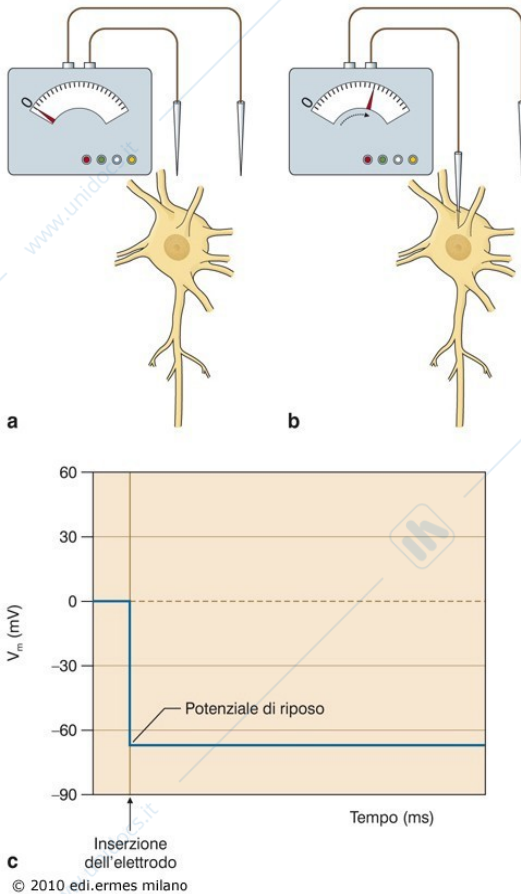


Potenziale elettrico (V)

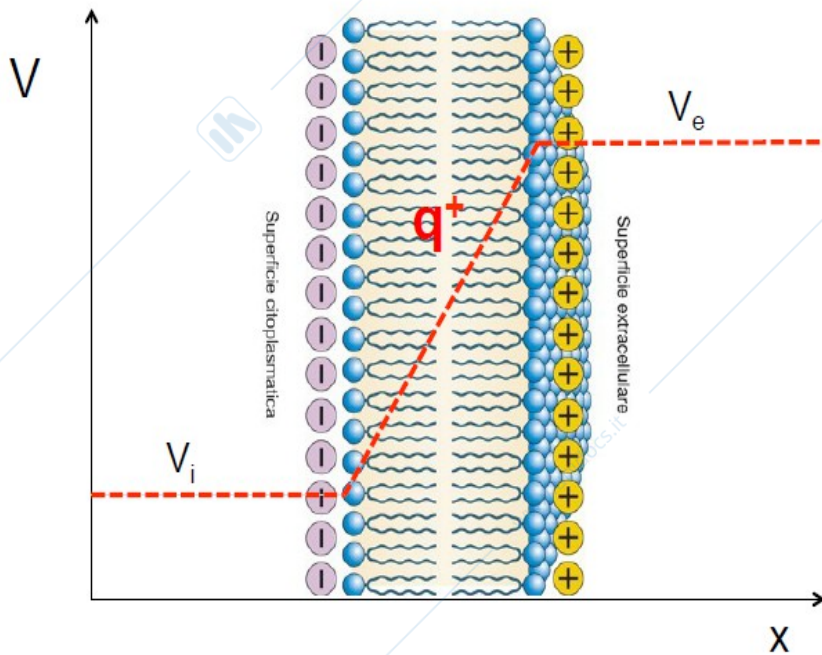
Per spostare una carica elettrica di quantità di carica q in un campo elettrico, tra un punto a bassa energia potenziale a un punto ad elevata energia potenziale, occorre compiere un lavoro U . Il potenziale elettrico è definito come il rapporto tra il lavoro U , necessario per spostare questa carica contro una differenza di potenziale, e la quantità carica: $V = U/q$

Quindi l'unità di misura sarà joule (J), l'unità di misura del lavoro, su coulomb (C), l'unità di misura della carica. Questo rapporto è il volt (V): Joule/Coulomb = Volt.

