

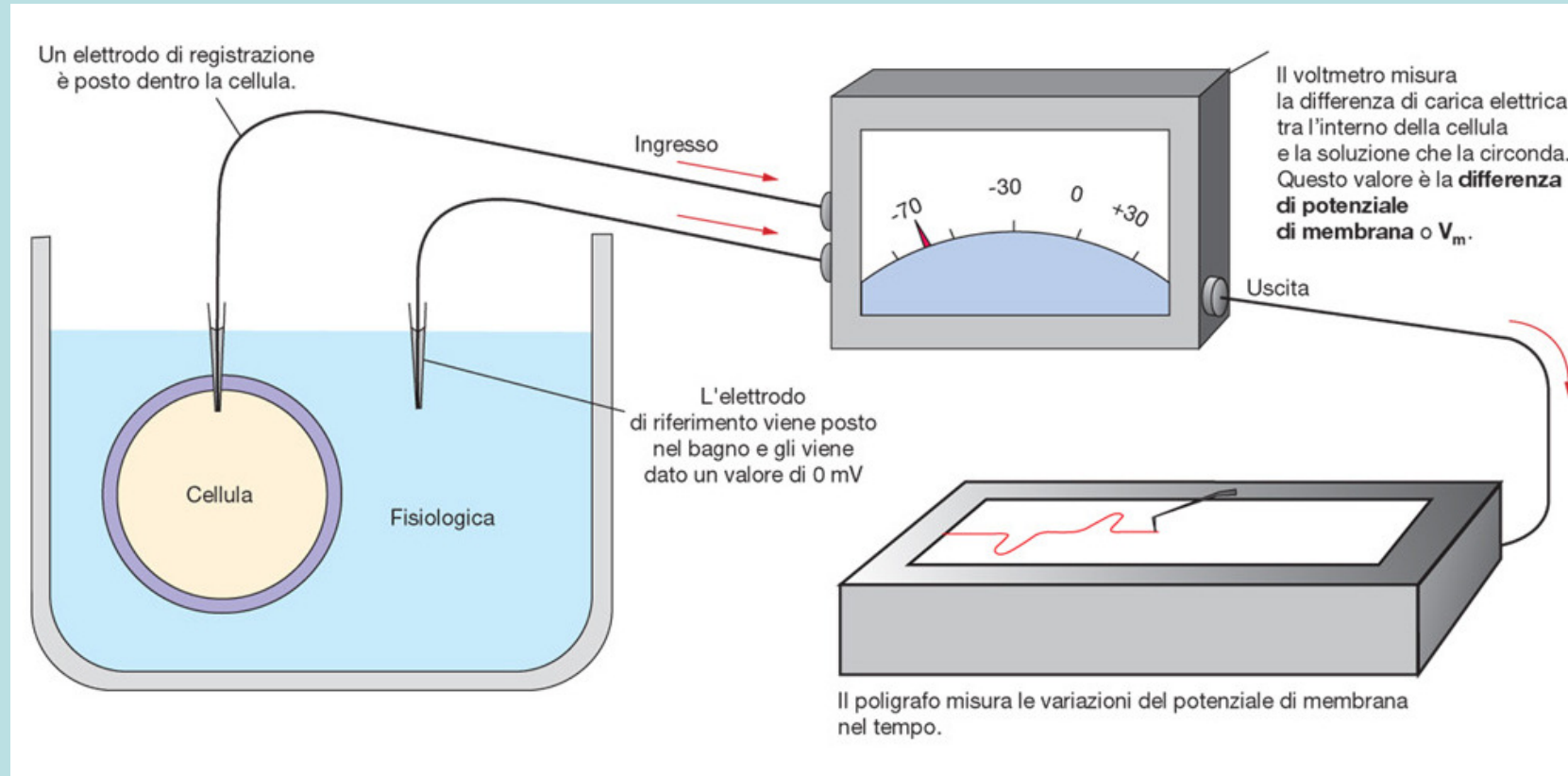


**Corso di Laurea Magistrale in  
"Medicina e Chirurgia"**

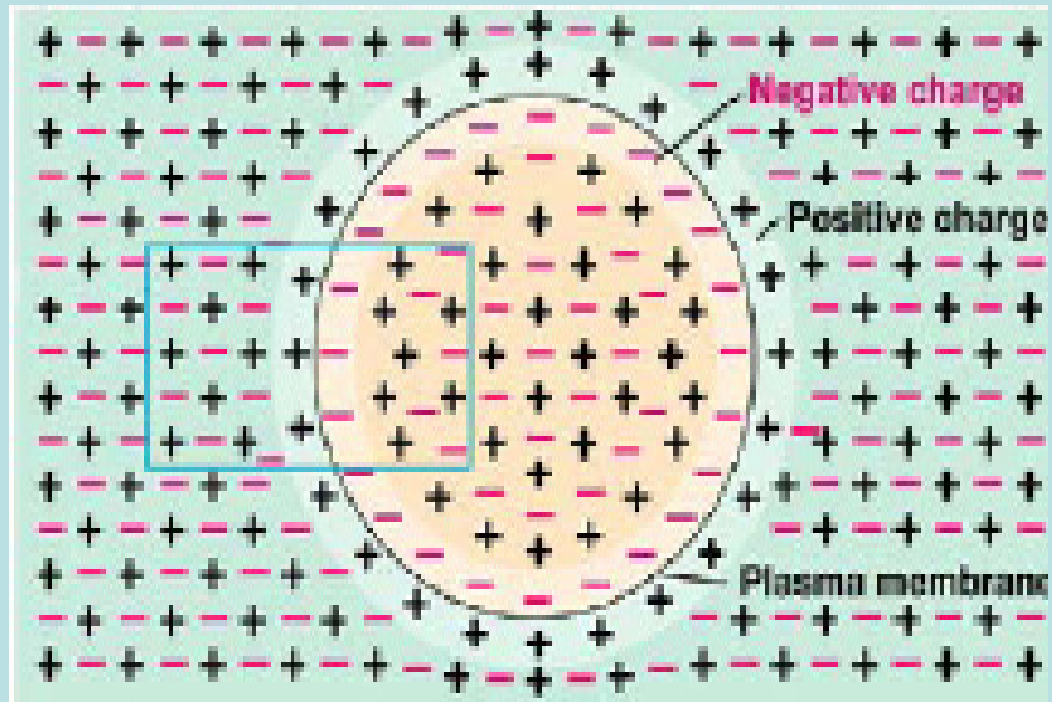
**Biofisica e Fisiologia I**

# Potenziale di membrana (I)

## Misura della differenza di potenziale tra i due lati della membrana



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

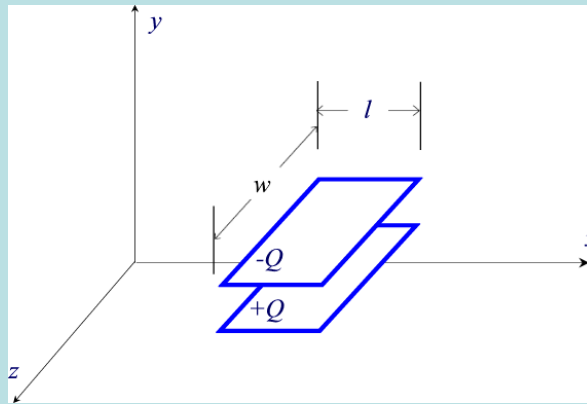


# Proprietà elettriche delle membrane biologiche

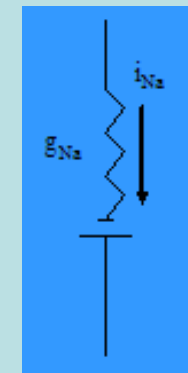
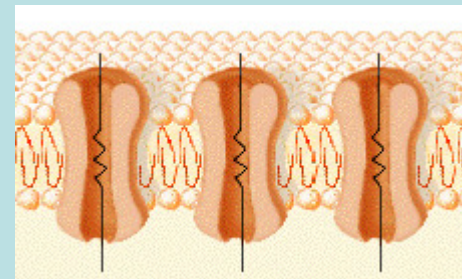
Capacità: determinata dall'impermeabilità agli ioni del doppio strato lipidico, che consente di separare le cariche elettriche;

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

**Condensatore piano**



**Conduttore**

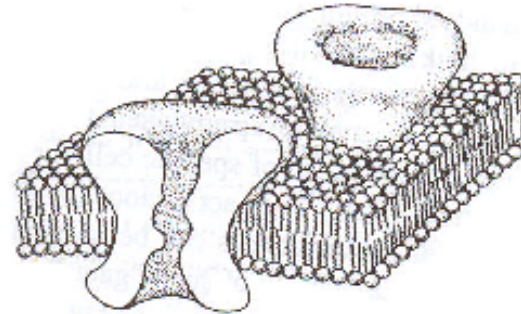


## Esempio: le membrane biologiche formano un condensatore

> La membrana plasmatica delle cellule animali è formata da un doppio strato lipidico in cui sono immerse diverse classi di proteine. La membrana separa la soluzione salina extracellulare dal citosol (salina intracellulare). Le due soluzioni sono approssimabili a dei buoni conduttori, e permettono il movimento di cariche elettriche, rappresentate qui non da elettroni ma da ioni (p.es.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ).

> La membrana invece, in condizioni di riposo, è approx. un isolante (gli ioni passano solo attraverso canali, e solo pochi canali sono aperti a riposo).

