

# **FONDAMENTI DI ELETTROFISIOLOGIA**

## **Corso di Bioelettromagnetismo**

A.A. 2022/2023

*V 1.1*

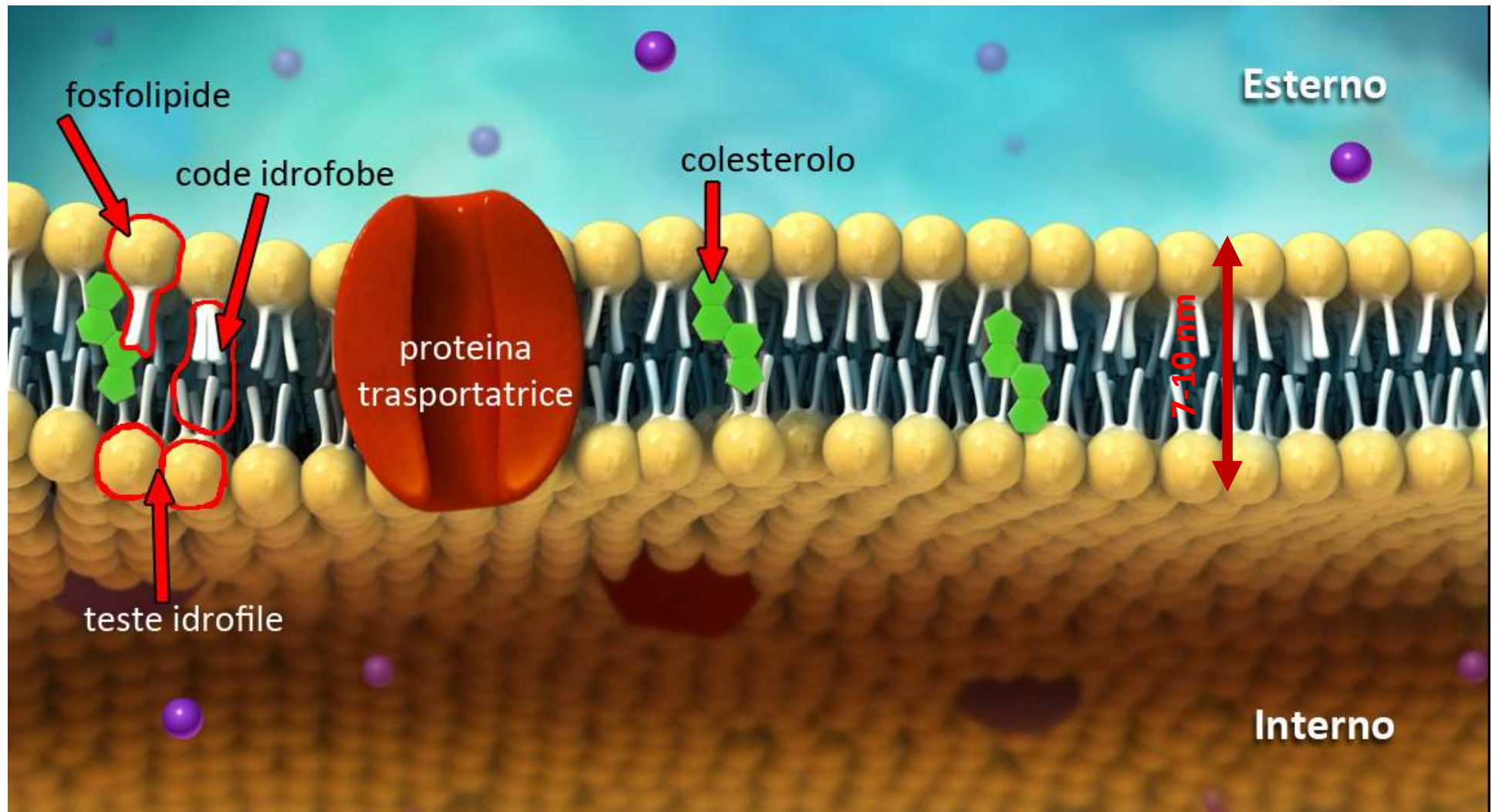
# Introduzione e sommario

Alcune cellule, in particolare quelle dei nervi e dei muscoli, sono in grado di generare e rispondere a stimoli elettrici (eccitabili). Questi stimoli sono alla base della trasmissione di informazione nei nervi e della stimolazione della contrazione muscolare e quindi sono essenziali per una vastità di fenomeni biologici, che vanno dalla visione, al battito cardiaco, alla digestione. Nonostante questa diversità dei fenomeni, i relativi meccanismi elettrofisiologici condividono lo stesso principio di funzionamento, che verrà analizzato nel seguito.

## Sommario

1. La membrana cellulare
2. Le correnti ioniche
3. Il modello a conduttanze parallele
4. Neuroni e potenziali d'azione
5. Stimoli e loro propagazione

# La membrana cellulare



# La membrana cellulare

Costituenti principali (per quanto riguarda l'elettrofisiologia)

- **Fosfolipidi:** molecole con una testa idrofila (polare) e code idrofobe (apolari) che in soluzione acquosa tendono a disporsi in doppio strato, unite per le code.
- **Proteine trasportatrici** (pori o canali): forniscono canali di scambio fra l'interno e l'esterno della cellula; le proteine trasportatrici sono selettive permettendo il passaggio di una o più sostanze (i pori possono ridursi fino a 0.2 nm – dimensioni atomiche); i canali possono essere passivi (sempre aperti) o controllati da stimoli di varia natura (elettrici, chimici, luminosi, meccanici).
- **Colesterolo:** molecole lipidiche che aumentano l'impermeabilità e la coesione dei fosfolipidi e partecipano allo scambio fra interno ed esterno.

Caratteristiche principali della membrana cellulare:

- Spessore di circa 7-10 nm (70 – 100 Angstrom,  $1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$ ).
- Impermeabile all'acqua ed alle altre sostanze idrosolubili (glucosio, sali, etc..).
- Permeabile alle sostanze liposolubili (ossigeno, anidride carbonica, alcoli, etc.).

# Correnti ioniche

Le sostanze possono attraversare la membrana cellulare secondo due tipi di trasporto:

- **Trasporto passivo**, ovvero senza spreco di energia da parte della cellula.
- **Trasporto attivo**, ovvero con spreco di energia da parte della cellula.

Dal punto di vista dell'elettrofisiologia della cellula, il fenomeno di maggiore importanza è il trasporto di ioni attraverso i pori. In particolare interessano i seguenti ioni:

- **Na<sup>+</sup>** (sodio) e **K<sup>+</sup>** (potassio), coinvolti prevalentemente nella generazione del "potenziale di azione", ovvero l'impulso di tensione che si propaga lungo i neuroni (descritto in seguito);
- **Cl<sup>-</sup>** (cloro), coinvolto in diversi processi fisiologici della cellula;
- **Ca<sup>2+</sup>** (calcio), coinvolto nella trasmissione del potenziale di azione da un neurone al successivo e nella stimolazione della contrazione muscolare.

Il **trasporto passivo** avviene attraverso due fenomeni:

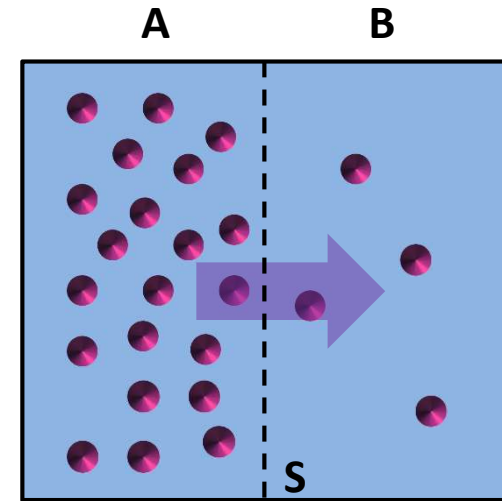
- **diffusione libera**, innescata da un gradiente di concentrazione;
- **diffusione ionica**, innescata da un campo elettrico.

Il **trasporto attivo** avviene attraverso un meccanismo detto **pompa sodio-potassio**.

I due meccanismi di trasporto tendono a bilanciarsi.

## Trasporto passivo: diffusione libera

Si considerino due volumi, A e B, contenenti concentrazioni diverse di una sostanza e posti a contatto attraverso una superficie semipermeabile, S. Per **agitazione termica** vi sarà una certa probabilità che le particelle della sostanza attraversino la superficie da A verso B, ed una probabilità diversa che ciò accada da B verso A. Essendo la concentrazione in A maggiore che in B, il primo attraversamento sarà più probabile, e ciò darà origine ad un flusso netto (diffusione) di particelle da A verso B, fino al raggiungimento dell'equilibrio.



Lo stesso accade anche in presenza di una variazione continua di concentrazione; il flusso è descritto dalla **legge di Fick**:

$$\mathbf{j}_d(\mathbf{r}) = -D_p \nabla C_p(\mathbf{r})$$

dove:

$\mathbf{j}_d(\mathbf{r})$  [mol/(m<sup>2</sup> s)] è la densità di flusso (grandezza **vettoriale**)

$C_p(\mathbf{r})$  [mol/m<sup>3</sup>] è la concentrazione della sostanza p nel punto  $\mathbf{r}$

$D_p$  [m<sup>2</sup>/s] è il coefficiente di diffusione della sostanza p

Si ricorda che 1 mol (mole) è una quantità di particelle pari al numero di Avogadro ( $N_A \approx 6.022 \times 10^{23}$ )

## Trasporto passivo: diffusione ionica

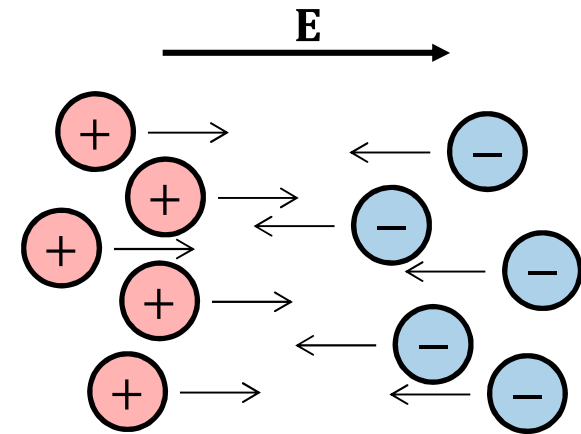
Una distribuzione non uniforme di cariche elettriche dà origine ad un campo elettrico (quasi statico) che tende a ridistribuire le cariche sotto l'azione della forza di Lorentz.

La conseguente densità di flusso è regolata dalla **legge di Ohm**:

$$\mathbf{j}_e(\mathbf{r}) = u_p \frac{Z_p}{|Z_p|} C_p(\mathbf{r}) \mathbf{E}(\mathbf{r}) = -u_p \frac{Z_p}{|Z_p|} C_p(\mathbf{r}) \nabla \phi(\mathbf{r})$$

dove:

$\mathbf{j}_e(\mathbf{r})$	[mol/(m <sup>2</sup> s)]	è la densità di flusso (grandezza <b>vettoriale</b> )
$C_p(\mathbf{r})$	[mol/m <sup>3</sup> ]	è la concentrazione della specie ionica p nel punto <b>r</b>
$\phi(\mathbf{r})$	[V]	è il potenziale elettrico presente nel punto <b>r</b>
$u_p$	[(m/s)/(V/m)]	è la mobilità della specie ionica p
$Z_p$		è la valenza di carica della specie ionica p



## Trasporto passivo

Il coefficiente di diffusione  $D_p$  e la mobilità  $u_p$  di una sostanza sono legati dalla **equazione di Einstein**:

$$D_p = \frac{RT}{|Z_p|F} u_p$$

dove:

$T$  è la temperatura [K]

$R \approx 8.134 \text{ J/K}$  è la costante universale dei gas

$F = N_A e \approx 96.487 \text{ C/mol}$  è la costante di Faraday



## Trasporto passivo: corrente ionica

La densità totale di flusso della specie ionica  $p$  è data dalla somma dei flussi generati dai due meccanismi:

$$\mathbf{j}_p = \mathbf{j}_d + \mathbf{j}_e = -D_p \nabla C_p - u_p \frac{Z_p}{|Z_p|} C_p \nabla \phi$$

Dalla quale, sfruttando l'equazione di Einstein si ottiene:

$$\mathbf{j}_p = -D_p \left( \nabla C_p + \frac{Z_p F}{RT} C_p \nabla \phi \right)$$

Considerando che ad ogni ione di tipo  $p$  corrisponde una carica pari a  $Z_p \cdot e$ , ad una densità di flusso di moli [ $\text{mol}/(\text{s m}^2)$ ] corrisponde una densità di corrente [ $\text{A}/\text{m}^2$ ] pari a:

$$\mathbf{J}_p = F Z_p \mathbf{j}_p = -F Z_p D_p \left( \nabla C_p + \frac{Z_p F}{RT} C_p \nabla \phi \right)$$

nota come **equazione di Nernst-Plank**.

## Trasporto passivo: potenziale di Nernst

**All'equilibrio** i due fenomeni di trasporto si compensano, così che la corrente totale è nulla. Risulta allora:

$$J_p = 0 \quad \Leftrightarrow \quad \nabla C_p = -\frac{Z_p F}{RT} C_p \nabla \phi$$

Assumendo per semplicità che la concentrazione ed il potenziale elettrico varino solo rispetto ad una direzione (approssimazione ragionevole se si pensa che la membrana cellulare è molto sottile rispetto alla curvatura media, quindi può essere supposta piatta), detta  $x$  la relativa coordinata si può scrivere:

$$\frac{dC_p}{dx} = -\frac{Z_p F}{RT} C_p \frac{d\phi}{dx} \quad \Rightarrow \quad \frac{dC_p}{C_p} = -\frac{Z_p F}{RT} d\phi \quad \Rightarrow \quad \int_{C_{p,ext}}^{C_{p,int}} \frac{dC_p}{C_p} = -\frac{Z_p F}{RT} \int_{\phi_{ext}}^{\phi_{int}} d\phi$$

da cui si ricava il potenziale all'equilibrio (**potenziale di Nernst**) per le specie ionica  $p$ :

$$V_p = \phi_{int} - \phi_{ext} = -\frac{RT}{Z_p F} \ln \frac{C_{p,int}}{C_{p,ext}}$$

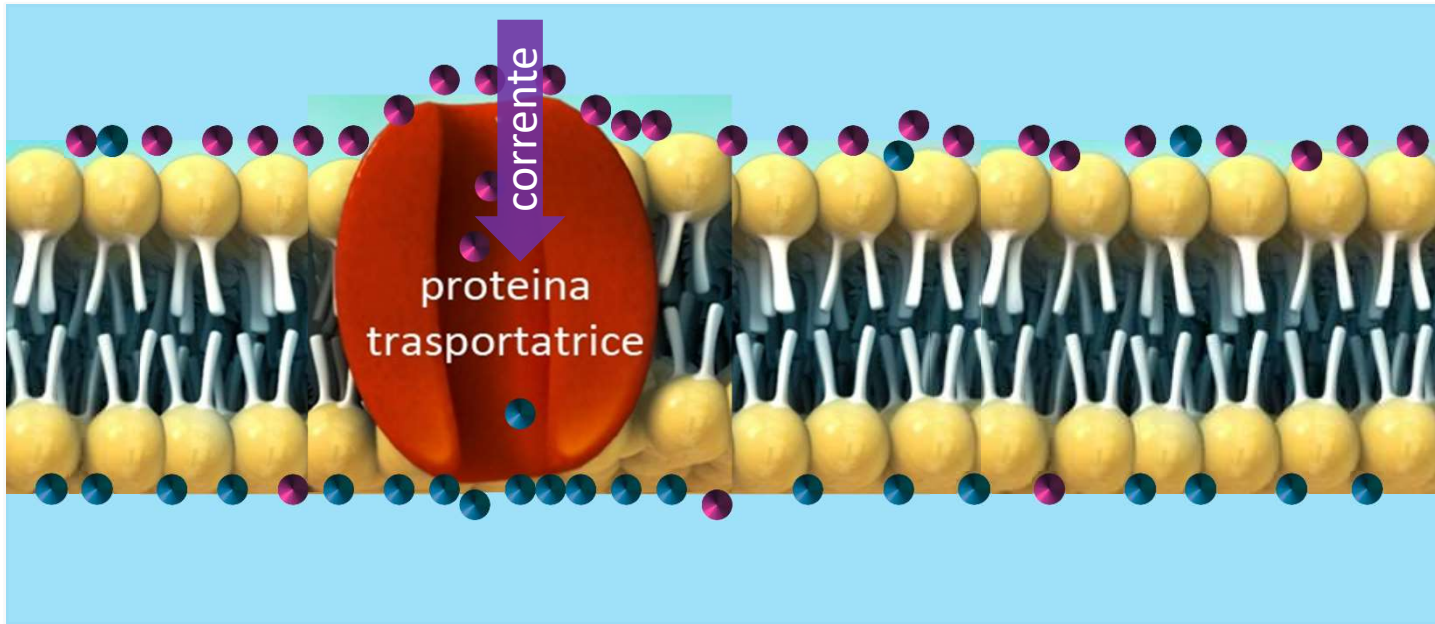
L'importanza del potenziale di Nernst sta nel fatto che dipende solo dalle concentrazioni, facilmente misurabili, mentre non dipende dai coefficienti di diffusione o mobilità.

## Trasporto passivo: potenziale di Nernst

Le soluzioni acquose intracellulare ed extracellulare hanno composizioni diverse. In particolare la concentrazione delle specie ioniche varia molto fra l'interno e l'esterno delle cellule e a ciò corrisponde un potenziale di Nernst per ciascuna specie.

Specie ionica	Muscolo (rana)			Nervo (assone calamaro)		
	Intracellulare [mmol/cm <sup>3</sup> ]	Extracellulare [mmol/cm <sup>3</sup> ]	Potenziale di Nernst a 20 °C [mV]	Intracellulare [mmol/cm <sup>3</sup> ]	Extracellulare [mmol/cm <sup>3</sup> ]	Potenziale di Nernst a 20 °C [mV]
K <sup>+</sup>	124.0	2.2	-100.8	397	20	-74.7
Na <sup>+</sup>	4.0	109.0	82.6	50	437	54.2
Cl <sup>-</sup>	1.5	77.0	-98.5	40	556	-65.8

## Il modello a conduttanze parallele



Il precedente calcolo si riferisce alla generica specie ionica  $p$ . In realtà tutte le specie assieme contribuiscono a formare il potenziale di transmembrana.

Inoltre, dove non ci sono canali ionici, la membrana cellulare si comporta come un condensatore. Infatti, il doppio strato di fosfolipidi è un ottimo isolante ( $\epsilon_r \approx 10$ ,  $\sigma \approx 10^{-1} \text{ S/m}^2$ ) ed approssimando la struttura come un condensatore a piani paralleli, considerando uno spessore di circa 10 nm, si ottiene una capacità per unità di superficie di circa  $1 \mu\text{F/cm}^2$ .

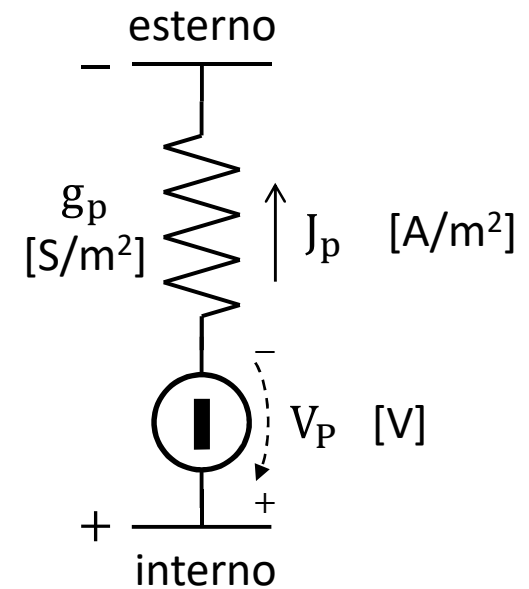
Per tenere conto di tutti questi effetti contemporanei, si introduce quindi il modello a conduttanze parallele.

## Il modello a conduttanze parallele

Con riferimento ad una particolare specie ionica  $p$ , l'idea è descrivere una porzione di membrana cellulare (*patch*) come un generatore di tensione equivalente, caratterizzato da una tensione a vuoto e da una conduttanza interna.

La tensione a vuoto è il potenziale di Nernst della relativa specie ionica.

La conduttanza interna descrive invece la conducibilità della porzione di membrana alla particolare specie ionica. All'aumentare dell'area della *patch*, aumenta la conducibilità, perché aumentano i canali ionici; per questo la conduttanza interna è espressa per unità di superficie.



---

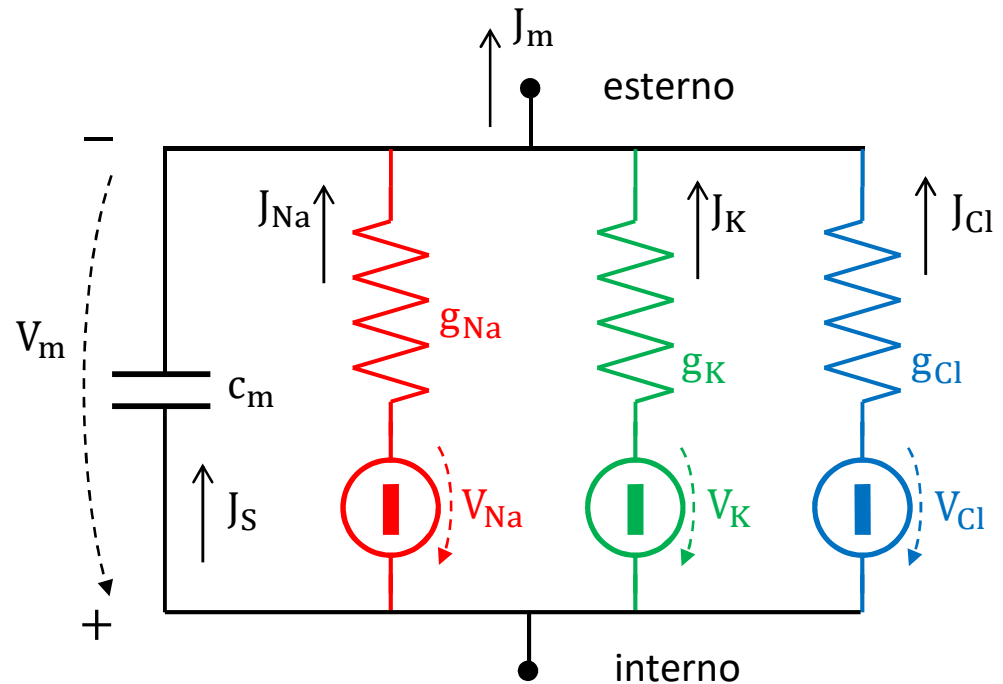
N.B.: si faccia attenzione ai segni della tensione ed al verso della corrente. Il segno positivo della tensione è posto verso l'interno perché per convenzione il potenziale di Nernst e quello di trasmembrana sono il potenziale **intracellulare** meno quello **extracellulare**. Allora la corrente (per convenzione di cariche positive) è positiva se va dall'interno all'esterno, perché a ciò corrisponde la dissipazione di potenza attraverso la conduttanza.

