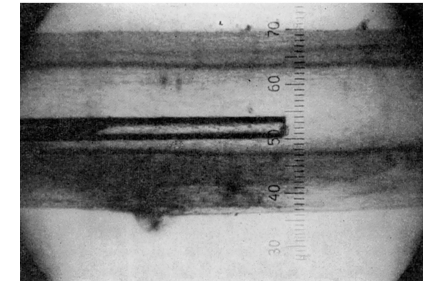
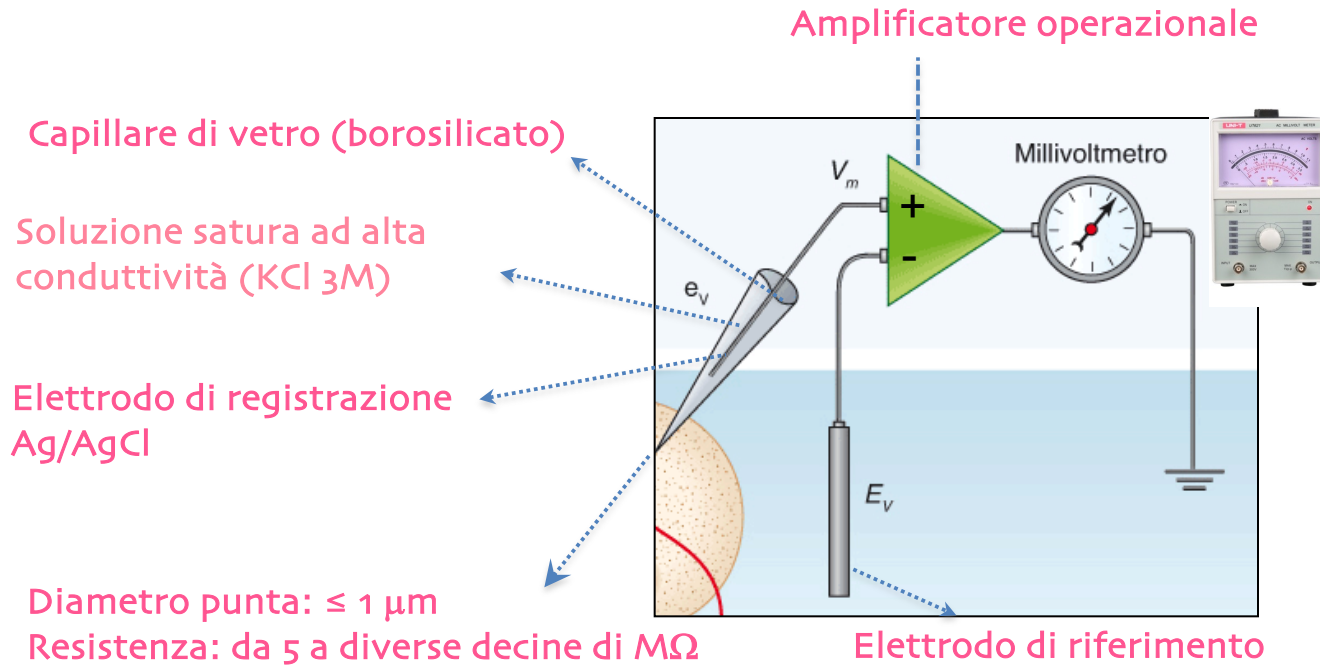
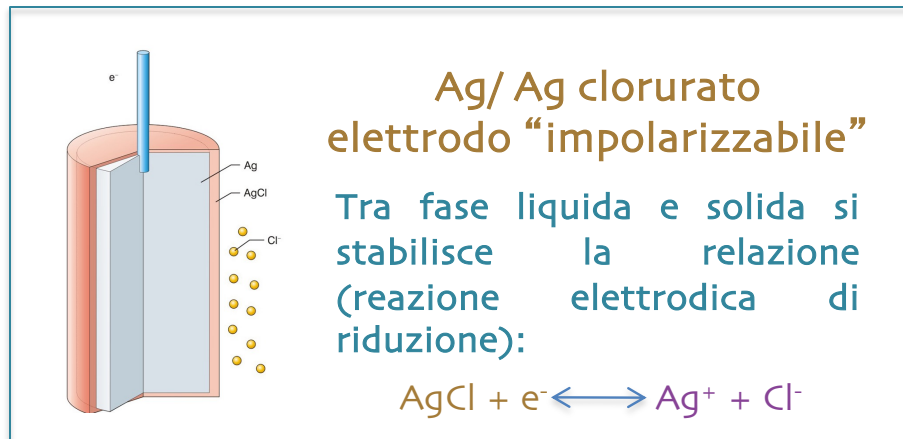


Come è fatto un apparato di registrazione del voltaggio?



Elettrodo intracellulare (assone gigante di calamaro)



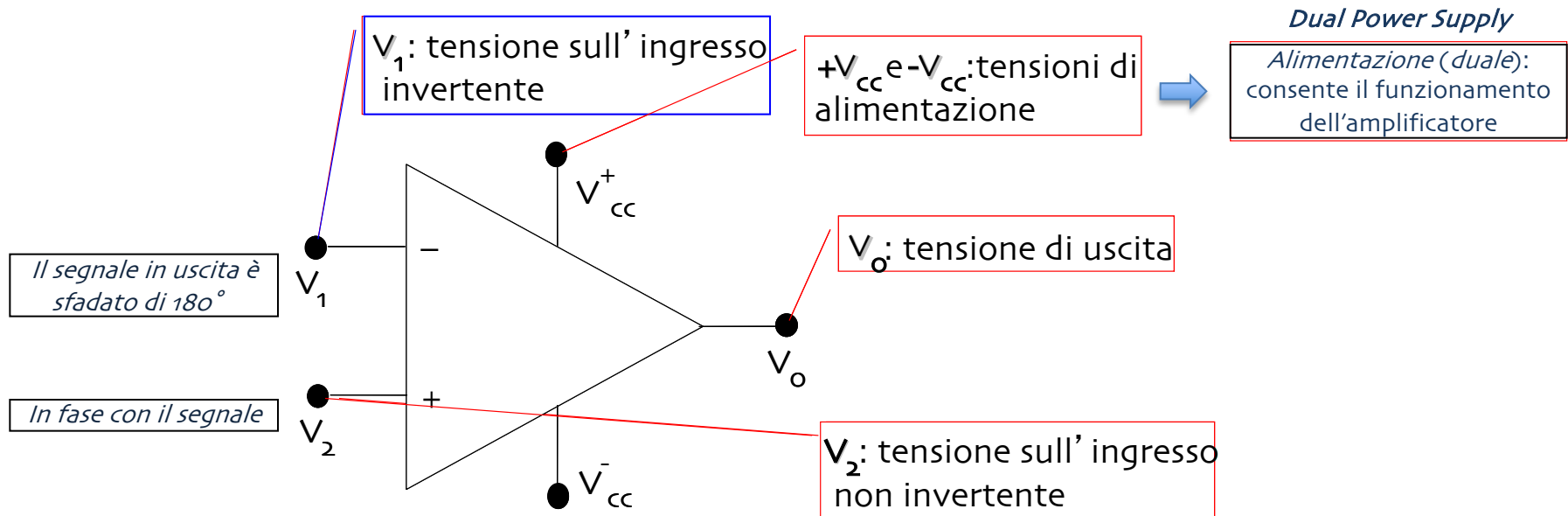
Quando un filo metallico è immerso in una soluzione elettrolitica, si genera una differenza di potenziale elettrico tra le due fasi, chiamato *potenziale di giunzione* (falsa le registrazioni elettrofisiologiche). L'elettrodo è **polarizzabile**

