



**Corso di Laurea Magistrale in
"Medicina e Chirurgia"**

**Biofisica e Fisiologia I
A.A. 2016-17**

POTENZIALE DI MEMBRANA

Prof. Clara Iannuzzi

Dipartimento di Biochimica, Biofisica e Patologia Generale

clara.iannuzzi@unina2.it

Equilibrio diffusivo

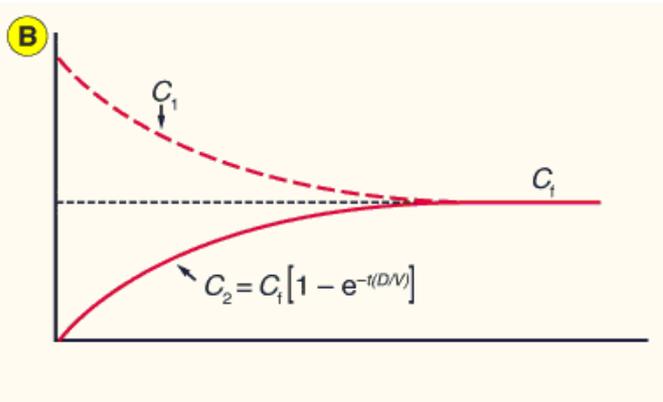
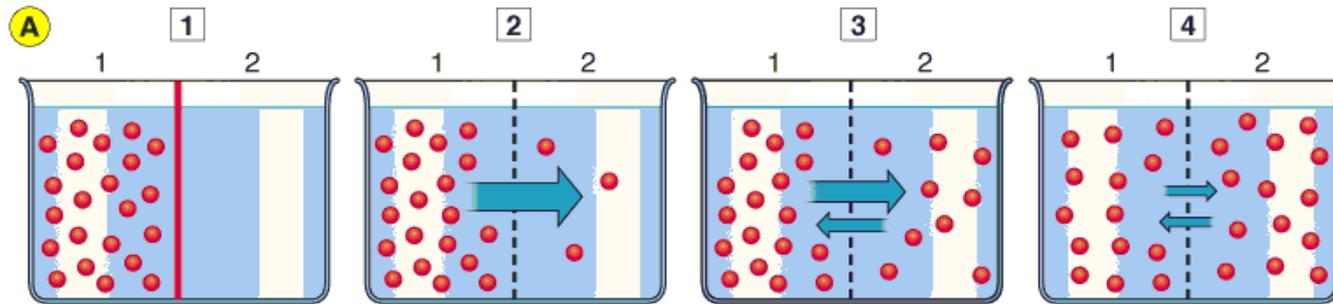
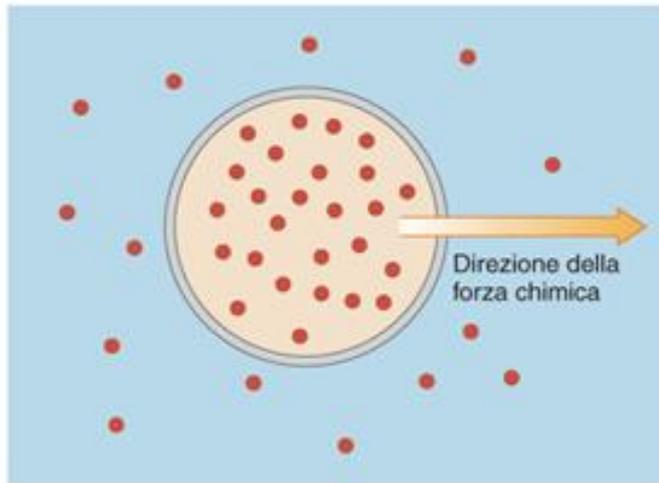
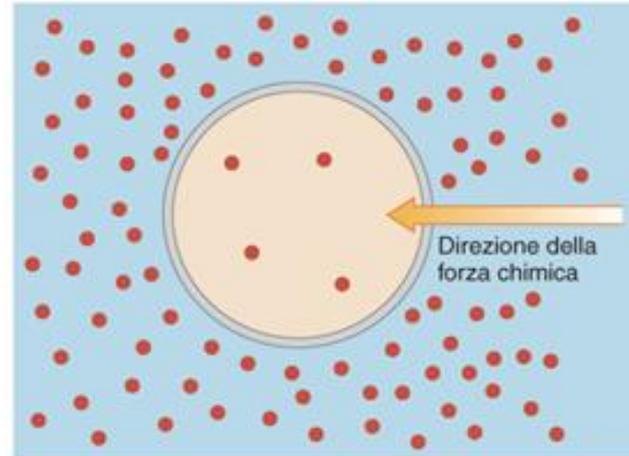


Figura 3-4 ► **A:** Flussi unidirezionali di un soluto durante lo stabilirsi dell'equilibrio diffusionale in una soluzione. Le dimensioni delle frecce indicano la probabilità che un certo numero di molecole passi da un compartimento all'altro, quindi l'intensità dei flussi unidirezionali. **B:** Andamento temporale delle concentrazioni nei due compartimenti. Si noti che la velocità di crescita di C_2 dipende, com'è facile prevedere, dal coefficiente di diffusione (D) e dal volume del compartimento (V); lo stesso vale per la velocità con cui diminuisce C_1 .

Forza chimica



(a)



(b)

FIGURA 4.1 Forze chimiche. (a) Quando la concentrazione di molecole (punti) è maggiore all'interno della cellula rispetto al liquido extracellulare, la direzione della forza chimica (freccia) è verso l'esterno. (b) Quando la concentrazione di molecole è maggiore nel liquido extracellulare, la direzione della forza chimica è verso l'interno. In entrambi i casi, le molecole si muoveranno passivamente secondo la direzione della forza o, in altri termini, secondo il gradiente di concentrazione.

Soluti ionici



- ✓ Dissociano in soluzione
- ✓ Ioni dotati di carica

Forze agenti sugli ioni

- Gradiente di Concentrazione
- Campo Elettrico

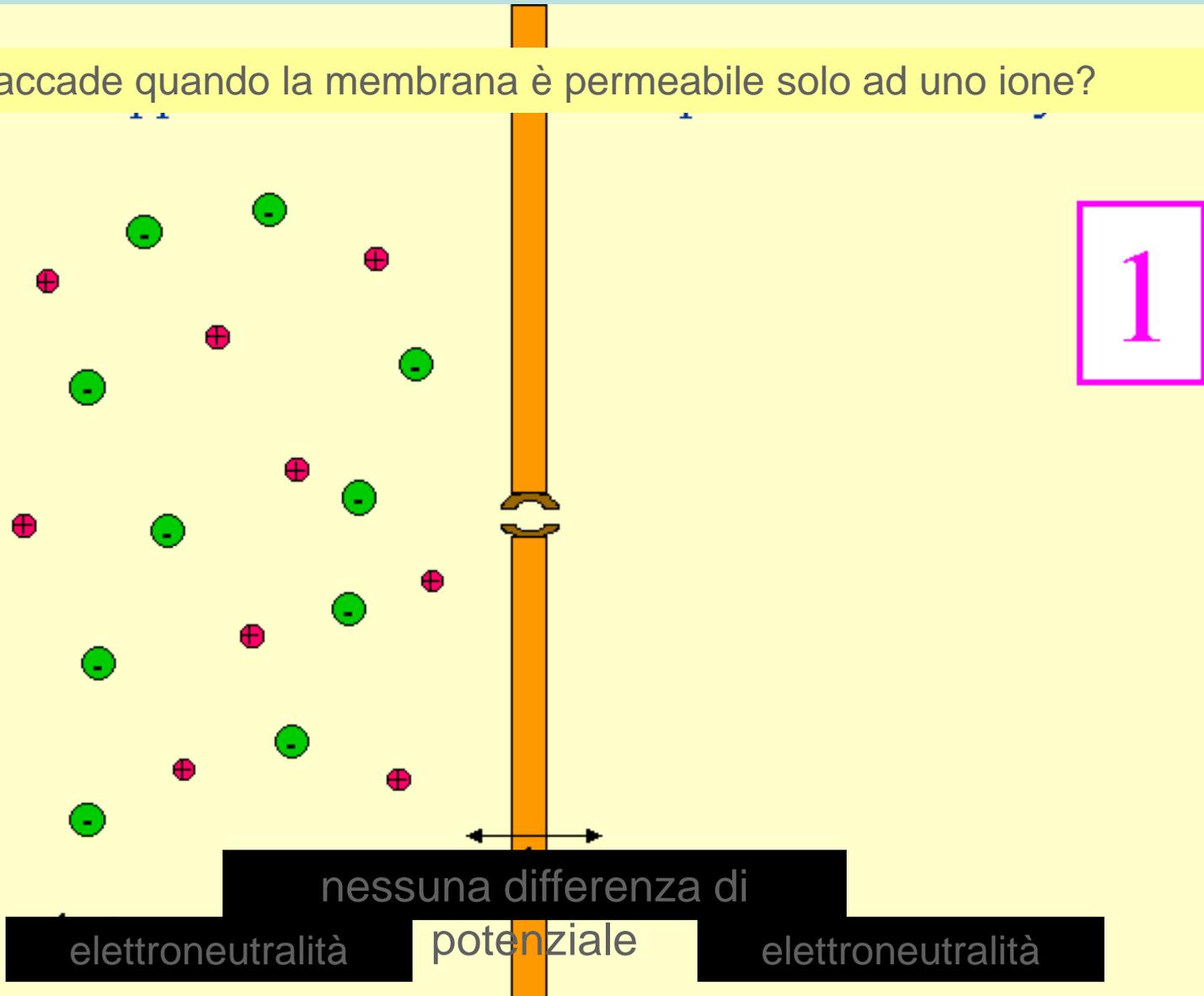
Energia chimica

è l'energia contenuta in un gradiente di concentrazione

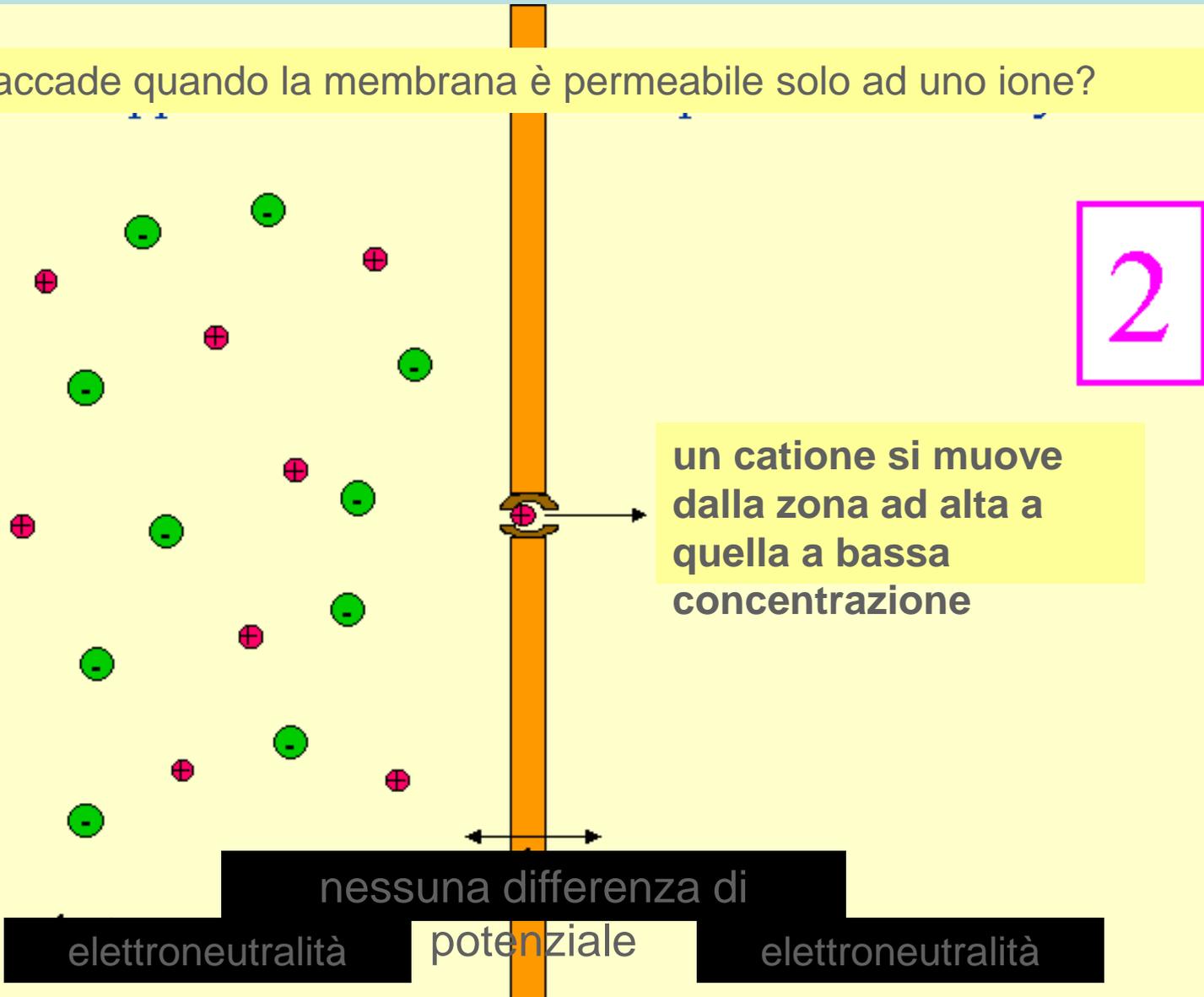
Energia elettrica

è l'energia dovuta alle cariche in un campo elettrico

Cosa accade quando la membrana è permeabile solo ad uno ione?



