

Testi consigliati:

Principi di Fisiologia e Biofisica della Cellula

Vol. II: scambi tra cellula e ambiente

Vol. III: la comunicazione tra le cellule

di Vanni Taglietti e Cesare Casella

Casa editrice La Goliardica Pavese

[Moodle:Fisio15](#)

[Biofisica \(C.I. Fisiologia umana\)](#)

“DRIVING FORCE”

$$F_i = k_i x_i$$

(Equazione di Teorell)

F_i è l'intensità del flusso del soluto i
 K_i è una costante di proporzionalità

x_i = “DRIVING FORCE”

Legge di OHM

$$I = 1/R \times \Delta V$$

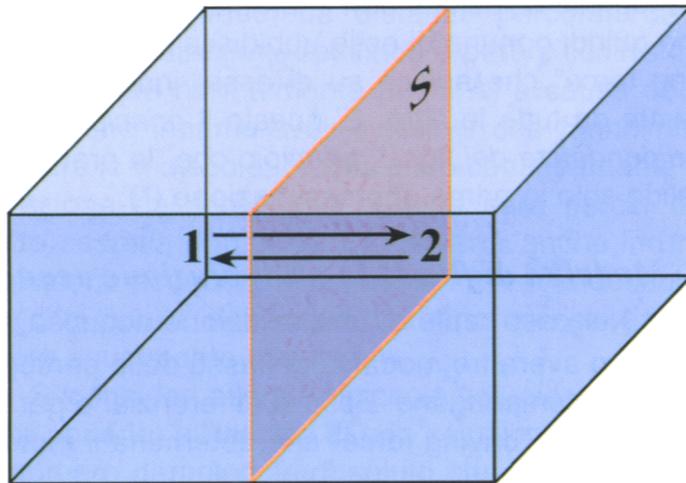


Fig. 4.1 - Flussi unidirezionali di un soluto attraverso una superficie ideale S.

Diffusione

$$F_d = k_d(C_1 - C_2)$$

I° LEGGE DI FICK

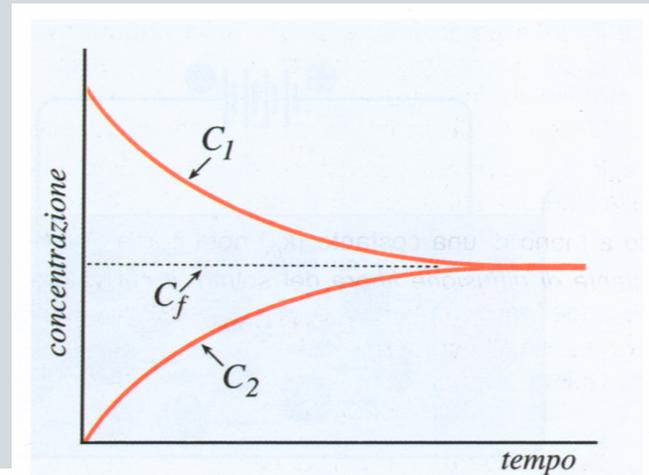


Fig. 4.6 - Andamento temporale delle concentrazioni (C_1 e C_2) di un soluto durante la diffusione libera tra due regioni (1 e 2) di una soluzione nelle quali esso si trovi inizialmente a diversa concentrazione. C_f indica la concentrazione (uguale nelle due regioni) che il soluto raggiunge all'equilibrio.

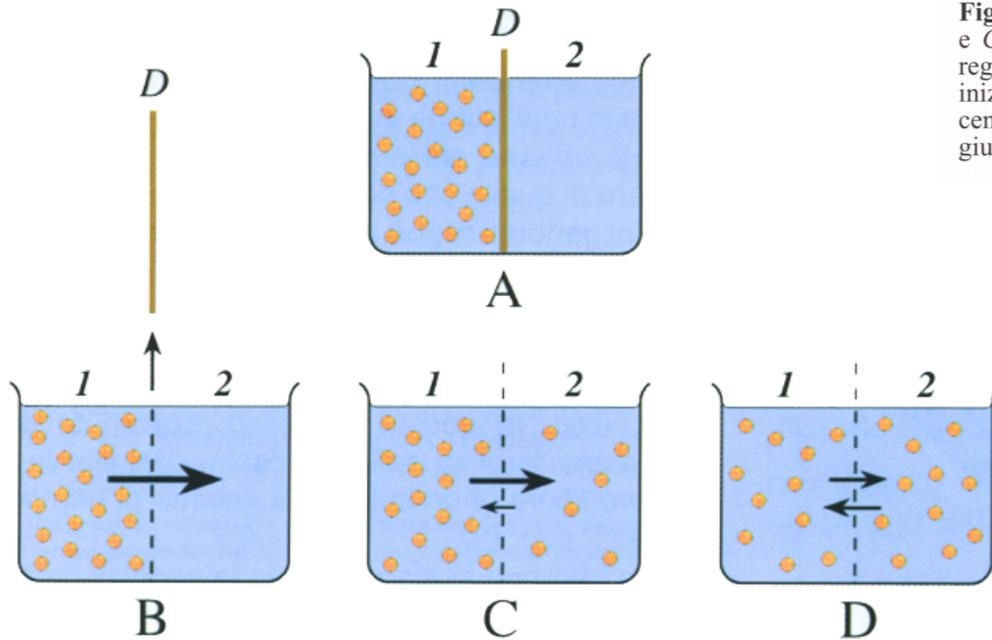


Fig. 4.5 - Flussi unidirezionali di un soluto durante lo stabilirsi dell'equilibrio diffusionale in una soluzione.

Migrazione in campo elettrico

$$F_e = z k_e (V_a - V_c)$$

$g = 1/R$

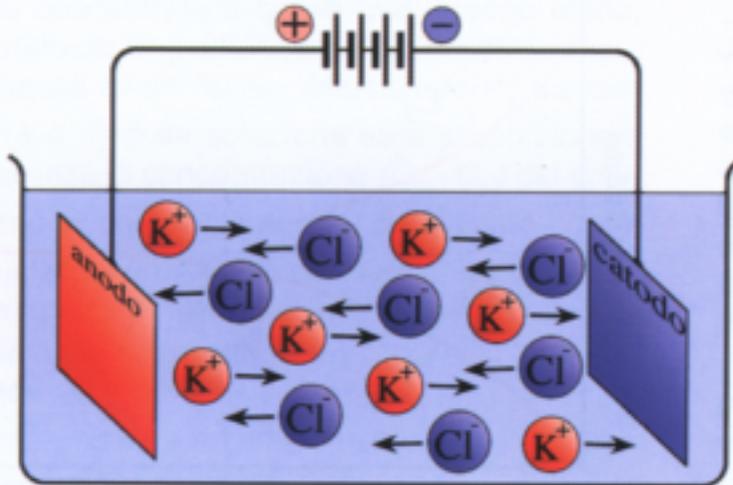


Fig. 4.7 - Migrazione dei cationi (ad es. K⁺) e degli anioni (ad es. Cl⁻) nella elettrolisi.

L' elettrodiffusione

(equazione di Nernst-Planck)

$$F_{ed} = k_d (C_1 - C_2) + zk_e (V_1 - V_2)$$

Il flusso di ioni spinti simultaneamente da un gradiente di concentrazione e da un gradiente elettrico è pari alla somma dei flussi che si avrebbero solo per il gradiente chimico e solo per il gradiente elettrico