## Il modello a conduttanze parallele

La membrana cellulare è allora descritta elettricamente come il parallelo dei generatori equivalenti (uno per ogni specie ionica) e di un condensatore che descrive la capacità intrinseca della membrana.

Per ciascuna specie ionica si ha:

$$J_p = g_p(V_m - V_p)$$



**All'equilibrio** la densità di corrente totale  $J_m$  che fluisce attraverso la membrana è nulla, e la tensione di trans-membrana  $V_m$  è costante, perciò si ha:

$$J_m = J_S + J_{Na} + J_K + J_{Cl} = 0, \quad J_S = c_m \frac{dV_m}{dt} = 0 \quad \Rightarrow \quad J_{Na} + J_K + J_{Cl} = 0$$

# Il modello a conduttanze parallele

L'ultima condizione ha due possibili soluzioni.

**Prima soluzione:**  $J_p = 0$  per ogni specie ionica  $p$  (equilibrio di Donnan).

Questa soluzione implica che sia  $V_m = V_{Na} = V_K = V_{Cl}$ , ma questa condizione implicherebbe delle concentrazioni non fisiologiche delle specie ioniche.

**Seconda soluzione:**  $g_{Na}(V_m - V_{Na}) + g_K(V_m - V_K) + g_{Cl}(V_m - V_{Cl}) = 0$

Da questa relazione si trova il potenziale di equilibrio di trans-membrana:

$$V_m = \frac{g_{Na}V_{Na} + g_KV_K + g_{Cl}V_{Cl}}{g_{Na} + g_K + g_{Cl}}$$

che corrisponde alla media dei potenziali di Nernst delle specie ioniche pesati dalle rispettive conduttanze.

## Il modello a conduttanze parallele

L'aspetto più critico del modello a conduttanze parallele è il valore delle conduttanze. Questo deve essere stimato mediante misure o attraverso altri modelli e in generale, come sarà più chiaro nel seguito, tale valore non è neanche costante, ma dipende dalla tensione applicata.

A titolo di esempio, per **l'assone gigante del calamaro** i valori delle conduttanze all'equilibrio sono all'incirca i seguenti:

$$g_{\text{Na}} \approx 0.01 \text{ mS/cm}^2, \quad g_{\text{K}} \approx 0.41 \text{ mS/cm}^2, \quad g_{\text{Cl}} \approx 0.58 \text{ mS/cm}^2$$

dai quali (usando i potenziali di Nernst riportati in tabella) si ottiene  $V_m \approx -68.3 \text{ mV}$ .

Ne consegue che le specie ioniche sono soggette a densità di corrente pari a

$$J_{\text{Na}} \approx -1.2 \text{ }\mu\text{A/cm}^2, \quad J_{\text{K}} \approx 2.6 \text{ }\mu\text{A/cm}^2, \quad J_{\text{Cl}} \approx -1.4 \text{ }\mu\text{A/cm}^2$$

A questi valori corrispondono un flusso entrante di ioni di sodio, uno uscente di ioni di potassio ed uno uscente di ioni di cloro (che sono a carica negativa).



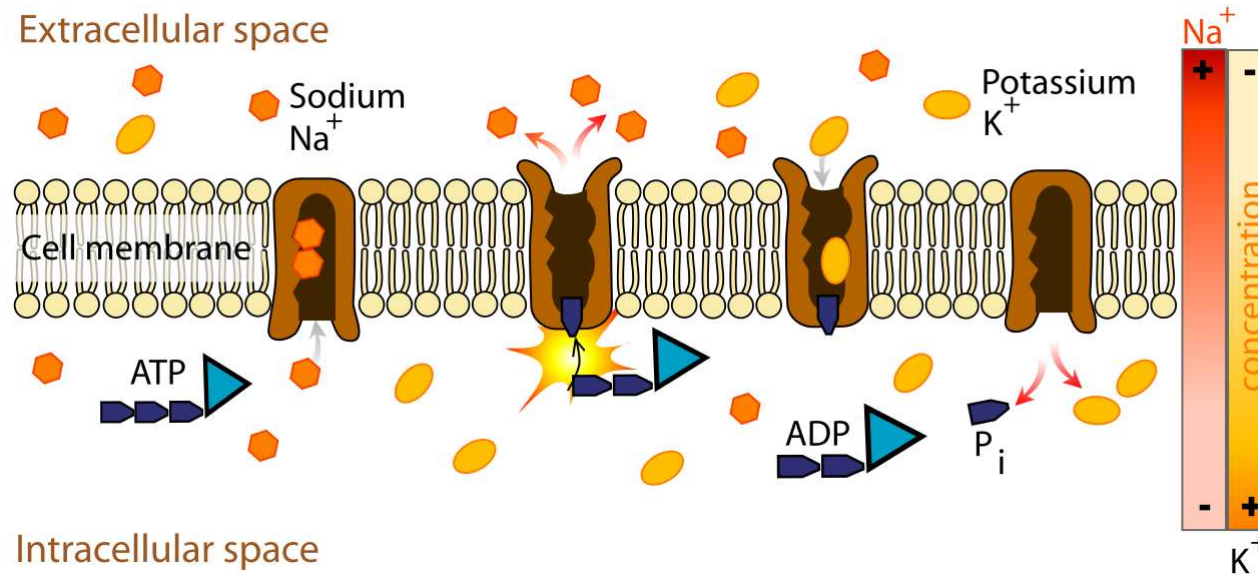
## Trasporto attivo: la pompa sodio-potassio

Nel calcolare la condizione di equilibrio per il trasporto passivo si è tacitamente supposto che le correnti di ioni presenti all'equilibrio non vadano a modificare le concentrazioni intra- ed extra-cellulari. Ovviamente questo in pratica non è possibile, ed è quindi necessario un meccanismo che mantenga costanti le concentrazioni effettuando un trasporto inverso. Questo trasporto avviene "contro" il potenziale elettrochimico e quindi la cellula deve consumare energia per realizzarlo.

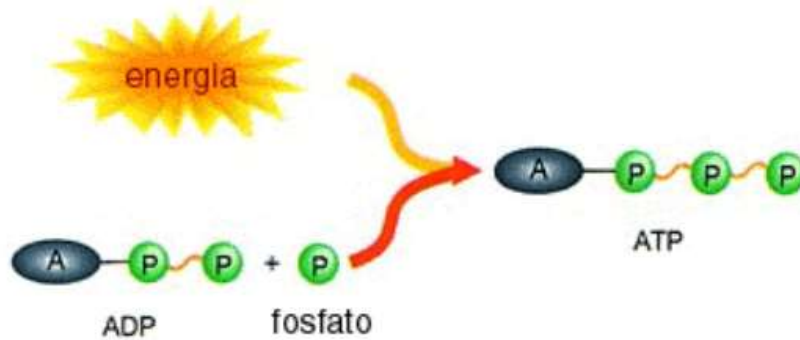
Dei vari meccanismi di trasporto attivo il più importante è la **pompa sodio-potassio**, messa in atto da particolari canali della membrana cellulare, i quali sono in grado di trasportare 3 ioni  $\text{Na}^+$  fuori dalla cellula e 2 ioni  $\text{K}^+$  dentro la cellula. L'energia necessaria è ottenuta dalla idrolisi dell'ATP (adenosina-trifosfato) che produce una molecola di ADP (adenosina-difosfato) ed uno ione fosfato, oltre all'energia richiesta.

L'idrolisi dell'ATP è usata anche da un altro meccanismo di pompaggio che porta gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  all'esterno della cellula. Infine si segnala la presenza anche di canali detti di "co-trasporto" che sfruttano il potenziale elettrochimico di alcune specie ioniche per trasportare altre sostanze attraverso la membrana cellulare.

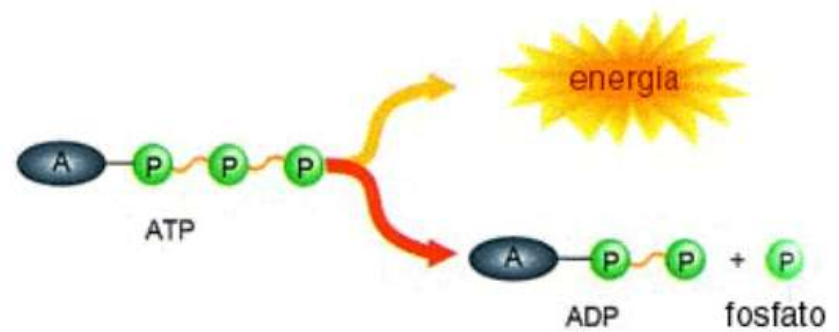
# Trasporto attivo: la pompa sodio-potassio



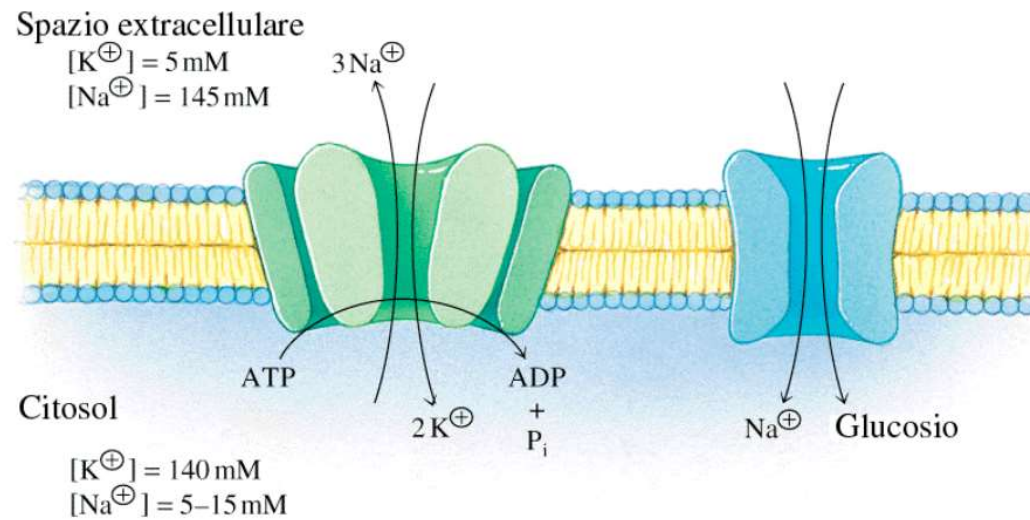
**Sintesi di ATP: l'energia è immagazzinata nell'ATP**



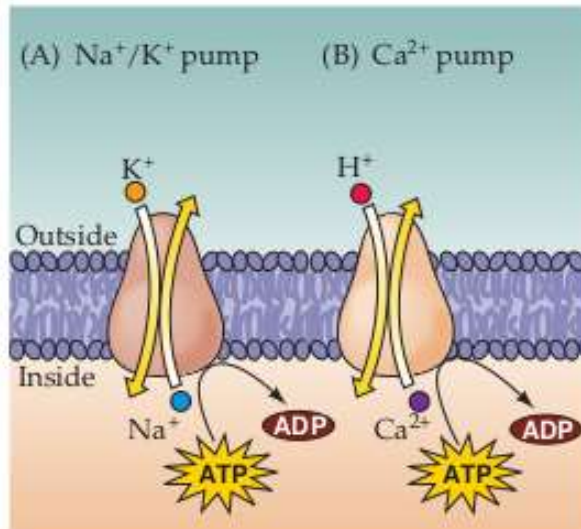
**Rottura dell'ATP: l'energia dell'ATP è rilasciata**



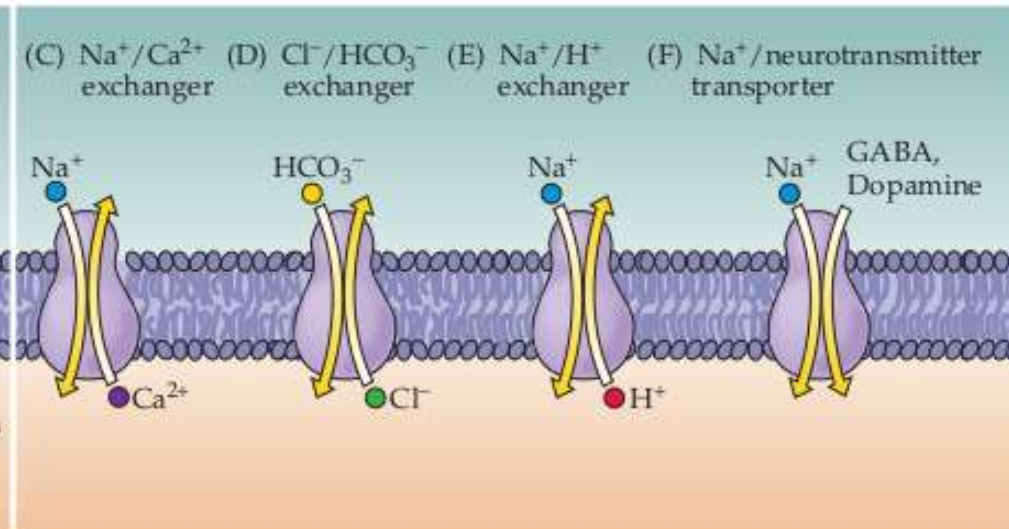
# Trasporto attivo: altri esempi



## ATPase PUMPS



## ION EXCHANGERS



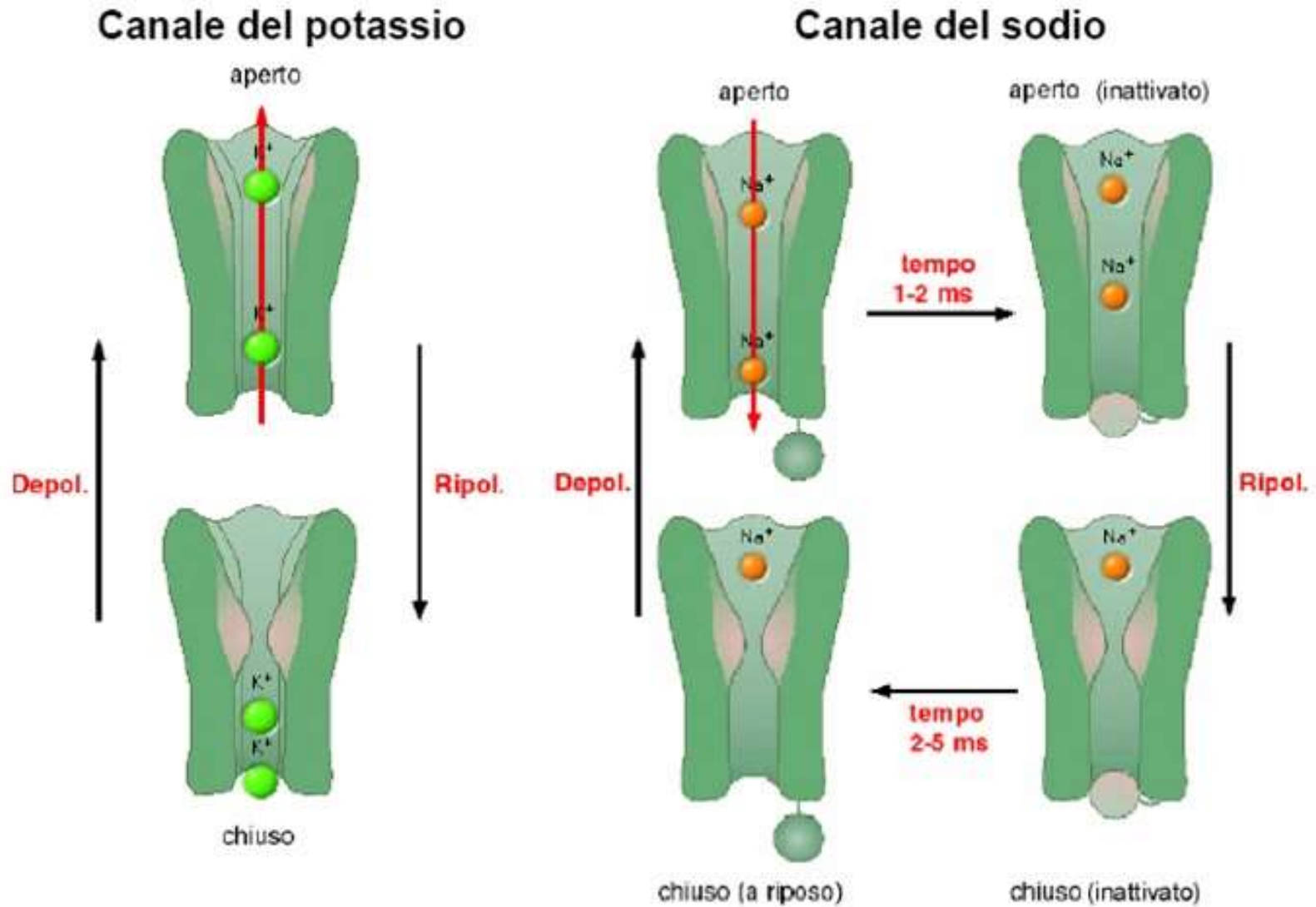
# Canali di trasporto controllati dalla tensione

Nell'analisi svolta finora si è dato per scontato che i canali ionici forniti dalle proteine trasportatrici possano essere descritti da una particolare conduttanza. La realtà è però più complessa; vi sono infatti molti canali ionici la cui conduttanza dipende dalla tensione alla quale sono sottoposti. Particolarmente importanti sono i canali del potassio e del sodio.

- **Canali del potassio:** alla tensione di trans-membrana di equilibrio, se il canale è "chiuso", non fluiscono ioni. Se la tensione aumenta, fenomeno detto di **depolarizzazione**, superata una certa soglia il canale si "apre" permettendo il flusso di ioni  $K^+$ .
- **Canali del sodio:** come i canali del potassio, si aprono in presenza di una depolarizzazione. Tuttavia, una volta aperto il canale passa spontaneamente e con un certo ritardo (circa 1-2 ms) in un stato detto "inattivo", nel quale il canale è sostanzialmente chiuso. Anche dopo la ri-polarizzazione il canale resta inattivo per un certo tempo prima di tornare chiuso ma attivo (cioè "apribile").

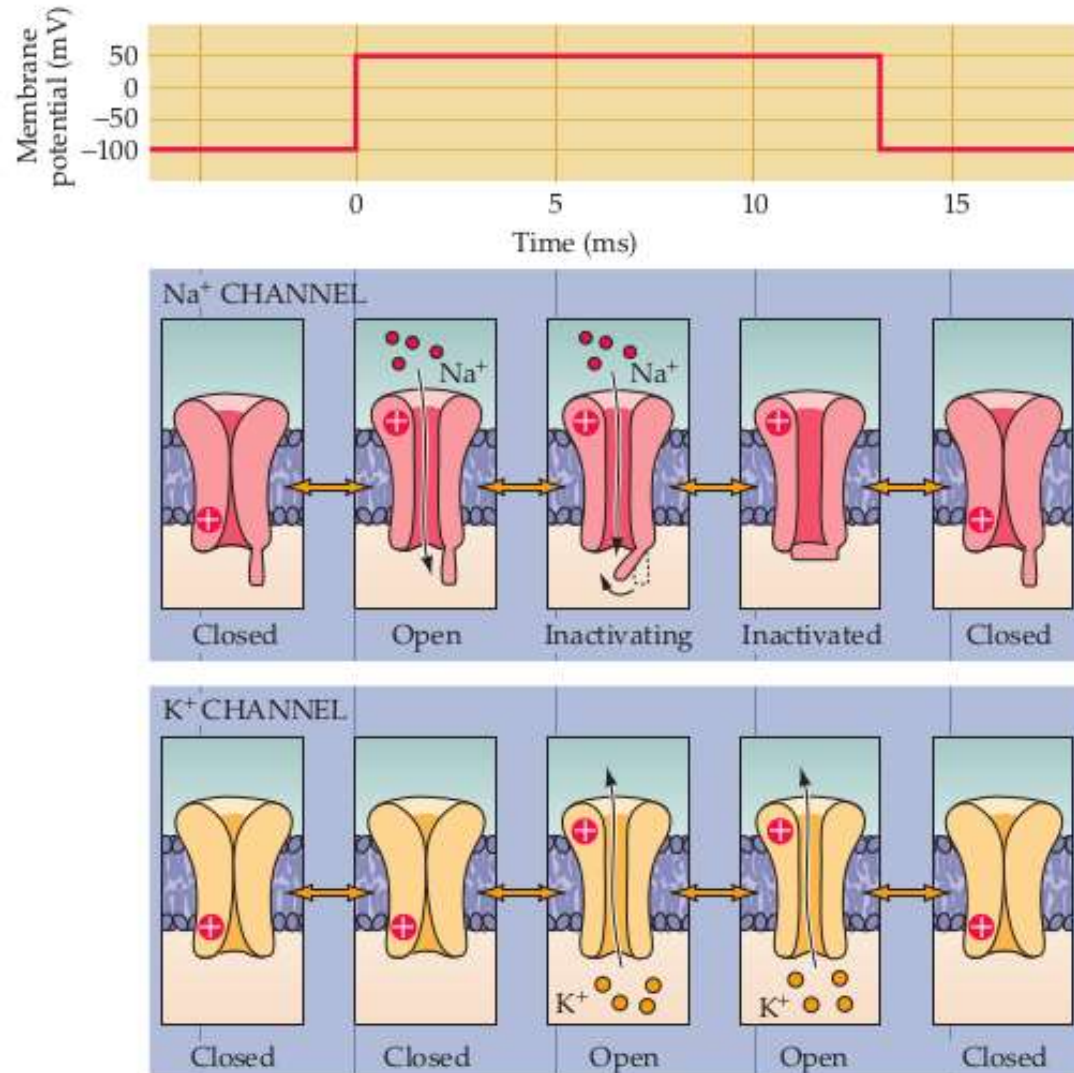
La scoperta di questi meccanismi ha richiesto un notevole sforzo scientifico e a tutt'oggi non tutti i dettagli sono chiariti. Gli esperimenti che hanno portato alle prime conclusioni sulla struttura della membrana cellulare e dei canali ionici furono effettuati da Hodgkin e Huxley negli anni '50 sui neuroni «giganti» dei calamari.

