

IL POTENZIALE DI MEMBRANA

La presenza di una differenza di potenziale elettrico tra i due lati della membrana plasmatica (il *potenziale di membrana*) è una caratteristica costante che si ritrova in tutte le cellule ed è una manifestazione intimamente legata alla loro attività vitale. E' infatti noto da lungo tempo che la morte di una cellula o anche semplicemente l'arresto del suo metabolismo, quale si può ottenere ad esempio con i veleni della respirazione cellulare, sono seguiti da un graduale decadimento del potenziale di membrana, che tende ad estinguersi.

Il potenziale di membrana è essenziale per tutte le funzioni cellulari, ed in particolare per gli *scambi materiali* con l'ambiente esterno; esso infatti non solo condiziona direttamente il passaggio attraverso la membrana cellulare di tutte le particelle che possiedono una carica elettrica (ioni inorganici ed organici) ma anche, in via meno diretta, interferisce con tutti i processi di trasporto delle sostanze nutritive e dei metaboliti.

Il potenziale di membrana ha valori differenti in cellule diverse (Tab. 5.1), ma nella maggior parte dei casi è compreso tra -50 e -100 mV; si tratta di un'energia potenziale tutt'altro che trascurabile (*) se si pensa che, attribuendo alla membrana di una cellula la superficie media di $1000 \mu^2$ ed all'intero organismo umano un contenuto di circa 10^{13} cellule, la carica elettrica che si trova accumulata nelle membrane cellulari (considerate idealmente come un unico condensatore) con una differenza di

potenziale di 80 mV è di 8 *Coulomb*, che significa una *rilevantissima quantità di energia elettrostatica*. E' anche interessante considerare che, essendo lo spessore della membrana plasmatica di soli 70 Å, il campo elettrico presente nel suo spessore è dell'ordine di 100 KV/cm : un valore che indica quanto siano elevate le forze elettrostatiche che agiscono all'interno di una membrana cellulare.

Misura del potenziale di membrana - Il potenziale di membrana può essere misurato (Fig. 5.1) introducendo all'interno della cellula un *microelettrodo* costituito da una sottile pipetta di vetro (tirata al calore in modo da raggiungere in punta un diametro di circa 1μ), riempita con una soluzione di elevata conduttività, ad esempio *KCl 3M*. La differenza di potenziale presente tra i due lati della membrana plasmatica viene raccolta mediante due elettrodi "impolarizzabili", solitamente di *Argento clorurato (Ag-AgCl)*, immersi rispettivamente nella soluzione che riempie il microelettrodo e nel liquido fisiologico che bagna l'esterno della cellula.

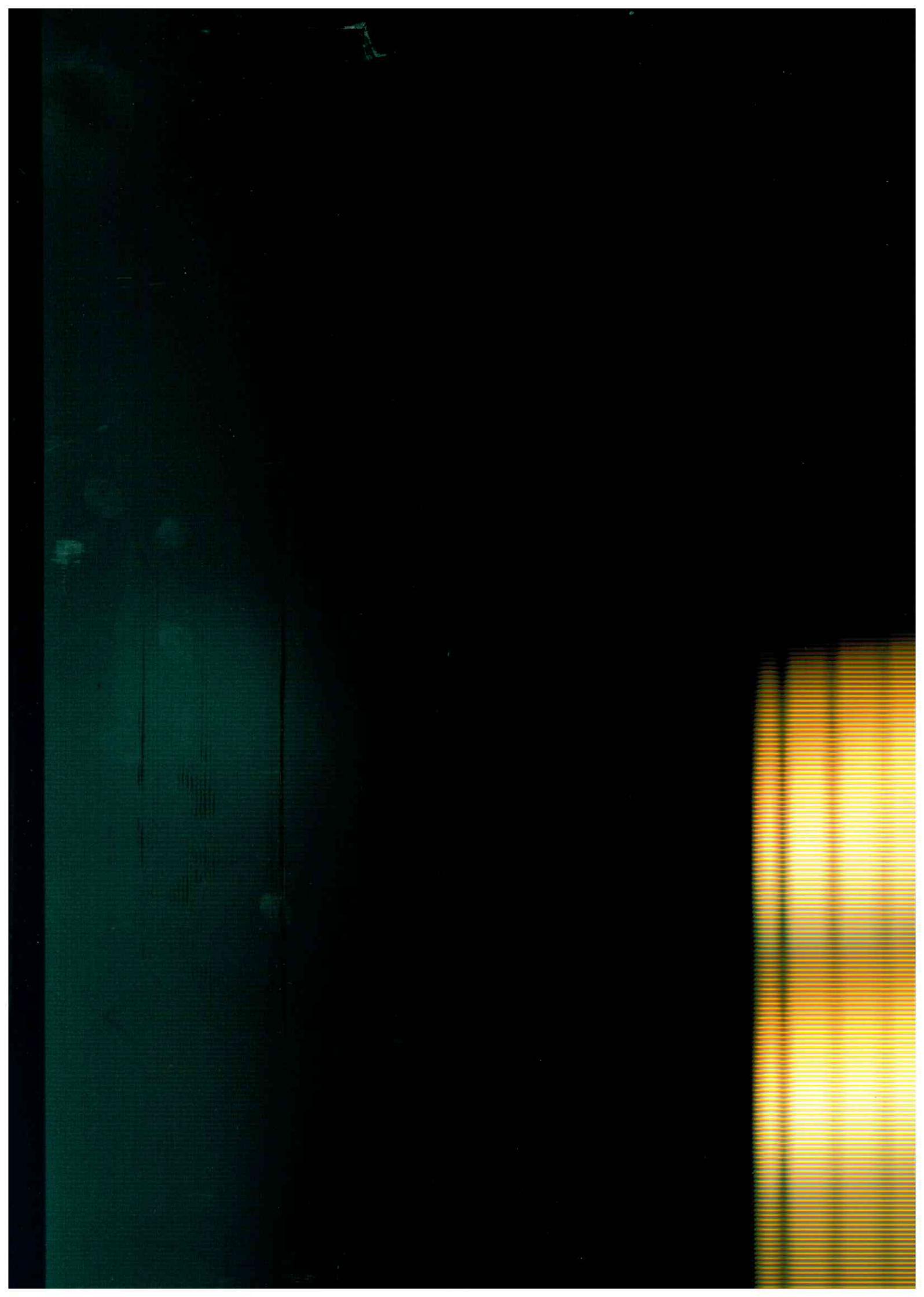
E' richiesto l'impiego di uno strumento idoneo a rivelare differenze di potenziale, con una sensibilità nell'ordine dei *mV* (perciò detto *millivoltmetro*) e dotato di una *resistenza interna molto elevata* (almeno 100 volte maggiore di quella del microelettrodo) così da rendere la misura "*elettrometrica*", tale cioè che la corrente che scorre nel circuito (quindi attraverso la membrana della cellula) sia trascurabile. La relativa fluidità della membrana plasmatica e la sua prevalente costituzione lipidica fanno sì che essa *aderisca strettamente* alle pareti del microelettrodo che la perfora, formando una "*saldatura*" che impedisce sia l'uscita di contenuto cellulare, sia la fuga di corrente.

Condizioni particolarmente agevoli per la misura e lo studio del potenziale di membrana si presentano in elementi cellulari di grandi dimensioni, comuni in molte specie di Invertebrati; tra questi hanno un interesse storico, per l'importanza che

Tab. 5.1 - Potenziali di membrana in vari tipi di cellule. Il segno "-" indica, per convenzione, la negatività del versante citoplasmatico della membrana.

Cellula	Pot. di m. (mV)
Assone gigante (Calamaro)	- 70
Fibra muscolare (Rana)	- 90
Globulo rosso (Uomo)	- 10
Neurone (Gatto)	- 80
Uovo (Riccio di mare)	- 40

(*) circa 1/20 della ddp (1.5 V) delle comuni batterie che alimentano ad esempio gli orologi da polso.



