

Diffusione
Equazione di Nernst
e
Potenziale di Membrana

Perché parlare del concetto di *diffusione?*

**E' una proprietà fisica fondamentale di
tutti i processi biologici**

e

**costituisce il motore tramite il quale le
cellule possono generare segnali**

Diffusione di Soluti

Che cosa spinge le particelle a diffondere?

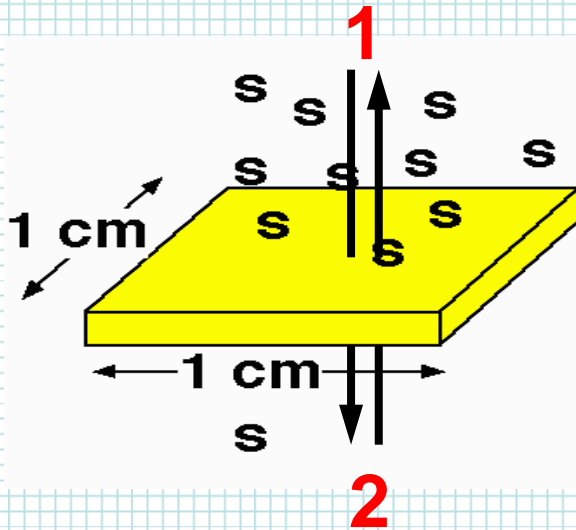
La diffusione è il movimento molecolare

generato dall'energia termica:

moti browniani (A. Einstein)

Flusso Molare Unidirezionale:

Quantità di soluto che attraversa un'area unitaria nell'unità di tempo



$$f_{1 \rightarrow 2} = \frac{n}{N \cdot A \cdot t} \quad \left[\text{moli}/(\text{cm}^2 \cdot \text{sec}) \right]$$

Dove:

$n = n^\circ$ particelle

$N =$ numero di Avogadro

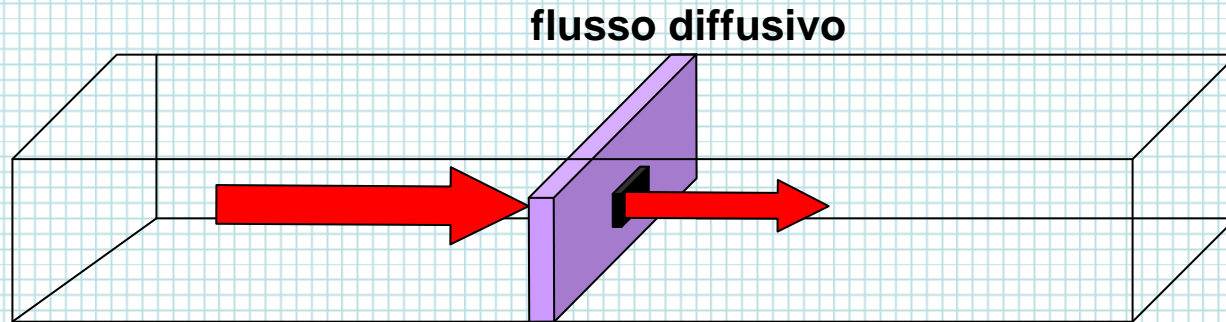
$A =$ area

$T =$ tempo

Flusso netto:

$$F = f_{1 \rightarrow 2} - f_{2 \rightarrow 1}$$

I^a Legge di Fick per la diffusione



C'è un flusso netto di soluto dalla zona ad alta concentrazione a quelle a bassa concentrazione

$$F_d \propto \frac{d[C]}{dx}$$

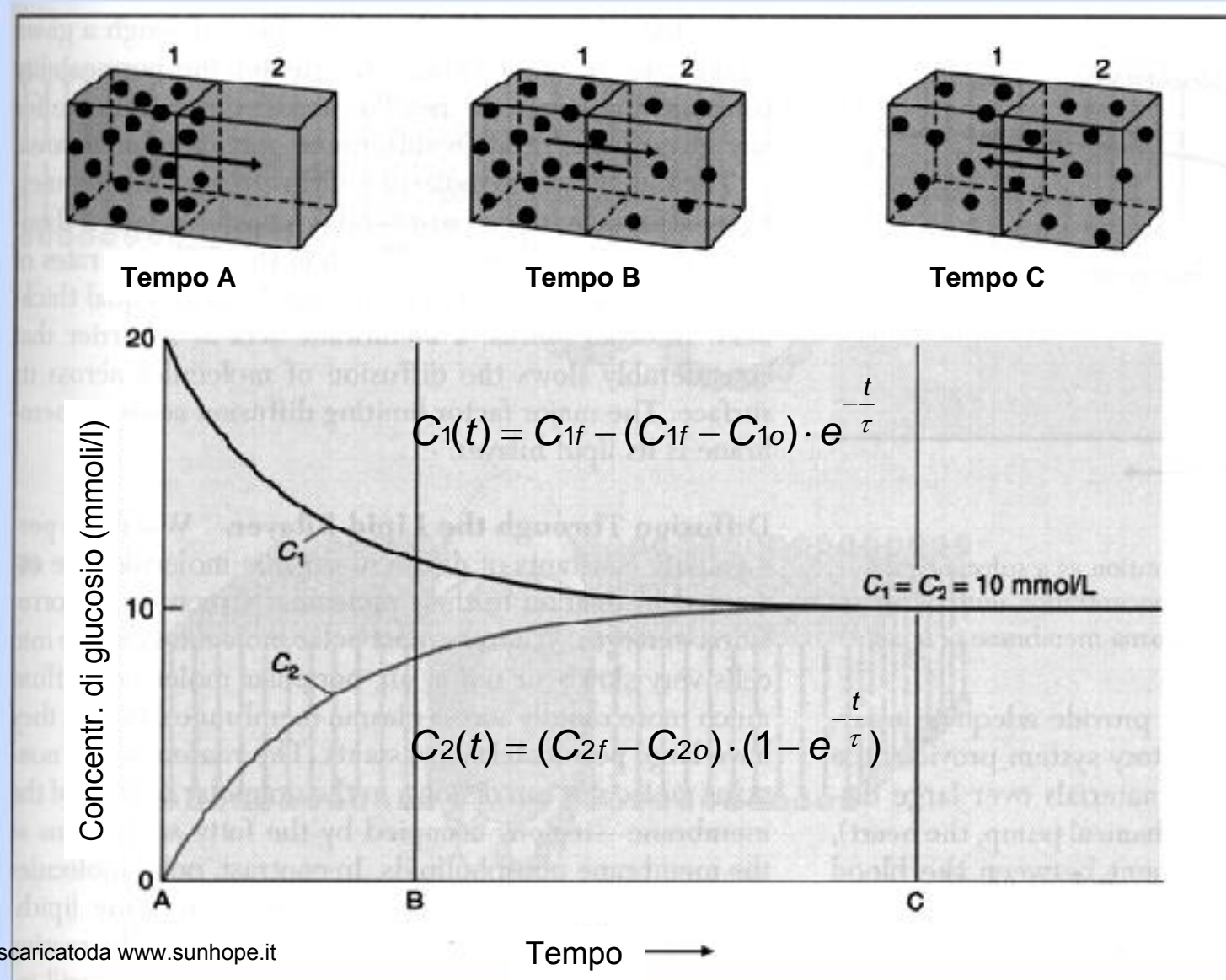
è la pendenza
del gradiente di
concentrazione