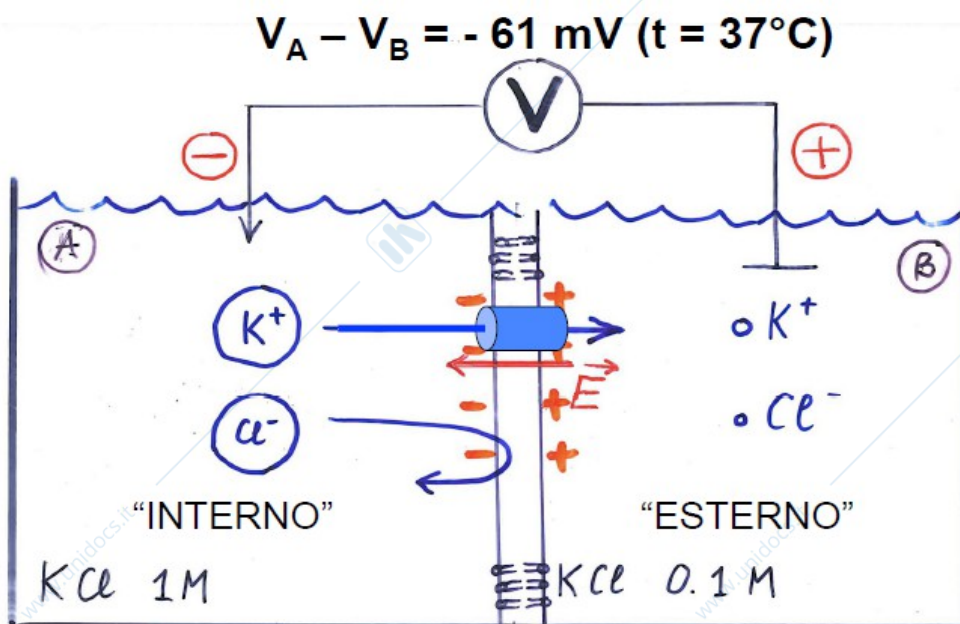


Facciamo un' esperimento virtuale: immaginiamo di avere un' apparecchio che misuri una differenza di potenziale, ovvero un voltmetro. Questo strumento permette, inserendo una batteria tra due elettrodi, di misurare la differenza di potenziale che essa genera. Supponiamo che questi due elettrodi siano molto piccoli, quindi che abbiano una punta molto fine, come questi capillari. Questi capillari, uniti tramite un cavo, sono ripieni di una soluzione ad alta concentrazione di ioni in modo tale da condurre bene l'elettricità. Finché i due elettrodi sono entrambi al di fuori di questa cellula, tra essi misuriamo una differenza di potenziale nulla in quanto la somma delle cariche totali positive e negative in ogni punto del mezzo extracellulare è zero. Non appena uno dei due elettrodi entra all'interno, per cui la punta è collegata con l'interno della cellula, improvvisamente si misura (con l'oscilloscopio in questo caso) una differenza di potenziale elettrico tra l'elettrodo interno e quello esterno di un valore di circa -70 millivolt (mV). Il segno indica che l'interno ha un potenziale elettrico, negativo, inferiore rispetto all'esterno che è positivo. Come valore assoluto non stiamo parlando di volt o decine di volt ma solo di millivolt, circa -70mV. Se adesso prendessimo anche l'altro elettrodo, quello che è rimasto al di fuori della

cellula, e lo inserissimo all'interno della cellula misureremmo di nuovo una differenza di potenziale pari a zero perché vale lo stesso principio anche all'interno: la somma totale delle cariche positive e negative è uguale a zero. Questo vuol dire che questa differenza di potenziale a cavallo della membrana, che si chiama potenziale di membrana o potenziale transmembranario, è un fenomeno locale o proprietà locale della membrana. Di fatto la membrana cellulare si comporta come un condensatore. Un condensatore è un'armatura, fatta di un buon conduttore, separata da un'isolante che non lascia passare la corrente quindi con un'elevata resistenza elettrica. Il condensatore funge da separatore di cariche per cui una piastra diventa negativa, in quanto si accumulano cariche negative, e l'altra positiva, perché si accumulano cariche positive. I lipidi di membrana fungono da isolante e il liquido intracellulare e extracellulare, essendo buoni conduttori in quanto ricchi di elettroliti, fungono da armature o piastre del condensatore. Possiamo quindi equiparare la membrana cellulare ad un condensatore.



Qui abbiamo uno schema del doppio strato lipidico, lato interno negativo e lato esterno positivo. Sull'ascissa abbiamo la distanza sull'ordinata abbiamo il potenziale elettrico. All'interno abbiamo un potenziale elettrico negativo all'esterno positivo quindi il salto di potenziale avviene solo nella membrana. Il liquido intracellulare e quello extracellulare sono in ogni punto equipotenziali quindi il salto di potenziale avviene solo a livello della membrana, per cui si parla di potenziale elettrico transmembranario. Qui è indicato che per spostare una carica elettrica positiva da interno-negativo a esterno-positivo è necessario compiere un lavoro e questo lavoro non sarà altro che il prodotto (dato che abbiamo definito il potenziale elettrico come il rapporto fra lavoro per unità di carica) tra la carica e il potenziale. Quindi V_m , cioè la differenza di potenziale che misuriamo da un lato all'altro della membrana, moltiplicato per q : $V_e - V_i = V_m \times q$.