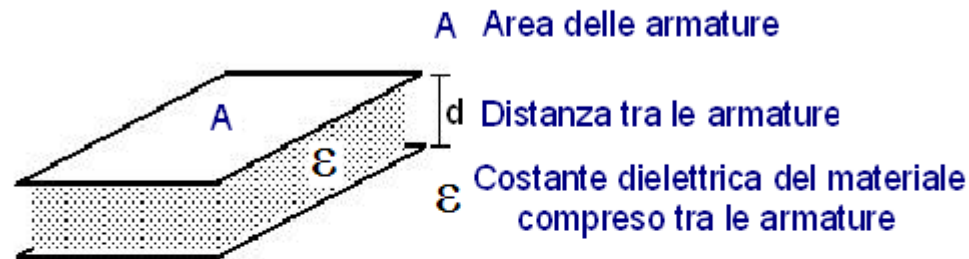
> Tipicamente,  $1 \text{ cm}^2$  di membrana cellulare è un condensatore con capacità  $1 \mu\text{F}$ ; e cioè, la capacità per unità di area è  $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$



> Il sistema citosol - membrana - salina extracellulare forma un condensatore. Le cariche si accumulano ai due lati della membrana, cioè all'interfaccia tra i conduttori e l'isolante.

# Condensatore piano

La **Capacità** di un condensatore piano a facce parallele è direttamente proporzionale all'area delle armature ed è inversamente proporzionale alla distanza tra le armature. La costante di proporzionalità,  $\epsilon$ , dipende dalle proprietà del materiale che riempie lo spazio tra le armature ed è chiamata **costante dielettrica** del materiale.

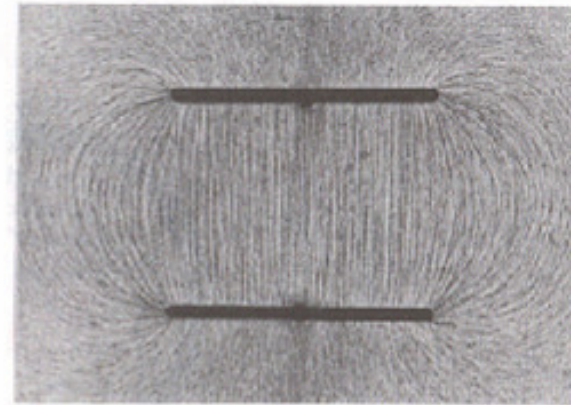
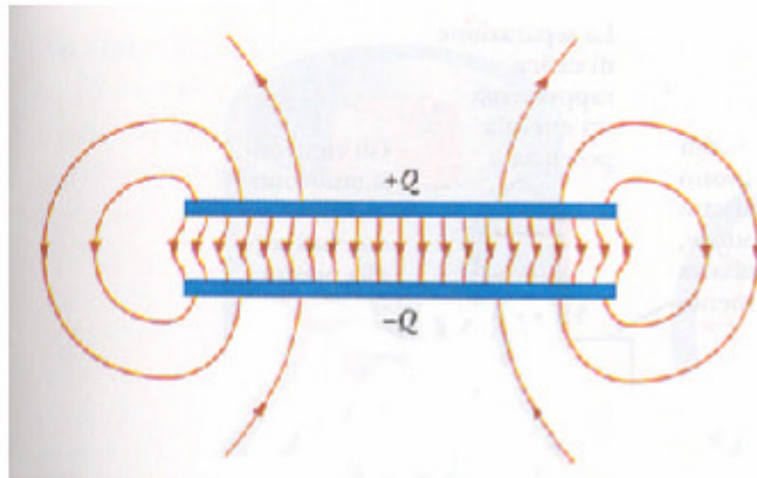


**Capacità** di un condensatore piano a facce parallele

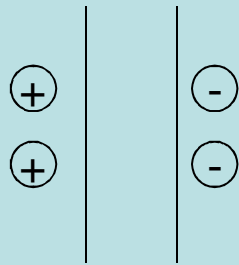
$$C = \epsilon A/d = Q/\Delta V$$

La capacità della membrana, circa  $1-3 \mu\text{Farad}/\text{cm}^2$  nelle membrane biologiche

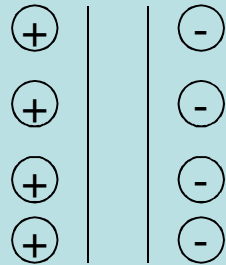
- 1) aumenta in proporzione alla costante dielettrica (in media = 3);
- 2) diminuisce in relazione allo spessore della membrana.