LA MEMBRANA PLASMATICA

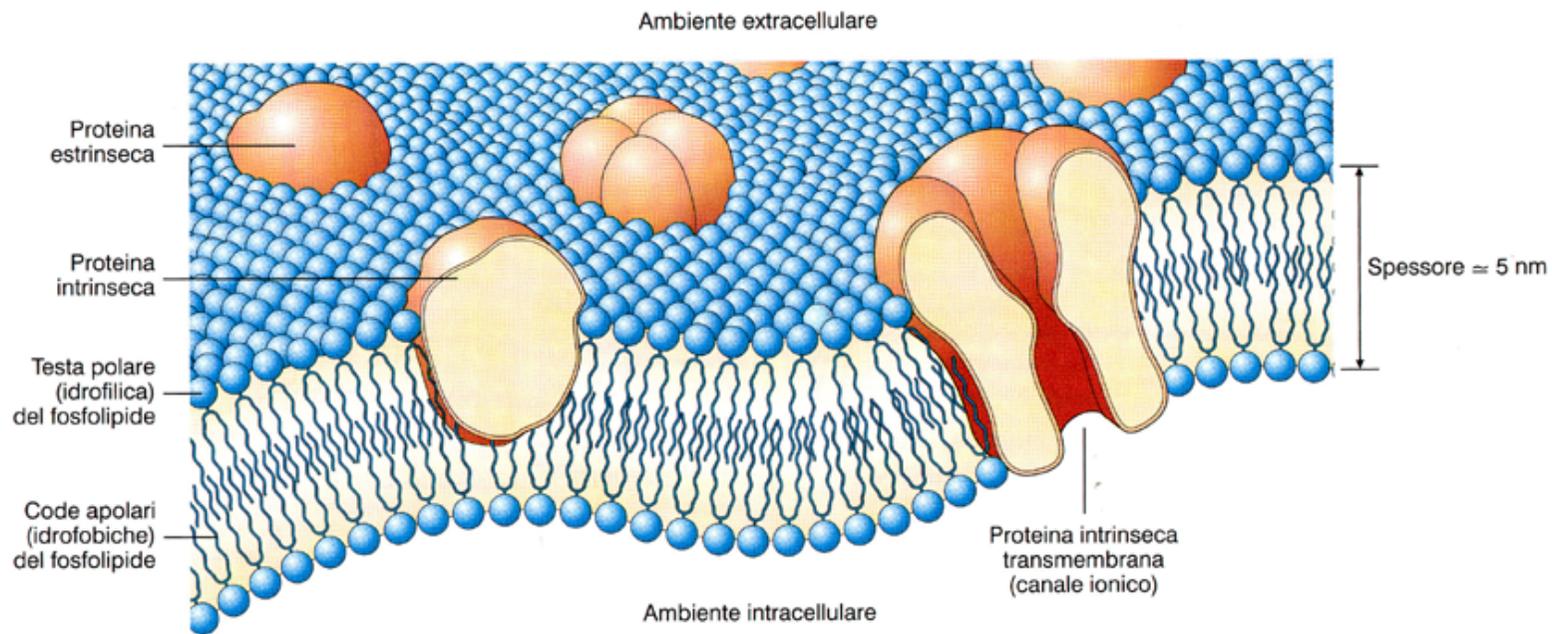
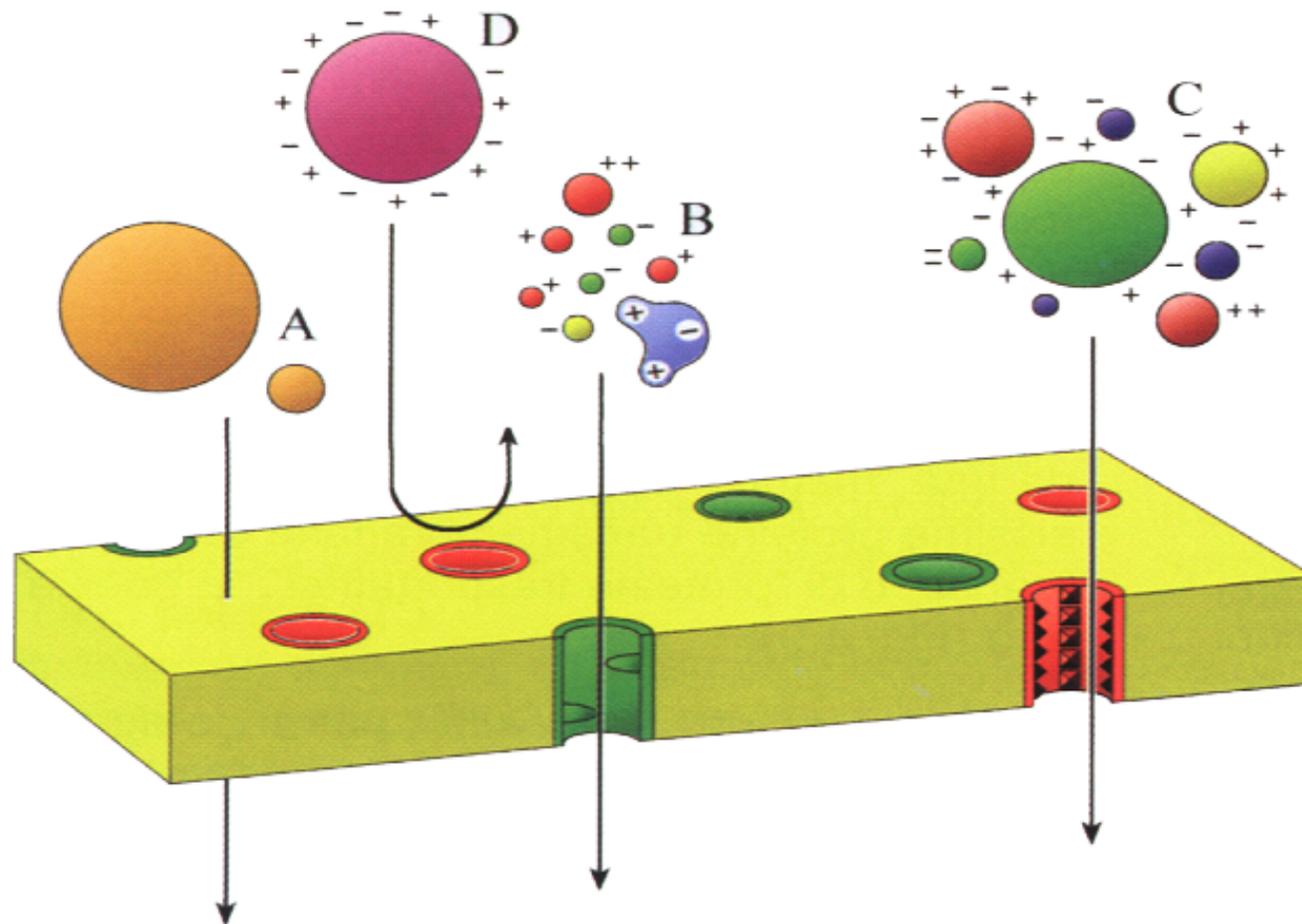


Figura 3.2 Canali ionici. Essi rappresentano la via prevalentemente utilizzata dagli ioni per transitare attraverso la membrana cellulare. Sono costituiti da grosse macromolecole proteiche che attraversano da parte a parte il doppio strato fosfolipidico (proteine transmembrana).

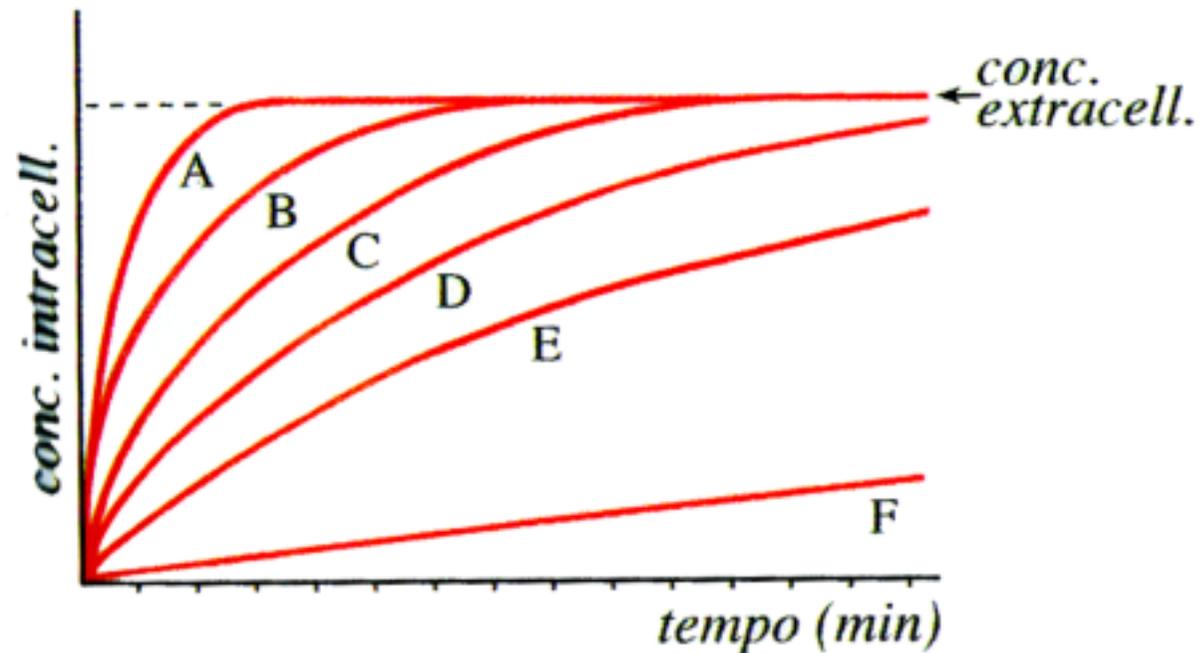
LA PERMEABILITA' DELLE MEMBRANE

$$k=P$$



**La velocità con
quale una
sostanza
riesce ad
attraversare la
membrana
dipenderà dal
coefficiente di
permeabilità**

Fig. 4.8 - Le curve indicano come cresce la concentrazione intracellulare delle sostanze (A, B..., F) che attraversano la membrana cellulare con coefficienti di permeabilità *decescenti*. Le concentrazioni intracellulari crescono con legge esponenziale, la cui *costante di tempo* (il tempo impiegato a raggiungere il 63,2% del valore finale) è tanto minore quanto maggiore è il coefficiente di permeabilità.



La permeabilità delle membrane alle sostanze apolari non dipende dalla dimensione delle molecole

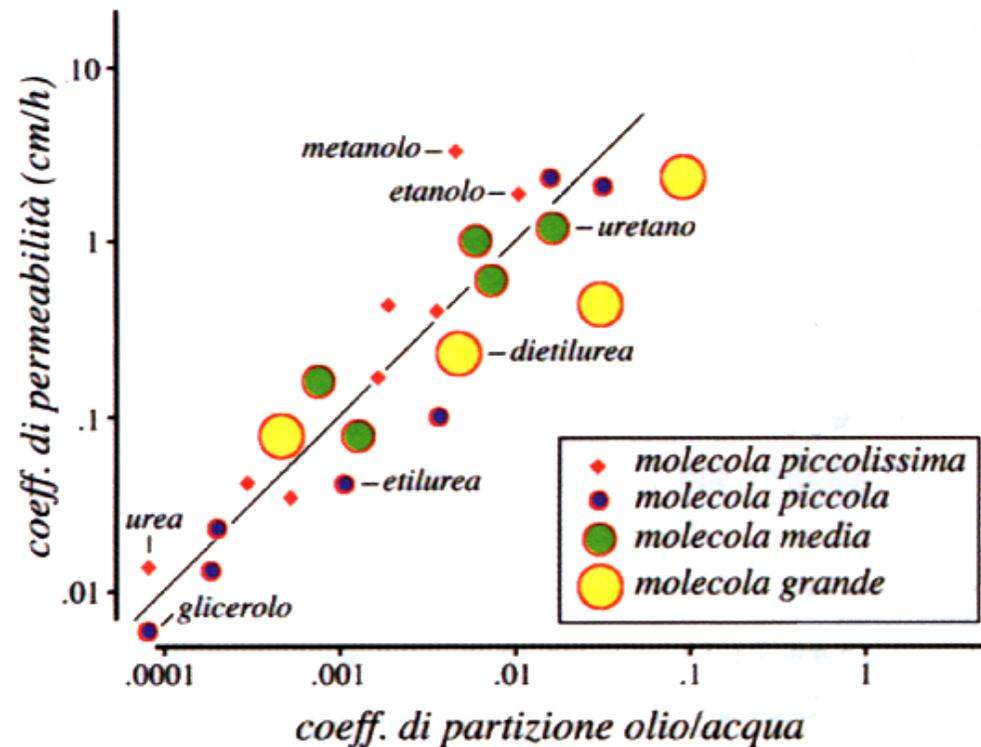


Fig. 4.10 - Coefficienti di permeabilità per alcuni anelettroliti organici. Si noti che il coefficiente di permeabilità per gli anelettroliti (al contrario di quello per gli elettroliti, Fig. 4.11) non dipende dalla dimensione delle molecole. L'uretano, ad esempio, ha dimensioni molecolari simili al glicerolo, ma presenta un coefficiente di permeabilità più di 1000 volte maggiore perchè proporzionalmente maggiore è il suo coefficiente di ripartizione olio/acqua (la sua liposolubilità).