# Canali di trasporto controllati dalla tensione





# Canali di trasporto controllati dalla tensione



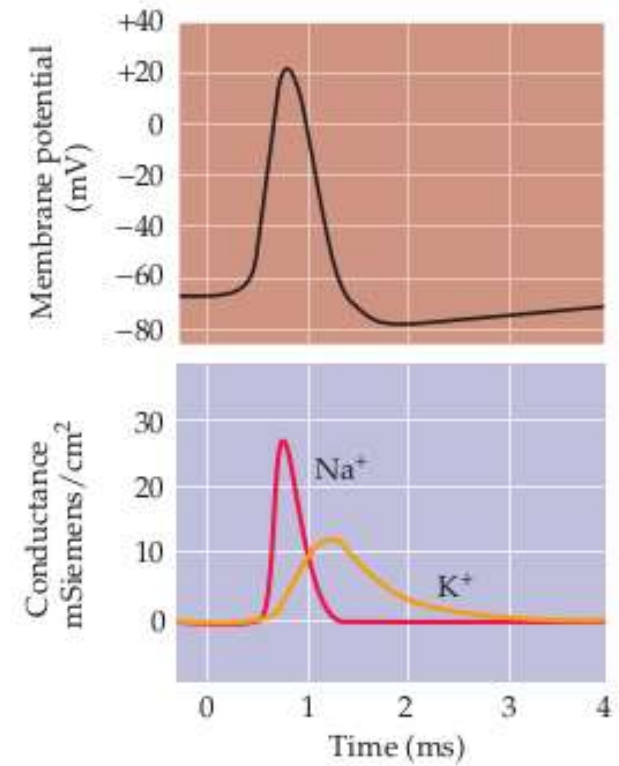
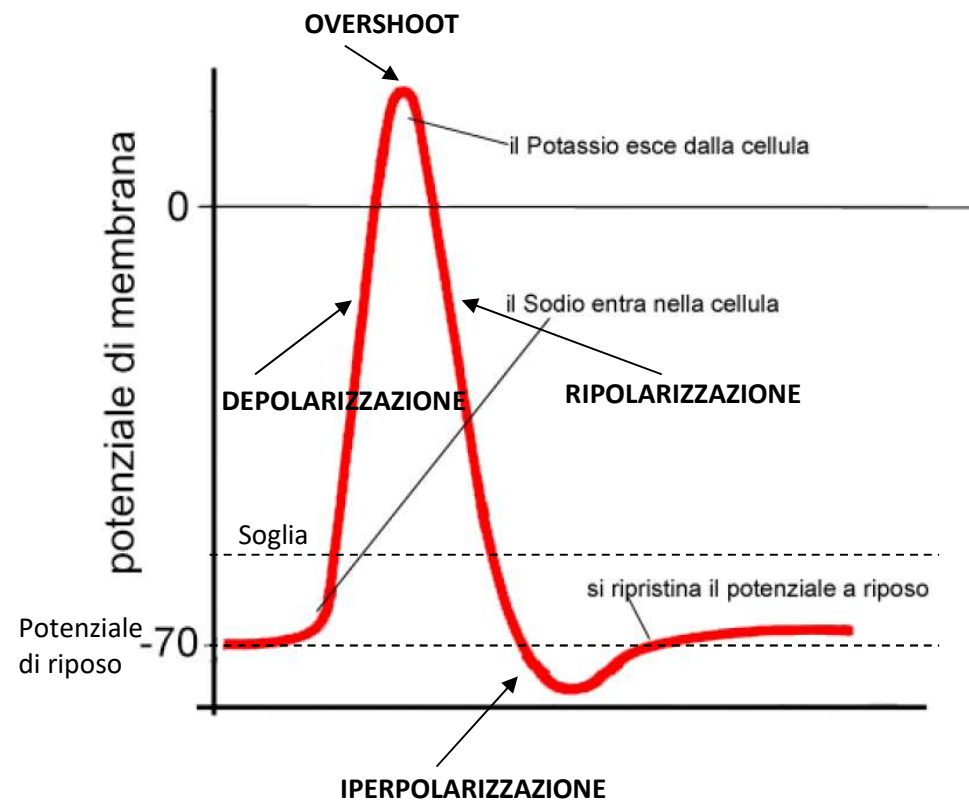
Fonte: Neuroscience, Sinauer Associates Inc. (2004)

# Il potenziale di azione

Il **potenziale d'azione** è ciò che viene comunemente chiamato un "impulso nervoso". Si tratta di un impulso elettrico che il neurone è in grado di generare in risposta ad uno stimolo sufficientemente elevato. Consiste di 4 fasi (si vedano le figure successive):

1. **Depolarizzazione.** Uno stimolo elettrico esterno del segno giusto (corrente entrante nella cellula) induce l'innalzamento della tensione di trans-membrana (depolarizzazione). Se lo stimolo è sufficientemente intenso molti canali di sodio si aprono aumentando l'afflusso di corrente, contribuendo così all'innalzamento ulteriore della tensione.
2. **Overshoot.** L'innalzamento della tensione di trans-membrana porta all'apertura dei canali del potassio. L'efflusso di ioni potassio dalla cellula bilancia la depolarizzazione dovuta all'afflusso di ioni di sodio. Inoltre, dopo la loro apertura i canali del sodio iniziano a passare spontaneamente nello stato inattivo, bloccando l'ulteriore afflusso di sodio. La depolarizzazione raggiunge un valore massimo.
3. **Ripolarizzazione.** L'apertura dei canali del potassio e la chiusura (inattività) di quelli del sodio porta ad una repentina riduzione della tensione di trans-membrana.
4. **Iperpolarizzazione.** La "irruenza" della fase di ri-polarizzazione causa una iperpolarizzazione della membrana, la cui tensione scende sotto il valore di equilibrio. I canali del sodio e del potassio sono chiusi e l'equilibrio è ripristinato dalla pompa sodio-potassio.

# Potenziale di azione





# Potenziale d'azione

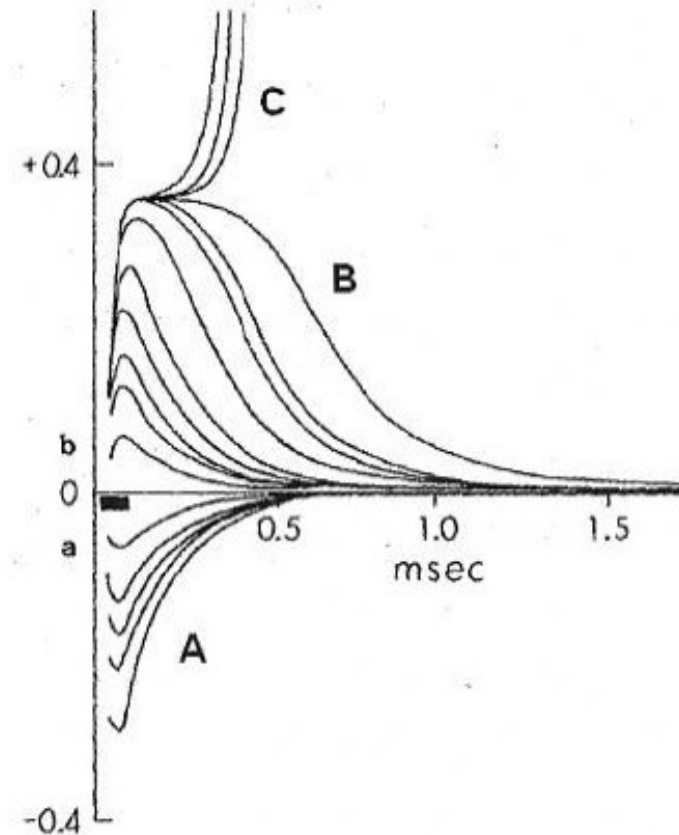
Il potenziale di azione (PA) ha alcune caratteristiche fondamentali.

1. Forma e durata del PA sono sostanzialmente indipendenti dalla forma dello stimolo. Di fatto la forma del PA è data dal potenziale elettrochimico di membrana e dalla dinamica dei canali del sodio e del potassio; lo stimolo iniziale serve solo ad innescare il fenomeno. Per questo si dice che il PA è un fenomeno "tutto o niente".
2. L'intensità e la durata dello stimolo influenzano il ritardo con cui si innesca il PA.
3. Dopo l'*overshoot* inizia un periodo **refrattario** durante il quale il neurone non può generare un altro PA. Una prima fase del periodo è di refrattarietà **assoluta** e corrisponde al periodo in cui i canali del sodio sono inattivi. Successivamente, all'incirca durante la fase di iper-polarizzazione, vi è un periodo di refrattarietà **relativa** durante la quale un nuovo PA può essere generato a patto che lo stimolo sia sufficientemente intenso da compensare l'iper-polarizzazione.
4. A causa del periodo refrattario, i PA hanno una frequenza massima di ripetizione.

# Potenziale d'azione

Relazione stimolo-risposta:

- A. Stimoli che iper-polarizzano la membrana ( $I$  uscente e di durata finita) generano una variazione repentina di  $V_m$  che torna sempre al valore di riposo.
- B. Stimoli che depolarizzano la membrana ( $I$  entrante e di durata finita) generano una variazione repentina di  $V_m$  che torna al valore di riposo se non si supera il valore di soglia di stimolazione.
- C. Stimoli che depolarizzano la membrana di intensità superiore alla soglia generano il potenziale d'azione.



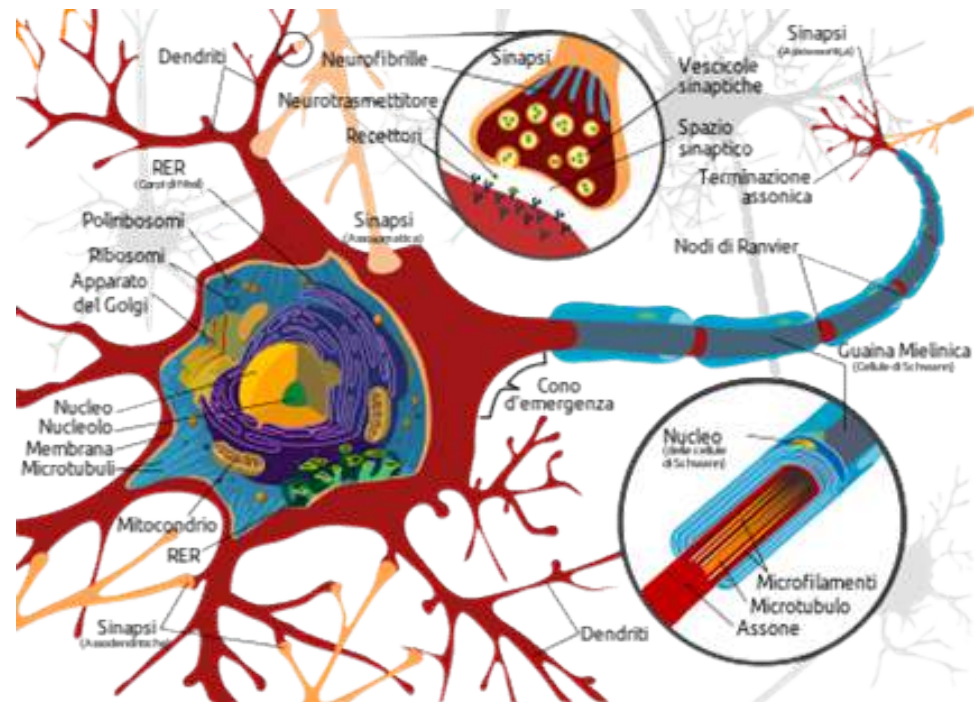
# I neuroni

I neuroni sono le cellule altamente specializzate che costituiscono il sistema nervoso, attraverso cui gli stimoli raggiungono le diverse parti del corpo.

Sono costituiti essenzialmente da 3 strutture:

- 1) **il soma:** corpo centrale
- 2) **i dendriti:** fitte e brevi (<1mm) ramificazioni del soma, che fungono da recettori;
- 3) **gli assoni:** lunghe ( $\approx 1\text{m}$ ) e sottili ( $<10\mu\text{m}$ ) protuberanze su cui si trasmettono gli stimoli.

I neuroni possono avere una diversa composizione di dendriti ed assoni ed una morfologia diversa a seconda della specializzazione funzionale della cellula.



# I neuroni

L'assone è una protuberanza del neurone estremamente lunga ( $\approx 1\text{m}$ ) e sottile ( $<10\mu\text{m}$ ). L'esterno a volte è ricoperto da cellule che formano una guaina, detta mielinica (sostanza grassa).

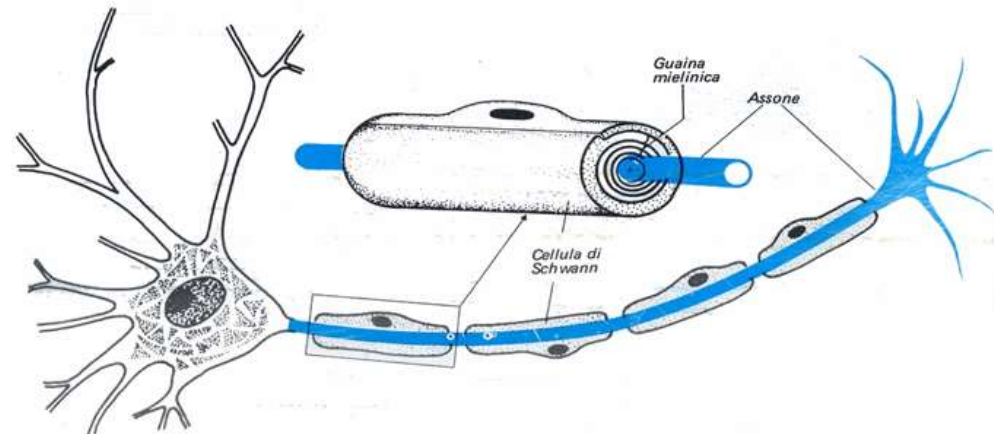
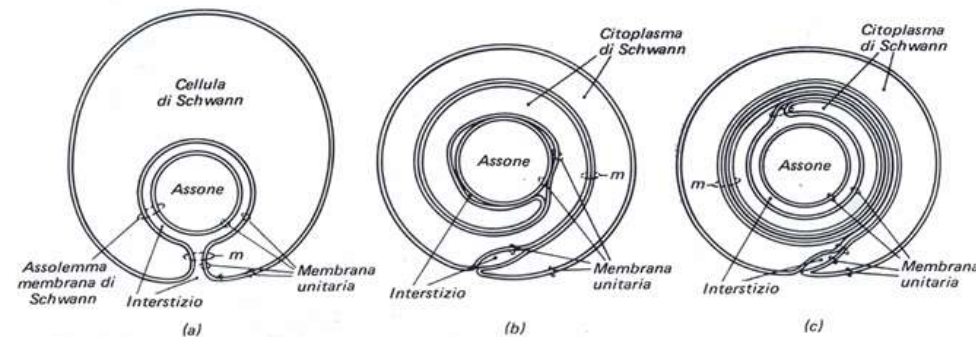
A seconda della presenza o assenza della guaina l'assone

viene detto:

**1) Mielinico**

**2) A-mielinico**

Lo strato mielinico, se presente, ricopre l'assone a tratti (di circa  $200\mu\text{m}$ ) separati da brevi tratti non ricoperti detti "nodi di Ranvier".



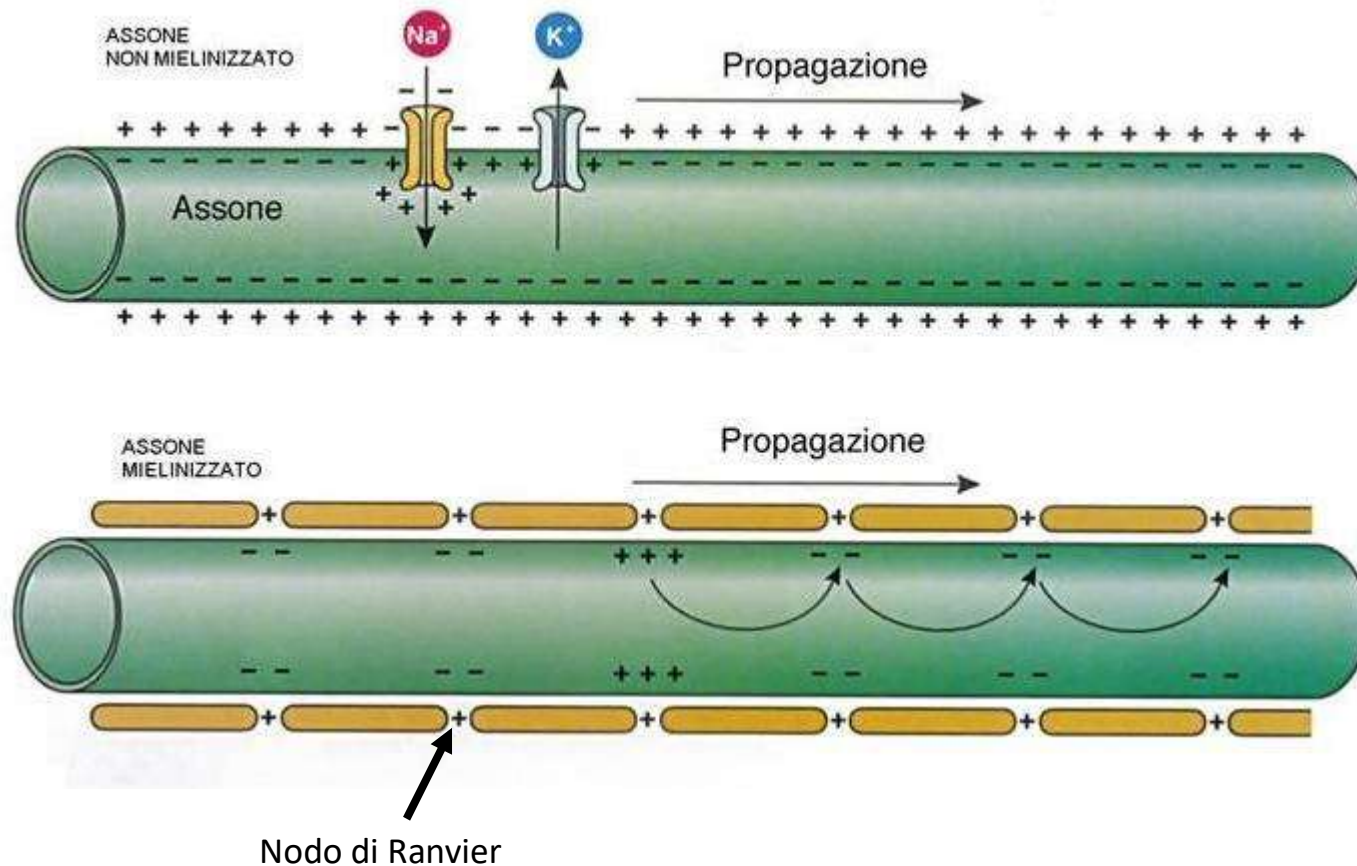
Disegni schematici che illustrano gli stadi successivi nella formazione della guaina mielinica. Notare che la linea intraperiodo origina dall'apposizione delle due superfici esterne della membrana unitaria del mesassone e la linea densa maggiore dall'apposizione delle superfici interne (citoplasmatiche) degli avvolgimenti concentrici del mesassone (m) (da J.D. Robertson).

# I neuroni

La guaina mielinica modifica sostanzialmente le proprietà elettriche dell'assone.

