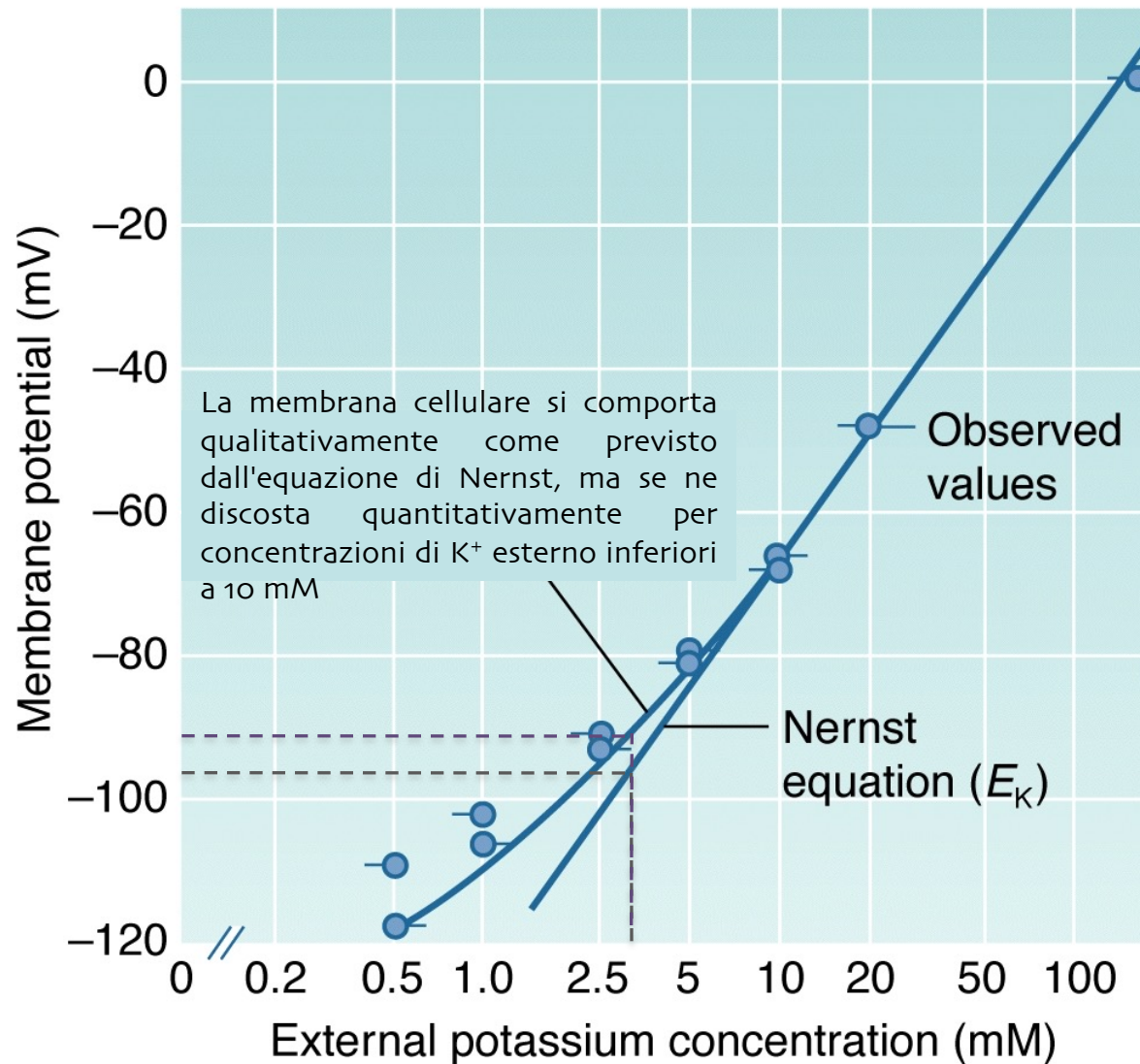


Ma nelle misurazioni reali, per bassi valori di concentrazione di K^+ esterno la curva si discosta da quella predetta con l'equazione di Nernst



Il potenziale di membrana è determinato da più specie ioniche

Equazione di Goldman, Hodgkin e Katz

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

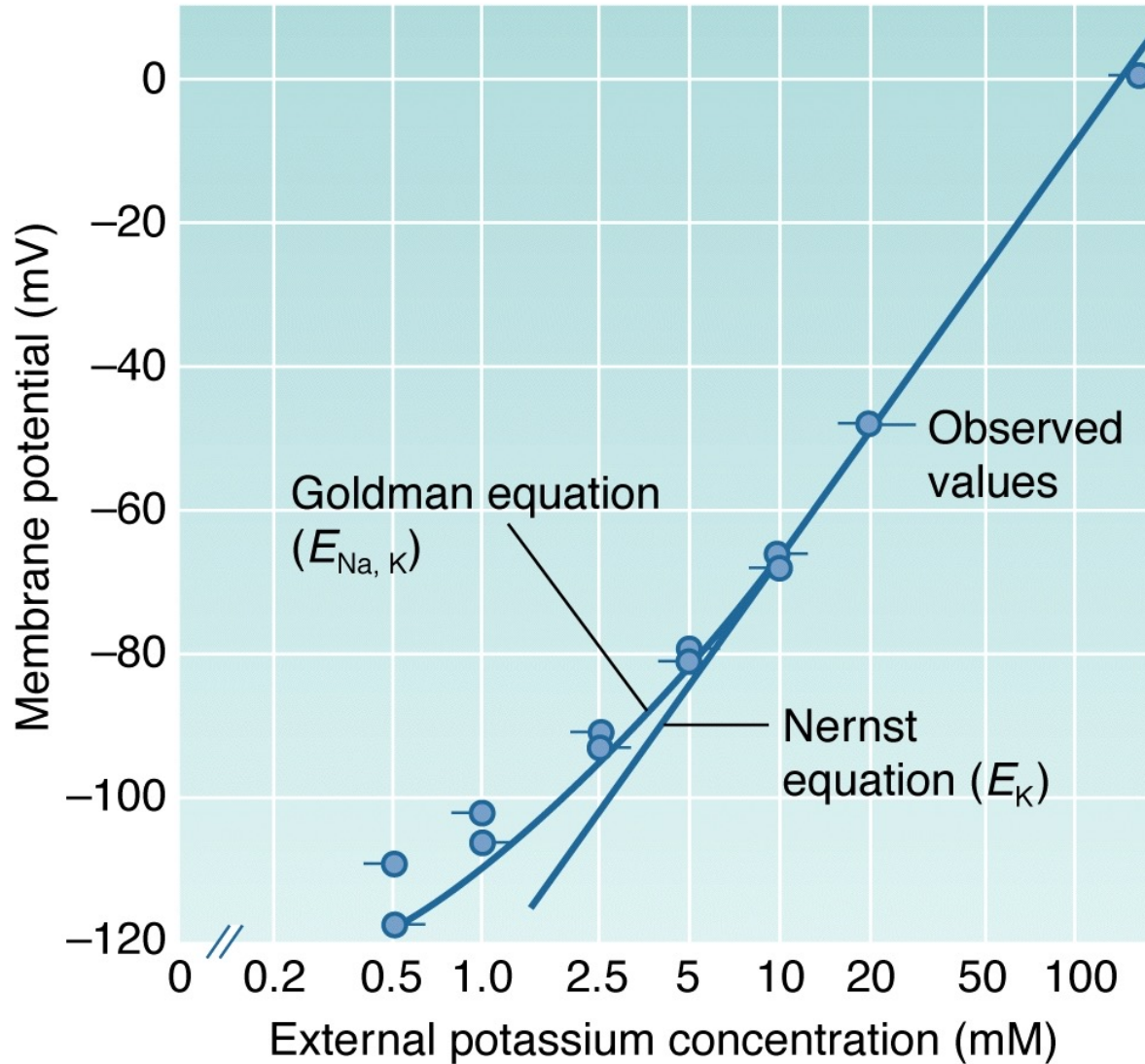
- Dove "⁺" rappresenta la permeabilità passiva per lo ione Na⁺ o Cl⁻ relativa alla permeabilità passiva del K⁺
- Il Cl⁻ è invertito perché ha carica negativa

Esempio di sviluppo Equazione di GHK con K⁺ e Na⁺

$$E_{Na,K} = 0,061 \log \frac{1 [K^+]_e + 0,01 [Na^+]_e}{\log 1 [K^+]_i + 0,01 [Na^+]_i} = 0,061 \log \frac{2,5 \text{ mM} + (0,01 \times 120 \text{ mM})}{140 \text{ mM} + (0,01 \times 10 \text{ mM})} = -96 \text{ mV}$$

