

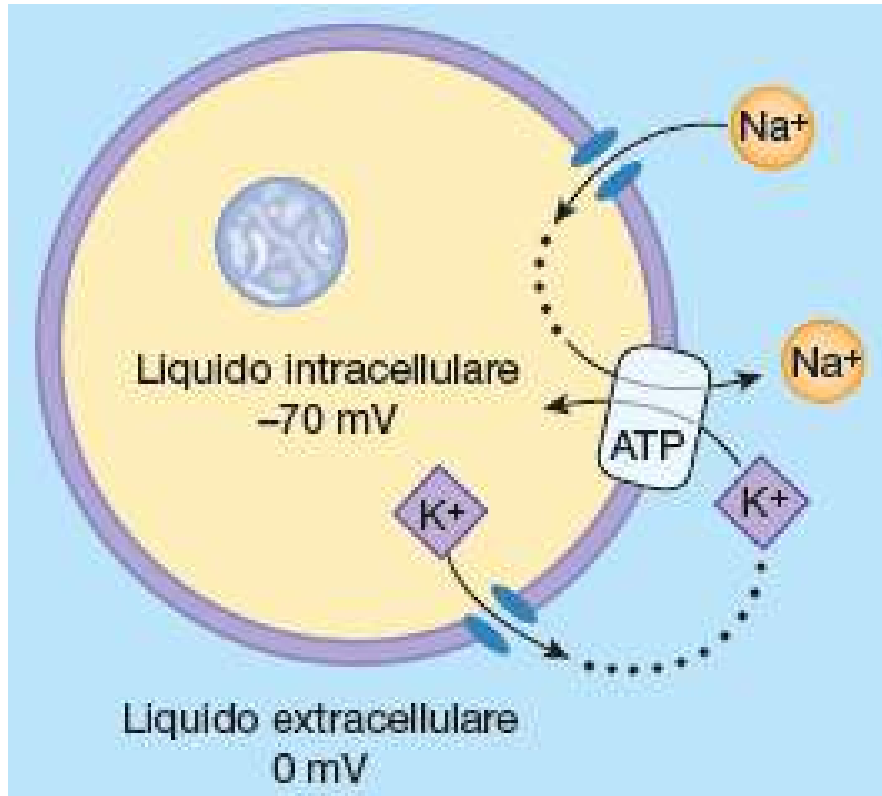
Il disequilibrio elettrico che esiste tra liquido extracellulare e quello intracellulare viene detto **potenziale di membrana**. Esso è dovuto:

- 1) ad una differente presenza di ioni in questi due distretti;
- 2) ad una diversa permeabilità di questi ioni.

In una cellula a riposo il potenziale è negativo all'interno della membrana rispetto all'esterno (ΔV circa -60/-90 mV).

La negatività dipende:

- ⊕ dalla presenza di **proteine cariche negativamente** (anioni proteici) del citosol che sono troppo grandi per attraversare la membrana.
- ⊕ dall'azione di **pompe ioniche** che portano più Na^+ e Ca^{2+} fuori che K^+ dentro la cellula.

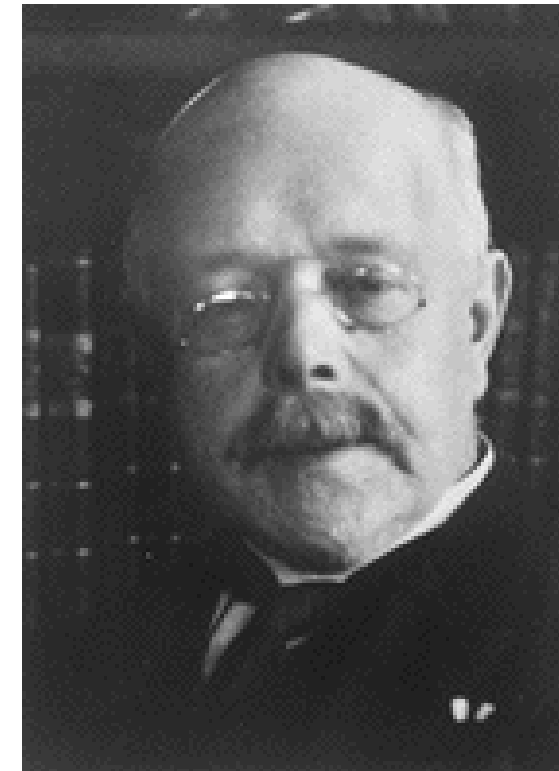


Al potenziale di membrana concorrono due processi ionici di diversa natura:

- 1) **processi ionici passivi** consistenti nella diffusione secondo gradiente attraverso la membrana che genera direttamente la **differenza di potenziale**.
- 2) **processi ionici attivi** consistenti nel trasporto contro gradiente ad opera della pompa Na⁺/K⁺ che crea e mantiene i **gradienti di concentrazione** dei due ioni.

Solitamente gli ioni hanno un **potenziale di equilibrio** (E_{ione}) che rappresenta il punto in cui due forze opposte rappresentate dal **gradiente di concentrazione** ed dal **gradiente elettrico** si equivalgono (non vi sia movimento netto attraverso la membrana plasmatica).

Ogni ione ha il proprio potenziale di equilibrio che può essere calcolato usando l'**equazione di Nernst** (stabilita dal chimico-fisico tedesco Walther Nernst) conoscendo la concentrazione su entrambi i lati della membrana plasmatica.



Walther Hermann Nernst
Nobel Prize 1920

Equazione di Nerst e calcolo del potenziale d'equilibrio per singoli ioni

$$\Delta E_x = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_E}{[X]_I}$$

Dove:

ΔE_x = Potenziale di equilibrio per lo ione X;

R = costante dei gas (8,314 Joule/ Kelvin/moli)

T = temperatura assoluta (Kelvin)

z = valenza dello ione

F = costante di Faraday (96485 coulomb/moli)

$[X]_i$ = Concentrazione intracellulare dello ione X

$[X]_E$ = Concentrazione extracellulare dello ione X

Se consideriamo una temperatura di 37°C, trasformando \ln in \log_{10} ed esprimiamo la costante di Faraday in mV, possiamo semplificare così:

abbiamo che: $RT/F = 61,5 \text{ mV}$

$$\Delta E_x = \frac{61,5}{z} \log \frac{[X]_E}{[X]_I}$$

ad esempio, considerando le seguenti concentrazioni

$$[\text{Na}^+]_i = 0,015 \text{ M}$$

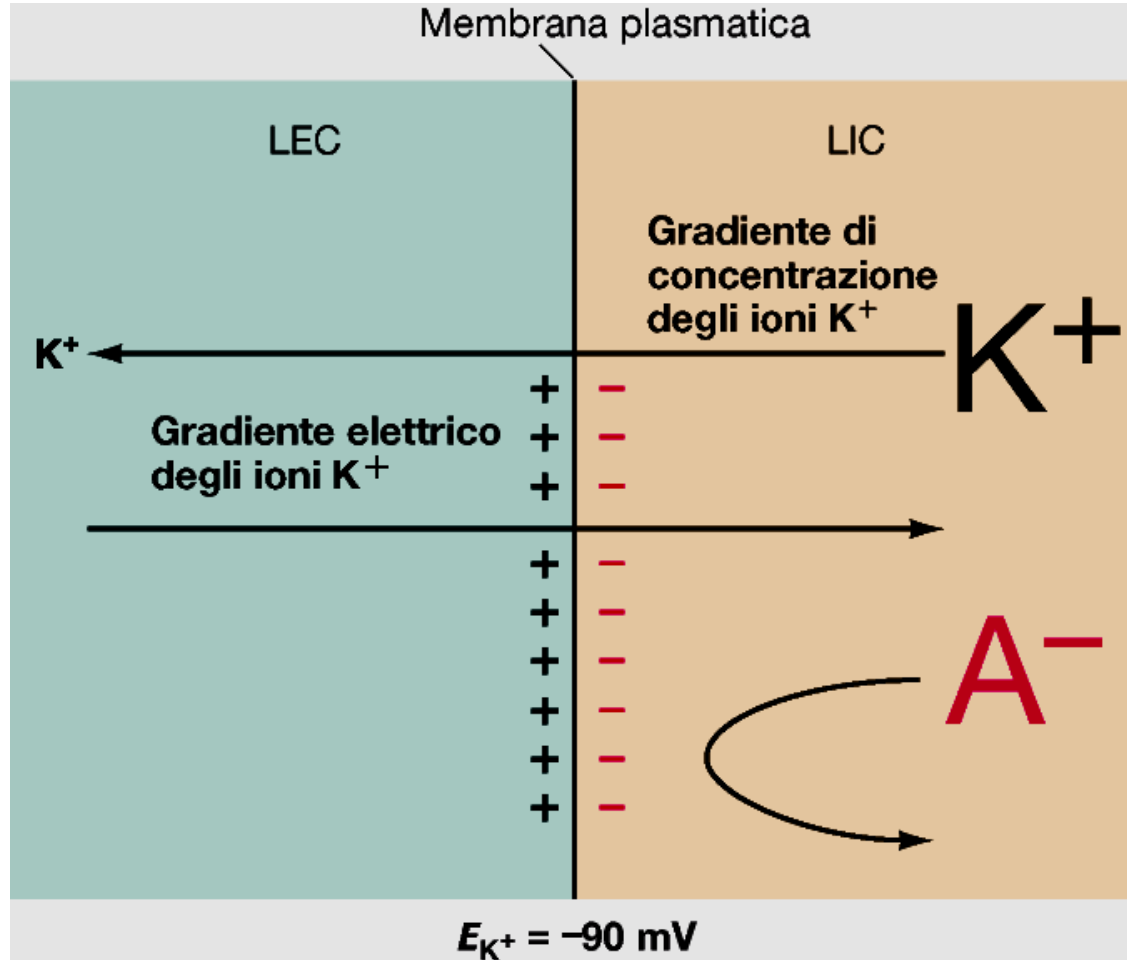
$$[\text{Na}^+]_E = 0,15 \text{ M}$$

$$\Delta E_x = \frac{61,5}{1} \log \frac{0,1}{0,01} = 61,5 \text{ mV}$$

Tabella 8.2 Concentrazioni ioniche e potenziali di equilibrio			
Ione	Liquido extracellulare (mM)	Liquido intracellulare (mM)	E_{ione} a 37° C
K ⁺	5 mM (normale tra 3,5 e 5)	150 mM	-90 mV
Na ⁺	145 mM (normale tra 135 e 145)	15 mM	+60 mV
Cl ⁻	108 mM (normale tra 100 e 108)	10 mM (normale: 5-15)	-63 mV
Ca ²⁺	1 mM	0,0001 mM	Si veda Verifica dei concetti n. 7