ovvero: $F_d = k_d \cdot \Delta C$

La costante di
proporzionalità
dipende dalla
mobilità del
soluto

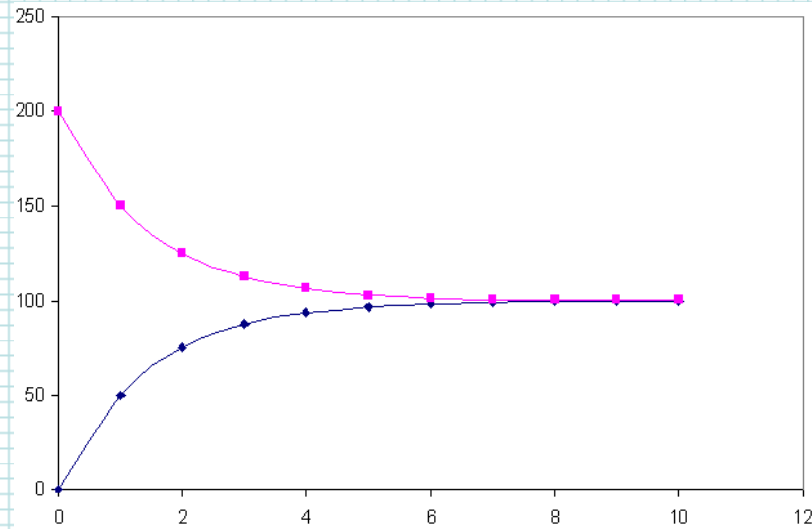
Diffusione

la concentrazione di soluto varia nel tempo con un andamento esponenziale

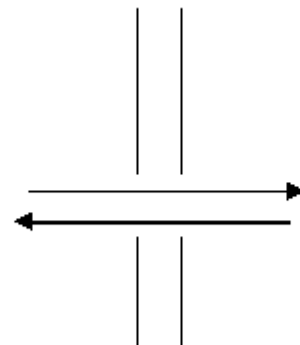


Equilibrio diffusivo

$$\Delta G = 0$$

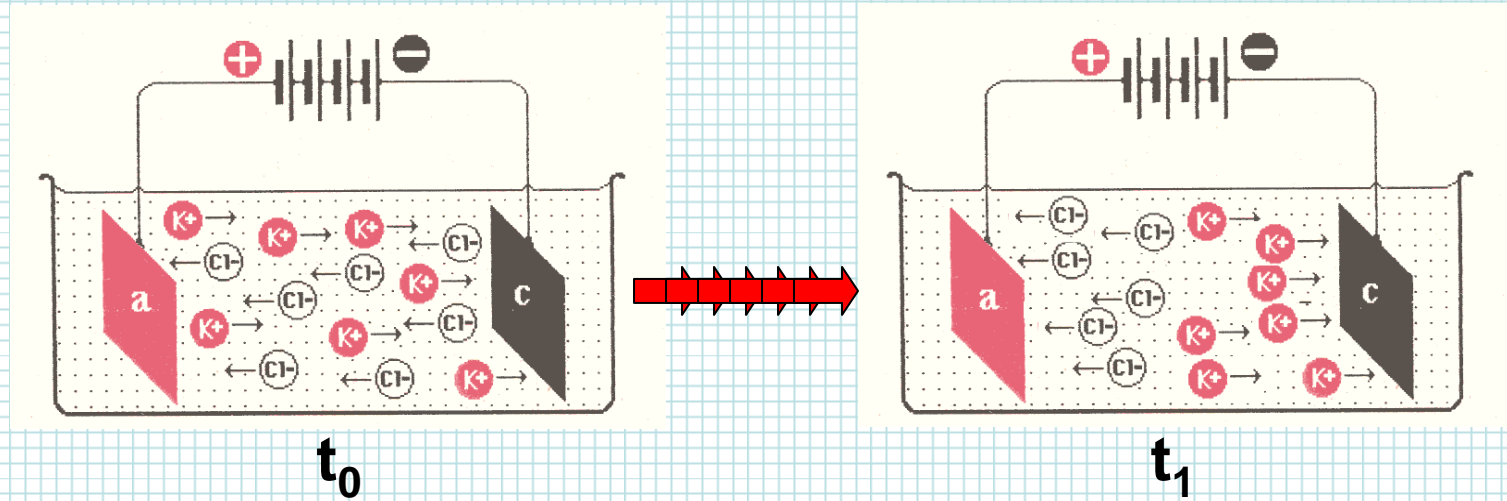


Soluti non ionici



$$\Delta G = RT \ln [c_2 / c_1] = 0$$
$$c_1 = c_2$$

Migrazione in un campo elettrico



C'è un flusso netto di cationi (K^+) verso il catodo (polo $-$) e di anioni (Cl^-) verso l'anodo (polo $+$)

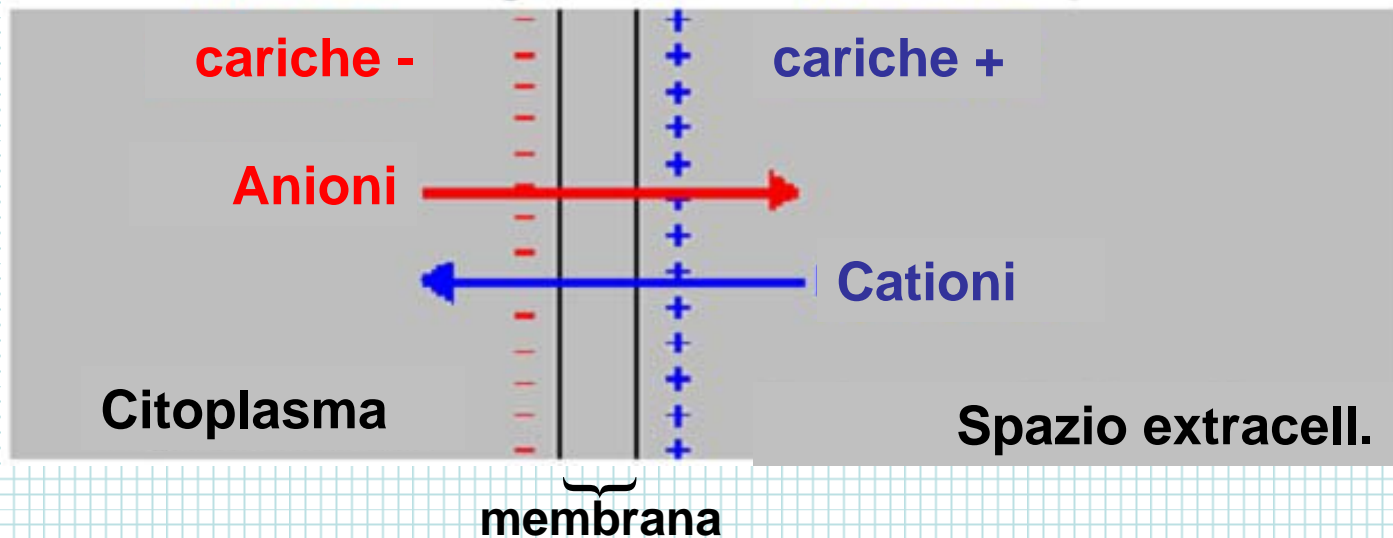
$$F_e \propto \frac{dV}{dx} \quad \text{ovvero:} \quad F_e = z \cdot k_e \cdot \Delta V$$