Cosa accade quando la membrana è permeabile solo ad uno ione?



2

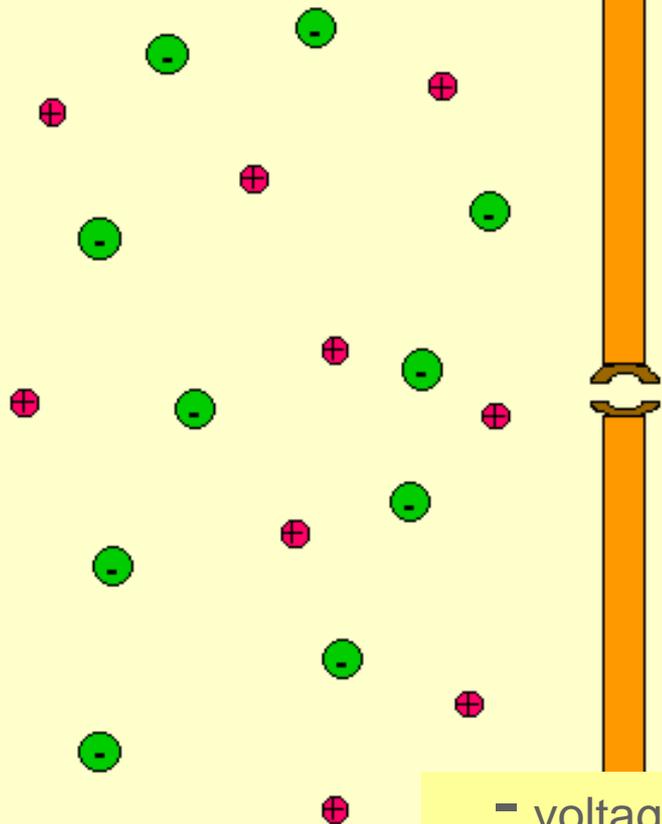
un catione si muove dalla zona ad alta a quella a bassa concentrazione

nessuna differenza di
potenziale

elettroneutralità

elettroneutralità

Cosa accade quando la membrana è permeabile solo ad uno ione?



3

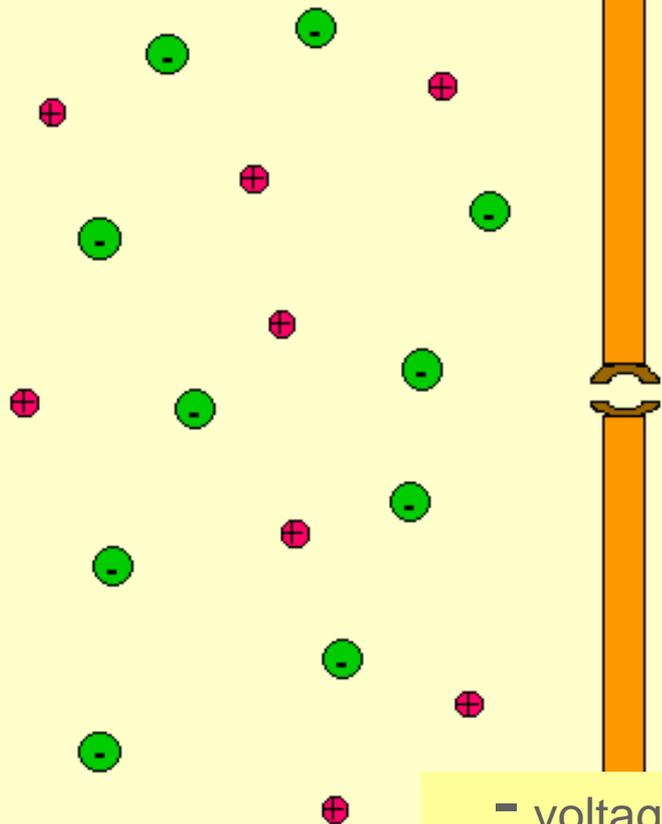
Su entrambi i lati le cariche non sono più bilanciate

- voltaggio +

eccesso di carica -

eccesso di carica +

Cosa accade quando la membrana è permeabile solo ad uno ione?



4

l'eccesso di cariche + tende a respingere i cationi da questo lato

- voltaggio +

eccesso di carica -

eccesso di carica +

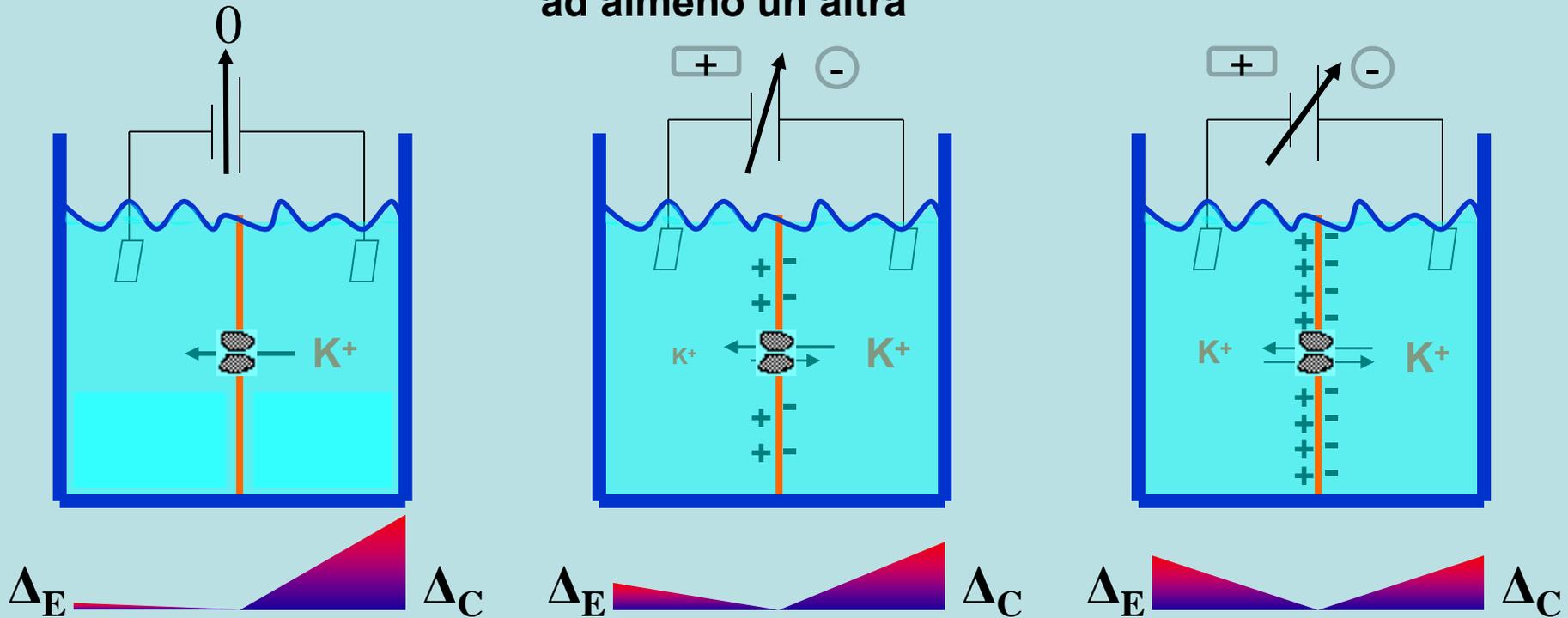
Cosa accade quando la membrana è permeabile solo ad uno ione?



5

Equilibrio di Nernst:

membrana permeabile ad almeno una specie ionica ed impermeabile ad almeno un'altra



All'equilibrio:

flusso dovuto al gradiente di concentrazione = flusso dovuto al potenziale elettrico

Lavoro elettrico = Lavoro chimico

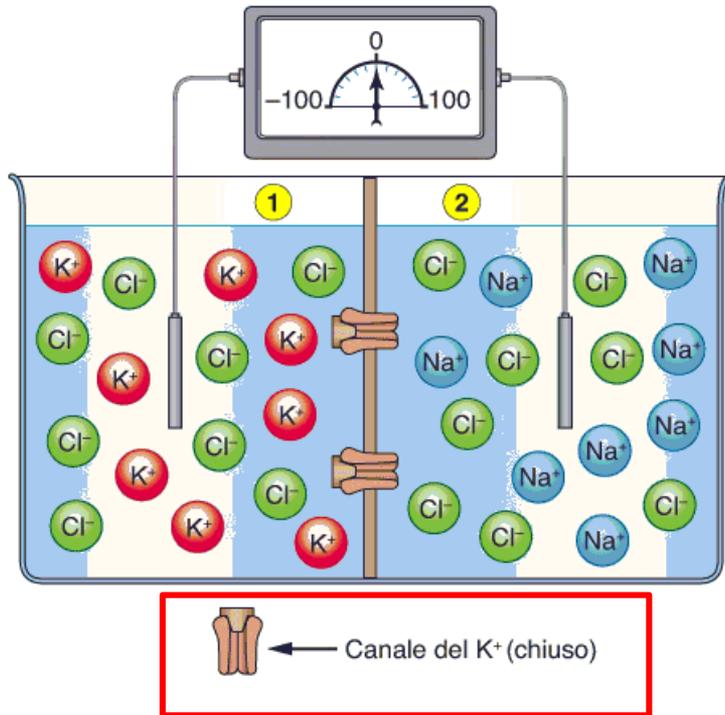


Figura 6-1 ► La membrana che separa i due compartimenti contiene canali ionici selettivi per il K^+ , ma sono tutti chiusi. La differenza di potenziale è perciò nulla, sebbene sussistano differenze di concentrazione ionica tra i due compartimenti.

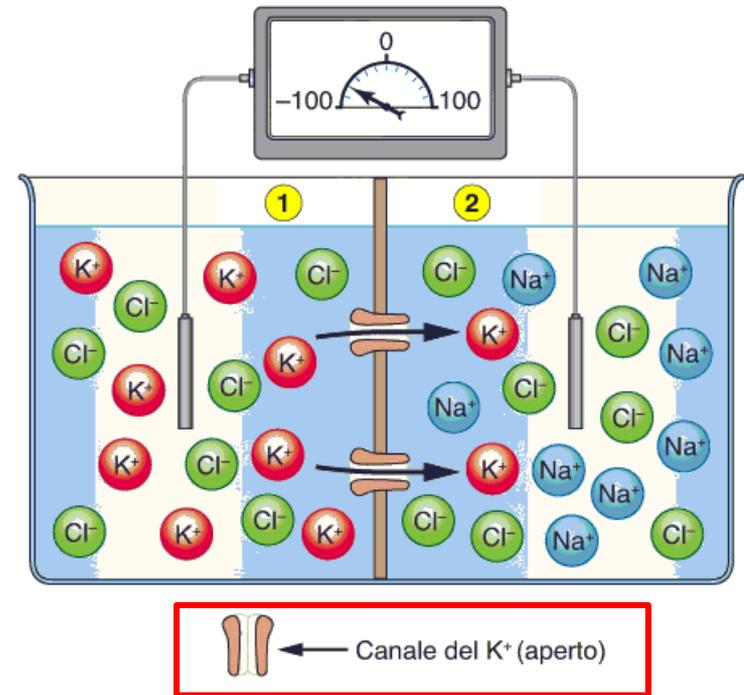


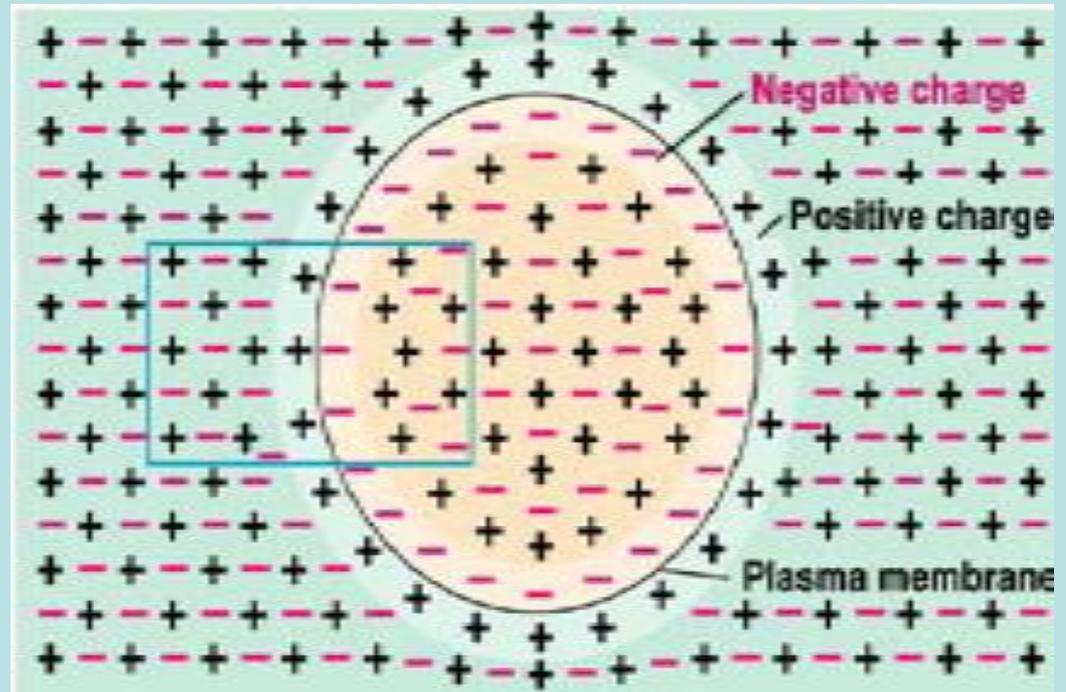
Figura 6-2 ► Immaginando di aprire i canali ionici presenti nella membrana, la diffusione degli ioni K^+ dal compartimento 1 al compartimento 2 genera in breve tempo una differenza di potenziale pari al potenziale di equilibrio E_K .