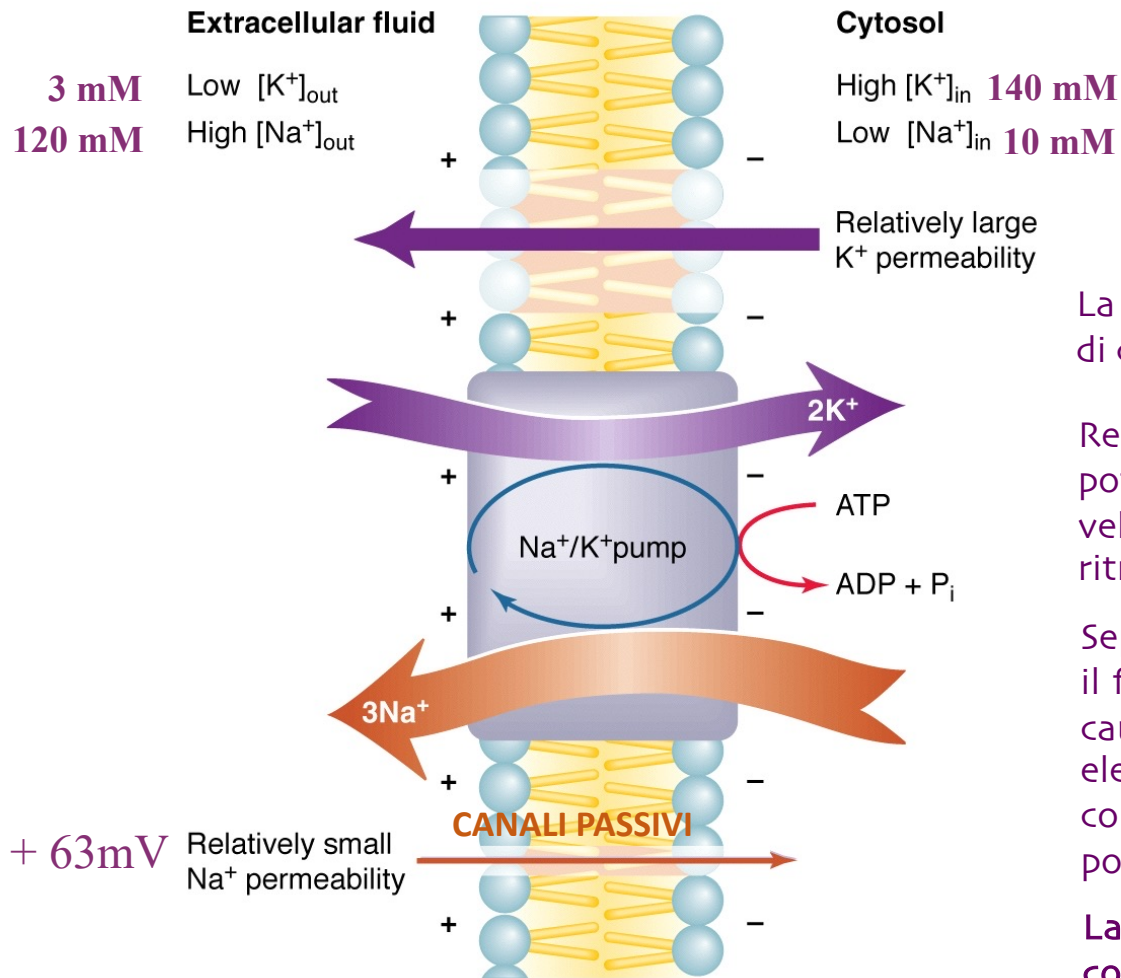
La permeabilità al K⁺ in condizioni passive è la più alta tra gli ioni → P_K = 1
 se consideriamo la permeabilità al Na⁺ 100 volte inferiore alla P_K → P_{Na} = 0.01

A basse concentrazioni esterne di K^+ , il prodotto $P_{Na}[Na^+]_e$ si avvicina al valore del prodotto $P_K[K^+]_e$, permettendo al Na^+ di apportare un maggior contributo al V_{rip}



Teoria del campo costante

Nella condizione di stato stazionario, il potenziale di membrana e le concentrazioni degli ioni coinvolti rimangono costanti nel tempo, anche a costo di dispendio energetico



La pompa produce un trasporto netto di carica: **trasporto elettrogenico**

Reale contributo della pompa al potenziale di membrana dipende dalla velocità alla quale K^+ possono rifluire a ritroso attraverso la membrana

Seppure con una minore permeabilità, il flusso Na^+ è 1,5 volte quello del K^+ a causa della elevata forza elettromotrice (*fem*), controbilanciando l'azione della pompa

La pompa Na^+/K^+ ATPasi contribuisce indirettamente al potenziale di riposo

$$E_{Na} = +63mV$$

Relatively small Na^+ permeability

$$fem (V_m - E_{Na}) \text{ è pari a } -150mV$$

Ricapitolando:

Il valore negativo del potenziale di riposo attraverso la membrana cellulare dipende dai seguenti fattori

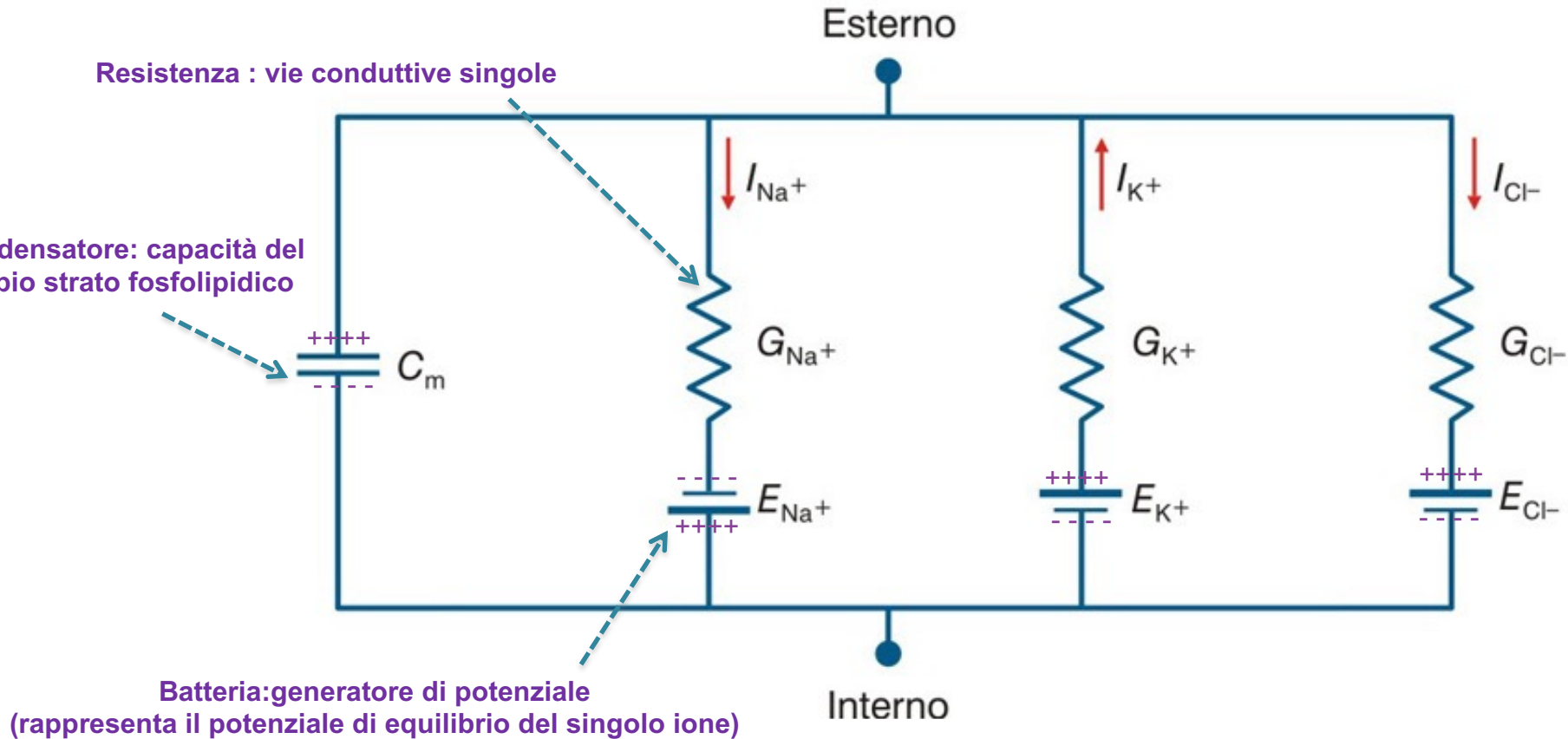
- La concentrazione intracellulare del K^+ è elevata rispetto a quella extracellulare, in concomitanza con **una elevata P_k**
- Gli ioni K^+ tendono a fluire passivamente fuori dalla cellula attraverso canali selettivi aperti in condizioni di riposo, lasciando sul lato interno una carica netta negativa
- I canali per il Na^+ aperti in condizioni di riposo sono pochi: **il Na^+ contribuisce in modo irrilevante al V_{rip}**
- Il contributo del Cl^- è variabile
- La pompa Na^+/K^+ , mantenendo basse la $[Na^+]_i$ fa sì che il K^+ sia il catione predominante all'interno della cellula. Una piccola componente del V_{rip} deriva direttamente dal pompaggio di una carica netta positiva fuori dalla cellula

