anidride carbonica disciolta e bicarbonato in campioni di sangue arterioso

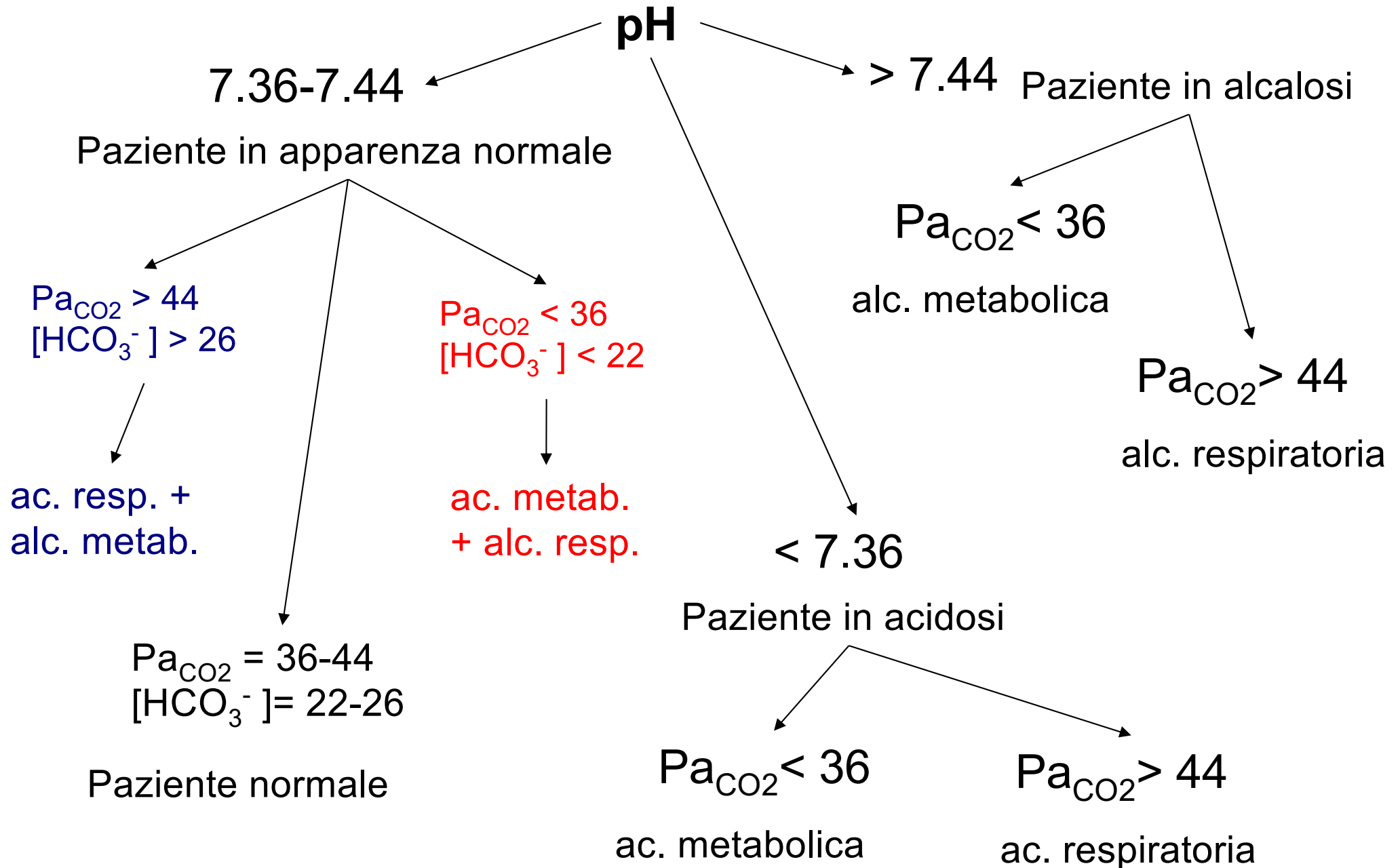
Quali sono i valori fisiologici?

$[H^+] = 40 \text{ nmol/L (36-44 nM)}$
→ $\text{pH}=7.4 \text{ (7.36-7.44)}$

$P_{\text{CO}_2} = 40 \text{ mmHg (36-44 mmHg)}$
 $[HCO_3^-] = 24 \text{ mmol/L (22-26 mM)}$



Qual è il risultato dell'emogasanalisi?



R.O.M.E.

Respiratory = Opposite
Metabolic = Equal

Respiratory = **O**pposite

pH is high, PCO₂ is low ↑ ↓
(Alkalosis, Respiratory)

pH is low, PCO₂ is high ↓ ↑
(Acidosis, Respiratory)

Metabolic = **E**qual

pH is high, HCO₃ is high ↑ ↑
(Alkalosis, Metabolic)

pH is low, HCO₃ is low ↓ ↓
(Acidosis Metabolic)