è la pendenza
del gradiente
elettrico

scaricatoda www.sunhope.it

La costante di
proporzionalità
dipende dalla
mobilità e dalla
concentrazione
del soluto

Una differenza di cariche (Δq) ovvero di potenziale elettrico (ΔV) ai due capi della membrana influenza il movimento degli ioni



Quindi, il flusso di *particelle cariche* dipende non solo dal *gradiente di concentrazione* ma anche dal *gradiente elettrico*

Equazione di Nernst-Planck:

$$F_i = k_d \cdot \frac{dC}{dx} + k_e \cdot \frac{dV}{dx}$$

Soluti non ionici



Equilibrio diffusivo
 $\Delta G = 0$



$$\Delta G = RT \ln [c_2 / c_1] = 0$$
$$c_1 = c_2$$

Soluti ionici



Equilibrio diffusivo
Lavoro elettrico = Lavoro chimico



Equilibrio diffusivo

$$zF\Delta V = RT \ln [c_2 / c_1]$$

GENESI DEL POTENZIALE DI MEMBRANA

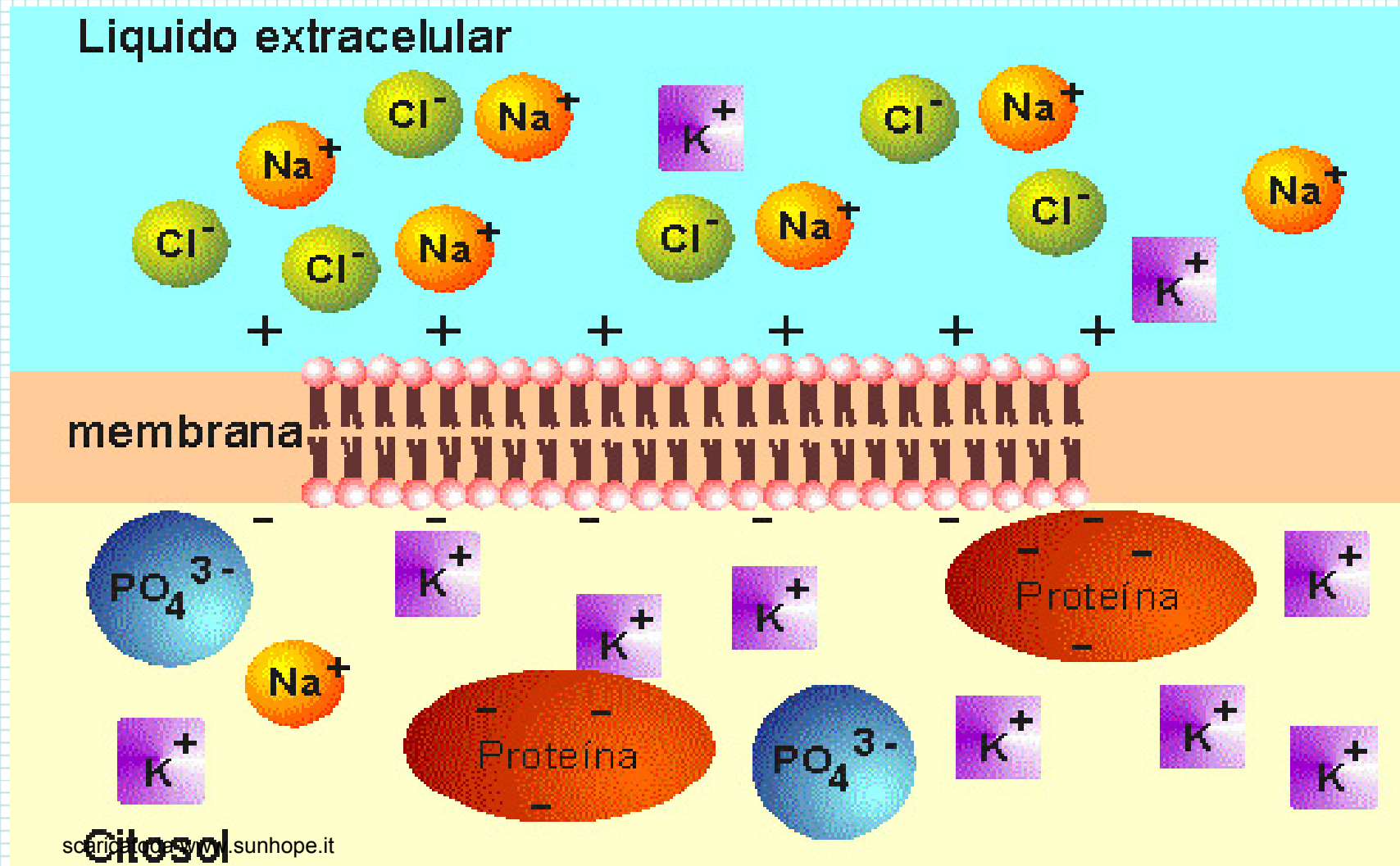
Il potenziale di membrana è una **differenza di potenziale** (d.d.p.) elettrico che si misura ai due lati di una membrana plasmatica.

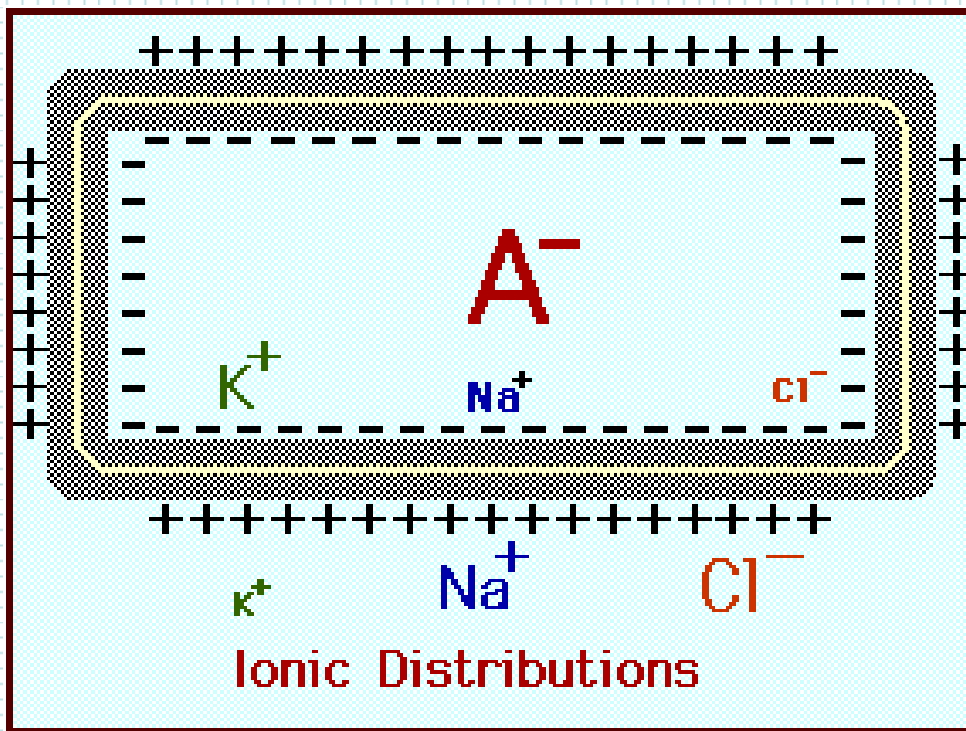
Questa d.d.p. è stabile nel tempo (tranne nelle cellule eccitabili), dura per tutta la vita cellulare ed è fondamentale per tutti i fenomeni cellulari.