La permeabilità delle membrane alle sostanze polari dipende dalla dimensione degli ioni/molecole

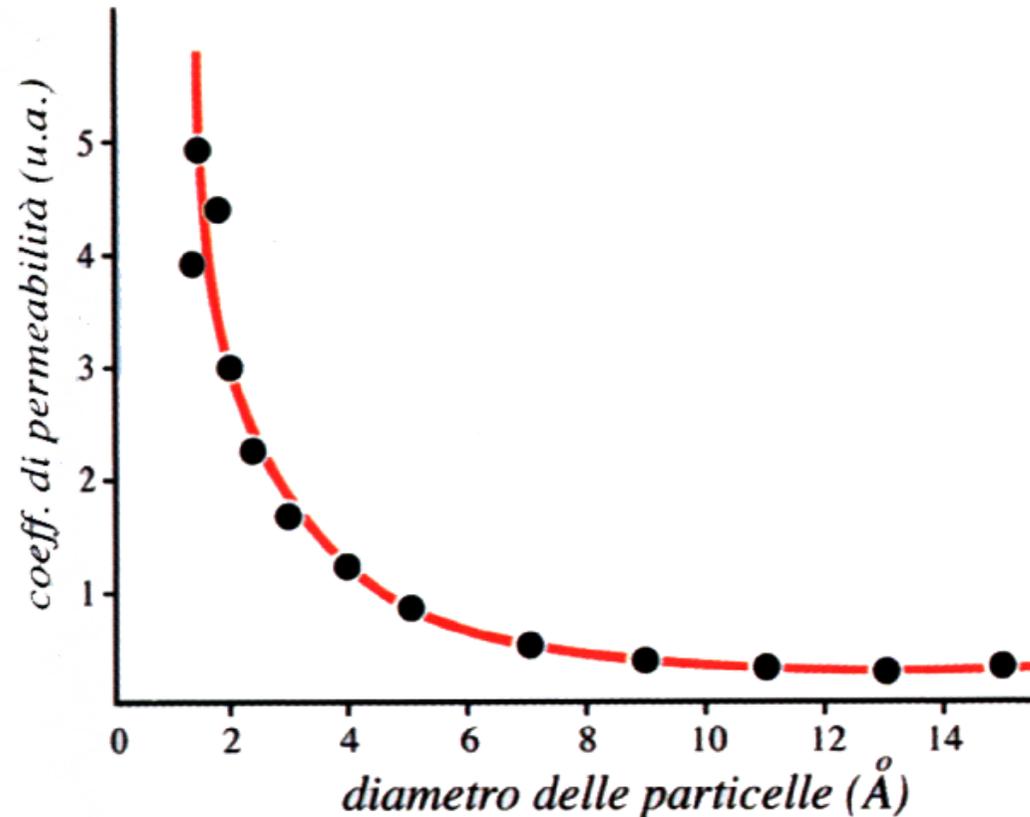
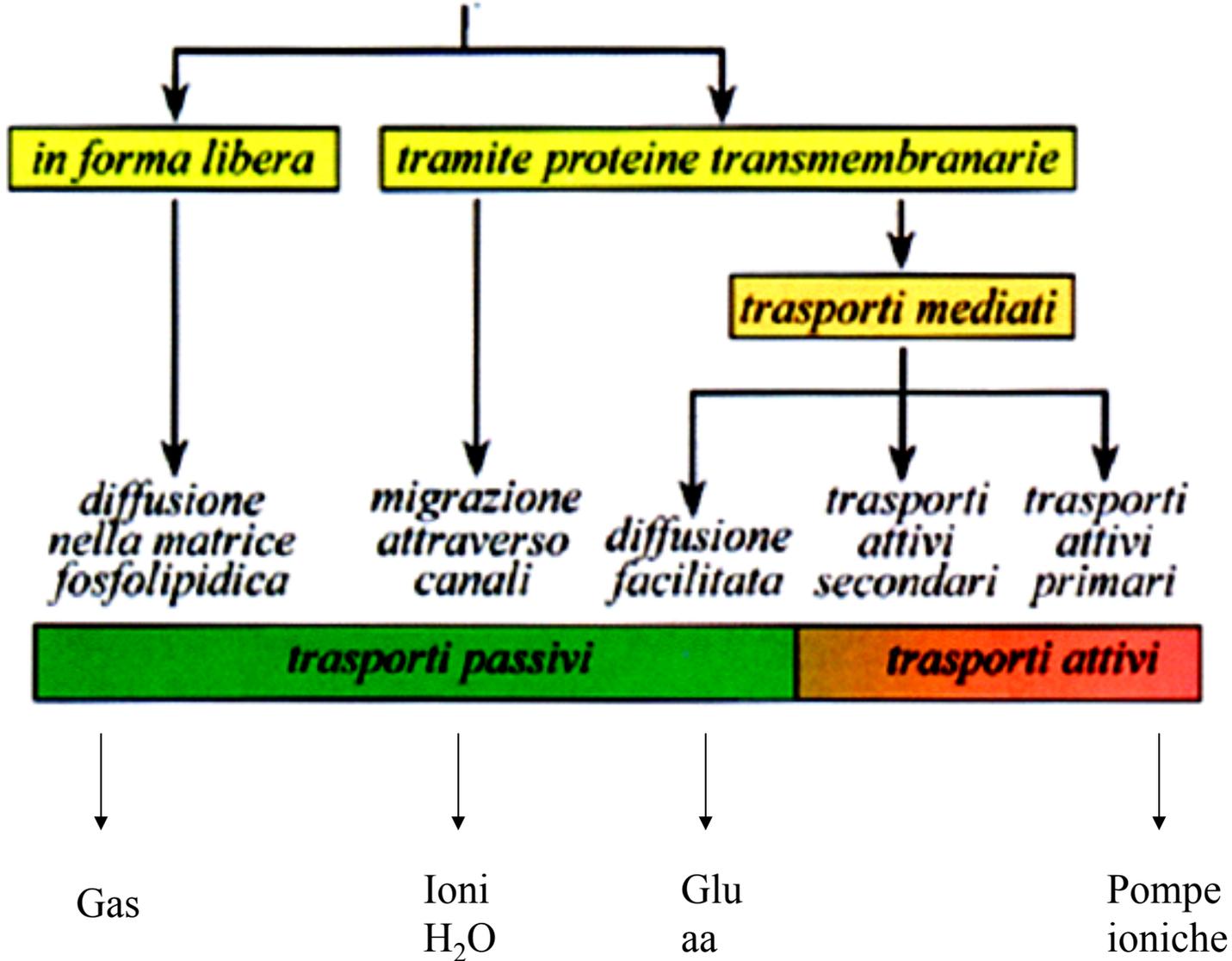
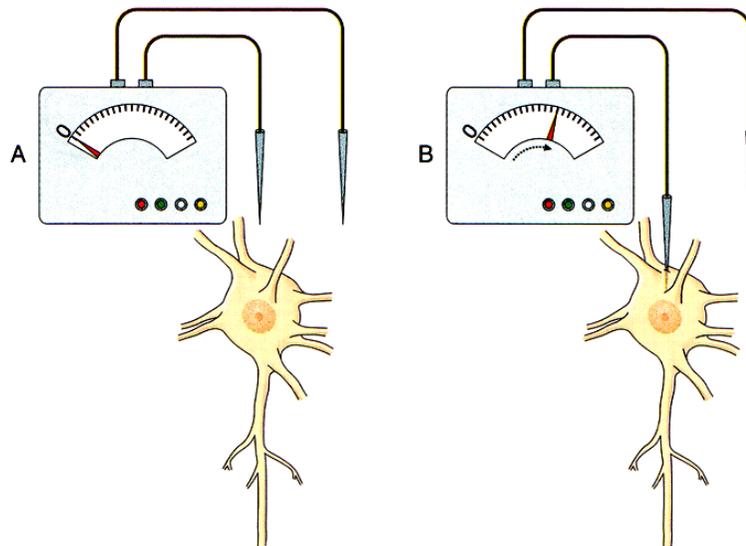


Fig. 4.11 - Coefficienti di permeabilità per alcuni elettroliti.

TRASPORTI TRANSMEMBRANARI



- Il coefficiente di permeabilità delle sostanze apolari dipende dal coefficiente di ripartizione olio/H₂O
- Gli ioni e l' H₂O hanno un coefficiente di permeabilità che dipende dalla presenza di CANALI IONICI di membrana
- le sostanze polari di grandi dimensioni (glucosio, aa) attraversano la membrana per mezzo di sistemi di trasporto mediati



Il potenziale di membrana a riposo

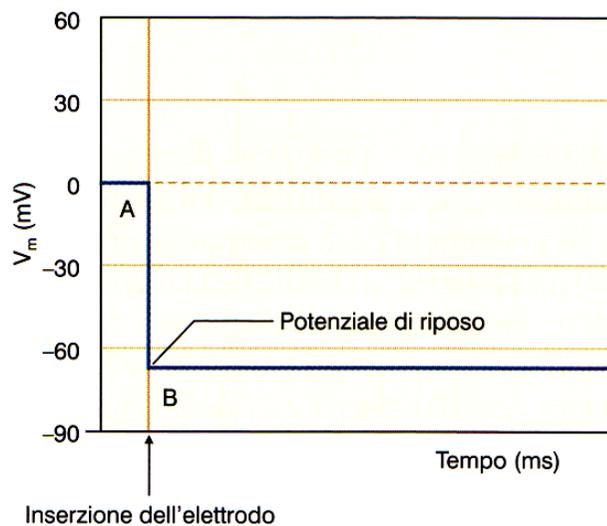
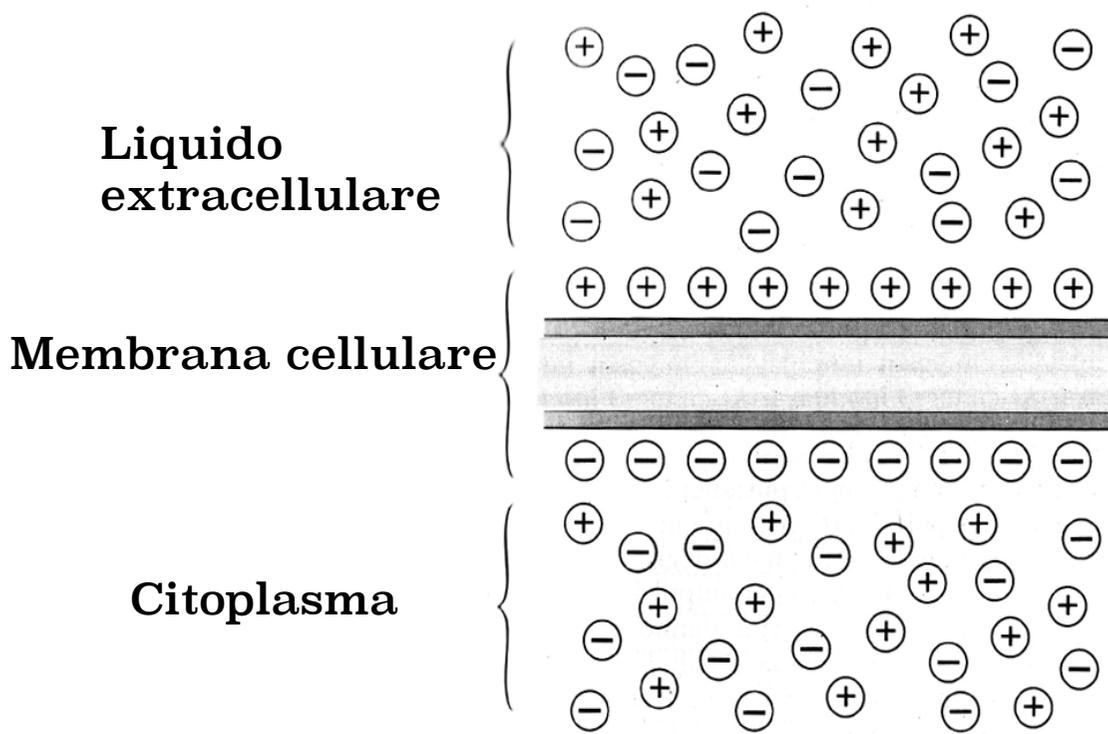
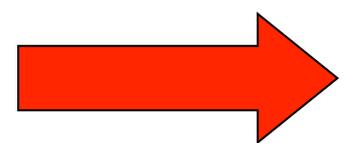