Potenziale di equilibrio

Il potenziale è una grandezza fisica, si tratta di una differenza di potenziale elettrico e ciò che mette in moto le cariche di un conduttore.

Il potenziale di equilibrio di uno ione è la differenza di potenziale elettrico necessaria a mantenere in equilibrio concentrazioni differenti della specie ionica considerata.

Gran parte del LEC e del LIC è elettricamente neutra. Le cariche sbilanciate si accumulano in uno strato sottile sulla membrana plasmatica.



Equilibrio elettrodifusivo

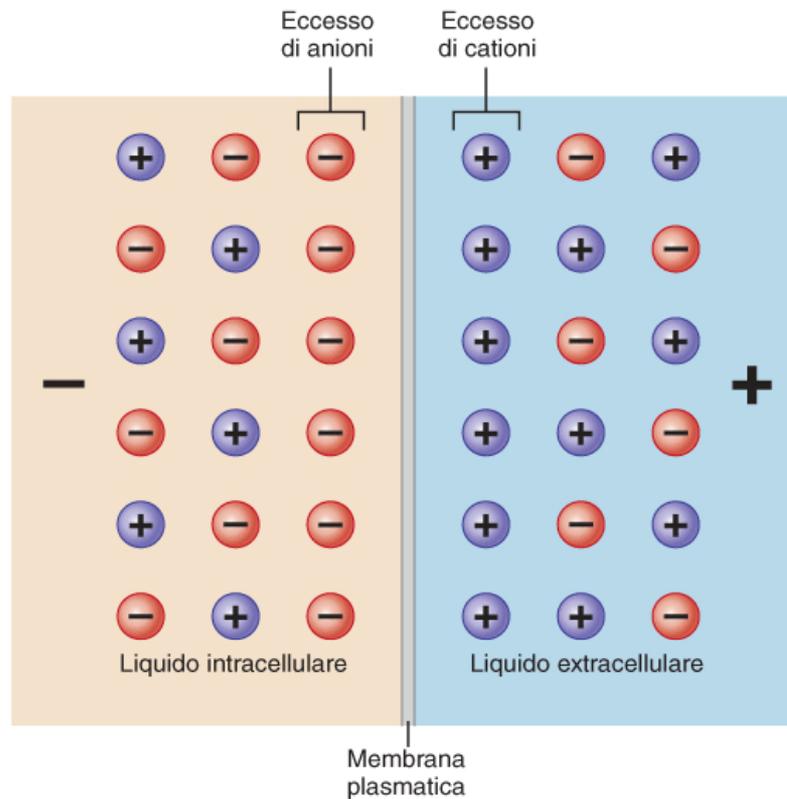


FIGURA 4.2 Separazione delle cariche ai due lati della membrana.

In condizioni normali, il liquido che si trova dentro la cellula contiene un numero leggermente maggiore di anioni (cariche negative), mentre il liquido all'esterno della cellula contiene un numero leggermente maggiore di cationi (cariche positive). Queste cariche in eccesso sono raggruppate nella regione vicina alla membrana. La carica netta all'interno e all'esterno della cellula è indicata dai segni (+) e (-) nei due compartimenti.

Il potenziale di equilibrio

Equazione di Nerst: definisce il potenziale di equilibrio di uno ione.

$$E = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

E = potenziale di equilibrio dello ione

R = costante dei gas perfetti

T = temperatura assoluta (gradi Kelvin, -273°C)

F = Costante di Faraday (numero di Coulomb/mole di carica)

z = valenza dello ione con il suo segno

X_i = concentrazione interna dello ione

X_e = concentrazione esterna dello ione

Alla temperatura di 25°C il rapporto RT/F è 25mV, e il fattore di conversione del logaritmo naturale in logaritmo decimale 2.3

$$E = \frac{58}{z} \log_{10} \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

Potenziale di equilibrio di uno ione = differenza di potenziale elettrico necessaria a mantenere in equilibrio concentrazioni differenti della specie ionica considerata.

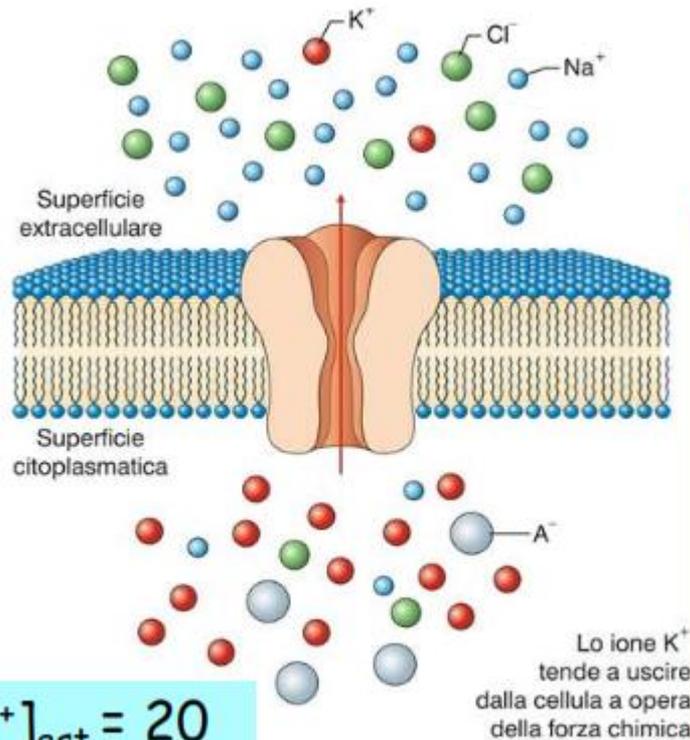


Equazione di Nerst: permette di calcolare il potenziale d'equilibrio di uno ione a partire dalle concentrazioni.



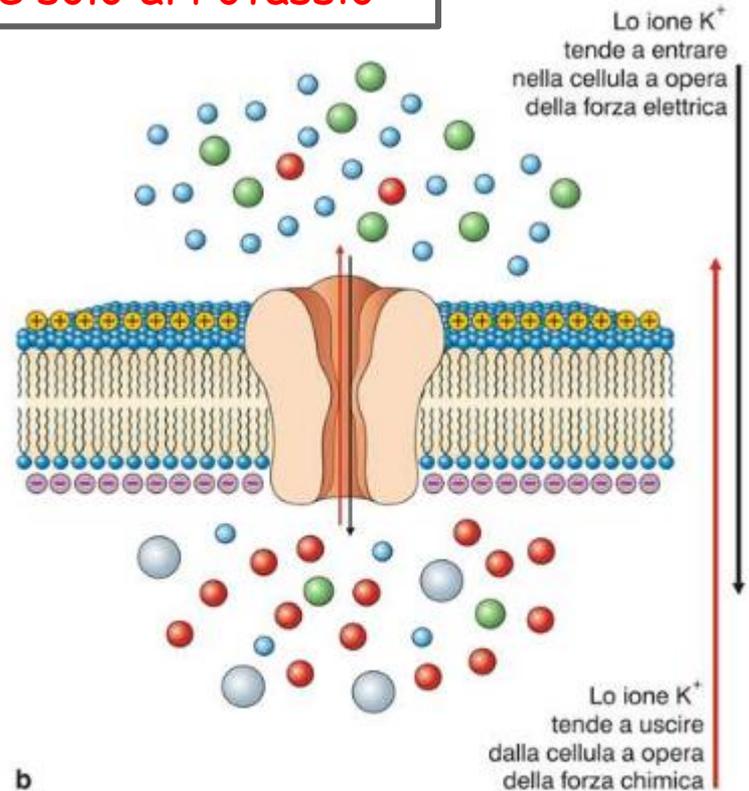
L'equazione di Nerst si applica singolarmente a ciascuna specie ionica

Membrana permeabile solo al Potassio



$$[K^+]_{est} = 20$$

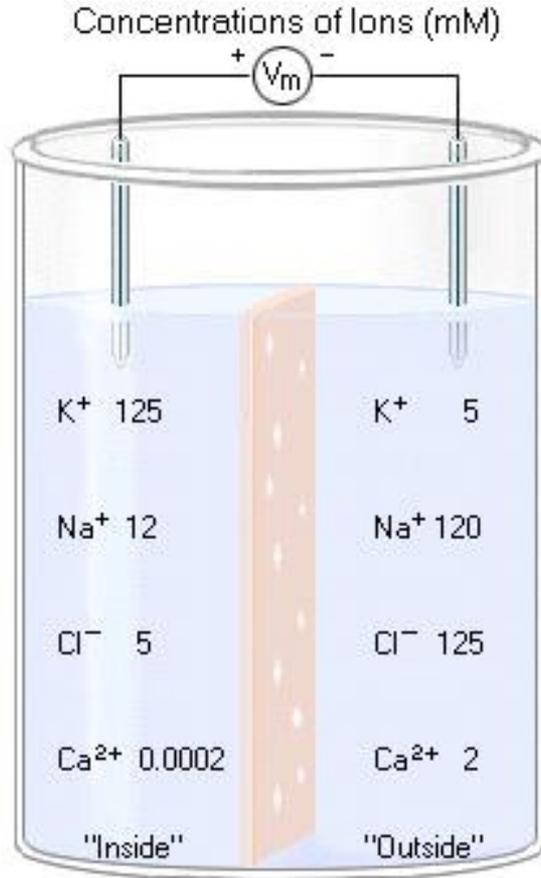
$$[K^+]_{int} = 400$$



Potenziale di equilibrio del K^+

$$E_k = \frac{+58 \text{ mV}}{z} \log \frac{[K^+]_{est}}{[K^+]_{int}} = \frac{+58 \text{ mV}}{1} \log \frac{20}{400} = -75 \text{ mV}$$