$$E_m = - 70 \text{ - } 90 \text{ mV}$$

(lato int. negativo, lato est. positivo)

La genesi di questa d.d.p. è legata all'esistenza di un disequilibrio ionico tra ambiente intra ed extracellulare.

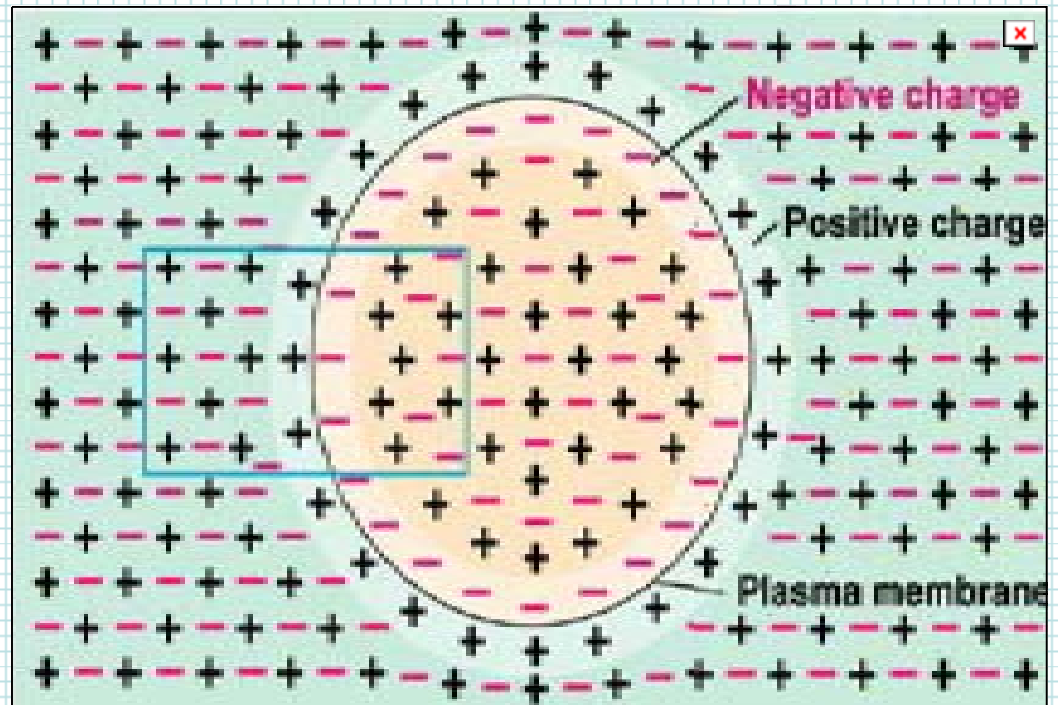




La **distribuzione diseguale** di un piccolo numero di ioni cruciali tra il LIC e il LEC e il loro **movimento selettivo** attraverso la membrana sono responsabili delle proprietà elettriche della membrana. Gli ioni responsabili della generazione del potenziale di membrana a riposo sono Na^+ , K^+ e A^- .

| Cell membrane | | |
|----------------------------|--------|---------|
| | Inside | Outside |
| Na^+ | 12 mM | 120 mM |
| K^+ | 125 mM | 5 mM |
| Cl^- | 5 mM | 125 mM |
| A^- | 108 mM | --- |
| H_2O | 55,000 | 55,000 |
| Total osmolarity, 250 mOsm | | |

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

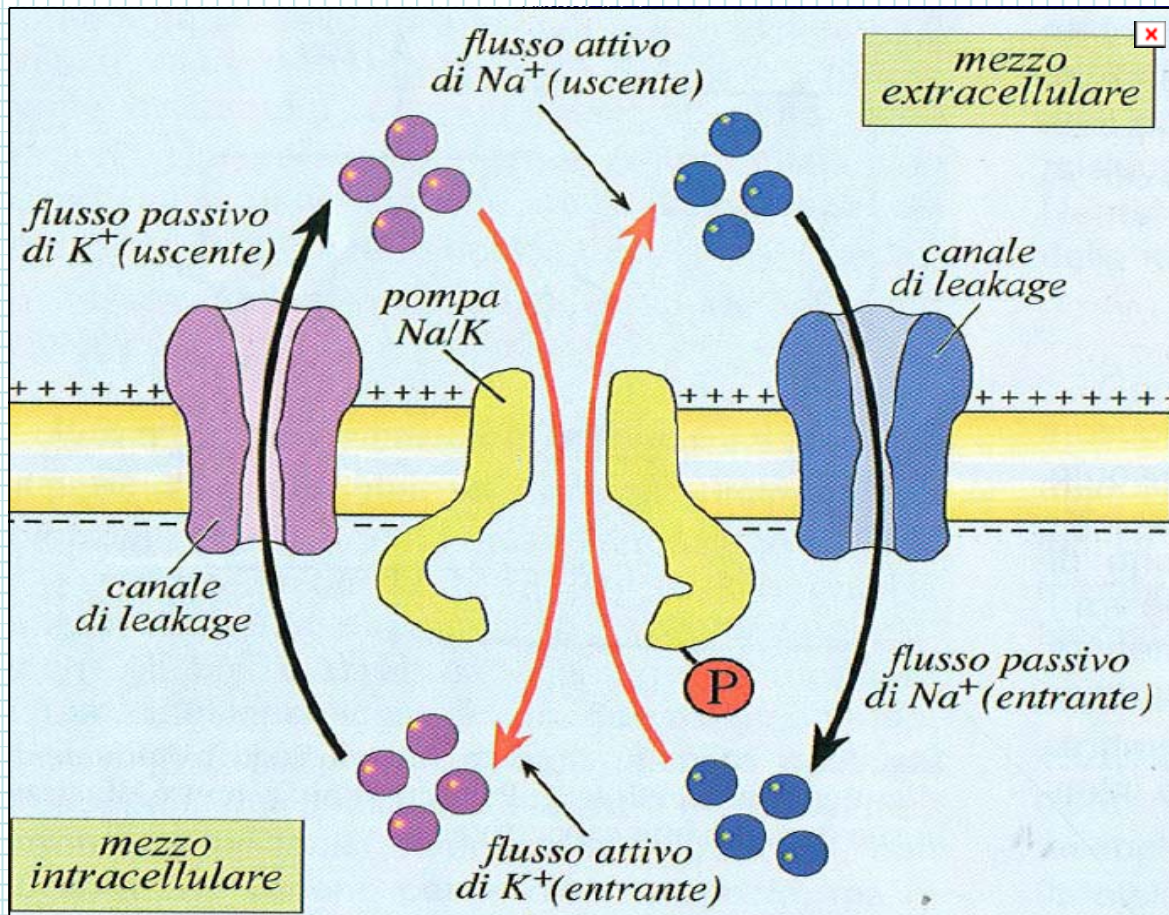


Per spiegare il potenziale di membrana dobbiamo considerare due questioni:

(1) La prima è la **concentrazione** degli ioni all'interno e all'esterno della cellula.

