

## 1.2 EQUILIBRIO ELETTROCHIMICO

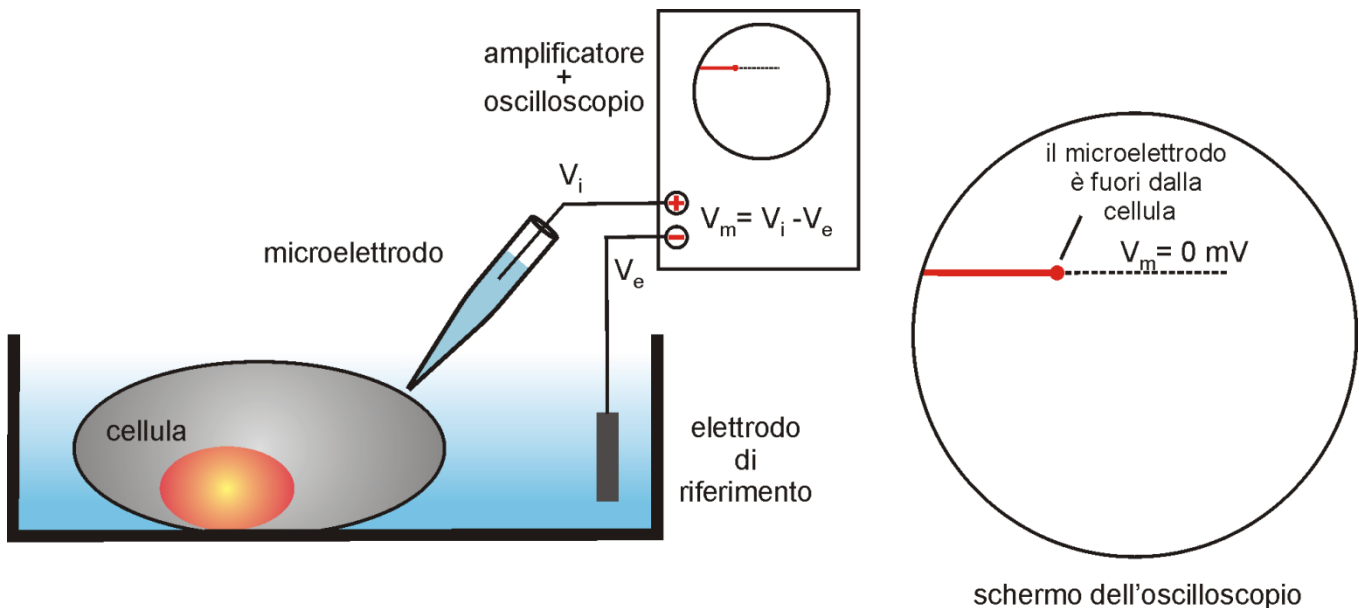
- Misura del potenziale di membrana a riposo
- Come si genera il potenziale di membrana a riposo
- Equazione di Nernst
- Il potenziale elettrochimico degli ioni ai capi della membrana cellulare
- Calcolo del potenziale di membrana a riposo (eq. GHK)