Equazione di Nerst



$$E_i = \frac{58}{z} \text{ mV} \log\left[\frac{c_2}{c_1}\right]$$

$$E_K = 58 \text{ mV} \log\left[\frac{5}{125}\right] = -81 \text{ mV}$$

$$E_{Na} = 58 \text{ mV} \log\left[\frac{120}{12}\right] = +58 \text{ mV}$$

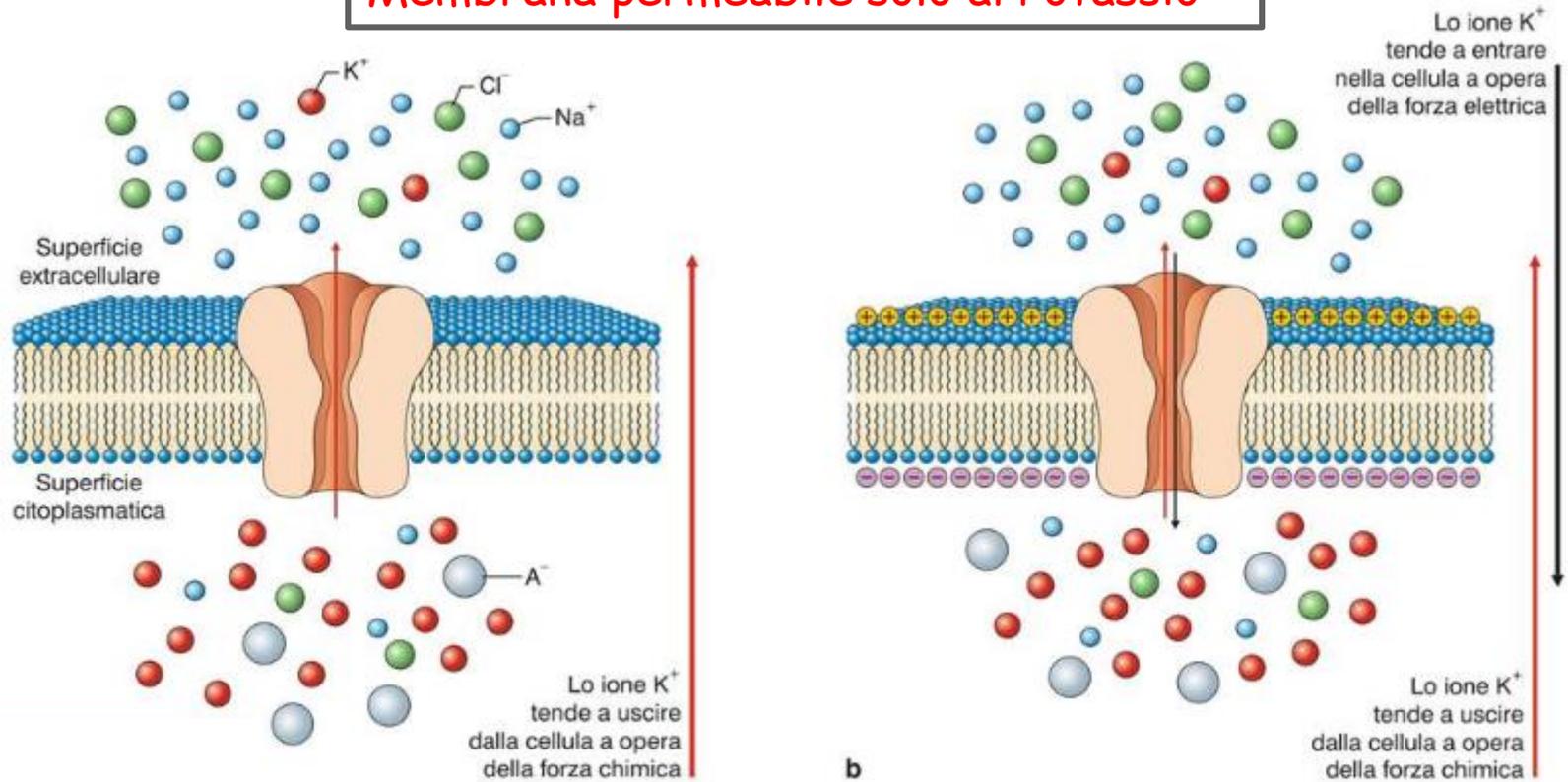
$$E_{Cl} = -58 \text{ mV} \log\left[\frac{125}{5}\right] = -81 \text{ mV}$$

$$E_{Ca} = 29 \text{ mV} \log\left[\frac{2}{0.0002}\right] = +116 \text{ mV}$$

V_1

V_2

Membrana permeabile solo al Potassio



Se la membrana cellulare fosse permeabile solo al potassio, il potenziale elettrico della membrana coinciderebbe proprio con il potenziale di equilibrio del potassio.

Membrana simultaneamente permeabile a K^+ e Cl^-

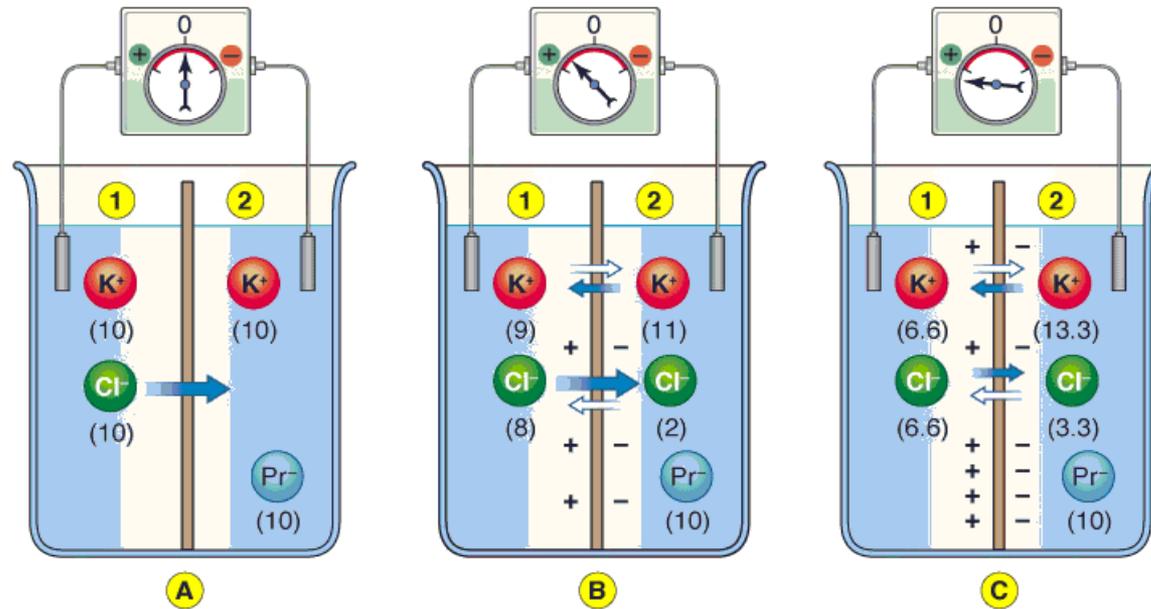


Figura 1 ▶ Esempio di equilibrio di Donnan a cavallo di una membrana provvista di canali permeabili agli ioni inorganici, ma impermeabili alle proteine. Le *freccie blu* indicano flussi secondo gradiente di *concentrazione*, quelle *bianche* indicano flussi secondo gradiente *elettrico*.

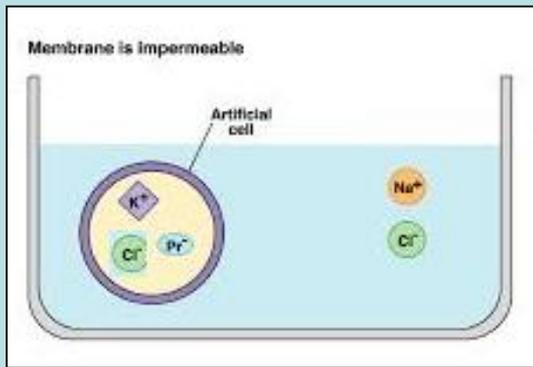
Equilibrio di Donnan

$$E_m = E_K = E_{Cl}$$

$$[K^+]_1[Cl^-]_1 = [K^+]_2[Cl^-]_2$$

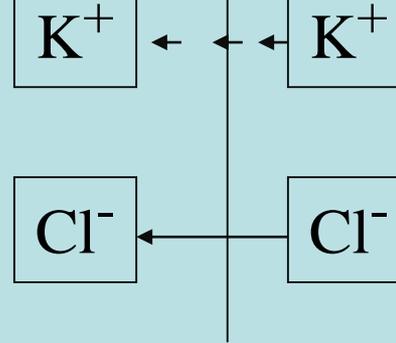
All'equilibrio il prodotto delle concentrazioni delle specie ioniche diffusibili presenti nei due compartimenti è uguale.

	Intra (mM)	Extra (mM)
K ⁺	150	150
Na ⁺	10	100
Cl ⁻	50	250
A ⁻	110	0



Membrana

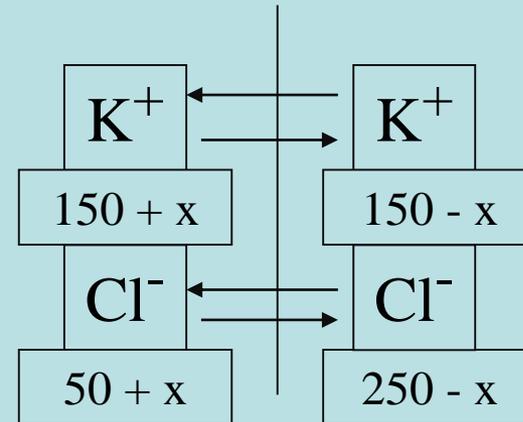
1



$$x = 50 \text{ mM}$$

	Intra	Extra
[K ⁺]	200	100
[Cl ⁻]	100	200

2



3

$$(150 + x) (50 + x) = (150 - x) (250 - x)$$

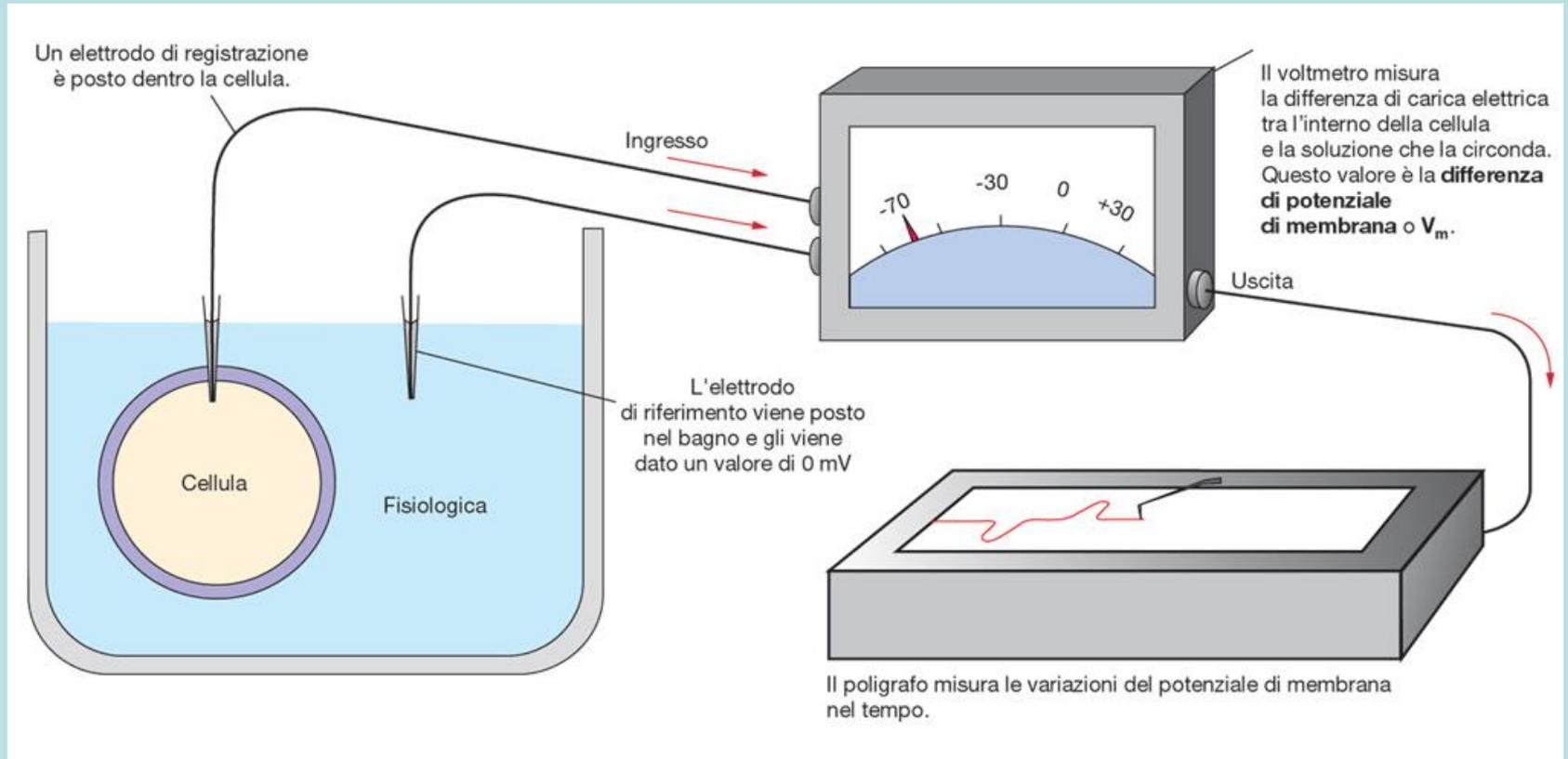
Composizione del mezzo intracellulare ed extracellulare (mM)

ione	LIC	LEC	E_i
K^+	125	5	-81
Na^+	12	150	+62
Cl^-	4	120	-85
$A^{-1,25}$	108	0	

Il **potenziale di equilibrio** di ciascuna specie ionica diffusibile è calcolabile mediante l'equazione di Nerst a partire dalle loro concentrazioni intra- ed extracellulari.