Più la membrana plasmatica è permeabile ad uno ione in condizioni passive (passaggio attraverso canali passivi) più la carica di quello ione inciderà sul valore finale del V_m

Il K^+ è lo ione che più condiziona il valore di V_m perché è lo ione per cui le membrane sono più permeabili

L'equazione di Goldman permette di combinare i concetti base sulla generazione e mantenimento del potenziale di membrana in una rappresentazione elettrica circuitale:

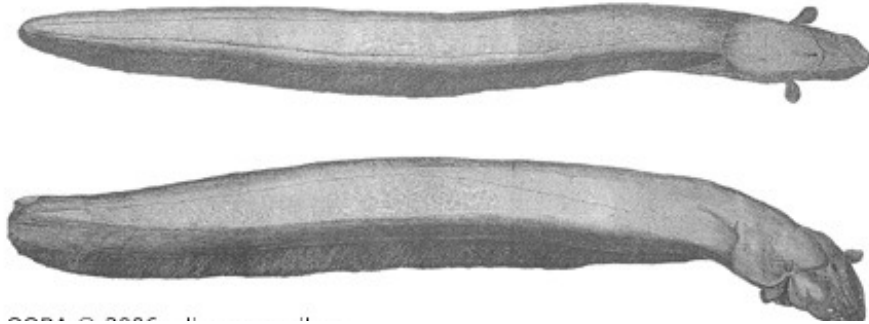
Il Circuito Equivalente della membrana cellulare



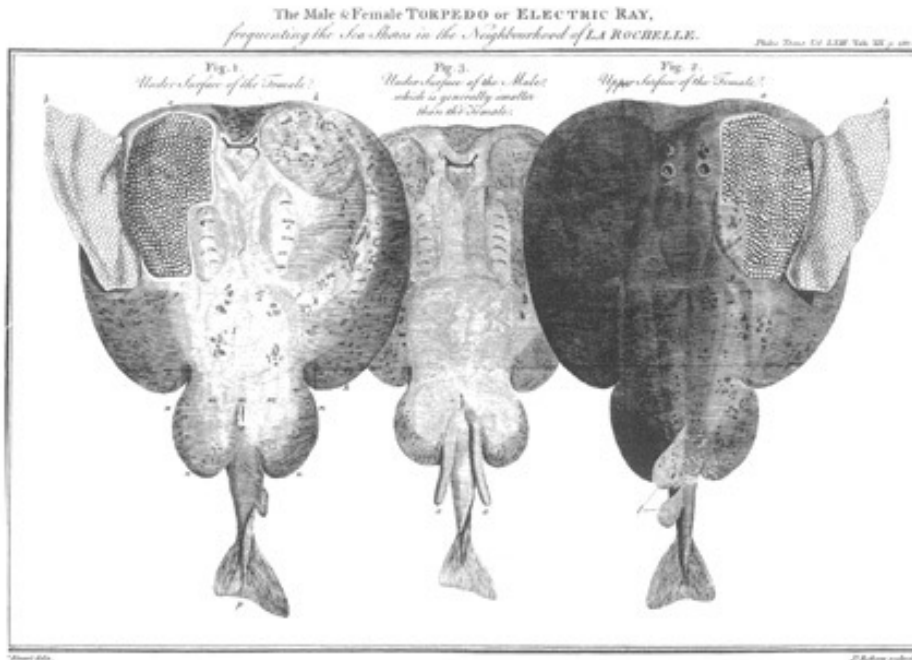
1700: inizia la storia dell'elettricità animale

- *Costruzione di nuove e più potenti macchine elettriche*
- *Invenzione della bottiglia di Leyda (condensatore) in grado di accumulare grandi quantità di elettricità per effetto capacitivo e di generare scosse molto potenti*
- *Si stabilisce la chiara distinzione tra corpi isolanti e corpi conduttivi*
- *Si dimostra che lungo i corpi conduttivi l'elettricità può spostarsi per distanze molto lunghe in tempi brevissimi*

La scoperta dell' "elettricità animale": da Walsh, a Galvani, a Volta



1769: Bancroft describe una strana anguilla della Guiana ("torporifica") in grado di produrre una scossa simile a quella elettrica (fino a 500 V), che si trasmetteva per una catena di persone in contatto tra loro e veniva condotta anche da metalli e da altre sostanze conduttrici

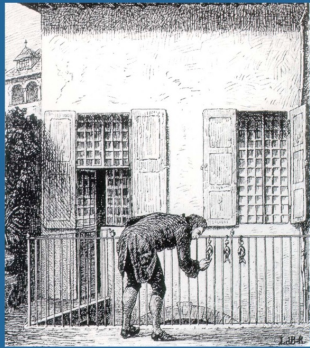


1772: Walsh verifica la natura della scossa della torpedine (40-50 V) per stabilire se essa si basi su un meccanismo elettrico simile a quello dell'anguilla della Guiana.

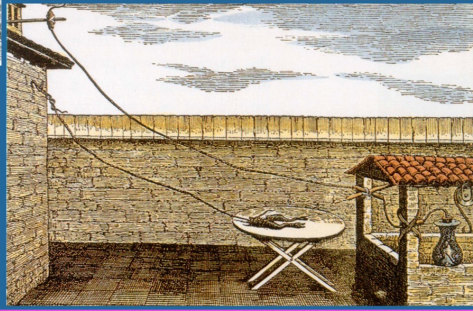
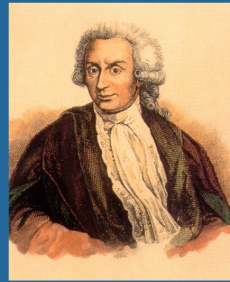
Ulteriori esperimenti con le anguille, portarono anche alla produzione di una scintilla al momento della scossa



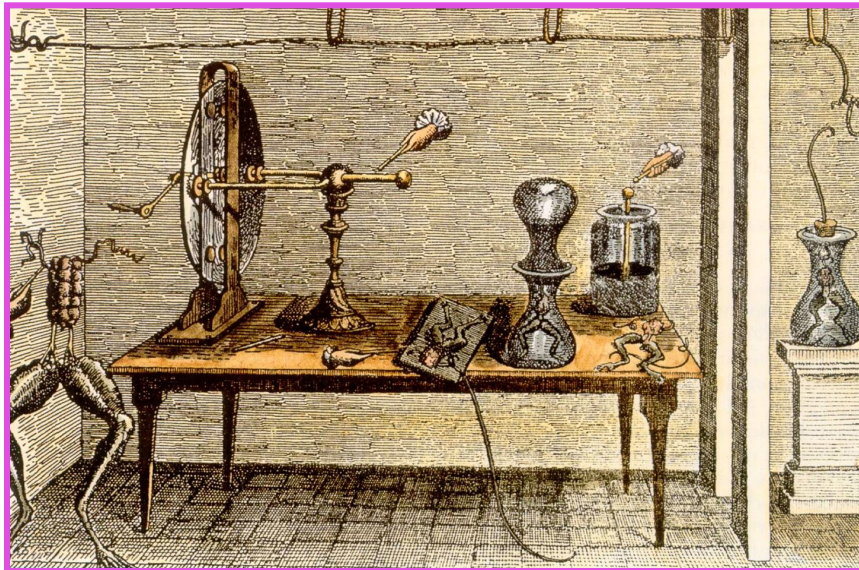
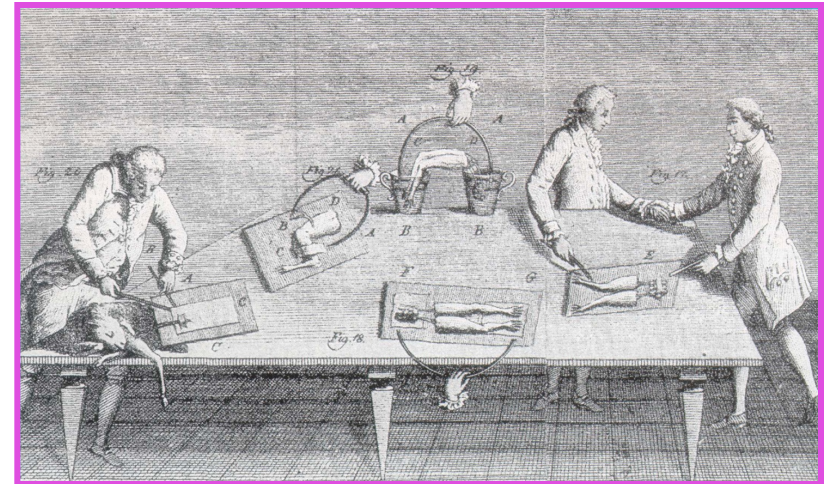
Nasce il termine: "elettricità animale"