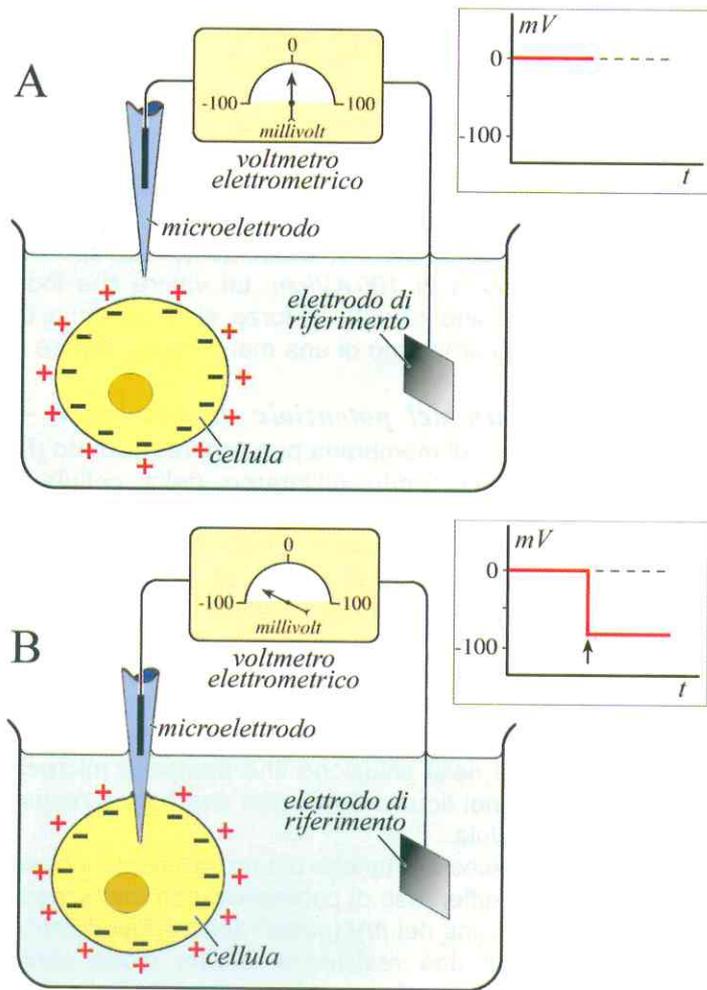


Fig. 5.1 - Misura del potenziale di membrana mediante microelettrodo. A: il millivoltmetro non rivela alcuna differenza di potenziale tra l'elettrodo di riferimento e la punta del microelettrodo quando questa pesca liberamente nel bagno. B: non appena il microelettrodo perfora la membrana cellulare, il millivoltmetro misura il potenziale di membrana.

hanno avuto nello sviluppo della moderna elettrofisiologia, le *fibre nervose giganti* dei *Cefalopodi* (es. calamaro, seppia). Si tratta di fibre nervose (o "assoni", Vol. III) il cui diametro raggiunge anche 1 mm e la lunghezza parecchi cm, ognuno dei quali origina dalla fusione sinciziale dei neuriti di molte cellule nervose. Data la loro dimensione, in questi assoni giganti non è necessario l'uso del microelettrodo, essendo possibile introdurvi direttamente un elettrodo filiforme di Ag-AgCl. Da un assone gigante è anche possibile prelevare campioni del mezzo intracellulare (*assoplasma*) e determinarne il contenuto ionico, oppure sostituire l'assoplasma con soluzioni fisiologiche a variato contenuto ionico.

Aspetti teorici

Il potenziale di membrana origina:

a) dall'*inequale distribuzione degli ioni inorganici* (in particolare degli ioni Na^+ e K^+ , che hanno un ruolo preminente sugli altri ioni) tra il mezzo intracellulare ed extracellulare. Spinti dal proprio gradiente di concentrazione, questi ioni sono costretti a muoversi attraverso la membrana passando nei canali ionici che vi siano disponibili;

b) dalla *dotazione in canali ionici* che determina la *permeabilità selettiva* della membrana. Si ricor-

derà i
senti
è per
sola,
Ne vi
perm
de un
fici.

Pe
gene
differ
poter
prem

II
5.2)
rispe
pari
cellu
le du
prese
sano
quinc
 Na^+

N
ni ch
bran
che
num
caric
di po
S
no r
dien
pass
appo
essi
to a
renz
bran
un
son
com
mer

(*) I
una
trone

derà infatti che nelle membrane cellulari sono presenti diversi tipi di canali ionici, ciascuno dei quali è permeabile solo ad alcune, e spesso ad una sola, delle specie ioniche presenti in soluzione. Ne viene che ogni membrana cellulare avrà una permeabilità selettiva per quegli ioni di cui possiede un'abbondante dotazione di canali ionici specifici.

Per comprendere come da questi due fattori si generi, a cavallo della membrana cellulare, una differenza di potenziale stazionaria quale è il potenziale di membrana, sono necessarie alcune premesse.

Il potenziale d'equilibrio – Si immagini (Fig. 5.2) che due compartimenti (1 e 2) contengano rispettivamente una soluzione di KCl e di NaCl di pari concentrazione. Per avvicinare il modello alla cellula, si immagini che la membrana che separa le due soluzioni debba la sua permeabilità solo alla presenza di canali ionici selettivi per il K^+ , che possano passare dallo stato chiuso allo stato aperto; quindi che la membrana sia impermeabile sia al Na^+ che al Cl^- .

Nella condizione iniziale (Fig. 5.2/A), s'immagini che i canali al K^+ siano chiusi. Poiché la membrana è di fatto impermeabile a tutte le specie ioniche presenti ed in ambedue i compartimenti il numero di cariche positive bilancia il numero di cariche negative (*), non vi sarà alcuna differenza di potenziale elettrico a cavallo della membrana.

S'immagini ora che i canali selettivi al K^+ passino nello stato aperto (Fig. 5.2/B). Spinti dal gradiente di concentrazione, gli ioni K^+ inizieranno a passare dal compartimento-1 al compartimento-2; apportandovi cariche positive in eccesso, tuttavia, essi renderanno il compartimento-2 *positivo* rispetto al compartimento-1, cioè creeranno una *differenza di potenziale* elettrico a cavallo della membrana. Questa differenza di potenziale equivale ad un *gradiente elettrico* che spinge gli ioni K^+ che sono passati nel compartimento-2 a *ritornare* nel compartimento-1, quindi a muoversi attraverso la membrana in direzione opposta a quella voluta dal

(*) L'uguaglianza del numero di cariche di segno opposto in una soluzione elettrolitica va sotto il nome di *legge dell'elettro-neutralità* delle soluzioni.

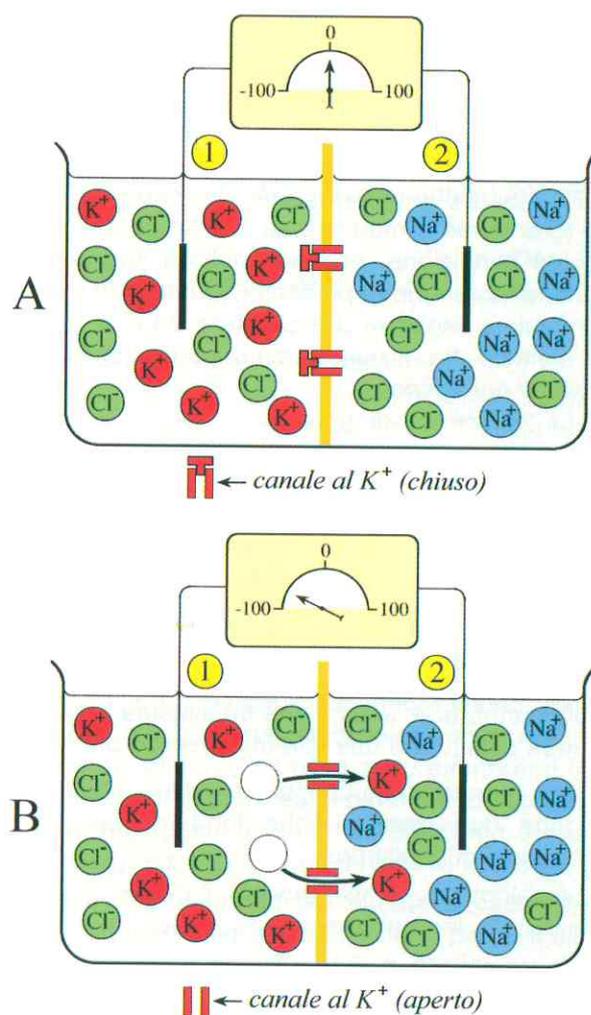


Fig. 5.2 – Una membrana immaginaria che contiene esclusivamente canali ionici selettivi per il K^+ separa due soluzioni di KCl (compartimento-1) e di NaCl (compartimento-2). A: nella condizione iniziale, nella quale si immagina che i canali del K^+ siano tutti chiusi, la differenza di potenziale tra 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 .

gradiente di concentrazione.