Figura 3.1 Misurazione della polarizzazione di una membrana cellulare. Usando un microelettrodo, costituito da un sottile tubicino di vetro assottigliato mediante il calore e riempito di una soluzione salina che funge da conduttore, è possibile penetrare all'interno di una cellula e misurare, con l'ausilio di un amplificatore, la differenza di potenziale (ΔV) esistente a cavallo della membrana rispetto a un microelettrodo posto all'esterno. Nel momento in cui uno dei due elettrodi penetra all'interno della cellula, il sistema di registrazione misura una differenza di potenziale tra il versante interno e quello esterno della membrana. In condizioni di riposo, il versante intracellulare della membrana risulta essere negativo rispetto al versante extracellulare. Nel caso di un neurone la differenza di potenziale è pari a circa -60 , -70 mV.



Il potenziale di membrana a riposo è generato da:

- ineguale distribuzione ioni inorganici
- permeabilità selettiva della membrana



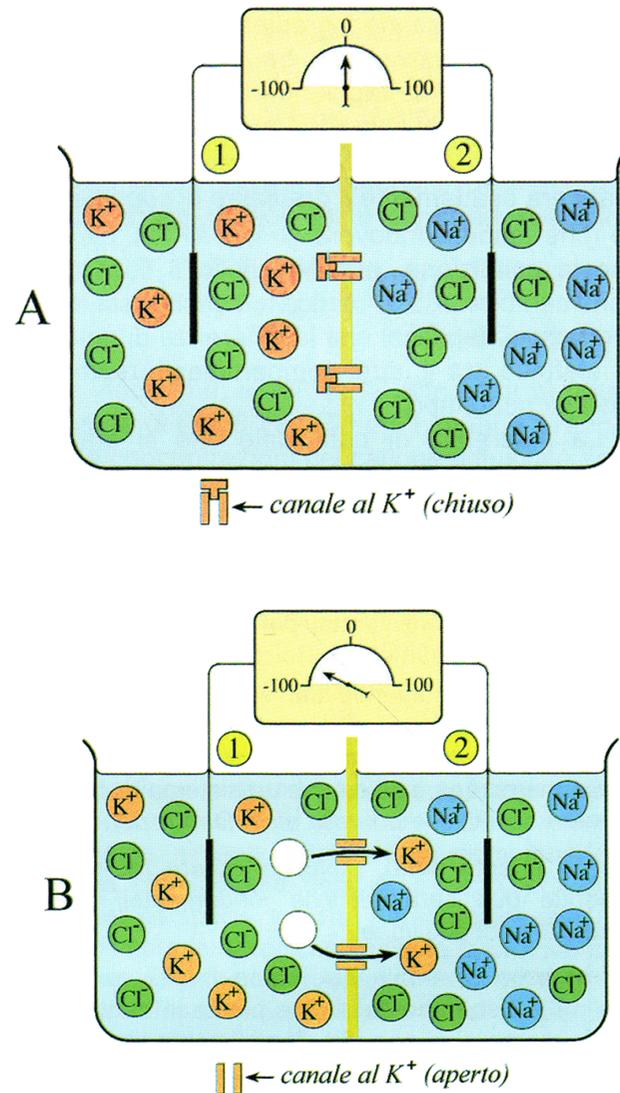
Il potenziale di membrana a riposo di una cellula è sempre negativo rispetto all'ambiente extracellulare

La Genesi del Potenziale di Membrana a Riposo

Tab. 5.2 - Concentrazioni dei tre più importanti ioni inorganici nei liquidi intra- ed extracellulare (espresse in *mM/litro*), loro potenziali di equilibrio e potenziali di membrana (espressi in *mV*).

Cellula	Ione	Conc. extracell.	Conc. intracell.	Pot. di equilibrio	Pot. di membrana
<i>Assone gigante di calamaro</i>	K ⁺	20	400	-75	-60
	Na ⁺	440	50	+55	
	Cl ⁻	560	40	-66	
<i>Fibrocellula muscolare di rana</i>	K ⁺	2.5	139	-102	-90
	Na ⁺	120	20	+45	
	Cl ⁻	120	3.8	-88	
<i>Cellula di mammifero</i>	K ⁺	5	140	-90	-80
	Na ⁺	145	5	+91	
	Cl ⁻	110	4	-89	

Il potenziale di equilibrio



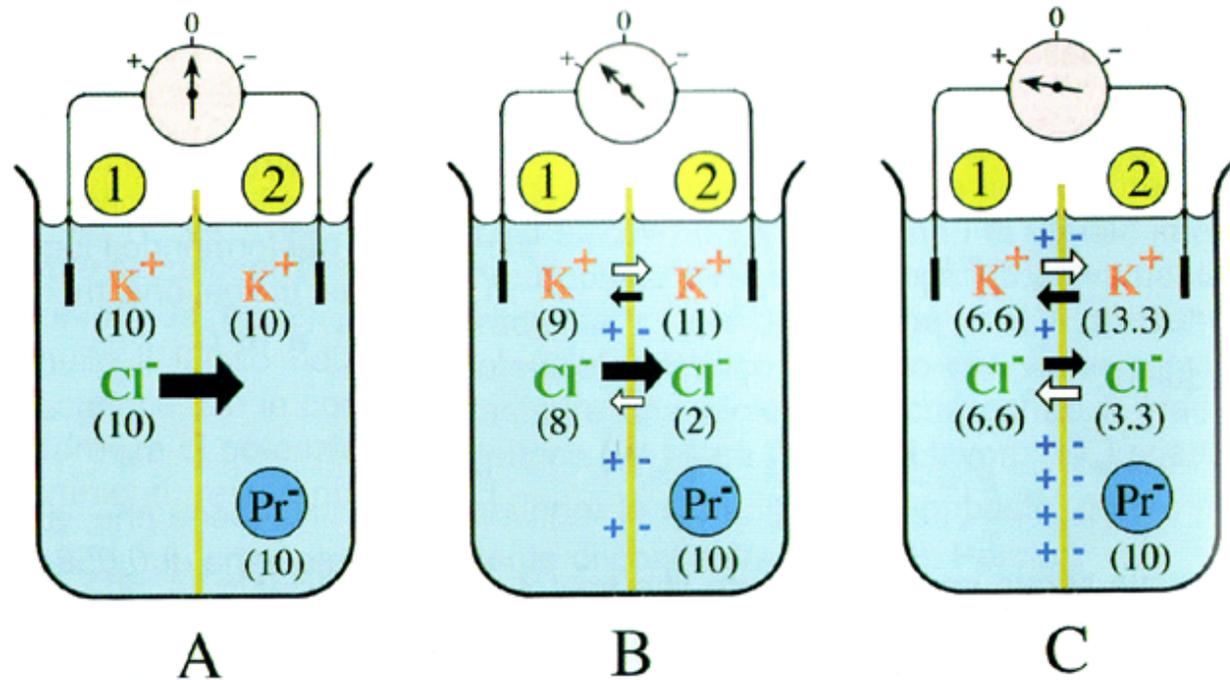
$$E_i = -\frac{RT}{z_i F} \ln \frac{[i]_2}{[i]_1}$$

Fig. 5.2 – Una membrana immaginaria che contiene esclusivamente canali ionici selettivi per il K⁺ separa due soluzioni di KCl (compartimento-1) e di NaCl (compartimento-2). A: nella condizione iniziale, nella quale si immagina che i canali del K⁺ siano tutti chiusi, la differenza di potenziale tra i due compartimenti è nulla. B: immaginando di aprire tutti i canali ionici presenti, la diffusione degli ioni K⁺ dal compartimento-1 al compartimento-2 genera in breve tempo una differenza di potenziale a cavallo della membrana, pari al potenziale d'equilibrio E_K.

Fig. 5.3 - Esempio di equilibrio di Donnan a cavallo di una membrana provvista di canali permeabili agli ioni inorganici, ma impermeabili alle proteine. Le frecce nere indicano flussi secondo gradiente di concentrazione, quelle bianche indicano flussi secondo gradiente elettrico.