(2) La seconda è la **facilità con la quale le particelle cariche (Na^+ , K^+ ecc.) possono muoversi** attraverso la membrana.

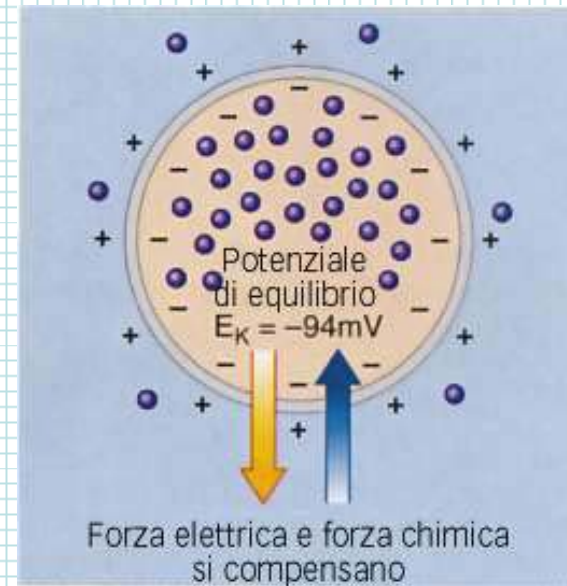
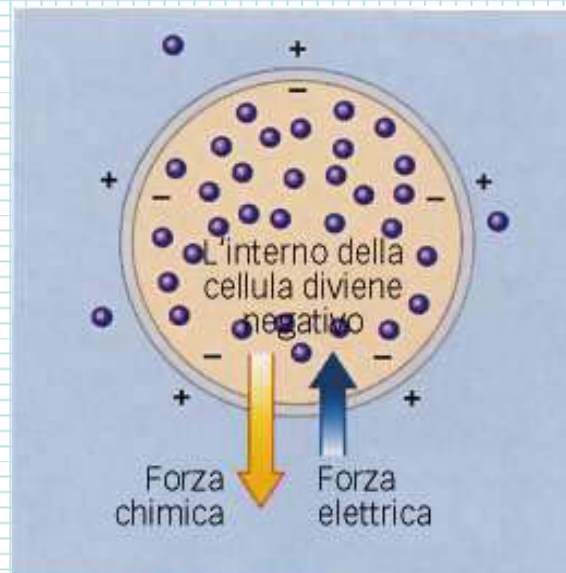
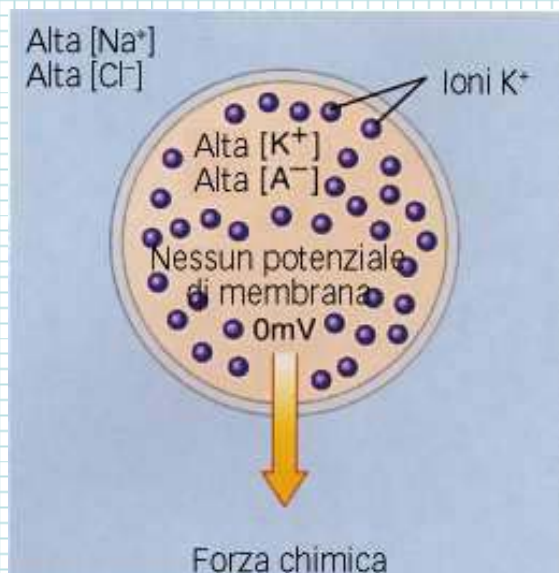
Questa facilità è influenzata dal numero e dal tipo di canali ionici presenti nella membrana, che determinano la **permeabilità** della membrana agli ioni.



Oltre ai meccanismi di trasporto attivo, Na^+ e K^+ possono attraversare passivamente la membrana attraverso i specifici canali proteici. Generalmente è molto più facile per K^+ che per Na^+ perché esistono molti più canali aperti per il traffico passivo di K^+ che per Na^+ . Al potenziale di riposo in una cellula nervosa, la membrana è circa 50-75 volte più permeabile a K^+ che a Na^+ .

Per spiegarne l'esistenza del potenziale di membrana.....

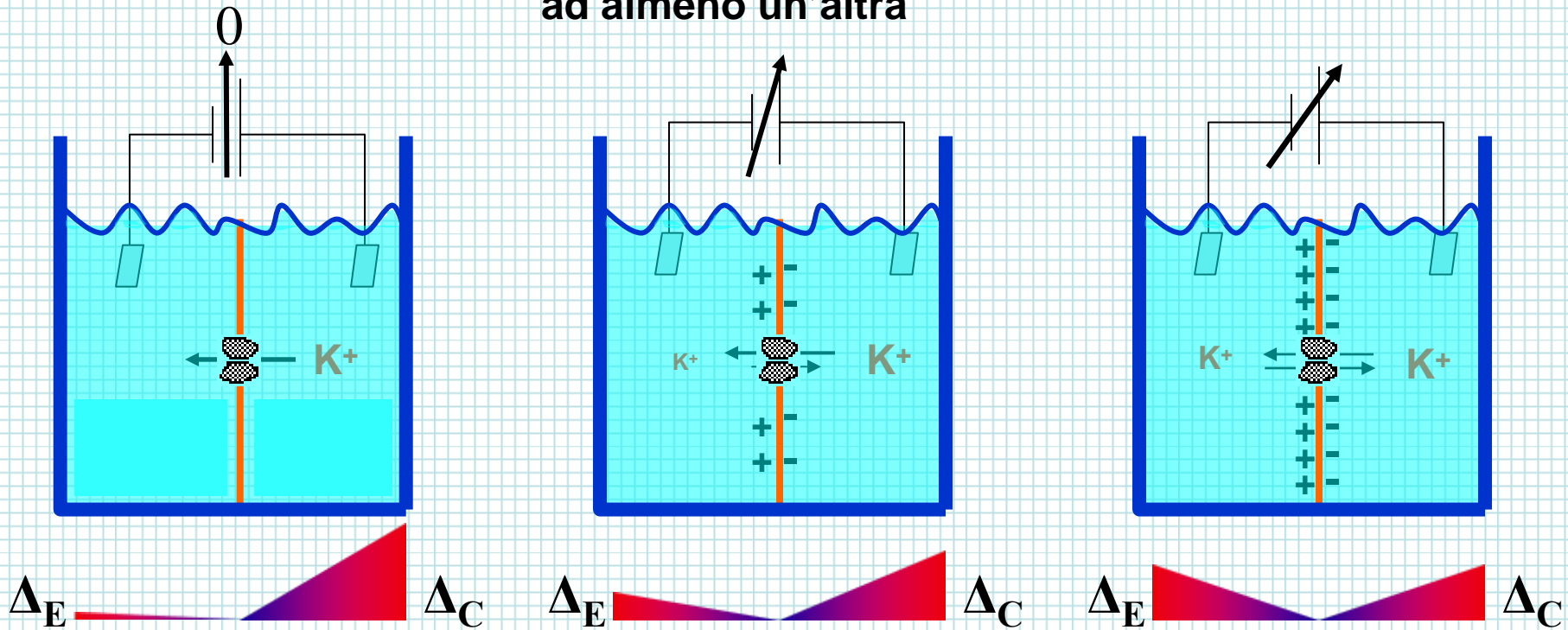
Membrana semipermeabile (permeabile solo allo ione K^+) che separa i compartimenti intra- ed extracellulari a contenuto ionico diverso