Elettrodo Ag/AgCl è **impolarizzabile**: immerso in una soluzione contenente una specie reattiva su cui si stabilisce un equilibrio elettrochimico.

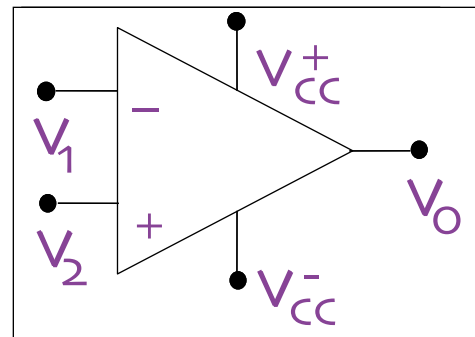
Amplificatori di tensione

L' *amplificatore differenziale* ha le seguenti caratteristiche:

- Presenta *due ingressi*, uno chiamato invertente (-) ed uno non invertente (+)
- *Amplifica* sempre la differenza fra i segnali presenti ai due ingressi. Quindi, se ai due ingressi è presente lo stesso segnale (*segnale di modo comune*), anche di ampiezza elevata, all'uscita dell'amplificatore il segnale amplificato è nullo
- Opera un *guadagno* (*indica quanto può amplificare un amplificatore*).
 - Può variare da 1 ad alcune decine di migliaia di volte ;
 - E' espresso come il rapporto fra le intensità dei segnali di uscita e di ingresso;
 - Va adeguato all'ampiezza del segnale biologico in ingresso. Va evitata una eccessiva amplificazione che potrebbe portare alla saturazione di qualche stadio dell'amplificatore con conseguente distorsione del segnale.



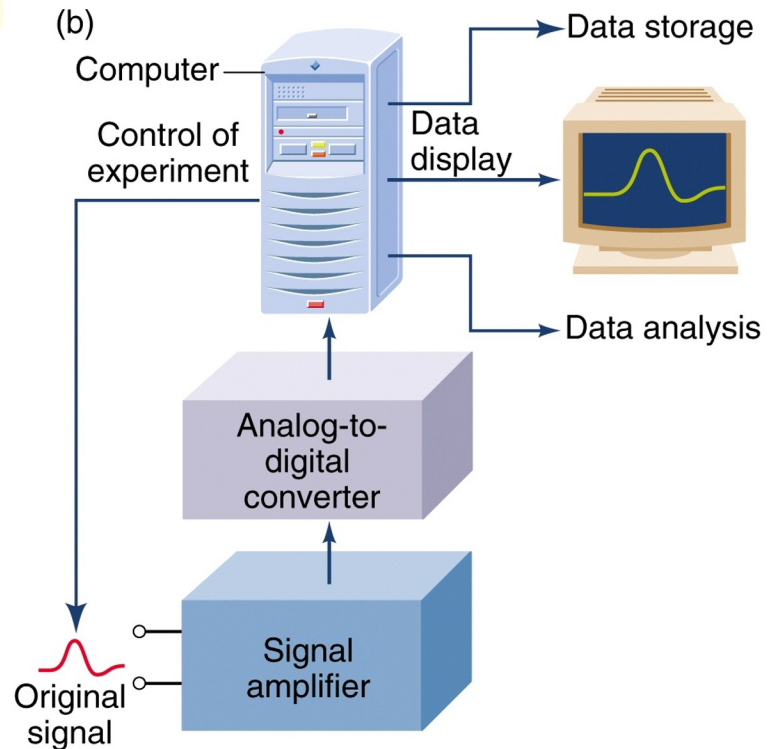
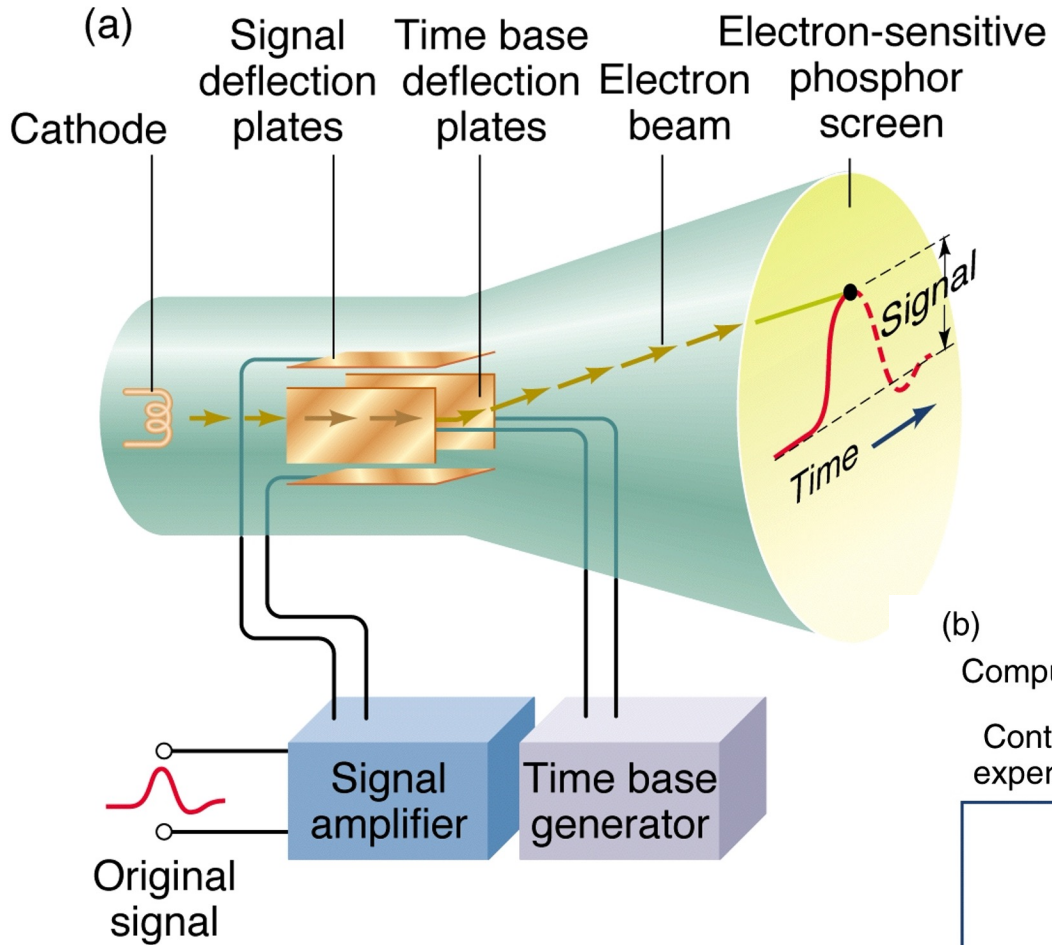
➤ L' *Amplificatore Operazionale* può essere definito funzionalmente come un amplificatore differenziale, cioè un dispositivo attivo a tre terminali che *genera al terminale di uscita (V_o) una tensione proporzionale alla differenza delle tensioni fornite ai due terminali di ingresso ($V_2 - V_1$)*