L' Equilibrio di Donnan:

$$V_e = E_K = E_{Cl} \quad \frac{[K^+]_1}{[K^+]_2} = \frac{[Cl^-]_2}{[Cl^-]_1}$$



Conseguenze dell'equilibrio di Donnan:

- Elettroneutralità:

$$[\text{K}^+]_1 = [\text{Cl}^-]_1 \quad [\text{K}^+]_2 = [\text{Cl}^-]_2 + [\text{Pr}^-]_2$$

$$[\text{K}^+]_2 > [\text{Cl}^-]_2$$

diversa concentrazione di ioni diffusibili ai due lati della membrana

- La concentrazione totale di ioni diffusibili è maggiore dove si trova lo ione non diffusibile:

$$[\text{K}^+]_1 [\text{Cl}^-]_1 = [\text{K}^+]_2 [\text{Cl}^-]_2$$

Pressione colloidale-osmotica $\longrightarrow [\text{K}^+]_2 + [\text{Cl}^-]_2 > [\text{K}^+]_1 + [\text{Cl}^-]_1$

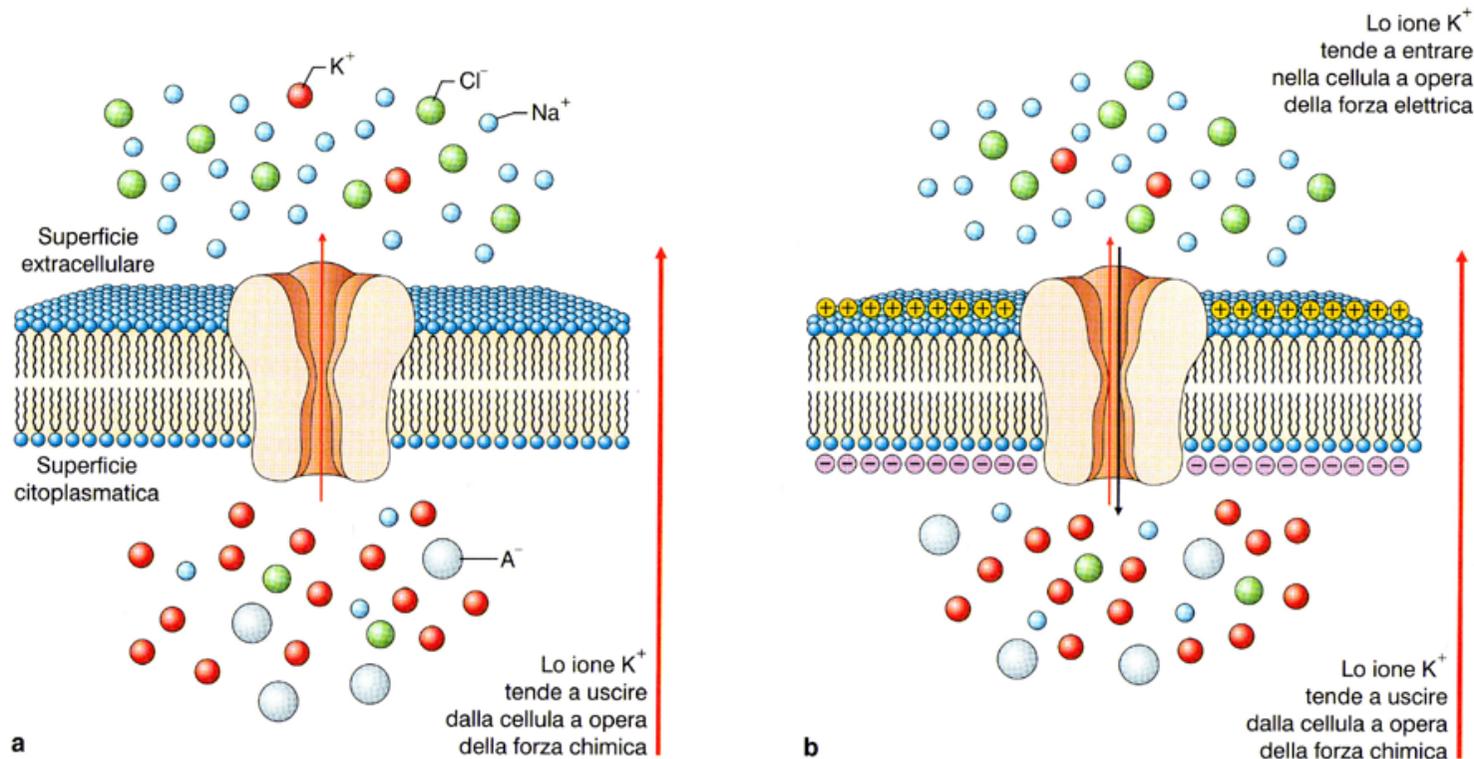


Figura 3.11 Potenziale di membrana a riposo: cellula la cui membrana è permeabile, in condizioni di riposo, al solo K⁺. **a**, La concentrazione intracellulare di K⁺ è molto maggiore di quella presente nel liquido extracellulare. All'interno della cellula vi è anche un'elevata concentrazione di anioni proteici, grosse macromolecole cariche negativamente. Il K⁺, in virtù del suo gradiente di concentrazione, si sposta dall'interno all'esterno della cellula. Il flusso di cariche positive (K⁺) che abbandonano l'interno della cellula non si accompagna, però, a un equivalente flusso uscente di cariche negative, in quanto i grossi anioni organici (A⁻) non possono attraversare la membrana. Questo disaccoppiamento tra il flusso di cationi (ioni carichi positivamente) e quello di anioni (ioni carichi negativamente) determina la polarizzazione della membrana, con il versante interno che diviene più negativo di quello esterno. **b**, Lo ione K⁺ viene a essere sottoposto a due forze che si contrastano: da una parte la forza chimica (il gradiente di concentrazione), che spinge il K⁺ a uscire dalla cellula e, dall'altra, la forza elettrica determinata dal richiamo da parte degli anioni proteici situati sul versante interno della membrana. A mano a mano che lo ione K⁺ abbandona l'interno della cellula, il gradiente di concentrazione diminuisce e, quindi, la forza chimica diviene sempre più debole, mentre la forza elettrica, rappresentata dalla polarizzazione della membrana, diviene sempre maggiore. Si giungerà, pertanto, a una situazione definita di equilibrio elettrochimico, caratterizzata da un flusso netto dello ione K⁺ pari a 0 (modificata da ER. Kandel et al., Principles of neural science, McGraw-Hill, 2000).

$$E_K = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i} \quad \text{Equazione di NERNST}$$

dove E_K è il valore del potenziale di membrana al quale i K^+ sono in equilibrio (potenziale di Nernst per i K^+), R è la costante dei gas, T è la temperatura in gradi Kelvin, Z la valenza dei K^+ , F la costante di Faraday e $[K^+]_e$ e $[K^+]_i$ le concentrazioni dei K^+ all'esterno e all'interno della cellula. Per essere più precisi, si dovrebbero usare le attività e non le concentrazioni ioniche. Per i K^+ , $Z=1$ e, a 25°C , RT/ZF corrisponde a 26 mV. La costante di conversione dei logaritmi naturali nei logaritmi in base 10 è 2,3. Sostituendo i valori delle concentrazioni dei K^+ riportate nella Tabella 6-1, si ottiene

$$E_K = 26 \text{ mV} \times 2,3 \log_{10} \frac{20}{400} = -75 \text{ mV}.$$

L'equazione di Nernst viene usata per trovare il potenziale d'equilibrio di qualsiasi ione che sia presente su entrambe le facce di una membrana permeabile allo ione stesso.

I potenziali di equilibrio degli ioni

Tab. 5.2 - Concentrazioni dei tre più importanti ioni inorganici nei liquidi intra- ed extracellulare (espresse in *mM/litro*), loro potenziali di equilibrio e potenziali di membrana (espressi in *mV*).

Cellula	Ione	Conc. extracell.	Conc. intracell.	Pot. di equilibrio	Pot. di membrana
<i>Assone gigante di calamaro</i>	K ⁺	20	400	-75	
	Na ⁺	440	50	+55	-60
	Cl ⁻	560	40	-66	
<i>Fibrocellula muscolare di rana</i>	K ⁺	2.5	139	-102	
	Na ⁺	120	20	+45	-90
	Cl ⁻	120	3.8	-88	
<i>Cellula di mammifero</i>	K ⁺	5	140	-90	
	Na ⁺	145	5	+91	-80
	Cl ⁻	110	4	-89	

Equazione di Goldman-Hodgking-Katz conosciuta come equazione di GHK

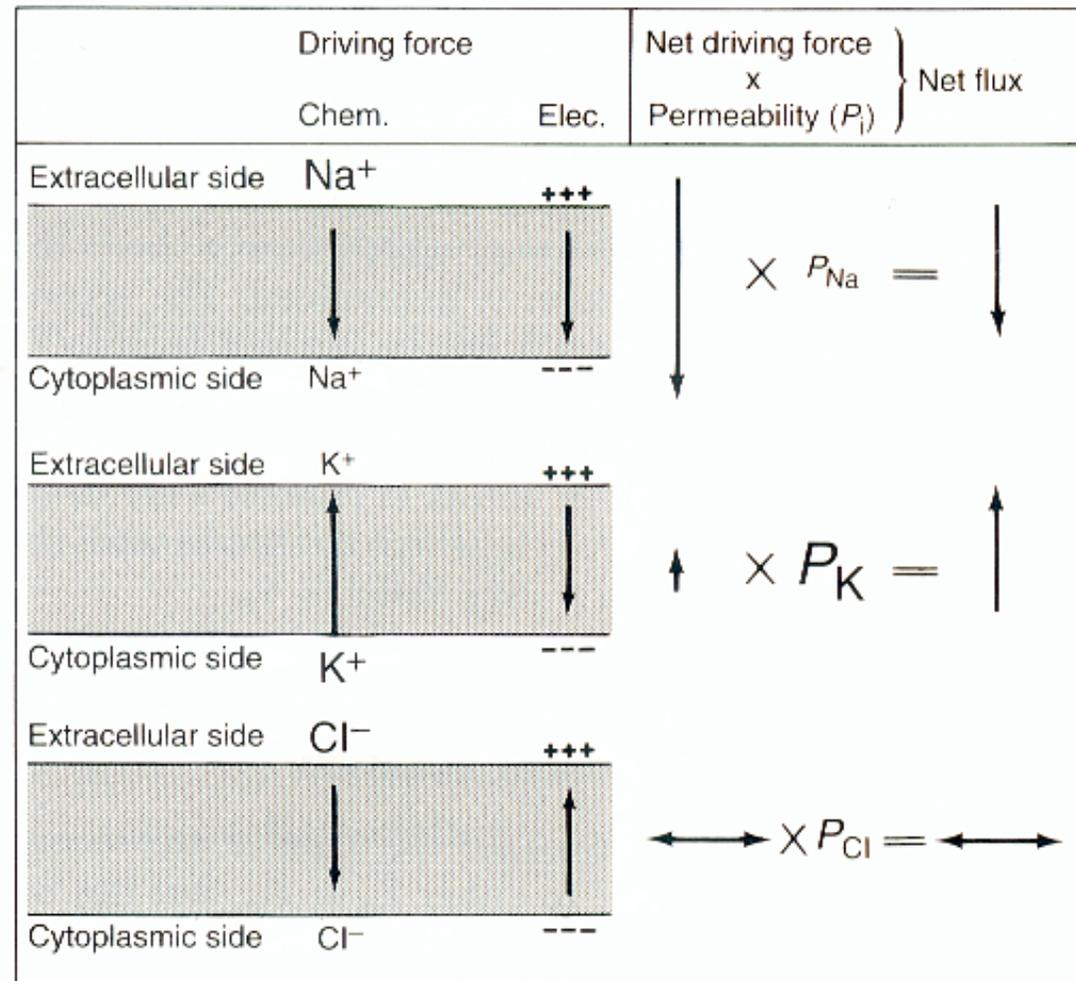
$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_e P_{K^+} + [Na^+]_e P_{Na^+} + [Cl^-]_i P_{Cl^-}}{[K^+]_i P_{K^+} + [Na^+]_i P_{Na^+} + [Cl^-]_e P_{Cl^-}}$$