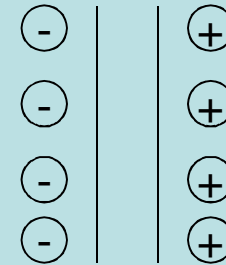
Tipici valori di capacità nei circuiti elettrici usati negli strumenti elettronici: da  $\sim 10^{-12}$  F (picofarad) a  $\sim 10^{-6}$  F (microfarad). P. es., le capacità nei circuiti di selezione delle lunghezze d'onda (sintonizzatori) delle radio AM sono di circa 10 – 100 pF



$$C = Q/\Delta V$$



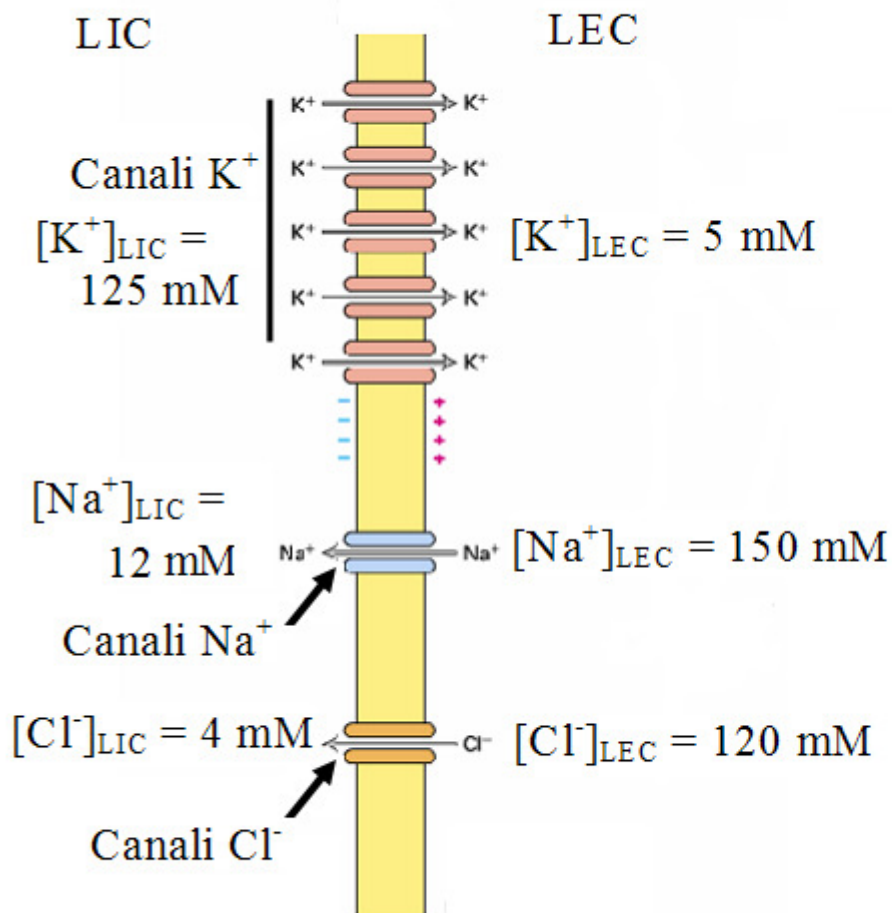
$$C = 2Q/2\Delta V$$



$$C = \left[ 2Q/2\Delta V \right]_{\text{val. ass.}}$$

All'aumentare del valore assoluto della differenza di potenziale,  
aumenta la quantità di carica accumulata  
sui due lati della 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

**Composizione del mezzo intracellulare ed extracellulare  
(mM)**

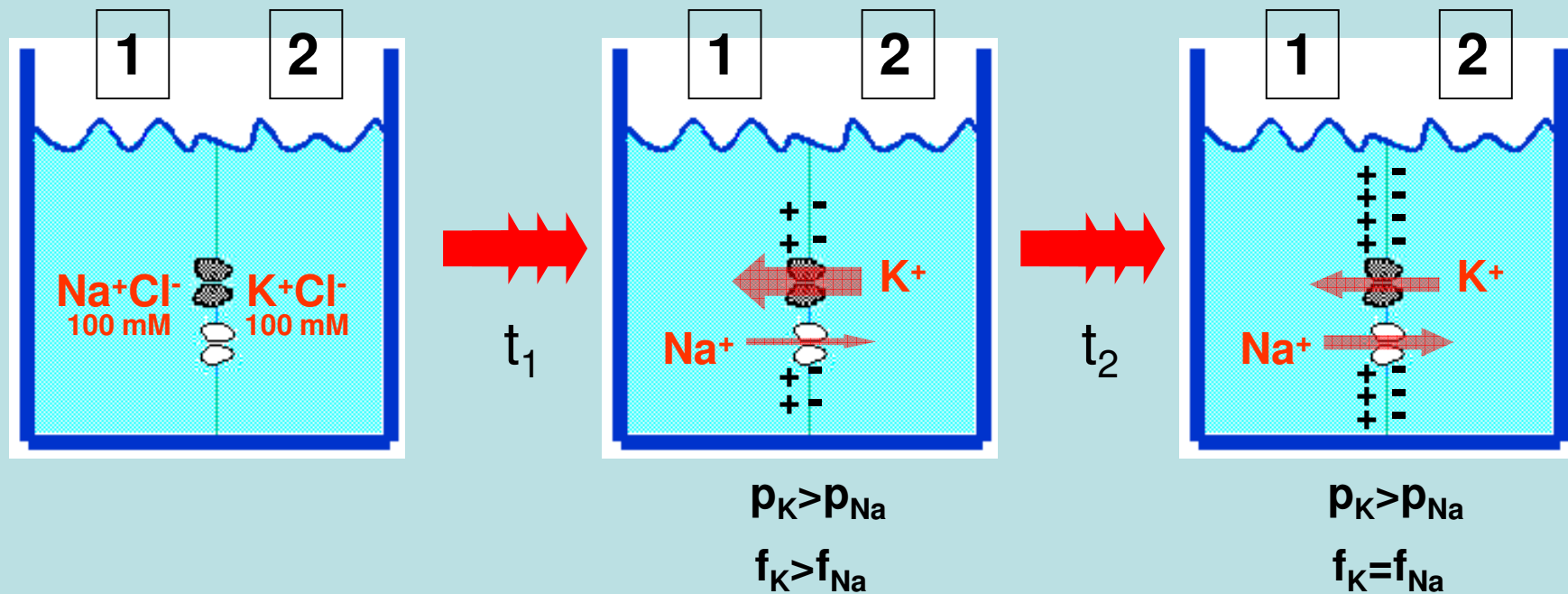
<b>Ione</b>	<b>LIC</b>	<b>LEC</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>125</b>	<b>5</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>12</b>	<b>150</b>
<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>4</b>	<b>120</b>
<b>A<sup>-1,25</sup></b>	<b>108</b>	<b>0</b>