In questa diapositiva è riportato il potenziale di riposo (o Resting Potential) che indica semplicemente che il potenziale di membrana è costante, non cambia nel tempo a meno che avvengano degli eventi per esempio degli stimoli che lo fanno cambiare. Per capire come viene generata questa differenza di potenziale a cavallo della membrana possiamo partire da un modello che è di fatto una pila elettrica. Consideriamo un recipiente diviso in due vaschette, vasca A e vasca B, separate da un doppio strato lipidico. Supponiamo di aggiungere al doppio strato lipidico dei canali che forniscano alla membrana permeabilità selettiva solo per gli ioni potassio. Supponiamo anche di riempire la vaschetta A (simile all'interno della membrana) con una soluzione 1 M di cloruro di potassio (KCl) e il lato B (simile all'esterno della membrana) con una soluzione di cloruro di potassio dieci volte meno concentrata, per esempio 0,1 M. Il cloruro di potassio, essendo un sale proveniente da acido e base forte, si dissocia completamente. Avremo quindi nel lato A 1 M di ioni potassio e 1 M di ioni cloro e nel lato B 0,1 M di ione potassio e 0,1 M di ioni cloro. Abbiamo un gradiente di ioni cloro e ioni potassio. Gli ioni potassio, dato che la membrana è impermeabile a causa dei canali, tenderanno a passare secondo gradiente, per semplice diffusione, dal lato A al lato B e lo stesso farebbero gli ioni cloro se la membrana fosse permeabile al cloro, ma non lo è (come indicata da questa freccia che torna indietro). Per ogni ione potassio che passa da A a B non c'è un ione cloro che passa da A a B quindi non abbiamo un equilibrio elettrico, abbiamo un eccesso di cariche positive che si spostano da A a B quindi progressivamente il lato A diventerà negativo e il lato B positivo. Questo processo non può andare avanti all'infinito perché se si crea questa differenza di potenziale elettrico fra A e B il campo elettrico tenderà a riportare gli ioni potassio da B ad A perché la diffusione dello ione va contro questo campo elettrico. Questo flusso netto di ioni potassio da A a B continuerà fino a quando la forza chimica che spinge gli ioni potassio da A a B è esattamente uguale e opposta alla forza elettrica che tende a riportare gli ioni potassio da B ad A. A quel punto avremo raggiunto un equilibrio elettro-chimico perché intervengono sia forze chimiche, basate sulla differenza di concentrazione, che forze elettriche, basate su una differenza di potenziale elettrico. La differenza di potenziale elettrico che misuriamo all'equilibrio, tra A e B, prende il nome di potenziale di equilibrio, in questo caso potenziale di equilibrio dello ione potassio, chiamato anche potenziale di Nernst o anche potenziale di diffusione perché è basato sulla diffusione selettiva dello ione potassio attraverso la membrana: $V_A - V_B = V_m$. All'equilibrio la differenza di potenziale fra A e B è costante, la chiamiamo potenziale di membrana o transmembranario, e viene abbreviato con E, che fa riferimento al potenziale di equilibrio, in questo caso dato che interessa lo ione potassio si indica con E_{K^+} , potenziale d'equilibrio dello ione potassio. Questo potenziale di equilibrio dipende dalla temperatura, in quanto nell'equazione di Nernst c'è la temperatura. A 37° in queste condizioni, cioè KCl 1 M in A e 0,1 M in B, misureremo una differenza di potenziale all'equilibrio di -61 mV, dove il meno indica un potenziale negativo. Questo esperimento potrebbe già darci una spiegazione del perché il lato interno della membrana è negativo e quello esterno positivo. In maniera quantitativa il potenziale di equilibrio di qualunque ione i è definito dall'equazione di Nernst:

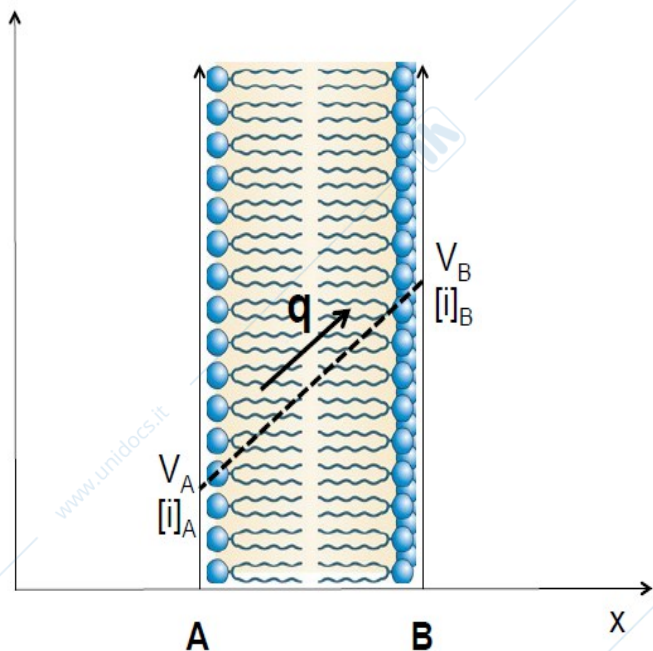
$$E_i = - \frac{RT}{zF} \ln \frac{[i]_A}{[i]_B}$$

Oppure

$$E_i = - 2,303 \frac{RT}{zF} \log \frac{[i]_A}{[i]_B}$$

- $R =$ costante dei gas ($8,314 \cdot 1015 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)
 - $T =$ temperatura assoluta ($^{\circ}\text{K}$)
- $F =$ costante di Faraday = carica elettrica totale di una mole di ione monovalente = $eNA = (96485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1})$
- $z =$ valenza dello ione ($\text{K}^+ = +1$; $\text{Ca}^{2+} = +2$; $\text{Cl}^- = -1$ ecc.)

Questo ci dice che non è molto importante la concentrazione assoluta quanto solo il rapporto delle concentrazioni. Quindi tornando all'esempio di prima, il potenziale è -61 mV se la concentrazione di KCl è 1 M in A e $0,1 \text{ M}$ in B ma il potenziale sarebbe lo stesso anche se la concentrazione di KCl fosse $0,1 \text{ M}$ in A e $0,01 \text{ M}$ in B l'importante è rispettare il rapporto di $10:1$. Se il rapporto è $10:1$, qualunque sia il valore assoluto delle concentrazioni, il potenziale di equilibrio sarebbe sempre -61 mV a 37° . Dato che è più facile lavorare con il logaritmo in base 10 e non quello in base e l'equazione di Nernst viene scritta con il logaritmo in base dieci: basta moltiplicare per un numero costante 2.303 . Nel caso di prima in cui abbiamo un rapporto $10:1$ il potenziale di equilibrio per il potassio è esattamente -2.0303 per $RT(273+37)$ su $z(+1$ perché per il potassio la valenza è questa) per F tutto questo rapporto appunto a 37° vale -61 mV . Per ricavare l'equazione di Nernst ci sono vari modi. Uno di questi è il principio del lavoro nullo che consiste nel considerare il lavoro totale che serve per spostare, contro gradiente, una carica elementare q tra due punti A e B che hanno sia un differente potenziale elettrico (V_A e V_B) sia concentrazioni dello ione differenti (I_A e I_B). È espresso in questo schema:



abbiamo il lato A della membrana, avente un potenziale elettrico V_A e una concentrazione dello ione I_A , e dall'altro lato della membrana il lato B, con potenziale elettrico V_B e concentrazione dello ione I_B . Il principio è che il lavoro necessario per spostare questo ione si compone di due componenti: un lavoro chimico contro gradiente di concentrazione e un lavoro elettrico contro gradiente elettrico. Il lavoro totale è la somma del lavoro chimico e di quello elettrico. $L = LC + LE$ Qui possiamo applicare il principio del lavoro nullo: se il lavoro totale è nullo vuol dire che siamo all'equilibrio e non occorre compiere alcun lavoro e quindi possiamo parlare di un potenziale di equilibrio elettrochimico (perché c'è in mezzo sia un lavoro chimico che elettrico). Se per spostare un

oggetto da un punto a energia potenziale bassa a un punto a energia potenziale più elevata devo compiere un lavoro, in questo caso contro il campo gravitazionale. Se però sposto questo oggetto parallelamente alla superficie della terra ovviamente il lavoro è nullo perché il potenziale gravitazionale in tutti i punti è sempre uguale. Esattamente come i pianeti: i pianeti ruotando intorno al sole non compiono nessun lavoro perché dal punto di vista del campo gravitazionale tutti i punti sono equipotenziali. Il lavoro elettrico l'abbiamo già definito come il prodotto della quantità di carica e la differenza di potenziale: $LE = q \cdot (V_A - V_B)$, il lavoro chimico viene espresso da questa espressione:

$$L_C = k_b \cdot T \cdot \ln[i]_A - k_b \cdot T \cdot \ln[i]_B = k_b \cdot T \cdot \ln \frac{[i]_A}{[i]_B}$$