Pi = coefficienti di permeabilità per il K⁺, Na⁺, Cl⁻

questa equazione è valida

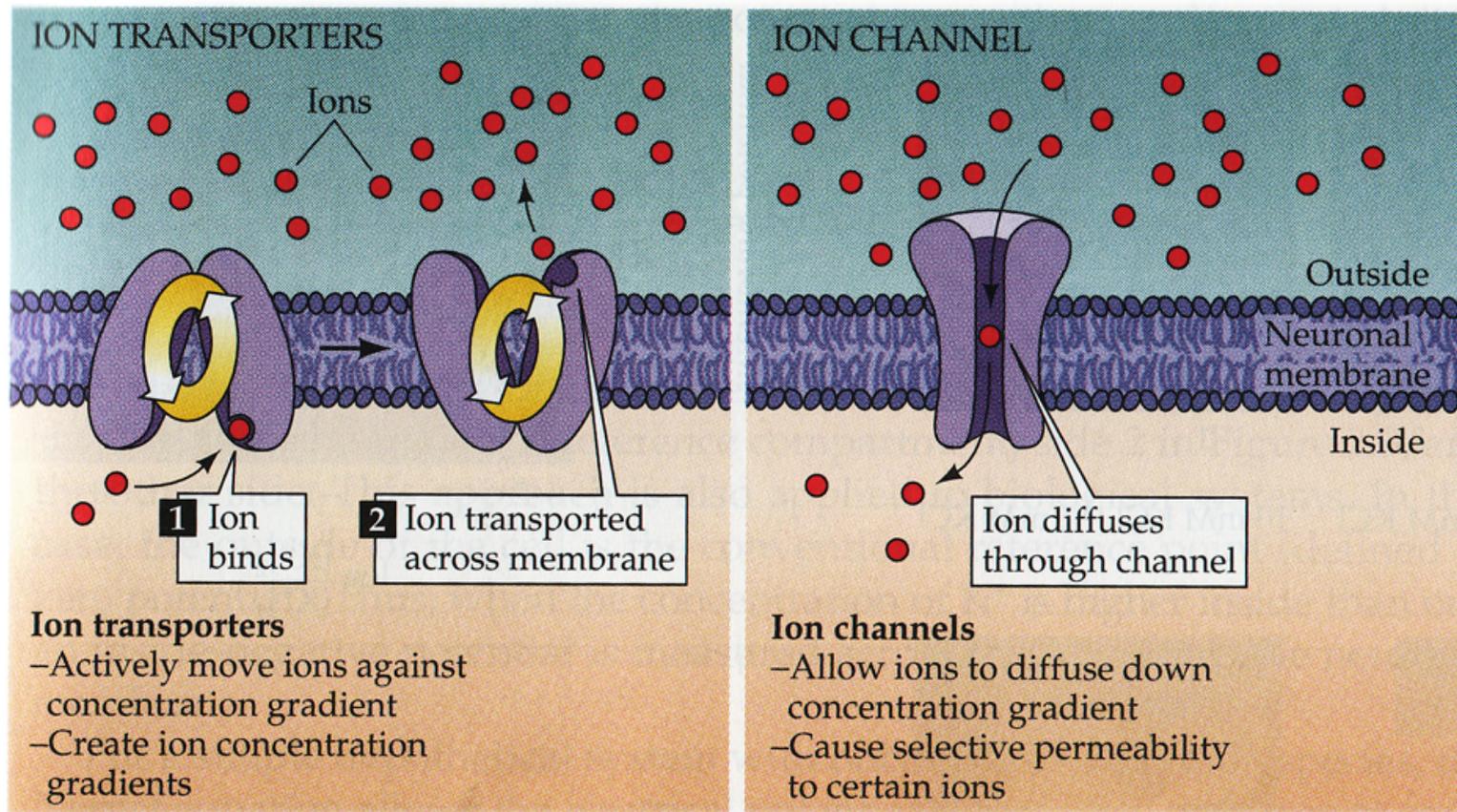
se: la membrana è omogenea in ogni suo punto

il campo elettrico all'interno della membrana è omogeneo



The fluxes for Na^+ , K^+ , and Cl^- across the cell membrane are a result of their chemical and electrical driving forces and the permeability of the membrane. The fluxes shown here are for a cell with a membrane potential of -60 mV and the ionic gradients shown in Table 6-1. (**Horizontal arrows** signify no net driving force or no net flux.)

Ruolo della pompa Na^+/K^+ nella genesi e mantenimento del potenziale di membrana



$$I_i = (V_m - E_i) g_i$$

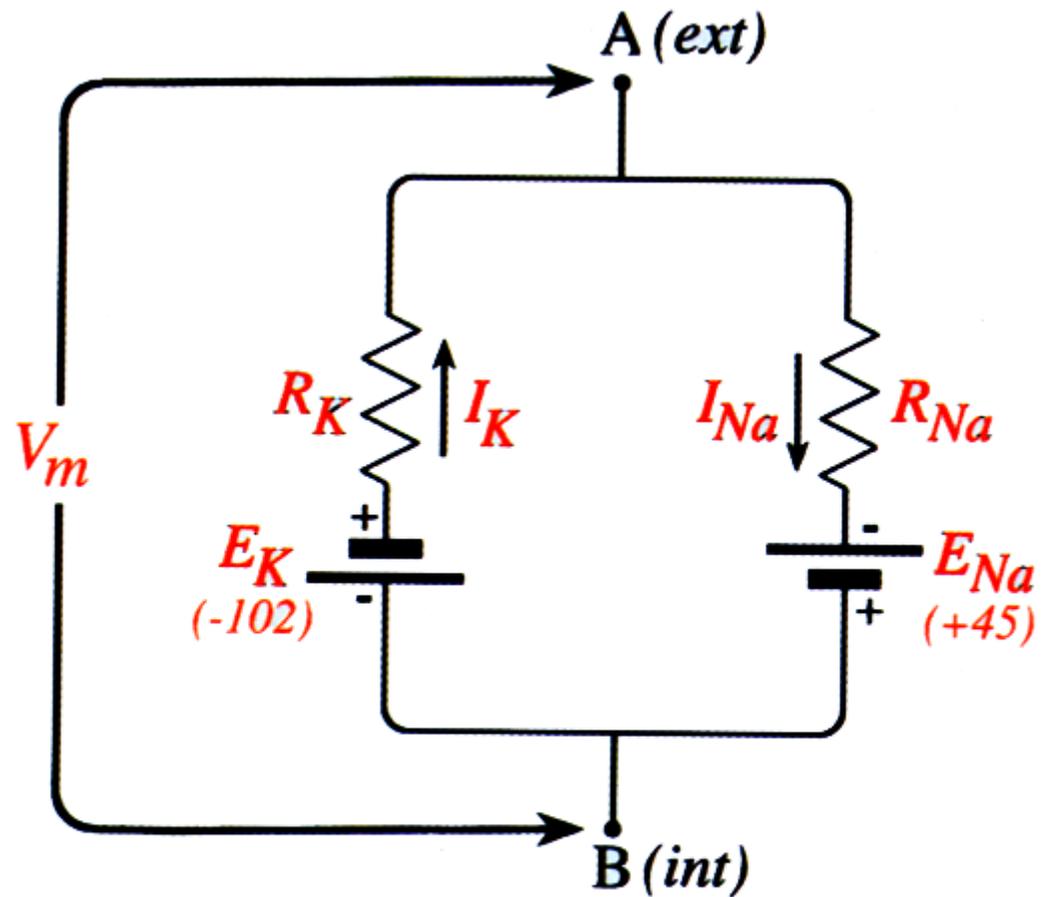


Fig. 5.6 - Modello elettrico (semplificato) equivalente alla membrana cellulare. Per semplicità, non è illustrata la sua componente capacitiva.

$$I_K = (V_m - E_K) g_K = [-90 - (-102)] g_K = 12 g_K$$

$$I_{Na} = (V_m - E_{Na}) g_{Na} = [-90 - (+45)] g_{Na} = -135 g_{Na}$$

quando la membrana è a riposo il flusso netto degli ioni è nullo:

$$I_K = I_{Na}$$

$$12 g_K = 135 g_{Na}$$

$$g_K = 11 g_{Na}$$

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

Circuito equivalente di membrana

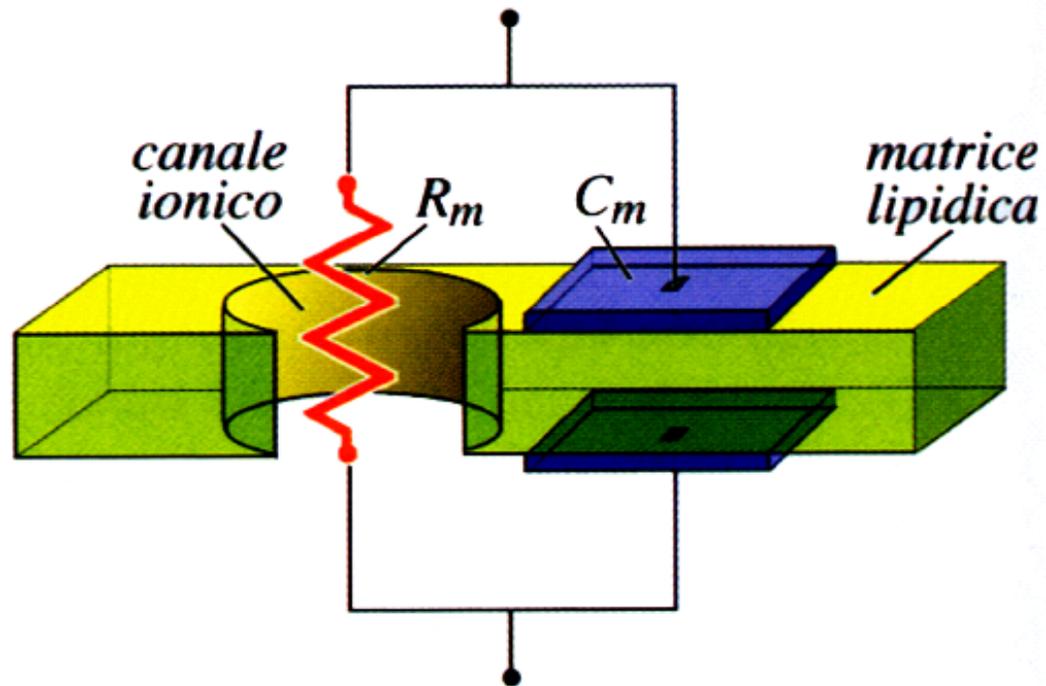
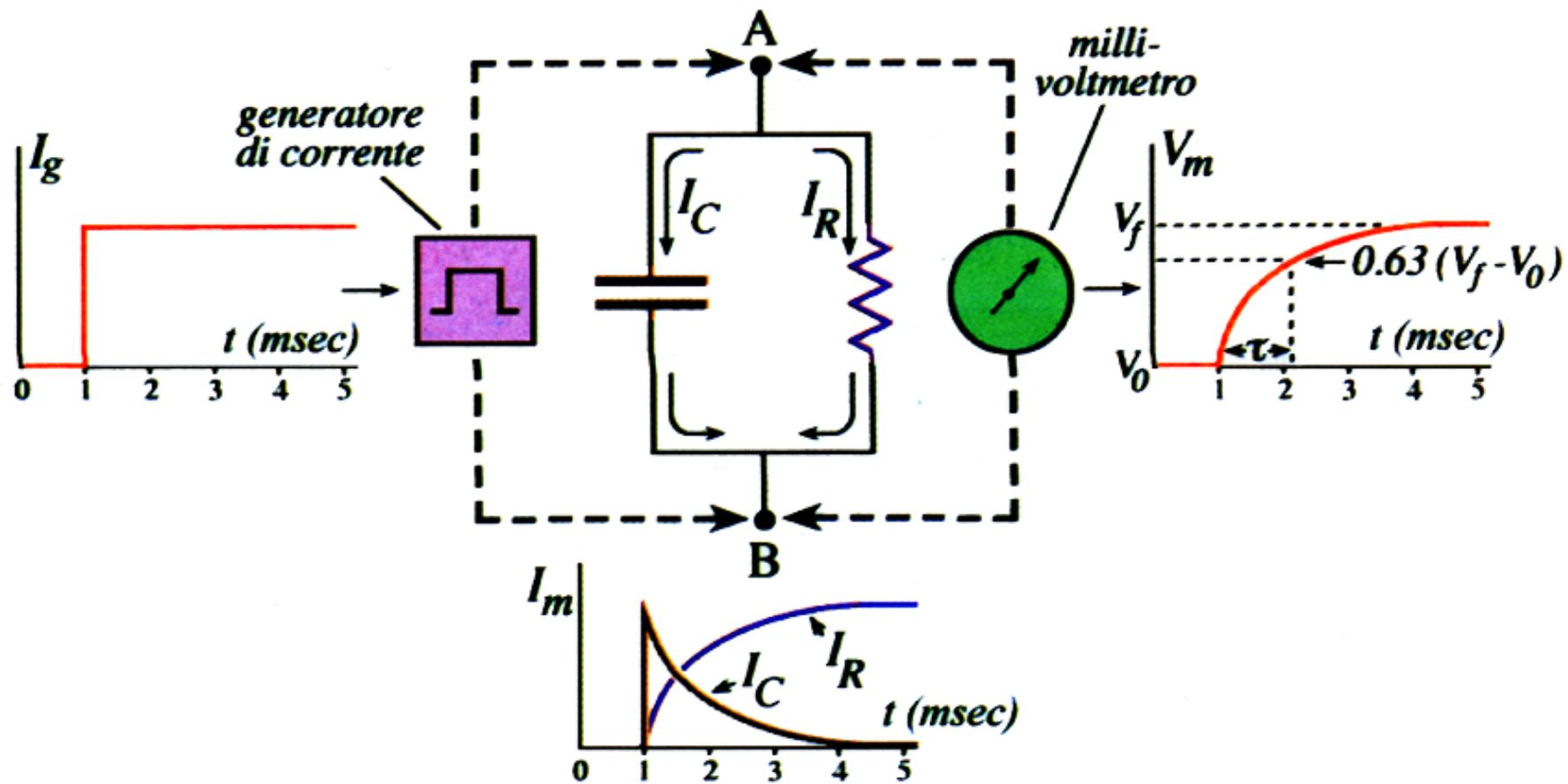


Fig. 5.8 – Porzione di membrana con indicate le strutture responsabili della sua resistenza R_m (i canali ionici) e della sua capacità C_m (la matrice lipidica).



Current-Clamp

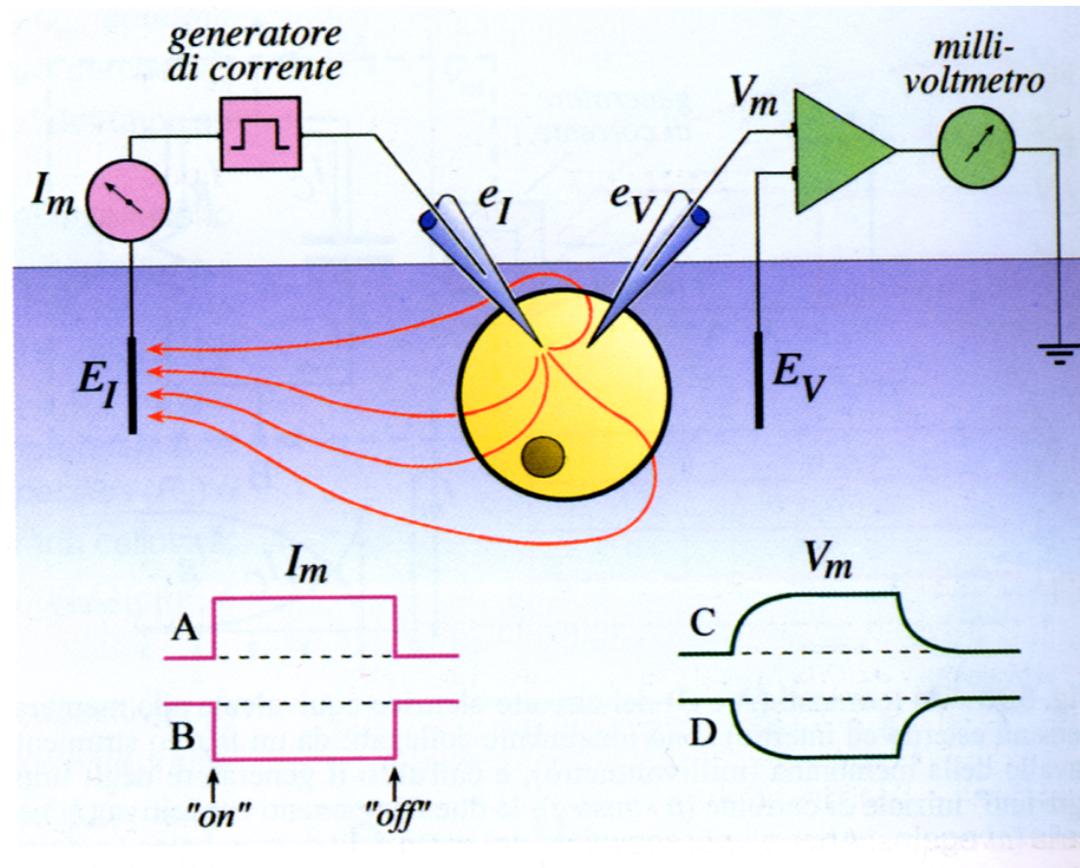
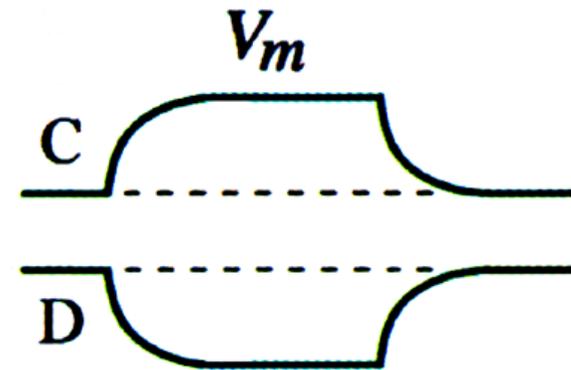
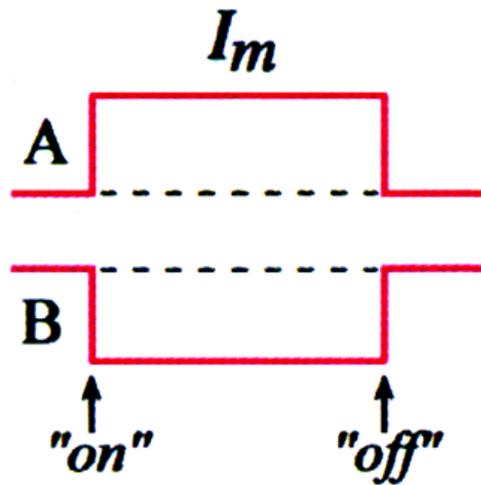
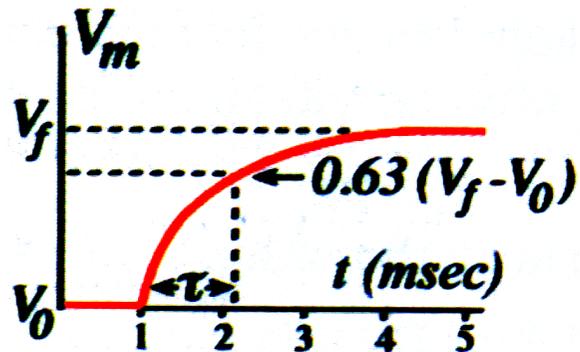


Fig. 5.9 – Rappresentazione schematica del metodo detto di *current-clamp*. Il microelettrodo e_V permette di misurare le variazioni del potenziale di membrana al passaggio di un impulso di corrente (I_m) "iniettato" nella cellula tramite il microelettrodo e_I .