# • Misura del potenziale di membrana a riposo ( $V_m$ )

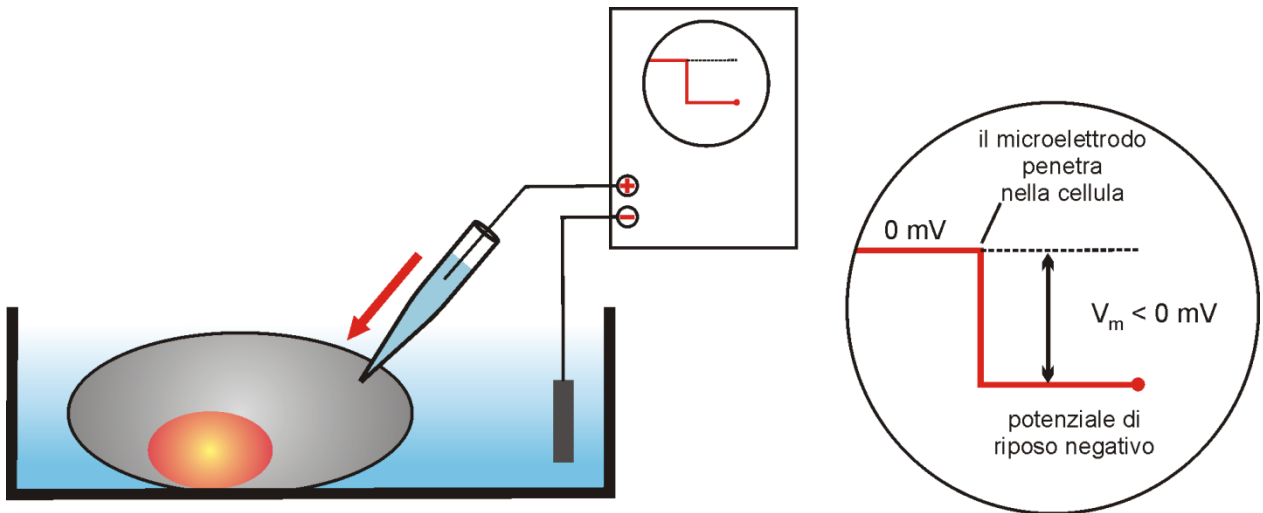
$V_m$  si misura con due elettrodi collegati con un voltmetro, un amplificatore:

- un **microelettrodo di vetro** molto sottile riempito di soluzione salina KCl e contenente un filo di argento clorurato, in contatto con l'amplificatore (**elettrodo interno**).
- un **elettrodo metallico** di Ag-AgCl immerso nel liquido extracellulare (**elettrodo esterno**).

## 1° caso - Il microelettrodo esterno alla cellula



## 2° caso - Il microelettrodo penetra la cellula



$$V_m = V_i - V_e \quad \text{per convenzione } V_e = 0$$

### PROPRIETÀ DEL POTENZIALE DI MEMBRANA A RIPOSO:

- il potenziale di membrana a riposo ( $V_m$ ) delle cellule animali è **negativo** e varia tra **-40 e -100 mV**
- $V_m$  non varia se la pipetta penetra più profondamente nell'interno della cellula (**potenziale uniforme**)
- la differenza di potenziale costituisce una **sorgente energetica** (fonte di energia potenziale per generare segnali elettrici di membrana).

### Nota importante:

-70 mV equivalgono ad un **campo elettrico** molto elevato ai capi della membrana. Calcoliamolo:

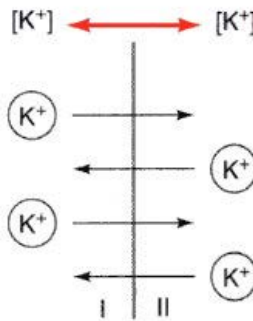
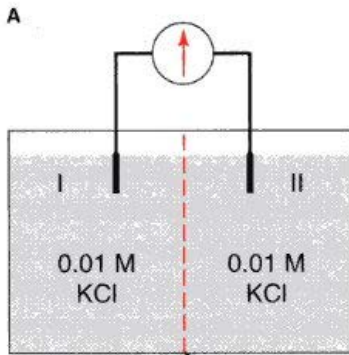
$$E = V/d \quad V = -70 \times 10^{-3} \text{ (Volt)} \quad d = 7 \times 10^{-9} \text{ (m)}$$

$$E = 70/7 \times 10^6 \text{ (V/m)} = \mathbf{10^7 \text{ (V/m)}}$$

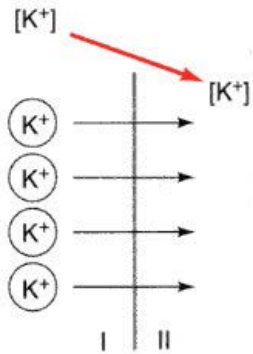
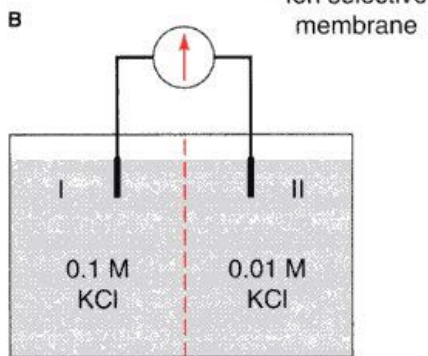
- Come si genera il potenziale di membrana a riposo