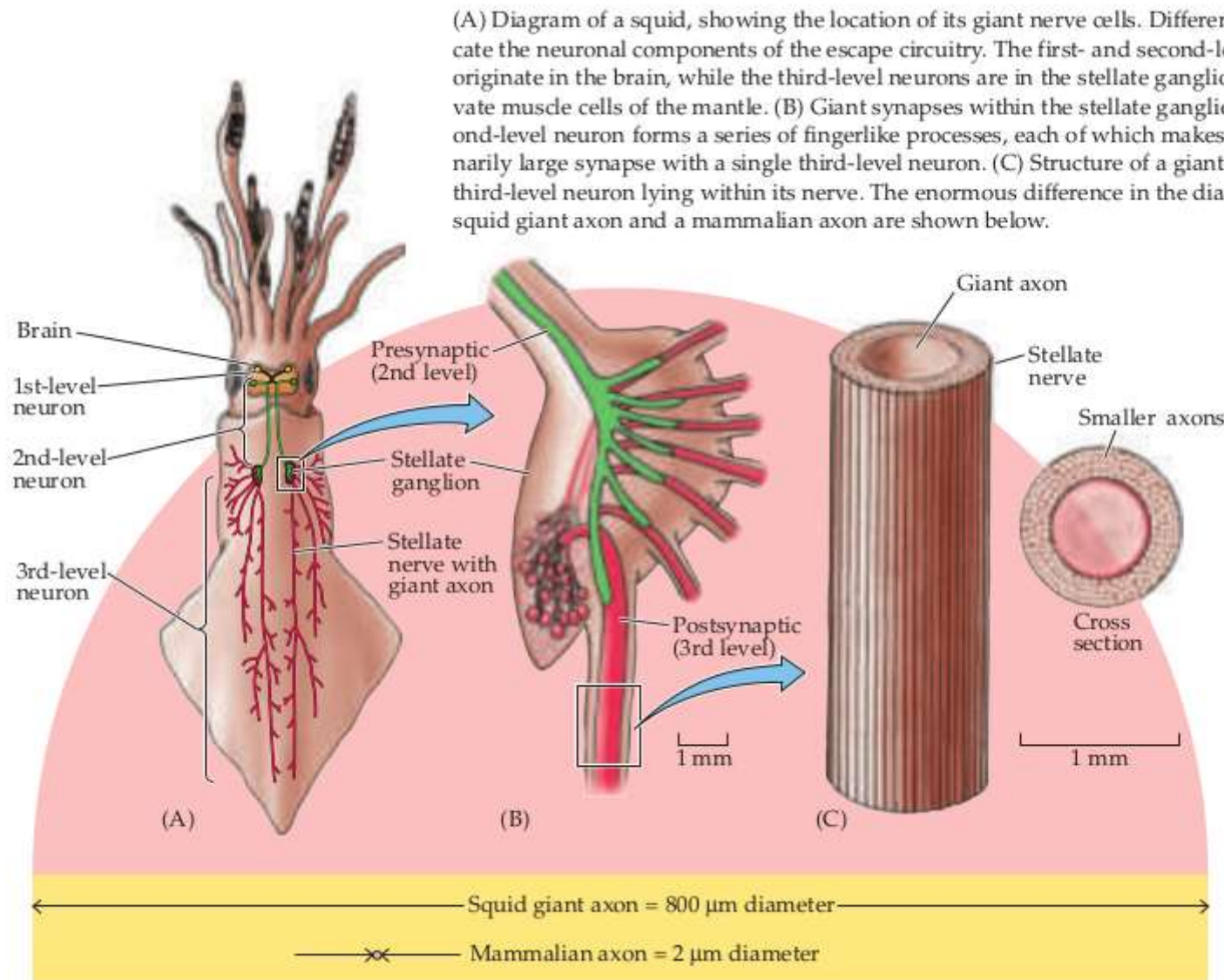
Nell'assone a-mielinico lo scambio ionico avviene lungo tutta la membrana cellulare.

Nell'assone mielinico lo scambio ionico avviene solo sui nodi di Ranvier.





# L'assone gigante del calamaro



Fonte: Neuroscience, Sinauer Associates Inc. (2004)

## L'esperimento di Voltage-clamp (Cole 1947, HH 1952)

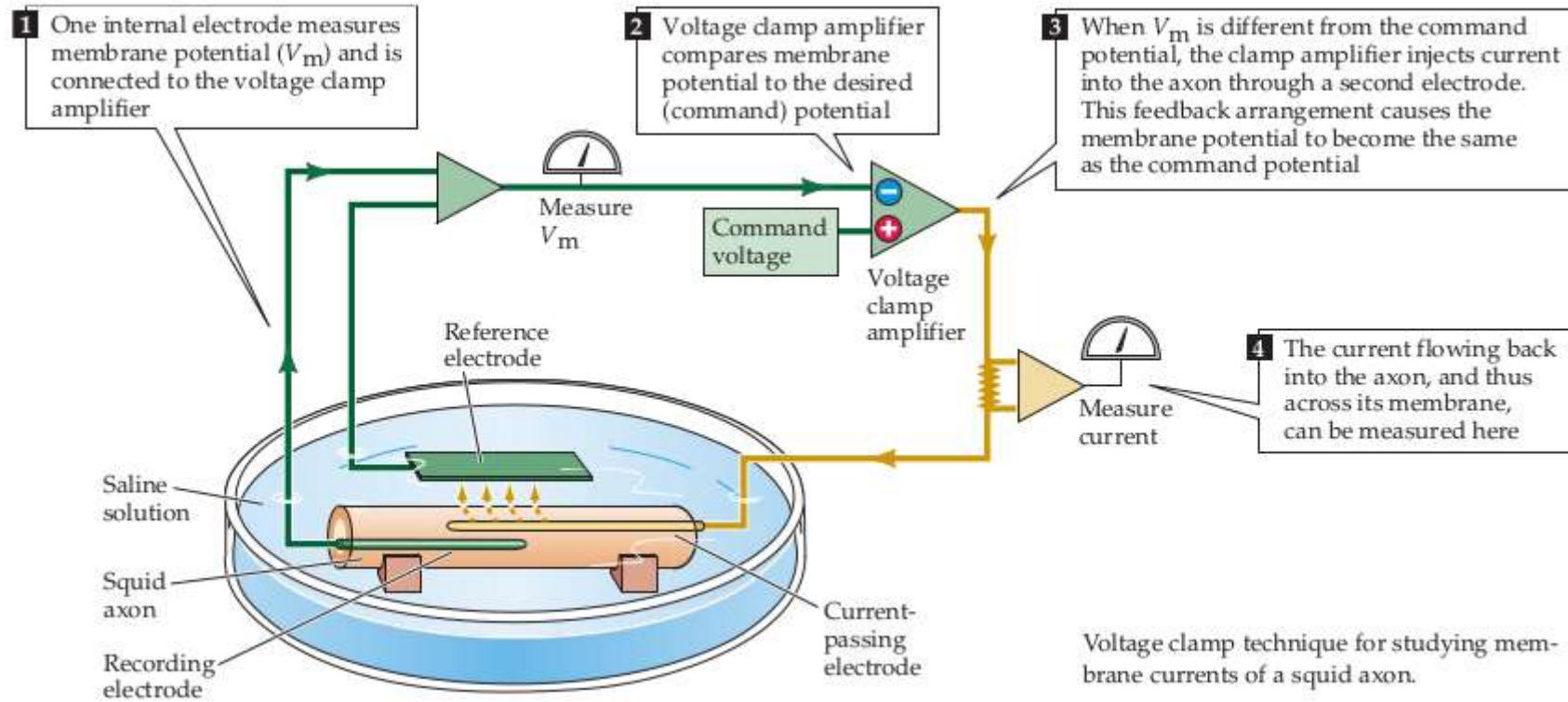
Nei loro esperimenti sull'assone gigante del calamaro, Hodgkin e Huxley (HH) usarono il modello a conduttanze parallele come modello di riferimento e cercarono di valutare i valori delle conduttanze sperimentalmente. Risultò evidente, però, che le conduttanze non hanno valori definiti, ma si comportano piuttosto come sistemi complessi con una risposta temporale che dipende dalla intensità dello stimolo (ovvero dalla tensione applicata alla membrana).

Oggi sappiamo che questo comportamento è dovuto ai canali del sodio e del potassio controllati dalla tensione.

Per quantificare sistematicamente la conduttanza della membrana alle varie specie ioniche, HH applicarono il metodo del **voltage-clamp**; in termini sistemistici, di fatto eccitarono la membrana cellulare con gradini di tensione misurando nel contempo la risposta del sistema.

Variando in maniera controllata le concentrazioni ioniche nell'ambiente extracellulare (ovvero il bagno in cui era immerso l'assone) furono in grado di isolare anche i contributi alla risposta dovuti alle diverse specie ioniche.

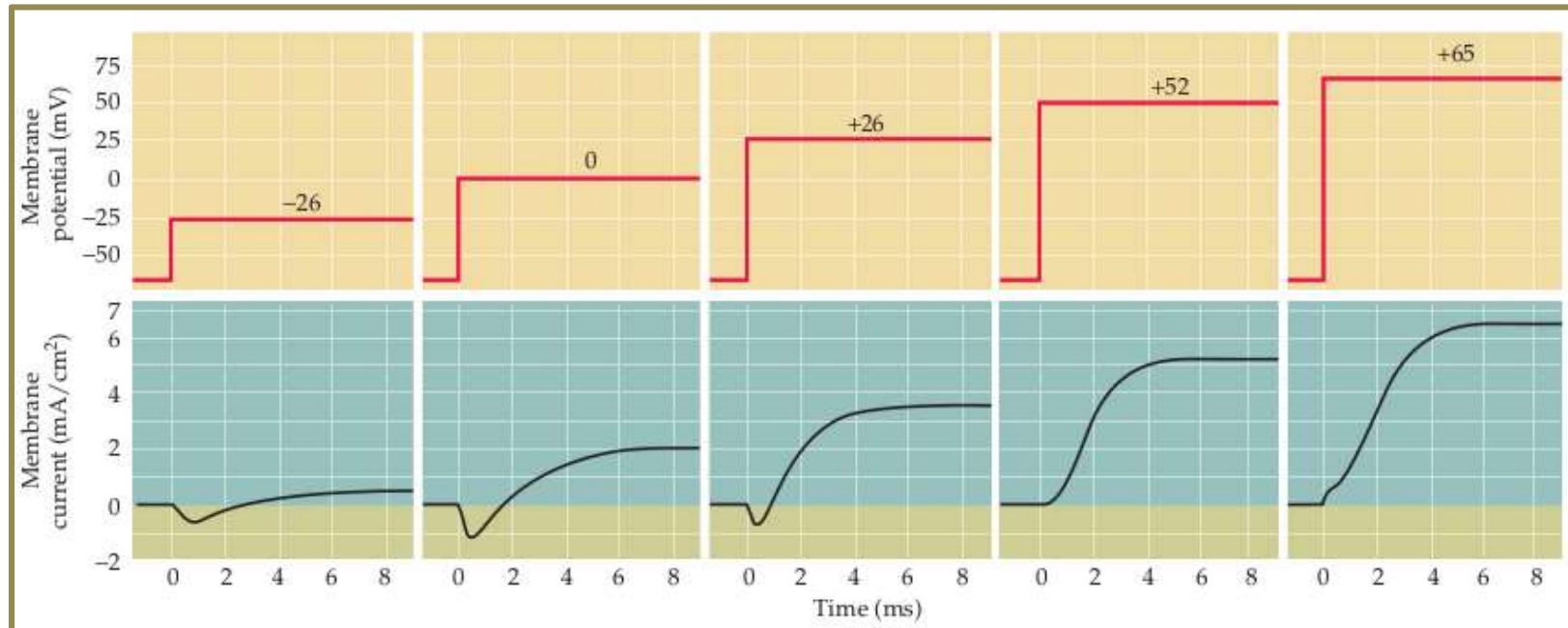
# Voltage-clamp



Fonte: Neuroscience, Sinauer Associates Inc. (2004)

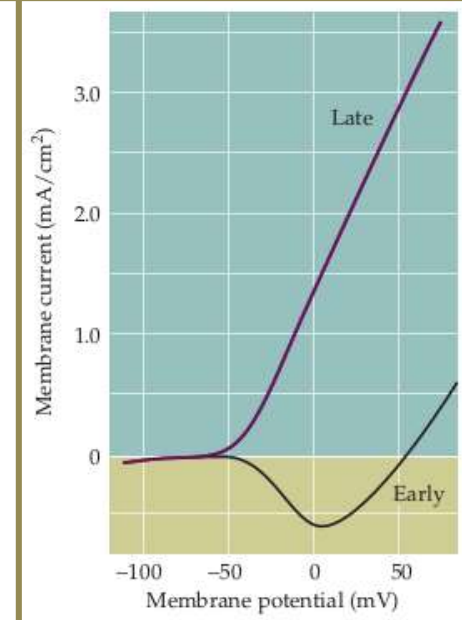


# Voltage-clamp



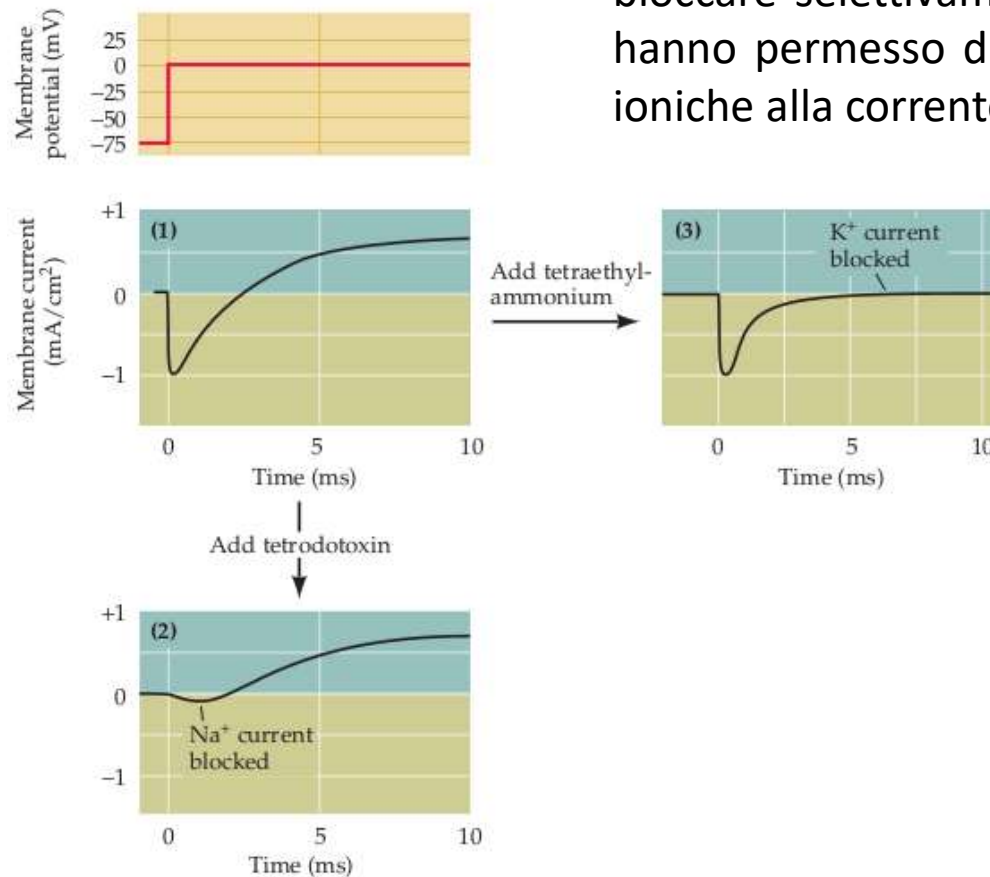
Fonte: Neuroscience, Sinauer Associates Inc. (2004)

- La risposta al gradino tende ad un valore asintotico di equilibrio; la pendenza della relativa curva tensione-corrente ("late" nel grafico a dx) dà la conduttanza in questa condizione di equilibrio.
- Negli istanti immediatamente successivi al gradino, la membrana ha una risposta fortemente dipendente dall'ampiezza dello stimolo; per stimoli bassi si manifesta un "undershoot" che tende a sparire per stimoli più intensi (curva "early").



# Voltage-clamp

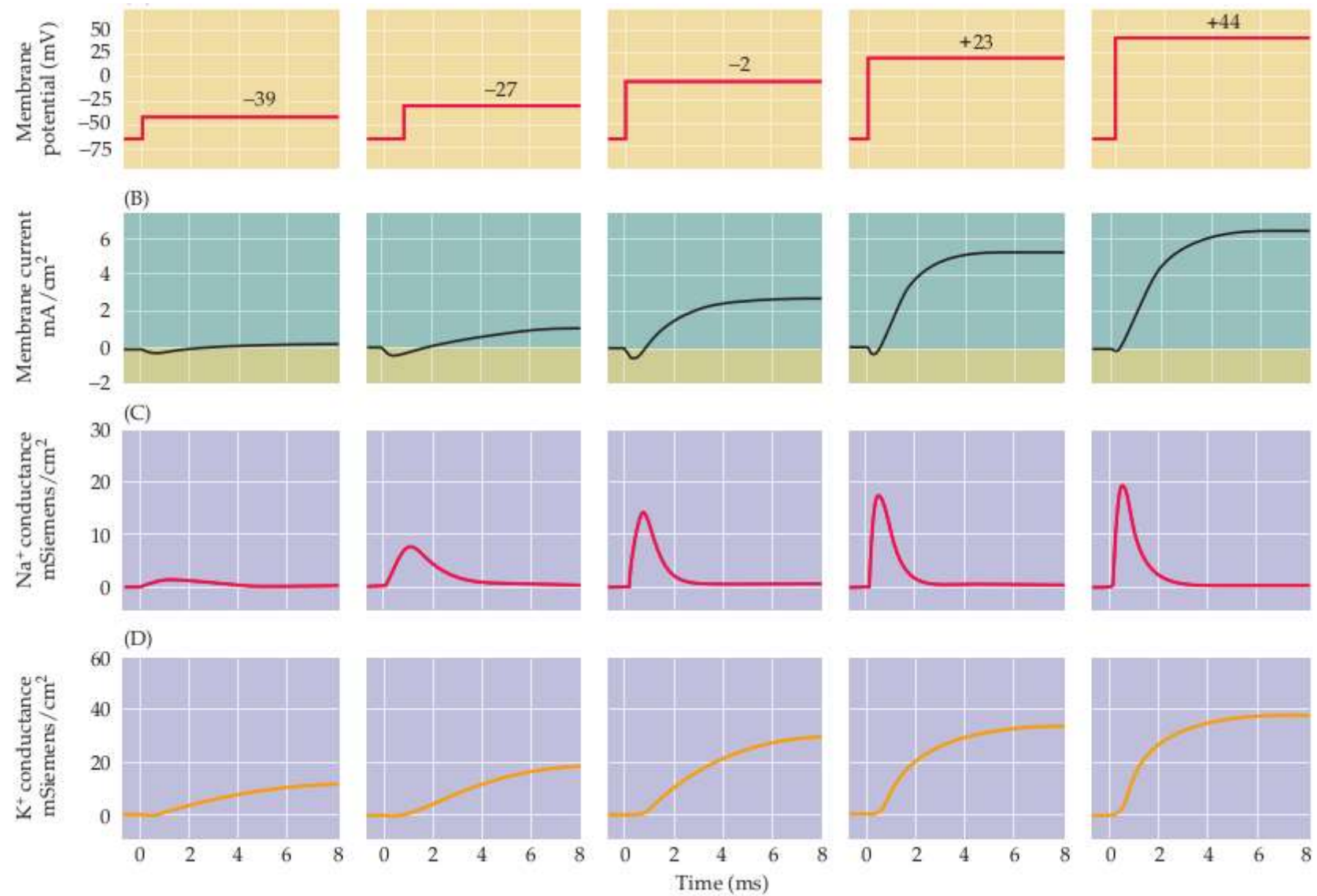
Studi successivi, basati sull'uso di tossine in grado di bloccare selettivamente i canali del sodio o del potassio, hanno permesso di isolare il contributo delle due specie ioniche alla corrente totale.



Il sodio (curva "K<sup>+</sup> blocked") dà una corrente entrante, ovvero negativa secondo la convenzione adottata finora. Il flusso di sodio ha un andamento "impulsivo" come conseguenza del fatto che i canali del sodio diventano spontaneamente inattivi dopo pochi millisecondi (si vedano le relative conduttanze nella figura successiva).

Il potassio (curva "Na<sup>+</sup> blocked") dà una corrente uscente, ovvero positiva secondo la convenzione adottata finora. Inoltre, il flusso di potassio è responsabile dell'andamento asintotico della risposta complessiva (i relativi canali restano aperti; si vedano le relative conduttanze nella figura successiva).

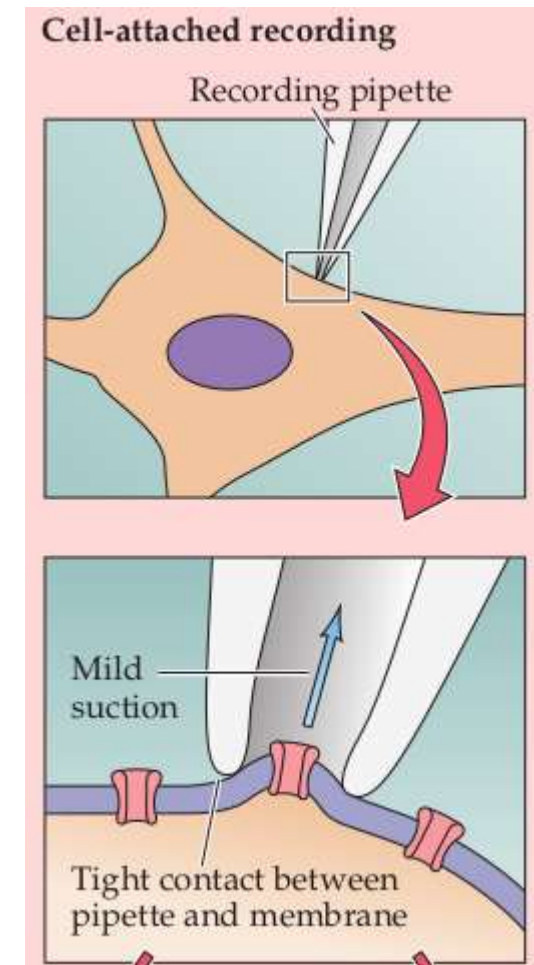
# Voltage-clamp



# Patch-clamp

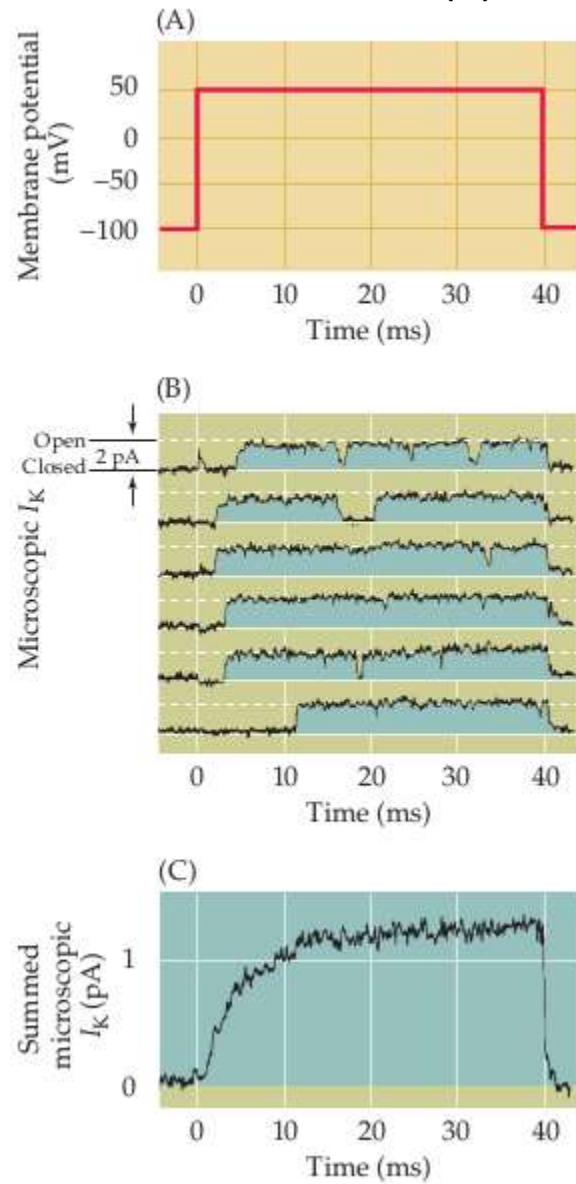
Negli anni '70 è stata sviluppata una evoluzione dell'esperimento di voltage-clamp, detta **patch-clamp**, che consiste nell'isolare un singolo canale ionico mediante una pipetta di dimensione opportuna, così da applicare l'esperimento di voltage-clamp al singolo canale invece che all'intero assone. La principale difficoltà pratica di questo metodo è la bassissima corrente che fluisce attraverso il singolo canale (nell'ordine dei pA, ovvero  $10^{-12}$  A)

Gli esperimenti di patch-clamp hanno permesso di affinare la conoscenza dei canali ionici controllati da tensione, mettendo in evidenza che in realtà, quando è sottoposto ad una opportuna depolarizzazione, il singolo canale non si apre stabilmente, ma oscilla aleatoriamente tra lo stato aperto e quello chiuso. Le curve tensione-corrente mostrate nella slide precedente sono il risultato del comportamento "medio" di tutti i canali.