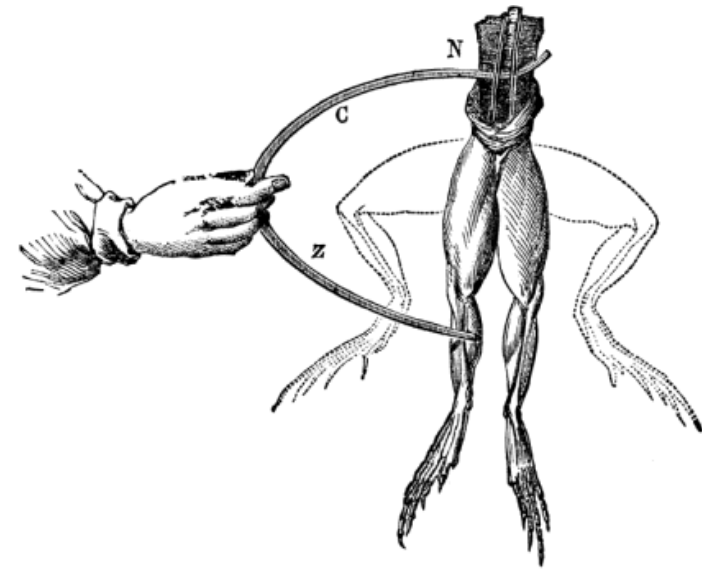
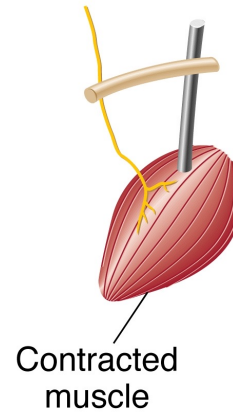
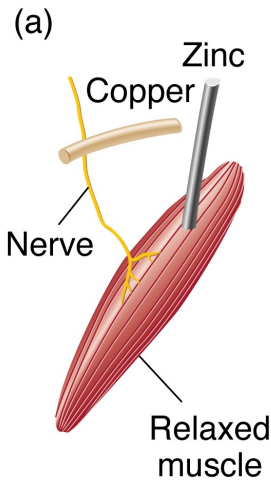
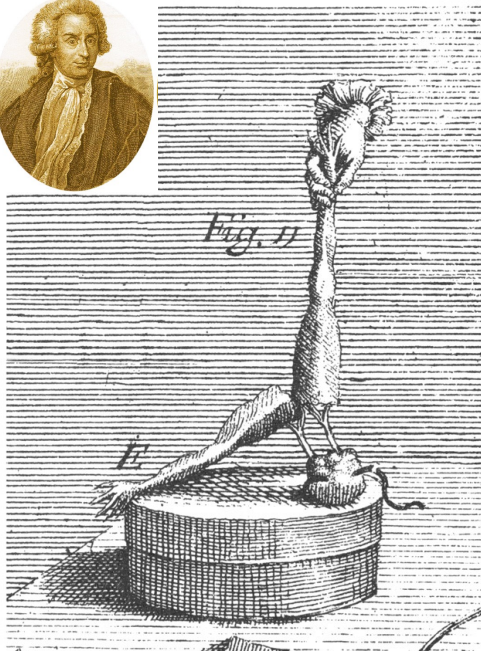


Luigi Galvani
(1737 – 1798)



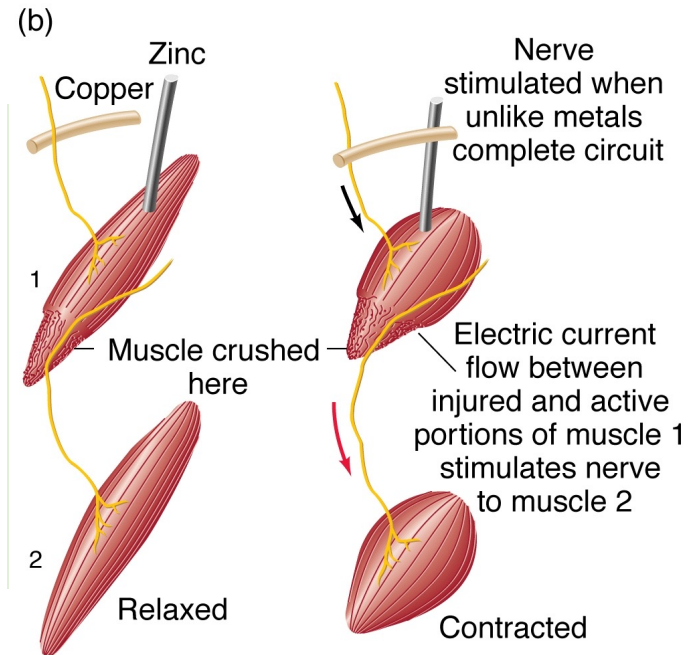
*Gli esperimenti di Galvani
“sull’elettricità animale” nella
fisiologia neuromuscolare*





1791: Galvani nei suoi esperimenti di fisiologia neuromuscolare spiega la conduzione nervosa e la contrazione muscolare secondo un modello basato sull'accumulo di un fluido elettrico, in condizione di squilibrio, tra l'interno e l'esterno della fibra muscolare. Indicò questo squilibrio come "elettricità animale" (Galvani, 1791, "De viribus electricitatis in motu muscularis")

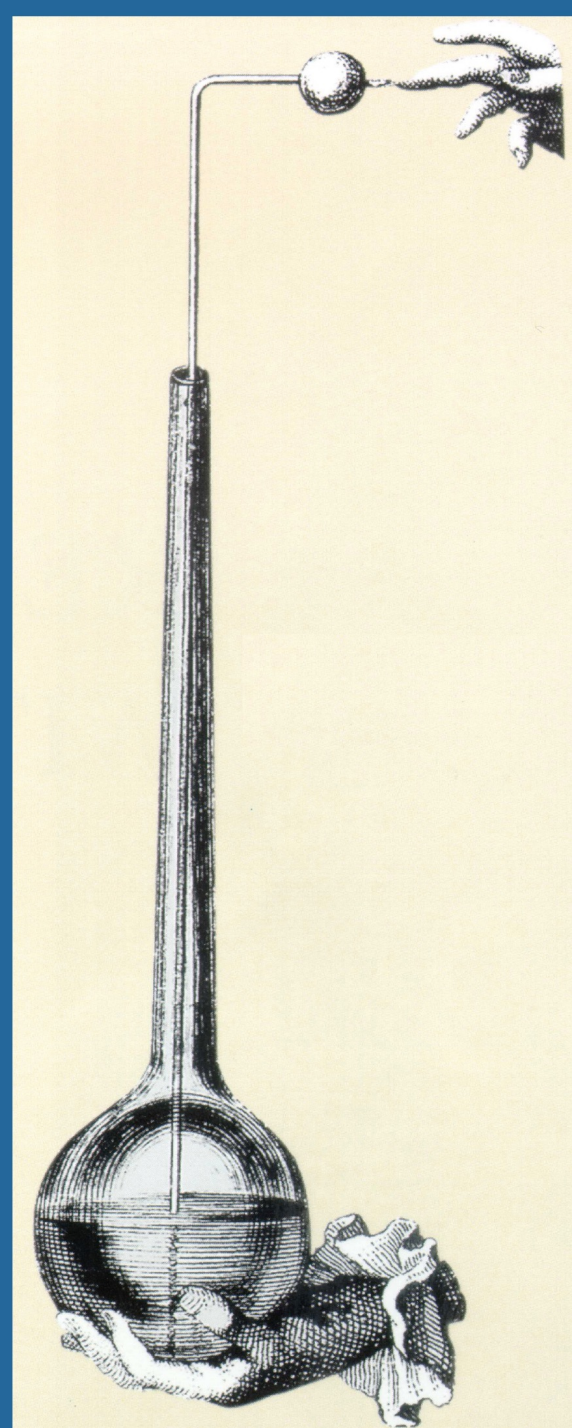
Galvani assimilò i tessuti animali alla bottiglia di Leyda, il precursore dei condensatori; quindi ipotizza l'esistenza nei tessuti di una particolare macchina in grado di generare una differenza elettrica.