Poiché la differenza di potenziale a cavallo della membrana aumenta mano a mano che gli ioni K^+ passano nel compartimento-2, è evidente

che il flusso netto degli ioni K^+ , in uscita dal compartimento-1 secondo il gradiente di concentrazione, sarà progressivamente *frenato*. E' facile prevedere che il sistema raggiungerà una condizione di *equilibrio elettrochimico* quando il *gradiente elettrico* (che tende a muovere gli ioni K^+ da 2 ad 1) bilancerà esattamente il *gradiente di concentrazione* (che tende a muovere gli ioni K^+ da 1 a 2). In questa condizione, essendo nullo il flusso netto transmembranario di particelle cariche, sia le concentrazioni degli ioni che la differenza di potenziale elettrico tra i due compartimenti resteranno *costanti* nel tempo.

La differenza di potenziale che si stabilisce all'equilibrio elettrochimico tra due soluzioni elettrolitiche separate da una membrana selettivamente permeabile ad una sola delle specie ioniche presenti (i), viene detta *potenziale d'equilibrio* dello ione permeante (E_i). Poiché tale differenza di potenziale non dipende dal valore assoluto, ma solo dalla *differenza* delle concentrazioni che lo ione permeante assume all'equilibrio ai due lati della membrana, si dice che un sistema di questo genere costituisce una *pila di concentrazione*.

Da quanto detto, possono essere facilmente dedotte due caratteristiche fondamentali di un potenziale di equilibrio:

a) esso è *stabile nel tempo*. Infatti, essendo nullo il flusso netto dello ione permeante attraverso la membrana, non vi è decadimento temporale del suo gradiente di concentrazione, "primum movens" del potenziale d'equilibrio;

b) il suo valore è *indipendente dal grado di permeabilità* della membrana per lo ione, purchè essa non sia nulla. Una maggiore o minore permeabilità membranale inciderà infatti sul *tempo* necessario per raggiungere l'equilibrio, ma non sulla differenza di potenziale che si stabilirà a cavallo della membrana una volta che l'equilibrio sia stato raggiunto.

L'equazione di Nernst – Per calcolare quale valore assumerà la differenza di potenziale ($V_1 - V_2 = E_i$) a cavallo di una membrana esclusivamente permeabile al generico ione i quando esso si trovi alle concentrazioni $[i]_1$ ed $[i]_2$ ai suoi due lati ed

abbia raggiunto l'equilibrio elettrochimico, si possono fare semplici considerazioni di tipo energetico (*).

Poichè si tratta di un equilibrio termodinamico in cui si bilanciano, attraverso la membrana, due flussi unidirezionali dello ione i di uguale intensità e di opposta direzione, mossi rispettivamente dal gradiente di concentrazione e dal gradiente di potenziale elettrico, il lavoro che viene speso per trasferire una Mole dello ione contro il gradiente elettrico (W_e) sarà uguale al lavoro (W_c) speso per trasferire la Mole, in senso opposto, contro il gradiente di concentrazione (2*). Perciò:

$$W_e = W_c$$

Per la definizione di potenziale elettrico, il lavoro W_e necessario a muovere una Mole di ioni permeanti dal compartimento-1 al compartimento-2 (contro il gradiente di potenziale elettrico) sarà:

$$W_e = z_i F E_i$$

ove z_i è la valenza dello ione, F la costante di Faraday (96.500 Coulomb/Mole) ed E_i il potenziale d'equilibrio dello ione permeante, misurato in Volt ed espresso come differenza di potenziale elettrico del compartimento-1 rispetto al compartimento-2.

Invece il lavoro W_c necessario a muovere una mole di ioni permeanti dal compartimento-2 al compartimento-1 (contro il gradiente di concentrazione) sarà:

$$W_c = RT \ln \frac{[i]_2}{[i]_1}$$

ove R è la costante dei gas (8.314 Joule gradi⁻¹ M⁻¹),

(*) Il problema potrebbe essere subito risolto per via analitica partendo dall'equazione di Nernst-Planck (pag. 10) ed imponendo che il flusso netto F_i dello ione i sia nullo.

(2*) In altre parole: l'energia potenziale che spinge lo ione i ad attraversare la membrana per effetto del gradiente elettrico ($-W_e$) dev'essere esattamente uguale all'energia potenziale che spinge lo ione ad attraversare la membrana in opposta direzione per effetto del gradiente di concentrazione ($-W_c$).

T la temperatura assoluta, $[i]_1$ ed $[i]_2$ le concentrazioni (*) dello ione i ai due lati della membrana (2*).

All'equilibrio, essendo $W_e = W_c$, si avrà:

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

e quindi:

$$E_i = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{[i]_2}{[i]_1} \quad (1)$$

dalla quale segue immediatamente che tra $[i]_1$ ed $[i]_2$ sussiste, nella condizione di equilibrio, la seguente relazione:

$$[i]_2 = [i]_1 e^{\frac{z_i F}{RT} E_i} \quad (2)$$

La (1) è l'equazione di Nernst delle "pile di concentrazione", la quale esprime in forma analitica il concetto che, al potenziale di equilibrio, il flusso netto transmembranario di uno ione diffusibile è nullo.

La (2) è invece la distribuzione di Boltzman dello ione diffusibile nei due compartimenti, la quale esprime in forma analitica il concetto che la proba-

(*) Si dovrebbero in realtà considerare le attività dello ione nei due compartimenti piuttosto che le sue concentrazioni. L'approssimazione è valida nella misura in cui le attività dello ione permeante sono uguali nei due compartimenti, il che si verifica generalmente (ma non per tutti gli ioni, ad esempio per il Ca^{2+}).

(2*) Infatti in condizioni ideali, immaginando di usare un diaframma permeabile alle molecole d'acqua ed alle altre particelle disciolte tranne che allo ione i , il lavoro necessario per trasferire una Mole di soluto da una soluzione avente concentrazione $[i]_2$ ad una avente la concentrazione $[i]_1$ (n volte maggiore) è uguale al lavoro necessario per comprimere, lentamente e isotermicamente, un volume v_2 , contenente una Mole di gas ideale, fino al volume v_1 (n volte minore). Questo lavoro (W_c) sarà:

$$W_c = \int_{v_2}^{v_1} p \cdot dv = RT \int_{v_2}^{v_1} \frac{dv}{v} = RT (\ln v_1 - \ln v_2)$$

ed essendo la "concentrazione" C del gas inversamente proporzionale al volume in cui esso è contenuto, si avrà:

$$W_c = RT (\ln C_2 - \ln C_1)$$

bilità dello ione di trovarsi nell'uno o nell'altro compartimento è funzione esponenziale della differenza di potenziale elettrico.

Attribuendo alle diverse costanti che compaiono nell'equazione di Nernst il loro valore numerico e trasformando i logaritmi naturali in decimali, si ha per un catione monovalente come ad esempio il K^+ , a $18^\circ C$:

$$E_i = 0.058 \text{ Log} \frac{[i]_2}{[i]_1}$$

Ne viene che, a $18^\circ C$, la differenza di potenziale varia di 0,058 Volt (58 mV) quando il rapporto tra le concentrazioni del catione diffusibile ai lati della membrana varia di 10 volte.

Per un approfondimento sull'equazione di Nernst, si rimanda all'Appendice N° 1 (pag. 139).