Potenziale di membrana

Misura della differenza di potenziale tra i due lati della membrana



Composizione del mezzo intracellulare ed extracellulare (mM)

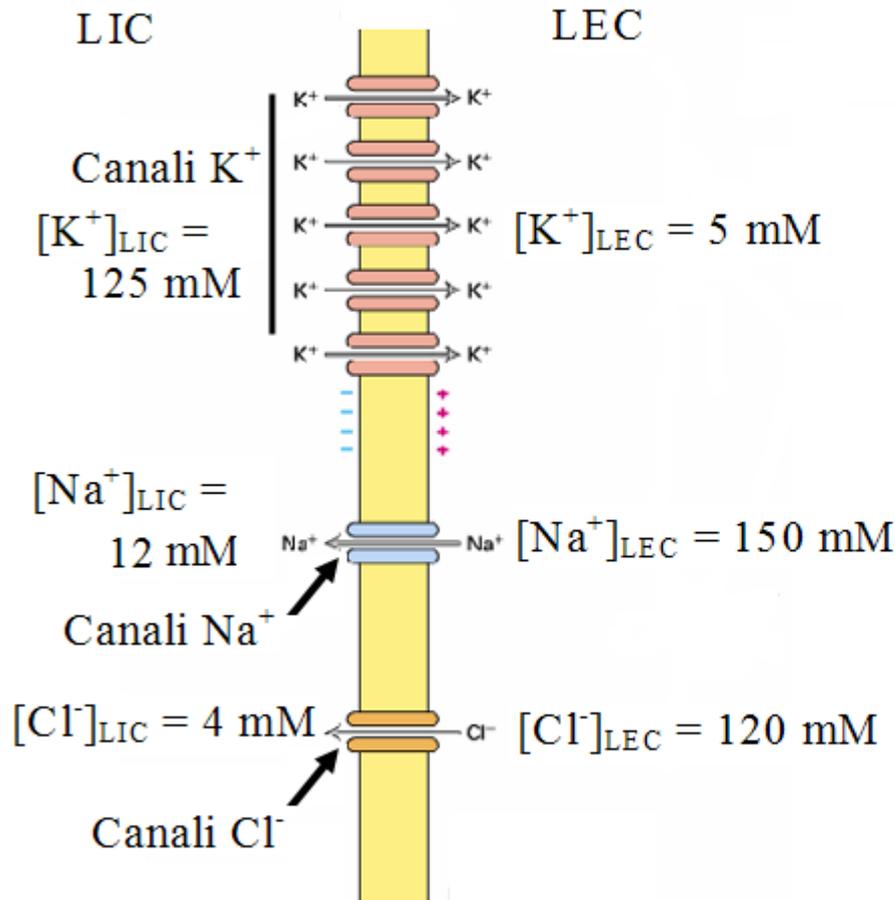
ione	LIC	LEC	E_i
K^+	125	5	-81
Na^+	12	150	+62
Cl^-	4	120	-85
$A^{-1,25}$	108	0	

Il **potenziale di membrana** non corrisponde al potenziale di equilibrio di ciascuna specie ionica diffusibile calcolata mediante l'equazione di Nerst a partire dalle loro concentrazioni intra- ed extracellulari.

Qual è l'origine del
potenziale di membrana



Origine del Potenziale di riposo



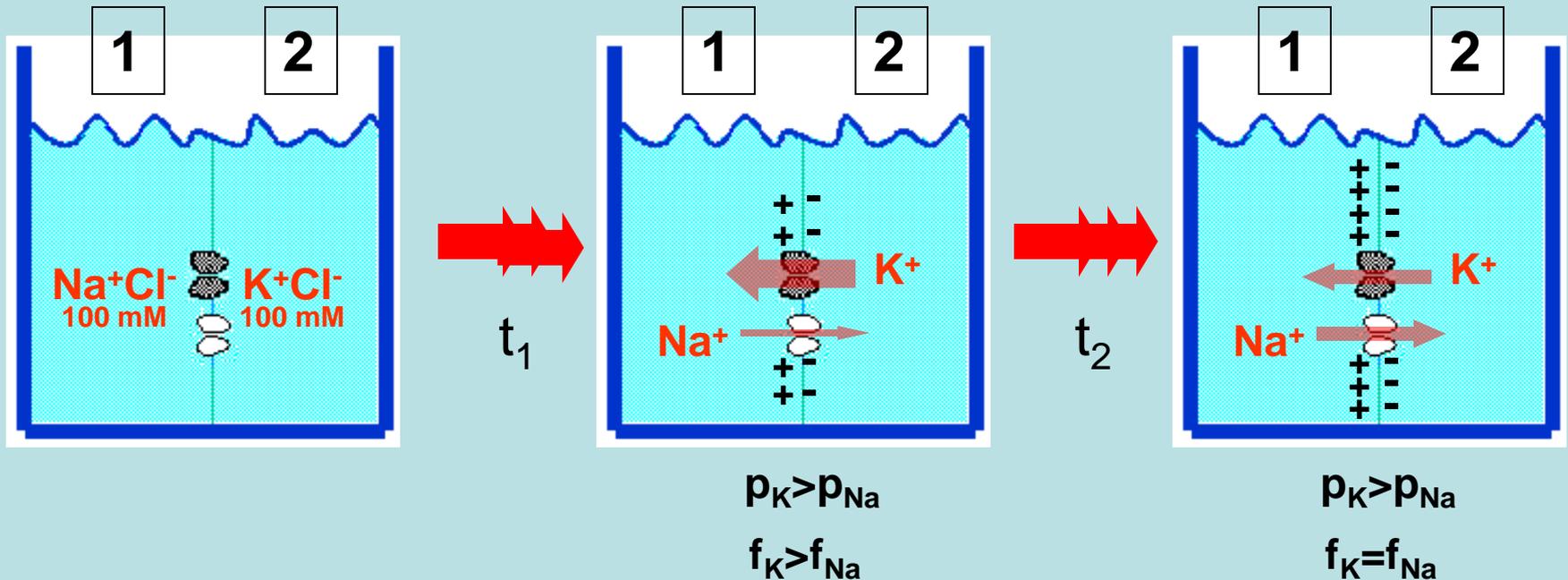
Il potenziale di riposo di una cellula è determinato dall'asimmetrica distribuzione degli ioni nei due ambienti intra ed extra-cellulare e dalla differente conduttanza alle diverse specie ioniche.

In un neurone vi sono un numero di canali del potassio aperti 10 volte maggiore rispetto a quelli del sodio e del cloro

Gli ioni contribuiscono in maniera diversa al potenziale di membrana di una cellula a riposo. Nel neurone i canali del K^+ sono predominanti e questo contribuisce notevolmente al potenziale di membrana.

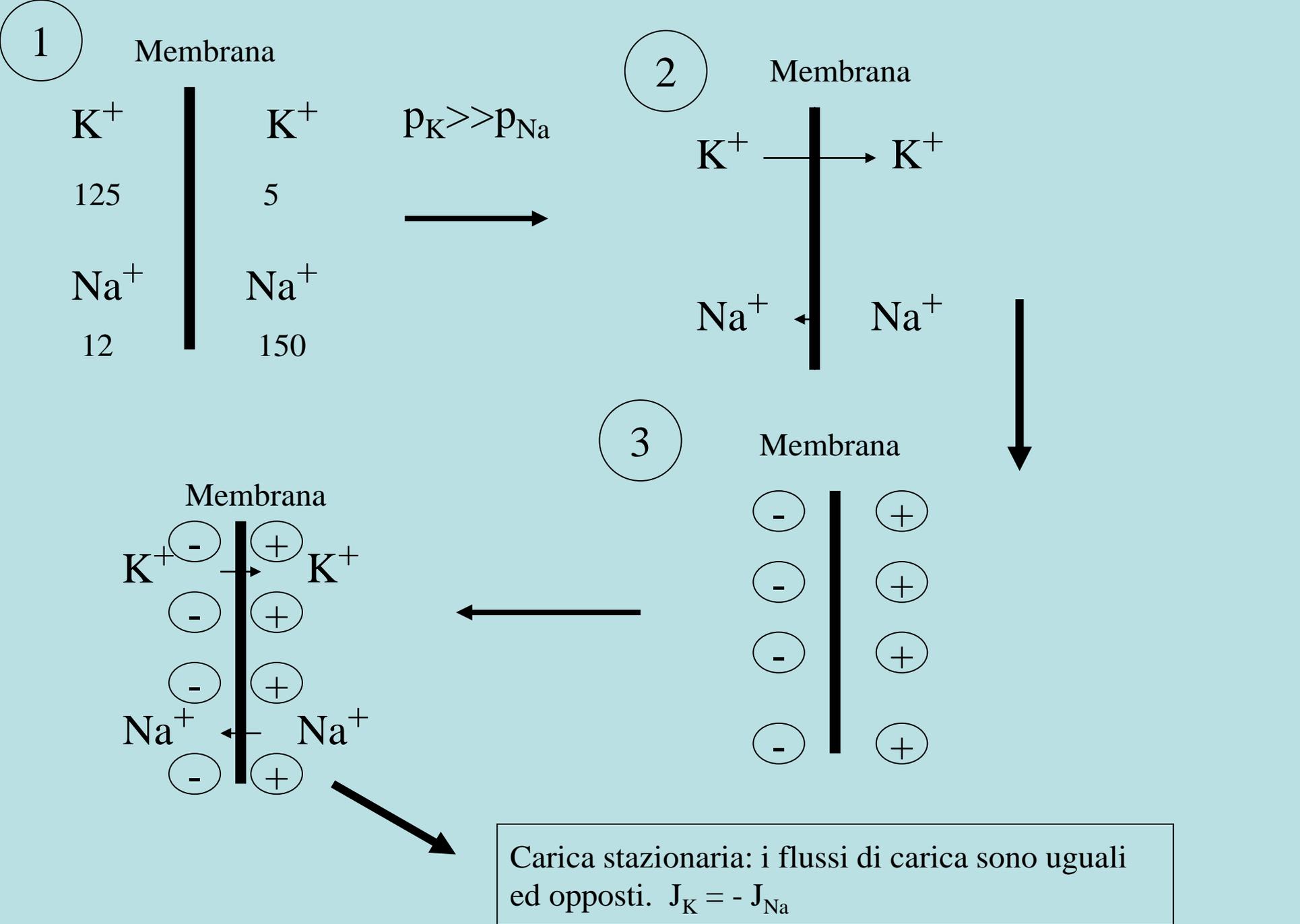
Genesi di un potenziale di diffusione:

Si genera quando la membrana è permeabile in misura diversa alle varie specie ioniche

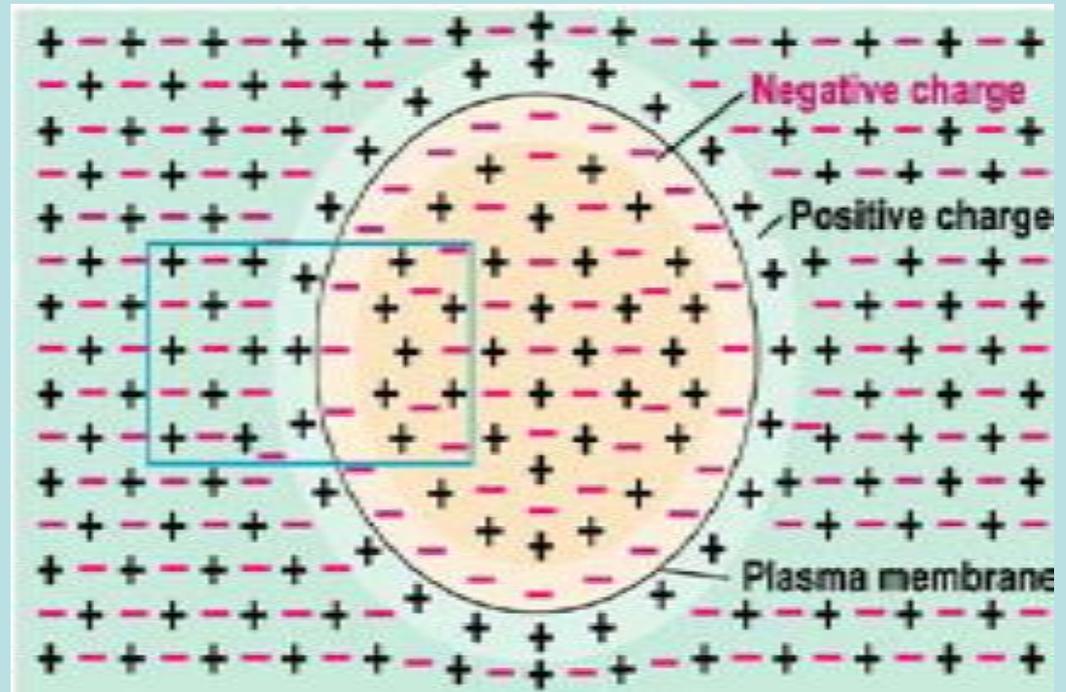


Un potenziale di diffusione persiste per il tempo necessario a raggiungere una condizione di equilibrio diffusivo. All'equilibrio,

$$E_m = 0$$



Gran parte del LEC e del LIC è elettricamente neutra. Le cariche sbilanciate si accumulano in uno strato sottile sulla membrana plasmatica.