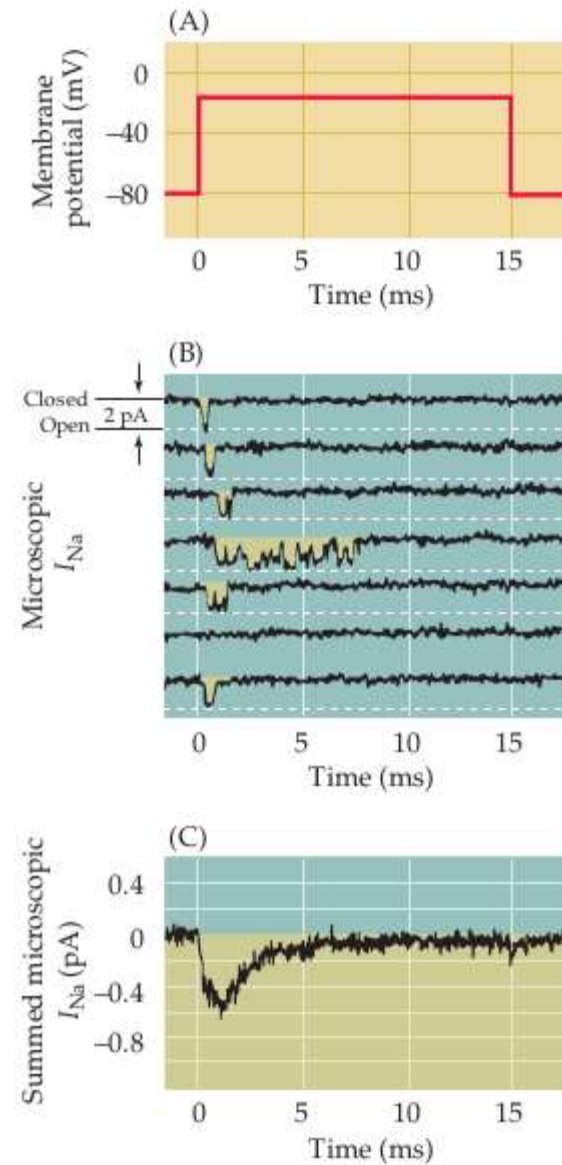


# Patch-clamp

## Potassio (K)



## Sodio (Na)



## Il modello HH: canali del potassio

Basandosi su questi risultati HH svilupparono un modello matematico in grado di descrivere quantitativamente la generazione dei potenziali di azione.

HH ipotizzarono che i canali del potassio fossero costituiti da 4 unità e che il canale fosse aperto solo se lo erano tutte e 4 queste unità (l'ipotesi è stata confermata da successive analisi della proteina che realizza i canali del potassio).

Di conseguenza, detta  $n(t) = E[n_{open}]/N \in [0, 1]$  la frazione di unità aperte all'istante  $t$ , la probabilità di avere un canale aperto (ovvero la *frequenza* dei canali aperti) è  $n^4(t)$ . Quindi, detta  $G_{K,max}$  la massima conduttanza del potassio, la conduttanza istantanea è:

$$g_K(t) = G_{K,max} n^4(t)$$

HH ipotizzarono inoltre una semplice legge per l'evoluzione di  $n(t)$ :

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n$$

ovvero: il numero di unità che si aprono (chiudono) nell'unità di tempo è proporzionale a quelli chiusi (aperti) attraverso un coefficiente  $\alpha_n$  ( $\beta_n$ ) costante nel tempo ma dipendente dalla tensione di trans-membrana. I coefficienti  $\alpha_n$  e  $\beta_n$  hanno dimensioni fisiche di  $s^{-1}$ .



## Il modello HH: canali del potassio

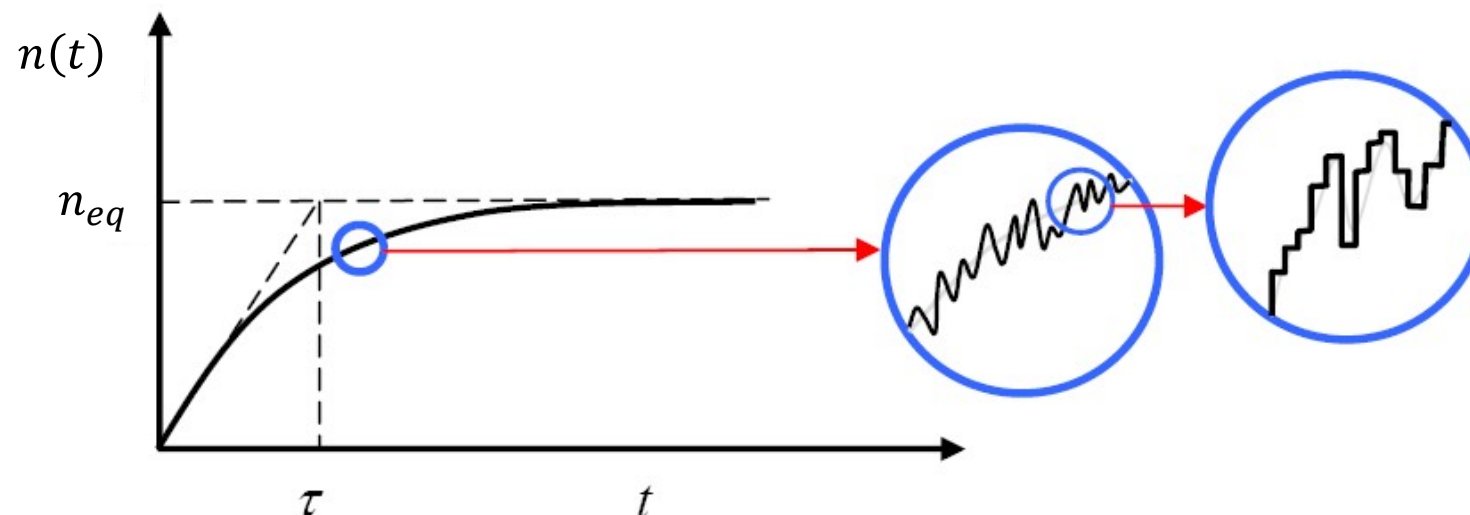
Nell'esperimento di voltage-clamp la tensione applicata è costante (dopo il gradino iniziale), quindi sono costanti i coefficienti  $\alpha_n$  e  $\beta_n$  e la soluzione dell'equazione di evoluzione è:

$$n(t) = n_{eq} - (n_{eq} - n_0)e^{-t/\tau}$$

dove:

$$n_{eq} = \frac{\alpha_n}{\alpha_n + \beta_n}, \quad \tau = \frac{1}{\alpha_n + \beta_n}$$

con  $n_0$  calcolabile dalle condizioni al contorno, ovvero dal potenziale  $V_m$  a riposo prima dell'applicazione dello stimolo.



## Il modello HH: canali del potassio

Dalle misure sperimentali di conduttanza per il potassio è quindi possibile risalire ai parametri del modello, ovvero  $G_{K,max}$ ,  $\alpha_n(V_m)$  e  $\beta_n(V_m)$ . In particolare si osservi che:

$$\alpha_n = \frac{n_{eq}}{\tau} , \quad \beta_n = \frac{(1 - n_{eq})}{\tau}$$

In conclusione HH determinarono empiricamente le seguenti espressioni (i coefficienti  $\alpha$  e  $\beta$  sono in  $ms^{-1}$  e le tensioni in  $mV$ ):

$$\alpha_n = \frac{0.01 [10 - (V_m - V_{eq})]}{\exp\left(\frac{10 - (V_m - V_{eq})}{10}\right) - 1} , \quad \beta_n = 0.125 \exp\left(-\frac{V_m - V_{eq}}{80}\right)$$



## Il modello HH: canali del sodio

Un ragionamento analogo è stato seguito per i canali del sodio. In questo caso, però, sono state introdotte due variabili:  $m(t)$  serve a descrivere la frazione di canali attivi e aperti, mentre  $h(t)$  descrive quella dei canali inattivi. La conduttanza del canale del sodio è quindi posta pari a:

$$g_{Na}(t) = G_{Na,max} m^3(t) h(t)$$

Inoltre:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m, \quad \frac{dh}{dt} = \alpha_h(1 - h) - \beta_h h$$

dove sulla base delle osservazioni empiriche si è posto (i coefficienti  $\alpha$  e  $\beta$  sono in  $ms^{-1}$  e le tensioni in  $mV$ ):

$$\alpha_m(V_m) = \frac{0.1 [25 - (V_m - V_{eq})]}{\exp\left[\frac{25 - (V_m - V_{eq})}{10}\right] - 1}, \quad \beta_m(V_m) = 4 \exp\left(-\frac{V_m - V_{eq}}{18}\right)$$

$$\alpha_h(V_m) = 0.07 \exp\left(-\frac{V_m - V_{eq}}{20}\right), \quad \beta_h(V_m) = \frac{1}{\exp\left[\frac{30 - (V_m - V_{eq})}{10}\right] + 1}$$

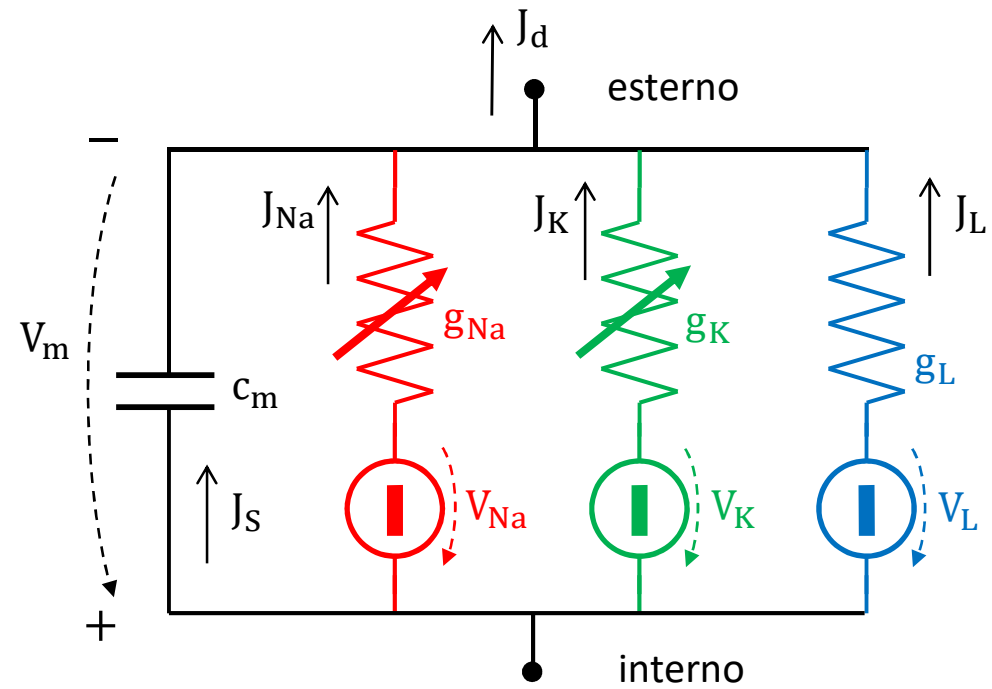
## Il modello HH

Dal punto di vista elettrico il modello HH è quello delle conduttanze parallele, con le seguenti modifiche:

1. Le conduttanze  $g_{Na}(V_m, t)$  e  $g_K(V_m, t)$  sono funzioni (non lineari) della tensione di membrana e del tempo, secondo quanto visto nelle slide precedenti.
2. Al posto della conduttanza dei canali del cloro è posta una generica conduttanza di "leakage", costante nel tempo ed indipendente da  $V_m$ , che descrive il contributo di tutte le altre specie ioniche.
3. Il sistema è stimolato da una densità di corrente impressa  $J_d(t)$  dovuta alla sezione precedente dell'assone.

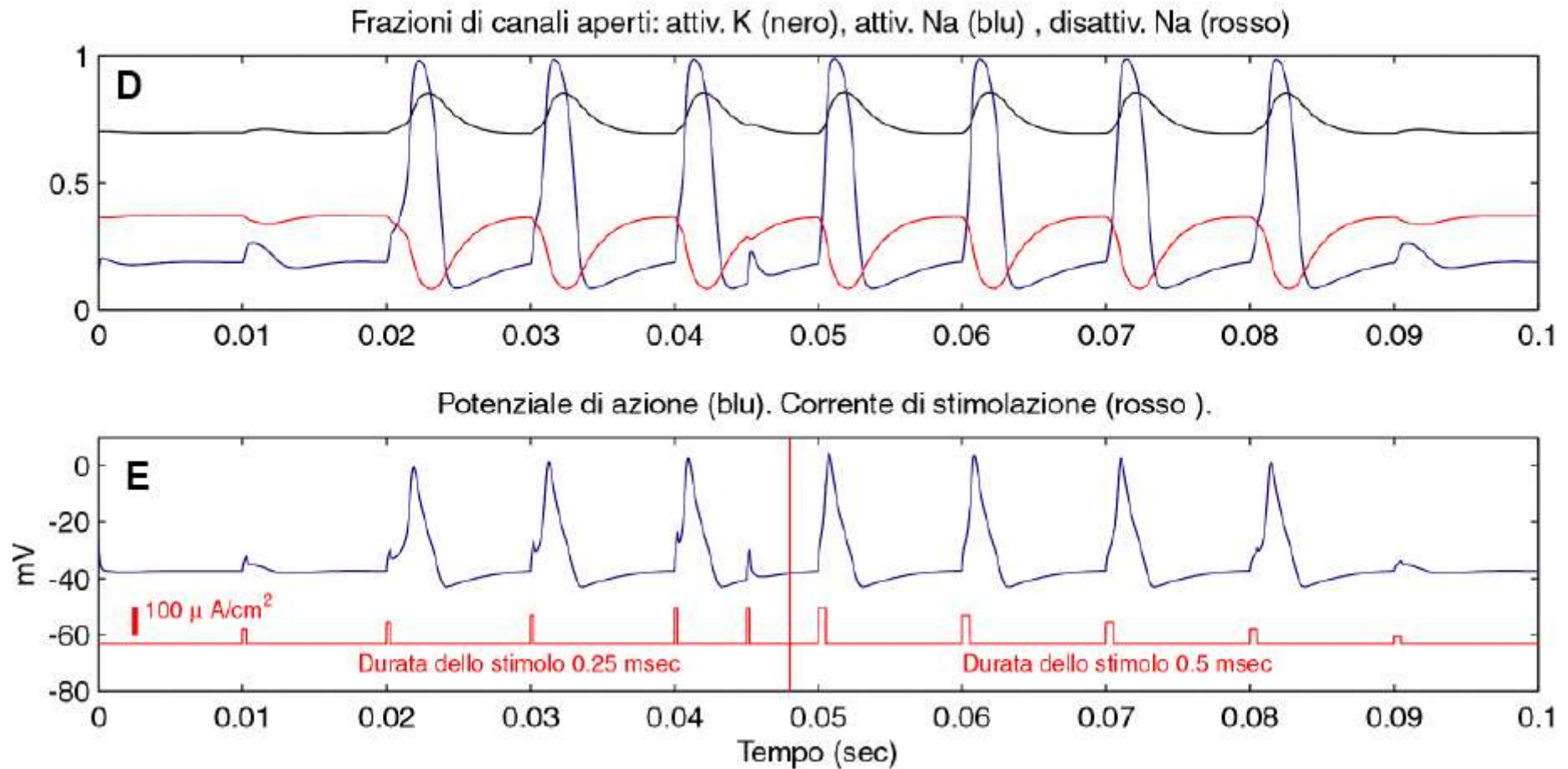
L'equazione allora diventa:

$$c_m \frac{dV_m}{dt} + G_{Na,max} m^3 h (V_m - V_{Na}) + G_{K,max} n^4 (V_m - V_K) + g_L (V_m - V_L) = J_d(t)$$



## Il modello HH

L'equazione precedente può essere risolta solo numericamente, ed i risultati forniscono una descrizione quantitativa adeguata della generazione del potenziale di azione.



# Propagazione del PA

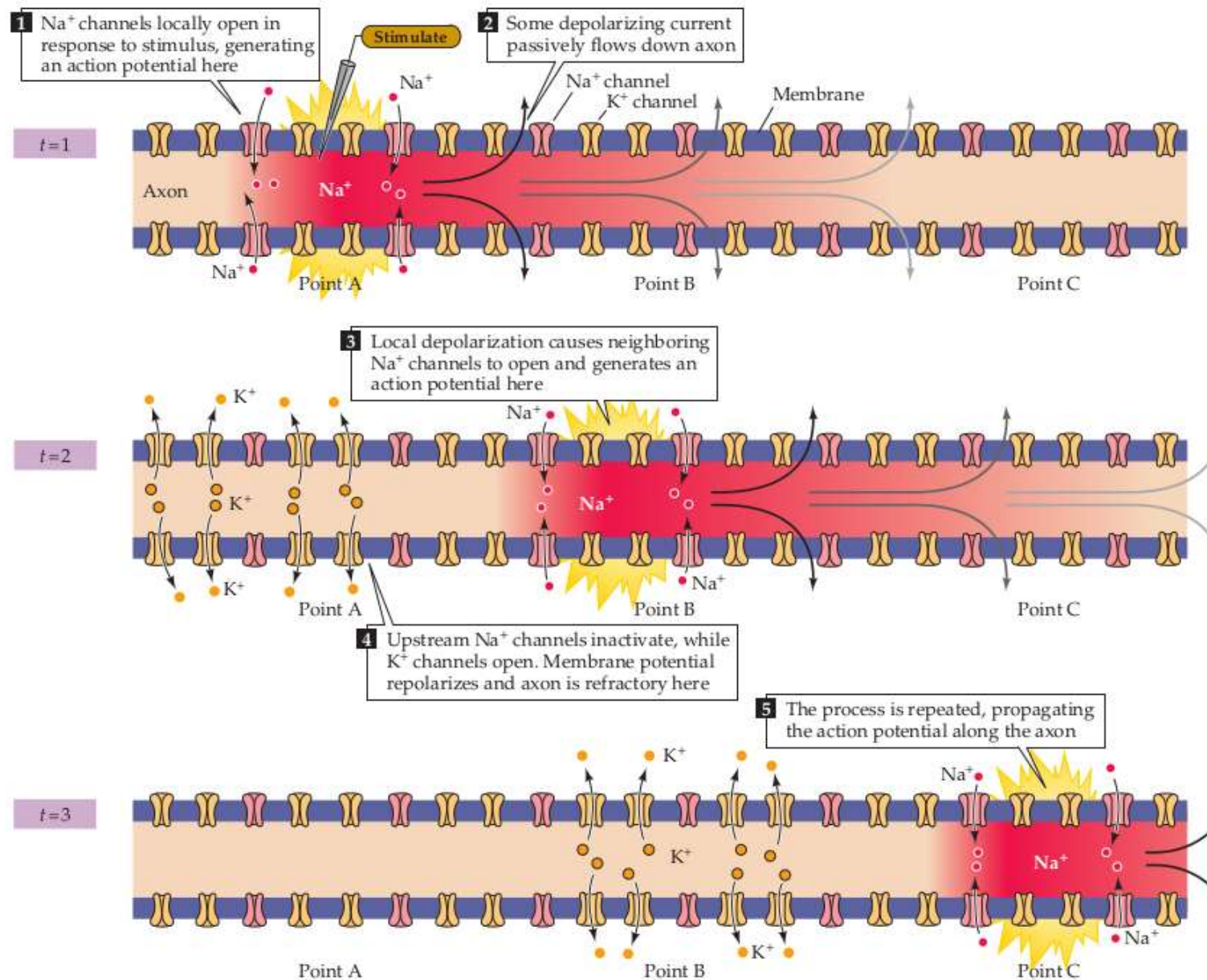
La propagazione del potenziale d'azione lungo l'assone è per certi versi simile alla propagazione di un impulso elettrico lungo un *doppino telefonico*. Vi è però da fare una importante distinzione tra il caso dell'assone **mielinico** e quello dell'assone **a-mielinico**.