L'equilibrio di Donnan — L'esempio di potenziale di equilibrio della Fig. 5.2 si riferisce al caso teorico di una membrana permeabile ad uno solo degli ioni presenti e totalmente impermeabile a tutti gli altri. Questa condizione non si realizza facilmente, almeno nel caso delle membrane biologiche, che in genere sono più o meno permeabili a diverse specie ioniche. Caratteristica comune alle membrane biologiche è invece la loro completa impermeabilità alle proteine, le cui molecole si trovano in elevata concentrazione nel citoplasma, dissociate come anioni (Pr^-), a fronte di cationi (prevalentemente K^+); ciò significa che le membrane biologiche sono di fatto impermeabili ad una sola delle specie ioniche presenti.

La condizione di una membrana che separi due soluzioni contenenti ioni permeanti in presenza di particelle colloidali dissociate ionicamente e non permeanti, quale è il caso degli anioni proteici Pr^- , è stata studiata dal chimico-fisico Frederick Donnan e da lui prende il nome di equilibrio di Donnan. Anche in questo caso, è facile dimostrare come si possa generare un potenziale di equilibrio (*).

Si immagini (Fig. 5.3) un recipiente diviso da

(*) Il potenziale di membrana è stato a lungo ritenuto conseguenza dell'instaurarsi di un equilibrio di Donnan, ma l'ipotesi si è rivelata infondata.

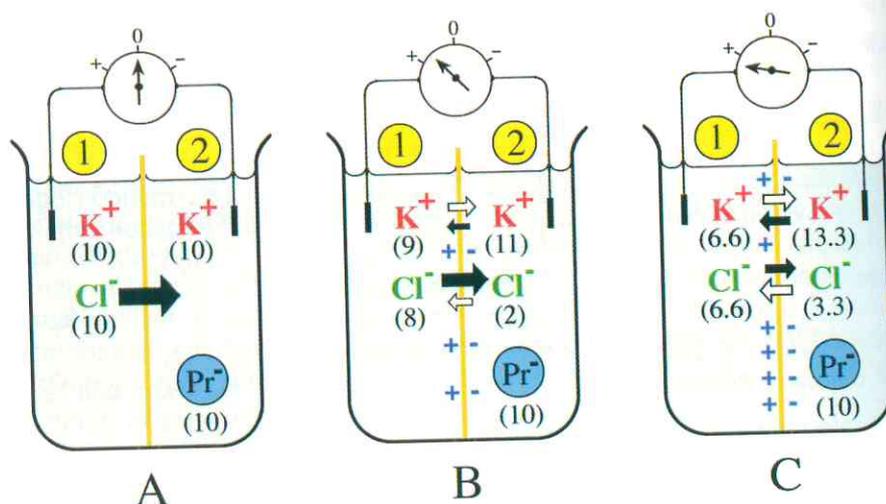


Fig. 5.3 - Esempio di equilibrio di Donnan a cavallo di una membrana provvista di canali permeabili agli ioni inorganici, ma impermeabili alle proteine. Le frecce nere indicano flussi secondo gradiente di concentrazione, quelle bianche indicano flussi secondo gradiente elettrico.

una membrana in due compartimenti (1 e 2) che contengano rispettivamente una soluzione di KCl ed una di *proteinato di K+* (KPr) in concentrazioni inizialmente equimolari (10 mM); si immagini inoltre che la membrana sia permeabile al K⁺ ed al Cl⁻ ma non ai Pr⁻. Per raggiungere l'equilibrio: a) gli ioni Cl⁻ diffonderanno da 1 a 2 secondo gradiente di concentrazione, ma così facendo creeranno un gradiente elettrico che li spinge in direzione opposta; b) il gradiente elettrico creato dalla diffusione degli ioni Cl⁻ richiamerà ioni K⁺ da 1 a 2, ma così facendo essi creeranno un gradiente di concentrazione che li spinge in direzione opposta.

Quando i flussi unidirezionali contrapposti saranno di uguale intensità sia per l'uno che per l'altro dei due ioni diffusibili, il flusso netto transmembranario diverrà nullo sia per il K⁺ che per il Cl⁻, e la differenza di potenziale a cavallo della membrana (V_m) sarà pari al potenziale di equilibrio dei due ioni ($E_K = E_{Cl}$) previsto dall'equazione di Nernst per la differenza di concentrazione che essi avranno nei due compartimenti:

$$V_m = E_K = E_{Cl} = \frac{RT}{z_K F} \ln \frac{[K^+]_1}{[K^+]_2} = \frac{RT}{z_{Cl} F} \ln \frac{[Cl^-]_1}{[Cl^-]_2}$$

Essendo $z_K = 1$ e $z_{Cl} = -1$, ne deriva che:

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

e cioè

$$[K^+]_1 [Cl^-]_1 = [K^+]_2 [Cl^-]_2 \quad (4)$$

relazione che va sotto il nome di equazione di Donnan.

Dall'esistenza di un equilibrio di Donnan a cavallo di una membrana derivano due conseguenze di notevole importanza:

1) poichè, per il principio della elettroneutralità delle soluzioni, in una soluzione il numero totale degli ioni positivi è uguale al numero totale degli ioni negativi, sia la soluzione in 1 che quella in 2 debbono ciascuna contenere un egual numero di anioni e di cationi. Perciò nel compartimento-1 si avrà:

$$[K^+]_1 = [Cl^-]_1$$

mentre nel compartimento-2 si avrà:

$$[K^+]_2 = [Cl^-]_2 + [Pr^-]_2$$

Quindi:

$$[K^+]_2 > [Cl^-]_2$$

Un equilibrio di Donnan è quindi caratterizzato da una ineguale concentrazione degli anioni e dei cationi diffusibili dal lato della membrana ove si trova lo ione non diffusibile, e precisamente da una

minore concentrazione degli ioni diffusibili dello stesso segno di quello non diffusibile (Pr^-) e da una maggiore concentrazione degli ioni diffusibili di segno opposto.

2) Un'altra conseguenza di un equilibrio di Donnan è che la concentrazione totale degli ioni diffusibili è maggiore dal lato ove si trova lo ione non diffusibile. Infatti se:

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

ma nel compartimento-1 $[\text{K}^+]_1 = [\text{Cl}^-]_1$ e nel compartimento-2 $[\text{K}^+]_2 > [\text{Cl}^-]_2$, risulta (*) che:

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

Nel caso reale delle membrane biologiche, che di regola non sono permeabili alle proteine, lo stabilirsi di un equilibrio di Donnan è praticamente una regola, e ciò ha molteplici conseguenze di notevole interesse funzionale.

Anzitutto, per solo "effetto Donnan", a cavallo di una membrana si produce costantemente una *differenza di potenziale* (negativo al lato dove si trovano le proteine). Inoltre la concentrazione degli ioni diffusibili è aumentata al lato dove si trovano le proteine, e ciò *aumenta la pressione osmotica* del liquido ove esse sono presenti a valori molto più elevati di quanto non comporti la sola presenza numerica delle molecole proteiche. Questo incremento di pressione osmotica esplicito dalle proteine per "effetto Donnan" è noto come *pressione colloidale-osmotica* ed è generato, a livello della membrana cellulare, dalle proteine citoplasmatiche; esso è una delle cause che, assicurando alle cellule il loro caratteristico "turgore" osmotico, mantiene la loro forma e la normale distensione della loro membrana.

Ugualmente importante è l' "effetto Donnan" a livello degli *capillari sanguigni*; qui la presenza delle proteine del plasma genera all'interno dei capillari un incremento della pressione osmotica che è di essenziale importanza nel *richiamare acqua verso nei capillari* e nell'impedirne il ristagno nei tessuti.

(*) Infatti, in prodotti uguali, la somma dei fattori è minima quando i due fattori sono uguali. Ciò equivale a dire che il perimetro di un quadrato è sempre inferiore al perimetro di un rettangolo che abbia uguale area.

Genesi del potenziale di membrana

Il potenziale di membrana origina dalla ineguale distribuzione degli ioni inorganici tra il liquido intra- ed extracellulare. Questi liquidi contengono ioni permeanti la membrana di diversa specie, tra i quali però, nella genesi del potenziale di membrana, hanno un ruolo fondamentale gli ioni K^+ , Na^+ e Cl^- . Come illustrato in Tab. 5.2, le concentrazioni intra- ed extracellulari di questi tre ioni non presentano notevoli differenze tra le varie specie di Vertebrati; maggiori differenze si possono riscontrare tra Vertebrati e Invertebrati, comunque è regola generale per tutti gli organismi:

1) che nel liquido extracellulare si trovino in maggiore concentrazione il Na^+ ed il Cl^- ;

2) che nel liquido intracellulare sia molto più concentrato il K^+ ; gli anioni sono, in prevalenza, proteine (Pr^-).