In una cellula ***permeabile*** ad ***un solo ione***: il potenziale di membrana coincide con il potenziale di equilibrio elettrochimico dello ione

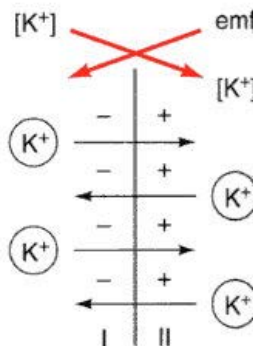
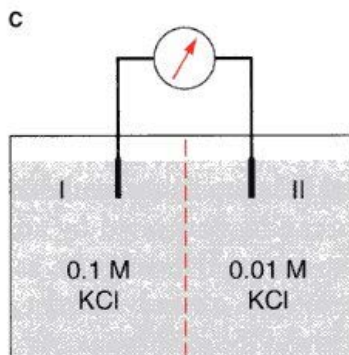
Membrana permeabile solo al K



flusso netto di  $K^+$  nullo  
 $\Delta V=0$



flusso netto di  $K^+$   
da I a II



equilibrio tra gradiente  
elettrico e chimico  
(equilibrio elettrochimico  
dello ione)

$\Delta V \neq 0$

**Il potenziale elettrochimico** di uno ione deriva da:

- il gradiente ionico tra i compartimenti intra- ed extracellulare (*lavoro delle pompe ioniche*)
- la permeabilità selettiva della membrana (*presenza di canali ionici selettivi*)

All'equilibrio elettrochimico il gradiente elettrico controbilancia quello chimico: condizione descritta da eq. Nernst

- **L'equazione di Nernst per calcolare il potenziale di equilibrio di uno ione**

Il **potenziale elettrochimico** ( $\mu$ ) di uno ione ( $x$ ) è definito come:

$$\mu_x = RT \ln[x] + zFE_x$$

**R** = costante dei gas =  $8.315 \text{ (J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}\text{)}$

**F** = costante di Faraday =  $9.649 \times 10^4 \text{ (C mol}^{-1}\text{)}$

**z** = valenza

**T** = temperatura assoluta

**E** = potenziale elettrico

La differenza di potenziale elettrochimico dello ione attraverso la membrana è:

$$\Delta\mu_x = \mu_I(x) - \mu_{II}(x) = RT \ln[x]_I/[x]_{II} + zF(E_I - E_{II})$$

in **condizioni di equilibrio**:

$$\Delta\mu_x = 0$$

da cui :

$$E_I - E_{II} = RT/zF \ln[x]_{II}/[x]_I$$

Nel caso di una membrana cellulare, per convenzione si assume  $E_{II} = 0$  (lato extracellulare), quindi:

$$E_x = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[x]_{II}}{[x]_I} \quad (\text{equazione di Nernst})$$

ad una temperatura di 20° C, con  $z = +1$  il rapporto  $\frac{RT}{zF}$  vale 25.2 mV e ricordando che:

$$\ln x = 2.303 \log x$$

possiamo riscrivere l'equazione di Nernst come:

$$E_x = 58 \text{ mV} \log \frac{[x]_{II}}{[x]_I}$$

### Esempio:

Consideriamo una membrana come nell'esempio precedente, permeabile unicamente al  $K^+$ , in cui  $[K]_i = 10 [K]_e$ .