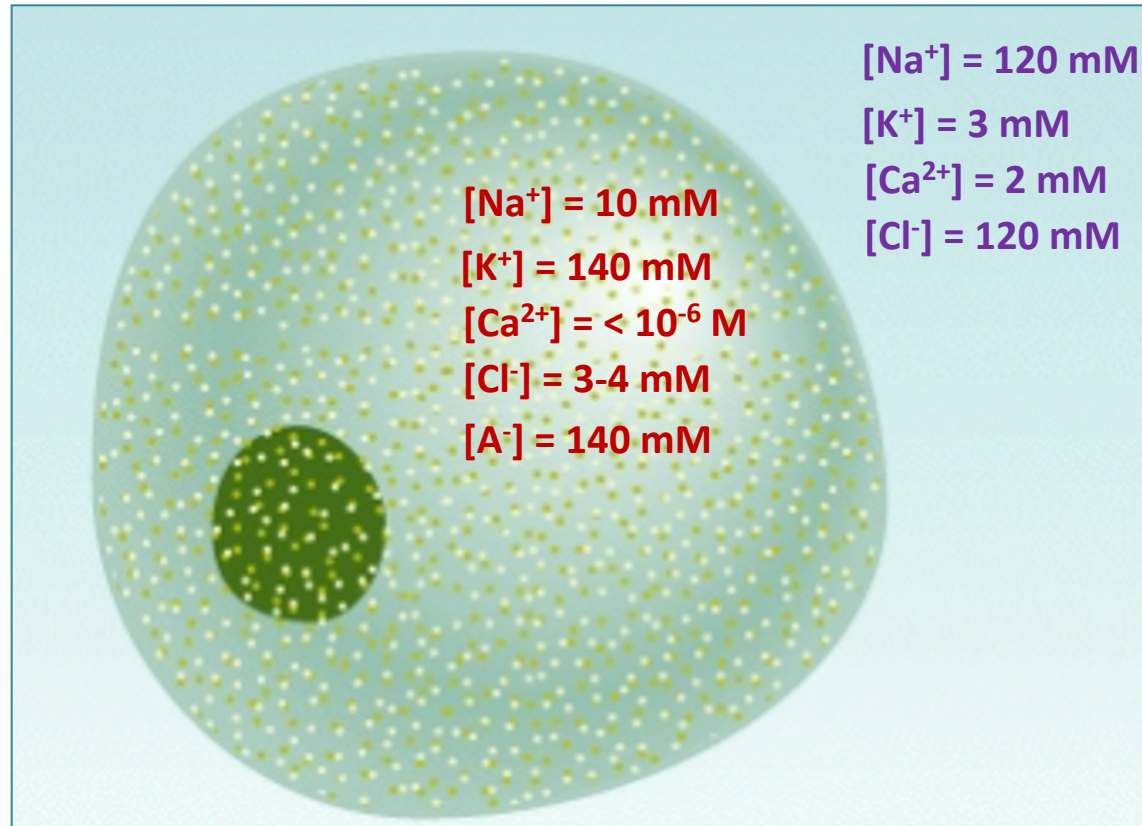
$$V_o = A^+ V_2 - A^- V_1$$

Il segnale di uscita V_o è il risultato della differenza tra il segnale applicato all'ingresso non invertente, V_2 , *amplificato* di un fattore A^+ e il segnale applicato all'ingresso invertente, V_1 , *invertito* di segno e a sua volta *amplificato* di un fattore A^- .