L'ipotesi iniziale - Una prima ipotesi per spiegare la genesi del potenziale di membrana delle cellule, avanzata nella prima metà secolo scorso, partiva dall'osservazione che quando venga innalzata nel liquido extracellulare la concentrazione dello

ione K^+ (ad esempio aggiungendovi KCl), il valore del potenziale di membrana si modifica secondo una funzione logaritmica molto vicina a quella prevista dall'equazione di Nernst per il potenziale di equilibrio dei due ioni K^+ e Cl^- , cioè:

$$V_m = E_K = E_{Cl}$$

L'ipotesi presupponeva che la membrana cellulare fosse permeabile solo agli ioni K^+ e Cl^- ed impermeabile a tutti gli altri ioni (*). In queste condizioni si stabilirebbe a cavallo della membrana un equilibrio di Donnan (pag. 71), generato dalla presenza nel liquido intracellulare degli ioni non permeanti (in primo luogo gli anioni Pr^-); quindi il potenziale di membrana sarebbe correlato con le concentrazioni degli ioni K^+ e Cl^- ai due lati della membrana secondo l'equazione di Nernst.

In ogni caso l'ipotesi iniziale presupponeva che la membrana cellulare fosse impermeabile anche agli ioni Na^+ . Tuttavia, mentre l'impermeabilità alle proteine era del tutto accettabile, non altrettanto si poteva dire per l'impermeabilità al Na^+ . Infatti, ponendo nel liquido extracellulare NaCl marcato con il tracciante radioattivo (^{22}Na), s'è visto che lo

(*) Alla luce dell'esistenza dei canali ionici, l'ipotesi iniziale potrebbe essere così formulata: "nella membrana in riposo, alcuni canali per il K^+ e per il Cl^- sono aperti; tutti i canali specifici per gli altri ioni sono chiusi".

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
Assone gigante di calamaro	K^+	20	400	-75	-60
	Na^+	440	50	+55	
	Cl^-	560	40	-66	
Fibrocellula muscolare di rana	K^+	2.5	139	-102	-90
	Na^+	120	20	+45	
	Cl^-	120	3.8	-88	
Cellula di mammifero	K^+	5	140	-90	-80
	Na^+	145	5	+91	
	Cl^-	110	4	-89	

ione Na^+ passa, sia pure lentamente, dal liquido extracellulare nel citoplasma delle cellule, e quindi che la membrana cellulare *non è impermeabile al Na^+* . La tecnica radioisotopica ha anche permesso di valutare quantitativamente la permeabilità della membrana cellulare al Na^+ , che è risultata mediamente 100 volte minore di quella al K^+ ed al Cl^- . Quindi, sebbene in misura diversa, la membrana cellulare è *permeabile a tutte e tre le specie di ioni inorganici* che partecipano alla genesi del potenziale di membrana.

D'altro canto, come si può vedere nella Tab. 5.2, il potenziale di membrana non coincide col potenziale di equilibrio di Nernst per nessuno dei tre ioni diffusibili (E_K , E_{Cl^-} , E_{Na^+}); quindi i loro flussi netti transmembranari non possono essere nulli. Ne viene che il carattere stazionario del potenziale di membrana deve riflettere un "equilibrio elettrico" che si stabilisce tra flussi netti di specie ioniche diverse, che *non si trovano al proprio equilibrio elettrochimico*. Esso ha quindi i caratteri di un "potenziale di diffusione"; converrà fornire al riguardo un breve cenno esplicativo.

Potenziali di diffusione - Anche in questo caso, alcuni esempi gioveranno a chiarire il modo con cui si può generare un potenziale di diffusione.

Si immagini di nuovo (Fig. 5.4/A) un recipiente diviso in due compartimenti (1 e 2) da una membrana provvista di canali ionici. Il compartimento-1 contenga una soluzione di NaCl 10 volte più concentrata che il compartimento-2; inoltre la membrana sia *più permeabile al Cl^- che all' Na^+* . Ambedue gli ioni (Na^+ e Cl^-) in cui si dissocia l' NaCl del compartimento-1 sono spinti dal gradiente di concentrazione ad attraversare la membrana ed a passare nel compartimento-2. Gli ioni Cl^- però, potendo attraversare la membrana più facilmente degli ioni Na^+ , raggiungeranno il versante-2 in maggior numero; ne deriva che al versante-2 della membrana tenderà ad accumularsi localmente un "eccesso" di cariche negative di Cl^- ed al versante-1 un "eccesso" di cariche positive di Na^+ . Si stabilirà cioè tra i due lati della membrana una differenza di potenziale, definita *potenziale di diffusione*.

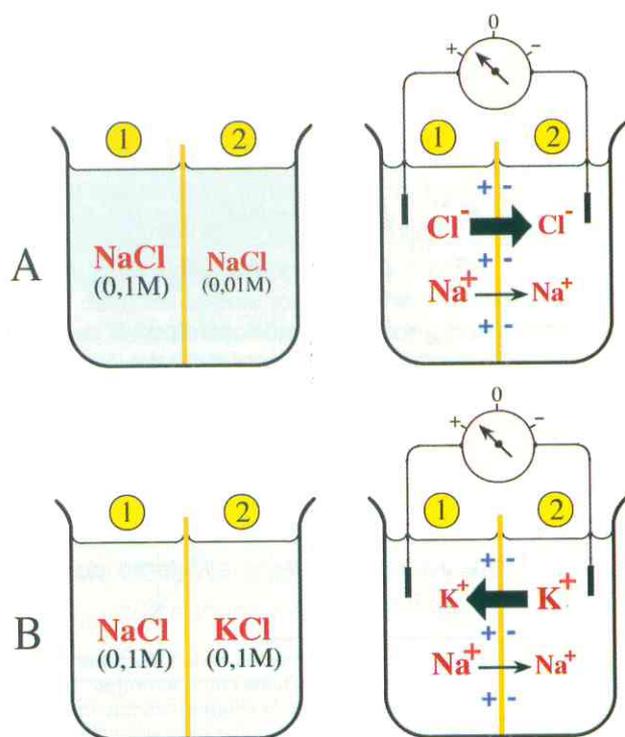


Fig. 5.4 - Esempi di potenziale di diffusione a cavallo di una membrana provvista di canali ionici. La freccia spesso indica il flusso dello ione nei confronti del quale la membrana presenta una permeabilità maggiore. Il corpo più grande vuole indicare una concentrazione più elevata. Nell'esempio B si immagina che la membrana sia impermeabile al Cl^- .

Questa differenza di potenziale tenderà da un lato a *frenare* la diffusione degli ioni Cl^- verso il compartimento-2, e dall'altro ad *accelerare* la diffusione degli ioni Na^+ nella stessa direzione, fino a rendere *uguali* i due flussi, non ostante la diversa permeabilità della membrana nei confronti dei due ioni. Allora la membrana sarà attraversata nell'unità di tempo da un ugual numero di cariche positive e negative, ed il potenziale di diffusione assumerà molto rapidamente un valore *stazionario* che si mantiene nel tempo finchè si mantengono i gradienti di concentrazione che muovono i due ioni Na^+ e Cl^- .

Nella Fig. 5.4/B è illustrato un secondo esempio di potenziale di diffusione, più vicino al caso della cellula, in cui l'ineguale permeabilità della membrana riguarda due cationi anzichè un anione e un catione. Nei due compartimenti separati dalla membrana (che s'immagina sempre provvista di canali ionici) si trovano rispettivamente due soluzioni di $NaCl$ e di KCl in uguale concentrazione; si supponga questa volta che la membrana sia *più permeabile al K^+ che all' Na^+* . Il K^+ diffonderà attraverso la membrana secondo il proprio gradiente di concentrazione dal compartimento-2 verso il compartimento-1, mentre il Na^+ diffonderà, anch'esso secondo il proprio gradiente di concentrazione, in direzione opposta; ma poichè gli ioni K^+ attraversano la membrana *più facilmente* degli ioni Na^+ , essi raggiungeranno in ogni istante il compartimento-1 in numero maggiore degli ioni Na^+ che raggiungono il compartimento-2. Ne deriverà, anche in questo caso, una differenza di potenziale (compartimento-1 positivo) che *accelera gli ioni più lenti* (Na^+) e *rallenta gli ioni più veloci* (K^+), finchè i flussi contrapposti dei due ioni diverranno uguali. In questa condizione stazionaria, che si raggiunge molto rapidamente, il potenziale di diffusione si mantiene, fin che si mantengono i gradienti di concentrazione, ad un valore costante.