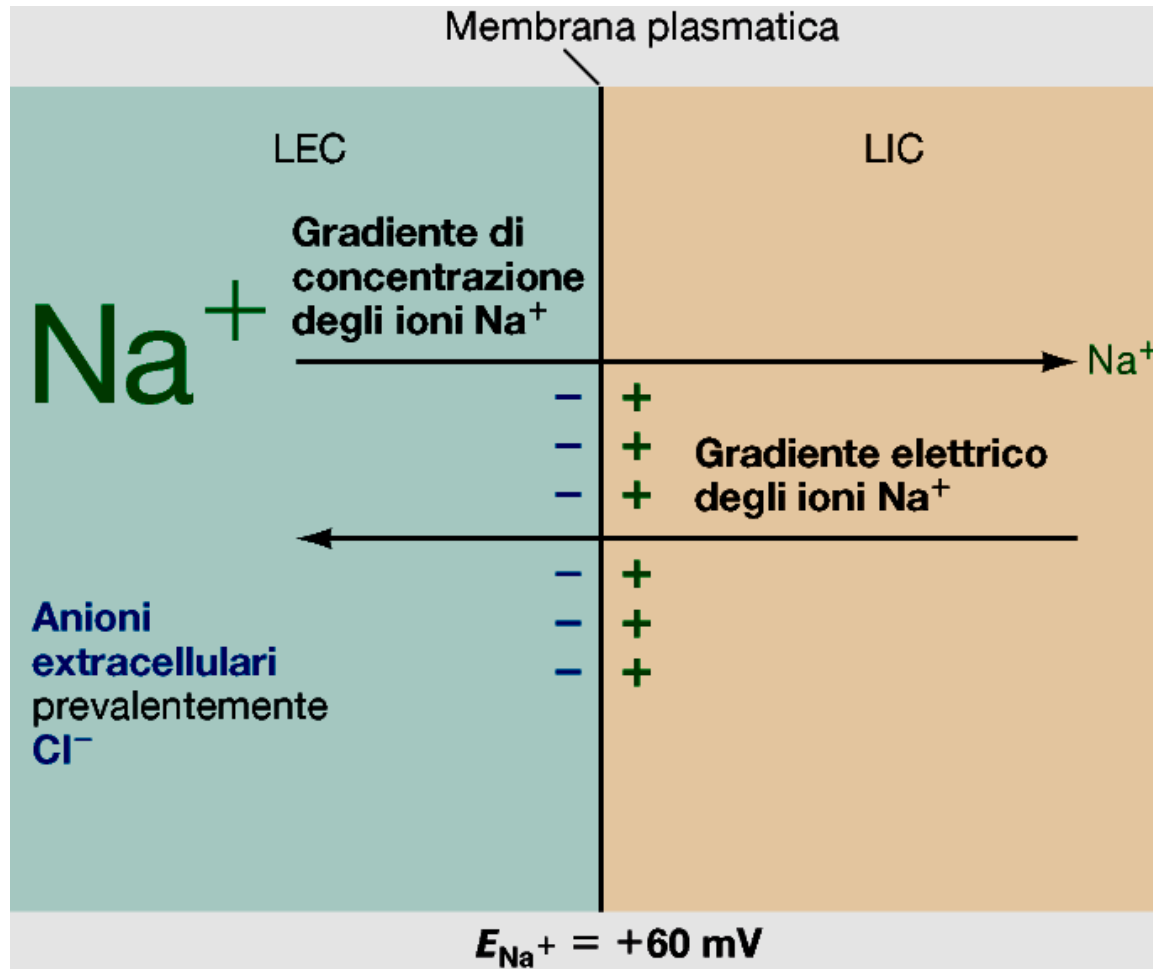
1. Se la differenza di potenziale è **uguale** alla differenza di potenziale calcolata con l'equazione di Nernst, lo **ione si trova in equilibrio**
2. Se il potenziale elettrico è di **segno uguale**, ma **superiore in modulo**, al potenziale calcolato con l'equazione di Nernst, la **forza elettrica è > della forza chimica** ed il flusso netto avrà la direzione della forza elettrica
3. Se il potenziale elettrico è di **segno uguale**, ma **inferiore in modulo**, al potenziale calcolato con l'equazione di Nernst, la **forza chimica è > della forza elettrica** ed il flusso netto avrà la direzione della forza chimica
4. Se la differenza di potenziale è **di segno opposto** alla differenza di potenziale calcolata con l'equazione di Nernst, **la forza elettrica e quella chimica hanno la stessa direzione**, per cui lo ione si muoverà sotto la spinta di entrambe le forze

Equilibri ionici nella cellula: potassio



- 1 Il gradiente di concentrazione tende a far uscire dalla cellula gli ioni K^+ .
- 2 L'esterno della cellula diviene sempre più positivo via via che gli ioni K^+ carichi positivamente passano all'esterno sospinti dal proprio gradiente di concentrazione.
- 3 La membrana è impermeabile alle grosse proteine anioniche intracellulari (A^-). L'interno della cellula diviene più negativo via via che gli ioni K^+ carichi positivamente escono dalla cellula, lasciandosi dietro gli anioni proteici A^- .
- 4 Il risultante gradiente elettrico tende a far entrare gli ioni K^+ nella cellula.
- 5 Il flusso netto di ioni K^+ cessa quando il gradiente elettrico orientato verso l'interno controbilancia esattamente il gradiente di concentrazione orientato verso l'esterno. Il potenziale di membrana esistente in queste condizioni rappresenta il potenziale di equilibrio per il K^+ , $E_{K^+} = -90 \text{ mV}$.

Equilibri ionici nella cellula: sodio



- ① Il gradiente di concentrazione degli ioni Na⁺ spinge questi ioni a entrare nella cellula.
- ② L'interno della cellula diviene sempre più positivo man mano che gli ioni Na⁺ carichi positivamente passano all'interno sospinti dal proprio gradiente di concentrazione.
- ③ L'esterno diviene più negativo perché gli ioni Na⁺ passano all'interno lasciandosi dietro nel liquido extracellulare gli anioni, prevalentemente Cl⁻, non più bilanciati.
- ④ Il risultante gradiente elettrico tende a far uscire gli ioni Na⁺ dalla cellula.
- ⑤ Il flusso netto di ioni Na⁺ cessa quando il gradiente elettrico orientato verso l'esterno controbilancia esattamente il gradiente di concentrazione orientato verso l'interno. Il potenziale di membrana esistente in queste condizioni rappresenta il potenziale di equilibrio per il Na⁺,
 $E_{Na^+} = +60 \text{ mV}$

L'**equazione di Goldman** permette di calcolare il **potenziale di membrana** (V_m). In definitiva può essere considerata come una approssimazione dell'equazione di Nerst che tiene conto della permeabilità della membrana cellulare ai diversi ioni:

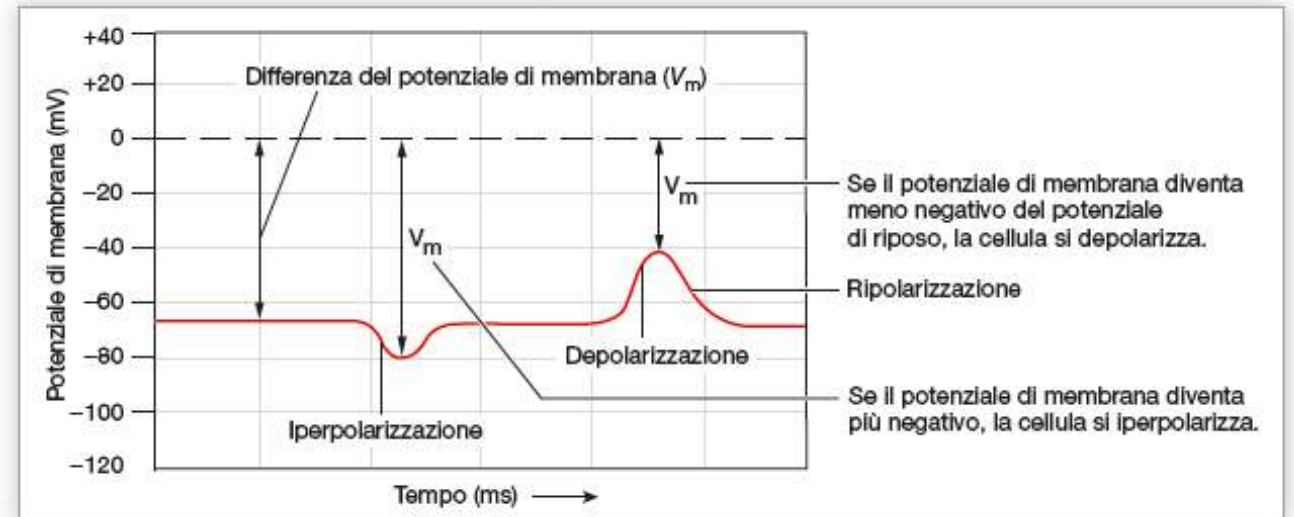
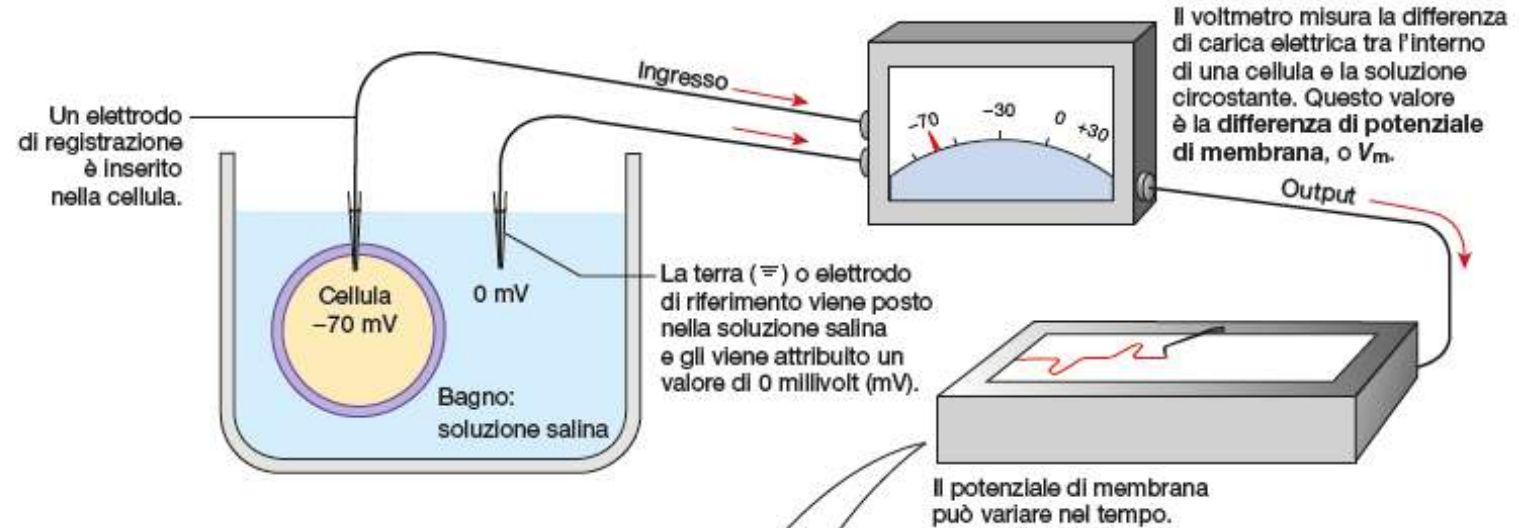
$$V_m = \Delta E_{ioni} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{P_K [K^+]_E + P_{Na} [Na^+]_E + P_{Cl} [Cl^-]_E}{P_K [K^+]_I + P_{Na} [Na^+]_I + P_{Cl} [Cl^-]_I}$$