Equilibrio elettrodifusivo

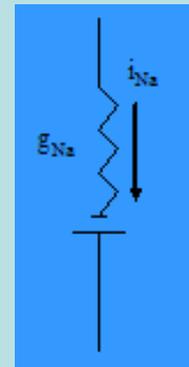
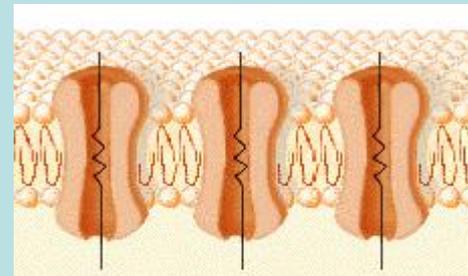
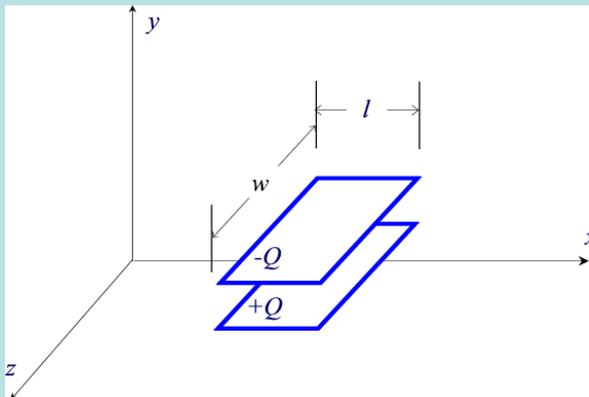
Proprietà elettriche delle membrane biologiche

Capacità: determinata dall'impermeabilità agli ioni del doppio strato lipidico, che consente di separare le cariche elettriche;

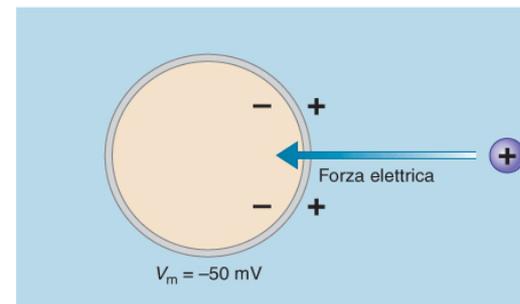
Conduttanza: determinata dai canali ionici provvedono ad un passaggio attraverso cui gli ioni inorganici trasportano cariche attraverso la membrana.

Condensatore piano

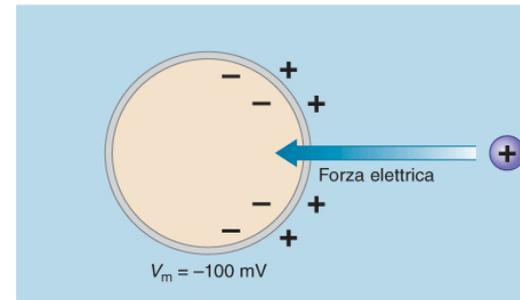
Conduttore



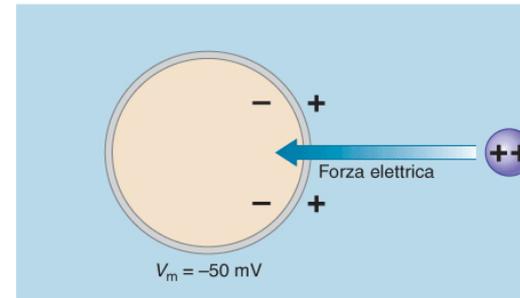
Maggiore è il valore assoluto del potenziale di membrana, maggiore sarà la forza elettrica che agisce sugli ioni.



(a)



(b)



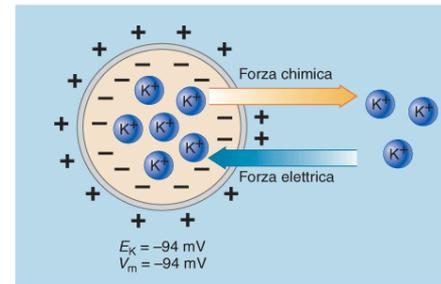
(c)

FIGURA 4.4 Effetti del potenziale di membrana e della valenza ionica (carica) sulla forza elettrica. (a) In presenza di un potenziale di membrana negativo ($V_m = -50$ mV), una forza elettrica diretta verso l'interno (freccia) agisce sugli ioni carichi positivamente che stanno attraversando la membrana. (b) Se l'ampiezza del potenziale di membrana aumenta al valore di -100 mV, aumenta anche l'ampiezza della forza elettrica (come rappresentato dal maggior spessore della freccia). (c) La forza elettrica è maggiore anche nel caso di ioni con valenza maggiore.

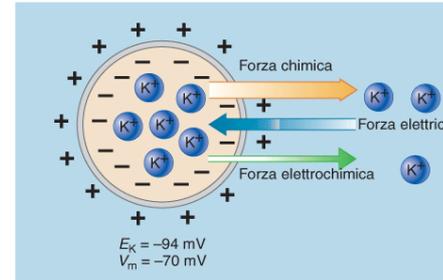
Potenziale di membrana= Potenziale di equilibrio

Potenziale di membrana meno negativo del potenziale di equilibrio

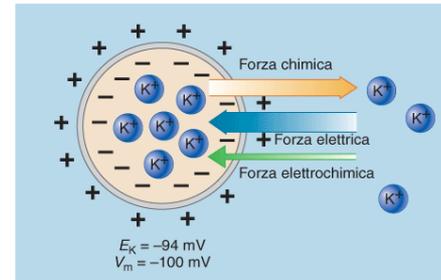
Potenziale di membrana più negativo del potenziale di equilibrio



(a)



(b)



(c)

FIGURA 4.5 Forze elettrica, chimica ed elettrochimica che agiscono sugli ioni potassio che attraversano una membrana plasmatica.

Il potenziale di equilibrio per il K^+ è -94 mV e il potenziale di membrana viene assunto negativo. **(a)** Quando il potenziale di membrana diventa uguale al potenziale di equilibrio ($V_m = -94 \text{ mV}$), la forza elettrochimica del K^+ è zero. **(b)** Quando il potenziale di membrana è -70 mV , la forza elettrica è più piccola di quella chimica (confrontate la lunghezza delle frecce) e la forza elettrochimica è diretta verso l'esterno. **(c)** Quando il potenziale di membrana è -100 mV , la forza chimica è più piccola di quella elettrica e la forza elettrochimica è diretta verso l'interno della cellula.

Origine del potenziale di membrana

Il **potenziale di membrana** è generato da una condizione di **non equilibrio (potenziale di diffusione)** ed è calcolabile mediante l'**equazione di Goldman** o mediante l'**equazione delle conduttanze**.

Hodgkin-Katz-Goldman Equation

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{p_k [K^+]_o + p_{Na} [Na^+]_o + p_{Cl} [Cl^-]_i}{p_k [K^+]_i + p_{Na} [Na^+]_i + p_{Cl} [Cl^-]_o} \right)$$



$$E_m = 58mV \log_{10} \left(\frac{p_k [K^+]_o + p_{Na} [Na^+]_o + p_{Cl} [Cl^-]_i}{p_k [K^+]_i + p_{Na} [Na^+]_i + p_{Cl} [Cl^-]_o} \right)$$

Hodgkin-Katz-Goldman Equation

$$E_m = 58mV \log_{10} \left(\frac{[K^+]_o + b[Na^+]_o}{[K^+]_i + b[Na^+]_i} \right)$$

where $b = \frac{P_{Na}}{P_k}$

Il potenziale di riposo è un potenziale di diffusione in quanto:

- i. Il potenziale elettrico misurato non corrisponde al potenziale di equilibrio (o di Gibbs-Donnan) del sodio o del potassio calcolati in base alle loro concentrazioni;**
- ii. poiché non si è all'equilibrio la cellula tende a perdere K^+ o ad acquisire Na^+ ;**
- iii. L'equazione di Hodgkin-Katz descrive molto bene il potenziale elettrico di riposo delle cellule se si impongono i rispettivi coefficienti di permeabilità relative per Na^+ e Cl^- rispetto a quella del K^+ posta uguale a 1 (che nel muscolo sono rispettivamente: $P_K = 1$; $P_{Na} = 0.013$; $P_{Cl} = 2$) e considerando il Cl^- all'equilibrio,**

Il potenziale di membrana è un **potenziale di diffusione**, poiché gli ioni hanno diversa mobilità (coefficiente di permeabilità del $\text{Na}^+ \ll \text{K}^+$).

Equazione di Hodgkin-Katz-Goldman

$$E_m = 58mV \log_{10} \left(\frac{[K^+]_o + b[Na^+]_o}{[K^+]_i + b[Na^+]_i} \right)$$

Se i due coefficienti di permeabilità (P) fossero uguali non avremmo polarizzazione della membrana:

la *tendenza* del K^+ ad uscire dalla cellula più velocemente del Na^+ polarizza negativamente la membrana, attrae il Na^+ e favorisce il suo ingresso.

Esempio di applicazione dell'equazione di GHK:

$$P_{Na} / P_K = 0.01$$

$$[K^+]_i = 140 \text{ mM} \quad [K^+]_e = 2.5 \text{ mM}$$

$$[Na^+]_i = 10 \text{ mM} \quad [Na^+]_e = 120 \text{ mM}$$

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_e + 0.01[Na^+]_e}{[K^+]_i + 0.01[Na^+]_i}$$

sostituendo:

$$V_m = 58 \text{ mV} \log \frac{2.5 + 0.01 \times 120}{140 + 0.01 \times 10} = -92 \text{ mV}$$

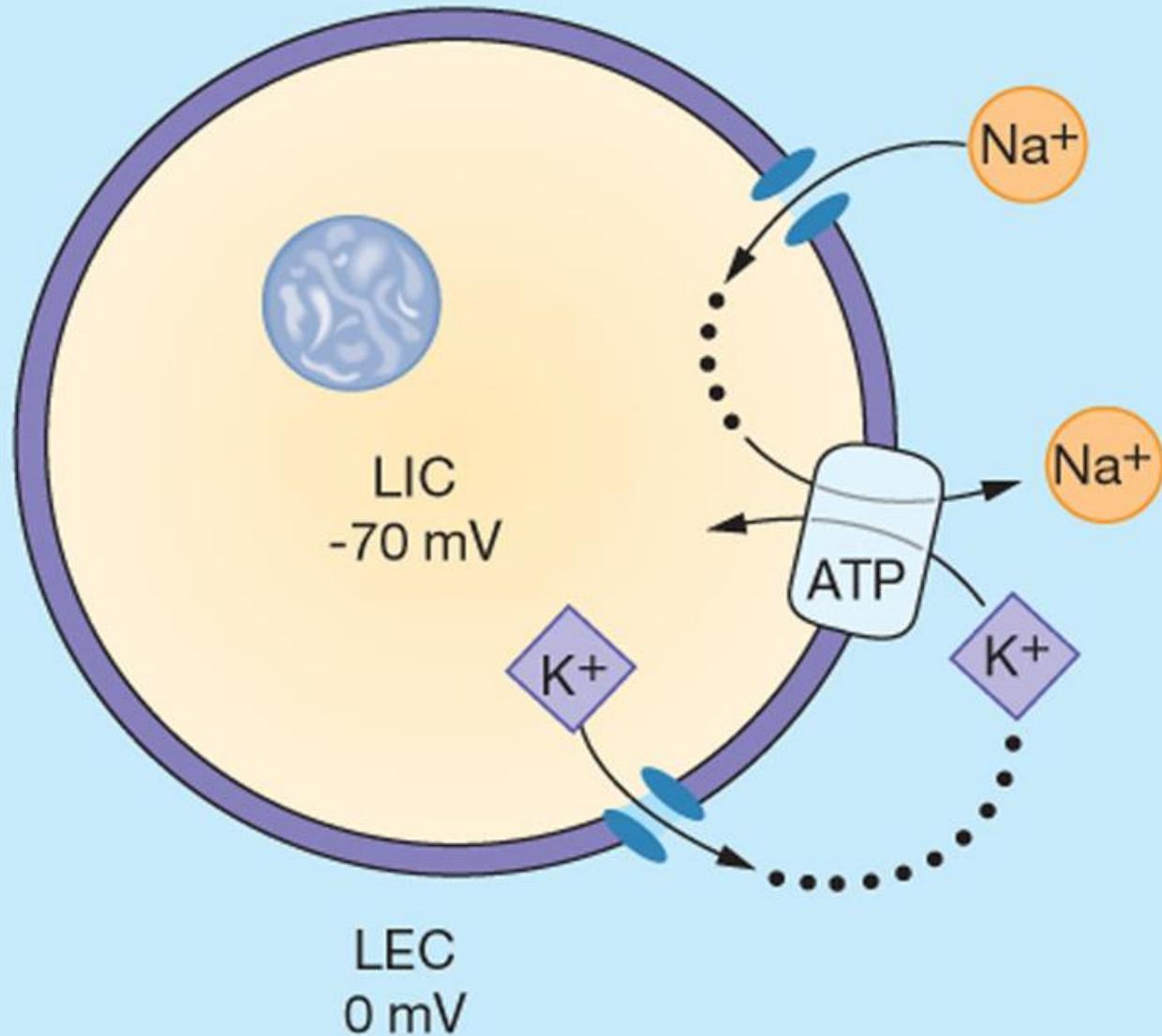
Nota: Nelle condizioni ioniche dell'esempio, i potenziali di equilibrio calcolati con l'eq. di Nernst valgono: $E_{Na} = +63 \text{ mV}$ e $E_K = -102 \text{ mV}$

In corrispondenza del potenziale di membrana a riposo, né K^+ né Na^+ sono in equilibrio. Un potenziale di -70 mV non controbilancia esattamente il gradiente di concentrazione di K^+ ; per farlo occorre un potenziale di -90 mV. Perciò K^+ continua lentamente a uscire passivamente attraverso i suoi canali di fuga secondo questo piccolo gradiente di concentrazione.