Alessandro Volta
(1745 – 1827)

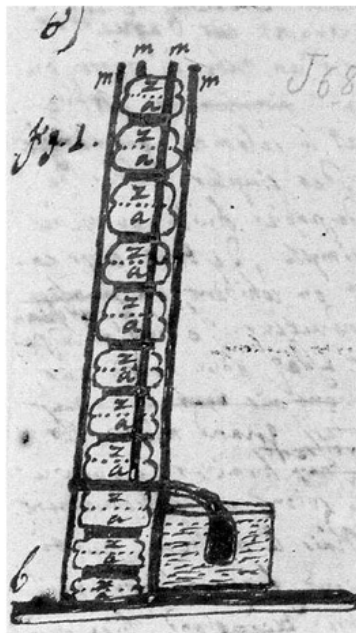
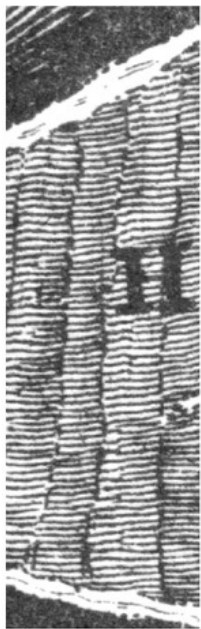
Dopo una fase iniziale di adesione per gli studi di Galvani, Volta avversò l'ipotesi dell'esistenza di una elettricità animale, ma piuttosto elaborò una teoria a favore di segnali elettrici negli animali unicamente indotti dagli archi bimetallici





Volta suggerisce l'origine elettrolitica della corrente elettrica da metalli diversi (1792)

1. La struttura atomica di un metallo è composta da un reticolo di protoni (+) ed *elettroni* (-) che orbitano intorno ad essi;
2. Il *potenziale di estrazione* è l'energia minima che si deve fornire ad un metallo per estrarre un elettrone per unità carica;
3. Il *lavoro di estrazione* è una proprietà tipica dei metalli e rappresenta l'energia minima necessaria per estrarre un elettrone dal metallo;
4. Quando due metalli diversi entrano in contatto, tra essi si genera una *differenza di potenziale* (DV) che è pari alla differenza cambiata di segno tra i loro lavori di estrazione (*effetto Volta*);
5. A causa dell'effetto Volta si genera una DV che fa sì che alcuni elettroni liberi dal metallo che possiede il lavoro di estrazione minore passino al metallo con lavoro di estrazione maggiore;
6. Quest'ultimo acquista una carica negativa, mentre il metallo che ha ceduto l'elettrone si carica positivamente;
7. All'equilibrio: il metallo che ha ceduto l'elettrone avrà un potenziale superiore a quello che lo ha ricevuto



Sulla base di queste caratteristiche Volta inventa la pila (1800)

e le dà il nome di *"organo elettrico animale"*: simile in fondo, come io farò vedere e persino per come io l'ho costruita, nella forma all'organo elettrico naturale della torpedine, e all'anguilla tremante, eccetera (20 Marzo 1800)



Dischi impilati (**elettrociti**) dell'organo elettrico della torpedine circondati dai liquidi extracellulari

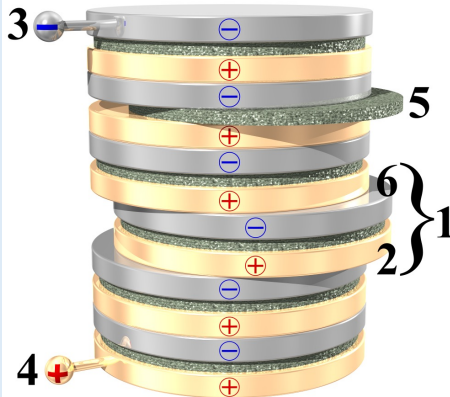


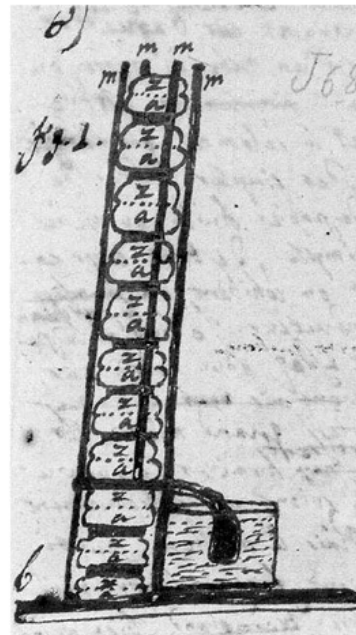
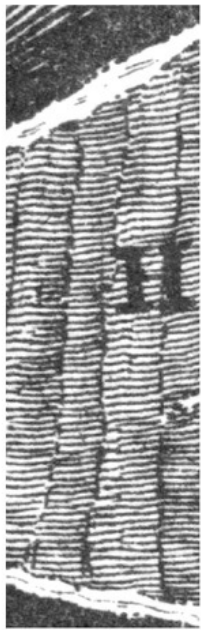
Alternanza di dischi di due metalli differenti (**rame e stagno, argento e zinco**), con interposti dischi umidi



Volta pensò che lo strumento da lui costruito operasse sulle stesse basi fisiche (il contatto tra materiali conduttivi senza interposizione di materiali isolanti) dell'organo elettrico dei pesci e aiutasse a spiegare il mistero di come la natura può produrre una forte elettricità in tessuti costituiti, come lui pensava, solo di materiali conduttivi

*Metalli dissimili agiscono come motori di elettricità, producendo e mantenendo uno squilibrio elettrico artificiale. **Teoria del contatto**, si ordinano i metalli secondo una scala basata sulla tendenza di ogni metallo a dare o a prendere elettricità allorché messo a contatto con un metallo diverso.*





Sulla base di queste caratteristiche Volta inventa la pila (1800)

e le dà il nome di *"organo elettrico animale"*: simile in fondo, come io farò vedere e persino per come io l'ho costruita, nella forma all'organo elettrico naturale della torpedine, e all'anguilla tremante, eccetera (20 Marzo 1800)



Dischi impilati (**elettrociti**) dell'organo elettrico della torpedine circondati dai liquidi extracellulari

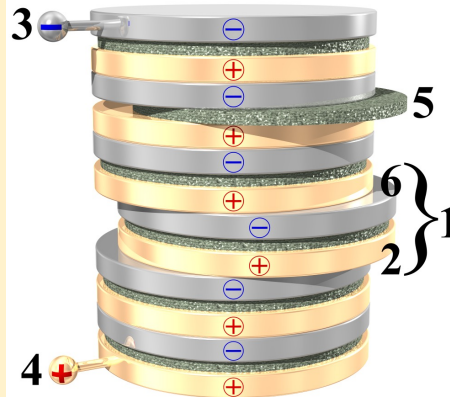


Alternanza di dischi di due metalli differenti (**rame e stagno, argento e zinco**), con interposti dischi umidi



Volta pensò che lo strumento da lui costruito operasse sulle stesse basi fisiche (il contatto tra materiali conduttivi senza interposizione di materiali isolanti) dell'organo elettrico dei pesci e aiutasse a spiegare il mistero di come la natura può produrre una forte elettricità in tessuti costituiti, come lui pensava, solo di materiali conduttivi

*Se i due metalli vengono posti non direttamente a contatto tra loro, ma intervallati da soluzioni elettrolitiche (saline o acide) e si crea una serie di queste posizioni, si genera tra il primo metallo della serie e l'ultimo una tensione continua capace di generare una corrente elettrica continua: è **la pila di Volta***