Dove P_K , P_{Na} e P_{Cl} sono le costanti di permeabilità delle principali specie ioniche nei compartimenti intra ed extracellulari.

Nello stato stazionario la permeabilità della membrana agli ioni potassio (K^+) è maggiore di quella degli ioni sodio (Na^+). Il potenziale di membrana è un potenziale di diffusione di più ioni lontani dall'equilibrio elettrochimico, mantenuto allo stato stazionario.

Il potenziale di membrana può essere misurato utilizzando degli elettrodi sufficientemente sottili da penetrare nella cellula senza danneggiarla e un voltmetro sufficientemente sensibile.

Il potenziale di membrana può variare nel tempo, diventando più negativo (iperpolarizzazione) oppure meno negativo o addirittura positivo (depolarizzazione).



Le uniche cellule che possono variare il loro potenziale di membrana sono le cellule

elettricamente eccitabili

(neuroni, miociti, ghiandole, recettori).

Esistono due tipi di variazione del potenziale, il **potenziale graduato** e il **potenziale l'azione**.

Queste variazioni sono dovute a canali ionici, che possono essere:

- regolati meccanicamente
- regolati chimicamente
- voltaggio-dipendenti

	Potenziale graduato	Potenziale d'azione
Tipo di segnale	Segnale in entrata	Segnale di conduzione auto-rigenerante
Dove si verifica	Di solito nei dendriti e nel corpo cellulare	Dalla zona trigger lungo l'assone
Tipi di canali ionici a cancello coinvolti	Canali regolati meccanicamente, chimicamente o voltaggio-dipendenti	Canali voltaggio-dipendenti
Ioni coinvolti	Di norma Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} e K^+	Na^+ e K^+
Tipo di segnale	Depolarizzazione (per esempio, Na^+) o iperpolarizzazione (per esempio, Cl^-)	Depolarizzazione
Intensità del segnale	Dipende dallo stimolo iniziale; ci può essere sommazione	Fenomeno tutto-o-nulla (intensità sempre uguale): non ci può essere sommazione
Cosa innesca il segnale	L'ingresso di ioni attraverso i canali	Un potenziale graduato soprasoglia che raggiunge la zona trigger apre i canali ionici
Caratteristiche peculiari	Non è richiesto un livello minimo per l'innesco del potenziale graduato	Per l'innesco del potenziale è richiesto il superamento di un valore soglia
	Due segnali contemporanei si sommano	Periodo refrattario: due segnali troppo vicini nel tempo non possono avere luogo – non c'è sommazione
	L'intensità dello stimolo iniziale influenza la frequenza della serie di potenziali d'azione innescati	

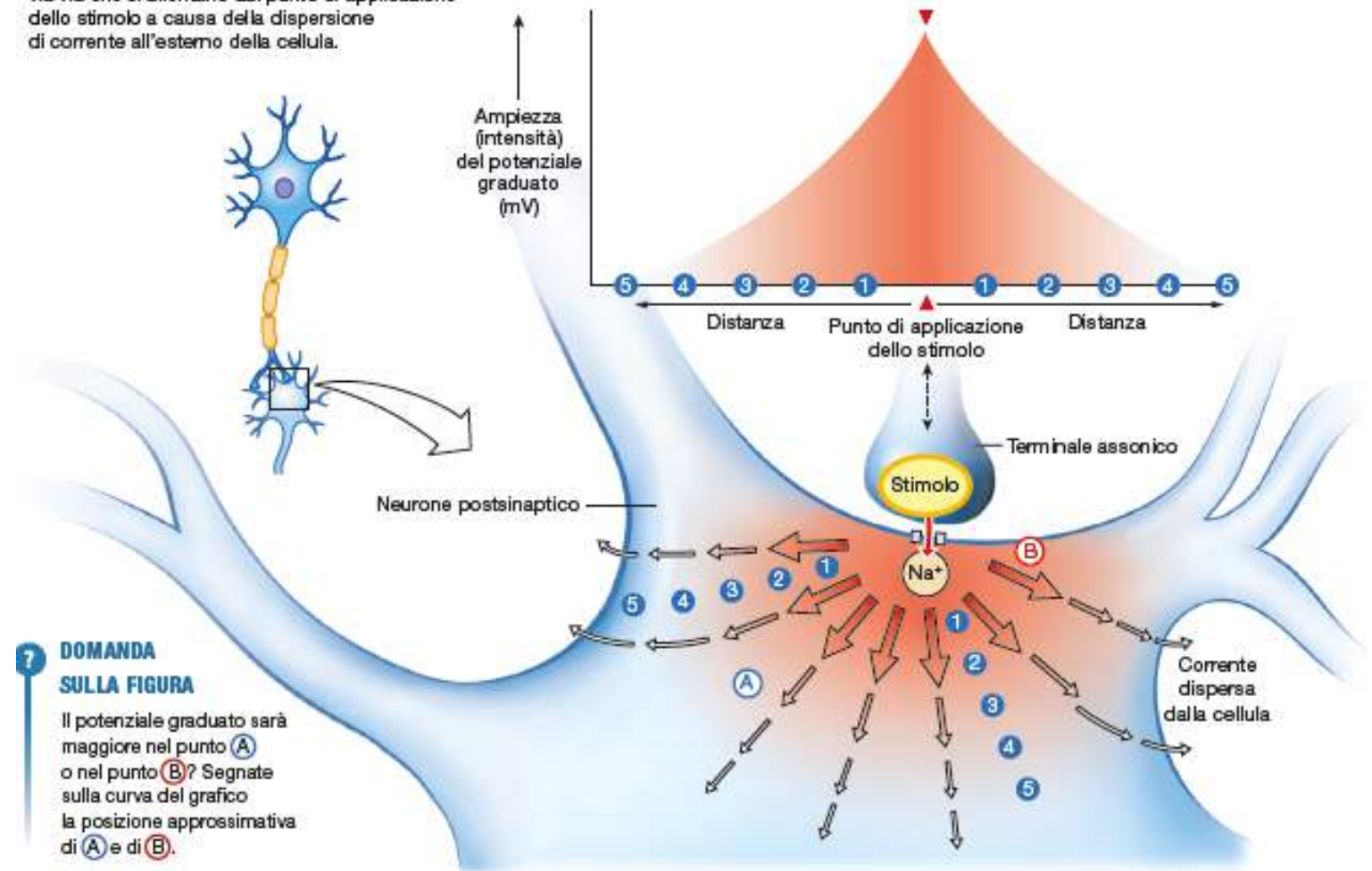
NOTA BENE: Piccoli flussi di ioni attraverso la membrana non cambiano le concentrazioni degli ioni all'interno della cellula

I potenziali graduati possono essere sia **iperpolarizzanti** che **depolarizzanti** e sono proporzionali all'intensità dello stimolo che li ha innescati.

Stabiliscono un flusso ionico locale che si riduce man mano allontanandosi dalla zona di innesco per:

- 1) **dispersione di corrente** (uscita da canali)
- 2) **resistenza del citoplasma**.

I potenziali graduati diminuiscono di intensità via via che si allontanano dal punto di applicazione dello stimolo a causa della dispersione di corrente all'esterno della cellula.



Ad ogni flusso ionico J è sempre possibile associare una corrente elettrica I (coulomb/sec):

$$I = z \times F \times J$$

La legge di Ohm ci dice che la intensità della corrente elettrica I è direttamente proporzionale alla forza elettromotrice (ΔV) che la genera:

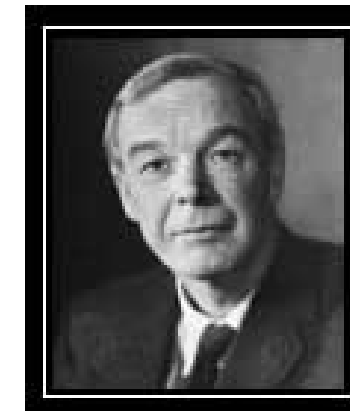
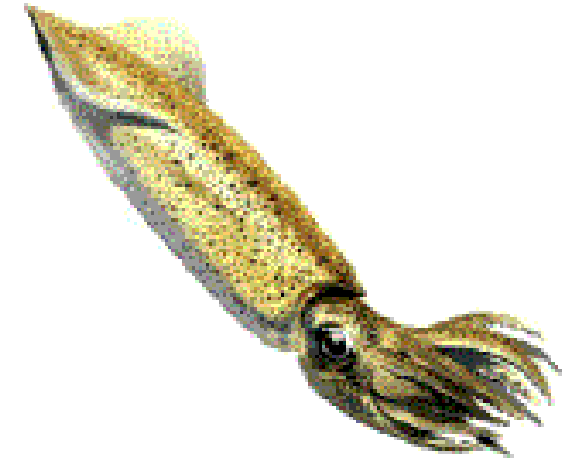
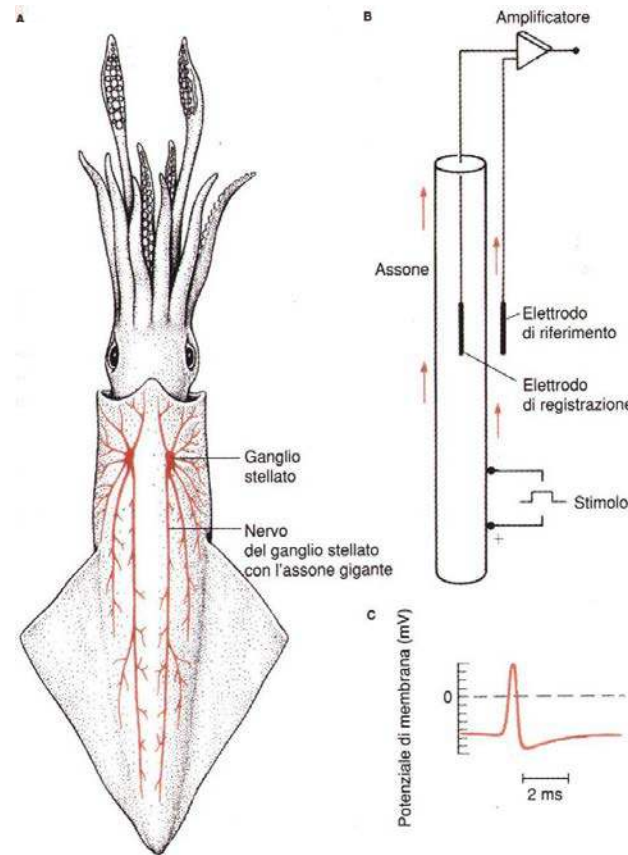
$$I = g \times \Delta V \quad \text{oppure} \quad I = 1/R \times \Delta V$$

$$\text{Poiché} \quad \Delta V = V_m - E_i \quad \text{allora} \quad I = g (V_m - E_i)$$

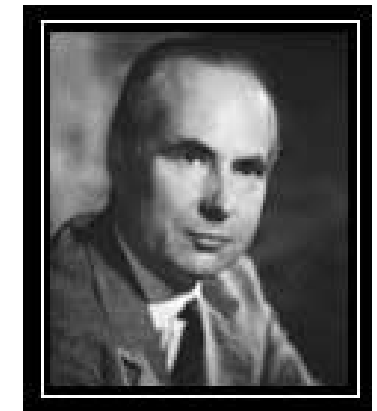
Cioè ogni ione attraversa la membrana generando una corrente la cui intensità è direttamente proporzionale alla conduttanza (g) e ad una differenza di potenziale che è tanto più forte quanto più diverso è il potenziale di membrana (V_m) rispetto al potenziale di equilibrio di quel particolare ione (E_i).

Le membrane di alcune cellule sono provviste di **canali ionici voltaggio-dipendenti** tali da conferire loro la capacità di dare una particolare risposta ad uno stimolo depolarizzante nota come **potenziale d'azione**.

Il potenziale d'azione è una **rapida e transitoria** variazione del potenziale di membrana che segue cronologicamente lo stimolo ma **evolve indipendentemente** da esso.

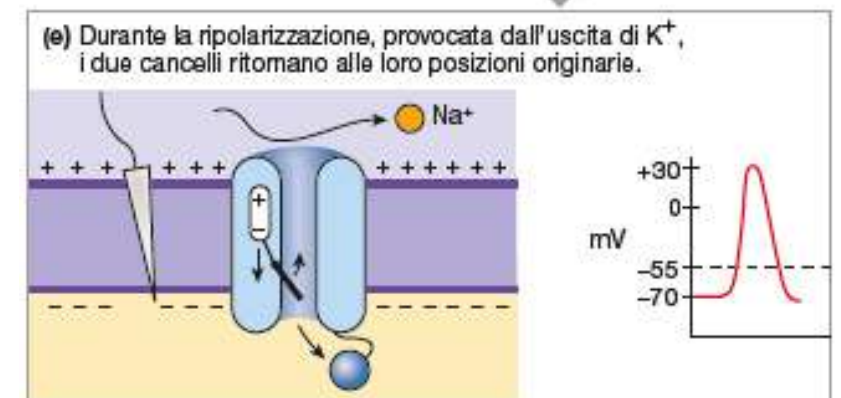
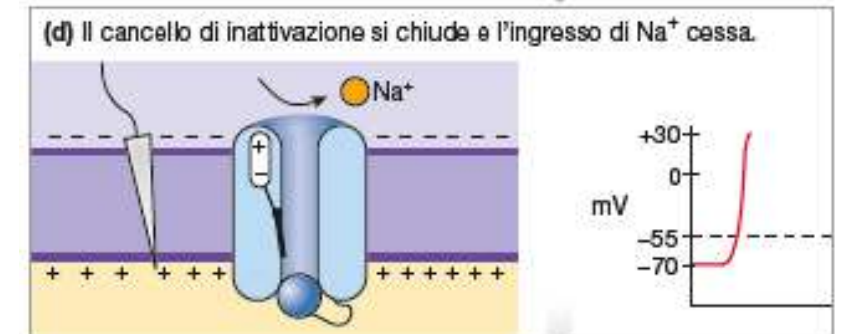
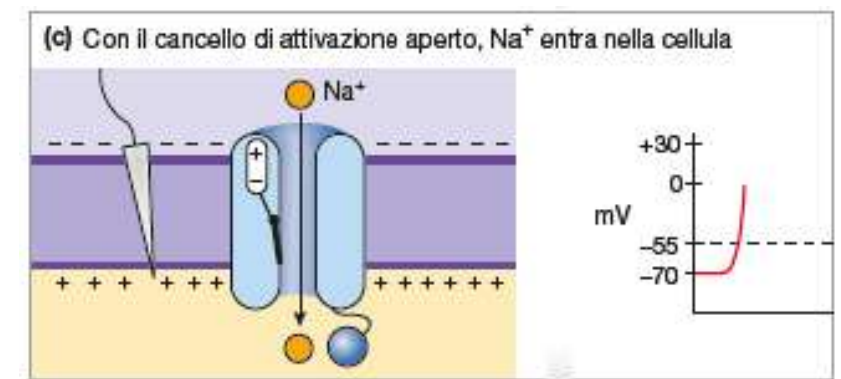
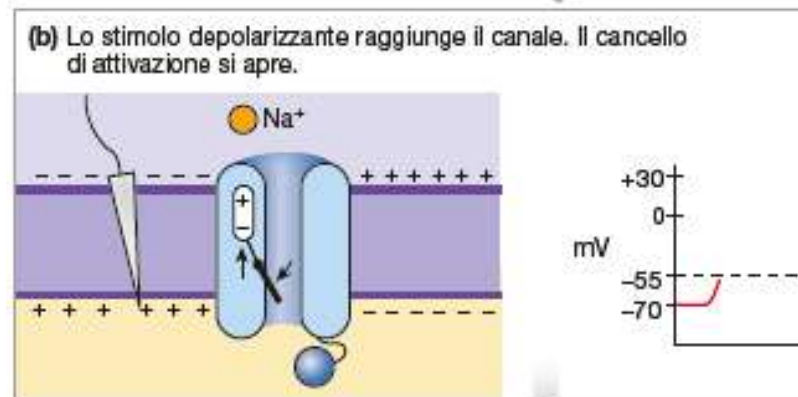
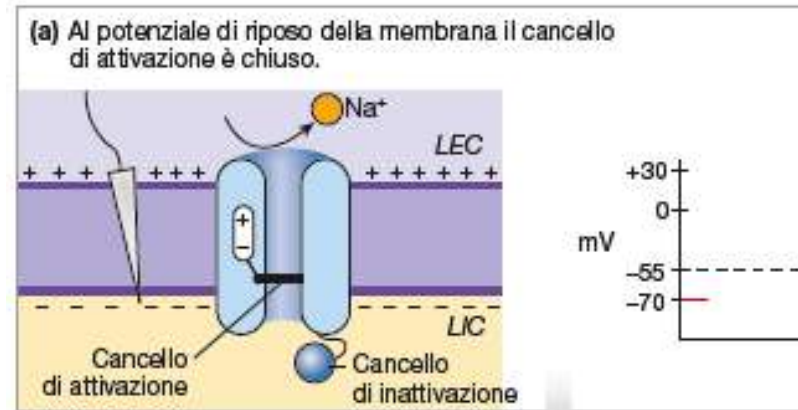


Hodgkin



Huxley

I **canali voltaggio-dipendenti per il Na^+** possono trovarsi in tre stati: aperti, inattivi o chiusi. Questo è dovuto alla presenza di due porzioni nella molecola che fungono da cancelli (**gates**).

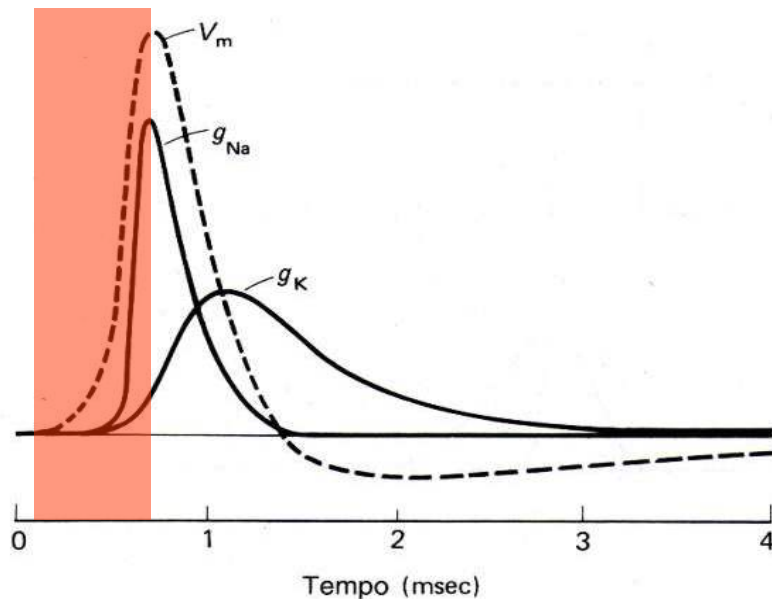




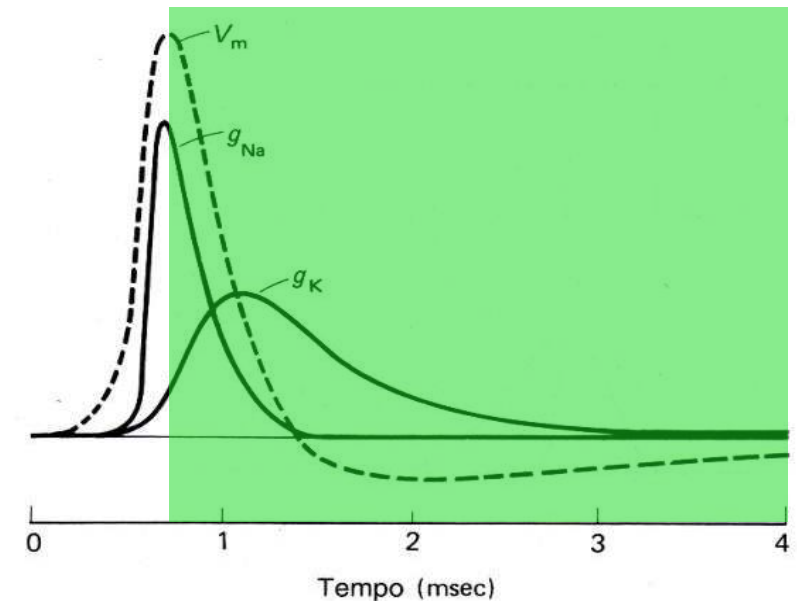
L'apertura dei canali Na^+ **voltage-dipendenti** può essere bloccata da alcune tossine come la tetrodotossina.