OSCILLOSCOPIO



Tutti i fenomeni elettrici nelle cellule dipendono dall'esistenza di un potenziale transmembrana (V_m)

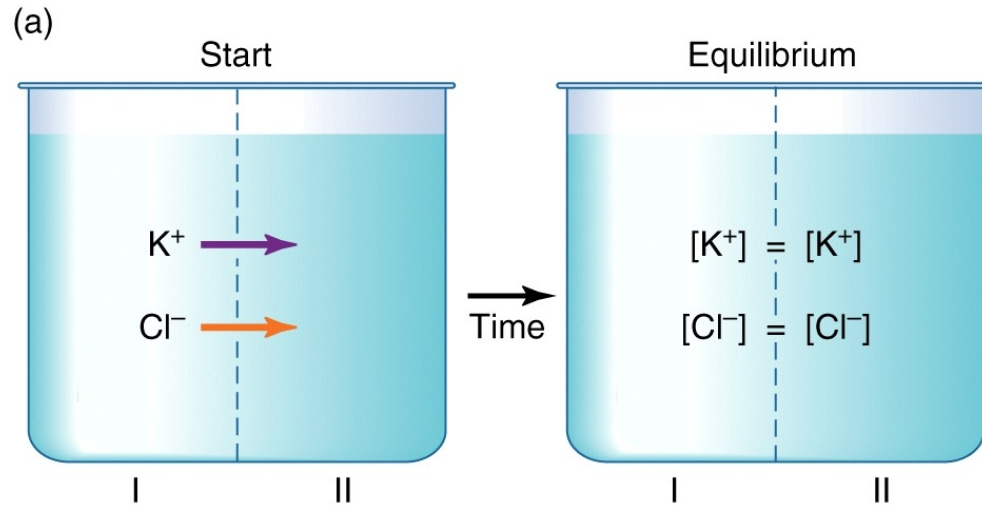


I fenomeni elettrici consistono in brevi cambiamenti di V_m determinati da variazioni del flusso di corrente elettrica attraverso la membrana, con apertura e chiusura di canali ionici

Equilibrio di Donnan (Frederick Donnan, 1911)

$$\frac{[K^+]_I}{[K^+]_{II}} = \frac{[Cl^-]_{II}}{[Cl^-]_I}$$

cella di concentrazione

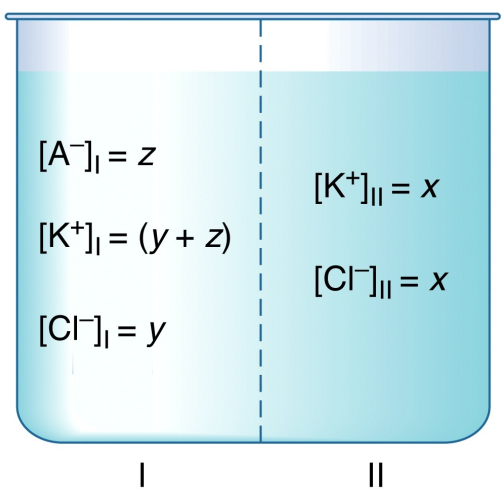
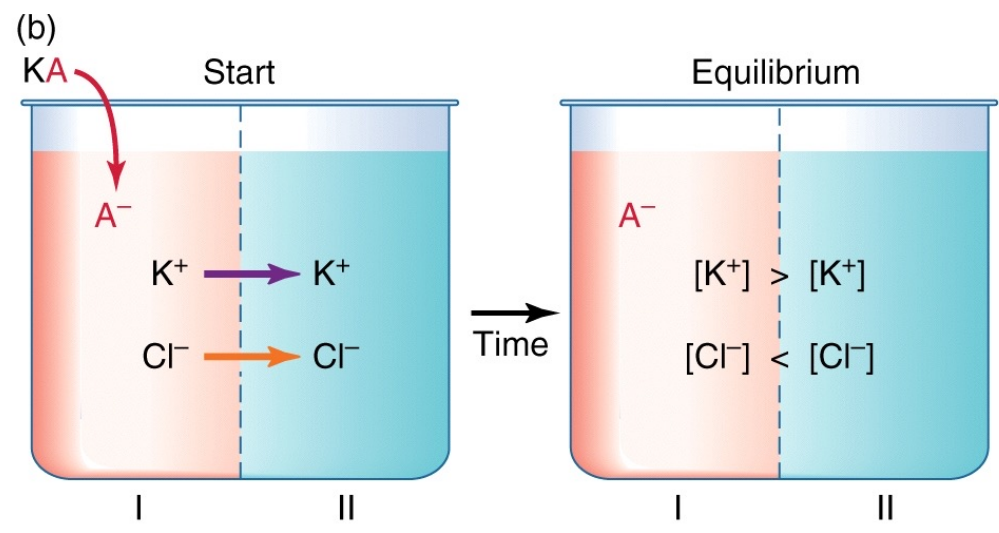


All'equilibrio ci sarà una distribuzione reciproca di anioni e cationi tale che:

- 1) In ciascun compartimento ci deve essere una condizione di elettroneutralità:
 $[K^+] = [Cl^-]$
- 2) Per mantenere tale elettroneutralità, gli ioni devono attraversare la membrana in coppia. La probabilità che ciò avvenga è pari al prodotto: $[K^+] \times [Cl^-]$
- 3) All'equilibrio: $[K^+]_I \times [Cl^-]_I = [K^+]_{II} \times [Cl^-]_{II}$

$$\frac{[K^+]_I}{[K^+]_{II}} = \frac{[Cl^-]_{II}}{[Cl^-]_I}$$

All'equilibrio ci sarà una distribuzione reciproca di anioni e cationi tale che:



L'equilibrio si raggiunge quando:

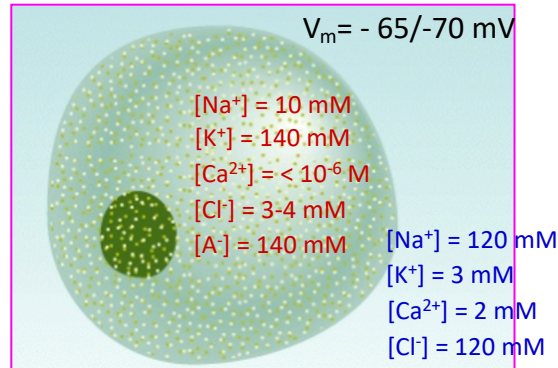
$$y(y+z) = x^2$$

Se la membrana fosse permeabile anche all'acqua, il compartimento 1 avrebbe un'osmolarità maggiore, con conseguente entrata acqua al suo interno per osmosi

Ma in una cellula l' elettroneutralità di Donnan non esiste...