$$F_c = RT \ln \frac{[K^+]_{outside}}{[K^+]_{inside}}$$

Un potenziale d'equilibrio si manifesta quando una membrana separa soluzioni a differente concentrazione di una specie ionica diffusibile in presenza di almeno una specie ionica non diffusibile.

Quando si applica l'equazione 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


Si tratta di un equilibrio elettro-chimico: Equilibrio di Donnan

$$E = \frac{RT}{zF} \times \ln \left(\frac{[C]_{est}}{[C]_{int}} \right)$$


scaricato da www.sunhope.it

$$E = 58mV \times \text{Log}_{10} \left(\frac{[C]_{est}}{[C]_{int}} \right)$$

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.



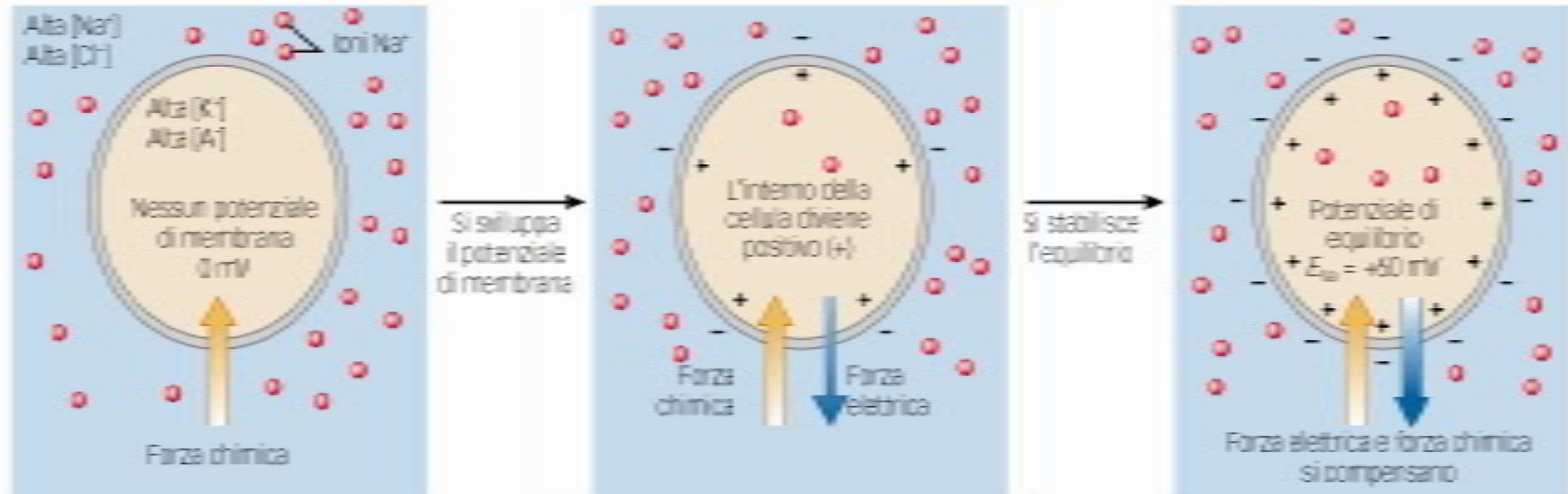
Equazione di Nerst
$$\Delta V = (RT/zF)\ln[c_2/c_1]$$

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

Per spiegarne l'esistenza del potenziale di membrana.....

Membrana semipermeabile (permeabile solo allo ione Na^+)

Cellula 2: permeabile solo al sodio



In realtà, né lo ione K^+ né lo ione Na^+ esistono da soli nei liquidi organici, quindi nelle cellule dell'organismo non sono presenti potenziali di equilibrio.....