In tutti i potenziali d'azione sono presenti 2 fasi:

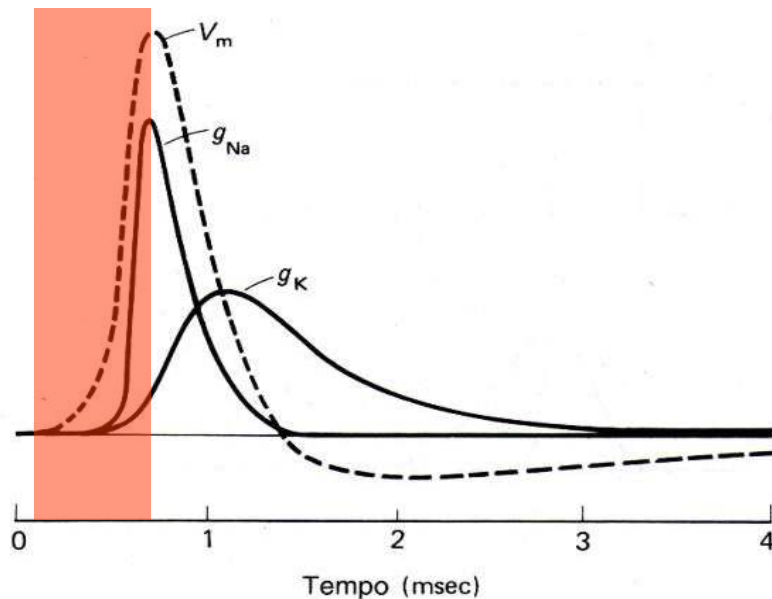
- 1) La fase di **depolarizzazione** in cui il potenziale della membrana passa dal suo valore di riposo (-60/-90 mV) fino alla neutralità e oltre dando luogo ad una **eccedenza** o **overshoot** (+20/+30 mV). Con l'eccedenza si tocca un massimo di variazione di potenziale detto **punta** o **spike**.



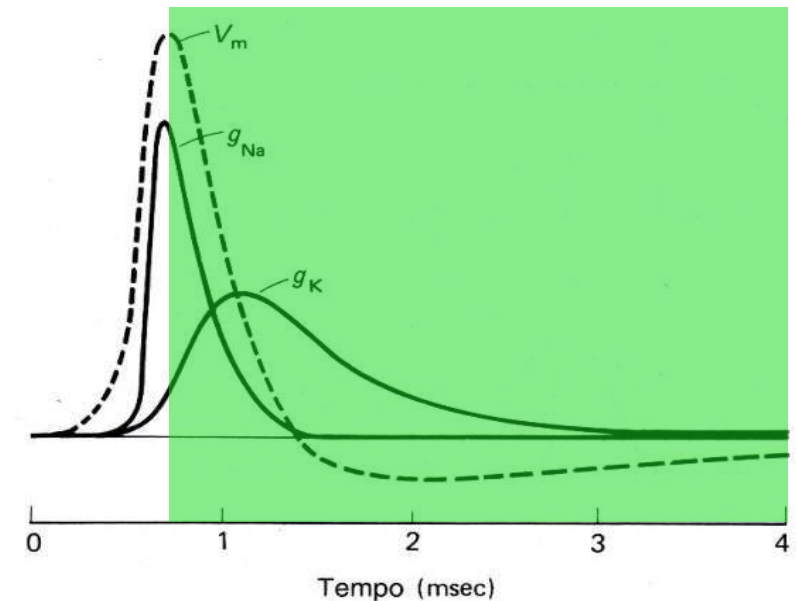
- 2) La fase di **ripolarizzazione** in cui il potenziale della membrana regredisce fino al livello di riposo. In molte cellule la fase di ripolarizzazione porta ad un breve periodo di **iperpolarizzazione** (**potenziale postumo**)



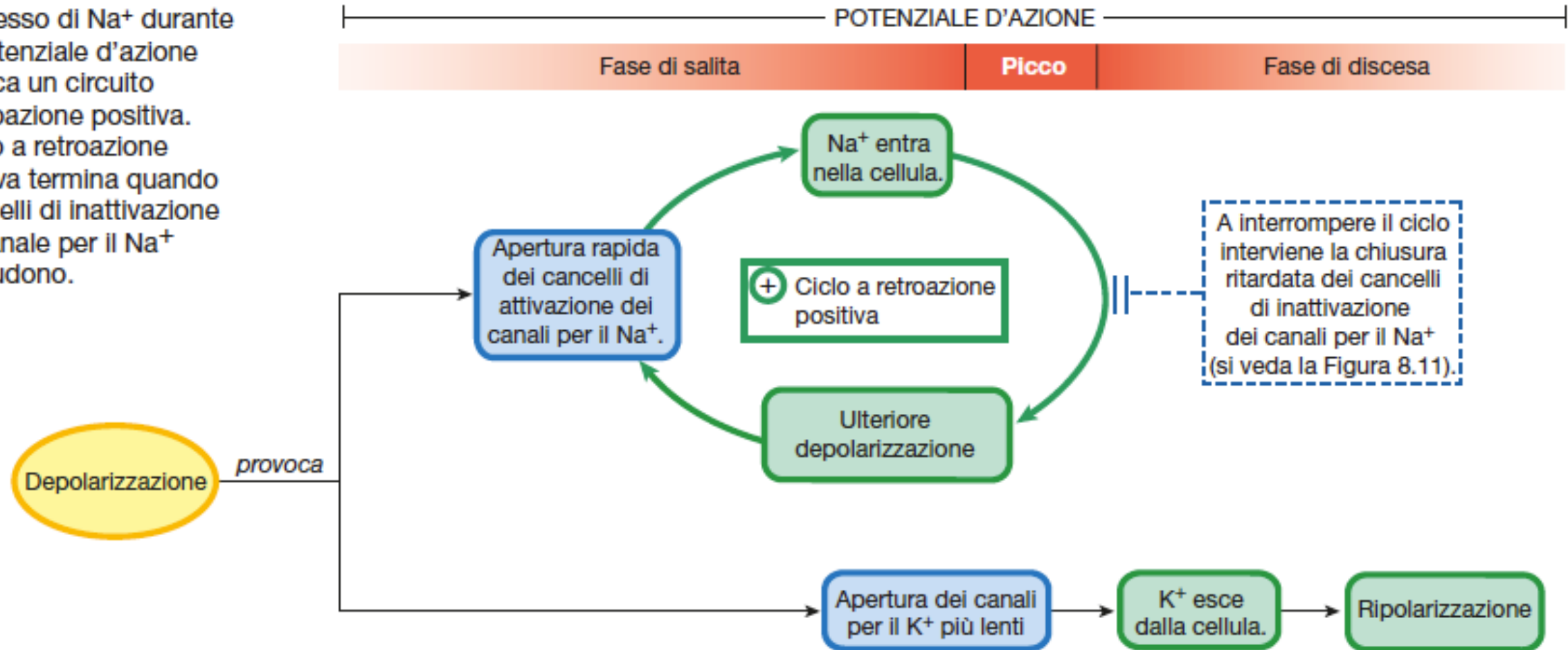
Quando la polarità negativa del potenziale di membrana a riposo si riduce (**depolarizzazione**) oltre circa -40 mV, si aprono bruscamente canali **voltage-dipendenti del Na^+** (aumento della conduttanza). L'entrata repentina di Na^+ riduce ulteriormente la negatività, fino a valori positivi del potenziale di membrana. In questa fase si aprono anche canali voltage-dipendenti del K^+ .



La continua apertura dei canali **voltage-dipendenti del K^+** determina la rapida uscita del K^+ (toglie positività all'interno della cellula) e valori di elevata negatività di membrana (**ripolarizzazione** e **iperpolarizzazione**).