E' bene sottolineare ancora una volta che in un potenziale di diffusione viene raggiunto un *equilibrio elettrico* (perchè tra i due compartimenti non vi è un trasferimento netto di cariche elettriche), ma *non un equilibrio chimico*, essendovi attraverso la membrana un continuo flusso netto di ciascuno degli ioni che vi partecipano. Ne viene che, in assenza di altri fattori, col procedere della diffusione la differenza di

concentrazione degli ioni ai due lati della membrana progressivamente *si riduce*, e di conseguenza il potenziale di diffusione tende di per sè a *decadere nel tempo*, fino ad annullarsi quando la concentrazione degli ioni diffusibili sia divenuta uguale ai due lati della membrana.

L'analisi di un potenziale di diffusione è notevolmente più complessa di quella di un potenziale di equilibrio (pag. 69), specialmente quando siano presenti ioni permeanti di numerose specie, com'è il caso del potenziale di membrana delle cellule, cui partecipano almeno tre principali ioni permeanti: K^+ , Cl^- e Na^+ . E' bensì vero infatti che il moto di ciascuno di questi ioni attraverso la membrana risulta dal contrapporsi delle due forze generate da un gradiente di concentrazione e da un gradiente elettrico; però, dato che il potenziale di diffusione non coincide con alcuno dei potenziali di equilibrio dei tre ioni permeanti (E_K , E_{Cl} ed E_{Na}), vi sarà una condizione di *squilibrio chimico* in cui un flusso netto di ciascuno di essi attraverserà la membrana nell'una o nell'altra direzione.

L'equazione di Goldman - La più nota delle vie analitiche che, partendo dall'equazione di Nernst-Planck (pag. 10), mette capo ad una relazione generale applicabile ai potenziali di diffusione in una membrana qual'è quella delle cellule, è stata sviluppata da Goldman (1943) ed è espressa dall'equazione:

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_e \cdot P_K + [Na^+]_e \cdot P_{Na} + [Cl^-]_i \cdot P_{Cl}}{[K^+]_i \cdot P_K + [Na^+]_i \cdot P_{Na} + [Cl^-]_e \cdot P_{Cl}} \quad (5)$$

dove P_K , P_{Na} e P_{Cl} sono i *coefficienti di permeabilità* della membrana nei confronti dei tre ioni permeanti, che possono essere determinati misurando i loro flussi transmembranari con la tecnica degli isotopi radioattivi. La teoria assume:

- a) che la membrana sia *omogenea* in ogni suo punto;
- b) che il *campo elettrico all'interno della membrana sia costante* (*),

(*) per cui l'equazione viene anche detta *equazione del campo costante*. Essa viene anche indicata con l'acronimo "GHK" perchè, pur essendo stata sviluppata originariamente da Goldman, la sua fama è dovuta all'impiego che ne è stato fatto nel 1949 assieme ad Hodgkin e Katz.

due
con l
C
di pr
dei p
dizio
bili d
che
Ranz
ottie
vicin
N
Gola
(pag
renz
porti
mem
conc
lati
loro,
fici
paio
S
ioni
degl
cons
bran
Nern
vede
lati c
"pes
giore
assu
equi
no è
cien
quel
bass
delle
coer
men
ha u
tanc

(*) C
nella
2-10

due condizioni che oggi sono ritenute incompatibili con l'esistenza nella membrana dei canali ionici.

Ciò malgrado, l'equazione di Goldman consente di prevedere con ottima approssimazione il valore dei potenziali di membrana in tutte le cellule in condizioni di riposo. Ad esempio, sostituendo alle variabili dell'equazione i valori delle concentrazioni ioniche riportate nella Tab. 5.2 per la fibra muscolare di Rana ed i rispettivi coefficienti di permeabilità (*), si ottiene come risultato un valore ($V_m = -88 \text{ mV}$) molto vicino a quello trovato sperimentalmente (-90 mV).

Non potrà certo sfuggire che l'equazione di Goldman richiama formalmente quella di Nernst (pag. 71), infatti in ambedue le equazioni la differenza di potenziale è *funzione logaritmica dei rapporti* tra concentrazioni ioniche ai due lati della membrana. Nell'equazione di Goldman, tuttavia, le concentrazioni degli ioni delle diverse specie ai due lati della membrana non solo sono sommate tra loro, ma sono anche *moltiplicate per i rispettivi coefficienti di permeabilità* membranale, che non compaiono nell'equazione di Nernst.

Si osservi che, se la permeabilità per uno degli ioni divenisse talmente grande rispetto a quelle degli altri tanto che queste permeabilità potessero considerarsi *nulle*, il valore del potenziale di membrana *coinciderebbe* col potenziale di equilibrio (di Nernst) di questo ione. Più in generale, è facile vedere che la differenza di concentrazione tra i due lati della membrana di ogni ione permeante avrà un "peso" sul valore di V_m tanto maggiore quanto maggiore è il suo coefficiente di permeabilità. V_m perciò assumerà un *valore intermedio* tra i potenziali di equilibrio delle tre specie ioniche, che sarà *più vicino* al potenziale di equilibrio dello ione con coefficiente di permeabilità più elevato e *più lontano* da quello dello ione con coefficiente di permeabilità più basso. Ad esempio, ritornando al caso specifico della fibra muscolare di Rana, si può notare che, coerentemente con la maggior permeabilità della membrana al Cl^- ed al K^+ che al Na^+ , V_m (-90 mV) ha un valore molto vicino ad E_{Cl} (-88 mV) e non lontano da E_{K} (-102 mV) ma molto lontano da E_{Na} ($+45$

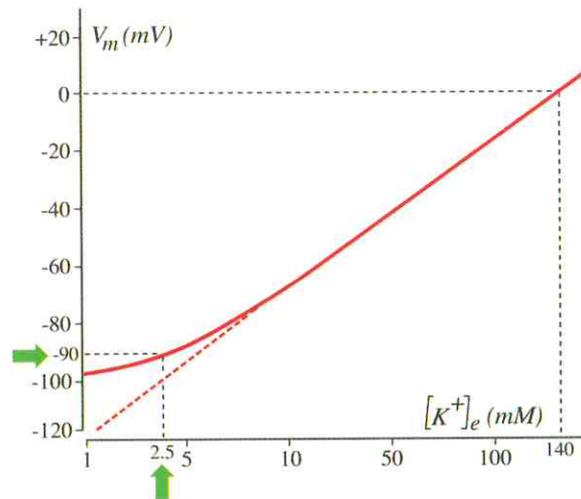


Fig. 5.5 - Relazione tra potenziale di membrana (V_m) e concentrazione extracellulare dello ione Potassio ($[\text{K}^+]_e$, rappresentata su un'ascissa *logaritmica*) in una fibra muscolare di Rana. La linea continua indica la curva determinata sperimentalmente; la linea tratteggiata indica la relazione calcolata secondo l'equazione di Nernst, assumendo $[\text{K}^+]_i = 140 \text{ mM}$. Le frecce indicano il potenziale di riposo della fibra muscolare di Rana (-90 mV) e la concentrazione fisiologica extracellulare del K^+ (2.5 mM).

mV). Tuttavia è subito possibile prevedere che un notevole aumento di P_{Na} potrebbe spostare V_m verso il valore di E_{Na} a tal punto da *invertire di segno* il potenziale di membrana, da renderne cioè positivo l'interno rispetto all'esterno.