## Origine del potenziale di membrana

- 1) Il **potenziale di membrana** corrisponde ad un **potenziale di diffusione** generato da una condizione di **non equilibrio** ed è calcolabile mediante l'**equazione di Goldman** o mediante l'**equazione delle conduttanze**.
- 2) Il **potenziale di membrana** non corrisponde al **potenziale di equilibrio** di una specie ionica diffusibile, calcolabile mediante l'**equazione di Nerst**.

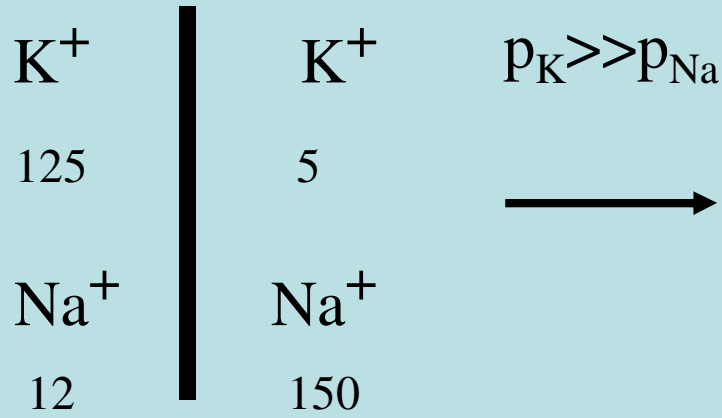
# Quando si genera un potenziale di diffusione:

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



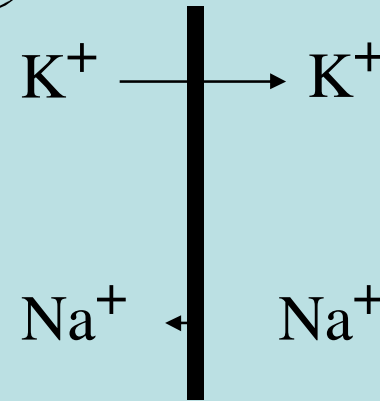
1

Membrana



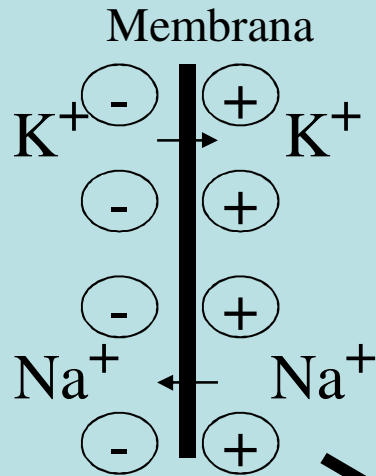
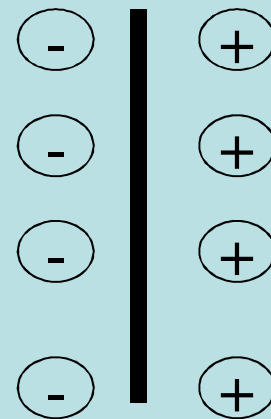
2

Membrana



3

Membrana



Carica stazionaria: i flussi di carica sono uguali ed opposti.  $J_K = - J_{Na}$

## Hodgkin-Katz-Goldman Equation

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



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

**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

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

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

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

## Hodgkin-Katz-Goldman Equation

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

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

Esempio di applicazione dell'equazione di GHK:

$$P_{Cl} = 0 \quad P_{Na} / P_K = 0.01$$

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

sostituendo:

$$[K^+]_e = 2.5 \text{ mM} \quad [Na^+]_e = 120 \text{ mM}$$

$$[K^+]_i = 140 \text{ mM} \quad [Na^+]_i = 10 \text{ mM}$$

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

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

## Quesito

Ione	Citoplasma	Extracell. (mM)
Na <sup>+</sup>	10	120
K <sup>+</sup>	120	3

In base ai dati indicati in tabella e sapendo che la membrana è permeabile a Na e K con il seguente rapporto di permeabilità:  $P_K:P_{Na}=10:1$ , calcolare il potenziale di membrana  $V_m$  applicando l'equazione di GHK.

Confrontare il valore trovato con quello che si otterrebbe se  $P_K:P_{Na}=1:1$ .

$$V_m = 58 \log \frac{10P_{Na}[K]_o + P_{Na}[Na]_o}{10P_{Na}[K]_i + P_{Na}[Na]_i}$$