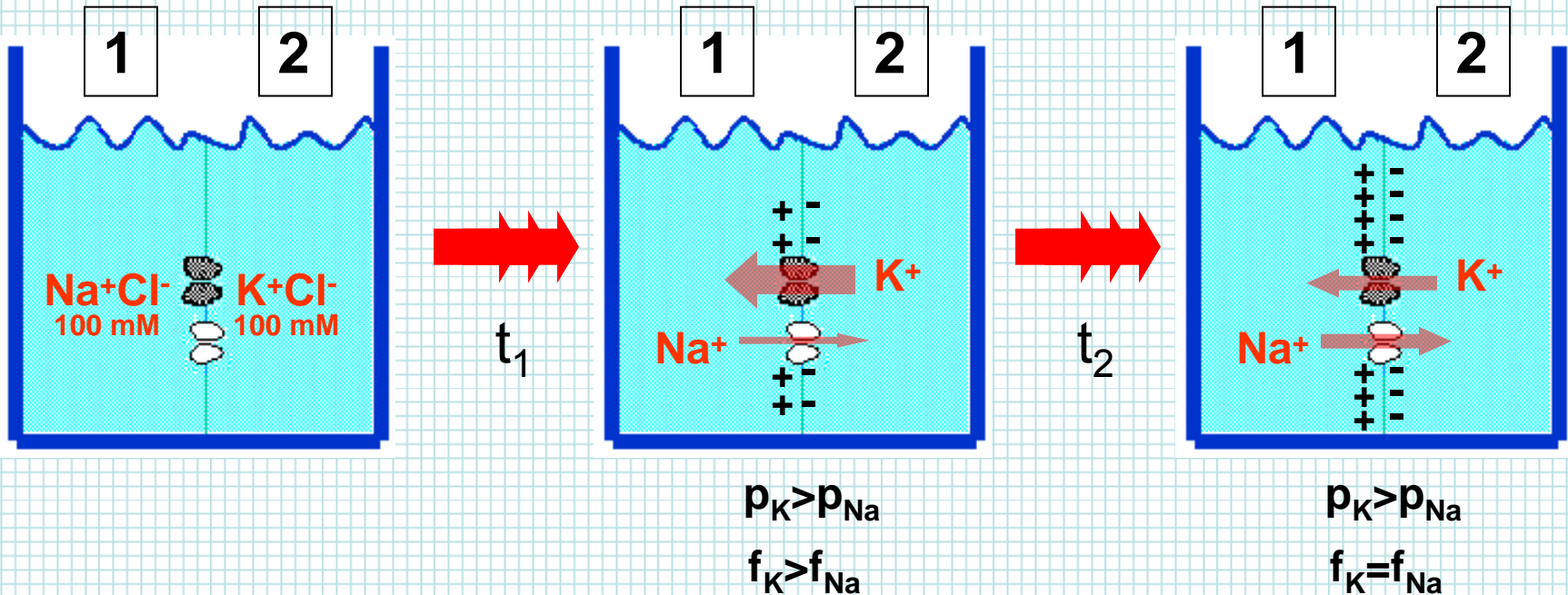
Origine del potenziale di membrana

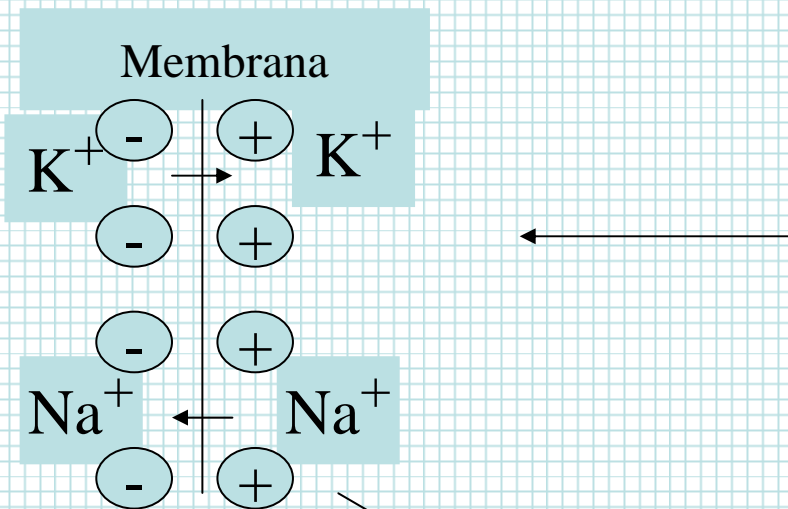
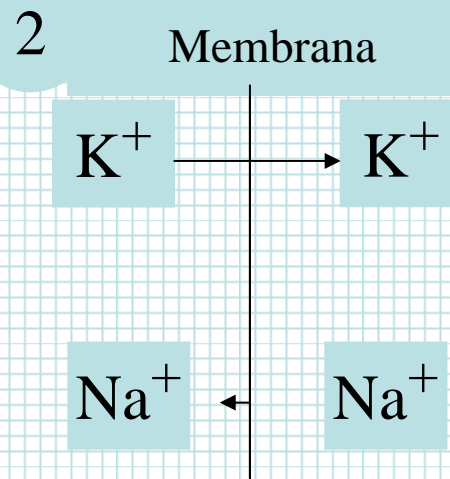
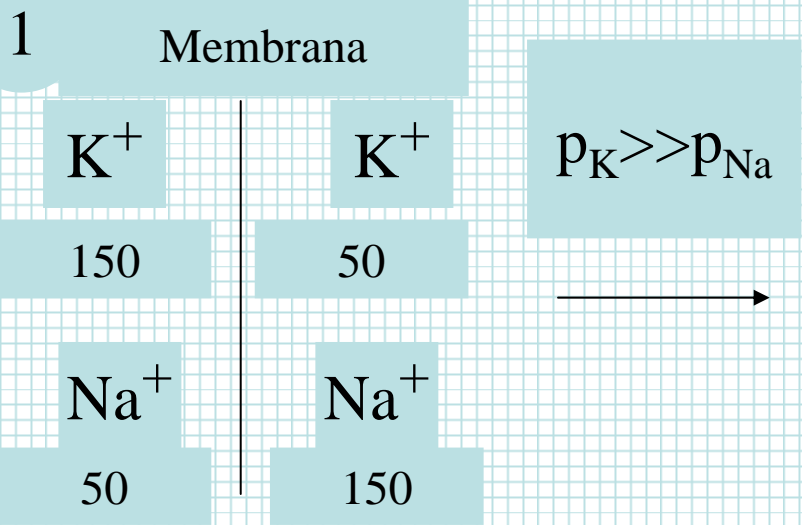
1) Il **potenziale di membrana** non corrisponde al **potenziale di equilibrio** di una specie ionica diffusibile, calcolabile mediante l'**equazione di Nerst**.

2) 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**.

Quando si genera un potenziale di diffusione:

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





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

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

IL POTENZIALE DI MEMBRANA E' UN POTENZIALE DI DIFFUSIONE ALLO STATO STAZIONARIO DESCRITTO DALL'EQ. DI GOLDMAN HODGKIN E KATZ

In questo caso però il potenziale di membrana V_m non coinciderà con nessuno dei potenziali di equilibrio delle specie ioniche permeanti ($V_m \neq E_j$)

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_o} \right)$$

Qualora la membrana fosse permeabile solo al K^+ (cioè $P_{Na}=0$ e $P_{Cl}=0$):

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_K [K^+]_o}{P_K [K^+]_i} \right) = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} \right) = E_K$$

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



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

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

where $b = \frac{p_{Na}}{p_k}$

Quesito

| Ione | Citoplasma | Extracell. (mM) |
|-----------------|------------|-----------------|
| Na ⁺ | 10 | 120 |
| K ⁺ | 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 $P_K:P_{Na}=1:1$.