Applico il principio del lavoro nullo quindi la somma dei due lavori deve essere zero :

$$L = q \cdot (V_A - V_B) + k_b \cdot T \cdot \ln \frac{[i]_A}{[i]_B} = 0$$

$$\text{Da cui } V_A - V_B = E_i = - \frac{k_b \cdot T}{q} \ln \frac{[i]_A}{[i]_B}$$

Moltiplicando e dividendo per N_A :

$$E_i = - \frac{R \cdot T}{F} \ln \frac{[i]_A}{[i]_B}$$

Questa tabella riporta i valori di questo rapporto in funzione di temperature diverse:

**Calcolo dei potenziali di equilibrio di alcuni ioni fondamentali
(cellula muscolare di mammifero, 30°C)**

**Concentrazioni degli ioni in cellula muscolare di mammifero
[mmoli/litro]**

	K^+	Na^+	Cl^-
Interno	155	12	4
Esterno	4	155	120

Valori di $2,303RT/F$ a varie temperature:

Temperatura [°C]	$2,303 RT/F [mV]$
0	54,20
10	56,18
20	58,17
30	60,15
37	61,54

Potenziali di equilibrio a 30°C

$$E_{K^+} = -60,15 \log(155/4) \cong -97 \text{ mV}$$

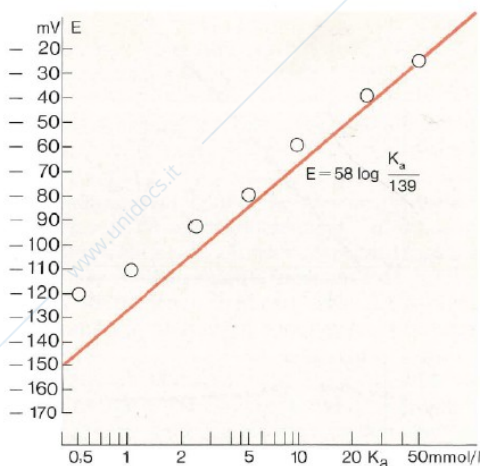
$$E_{Na^+} = -60,15 \log(12/155) \cong +66 \text{ mV}$$

$$E_{Cl^-} = +60,15 \log(4/120) \cong -90 \text{ mV}$$

Normalmente il potenziale di membrana E_m si trova tra - 50 mV e -100 mV.

Possiamo ad esempio calcolare i potenziali di equilibrio di alcuni ioni importanti, facciamo per esempio a 30°, considerando le loro concentrazioni intracellulari e extracellulari che sono date in questa tabella per una cellula esemplare per esempio una cellula muscolare., L'interno è ricco di potassio e povero di sodio, l'esterno ricco di sodio e povero di potassio. Gli ioni cloro hanno anch'essi una distribuzione simile agli ioni sodio quindi poco concentrati all'interno e molto concentrati all'esterno. In base a questo si può calcolare i potenziali di equilibrio di questi tre ioni(cloro, sodio, potassio) a 30° ad esempio per il potenziale di equilibrio del potassio applico semplicemente l'equazione di Nernst. Il rapporto del sodio è al contrario rispetto a quello del potassio perché il sodio è meno concentrato all'esterno che non all'interno, quindi ottengo un potenziale opposto rispetto a quello del potassio. Per quanto riguarda lo ione cloro il valore di z è meno uno. Questi potenziali di equilibrio sono importanti perché sono alla base del movimento degli ioni sodio e potassio attraverso la membrana durante il potenziale di azione. Abbiamo visto nell'esperimento originale, che il potenziale di membrana di quella cellula era circa -70mV. In generale il potenziale di membrana di tutte le cellule dell'organismo si viene a collocare fra -60 e -100 mV, comunque un interno negativo. Gli ioni abbiamo visto che sono distribuiti in maniera differente: il potassio più concentrato all'interno, sodio e cloro all'esterno. Quale di questi ioni determina il potenziale di membrana a riposo? La risposta è lo ione potassio. Si può dimostrare tramite un' esperimento. Viene presa una cellula, in questo caso una cellula muscolare di rana, e si misura il potenziale di riposo di questa cellula cambiando la concentrazione extracellulare di potassio. Facendo così, vedo che il potenziale di riposo della membrana cambia come predetto dall'equazione di Nernst che mi da il potenziale di equilibrio dello ione potassio. Se io facessi la stessa cosa, cambiando la concentrazione di sodio oppure cambiando la concentrazione di cloro, il potenziale di membrana praticamente non cambierebbe. Questo vuol dire che è determinante per questa cellula il potenziale di equilibrio dello ione potassio che determina il potenziale di membrana a riposo.