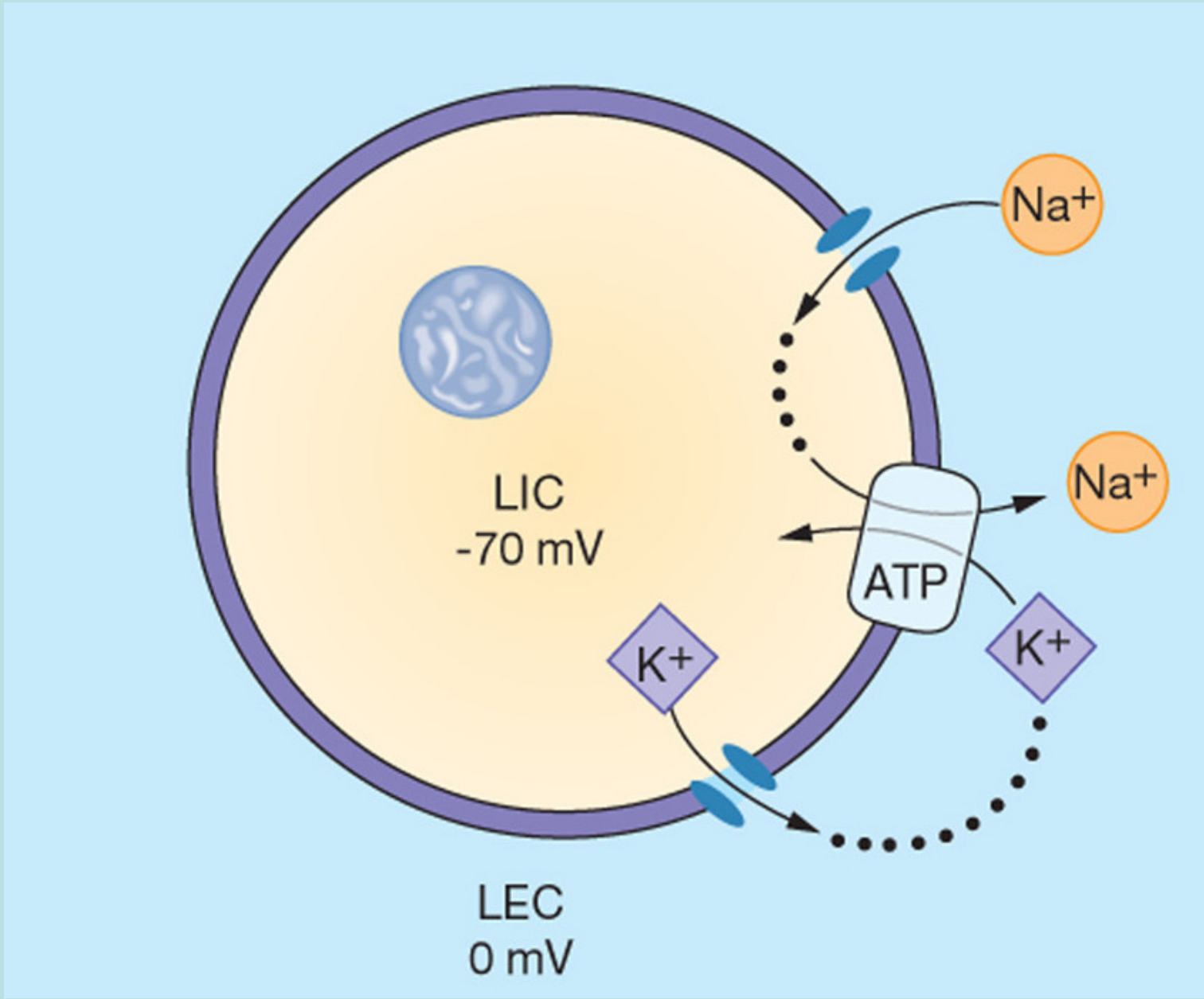
$$P_K:P_{Na}=10:1 \quad V_m = 58 \log \frac{P_{Na}(10[K]_o + [Na]_o)}{P_{Na}(10[K]_i + [Na]_i)} = 58 \log \frac{10 \cdot 3 + 120}{10 \cdot 120 + 10} = -53 mV$$

$$P_K:P_{Na}=1:1 \quad V_m = 58 \log \frac{[K]_o + [Na]_o}{[K]_i + [Na]_i} = 58 \log \frac{3 + 120}{120 + 10} = -1.4 mV$$

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 soltanto lentamente, a causa della sua bassa permeabilità, cioè, a causa della scarsità di canali di fuga per il  $Na^+$ .

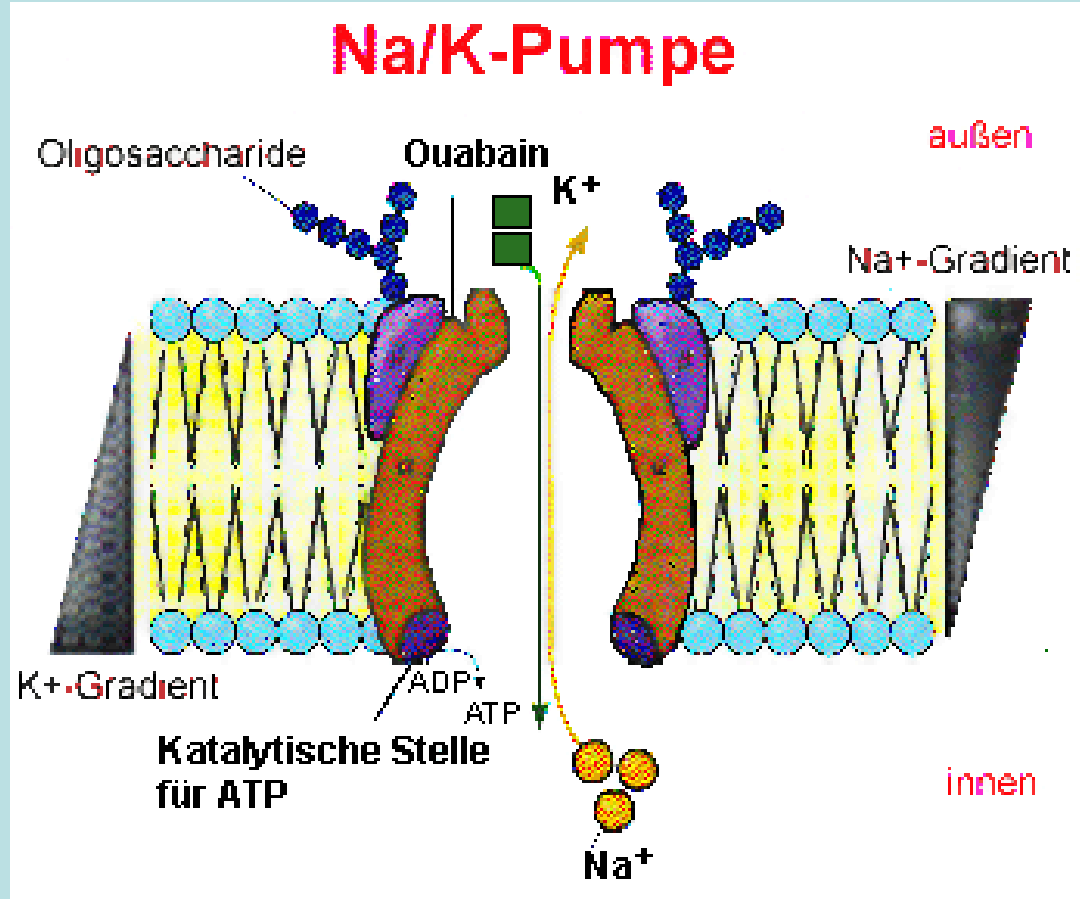
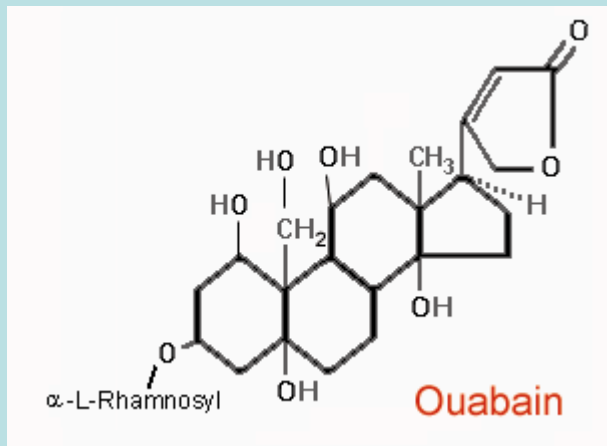
Dato che questa fuga avviene continuamente, perché la concentrazione intracellulare di  $K^+$  non continua a diminuire e quella di  $Na^+$  non aumenta progressivamente?