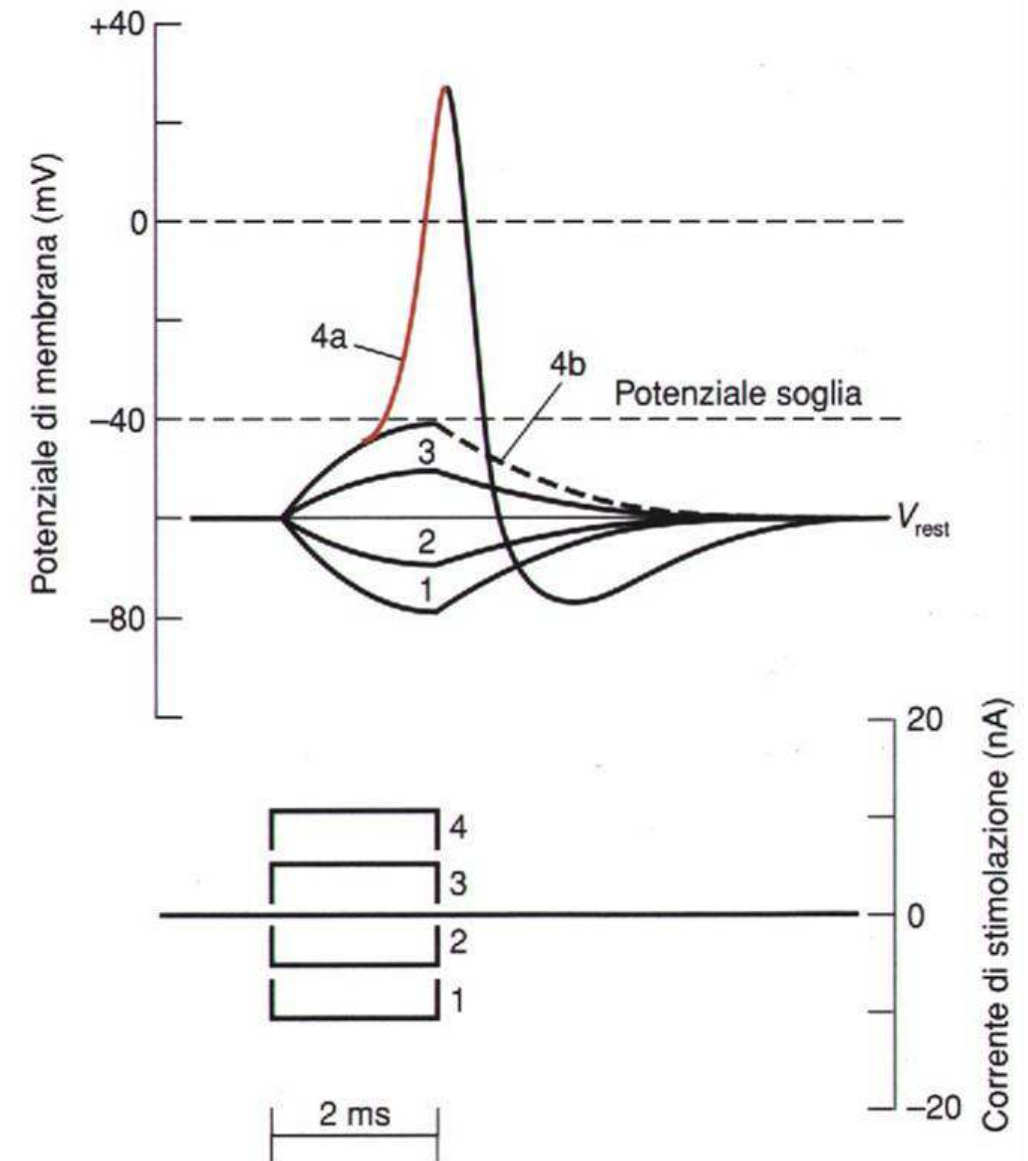
L'ingresso di Na^+ durante un potenziale d'azione innesca un circuito a retroazione positiva. Il ciclo a retroazione positiva termina quando i canali di inattivazione del canale per il Na^+ si chiudono.



La **soglia** del potenziale d'azione è quel livello di depolarizzazione che se raggiunto, anche per breve tempo, è in grado di innescare il potenziale d'azione.

Vengono definiti **liminari** gli stimoli di intensità appena sufficiente a raggiungere la soglia, **sopraliminari** gli stimoli di intensità nettamente superiori alla soglia e **sottoliminari** gli stimoli di intensità nettamente inferiore alla soglia.

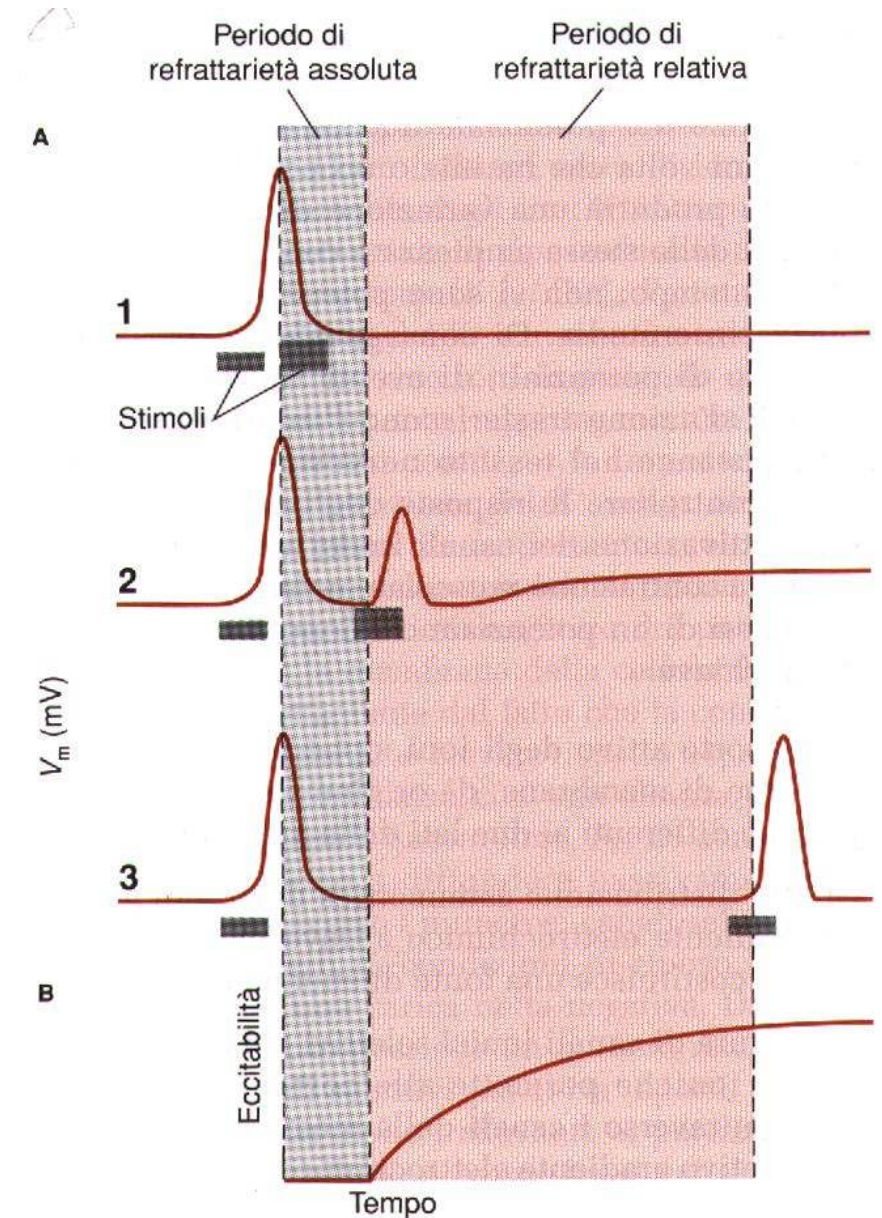
Si dice che il potenziale d'azione ubbidisca alla legge del **tutto o nulla** in quanto, una volta raggiunto il potenziale soglia, la variazione di potenziale procede indipendentemente dalle caratteristiche dello stimolo.



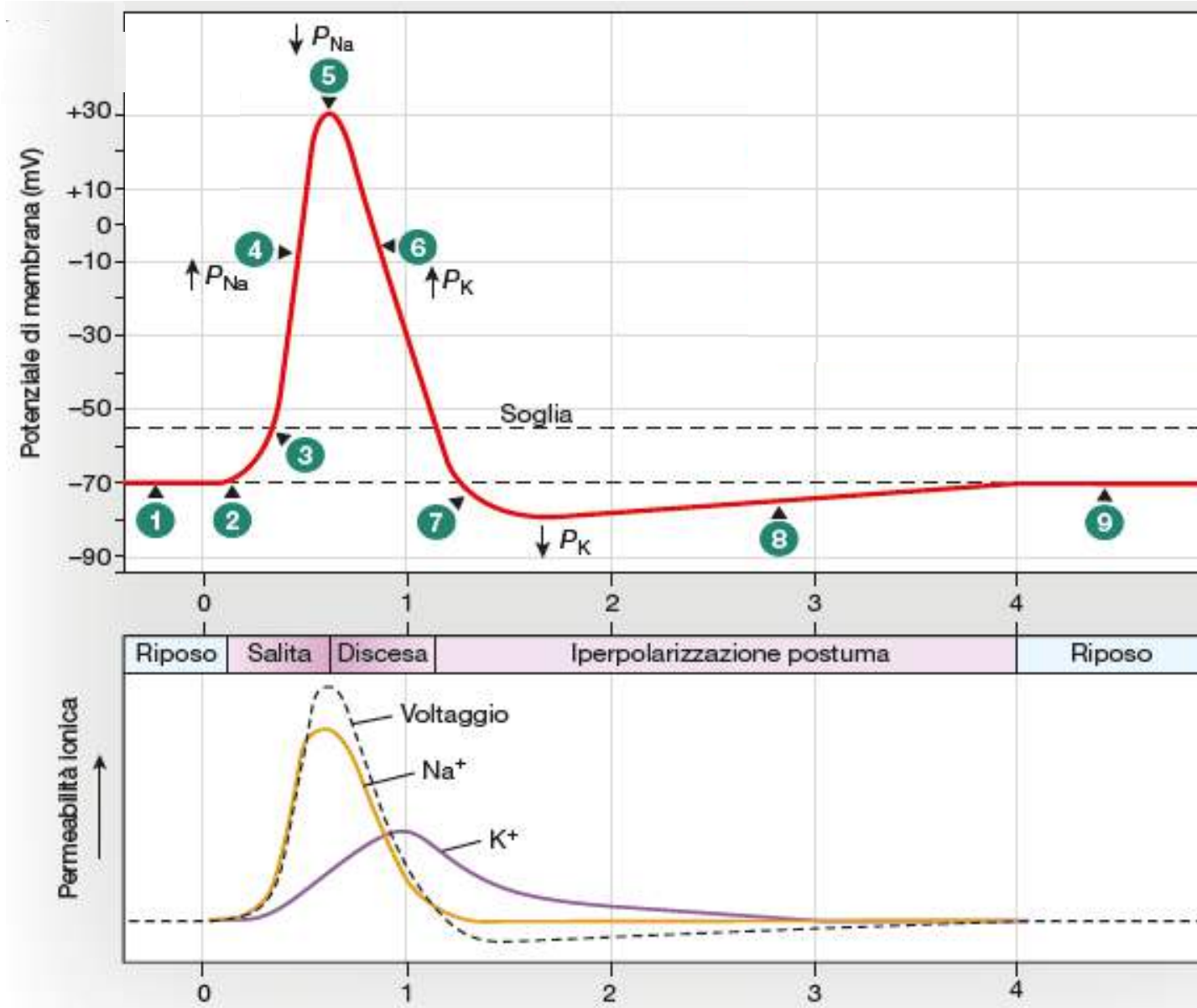
Un'altra caratteristica del potenziale d'azione è la **refrattarietà**.