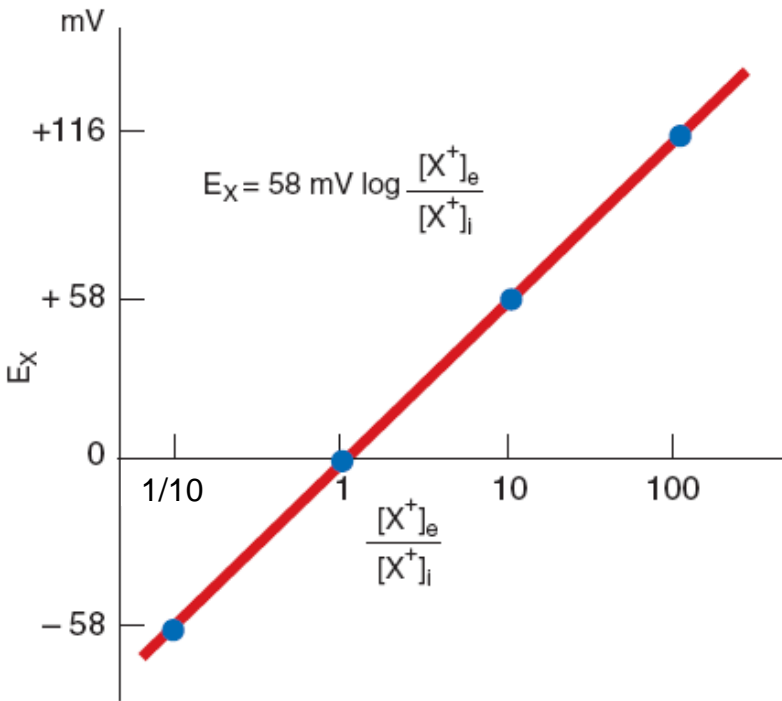
In queste condizioni:

$$\begin{aligned} E_K &= 58 \text{ mV} \log \frac{[K]_e}{[K]_i} \\ &= 58 \text{ mV} \log 0.01/0.1 = 58 \text{ mV} \log 1/10 \\ &= -58 \text{ mV} \end{aligned}$$

### Regola:

La differenza di potenziale aumenta di **58 mV** quando il rapporto delle concentrazioni dello ione permeante aumenta **10 volte**.

## Dipendenza di $E_K$ dal $K^+$ extracellulare

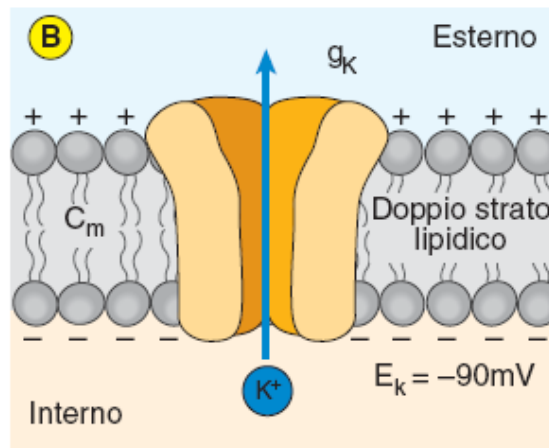
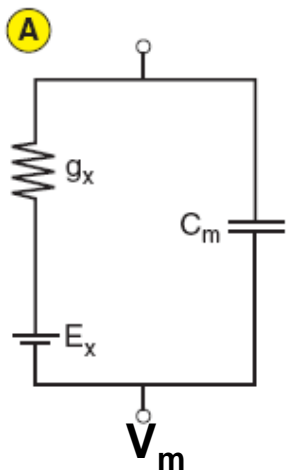


- se una membrana è permeabile ad una sola specie ionica, ad esempio  $K^+$ , all'equilibrio:

$$V_m = E_K$$

- la membrana si comporta come un elettrodo al  $K^+$

## Circuito equivalente di una membrana cellulare permeabile solo al $K^+$



La membrana permeabile ad un solo ione genera una differenza di potenziale uguale al potenziale di equilibrio di quello ione: costituisce un generatore di tensione

$$I_K = g_K (V_m - E_K)$$



## Esempio di applicazione dell'equazione di Nernst:

Consideriamo una membrana cellulare permeabile unicamente al  $K^+$ , in cui  $[K]_i = 10 [K]_e$ .