D'altro canto la vicinanza di V_m ad E_{K} crescerà quando la concentrazione extracellulare $[\text{K}^+]_e$ venga aumentata sperimentalmente a valori superiori a quello fisiologico. Infatti, al crescere di $[\text{K}^+]_e$ aumenta il valore del prodotto $[\text{K}^+]_e \cdot P_{\text{K}}$, che diventa rapidamente così elevato rispetto al prodotto $[\text{Na}^+]_e \cdot P_{\text{Na}}$ da rendere trascurabile il contributo di quest'ultimo al valore di V_m . In altri termini, come mostra il grafico della Fig. 5.5, quando la concentrazione del K^+ nel liquido extracellulare è elevata, la membrana cellulare si comporta *come se fosse permeabile solo al K^+* (^{2*}). Si spiega allora perchè il potenziale

(*) Questi coefficienti, determinati con tecnica radioisotopica nella fibra muscolare di Rana, sono risultati: $P_{\text{K}} = 2 \cdot 10^{-6}$, $P_{\text{Na}} = 2 \cdot 10^{-8}$ e $P_{\text{Cl}} = 4 \cdot 10^{-6}$ (in cm^2/sec).

(^{2*}) oltre che al Cl^- , per cui si realizza a cavallo della membrana un equilibrio di Donnan (pag. 71).

di membrana delle cellule, nei primi esperimenti intesi a chiarirne la natura ionica, sia stato erroneamente interpretato come un potenziale di equilibrio per il K^+ ; l'ipotesi "iniziale" (pag. 74) era infatti solo basata sulla dimostrazione della dipendenza del potenziale di membrana dal logaritmo di $[K^+]_e$ quando questa veniva innalzata al di sopra dei valori fisiologici.

Potenziale di membrana e correnti ioniche

- Il potenziale di membrana è fondamentalmente un *potenziale di diffusione*, per cui l'equazione di GHK si è rivelata un'ottima base per la sua analisi. Tuttavia essa non è compatibile con l'attuale nozione che gli ioni *non* permeano la membrana cellulare per diffusione libera in un mezzo omogeneo, mossi per di più da un *campo elettrico costante* (presupposti dell'analisi di Goldman), ma bensì percorrono *canali ionici* diversamente strutturati, con modalità che variano per le diverse specie, ma in ogni caso lontane dalla diffusione libera.

Un approccio che consente l'analisi dei potenziali di membrana delle cellule come potenziali di diffusione, prescindendo dalle modalità con cui avviene il transito degli ioni nel contesto della membrana, è possibile quando ci si limiti a considerare la membrana come un conduttore elettrico, in cui fluisce, per ciascuna specie ionica permeante (i), una corrente ionica specifica I_i (*). Allora, se si accetta che il flusso delle correnti di ogni specie ionica ubbidisca alla legge di Ohm, la loro intensità sarà *pari alla differenza di potenziale che muove ciascun ione, moltiplicata per la conduttanza* (2*) della membrana (g) nei riguardi dello ione stesso. D'altro canto, la differenza di potenziale che costituisce la "driving force" di un qualunque ione i non è sempli-

cemente la differenza di potenziale presente ai due lati della membrana (V_m), ma è pari a $(V_m - E_i)$, cioè alla *differenza tra il potenziale di membrana ed il potenziale di equilibrio* voluto dall'equazione di Nernst per quello ione (al quale la corrente netta dello ione i sarebbe nulla). Si avrà allora che:

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

Continuando a riferirci per semplicità alle fibre muscolari scheletriche dei Vertebrati, dove la permeabilità membranale al Cl^- è molto elevata e gli ioni Cl^- sono distribuiti passivamente ai due lati della membrana in buon accordo con l'equazione di Nernst ($V_m \approx E_{Cl}$), si può accettare che il contributo degli ioni Cl^- al potenziale di diffusione sia nullo ($I_{Cl} = 0$). Alla genesi del potenziale di membrana parteciperanno allora i soli due ioni Na^+ e K^+ che, non trovandosi all'equilibrio elettrochimico, sostengono due correnti ioniche transmembranarie:

a) una *corrente di K^+* (I_K), diretta dall'interno verso l'esterno della cellula, spinta dal gradiente di concentrazione, e solo parzialmente contrastata da quello elettrico:

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

b) una *corrente di Na^+* (I_{Na}), diretta invece dall'esterno verso l'interno, spinta sia dal gradiente di concentrazione che da quello elettrico:

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

D'altro canto, all'equilibrio elettrico che caratterizza il potenziale di riposo (pari a -90 mV), le due correnti ioniche contrapposte saranno di uguale intensità:

$$I_K = -I_{Na} \\ 12 \cdot g_K = 135 \cdot g_{Na}$$

quindi in condizioni di riposo il rapporto g_K/g_{Na} dev'essere *circa 11*. In altri termini, nella membrana della fibra muscolare di Rana la conduttanza per il

(3*) Questo rapporto tra le conduttanze equivale ad un rapporto di 100:1 tra i coefficienti di permeabilità P_K e P_{Na} che compaiono nell'equazione GHK. La relazione matematica tra conduttanza e permeabilità, nella trattazione di Goldman, è notevolmente complessa.

(*) Si può immaginare che questa corrente fluisca attraverso i canali ionici selettivi per la specie ionica (i) di cui è provvista la membrana, che agiscono come tanti conduttori disposti "in parallelo".

(2*) La conduttanza di un conduttore è l'inverso della sua resistenza e si misura in $mho = 1/ohm$. Nel caso di una membrana, la conduttanza agli ioni è indicata con la lettera g accompagnata dal simbolo della specie ionica cui "i" si riferisce; g_{Na} , g_K , g_{Cl} indicano, ad esempio, le conduttanze membranali per gli ioni Na^+ , K^+ , Cl^- . Riferendoci ad una generica specie ionica i , detto N_i il numero di canali ionici ad essa selettivamente permeabili, e γ_i la loro conduttanza elementare, sarà evidentemente $g_i = N_i \gamma_i$

K^+ de
il Na^+
disug
ad at
contr
D

la qu
dell'e
meat
Gold
due
avrà
re qu
na n
medi
del h
equil

I
intuit
carai
può
5.6),
(pile
N
rispc
intra
pres
(R_K =
pass
Ogn
pila,
-102

N
- I_{Na}
ferer
quel
cola
di K

(*) Ir
percc

K^+ dev'essere circa 11 volte maggiore di quella per il Na^+ (3* pag. 78), quanto basta per compensare la disuguaglianza tra le forze che spingono i due ioni ad attraversare la membrana e per rendere uguali le contrapposte correnti dei due ioni.

Da questa semplice analisi risulta che:

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

la quale esprime in forma alternativa, tenendo conto dell'equivalenza concettuale tra conduttanza e permeabilità, quanto già espresso dall'equazione di Goldman: che la differenza di concentrazione tra i due lati della membrana di ogni ione permeante avrà un "peso" sul valore finale di V_m tanto maggiore quanto maggiore è la conduttanza della membrana nei suoi confronti. V_m assumerà un valore intermedio tra il potenziale di equilibrio del Na^+ e quello del K^+ , ma sarà sempre più vicino al potenziale di equilibrio dello ione con conduttanza più elevata.

Il modello elettrico equivalente - Per una più intuitiva comprensione della condizione elettrica che caratterizza il potenziale di membrana delle cellule, può essere utile un semplice modello circuitale (Fig. 5.6), realizzabile con semplici componenti elettrici (pile e resistenze).

Nel modello, i due estremi del circuito (A e B) corrispondono rispettivamente all'ambiente extra- ed intracellulare, mentre la membrana cellulare è rappresentata da due resistenze disposte "in parallelo" ($R_K = 1/g_K$ ed $R_{Na} = 1/g_{Na}$), che la membrana offre al passaggio delle due correnti ioniche I_{Na} ed I_K (*). Ognuna delle due resistenze è collegata ad una pila, con una forza elettromotrice rispettivamente di $-102 mV$ (pari ad E_K) e di $+45 mV$ (pari ad E_{Na}).

Nei due rami del circuito fluirà una corrente ($I_K = -I_{Na}$) che genererà, tra i due estremi A e B, una differenza di potenziale (V_m) di valore intermedio tra quelli delle due pile. Il valore di V_m potrà essere calcolato teoricamente, applicando al circuito i principi di Kirckhoff validi per le reti resistive, o misurato da

(*) In pratica, le resistenze che gli ioni Na^+ e K^+ incontrano nel percorrere i rispettivi canali ionici.