La fase di **refrattarietà assoluta** coincide con lo sviluppo temporale del potenziale d'azione e durante questa fase nessuno stimolo è capace di evocare un potenziale d'azione.

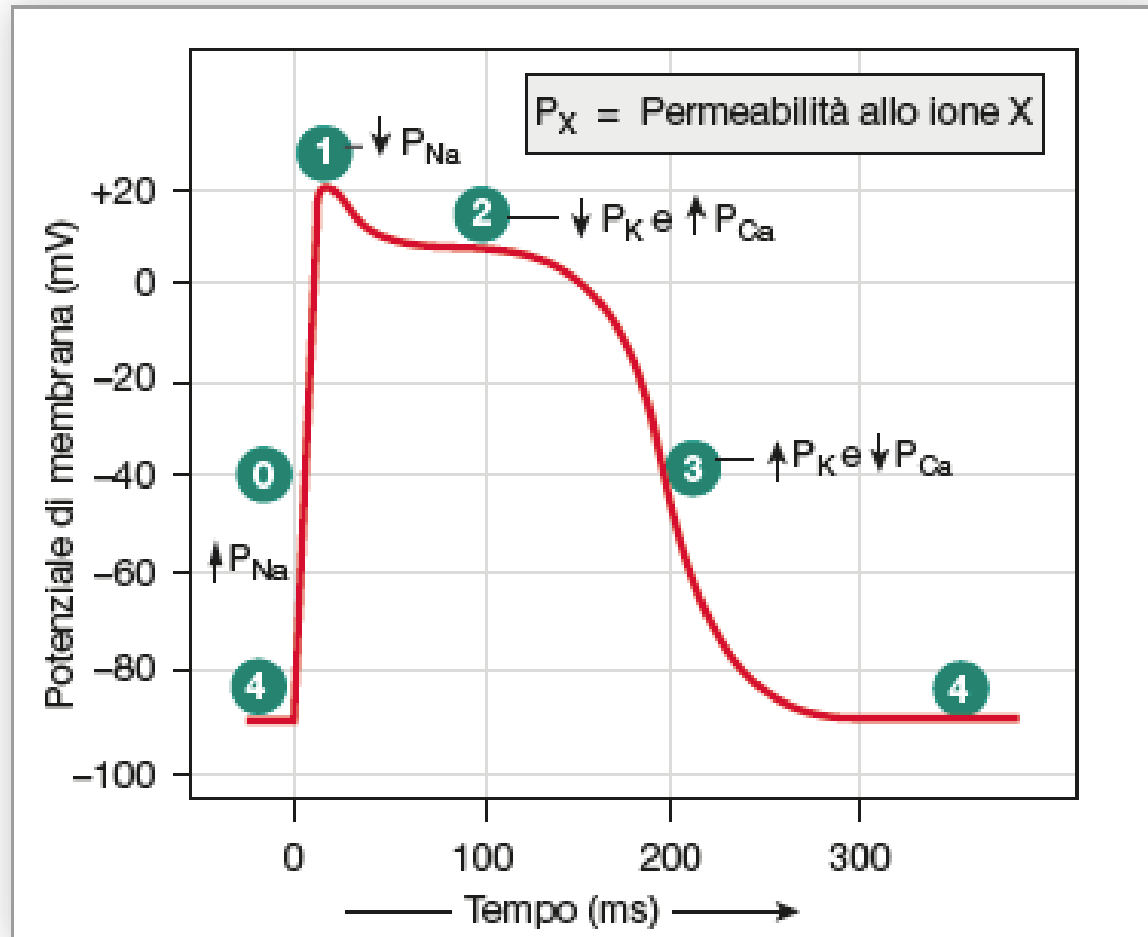
La fase di **refrattarietà relativa** segue temporalmente la fase di refrattarietà assoluta e durante questa fase uno stimolo sufficientemente potente è capace di evocare un potenziale d'azione. Tale potenziale d'azione non risponderà comunque alla legge del tutto o nulla.



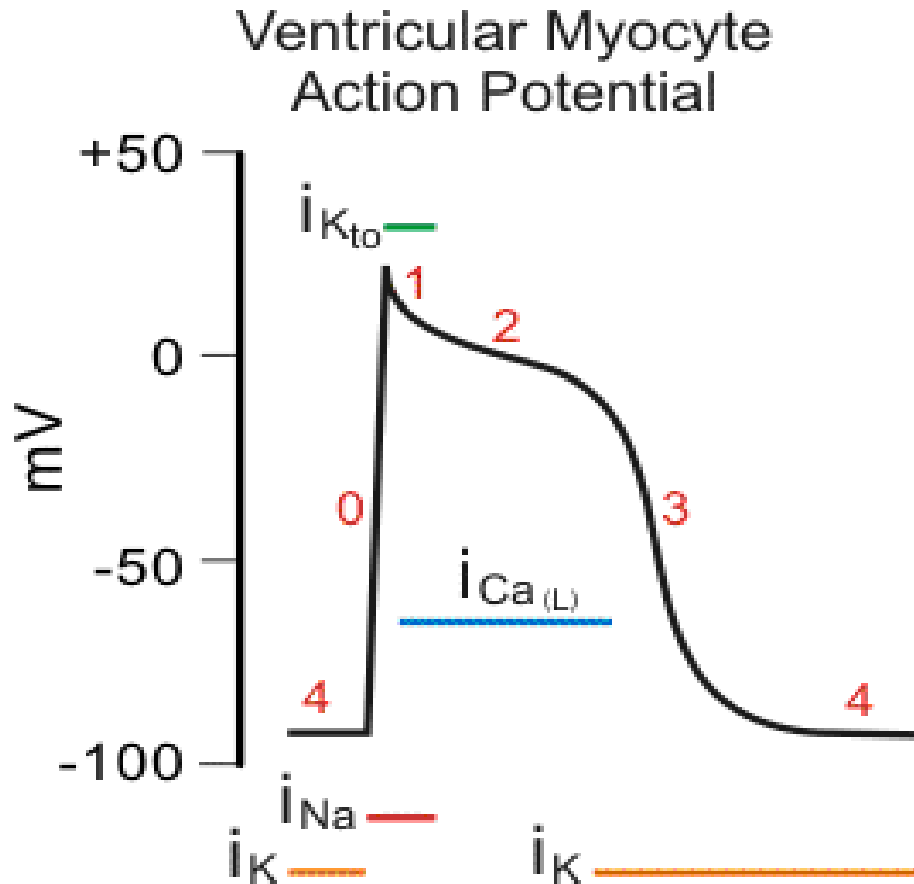
Potenziale d'azione di neuroni e muscolo striato



Potenziale d'azione del muscolo cardiaco



Fase*	Canali di membrana
0	I canali del Na^+ si aprono
1	I canali del Na^+ si chiudono
2	I canali del Ca^{2+} si aprono; i canali rapidi del K^+ si chiudono
3	I canali del Ca^{2+} si chiudono; i canali lenti del K^+ si aprono
4	Potenziale di riposo



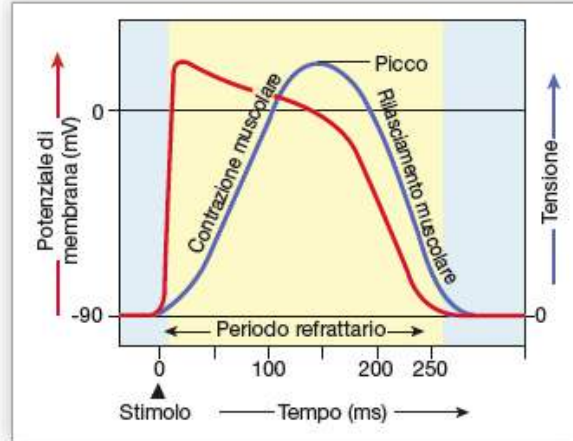
Nella generazione del potenziale d'azione dei miociti ventricolari sono coinvolti due tipi di **canali voltaggio-dipendenti per il K^+** :

- canali a chiusura **rapida** che si attivano dopo lo spike;
- canali a chiusura **lenta** che si aprono alla fine della fase di plateau.

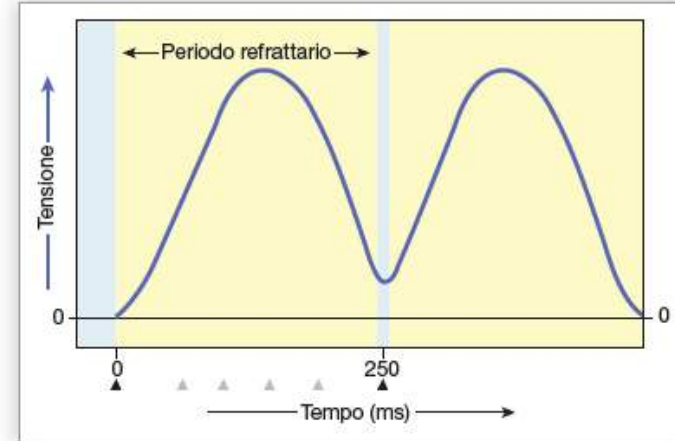
La fase di plateau è una depolarizzazione prolungata nel tempo perché coinvolge **canali voltaggio-dipendenti per il Ca^{2+}** a **lenta** inattivazione (long lasting).

MUSCOLO CARDIACO

(a) Fibra muscolare cardiaca: il periodo refrattario dura quasi quanto l'intera contrazione muscolare.



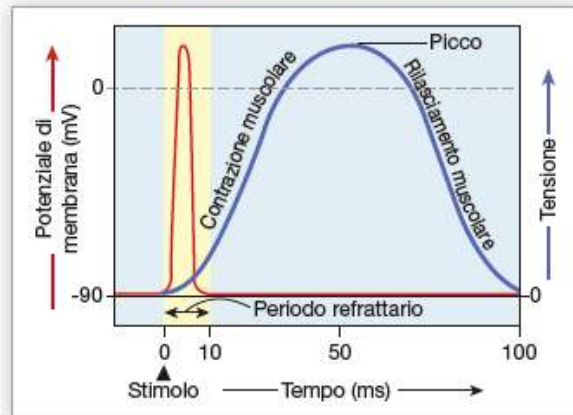
(b) Un lungo periodo refrattario nel muscolo cardiaco previene il tetano.