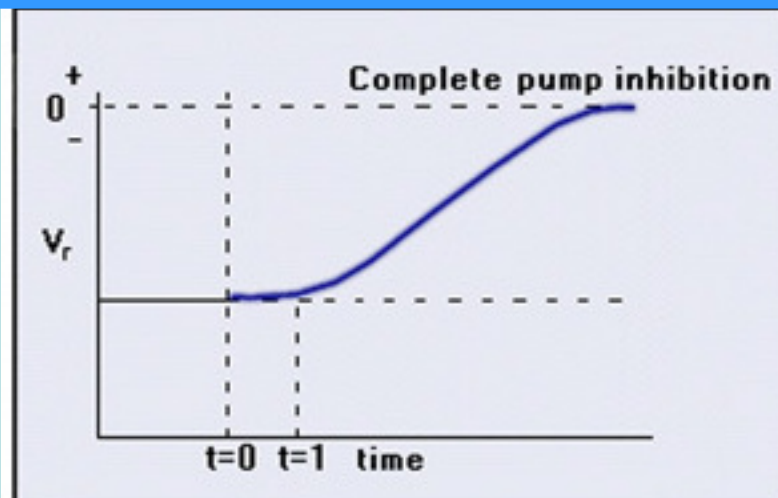


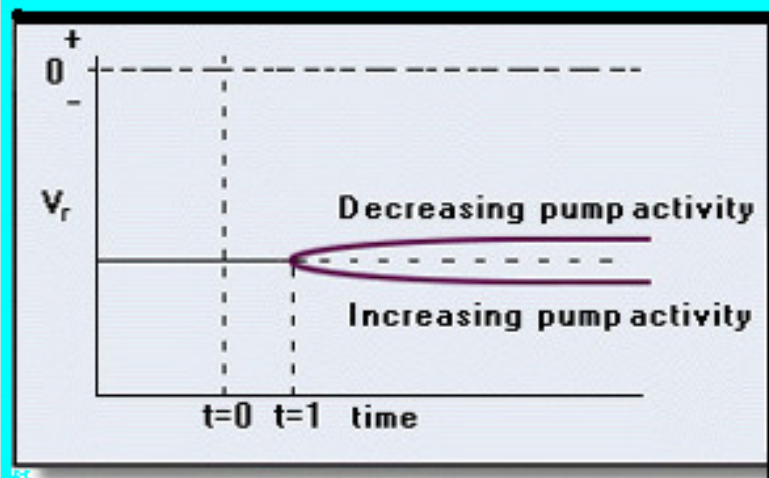
## Hodgkin-Katz-Goldman Equation

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

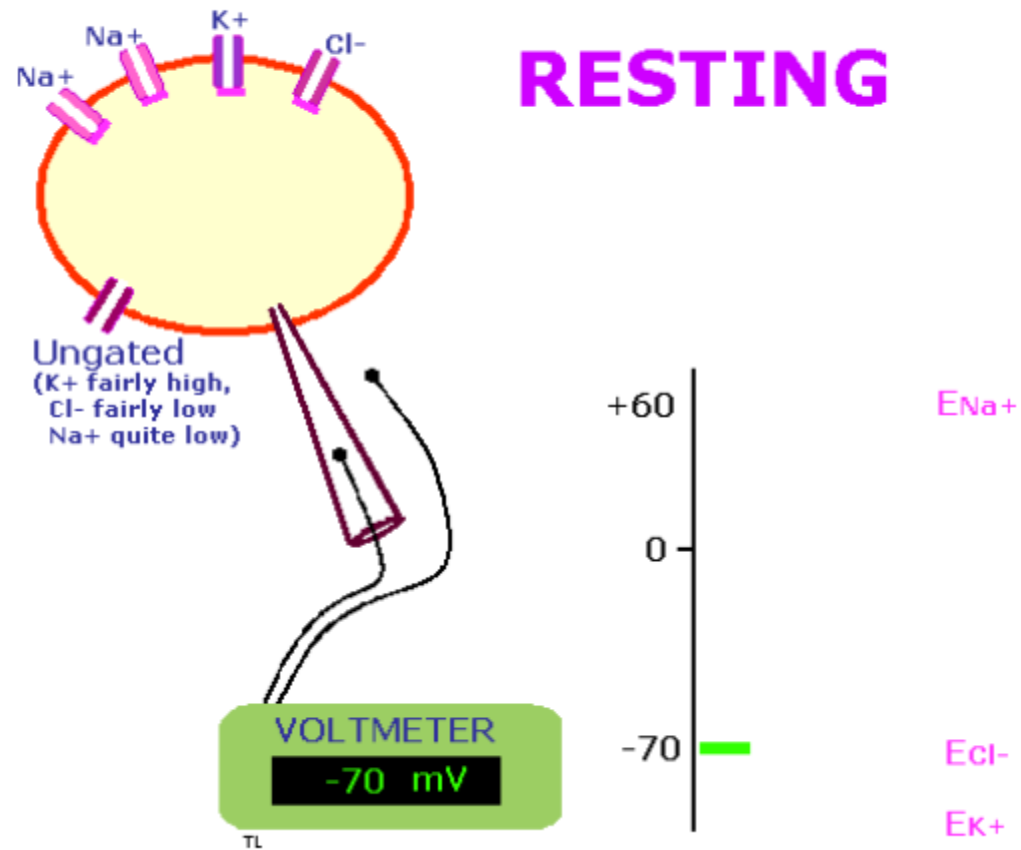
where  $r = Na^+ / K^+$  transport ratio