Step On: $V_m = V_0 + (V_f - V_0)(1 - e^{-t/R_m C_m})$

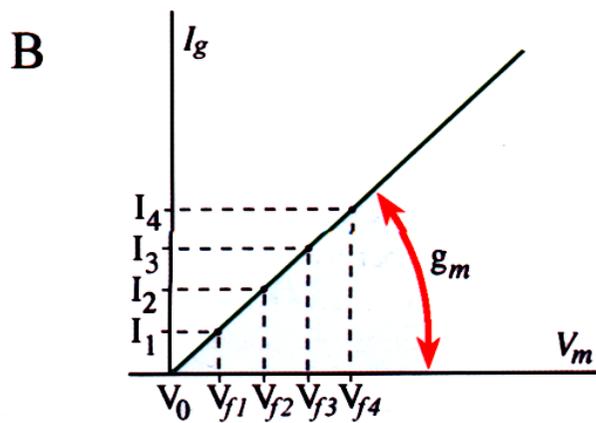
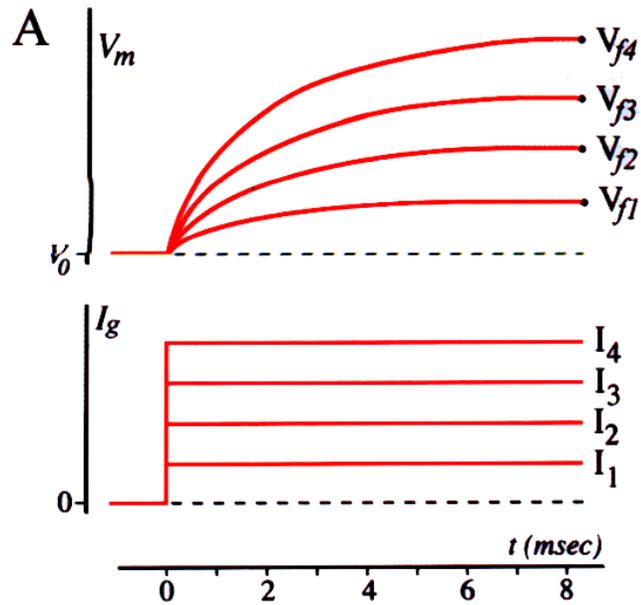
Step Off: $V_m = V_0 + (V_f - V_0)(e^{-t/R_m C_m})$



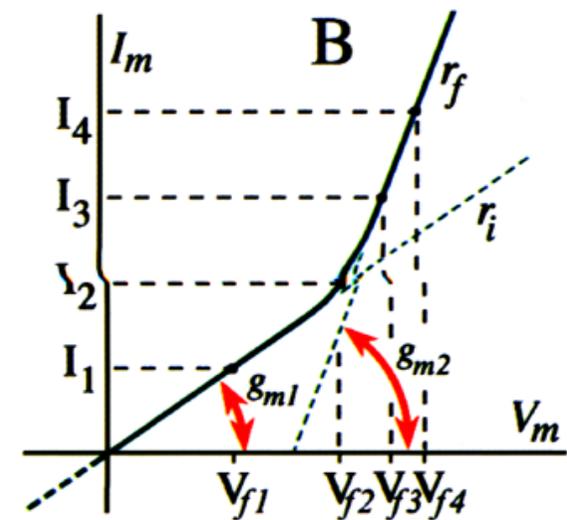
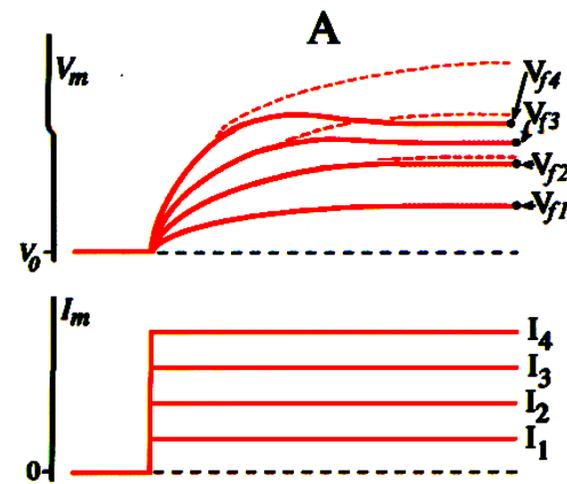
$$\tau = (R_m C_m)$$

COSTANTE DI TEMPO

Membrana ideale



Membrana dotata di canali voltage-dipendenti



Teoria "del cavo"

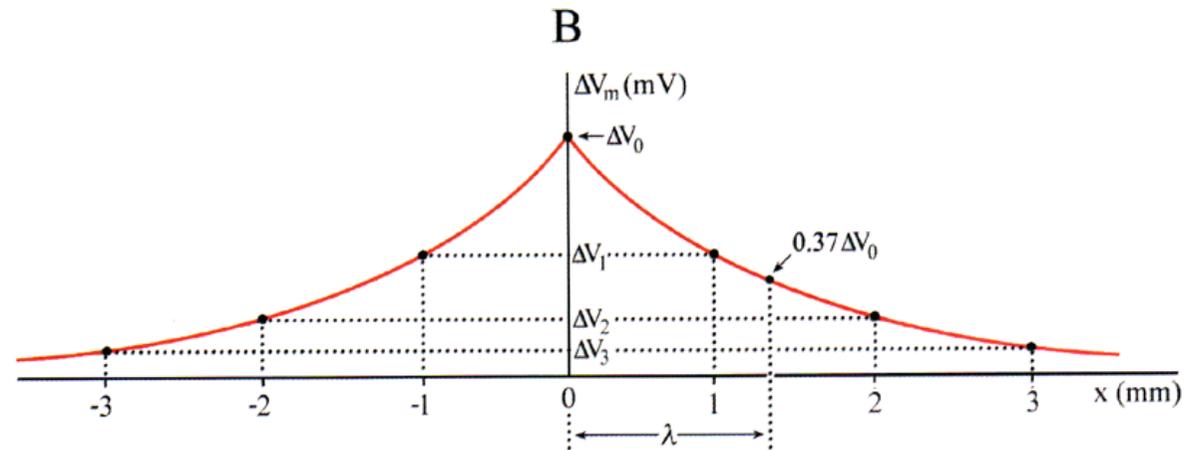
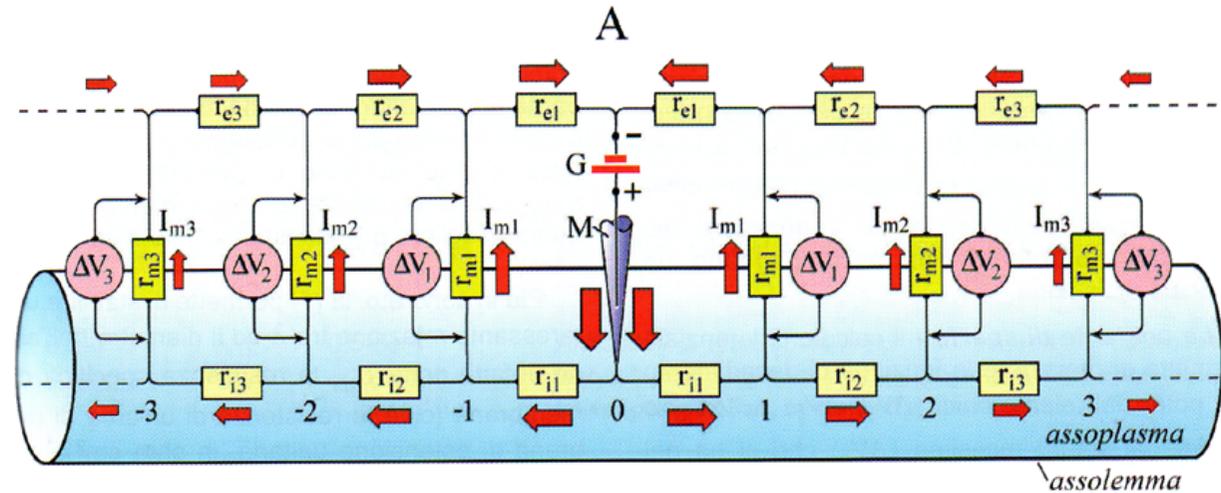


Fig. 7.11 - A: simulazione modellistica di un tratto di fibra nervosa interessato da un potenziale d'azione (si ignora per il momento la capacità della membrana, e se ne considera solo la resistenza ohmica). Il potenziale d'azione è simulato dalla iniezione nell'assoplasma, nel punto 0 , di una corrente costante (depolarizzante) tramite un microelettrodo (M); le strutture circostanti sono rappresentate da una successione di maglie resistive interconnesse, in cui si distribuisce la corrente iniettata. Le dimensioni delle *freccette rosse* sono grossomodo proporzionali all'intensità delle correnti che fluiscono nelle varie resistenze. **B:** sia l'intensità delle correnti che fluiscono nelle successive resistenze membranali (r_m), che l'ampiezza delle differenze potenziale che esse generano ai loro capi (ΔV), decadono con legge esponenziale al crescere della distanza dal punto di iniezione della corrente.

La costante di spazio

$$\Delta V_m = \Delta V_0 e^{-x/\lambda}$$

$$\lambda = \sqrt{r_m/r_i}$$

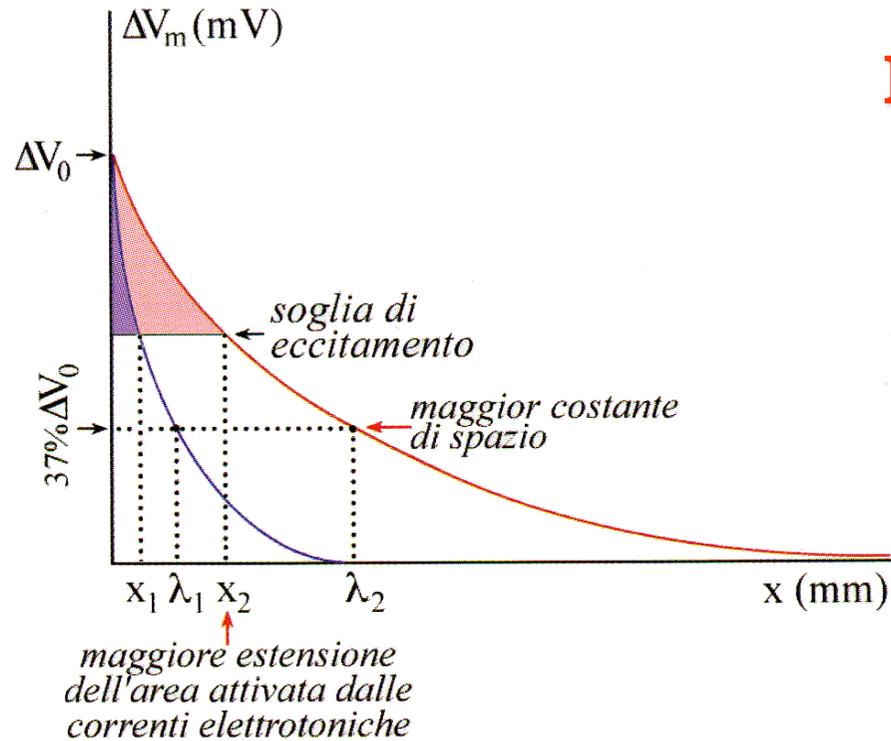


Fig. 7.12 - All'aumentare della costante di spazio (λ) di una fibra nervosa amielinica, aumenta l'estensione dell'area depolarizzata dalle correnti elettrotoniche sopra la soglia, e quindi la distanza alla quale il potenziale d'azione farà risentire la sua azione di stimolo sovraliminare.

R_m = resistenza di membrana
 R_i = resistenza intracellulare