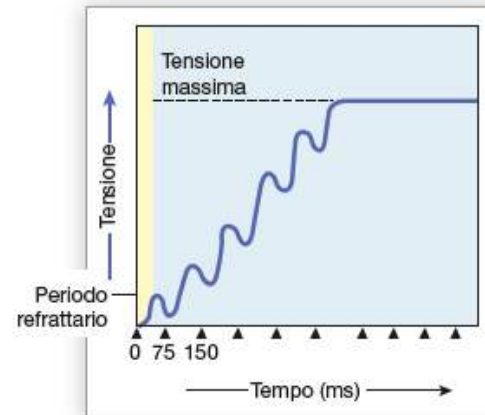
La presenza della fase di plateau è essenziale per evitare la tetania cardiaca.

MUSCOLO SCHELETRICO

(c) Fibra muscolare scheletrica a contrazione rapida: il periodo refrattario (in giallo) è molto breve rispetto al tempo necessario per lo sviluppo della tensione.



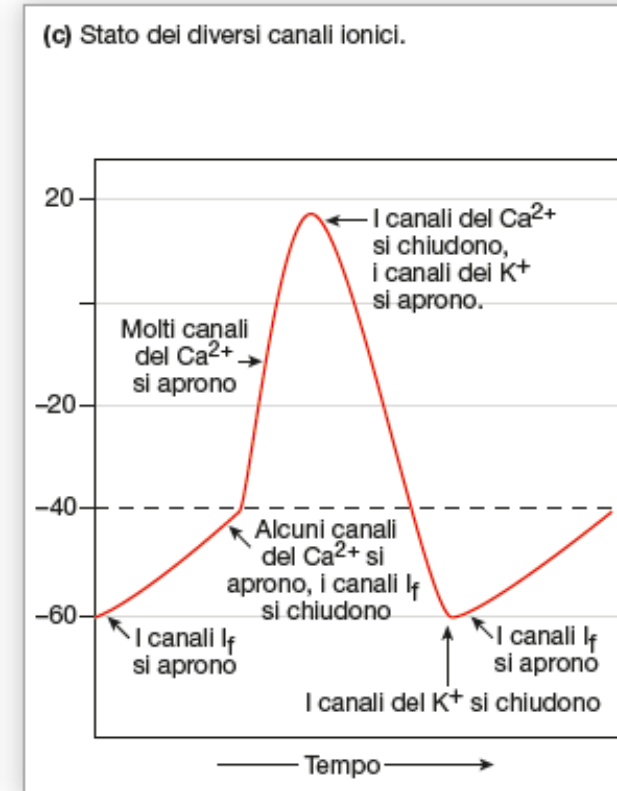
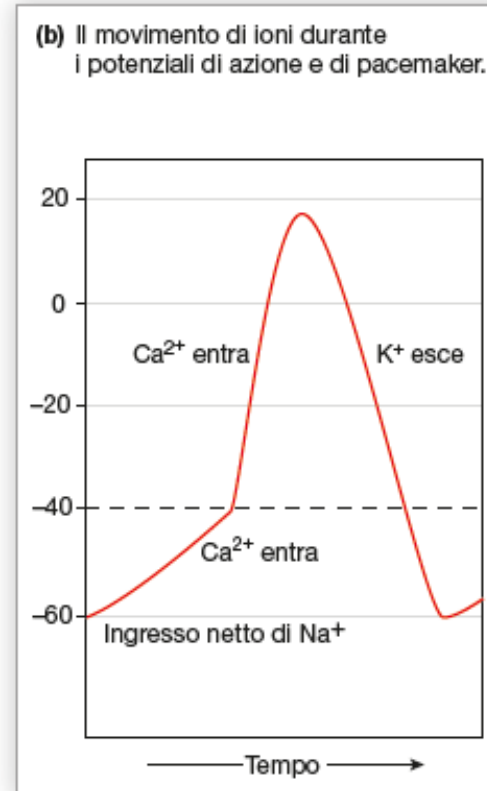
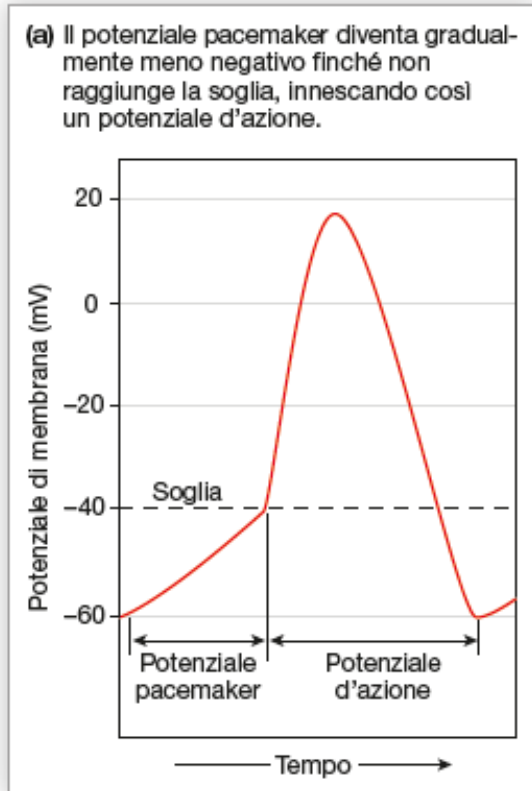
(d) Se i muscoli scheletrici vengono stimolati ripetutamente mostreranno sommazione e tetano (non sono mostrati i potenziali d'azione).

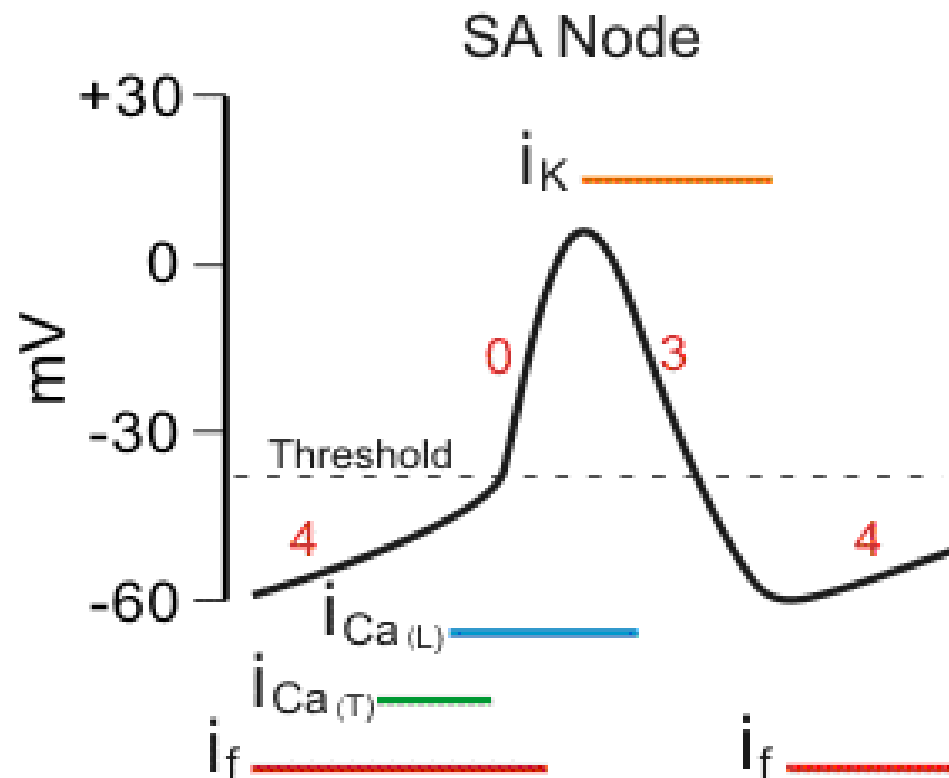


LEGENDA

- ▲ = Stimolo per il potenziale d'azione
- = Potenziale d'azione (mV)
- = Tensione muscolare

Potenziale pacemaker





L'autogenerazione del potenziale d'azione delle cellule nodali è determinata dalla presenza di canali cationici denominati **funny**, attraverso i quali si realizza un flusso misto di Na^+ (in entrata) e K^+ (in uscita). La depolarizzazione che si realizza è lenta perché il flusso di Na^+ è di poco superiore a quello del K^+ .

Il raggiungimento della soglia di potenziale è favorita anche da **canali voltaggio-dipendenti per il Ca^{2+}** ad inattivazione veloce (Ca_T), la cui apertura precede quella di un secondo tipo ad inattivazione lenta(Ca_L).

Tabella 14.3 Confronto tra i potenziali d'azione del muscolo cardiaco e scheletrico			
	Muscolo scheletrico	Miocardio contrattile	Miocardio autoritmico
Potenziale di membrana	Stabile a -70 mV	Stabile a -90 mV	Potenziale pacemaker instabile; di solito inizia a -60 mV
Eventi che portano al potenziale soglia	Ingresso netto di Na^+ attraverso canali operati dall'ACh	La depolarizzazione si propaga attraverso le giunzioni comunicanti	Ingresso netto di Na^+ attraverso canali I_f ; potenziato dall'ingresso di Ca^{2+}
Fase di crescita del potenziale d'azione	Ingresso di Na^+	Ingresso di Na^+	Ingresso di Ca^{2+}
Fase di ripolarizzazione	Rapida; provocata dall'uscita di K^+	Plateau prolungato determinato dall'ingresso di Ca^{2+} ; fase rapida provocata dall'uscita di K^+	Rapida; provocata dall'uscita di K^+
Iperpolarizzazione	Dovuta all'eccessiva uscita di K^+ per l'elevata permeabilità di membrana al K^+ ; quando i canali del K^+ si chiudono, la diffusione di K^+ e di Na^+ ripristina il potenziale di membrana dello stato di riposo	Nessuna; il potenziale di riposo è -90 mV, il potenziale di equilibrio per il K^+	Normalmente nessuna; quando la ripolarizzazione raggiunge i -60 mV, i canali I_f si aprono di nuovo. L'ACh può iperpolarizzare la cellula
Durata del potenziale d'azione	Breve: 1-2 ms	Elevata: 200 ms o più	Variabile; generalmente 150 ms o più
Periodo refrattario	Di solito breve	Lunga durata poiché la rimozione dell'inattivazione del canale del Na^+ viene ritardata dal plateau del potenziale d'azione	Non significativo per la normale funzionalità