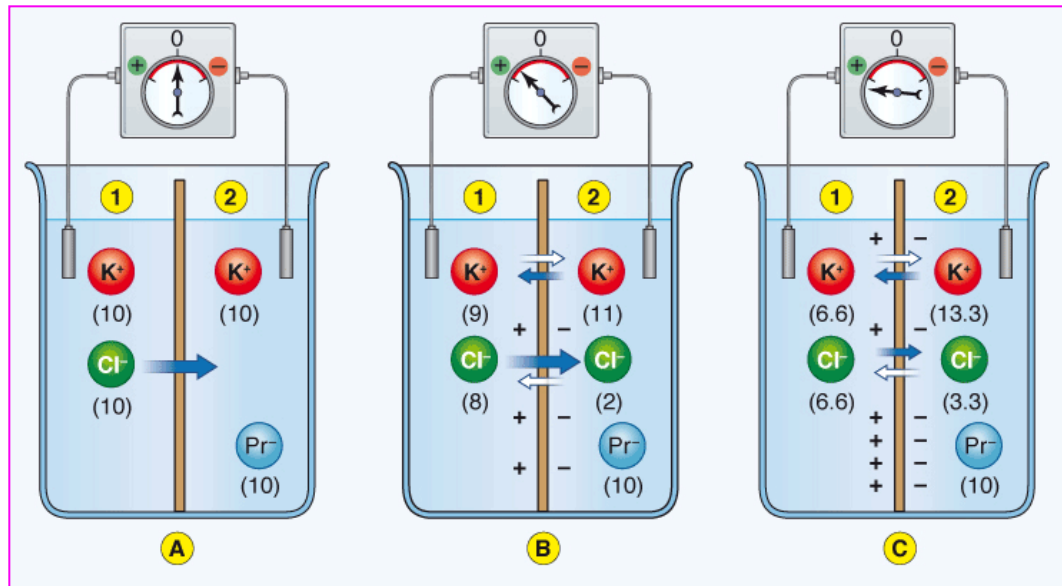
INT

somma apparentemente positiva:
ma c'è il contributo degli anioni
non diffusibili



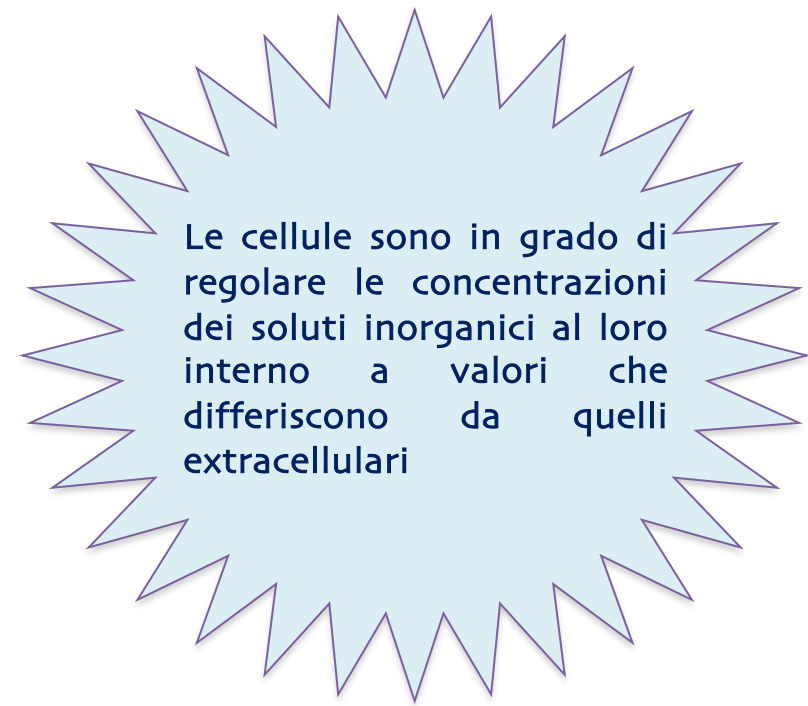
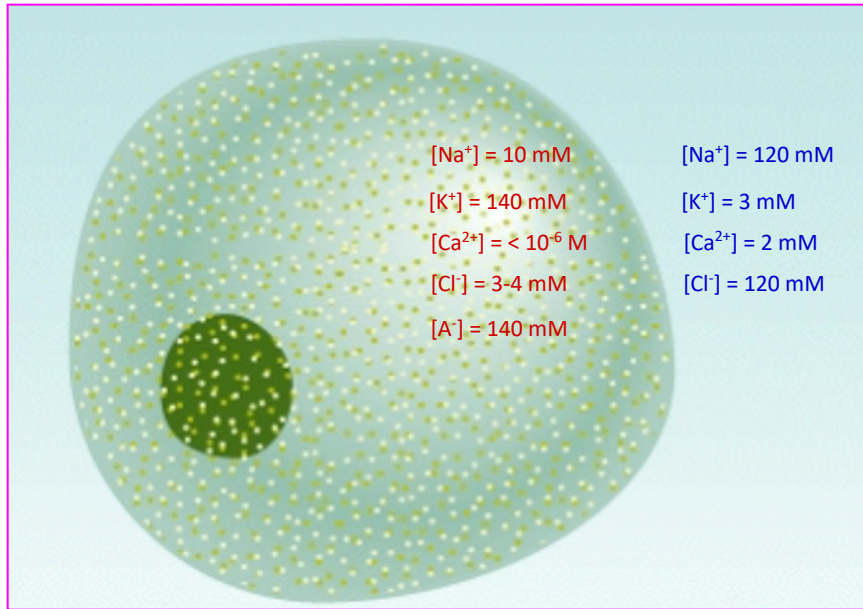
EXT

somma solo leggermente positiva:
ma c'è il contributo di altri ioni meno
rappresentati



1. A cavallo della membrana si produce un *differenza di potenziale*, negativo dal lato citoplasmatico, dove sono presenti le Pr^-
2. La concentrazione degli ioni diffusibili è più alta dal lato dove si trovano le Pr^- e questo comporta un aumento della pressione osmotica (colloido-osmotica), con entrata di acqua e turgore cellulare