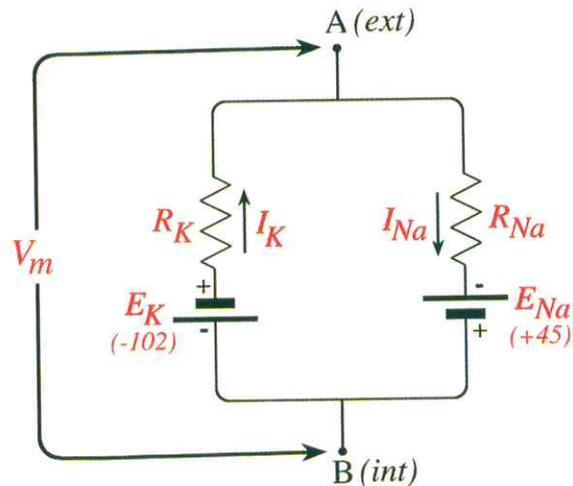


Fig. 5.6 - Modello elettrico (semplificato) equivalente alla membrana cellulare. Per semplicità, non è illustrata la sua componente capacitiva.

un comune millivoltmetro collegato ai due punti A e B. Quando si scelga R_{Na} pari ad 11 volte R_K , il millivoltmetro indicherà $-90 mV$: il reale potenziale della membrana cellulare nella fibra muscolare di Rana.

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

- Un potenziale di diffusione tende per sua natura a decadere nel tempo man mano che si dissipano i gradienti di concentrazione che determinano il continuo flusso netto di ioni nell'una o nell'altra direzione. A questa regola non si sottrarrebbe il potenziale di membrana delle cellule; infatti, anche in questo caso, la presenza di due flussi netti: di Na^+ (entrante) e di K^+ (uscente), porterebbe ad una progressiva riduzione dei gradienti di concentrazione di questi ioni, quindi al decadimento del potenziale di membrana fino ad un valore prossimo allo zero. Ciò è effettivamente quanto accade quando una cellula cessa di essere vitale.

In condizioni fisiologiche, il decadimento delle concentrazioni ioniche ai due lati della membrana cellulare, e di conseguenza del potenziale di membrana, non avviene grazie all'attività della pompa di scambio Na^+/K^+ (pag. 41) di cui sono provviste tutte le cellule, che crea due flussi attivi (di Na^+ verso l'e-

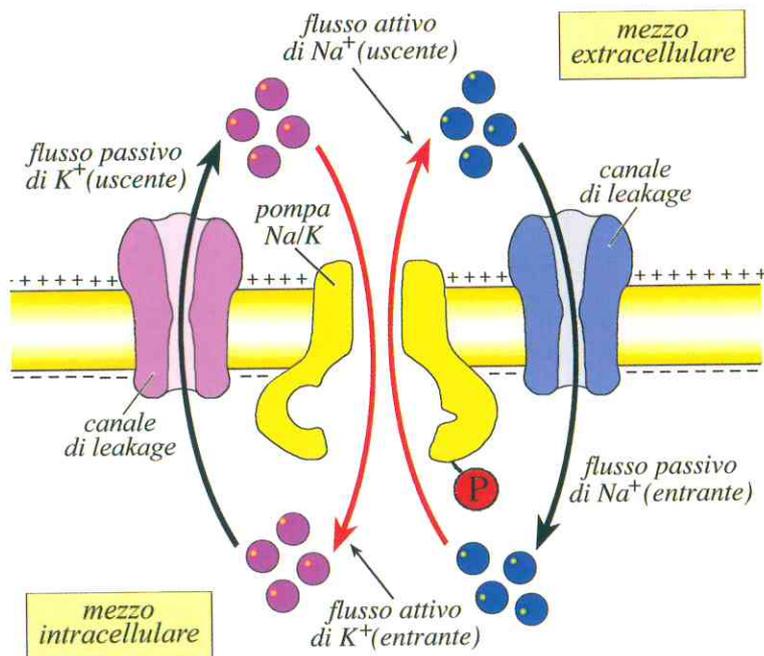


Fig. 5.7 - Flussi ionici attivi e passivi di Na^+ e di K^+ attraverso la membrana cellulare. I flussi passivi dei due ioni (attraverso canali di leakage) sono uguali tra loro, ed opposti ai rispettivi flussi attivi (determinati dalla pompa di scambio Na^+/K^+); il sistema si trova perciò in una condizione di equilibrio elettrochimico.

sterno e di K^+ verso l'interno) di intensità esattamente uguale a quella dei due flussi passivi diffusionali (di Na^+ verso l'interno e di K^+ verso l'esterno) che sono i "generatori" del potenziale di membrana. L'intero processo che mantiene in equilibrio (*) il potenziale di membrana (Fig. 5.7) comprende quindi l'attività di un trasporto attivo primario che fornisce l'energia necessaria per garantire l'effettiva stazionarietà dell'intero equilibrio elettrochimico del sistema.

La condizione di equilibrio richiede necessariamente che i due flussi attivi (di Na^+ e di K^+) creati dalla pompa ionica di scambio siano costantemente di uguale intensità ai "retro-flussi" passivi dei due ioni. È già intuitivamente possibile comprendere come ciò avvenga quando si consideri che il "primum movens" che mantiene l'ineguale concentrazione degli ioni tra l'interno e l'esterno della cellula, e quindi dell'elettrogenesi nella membrana cellulare, è in realtà la pompa di scambio Na^+/K^+ , la quale è un trasporto attivo "gradiente limitato" (pag. 40). Ciò

(*) Non soltanto elettrico, ma anche chimico (equilibrio elettrochimico). Si può dire che la pompa Na^+/K^+ svolge un ruolo simile a quello della dinamo in un'automobile, che ricaricando continuamente la batteria impedisce il decadimento della d.d.p. ai suoi morsetti.

significa che la pompa tende ad innalzare sempre di più i gradienti ionici del Na^+ e del K^+ , fino al valore definito dalla retro-diffusione passiva (leakage) degli ioni trasportati; il che equivale a dire che all'equilibrio i flussi attivi dei due ioni trasportati dalla pompa sono uguali e contrari a quelli passivi dovuti alla loro elettro-diffusione.

Per un approfondimento sul ruolo della pompa Na^+/K^+ nella genesi del potenziale di membrana, si veda l'Appendice N° 2 (pag. 141).

Effetto elettrogenico della pompa Na^+/K^+

Viene oggi unanimemente accettato che la pompa di scambio Na^+/K^+ trasporti verso l'esterno della membrana cellulare, per ogni ciclo operativo, 3 ioni Na^+ contro 2 ioni K^+ immessi all'interno (Fig. 4.29). Essa è quindi intrinsecamente elettrogenica; infatti, trasferendo uno dei due cationi in eccesso rispetto all'altro, sostiene attraverso la membrana un trasferimento netto di cariche elettriche, quindi genera direttamente una differenza di potenziale transmembranario. Poiché la pompa espelle dalla cellula un eccesso di cariche positive, si può facilmente prevedere che il suo effetto elettrogenico consisterà in una iperpolarizzazione della membrana.

FLUSSI IONICI E POTENZIALI TRANSMEMBRANARI

Questa previsione ha trovato conferma nei risultati sperimentali; infatti, subito dopo il blocco farmacologico della pompa Na^+/K^+ (ottenuto mediante trattamento con *ouabaina*), si osserva che il potenziale di membrana *diminuisce* prontamente (cioè la membrana si depolarizza), ma *soltanto di 3-4 mV*. Successivamente, la depolarizzazione della membrana cellulare continua in modo progressivo ma con grande lentezza. L'immediata (ma modesta) depolarizzazione che si osserva dopo il blocco della pompa Na^+/K^+ è dovuta alla cessazione del suo effetto elettrogenico diretto, mentre il successivo lento decadimento del potenziale di membrana è la conseguenza del progressivo dissiparsi dei gradienti transmembranari del K^+ e del Na^+ .

Per un approfondimento sull'effetto elettrogenico della pompa Na^+/K^+ , si rinvia all'Appendice N° 3 (pag. 143).