Nel caso di Na^+ , il gradiente di concentrazione e il gradiente elettrico non si oppongono neppure l'uno all'altro: entrambi favoriscono l'afflusso di Na^+ all'interno della cellula. Perciò, Na^+ entra continuamente all'interno seguendo il suo gradiente elettrochimico, ma lentamente a causa della sua bassa permeabilità, cioè, a causa della scarsità di canali di fuga per il Na^+ .

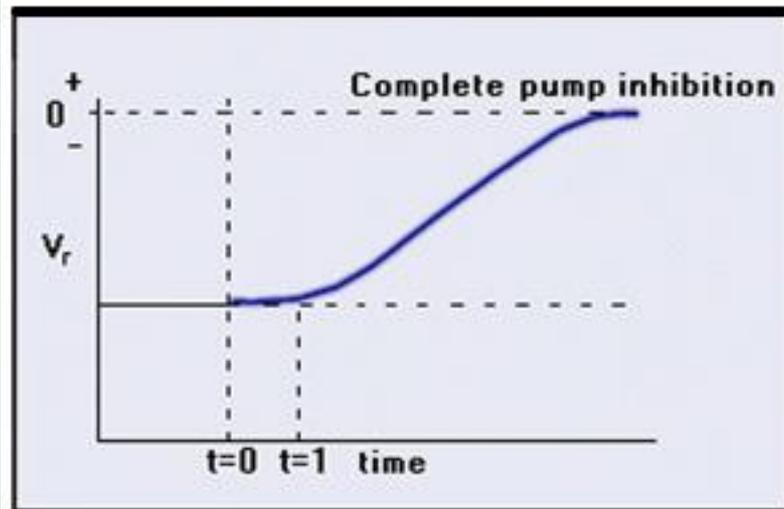
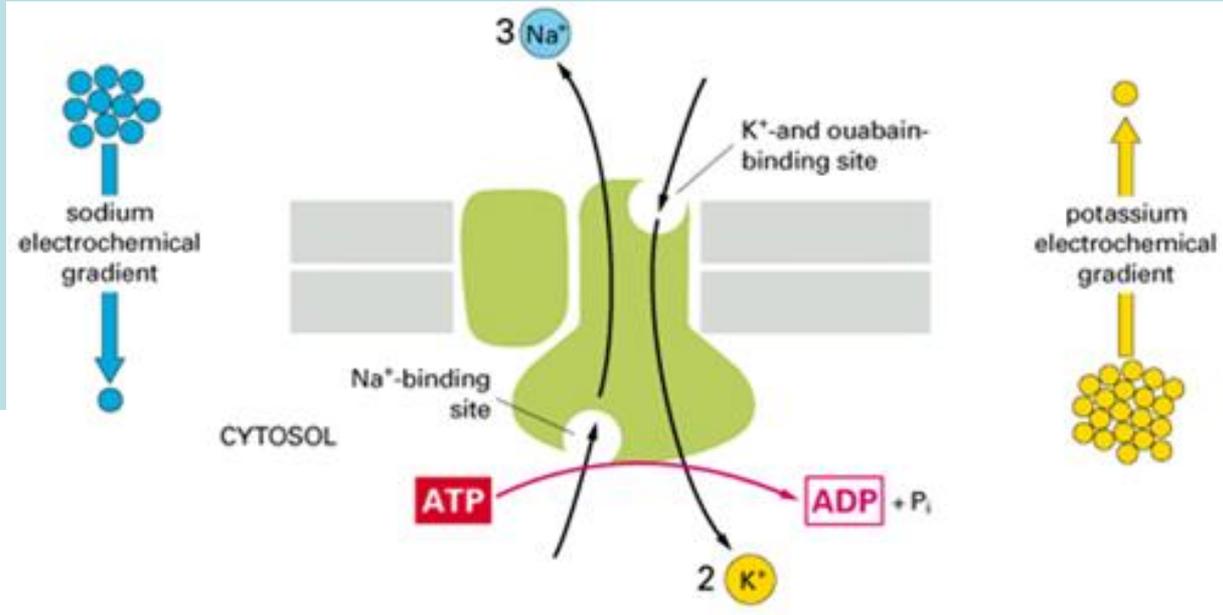
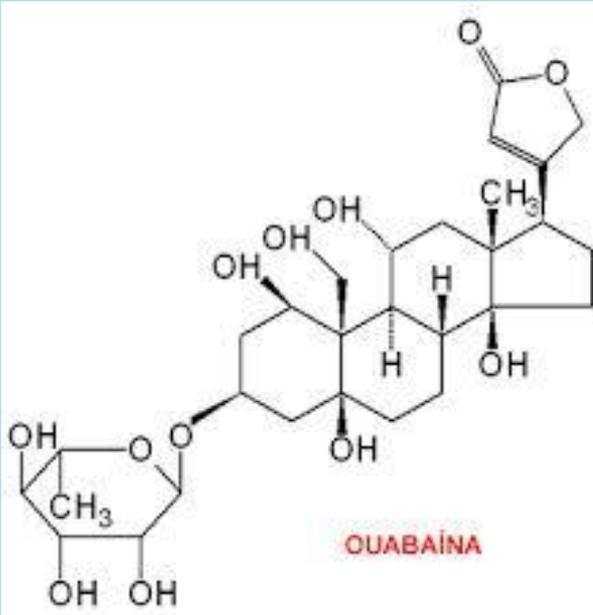
Dato che questa fuga avviene continuamente, perché la concentrazione intracellulare di K^+ non continua a diminuire e quella di Na^+ non aumenta progressivamente?

Pompa Sodio-Potassio

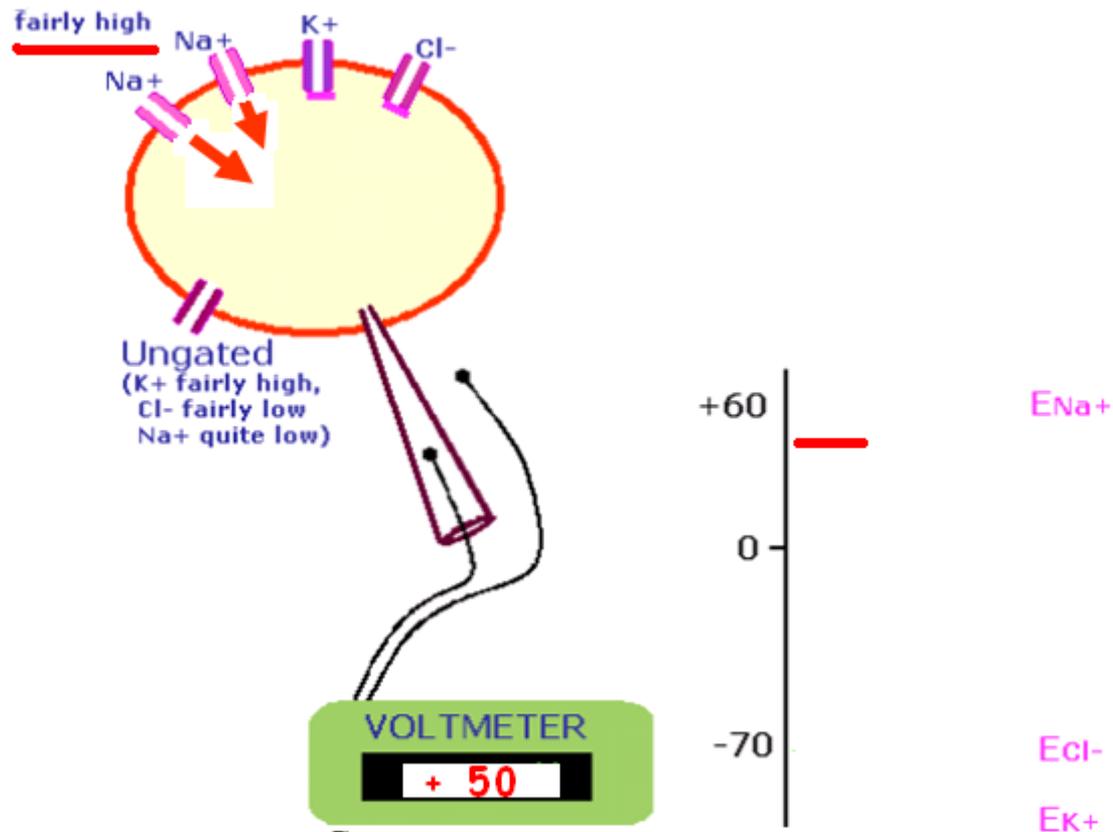


Motore che sostiene il potenziale di membrana

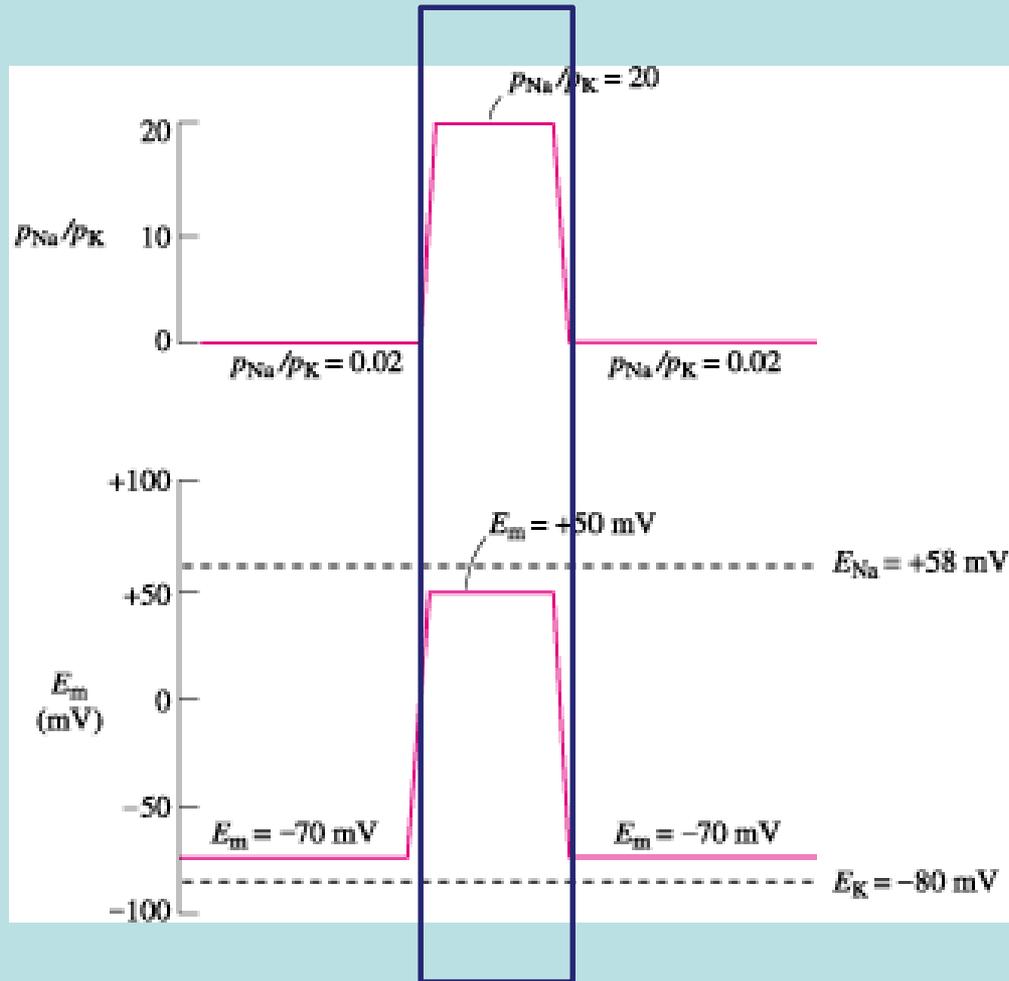
Inibizione pompa Sodio-Potassio



Variazioni del potenziale di membrana al variare della conduttanza di Na^+ ; K^+ ; Cl^-