Il potenziale di membrana è direttamente proporzionale al log del rapporto $[K]_e/[K]_i$



Cellula muscolare di rana ($t = 20^\circ\text{C}$)

$$RT/F = 58 \text{ mV}$$

— E_K

○ ○ ○ E_m

Sull'ascissa abbiamo la concentrazione di potassio all'esterno espressa in millimol su litro (è un'ascissa logaritmica) sull'ordinata abbiamo il potenziale di membrana: ognuno di questi punti rappresenta il potenziale di membrana a riposo misurato per una determinata concentrazione extracellulare di potassio.

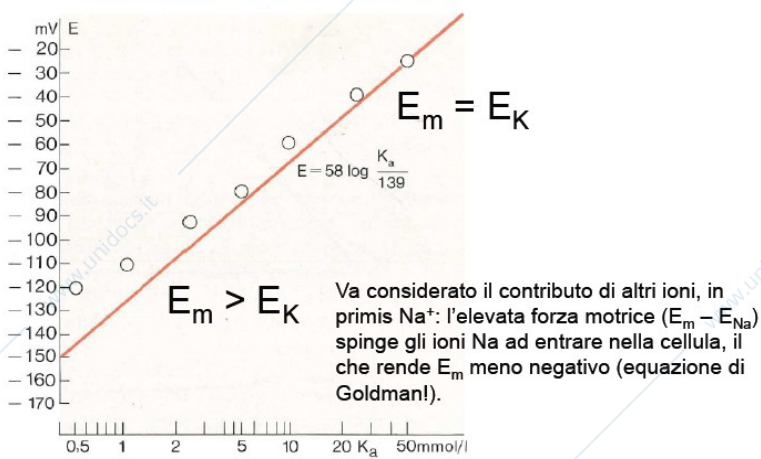
Ovviamente dobbiamo supporre, anche se non è detto

che sia così, che la concentrazione intracellulare del potassio resti costante. Questo numero, 139, rappresenta la concentrazione intracellulare di potassio nota e che non varia, invece il numeratore del logaritmo è la concentrazione di potassio, K_a , all'esterno che invece io determino. Se per esempio la concentrazione fisiologica sarebbe circa quattro millimoli per litro all'esterno sul grafico quattro corrisponde a -90mV che è il potenziale che misuro. Se io aumento la concentrazione extracellulare di potassio, il potenziale di membrana diventa sempre meno negativo o più positivo, in altre parole la membrana viene depolarizzata. Se invece io diminuisco la concentrazione extracellulare di potassio, il potenziale di membrana diventa più negativo cioè la membrana diviene iperpolarizzata. Se vado a considerare l'equazione di Nernst questo è chiarissimo: se io aumento il numeratore il rapporto

diviene sempre più piccolo se invece diminuisco il numeratore il numero diventa sempre più piccolo quindi il logaritmo sempre più grande e quindi abbiamo un potenziale sempre più negativo. Questo valore 58 è il valore RT/F a 20° . Mentre prima abbiamo considerato 30° e quindi il valore di RT/F era 60 e qualcosa, adesso che lavoriamo ad una temperatura più bassa, trattandosi di una rana, questo valore è più piccolo. Qui abbiamo l'esterno al numeratore e l'interno al denominatore e infatti qui non

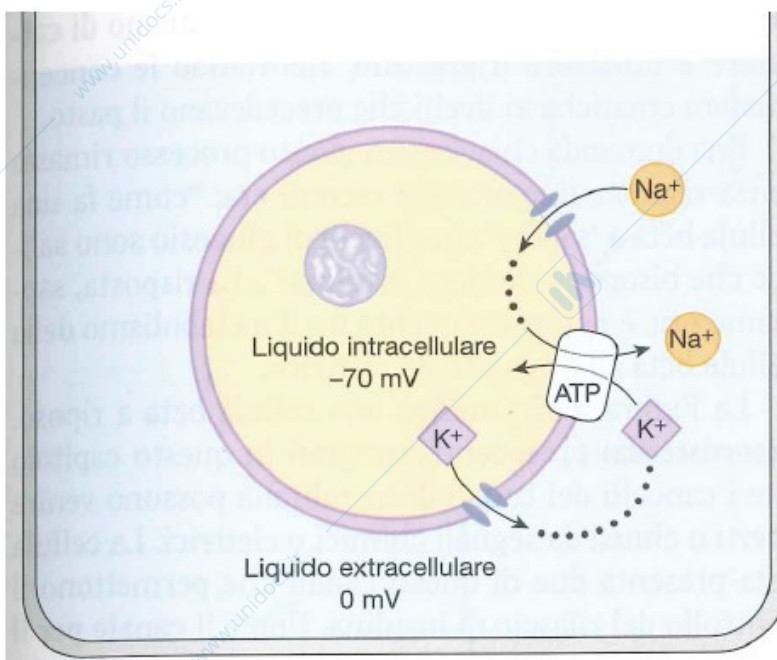
vedi il segno meno. Questo non è così nel mondo reale e lo vediamo già da questo grafico.