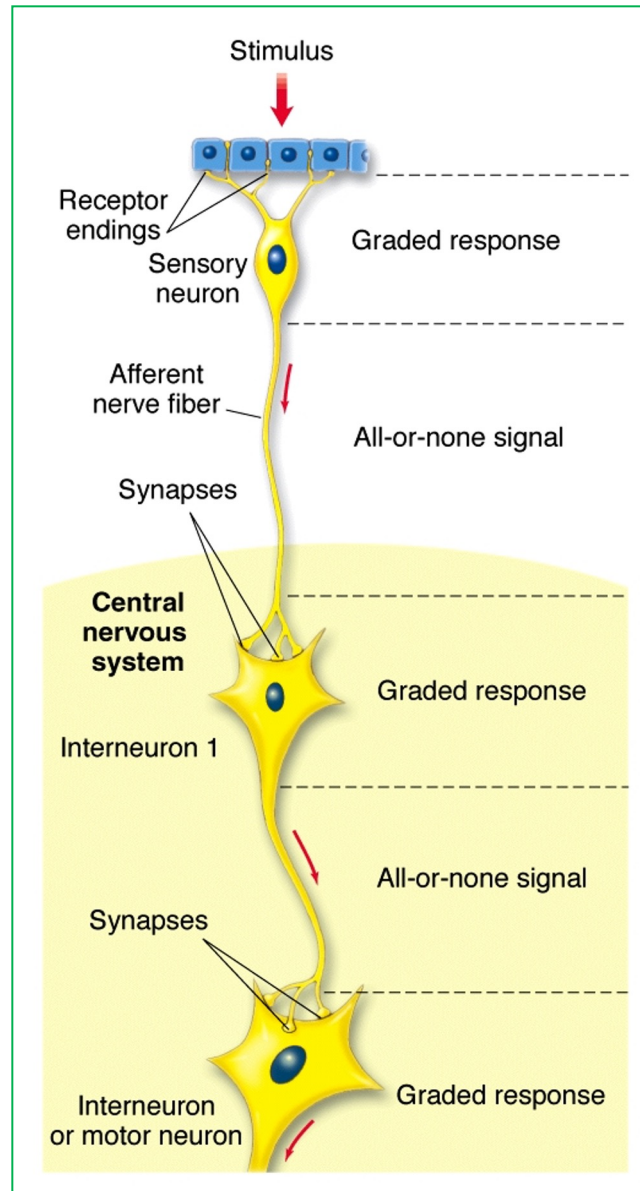
Volta elettrofisiologo...

Oltre ad essere elettricista, Volta fu anche un valente elettrofisiologo, sebbene questo suo contributo non fù molto riconosciuto.

Egli stesso ebbe a lamentarsi del fatto che, a fronte dei riconoscimenti per l'invenzione della pila, poco conto veniva dato per gli altri suoi studi di natura elettrofisiologica.

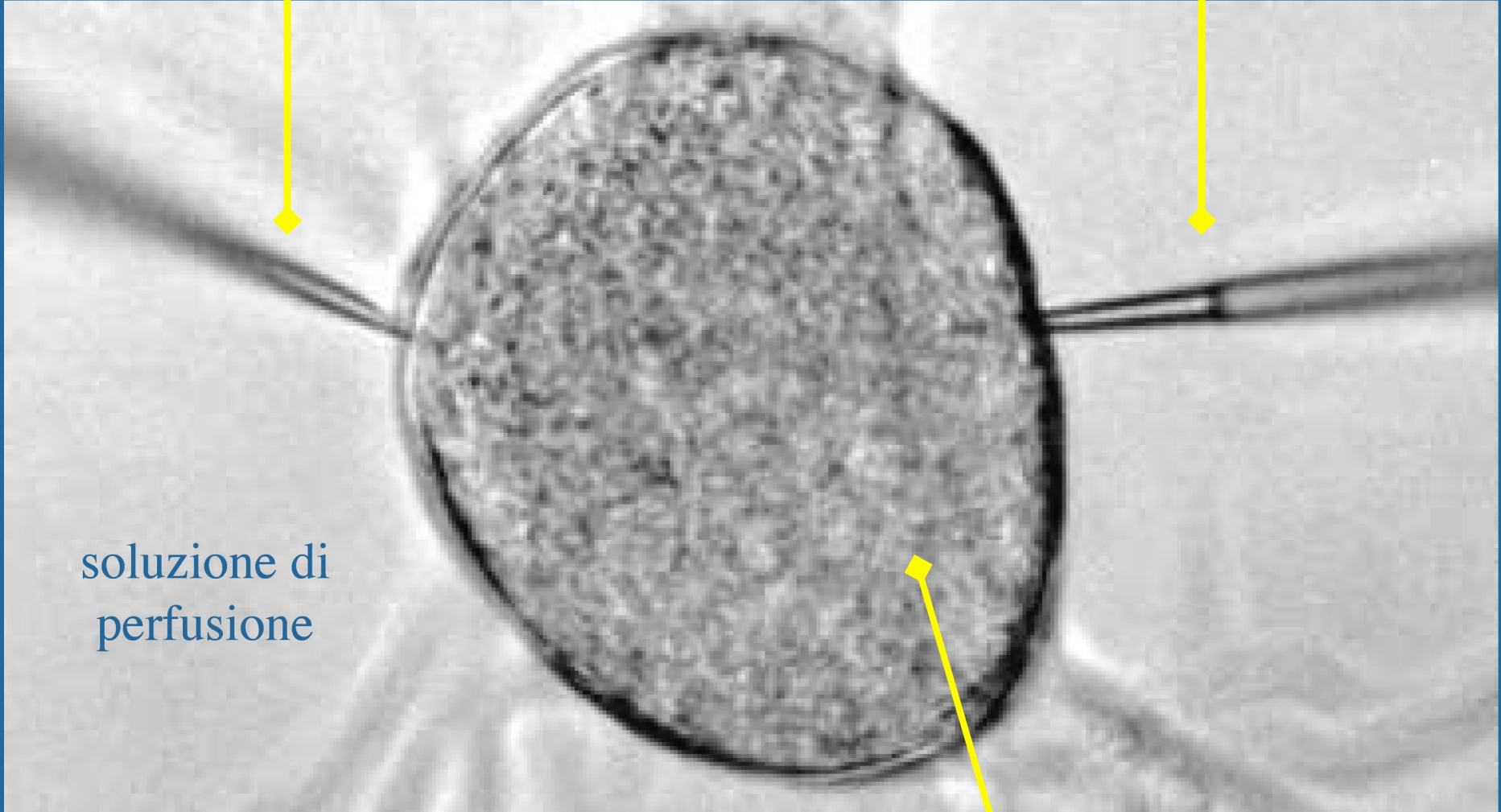
Faceva riferimento agli esperimenti sulle sensazioni di gusto indotti da metalli sulla lingua, sulla stimolazione del nervo acustico e del nervo olfattivo.