Nel primo caso la corrente può fluire attraverso la parete cellulare solo in corrispondenza dei nodi di Ranvier. Nel secondo caso, invece, il flusso di corrente attraverso la parete avviene in ogni punto dell'assone.

Dal punto di vista qualitativo, in entrambi i casi la propagazione del PA avviene perché la fase di depolarizzazione del PA si estende spazialmente anche alle zone limitrofe allo stimolo iniziale, dove, aprendo altri canali del sodio, genera un nuovo PA.

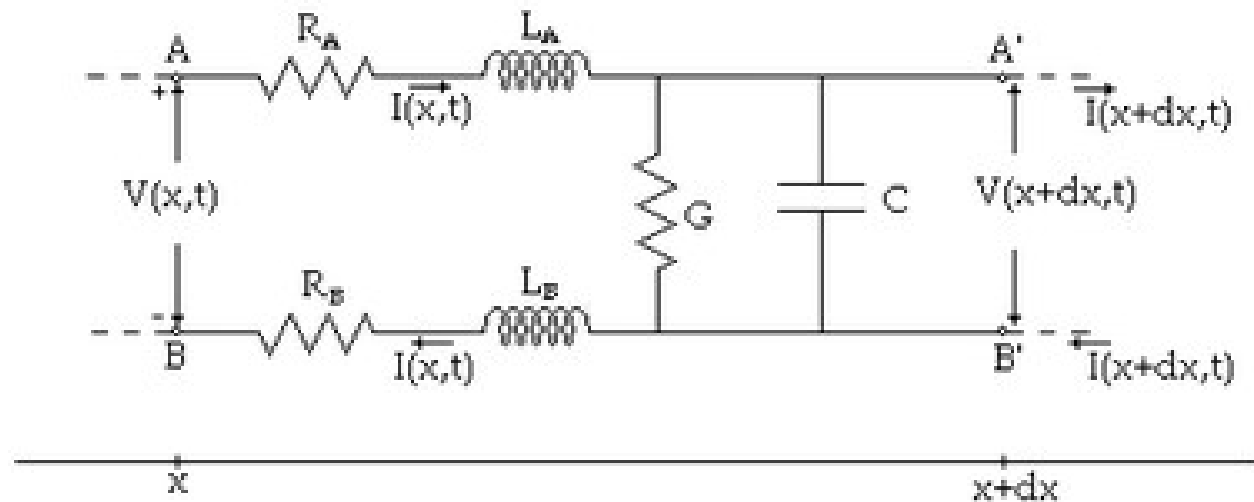
A tal proposito è fondamentale osservare il ruolo del **periodo refrattario** che di fatto impedisce al PA che si sta propagando, di innescarne altri a ripetizione ed in entrambi i sensi.

# Propagazione nell'assone a-mielinico



## Core-conductor model

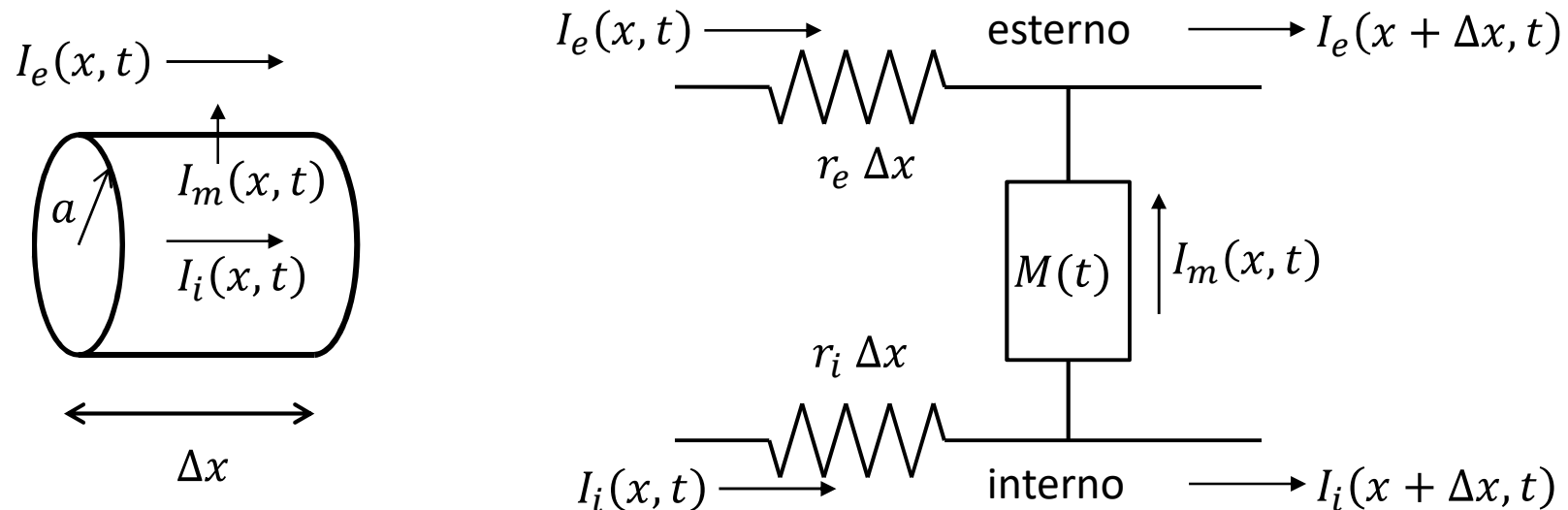
- La modellazione della propagazione dell'impulso (elettrico) lungo un assone amielinico prende il nome di «core-conductor model» per l'analogia con la propagazione di onde di tensione (e di corrente) lungo le linee bifilari (quali il doppino telefonico)



- Il modello elettrico a *costanti concentrate* si riferisce ad un tratto infinitesimo di linea bifilare interessata da fenomeni «distribuiti» di resistenza/induttanza serie e di conduttanza/capacità parallelo

## Propagazione nell'assone a-mielinico

Per descrivere quantitativamente il fenomeno, si consideri un tratto di assone di lunghezza arbitrariamente piccola; in generale vi sarà una corrente che fluisce all'interno incontrando una certa resistenza, una corrente che fluisce all'esterno incontrando una resistenza diversa, e della corrente che fluisce attraverso la parete secondo il modello a conduttanze parallele finora analizzato.

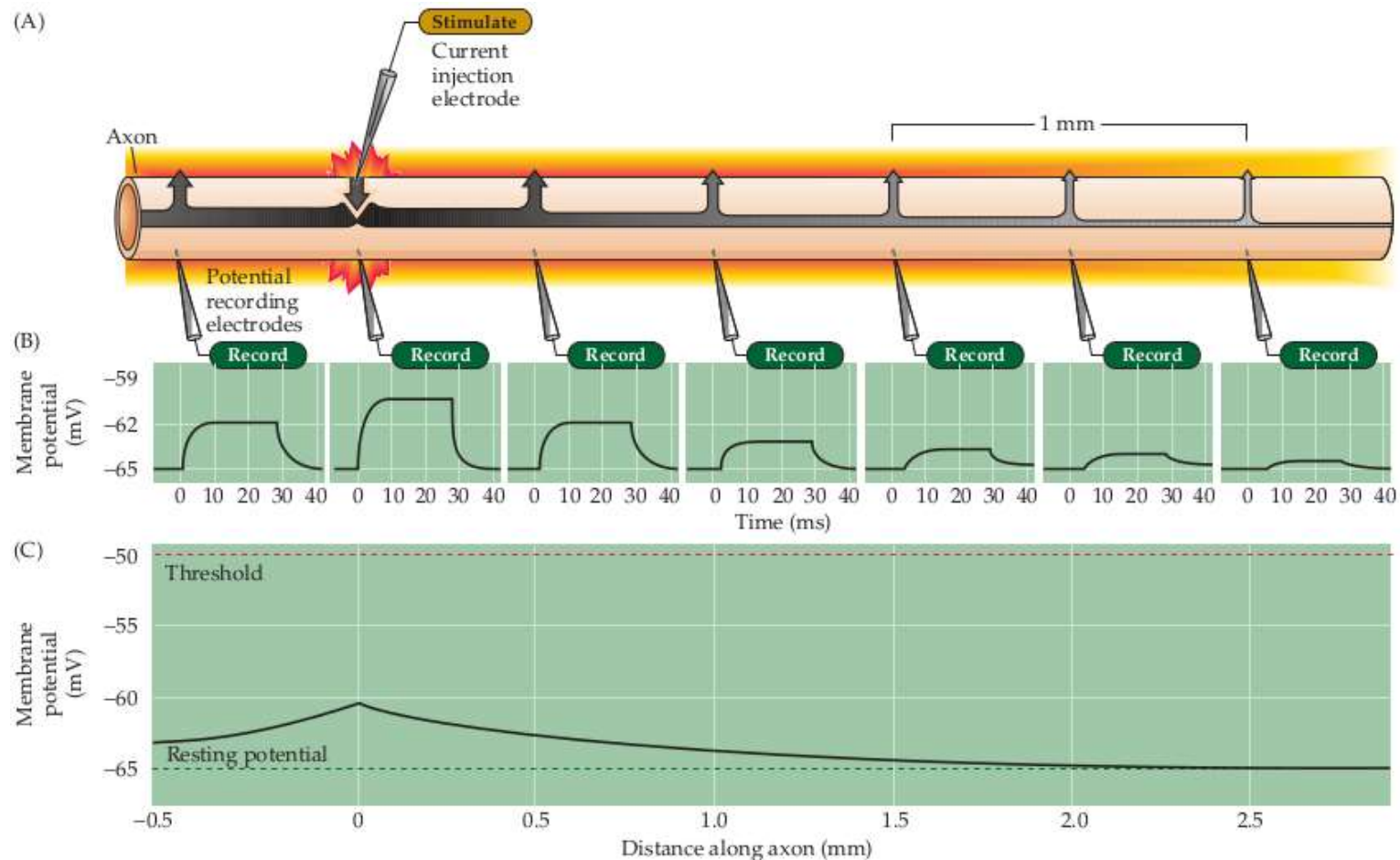


Assimilando l'assone ad un conduttore cilindrico omogeneo, la resistenza interna per unità di lunghezza è:  $r_i = \frac{\rho_i}{\pi a^2}$  dove  $\rho_i$  è la resistività interna [ $\Omega \cdot m$ ]

Nell'assone a-mielinico la resistenza esterna è molto piccola, quindi si può porre  $r_e \approx 0$

# Propagazione sotto-soglia nell'assone a-mielinico

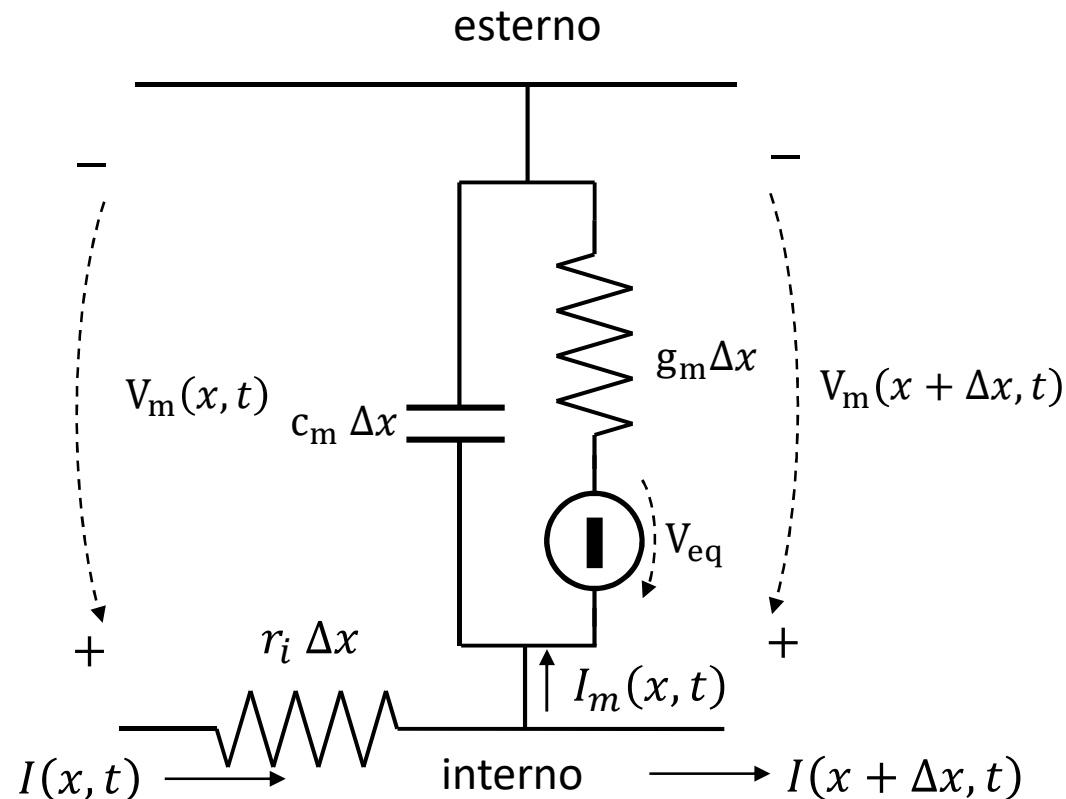
Se lo stimolo non è sufficientemente intenso il PA non si crea e si ha la propagazione di un impulso sotto soglia. L'impulso si attenua durante la propagazione perché, non riuscendo ad aprire i canali del sodio, non è in grado di autosostenersi attingendo all'energia potenziale elettrochimica.





## Propagazione sotto-soglia nell'assone a-mielinico

Nella propagazione sotto soglia solo una piccola porzione dei canali del sodio e del potassio si aprono, perciò si può supporre che la conduttanza di membrana sia costante. Lo schema elettrico del tratto di assone di lunghezza  $\Delta x$  diventa allora il seguente (si ricordi che  $r_e \approx 0$ ; inoltre si omette il pedice "i" per la corrente interna per semplicità di notazione):



# Propagazione sotto-soglia nell'assone a-mielinico

Con riferimento all'assone come conduttore cilindrico uniforme, i parametri dello schema sono i seguenti ( $a$  è il raggio dell'assone):

$$r_i = \frac{\rho_i}{\pi a^2} \quad \text{resistenza interna per unità di lunghezza } [\Omega/m]$$

$$\rho_i \quad \text{resistività interna } [\Omega \cdot m]$$

$$g_m = \frac{1}{r_m} = \frac{2\pi a}{\rho_m} \quad \text{conduttanza di membrana per unità di lunghezza } [S/m]$$

$$\rho_m \quad \text{resistività specifica di membrana } [\Omega \cdot m^2]$$

$$c_m = 2\pi a \epsilon_m \quad \text{capacità per unità di lunghezza } [F/m]$$

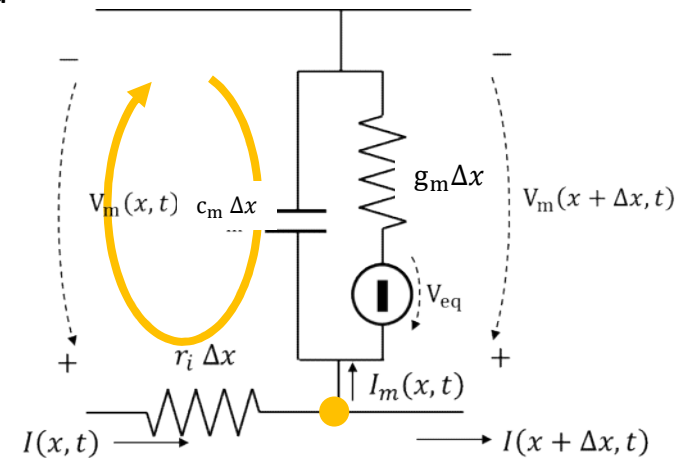
$$\epsilon_m \quad \text{capacità per unità di superficie } [F/m^2]$$

# Propagazione sotto-soglia nell'assone a-mielinico

Dalla applicazione della legge di Kirchhoff alla maglia ed al nodo indicati si ha:

$$V_m(x, t) = r_i \Delta x I(x, t) + V_m(x + \Delta x, t)$$

$$\begin{aligned} I(x, t) &= I_m(x, t) + I(x + \Delta x, t) \\ &= g_m \Delta x [V_m(x + \Delta x, t) - V_{eq}] \\ &+ c_m \Delta x \frac{\partial V_m(x + \Delta x, t)}{\partial t} + I(x + \Delta x, t) \end{aligned}$$



Si ponga adesso  $V(x, t) = V_m(x, t) - V_{eq}$   
essendo  $V_{eq}$  costante nel tempo per definizione, si ha:

$$\frac{V(x + \Delta x, t) - V(x, t)}{\Delta x} = -r_i I(x, t)$$

$$\frac{I(x + \Delta x, t) - I(x, t)}{\Delta x} = -g_m V(x + \Delta x, t) - c_m \frac{\partial V(x + \Delta x, t)}{\partial t}$$

## Propagazione sotto-soglia nell'assone a-mielinico

Facendo tendere  $\Delta x$  a zero si ottengono le equazioni alle derivate parziali che descrivono la propagazione dell'impulso:

$$\begin{aligned}\frac{\partial V(x, t)}{\partial x} &= -r_i I(x, t) \\ \frac{\partial I(x, t)}{\partial x} &= -g_m V(x, t) - c_m \frac{\partial V(x, t)}{\partial t}\end{aligned}$$

Per risolvere questo sistema, valutiamo la trasformata di Fourier ad ambo i membri;\* per cui posto  $\hat{I}(x, \omega) = \mathcal{F}[I(x, t)](\omega)$  ed essendo

$$\hat{V}(x, \omega) = \mathcal{F}[V(x, t)](\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} V(x, t) e^{-j\omega t} dt \quad \Rightarrow \quad \mathcal{F}\left[\frac{\partial V(x, t)}{\partial t}\right](\omega) = j\omega \hat{V}(x, \omega)$$

si ha:

$$\frac{\partial \hat{V}(x, \omega)}{\partial x} = -r_i \hat{I}(x, \omega), \quad \frac{\partial \hat{I}(x, \omega)}{\partial x} = -(g_m + j\omega c_m) \hat{V}(x, \omega)$$

---

\* Siccome sappiamo che la soluzione sarà un impulso, la trasformabilità delle funzioni è garantita.

## Propagazione sotto-soglia nell'assone a-mielinico

Risulta allora:

$$\frac{\partial^2 \hat{V}(x, \omega)}{\partial x^2} = -r_i \frac{\partial \hat{I}(x, \omega)}{\partial x} = r_i (g_m + j\omega c_m) \hat{V}(x, \omega)$$

la cui soluzione è:

$$\hat{V}(x, \omega) = \hat{V}_+(\omega) e^{-\Gamma x} + \hat{V}_-(\omega) e^{\Gamma x}, \quad \Gamma = \sqrt{r_i (g_m + j\omega c_m)}$$

dove  $\hat{V}_+(\omega)$  e  $\hat{V}_-(\omega)$  sono le costanti di integrazione. Tralasciando per semplicità il secondo termine della soluzione (che rappresenta un'onda che si propaga in direzione opposta), si vede che  $\hat{V}_+(\omega) = \hat{V}(0, \omega)$  è la trasformata di Fourier dell'impulso iniziale.