Il potenziale di membrana è direttamente proporzionale al log del rapporto $[K]_e/[K]_i$



questi punti in particolare interviene la permeabilità al sodio che diventa importante e quindi il sodio essendo più concentrato all'esterno, carica positiva che tende ad entrare dato questo enorme gradiente elettrico, tende a rendere meno negativo il potenziale di membrana quindi in altre parole qui dobbiamo considerare anche la permeabilità allo ione sodio. Adesso vedremo come si generalizza l'equazione di Nernst quando la membrana è permeabile non ad un solo ione ma a più ioni.

Comunque per ripetere quello che abbiamo detto: quando la membrana è permeabile ad un solo ione, che è presente a differenti concentrazioni ai due lati della membrana, il potenziale di membrana è esattamente uguale al potenziale di equilibrio dello ione predetto dall'equazione di Nernst (questo

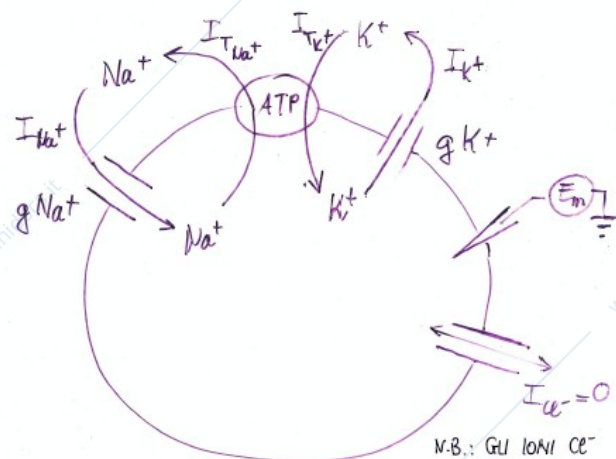


vale per la maggior parte delle cellule) però in molte altre cellule la membrana è permeabile anche ad altri ioni per cui dobbiamo ampliare l'equazione di Nernst e un'equazione generale, che descrive appunto il potenziale di membrana quando la membrana è impermeabile a più ioni, è la cosiddetta Equazione di Goldman-Hodgkin-Katz (GHK).

Consideriamo una cellula in cui sono presenti canali per il potassio, il sodio e anche la pompa sodio potassio che essendo una pompa che porta ioni genera anche un flusso di corrente. Il potassio viene trasportato contro gradiente dalla pompa dall'esterno verso l'interno; attraverso la pompa

abbiamo un flusso di potassio che va dall'esterno all'interno questi ioni potassio possono poi ritornare

all'esterno attraverso i rispettivi canali, quindi abbiamo anche una corrente di potassio dall'interno verso l'esterno attraverso il canale. Considerazioni speculari valgono per gli ioni sodio: abbiamo una corrente di sodio attraverso il trasportatore contro gradiente che va dall'interno all'esterno e il sodio rientra attraverso i suoi canali attraverso un'altra corrente, una corrente ionica attraverso il canale dall'esterno all'interno. Per descrivere l'intensità di queste correnti devo introdurre, per creare un'equazione che mi permetta di lavorare in questa condizione, il concetto di conduttanza. La conduttanza non è altro che l'inverso della resistenza. La legge di ohm dice che $V=IR$ da cui I è uguale a V/R allora se io definisco un nuovo parametro, g , che è la conduttanza come l'esatto inverso della resistenza ($g=1/R$) allora ovviamente la legge di ohm diventa $I=gV$. A questo punto io posso esprimere le correnti che scorrono attraverso i vari canali secondo la legge di Ohm.