In queste condizioni:

$$\begin{aligned} E_K &= 58 \text{ mV} \log [K]_e/[K]_i = \\ &= 58 \text{ mV} \log (0.1) = \\ &= 58 \text{ mV} (-1) = -58 \text{ mV} \end{aligned}$$

Ovvero, sono necessari 58 mV per mantenere una differenza di concentrazione di 10:1 tra i due lati della membrana (extracellulare ed intracellulare).

- Il potenziale elettrochimico degli ioni ai capi della membrana cellulare

ione	conc. intracellulare	conc. extracellulare
Na <sup>+</sup>	12 mM	145 mM
K <sup>+</sup>	155 mM	4 mM
Ca <sup>2+</sup>	10 <sup>-7</sup> (M)	1.5 mM
Cl <sup>-</sup>	4.2 mM	123 mM

Applicando l'equazione di Nernst,

$$E_{\text{Na}} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{Na}]_e}{[\text{Na}]_i} = +67 \text{ mV}$$

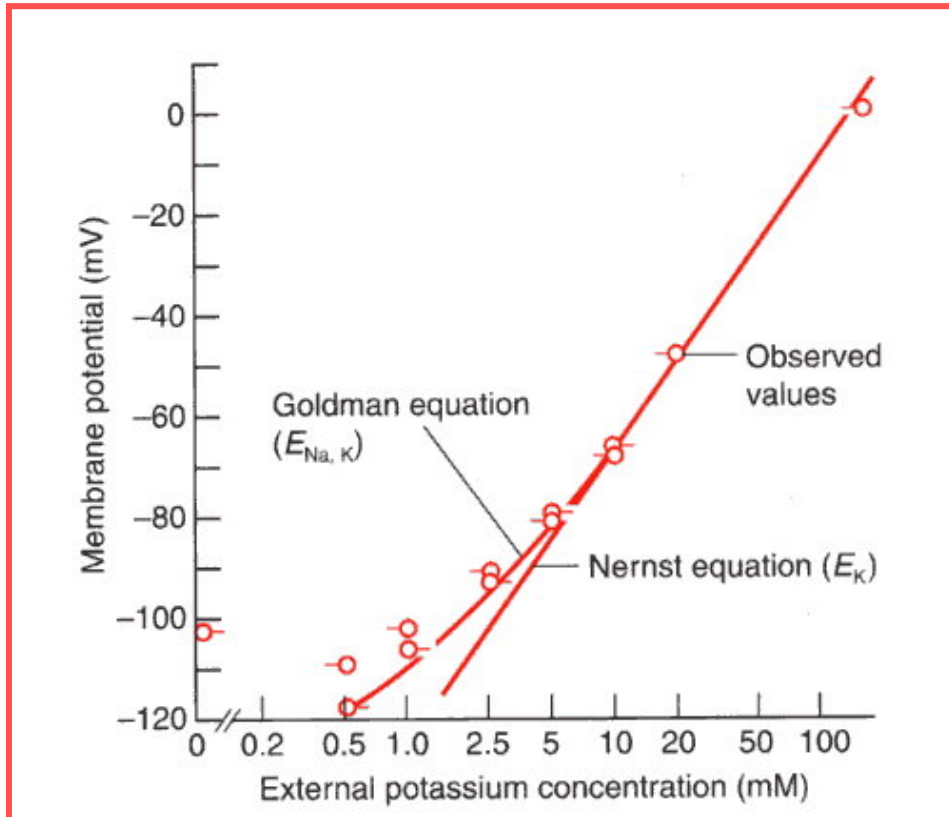
$$E_{\text{Ca}} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{Ca}]_e}{[\text{Ca}]_i} = +129 \text{ mV}$$

$$E_{\text{Cl}} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{Cl}]_i}{[\text{Cl}]_e} = -90 \text{ mV}$$

$$E_{\text{K}} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{K}]_e}{[\text{K}]_i} = -98 \text{ mV}$$