Propagazione dell'informazione lungo un circuito nervoso



microelettrodo 1

microelettrodo 2



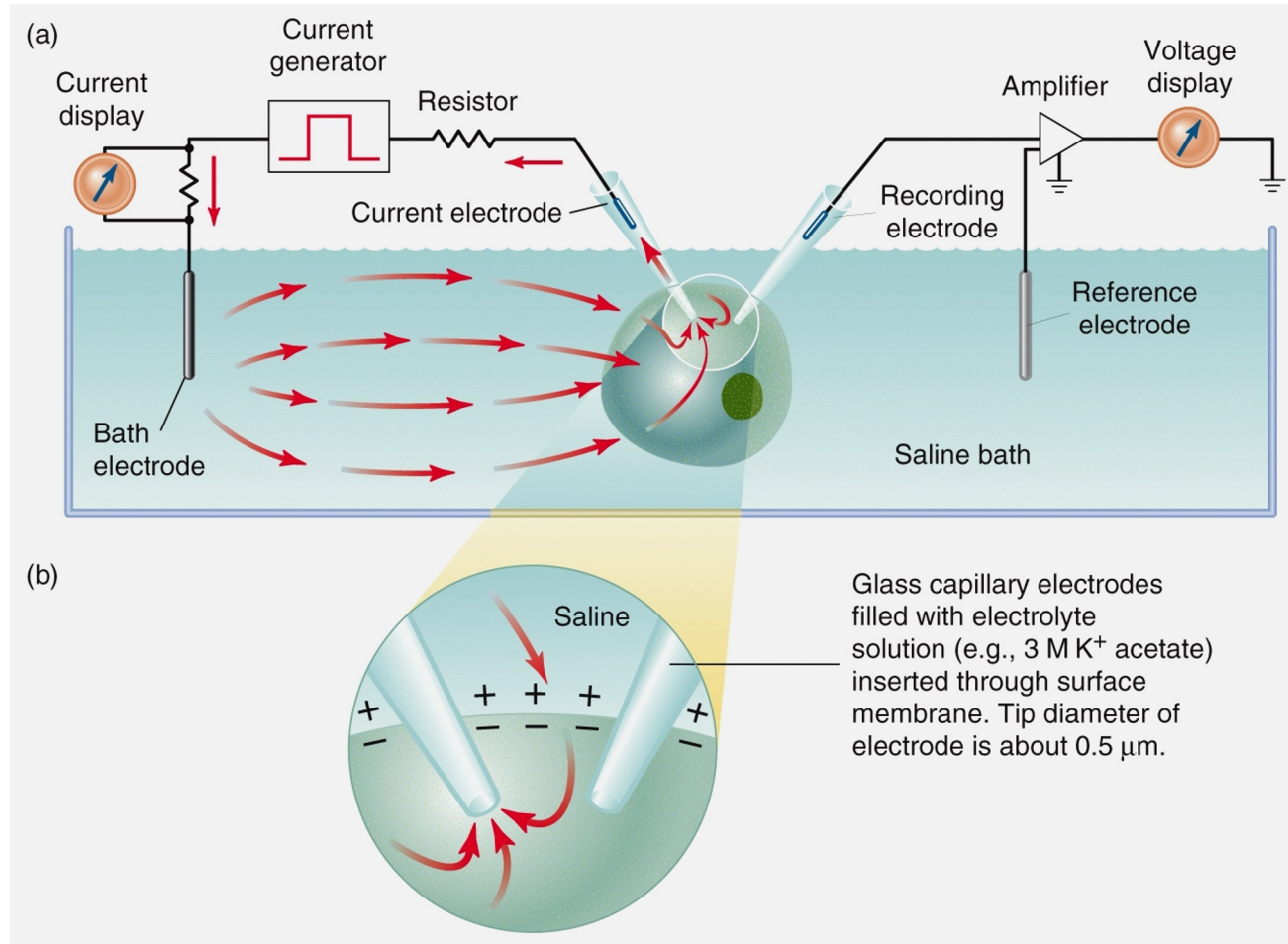
soluzione di
perfusione

Studio delle proprietà elettriche
della membrana

cellula

Proprietà elettriche passive della membrana: un esperimento in *current-clamp*

1. Brevi impulsi di corrente ripetuti
2. Elettrodo erogatore di corrente fornisce una corrente che può fluire attraverso la membrana sia in entrata che in uscita dal citosol
3. La corrente che fluisce in soluzione è data dal movimento di ioni
4. Per convenzione: la corrente fluisce da una regione di relativa positività ad una di relativa negatività
5. La corrente corrisponde alla migrazione dei cationi



Si inietta, o si sottrae, una corrente di intensità nota nella cellula e si misura la conseguente variazione del potenziale di membrana V_m

Relazione lineare Corrente - Voltaggio

Ohm's Law



Georg Ohm

$$V_{ab} = - \int_b^a \vec{E} \cdot d\vec{l} = \int_a^b \vec{E} \cdot d\vec{l}$$

\vec{E} is constant and parallel to $d\vec{l}$ along l

$$V_{ab} = El_{ab} \rightarrow V = El$$

$$I = \iint_S \vec{j} \cdot d\vec{S}$$

\vec{j} is constant and parallel to $d\vec{S}$ on S

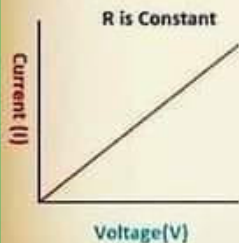
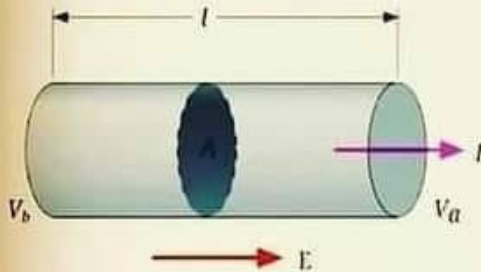
$$I = JS$$

$$R = \frac{l}{\sigma S} \rightarrow R = \frac{V J}{I \sigma E}$$

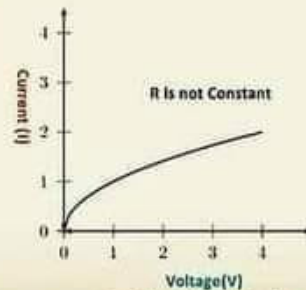
$$\vec{j} = \sigma \vec{E} \rightarrow J = \sigma E$$

$$R = \frac{V J}{I J} \rightarrow R = \frac{V}{I}$$

$$V = RI$$



Ohmic Devices Graph

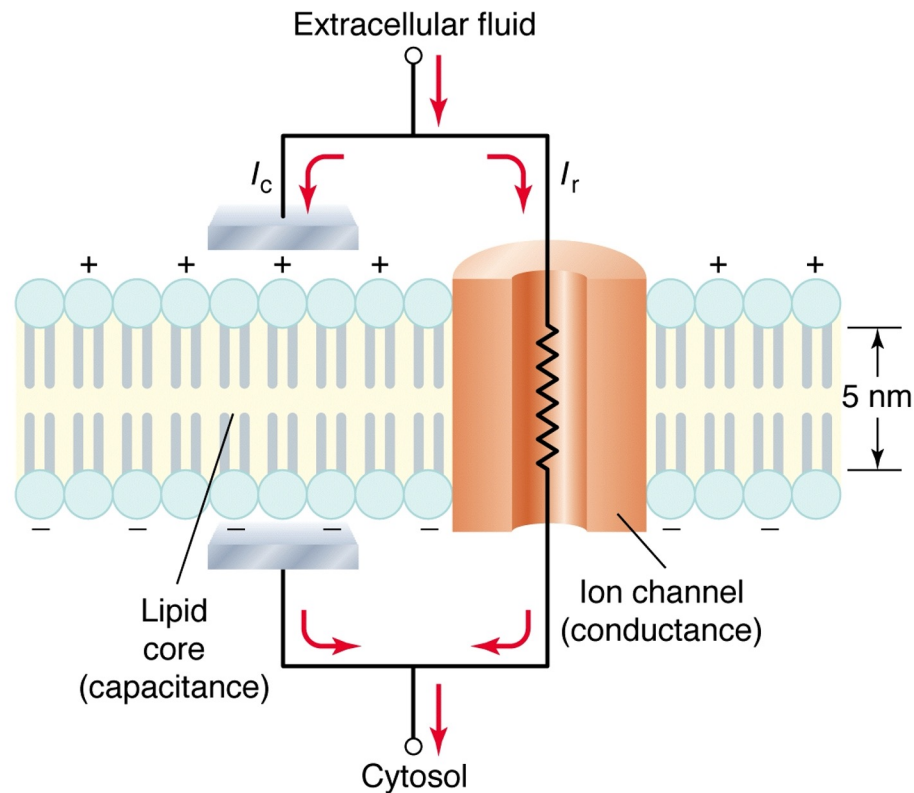


Non-Ohmic Devices Graph

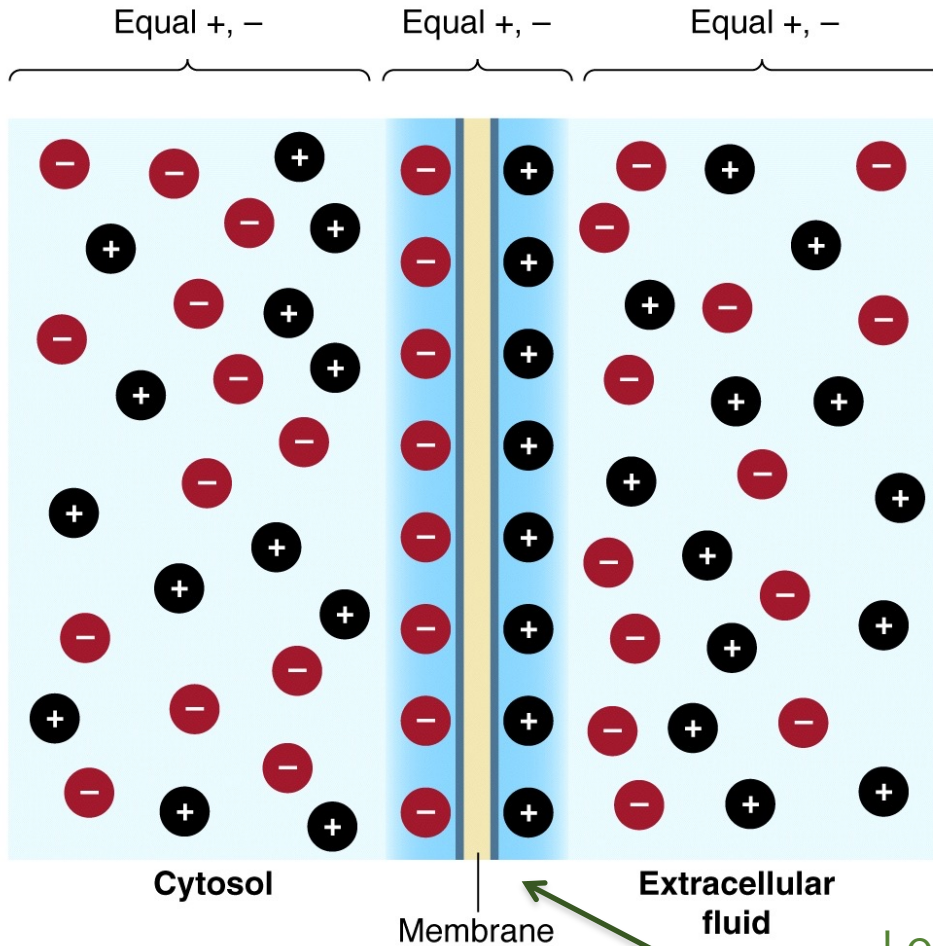
- V*: voltage
- R*: resistance
- E*: electric field
- l*: conductor's length
- I*: current
- j*: current density
- S*: conductor's cross section
- σ : conductivity