Hodgkin-Katz-Goldman Equation



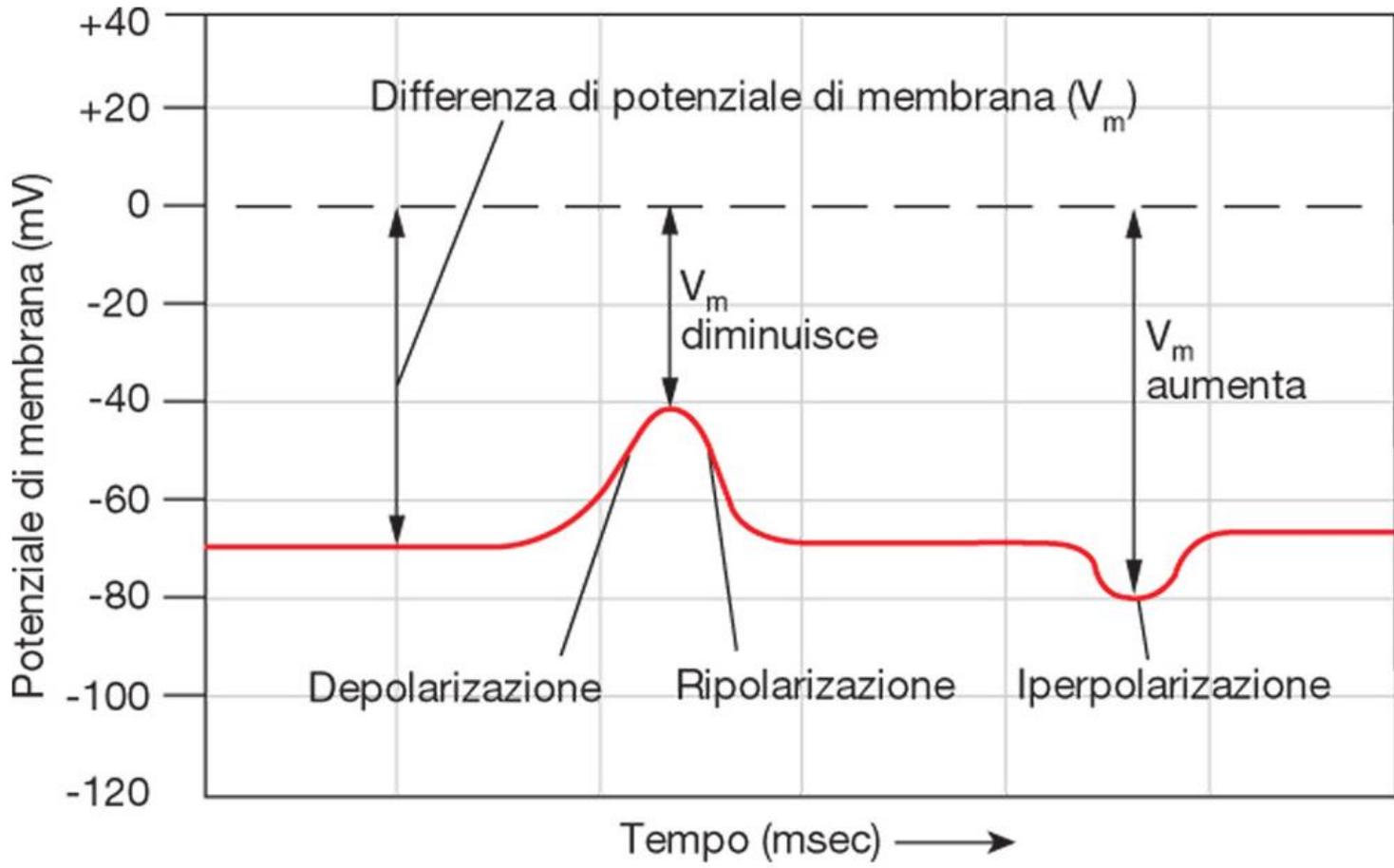
Rapporto coeff. permeabilità

Potenziale di membrana

Canali del sodio aperti

Eccitazione



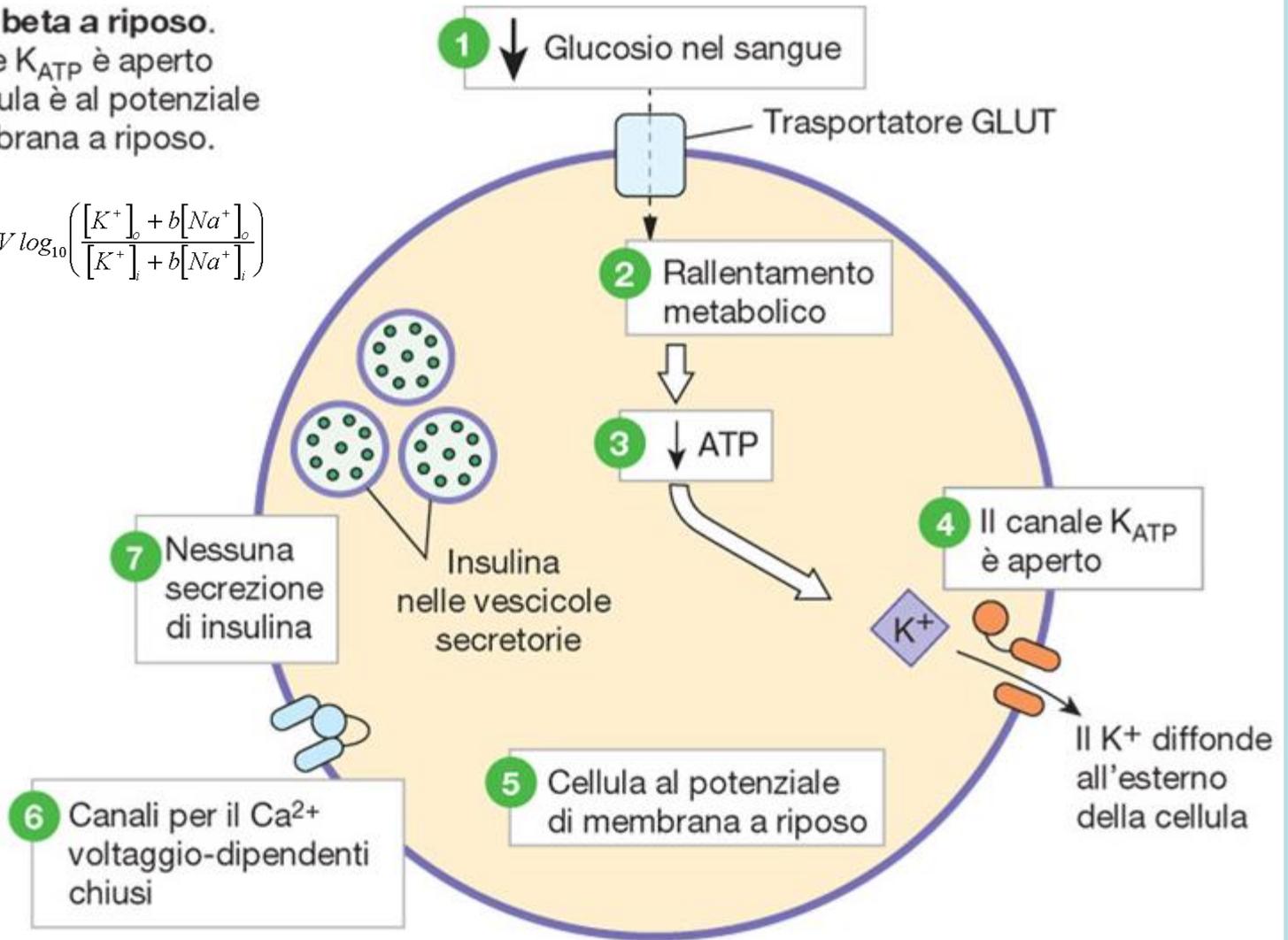


(a) Cellula beta a riposo.

Il canale K_{ATP} è aperto e la cellula è al potenziale di membrana a riposo.

$$E_m = 58mV \log_{10} \left(\frac{[K^+]_o + b[Na^+]_o}{[K^+]_i + b[Na^+]_i} \right)$$

where $b = \frac{P_{Na}}{P_k}$

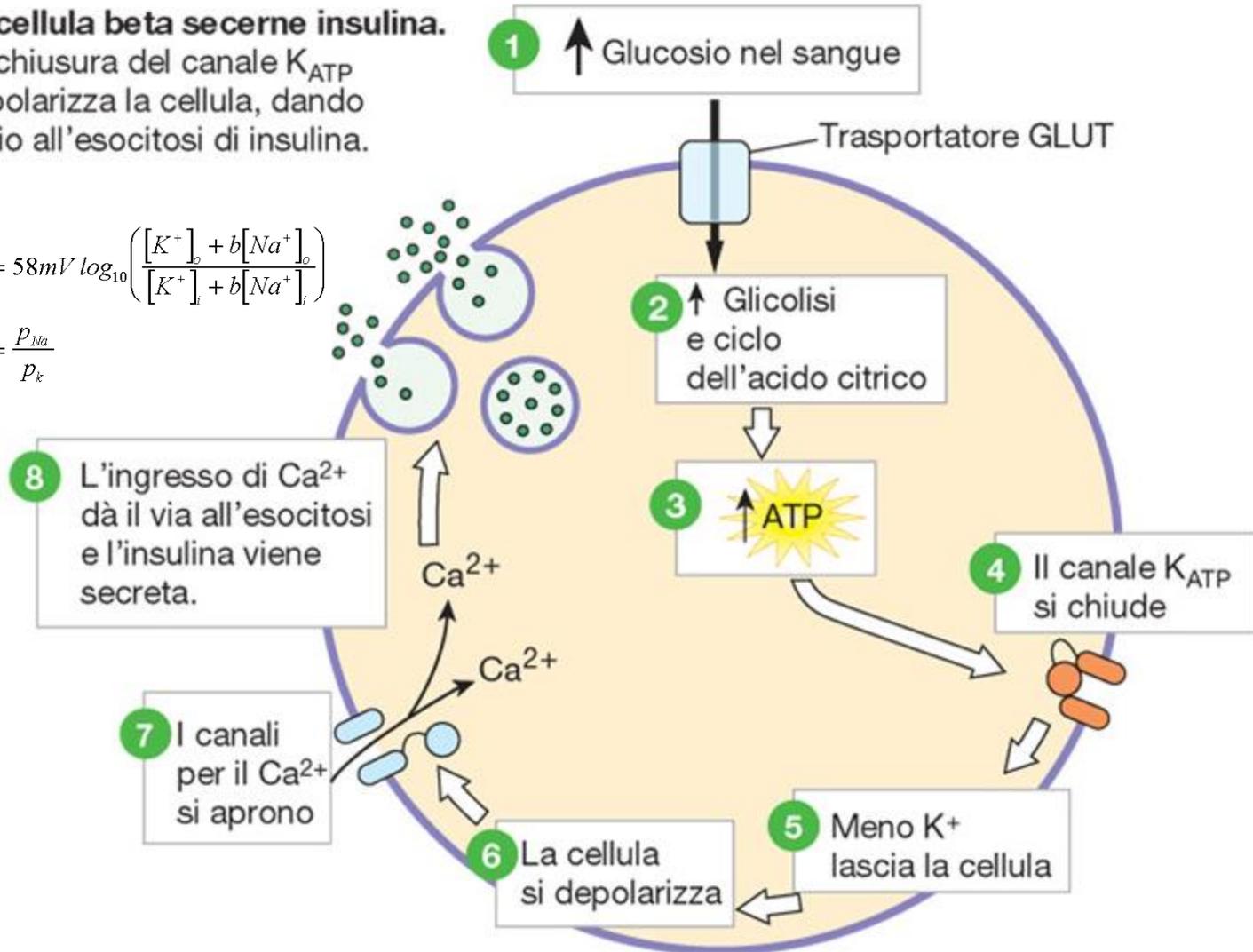


(b) La cellula beta secreta insulina.

La chiusura del canale K_{ATP} depolarizza la cellula, dando inizio all'esocitosi di insulina.

$$E_m = 58mV \log_{10} \left(\frac{[K^+]_o + b[Na^+]_o}{[K^+]_i + b[Na^+]_i} \right)$$

where $b = \frac{P_{Na}}{P_k}$



Equazione di Goldman

1) Supponendo che le concentrazioni intra- ed extra-cellulari del Na^+ e del K^+ siano:

$[\text{K}^+]_1 = 120 \text{ mM}$; $[\text{Na}^+]_1 = 10 \text{ mM}$; $[\text{K}^+]_2 = 5 \text{ mM}$; $[\text{Na}^+]_2 = 100 \text{ mM}$, **rappresentate graficamente** l'andamento del potenziale di membrana in funzione del rapporto

$P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$.

2) Il rapporto $P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$ in una cellula eccitabile varia tra 0.02 e 25. Le concentrazioni intra- ed extracellulari del sodio e del potassio sono: $[\text{Na}^+]_1 = 12 \text{ mM}$; $[\text{Na}^+]_2 = 120 \text{ mM}$; $[\text{K}^+]_1 = 125 \text{ mM}$ e $[\text{K}^+]_2 = 5 \text{ mM}$. **Calcolare** entro quali limiti può variare il potenziale di membrana.

3) Un assone gigante di calamaro ha un potenziale di membrana $E_m = -58 \text{ mV}$ in presenza delle seguenti concentrazioni di sodio e potassio:

$[\text{Na}^+]_1 = 10 \text{ mM}$; $[\text{Na}^+]_2 = 100 \text{ mM}$; $[\text{K}^+]_1 = 150 \text{ mM}$ e $[\text{K}^+]_2 = 7.5 \text{ mM}$

Cosa accade se la concentrazione extracellulare del sodio passa da 100 a 130 mM e quella del potassio da 7.5 a 15 mM?

4) **Indicare** in quale dei seguenti casi è possibile trascurare il contributo del cloro nell'equazione GHK:

a) quando $[\text{Cl}^-]_1 = [\text{K}^+]_2$ e $[\text{K}^+]_1 = [\text{Cl}^-]_2$;

b) quando $[\text{Cl}^-]_1 = [\text{K}^+]_1$ e $[\text{K}^+]_2 = [\text{Cl}^-]_2$;

c) quando E_{Cl} è praticamente coincidente con E_m ;

d) quando il flusso netto di ioni cloro è maggiore rispetto a quello degli ioni potassio;

e) in nessun caso.

Motivare brevemente la risposta ritenuta esatta.