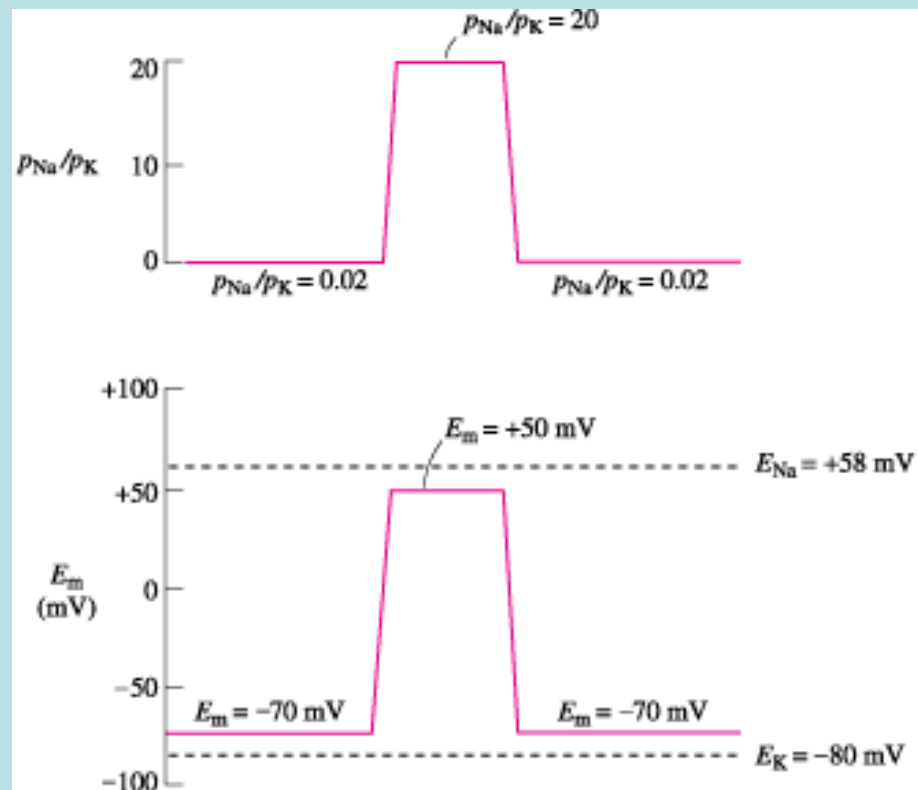


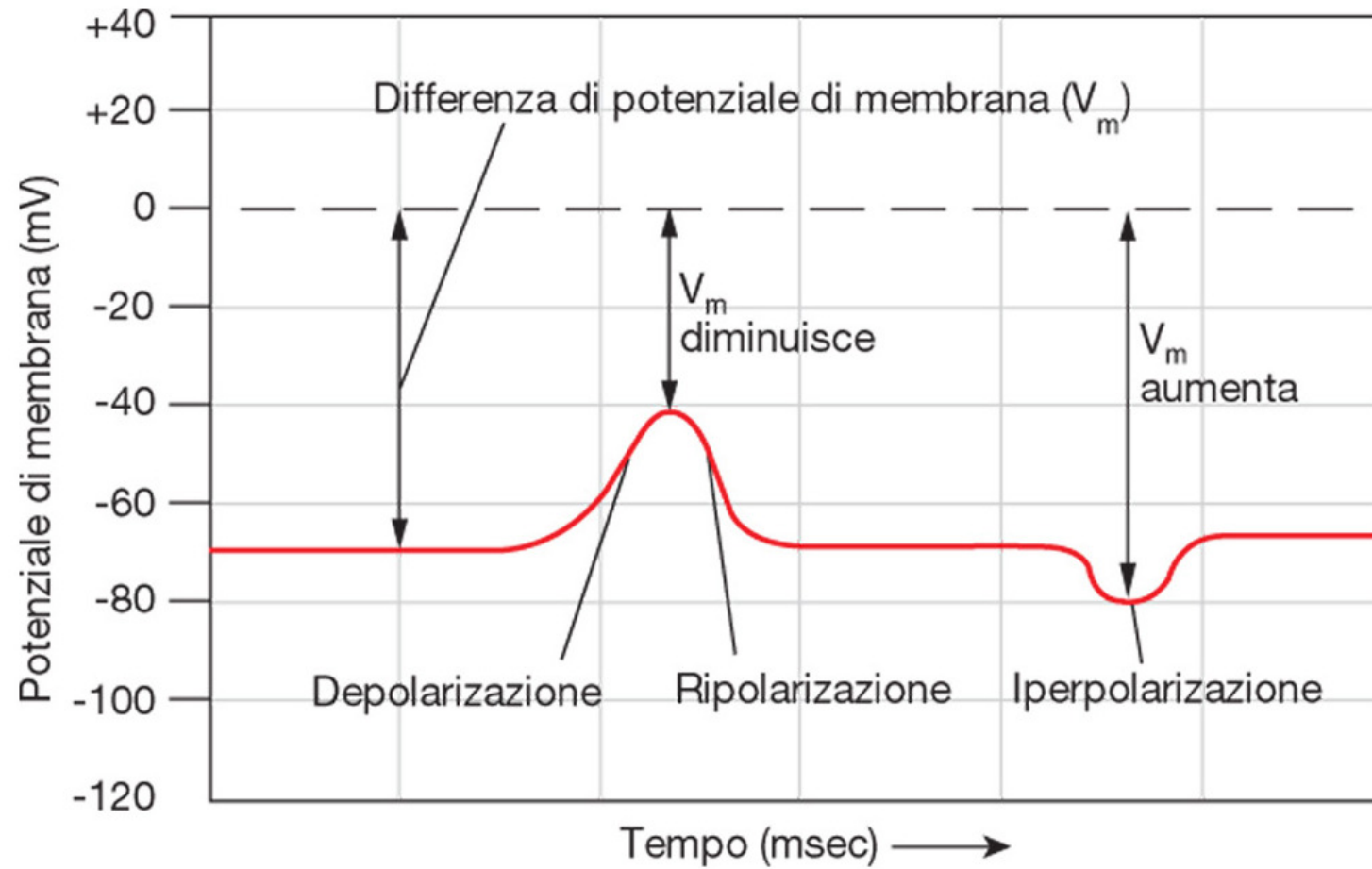


## Variazioni del potenziale di membrana al variare della conduttanza di $\text{Na}^+$ ; $\text{K}^+$ ; $\text{Cl}^-$



# Hodgkin-Katz-Goldman Equation



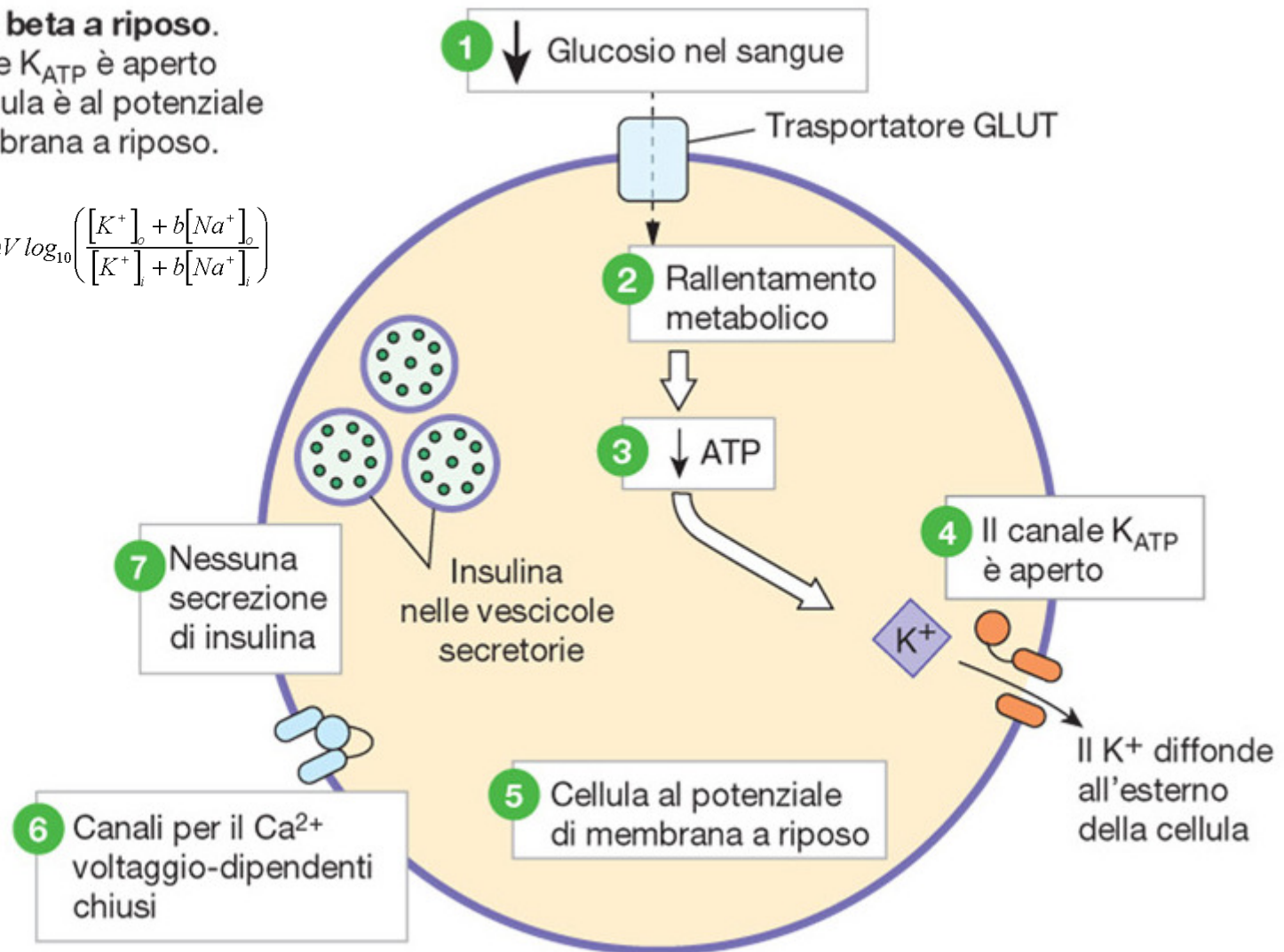


**(a) Cellula beta a riposo.**

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  $b = \frac{P_{Na}}{P_K}$