# Dipendenza del potenziale di membrana dal $K^+$ extracellulare

ovvero il potenziale di riposo di una cellula non segue la legge di Nernst



- Il potenziale di riposo della membrana segue la legge di **Nernst** per  $[K^+]_{ext} > 5 \text{ mM}$  (in condizioni non fisiologiche)
- Quando  $[K^+]_{ext} < 5 \text{ mM}$  i punti sperimentali differiscono dalla retta e seguono l'equazione di **Goldman**

- La deviazione dei punti sperimentali dalla retta che descrive  $E_K$  (potenziale di **Nernst** per il  $K^+$ ), indica che la membrana a riposo è permeabile almeno a due ioni ( $Na^+$  e  $K^+$ ): uno **uscente** ( $K^+$ ) ed uno **entrante** ( $Na^+$ )

- Calcolo del potenziale di membrana a riposo: eq. GHK

**COME SI CALCOLA  $V_m$  NEL CASO DI UNA  
CELLULA PERMEABILE A PIU' SPECIE  
IONICHE?**



**Il potenziale di membrana è la media  
“pesata” dei potenziali elettrochimici dei  
singoli ioni permeanti**

## Equazione di Goldman-Hodgkin-Katz

- Membrana permeabile a tre specie ioniche:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$
- Ciascuno ione ha un suo coefficiente di permeabilità  $P_x$
- $V_m$  si calcola secondo la seguente equazione:

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[\text{K}^+]_e + P_{\text{Na}}[\text{Na}^+]_e + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}^-]_i}{P_K[\text{K}^+]_i + P_{\text{Na}}[\text{Na}^+]_i + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}^-]_e}$$

**Esempio di applicazione dell'equazione di GHK:**

$$P_{\text{Cl}} = 0$$

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

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{1[\text{K}^+]_e + 0.01[\text{Na}^+]_e}{1[\text{K}^+]_i + 0.01[\text{Na}^+]_i}$$

**sostituendo:**

$$[\text{K}^+]_e = 4 \text{ mM}$$

$$[\text{Na}^+]_e = 145$$

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

$$[\text{Na}^+]_i = 12 \text{ mM}$$

$$V_m = 58 \text{ mV} \log \frac{4 + 0.01 \times 145}{140 + 0.01 \times 12} = -82 \text{ mV}$$

**Nota:** Nelle condizioni ioniche dell'esempio, i potenziali di equilibrio calcolati con l'eq. di Nernst valgono:  $E_{\text{Na}} = +63 \text{ mV}$  e  $E_{\text{K}} = -90 \text{ mV}$

## IL POTENZIALE DI MEMBRANA A RIPOSO

- Il potenziale di riposo della membrana varia tra  $-40$  e  $-100$  mV ed è determinato da:
  - Canali ionici aperti e selettivamente permeabili ad uno ione
  - Gradiente ionico mantenuto stabilmente da trasporti attivi
- Gli ioni influenzano il potenziale di membrana in base alla loro permeabilità relativa (*equazione di Goldman*)
- Il *potenziale di riposo* delle cellule eccitabili è più sensibile alle variazioni di  $K^+$  rispetto agli altri ioni. Questo è dovuto alla maggior permeabilità della membrana al  $K^+$  a riposo
- Il potenziale di riposo *negativo* è dovuto all'alta concentrazione di  $K^+$  *intracellulare* e alla tendenza dello ione a uscire dalla cellula, scoprendo una carica netta negativa attraverso qualche canale del  $K^+$  aperto a riposo
- Gli altri ioni ( $Na^+$  e  $Cl^-$ ) contribuiscono poco al potenziale di riposo in quanto la membrana (a riposo) è poco permeabile a questi ioni (i canali del  $Na^+$  e  $Cl^-$  sono quasi tutti chiusi)
- Il contributo dello ione  $Cl^-$  al mantenimento del potenziale di riposo è basso e varia a seconda del tipo di cellula
- Il *trasporto attivo* mantiene i gradienti ionici
- L'*equazione di Goldman* permette di calcolare il potenziale di membrana non solo a riposo ma anche quando la cellula è in attività e le permeabilità ai vari ioni cambiano nel tempo.