Posto  $\Gamma = \alpha + j\beta$  si ha che

$$\alpha = \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{r_i \sqrt{g_m^2 + \omega^2 c_m^2} + r_i g_m}, \quad \beta = \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{r_i \sqrt{g_m^2 + \omega^2 c_m^2} - r_i g_m}$$

e siccome le frequenze in gioco sono basse (si ricordi il periodo di refrattarietà) si può affermare che  $g_m \gg \omega c_m$ , per cui valgono le seguenti approssimazioni:

$$\alpha \approx \sqrt{r_i g_m}, \quad \beta \approx \frac{1}{2} \omega c_m \sqrt{\frac{r_i}{g_m}} = \frac{\omega}{v_p} \quad \text{dove} \quad v_p = \frac{2}{c_m} \sqrt{\frac{g_m}{r_i}}$$

## Propagazione sotto-soglia nell'assone a-mielinico

Per comprendere il significato fisico della soluzione trovata, si ritorni nel dominio del tempo valutando l'anti-trasformata:

$$\begin{aligned} V(x, t) &= \mathcal{F}^{-1}[\hat{V}_+(\omega)e^{-\Gamma x}](t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \hat{V}_+(\omega)e^{-(\alpha+j\beta)x}e^{j\omega t}d\omega \\ &= e^{-\alpha x} \int_{-\infty}^{+\infty} \hat{V}_+(\omega)e^{j\omega(t-x/v_p)}d\omega \end{aligned}$$

ovvero:

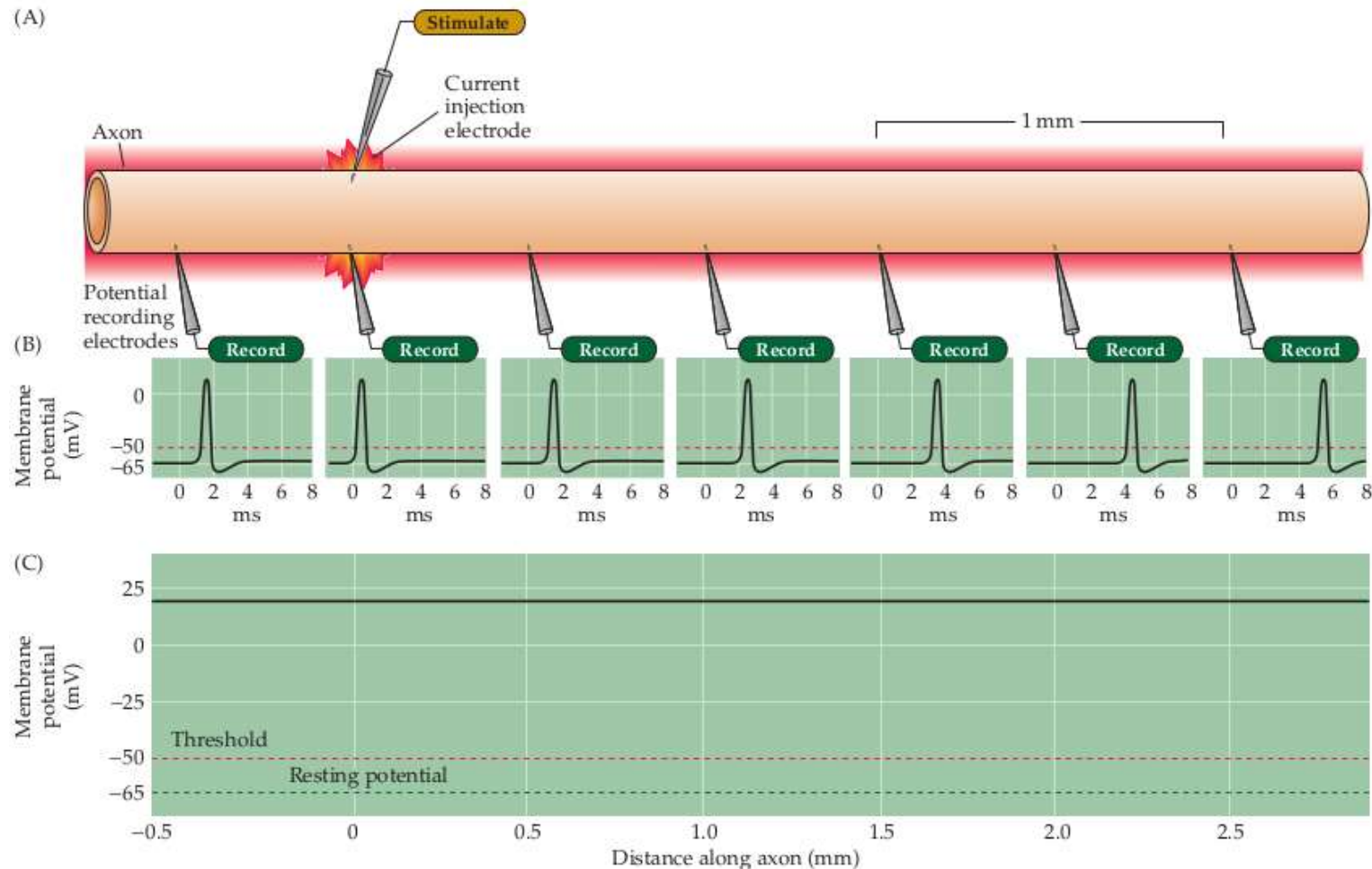
$$V(x, t) = V_0 \left( t - \frac{x}{v_p} \right) e^{-\alpha x}$$

Questo risultato dimostra che la soluzione rappresenta un impulso di tensione che si propaga senza distorsione alla velocità  $v_p$ , subendo un'attenuazione descritta dal coefficiente  $\alpha$ . Data l'espressione di  $v_p$  e la relazione tra i coefficienti che vi compaiono ed il raggio  $a$  dell'assone, si verifica facilmente che:

$$v_p \propto \sqrt{a}$$

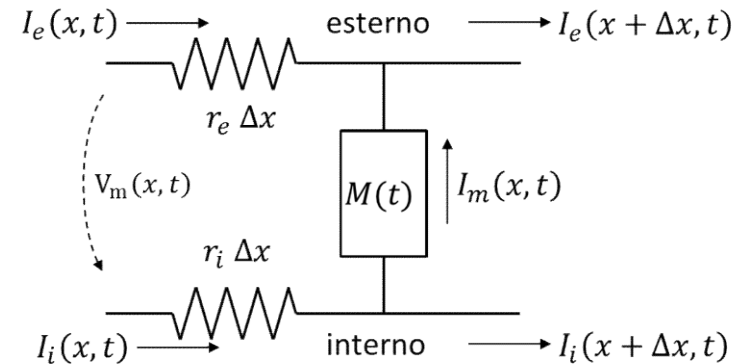
# Propagazione sopra-soglia nell'assone a-mielinico

Se lo stimolo è sufficientemente intenso, si crea il potenziale d'azione. L'evidenza sperimentale mostra che il PA si propaga sostanzialmente **senza distorsione e senza attenuazione**; il motivo è che, come già visto, la forma del PA è svincolata dallo stimolo (in questo caso il PA del tratto precedente di assone) ed inoltre il PA si auto-sostiene attingendo energia dal potenziale elettrochimico di trans-membrana.



# Propagazione sopra-soglia nell'assone a-mielinico

La descrizione matematica della propagazione del PA è molto complessa, perché l'impedenza  $M(t)$  deve essere descritta con il modello HH completo. Purtroppo, ripetendo i primi passi dell'analisi svolta nel caso sotto-soglia, si arriva a scrivere:



$$\frac{\partial V_m(x, t)}{\partial x} = -r_i I_i(x, t)$$

$$\frac{\partial I_i(x, t)}{\partial x} = -i_m(x, t, V_m) = -i_{ioni}(x, t, V_m) - c_m \frac{\partial V_m(x, t)}{\partial t}$$

dalla quale si ottiene\*:

$$\frac{1}{r_i} \frac{\partial^2 V_m(x, t)}{\partial x^2} = i_m(x, t, V_m) = i_{ioni}(x, t, V_m) + c_m \frac{\partial V_m(x, t)}{\partial t}.$$

---

\* Con  $i_m$  e  $i_{ioni}$  si sono indicate 'correnti per unità di lunghezza' [A/m].



## Propagazione sopra-soglia nell'assone a-mielinico

Come si è detto precedentemente, detta  $\epsilon_m$  la capacità elettrica per unità di superficie (F/m<sup>2</sup>) della membrana cellulare, la capacità per unità di lunghezza della membrana (supposta cilindrica) è  $c_m = 2\pi a \epsilon_m$ ; si osservi che questo introduce una dipendenza lineare dal raggio  $a$  dell'assone.

Analogamente, la parete dell'assone ha una conduttanza (dovuta alle varie specie ioniche) per unità di superficie  $\sigma_m = 1/\rho_m$  [S/m<sup>2</sup>] che è tempo-variante e dipende non-linearmente dalla tensione di trans-membrana, però non dipende dal raggio  $a$ . Di conseguenza la conduttanza per unità di lunghezza è  $g_m(t, V_m) = 2\pi a \sigma_m(t, V_m)$ . Questo ragionamento porta a concludere che le correnti ioniche attraverso la membrana  $i_{ioni}(x, t, V_m)$  sono proporzionali al raggio  $a$  dell'assone e quindi, ricordando l'espressione di  $r_i$ , dividendo la precedente equazione per  $c_m$  si ottiene:

$$\frac{\pi a^2}{2\pi a \epsilon_m \rho_i} \frac{\partial^2 V_m(x, t)}{\partial x^2} = H(x, t, V_m) + \frac{\partial V_m(x, t)}{\partial t}$$

dove  $H(x, t, V_m)$  è legato alle correnti ioniche e non dipende da  $a$  così come la tensione  $V_m(x, t)$ .

## Propagazione sopra-soglia nell'assone a-mielinico

D'altra parte, il fatto (verificato sperimentalmente) che il potenziale di azione si propaghi senza distorsione e senza attenuazione, implica che la tensione di membrana deve soddisfare anche all'equazione delle onde, ovvero:

$$\frac{\partial^2 V_m(x, t)}{\partial x^2} = \frac{1}{v_p^2} \frac{\partial^2 V_m(x, t)}{\partial t^2}.$$

con  $v_p$  velocità di propagazione. Inserendo questa equazione nella precedente si ha:

$$\frac{a}{2\epsilon_m \rho_i v_p^2} \frac{\partial^2 V_m(x, t)}{\partial t^2} = H(x, t, V_m) + \frac{\partial V_m(x, t)}{\partial t}.$$

Come osservato precedentemente, tutto il termine a destra dell'uguale è indipendente dal raggio dell'assone, quindi lo deve essere anche il termine di sinistra e ciò implica che deve necessariamente essere

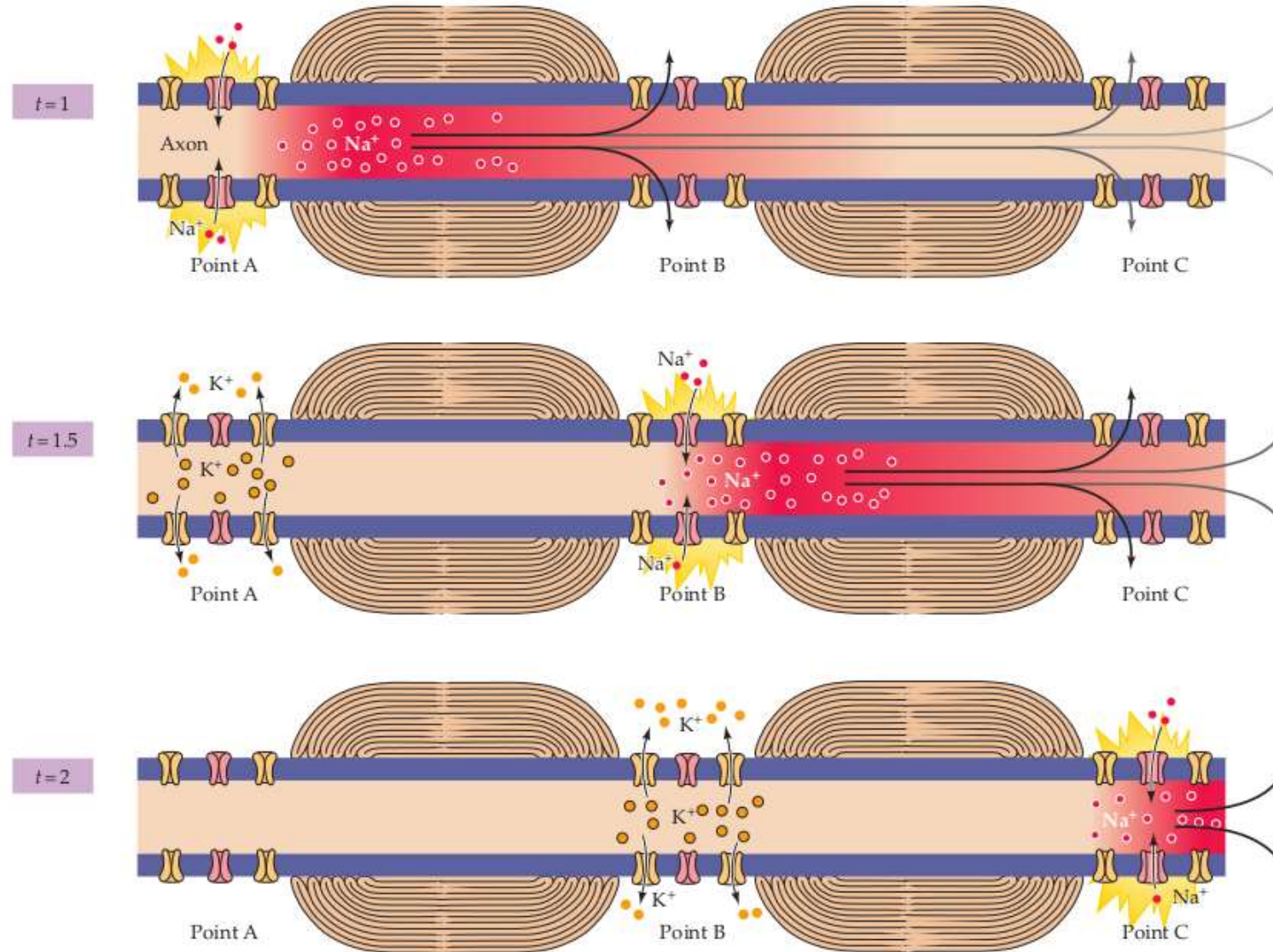
$$\frac{a}{2\epsilon_m \rho_i v_p^2} = \text{costante} = \frac{1}{K}$$

dove  $K$  è una opportuna costante indipendente da  $a$ . In conclusione, la velocità di propagazione del potenziale di azione è:

$$v_p = \sqrt{\frac{Ka}{2\epsilon_m \rho_i}} \propto \sqrt{a}$$

# Propagazione nell'assone mielinico

(B) Action potential propagation



# Propagazione nell'assone mielinico

La descrizione elettrica della propagazione nell'assone mielinico è complicata dalla presenza della guaina mielinica non continua; dal punto di vista elettrico l'assone non è più una linea di trasmissione omogenea.

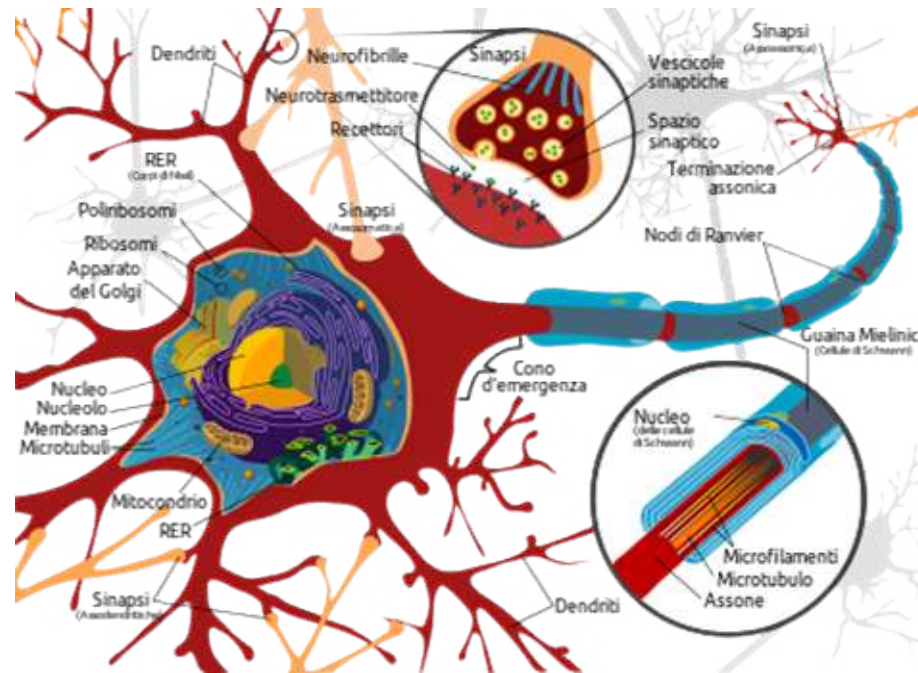
La caratteristica principale degli assoni mielinici è la capacità di far propagare il potenziale d'azione a velocità molto superiori rispetto a quelle che si osservano, a parità di raggio, negli assoni a-mielinici.

Si osservi, ad esempio, che nel calamaro (che ha assoni a-mielinici) il potenziale si propaga a circa 20 m/s e l'assone ha raggio di circa 500 $\mu$ m. Gli assoni dei neuroni umani hanno raggi di circa 5 $\mu$ m, per cui, tenendo presente la dipendenza della velocità dalla radice del raggio, se fossero anch'essi a-mielinici la velocità di propagazione sarebbe di soli 2 m/s, mentre in realtà può raggiungere picchi di 100 m/s !

Da un punto di vista qualitativo, il motivo per cui la velocità di propagazione è maggiore negli assoni mielinici è perché i processi di creazione del potenziale d'azione (che hanno una certa durata temporale) vengono innescati solo in corrispondenza dei nodi di Ranvier, mentre altrove nell'assone si ha conduzione passiva di corrente. Questo tipo di propagazione è detta **saltatoria**. D'altra parte, i nodi di Ranvier non possono essere troppo distanti, altrimenti il potenziale di azione creato in un nodo si attenuerebbe prima di riuscire a stimolarne un altro al nodo successivo.

# Trasmissione sinaptica

Quando il potenziale d'azione arriva alla fine dell'assone, si trasmette al neurone successivo (o ad altre cellule come cellule muscolari e ghiandole endocrine) mediante una **sinapsi**.



La sinapsi può essere di due tipi:

- **Chimica**: è il tipo di sinapsi più comune nei vertebrati superiori.
- **Elettrica**: benché poco frequenti nei vertebrati superiori, riveste un ruolo importante nei processi che controllano la contrazione cardiaca.

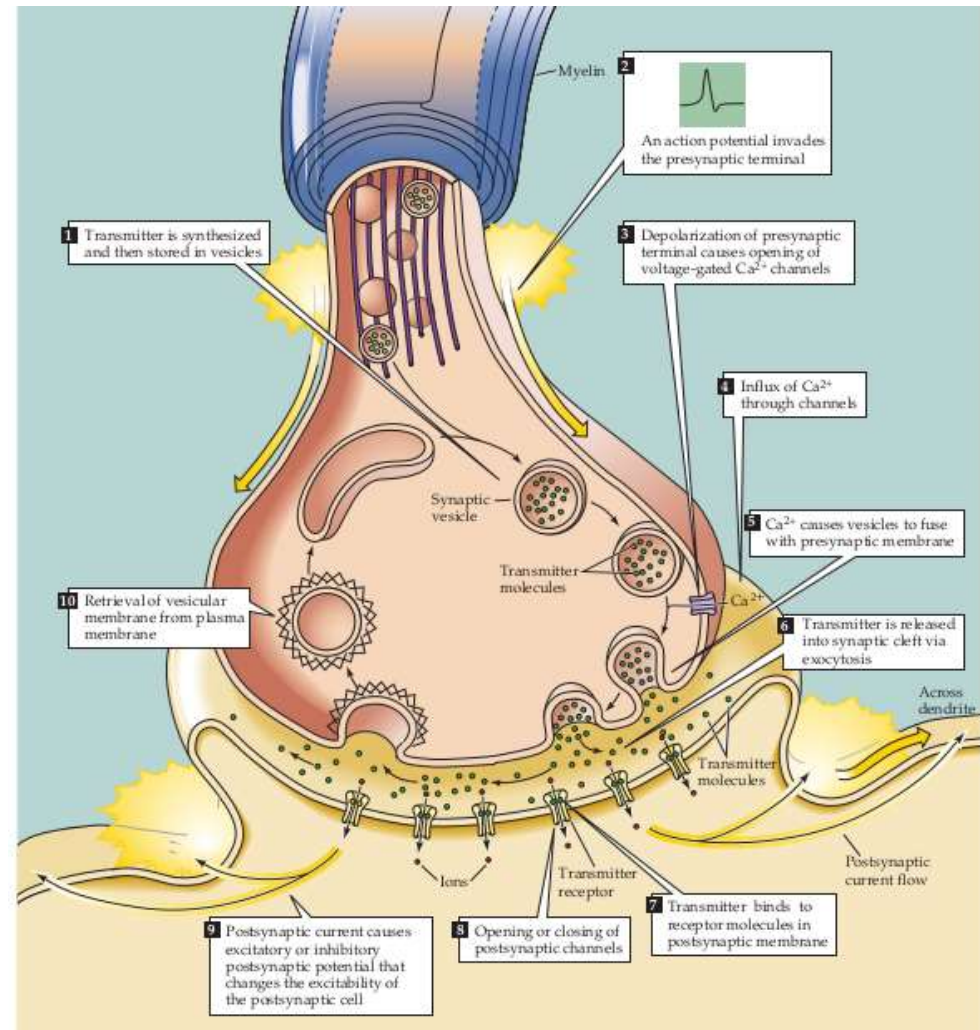
# Sinapsi chimica

- L'assone di un neurone termina, spesso ramificandosi, in vicinanza dei dendriti di un altro neurone, o di una cellula. Nei vertebrati lo stimolo viene trasmesso al neurone successivo o alla cellula attraverso la **giunzione sinaptica** (o semplicemente sinapsi).
- La sinapsi è un “rigeneratore” di segnale di tipo elettrico-chimico-elettrico.
- Il segnale elettrico dell'assone viene convertito in uno stimolo chimico che attraversa lo spazio fra assone e dendriti per rigenerare il segnale elettrico nel neurone seguente.



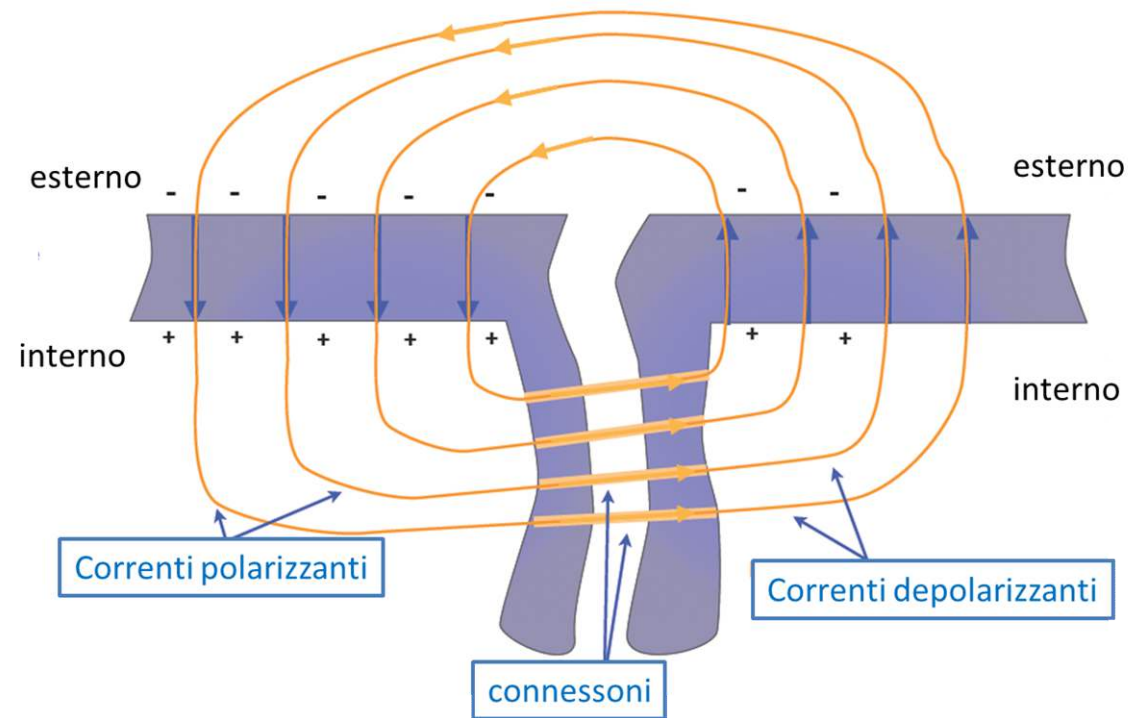
# Sinapsi chimica

- Il PA raggiunge la fine dell'assone (*terminale presinaptico*) dove depolarizza la membrana stimolando l'apertura di canali ionici del calcio.
- Il  $\text{Ca}^{2+}$  entra nel terminale presinaptico e stimola il rilascio dei *neurotrasmettitori* nello spazio sinaptico.
- I neurotrasmettitori si diffondono nello spazio sinaptico e si legano a dei particolari canali ionici del sodio, posti sulla parete cellulare del dentrite (*terminale postsinaptico*), stimolandone l'apertura.
- L'afflusso di  $\text{Na}^+$  nel terminale postsinaptico stimola il nuovo PA.