Stato stazionario ionico



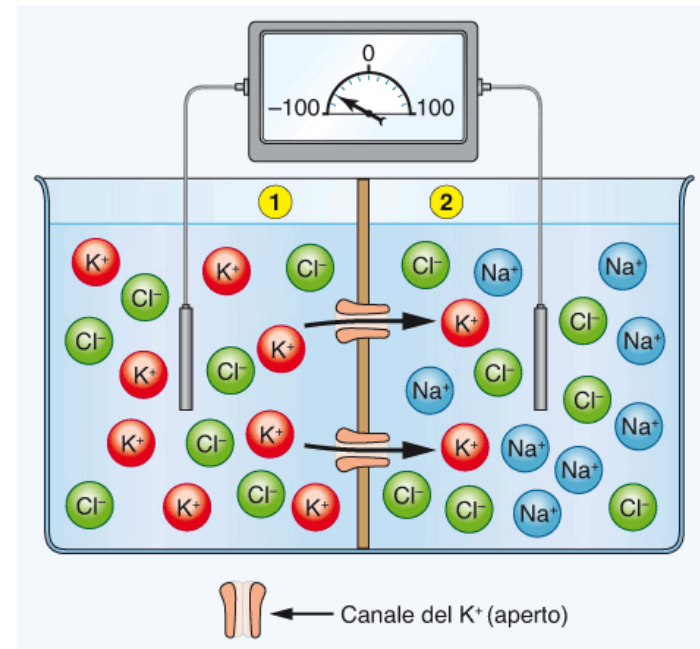
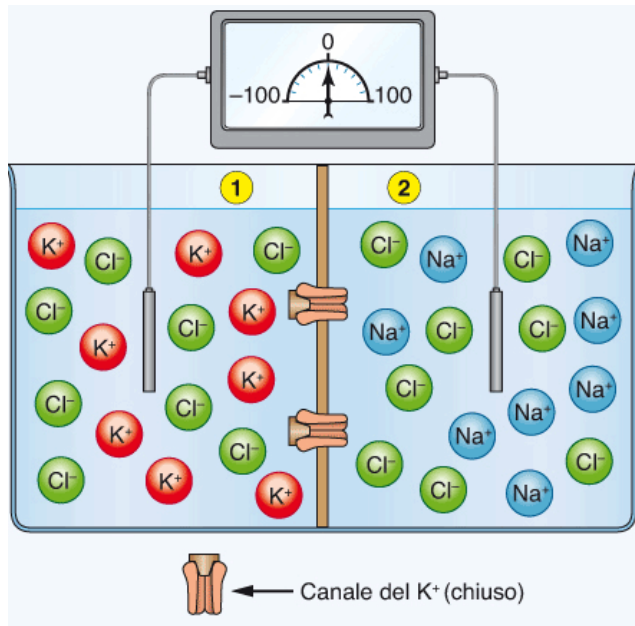
1. La permeabilità al K^+ è circa 30 volte superiore a quella del Na^+ , la permeabilità al Cl^- è più variabile (simile al K^+ o inferiore)
2. La carica netta negativa è dovuta a gruppi carbossilici e siti anionici presenti sulle molecole non permeanti di proteine e peptidi
3. Se K^+ e Cl^- fossero gli unici due ioni diffusibili si imporrebbe una situazione di equilibrio di Donnan
4. Cellule pompano attivamente fuori Na^+ e Ca^{2+} , con dispendio energetico. Effettiva impermeabilità a questi due ioni.

Stato stazionario ionico: una condizione che richiede un continuo dispendio energetico, piuttosto che un vero equilibrio

La differenza di potenziale transmembrana è un Potenziale Electrochimico

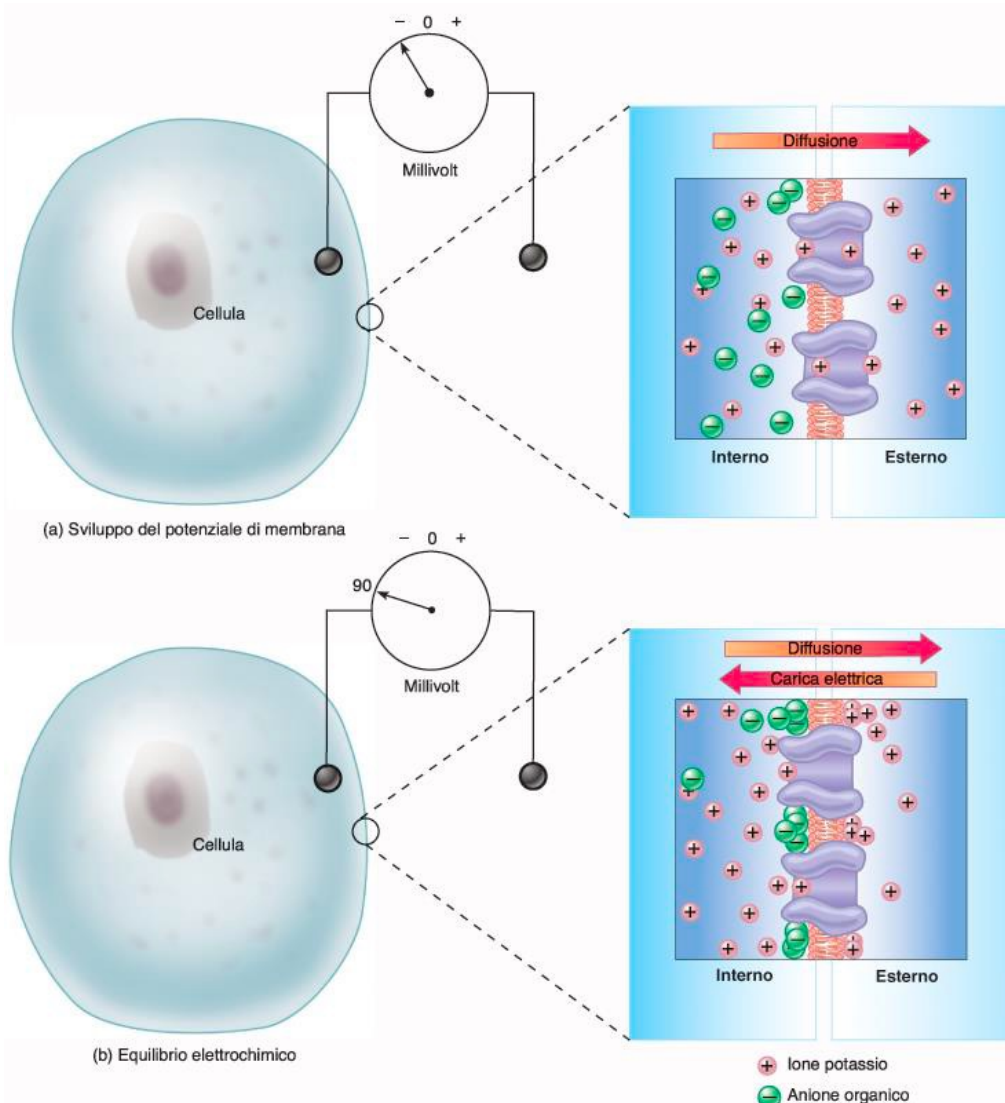
Il potenziale elettrochimico si genera perché:

- le membrane sono *selettivamente permeabili* ad alcuni ioni
- ci sono *differenze di concentrazione* di ioni specifici ai due lati della membrana mantenuto con dispendio energetico



Equilibrio elettrochimico

gradiente di concentrazione e quello elettrico sono uguali e opposti



K⁺ più concentrato nel LIC: gradiente chimico che favorisce la diffusione nel LEC (membrana plasmatica è molto permeabile a K⁺)

- Gli anioni macromolecolari rimangono nel citoplasma

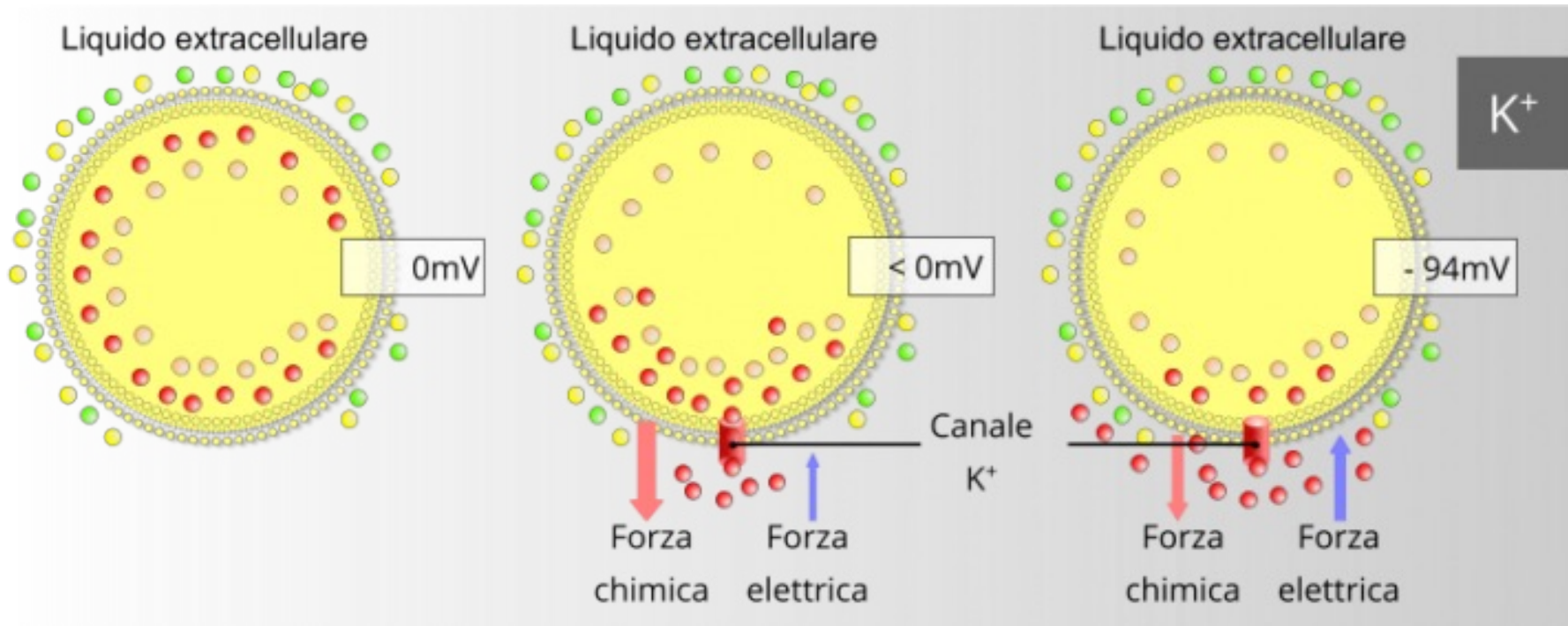
- Cariche negative in eccesso si concentrano sulla superficie interna della membrana plasmatica attirando cationi, ovvero K⁺ (attirano anche Na⁺, ma membrana plasmatica è relativamente impermeabile al Na⁺ in condizioni passive)

- Il **gradiente chimico** è quindi bilanciato dalla **forza elettrica**

- Se i due gradienti diventassero uguali (potenziale elettrochimico sia annulla), allora cesserebbe la diffusione netta di K⁺ e si raggiungerebbe il *potenziale di equilibrio per K⁺*

Equilibrio elettrochimico

gradiente di concentrazione e quello elettrico sono uguali e opposti



L' equilibrio elettrochimico di uno singolo ione (x) corrisponde al suo potenziale di equilibrio (E_x)

Come calcolare il potenziale di equilibrio di uno ione: L'Equazione di Nernst

L'Equazione di Nernst stabilisce una relazione quantitativa tra la differenza di potenziale elettrico e il rapporto di concentrazione di un singolo ione tra i due lati della membrana plasmatica

$$E_x = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

E_x : potenziale di equilibrio per lo ione X

R: costante dei gas (8,314 Joule/mol x K)

T: temperatura assoluta (Kelvin)

F costante di Faraday (96.485 coulomb/mol)

Z: valenza dello ione

$[X]_e$ e $[X]_i$: concentrazioni dello ione ai due lati della membrana

Ad una temperatura di 311,15 Kelvin (pari a 38 ° C) e con il ln trasformato in log (ln = 2,302 log)