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

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

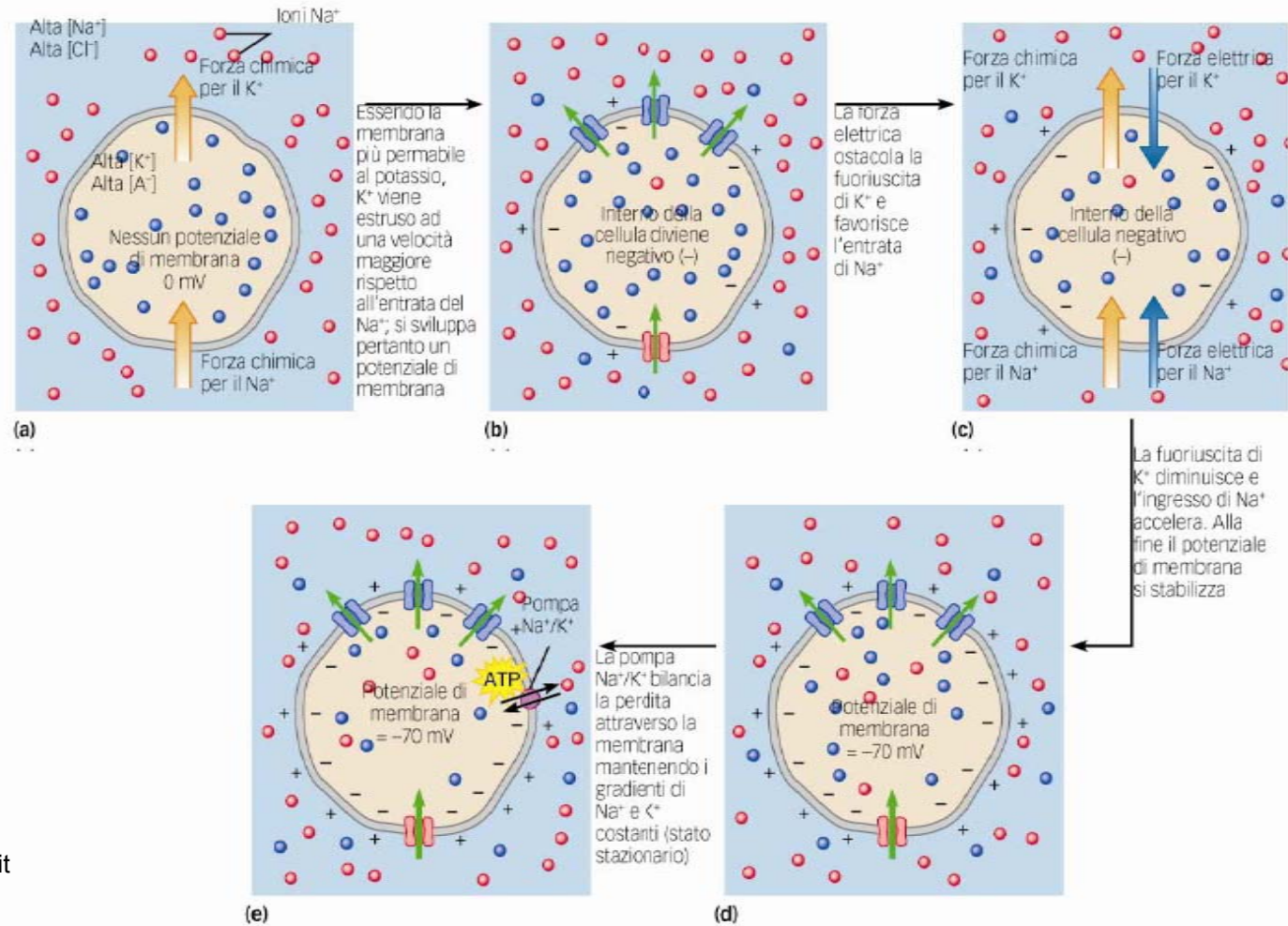
$$P_K:P_{Na}=1:1 \quad V_m = 58 \log \frac{[K]_o + [Na]_o}{[K]_i + [Na]_i} = 58 \log \frac{3 + 120}{120 + 10} = -1.4 \text{ mV}$$

Il potenziale di membrana viene

generato da:

➤ Esistenza di un gradiente di concentrazione ionica

➤ Permeabilità selettiva della membrana

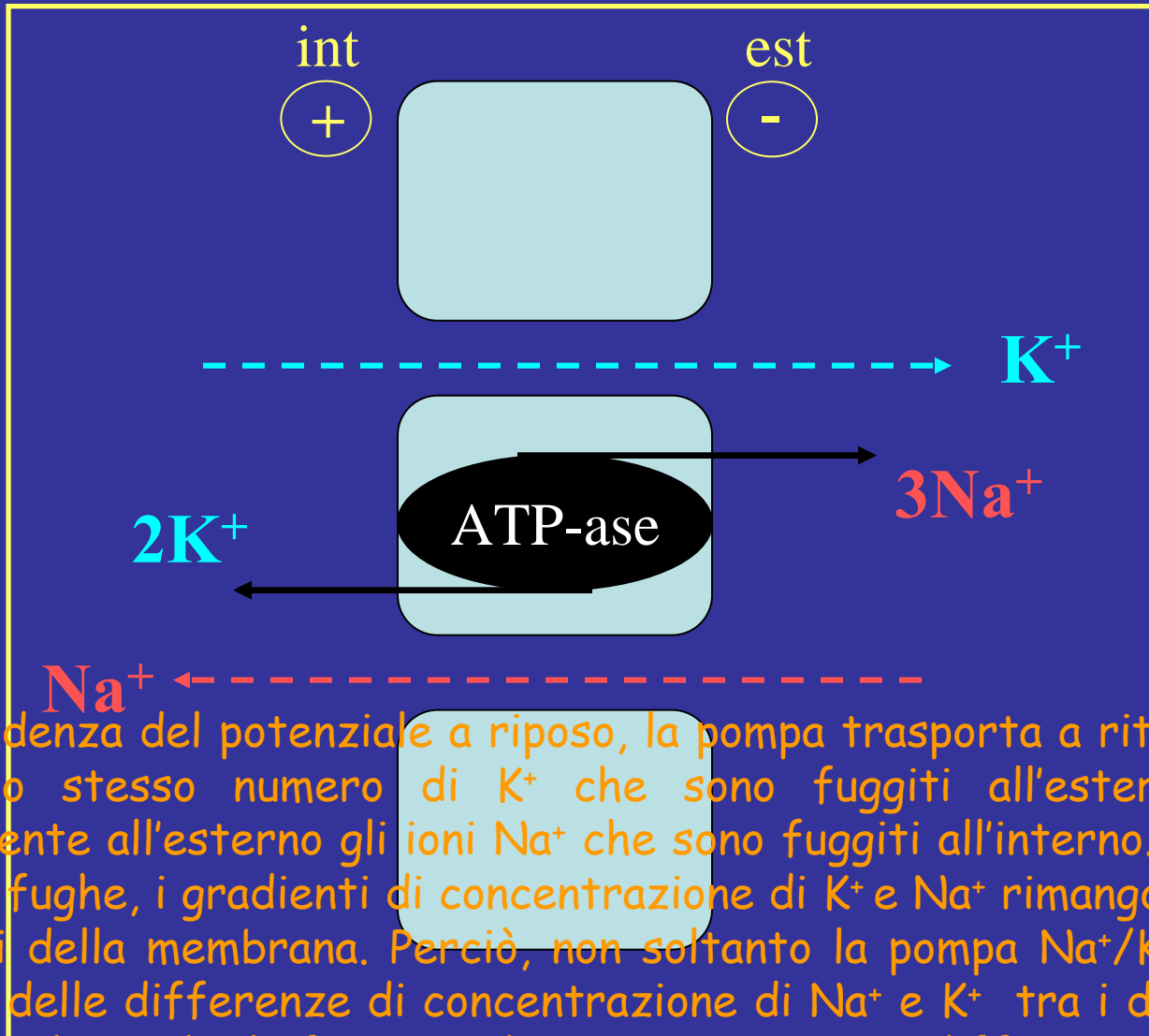


In corrispondenza del potenziale di membrana a riposo, né K^+ né Na^+ sono in equilibrio. Un potenziale di -70 mV non controbilancia esattamente il gradiente di concentrazione di K^+ ; per farlo occorre un potenziale di -90 mV. Perciò K^+ continua lentamente a uscire passivamente attraverso i suoi canali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

Come mai il potenziale di membrana non va a zero?



In corrispondenza del potenziale a riposo, la pompa trasporta a ritroso nella cellula pressochè lo stesso numero di K^+ che sono fuggiti all'esterno e trasporta simultaneamente all'esterno gli ioni Na^+ che sono fuggiti all'interno. Poichè la pompa compensa le fughe, i gradienti di concentrazione di K^+ e Na^+ rimangono costanti tra i due versanti della membrana. Perciò, non soltanto la pompa Na^+/K^+ è responsabile inizialmente delle differenze di concentrazione di Na^+ e K^+ tra i due versanti della membrana, ma ha anche la funzione di mantenere queste differenze.

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.