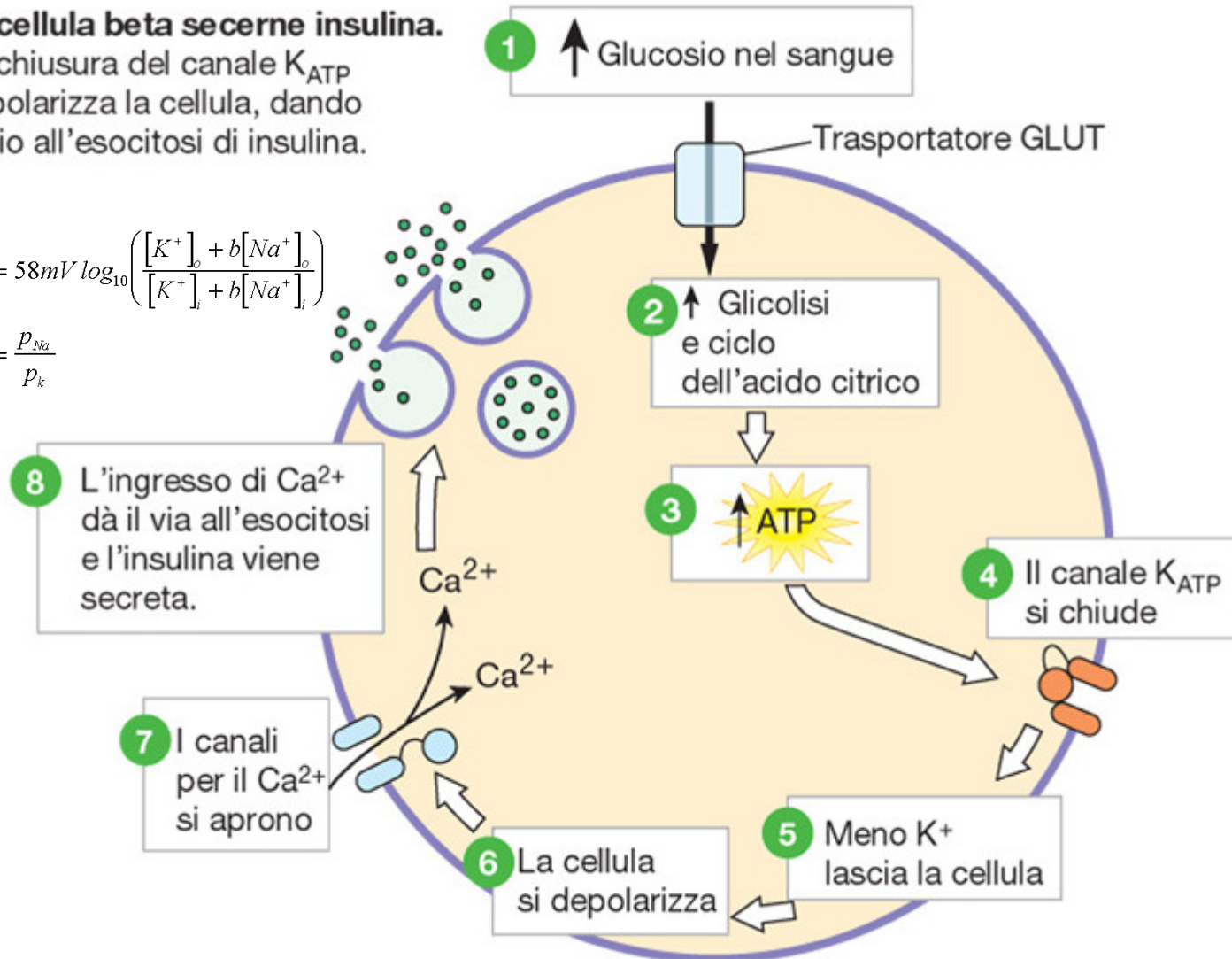


**(b) La cellula beta secreta insulina.**

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  $\text{Na}^+$  e del  $\text{K}^+$  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  $E_{\text{Cl}}$  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.**