$$I_{K^+} = g_{K^+} (E_m - E_{K^+})$$

$$I_{Na^+} = g_{Na^+} (E_m - E_{Na^+})$$

All'equilibrio $I_{K^+} + I_{Te} + I_{Na^+} + I_{TNa^+} = 0$

$$\Rightarrow E_m = \text{costante}$$

N.B.: GLI IONI Cl^- SI DISTRIBUISCONO PASSIVAMENTE IN FUNZ DI E_m ($E_{Cl^-} = E_m$)

“i” la corrente di potassio che scorre attraverso il canale di potassio è data dalla conduttanza per il potassio, che esprime la permeabilità alla membrana passiva per gli ioni potassio, moltiplicato per la forza motrice che muove gli ioni potassio, non è altro che la differenza fra il potenziale di membrana a riposo e il potenziale di equilibrio. Se E_m , il potenziale di membrana a riposo, è uguale a E_k , il potenziale di equilibrio, questo termine è zero e quindi la corrente sarà nulla e quindi vedete come questa equazione esprime di nuovo il concetto di potenziale di equilibrio, cioè quando la corrente elettrica è nulla. Lo stesso vale per lo ione sodio cioè

I_{Na^+} è uguale a g_{Na^+} che moltiplica la forza motrice (la differenza fra il potenziale di membrana a riposo e il potenziale di equilibrio del sodio). Allora vedete possiamo creare una nuova equazione, sempre per il principio della somma nulla. Quando il potenziale di membrana è costante? Ovviamente quando la corrente totale è nulla, quando non c'è una corrente netta che passa attraverso la membrana il potenziale non cambia. Quindi vedete all'equilibrio è: $I_{K^+} + I_{Te} + I_{Na^+} + I_{TNa^+} = 0$ in questo caso possiamo parlare di potenziale di membrana a riposo e se noi appunto adesso, trascurando la corrente del trasportatore, consideriamo solo le correnti che scorrono attraverso il canale, supponendo che quelle che scorrono attraverso il trasportatore contribuiscono poco solo alcuni millivolt al potenziale di membrana e quindi le possiamo trascurare, arriviamo appunto all'equazione di Goldman-Hodgkin-Katz (GHK):

Equazione di Goldman-Hodgkin-Katz (GHK)

$$V_m = -2,303 \frac{RT}{F} \log \frac{P_k [K^+]_{int} + P_{Na} [Na^+]_{int}}{P_k [K^+]_{est} + P_{Na} [Na^+]_{est}}$$

Forma generale dell'equazione di Nernst, quando la membrana è permeabile a più di uno ione (nell'esempio sia K^+ che Na^+)

P_i = permeabilità della membrana per lo ione i

L'equazione di GHK può anche essere espressa per mezzo della conduttanza g

$$V_m = \frac{g_K E_K + g_{Na} E_{Na} + \dots + g_i E_i}{g_K + g_{Na} + \dots + g_i}$$

Dove g_i = conduttanza della membrana per lo ione i
(= $1/R$, l'inverso della resistenza elettrica della membrana).

Questa non è altro che una media pesata o ponderata. Questo è molto interessante perché mi dice che il potenziale di membrana a riposo è la media pesata dei potenziali di equilibrio di tutti gli ioni che scorrono attraverso la membrana e il peso di ciascuno è dato proprio dalla conduttanza dei rispettivi ioni della membrana per i rispettivi ioni. Questa equazione riduce l'equazione di Nernst: se la conduttanza per il potassio è molto maggiore della conduttanza di tutti gli altri ioni ovviamente tutti questi termini gli possiamo trascurare e quindi vedete g_K e g_K si eliminano e V_m è uguale ad E_K , cioè mi dice che il potenziale di membrana è esattamente uguale al potenziale di equilibrio del potassio. Questa considerazione è molto utile perché ci fa capire il perché del potenziale di azione. Supponete che partiamo da una situazione a riposo in cui g_K è molto maggiore di g_{Na} allora il potenziale di membrana è vicino al potenziale di equilibrio di potassio. Supponiamo che succede qualcosa per cui improvvisamente la membrana diventa estremamente permeabile agli ioni sodio, a questo punto la conduttanza per il sodio aumenta o addirittura può diventare molto maggiore rispetto a quella per il potassio. Il potenziale di membrana si sposterà verso il potenziale di equilibrio del sodio, quindi da -70 per dire a +50 +55. Se dopo un certo periodo di tempo ritorniamo alla situazione iniziale, per cui la conduttanza per il sodio crolla rapidamente e quella per il potassio aumenta, torneremo indietro per cui la membrana si polarizza per arrivare ad un potenziale che addirittura più negativo di quello a riposo. Quello che vi ho simulato adesso non è altro che il

potenziale di azione basato sulle variazioni delle conduttanze di sodio e potassio.