Capacità e conduttanza sono alla base delle proprietà elettriche passive delle membrane

$$\text{Legge di Ohm: } \Delta V_m = \Delta I \times R$$



Capacità e conduttanza sono alla base delle proprietà elettriche passive delle membrane



Capacità elettrica di una membrana cellulare:

$1 \mu\text{F}/\text{cm}_2$ (farad = coulomb/volt)

Dipende dalla distanza (5nm) e dalla costante dielettrica (3, per un acido grasso a 18 atomi di carbonio)

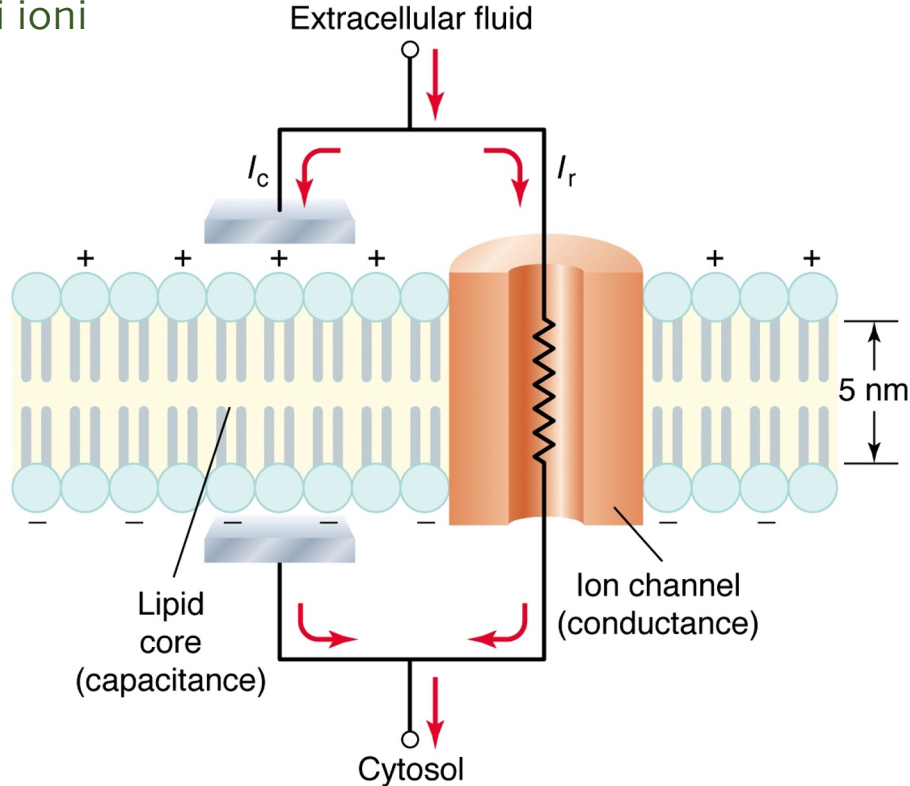
Lo spostamento di carica ai due lati della membrana prende il nome di "corrente capacitiva"

La membrana cellulare agisce come un condensatore

Capacità e conduttanza sono alla base delle proprietà elettriche passive delle membrane

$$\text{Legge di Ohm: } \Delta V_m = \Delta I \times R$$

Resistenza (R): misura dell'impermeabilità della membrana agli ioni



Conduttanza (g): misura della permeabilità della membrana agli ioni

$$g = 1 / R \text{ (siemens)}$$

$$\Delta V_m = \Delta I / g$$

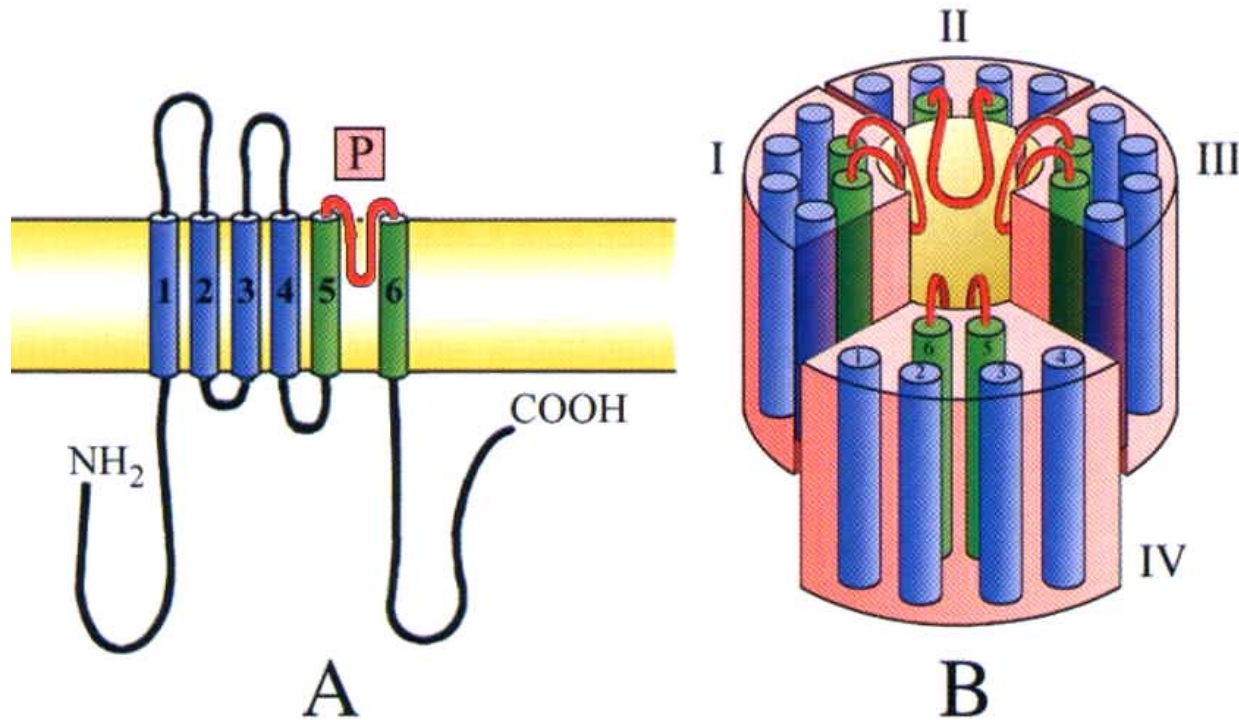
Per una data specie ionica:

$$\Delta V_m = fem_x = (V_m - E_x)$$

$$fem_x = I_x / g_x$$

$$I_x = g_x \times fem_x$$

Struttura di base di un canale ionico



Classi di canali:

- ✓ Passivi: si aprono spontaneamente e sono quasi sempre aperti
- ✓ Ligando-dipendenti
- ✓ Voltaggio-dipendenti
- ✓ Dipendenti dallo stiramento
- ✓ Dipendenti da secondi messaggeri

Come si è compresa la struttura e il meccanismo d'azione dei canali ionici?

Fino al 1998:

con tecniche di biochimica: purificazione da un tessuto che li contenesse in maniera abbondante, determinazione della sequenza amminoacidica (questo permette di disegnare un grafico di idropatia e ipotizzare la loro conformazione)

Con tecniche di biologia molecolare: isolamento del gene sotto forma di DNA complementare (cDNA) all'RNA messaggero. Trasfezione del cDNA in linee cellulari

Dal 1998:

Cristallografia con risoluzione atomica: ottenuta per la prima volta da R. MacKinnon per un canale del K^+ batterico