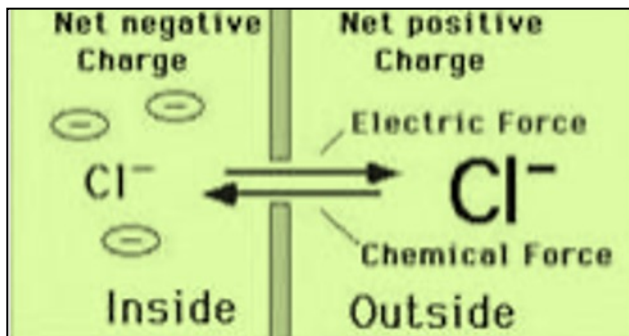
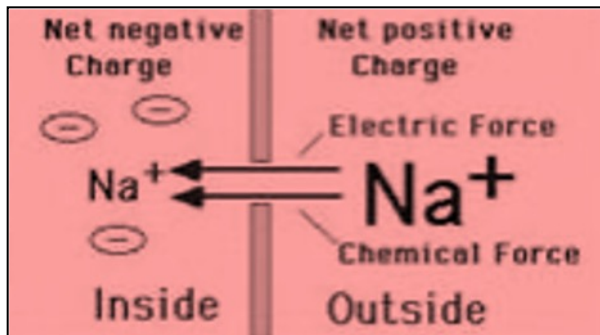
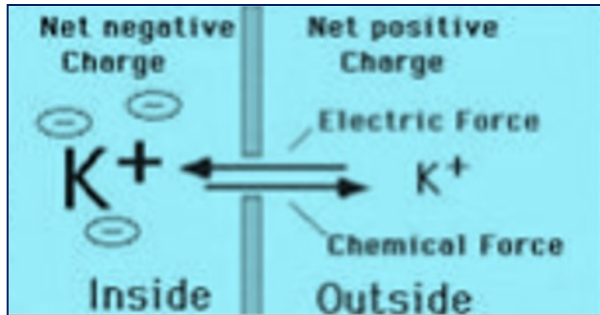
$$E_x = \frac{8,314 \times 311,15 \times 2,302}{z \times 96.485} \log \frac{[X]_e}{[X]_i} = 0,061 \log \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

$$E_x = RT/zF \log [X]_e / [X]_i$$

$$E_K = 0,061 \times \log 4 \text{ mM}/140 \text{ mM} = -94 \text{ mV}$$

$$E_{Na} = 0,061 \times \log 120 \text{ mM}/10 \text{ mM} = +65 \text{ mV}$$

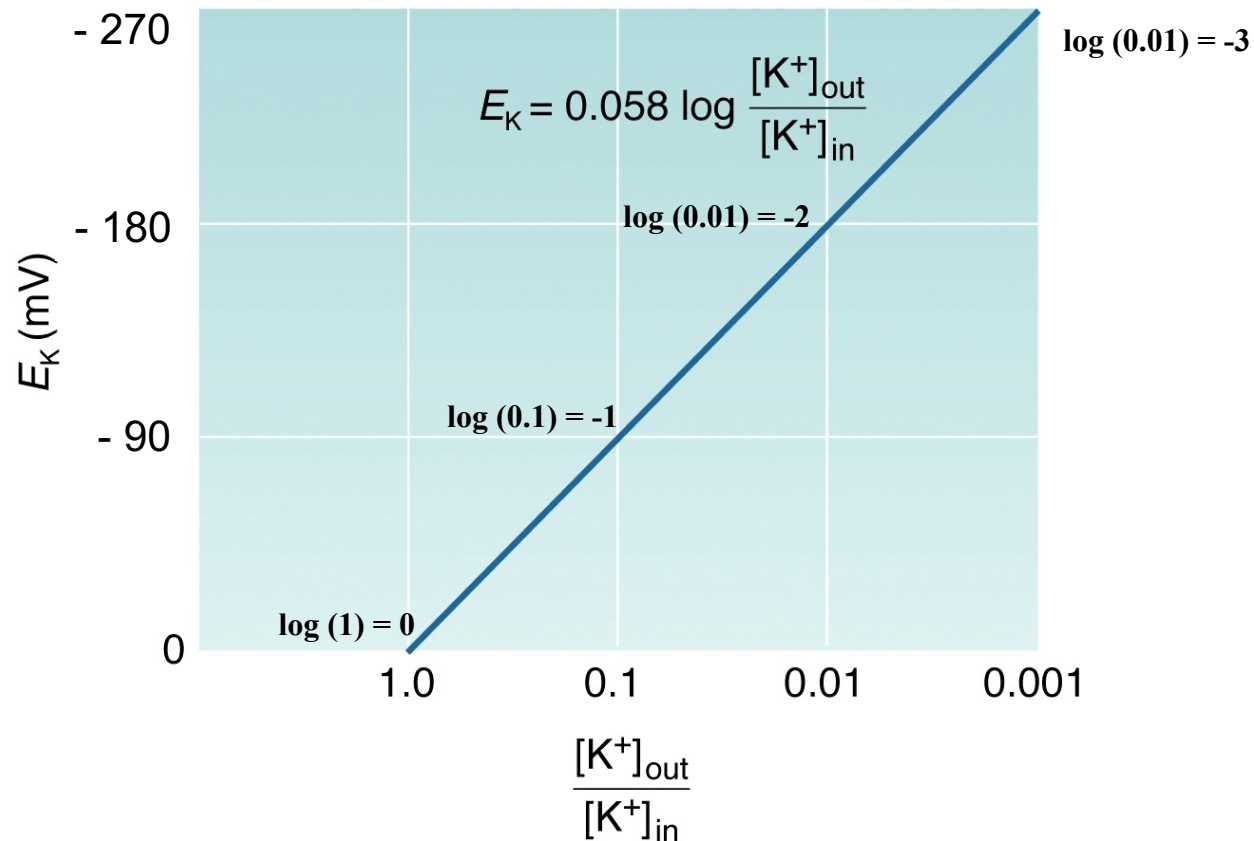
$$E_{Cl} = -0,061 \times \log 120 \text{ mM}/4 \text{ mM} = -90 \text{ mV}$$



In base all' equazione di Nernst:

quando il gradiente di concentrazione di uno ione attraverso una membrana aumenta, aumenterà anche il suo potenziale all' equilibrio

(a)



Il potenziale di equilibrio è proporzionale al log del rapporto delle concentrazioni nei due compartimenti

Ma nelle misurazioni reali, per bassi valori di concentrazione di K^+ esterno la curva si discosta da quella predetta con l'equazione di Nernst