# Sinapsi elettrica

- Le cellule sono "connesse" attraverso particolari canali ionici detti **connessoni**, che permettono il passaggio di correnti ioniche direttamente da una cellula alla successiva





**SORGENTI IN VOLUMI CONDUTTORI**

## Sorgenti in volumi conduttori

Quanto detto in merito ai potenziali di azione e all'elettrofisiologia in generale riguarda la differenza di potenziale che si instaura a cavallo della membrana cellulare, un parametro la cui misura è però praticamente impossibile in ambito clinico.

Ai fini diagnostici può però essere misurata la differenza di potenziale elettrico che si crea tra vari punti della superficie del corpo come conseguenza dell'attività elettrica cellulare. Ad esempio, la generazione e la propagazione di un PA sono associati alla circolazione di correnti attraverso la membrana cellulare e nel tessuto extra-cellulare. Il passaggio di tali correnti genera differenze di potenziale che possono essere misurate.

Analogamente questo vale per sorgenti macroscopiche come il cuore: la sua attività elettrica produrrà delle correnti circolanti nel torace e differenze di potenziale sulle superfici dello stesso. Risulta pertanto importante saper descrivere come l'attività bio-elettrica di una singola fibra (o di un fascio di fibre) determini l'andamento del potenziale nel volume conduttore. Questa conoscenza permette di ricavare preziose informazioni dalle misure di potenziale in diversi punti del volume (come ad es. nell'elettrocardiografia).

# Il monopolio di corrente

Un monopolio di corrente è una *sorgente puntiforme* che inietta una corrente  $I_0$  **positiva** nello spazio circostante (se  $I_0 < 0$  il punto assorbe corrente e viene detto *pozzo*).

Supposta l'omogeneità del mezzo, dall'origine diparte una densità di corrente elettrica radiale:

$$\mathbf{J} = \frac{I_0}{4\pi r^2} \hat{\mathbf{r}}$$

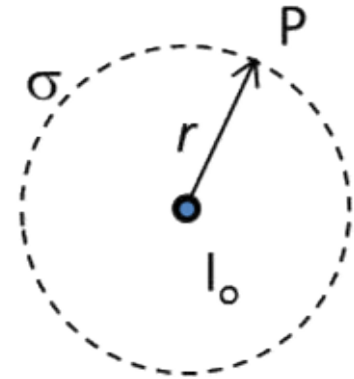
Per la legge di Ohm, sfruttando la simmetria sferica del problema, ed essendo in regime quasi-statico si può anche scrivere:

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E} = -\sigma \nabla \phi = -\sigma \frac{\partial \phi}{\partial r} \hat{\mathbf{r}}$$

da cui, imponendo che  $\phi(r \rightarrow \infty) \rightarrow 0$ , si ottiene:

$$\phi(r) = \frac{1}{4\pi\sigma r} I_0$$

Si osservi che il risultato dipende dalle caratteristiche della sorgente ( $I_0$ ), dalle caratteristiche del volume ( $\sigma$ ) e dalla posizione relativa tra sorgente e punto di misura ( $r$ ).



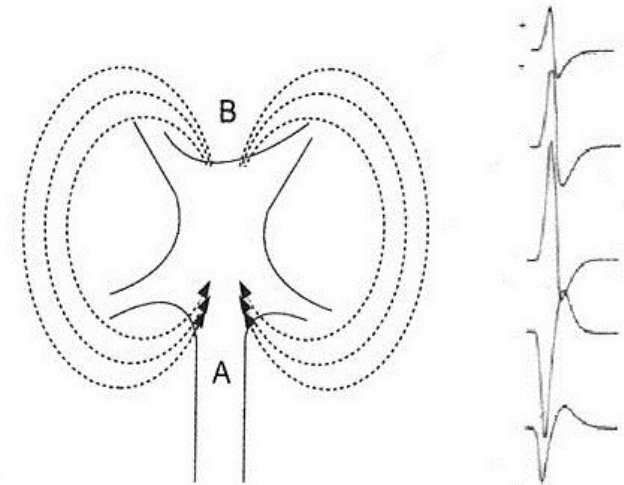
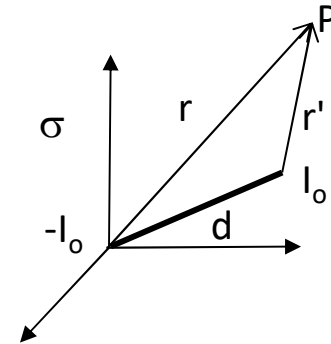
## Il dipolo di corrente

Il dipolo di corrente è il modello di sorgente bioelettrica più utilizzato. E' ottenuto dalla combinazione di due monopoli di uguale ampiezza ma di segno opposto separati di una distanza  $d$ . Dal principio di sovrapposizione degli effetti il potenziale nel punto P risulta:

$$\phi(r) = \frac{I_0}{4\pi\sigma} \left( \frac{1}{r'} - \frac{1}{r} \right)$$

Perciò il potenziale potrà essere positivo o negativo a seconda della posizione del punto di osservazione P: la polarità del potenziale misurato varierà con la posizione dell'elettrodo.

Ad esempio, la figura rappresenta un neurone alla formazione di un PA al colle dell'assone: le correnti generate entrano nel colle dell'assone (pozzo) ed escono dal soma (sorgente). L'attività risulta modellabile proprio con il dipolo di corrente.



## Il dipolo di corrente

Nell'ipotesi (ragionevole in pratica) che sia  $d \ll r$ , si può scrivere che:

$$\frac{1}{r'} - \frac{1}{r} = \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{d}|} - \frac{1}{r} = \frac{1 - \sqrt{1 + \frac{d^2}{r^2} - 2\frac{\hat{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{d}}{r}}}{|\mathbf{r} - \mathbf{d}|} \approx \frac{1 - \left(1 - \frac{\hat{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{d}}{r}\right)}{|\mathbf{r} - \mathbf{d}|} \approx \frac{\hat{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{d}}{r^2}$$

perciò il potenziale elettrico è:

$$\phi(r) = \frac{I_0 \mathbf{d} \cdot \hat{\mathbf{r}}}{4\pi\sigma r^2} = \frac{\mathbf{p} \cdot \hat{\mathbf{r}}}{4\pi\sigma r^2}$$

dove  $\mathbf{p} = I_0 \mathbf{d}$  è il momento di dipolo [A m].

## Modelli di sorgente: assone isolato

Grazie ai modelli introdotti è ora possibile calcolare ad esempio il potenziale elettrico generato da un assone isolato immerso in un conduttore infinito ed omogeneo.

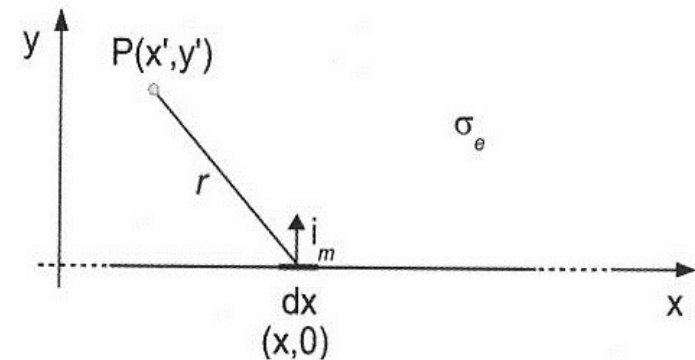
Un osservatore posto in  $P$  nello spazio extracellulare *vede* ogni singolo elemento infinitesimo  $dx$  dell'assone come un monopolo (sorgente o pozzo) di corrente che produce in  $P$  il contributo elementare:

$$d\phi(P) = \frac{1}{4\pi\sigma_e} \frac{i_m dx}{r}$$

dove  $i_m(x)$  è la corrente di trans-membrana per unità di lunghezza. Il potenziale dovuto ad un tratto compreso tra le coordinate  $x_1$  e  $x_2$  sarà quindi:

$$\phi(P) = \frac{1}{4\pi\sigma_e} \int_{x_1}^{x_2} \frac{i_m(x)}{r(x)} dx$$

Dal modello a linea di trasmissione si ottiene la relazione  $i_m = 1/r_i \partial^2 V_m / \partial x^2$ , quindi c'è un legame tra il potenziale misurato e la tensione di trans-membrana.



## Modelli di sorgente: assone isolato

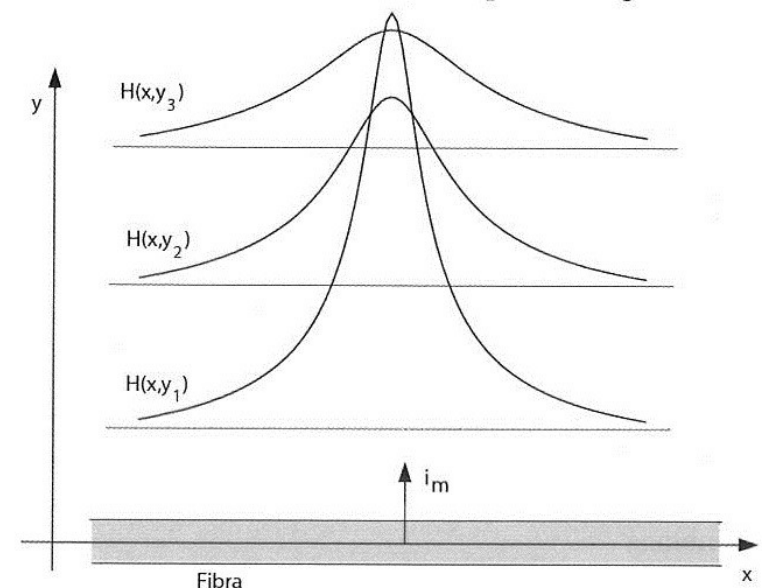
Al generico istante  $t$  solo un segmento di membrana sarà attivo durante la propagazione del PA; la lunghezza di questo segmento è pari alla '*lunghezza*' del PA, ovvero la sua durata moltiplicata per la sua velocità di propagazione,  $\tau v_p$ . Al di fuori di questo segmento la corrente di membrana è nulla, quindi l'integrazione può essere estesa da  $-\infty$  a  $+\infty$ , senza perdita di generalità. Si ottiene allora:

$$\phi(P, t) = \frac{1}{4\pi\sigma_e} \int_{-\infty}^{+\infty} i_m(x, t) \frac{1}{\sqrt{(x - x')^2 + y^2}} dx = \frac{1}{4\pi\sigma_e} i_m * H(x)$$

dove

$$H(x) = \frac{1}{\sqrt{x^2 + y^2}}$$

All'aumentare della distanza dall'assone, il massimo di  $H(x)$  (in corrispondenza dell'elemento  $dx$  in considerazione) diminuisce e la "campana" si allarga: una corrente localizzata ha effetto su una zona extra-cellulare sempre più ampia man mano che ci si allontana dall'assone.



# Modelli di sorgente: considerazioni generiche

I concetti appena visti possono essere estesi a modelli di sorgente più complessi:

- dipoli di corrente distribuiti su una superficie
- dipoli di corrente distribuiti in un volume

Il volume in cui si distribuisce il potenziale può poi complicarsi in:

- volume non-omogeneo e infinito
- volume non-omogeneo finito

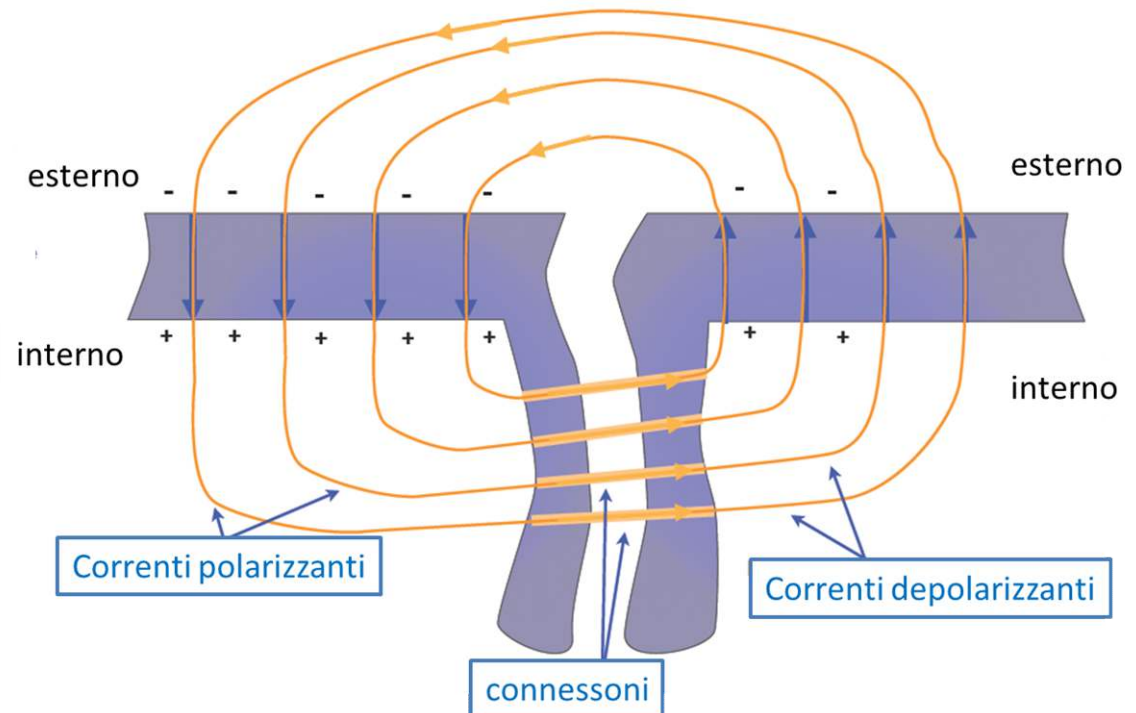
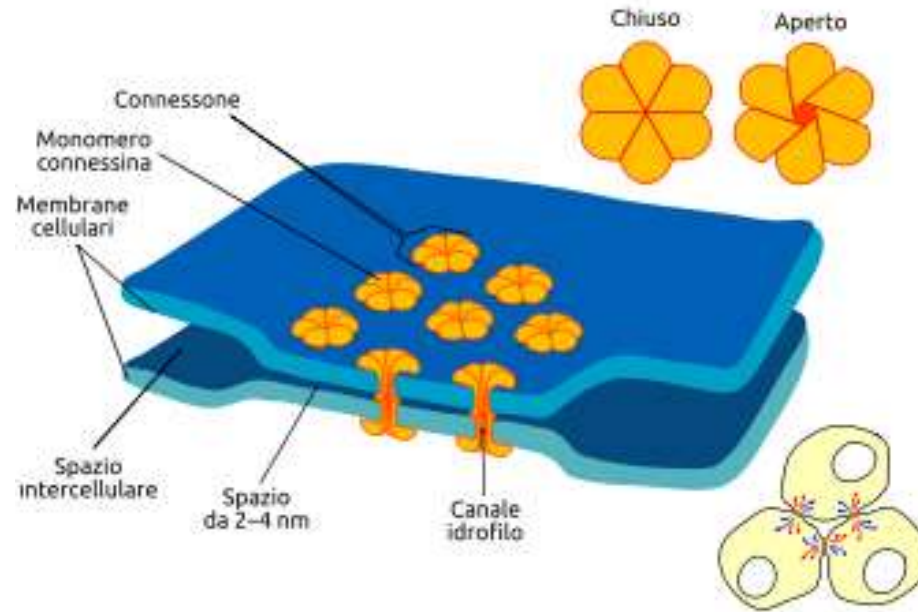
E' possibile quindi modellare in dettaglio una "sorgente" come il cuore e ricavare la distribuzione dei potenziali all'interno del torace (elettrocardiografia).



# Elettrocardiografia

Il cuore è costituito da cellule (miociti) legate fra loro attraverso proteine ("connessoni") che forniscono un canale ionico diretto fra le cellule.

Nelle cellule cardiache si produce un potenziale d'azione (simile a quello neuronale), che si propaga velocemente attraverso le membrane adiacenti e che trasporta lo stimolo per la contrazione e rilassamento del muscolo cardiaco.

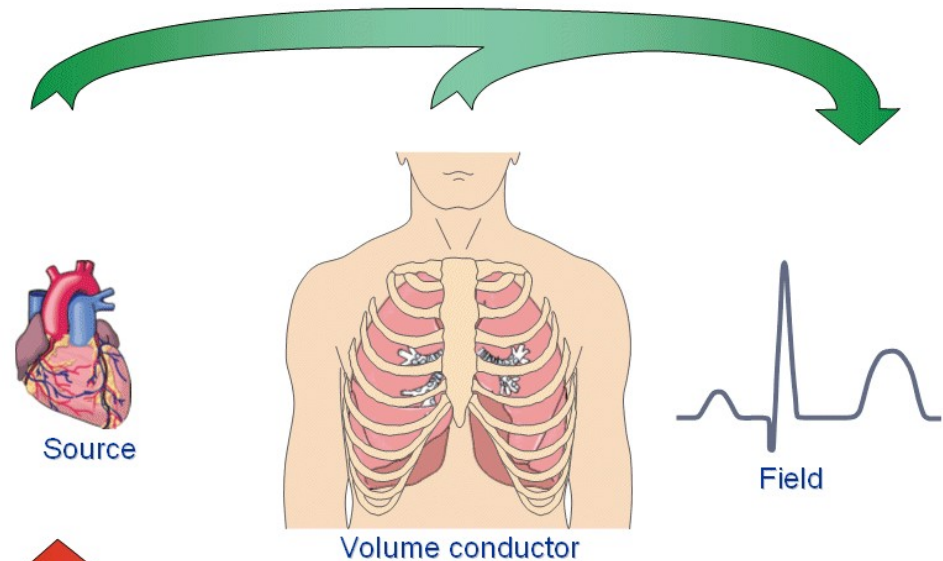


# Elettrocardiografia

L'elettrocardiografia è un esempio di tecnica nella quale da misure di potenziale elettrico (effetto) si cerca di ottenere informazioni sulla sorgente (causa). Si tratta di un classico problema inverso e la sua soluzione si basa sulla seguente sequenza logica:

1. Si definisce un modello (spesso semplificato) della sorgente, caratterizzato da alcuni parametri.
2. Si calcola la relazione analitica tra i parametri del modello e la grandezza fisica misurata, ovvero il potenziale elettrico in vari punti.
3. Dalle misure raccolte si stimano i parametri del modello di sorgente che meglio approssimano i dati sperimentali.

To determine the FIELD from the known source and conductor is called the  
**FORWARD PROBLEM**



To determine the SOURCE from the known field and conductor is called the  
**INVERSE PROBLEM**

# Elettrocardiografia

Nel caso del cuore, il modello di riferimento più semplice è il dipolo di corrente, per il quale il potenziale elettrico in un punto  $Q$  è

$$\phi(Q) = \frac{\hat{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{p}}{4\pi\sigma r^2} = \mathbf{a} \cdot \mathbf{p}$$

dove il vettore  $\mathbf{a}$  dipende in generale dalla distanza e dal mezzo in cui è immersa la sorgente  $\mathbf{p}$ .

Mediante una coppia di elettrodi è possibile misurare la differenza di potenziale, ovvero la tensione elettrica, tra 2 punti  $Q_1$  e  $Q_2$ , ottenendo

$$V_{1,2} = \phi(Q_1) - \phi(Q_2) = \mathbf{a}_1 \cdot \mathbf{p} - \mathbf{a}_2 \cdot \mathbf{p} = (\mathbf{a}_1 - \mathbf{a}_2) \cdot \mathbf{p} = \mathbf{c}_{1,2} \cdot \mathbf{p}$$

Il vettore  $\mathbf{c}_{1,2}$  è detto **derivazione** (in inglese: *lead*).

Scelto un certo numero  $N$  di derivazioni ed effettuate le relative misure di tensione, si può scrivere la seguente relazione matriciale:

$$\mathbf{V} = \begin{pmatrix} V_1 \\ \vdots \\ V_N \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{c}_1^T \\ \vdots \\ \mathbf{c}_N^T \end{pmatrix} \mathbf{p} = \mathbf{C} \mathbf{p}$$

# Elettrocardiografia

Per semplicità consideriamo il problema planare, ossia il dipolo di corrente  $\mathbf{p}$  e le derivazioni  $c_n$  hanno solo due componenti; la matrice  $\mathbf{C}$  ha allora dimensione  $N \times 2$ . Moltiplicando la relazione precedente per  $\mathbf{C}^T$  otteniamo  $\mathbf{C}^T \mathbf{V} = \mathbf{C}^T \mathbf{C} \mathbf{p}$ ; scegliendo le derivazioni in modo che la matrice  $\mathbf{C}$  abbia rango 2 (in pratica gli  $N$  vettori non devono essere tutti paralleli tra loro), la matrice quadrata  $\mathbf{C}^T \mathbf{C}$  è invertibile e quindi troviamo la soluzione al problema inverso:

$$\mathbf{p} = (\mathbf{C}^T \mathbf{C})^{-1} \mathbf{C}^T \mathbf{V}$$

Questo risultato mostra come a partire dalle misure di tensione sia possibile stimare i parametri della sorgente.

Si può dimostrare che la soluzione appena trovata coincide con la soluzione del problema ai minimi quadrati; ovvero, il valore di  $\mathbf{p}$  calcolato è quello che minimizza la funzione di errore

$$\mathcal{E} = \|\mathbf{V} - \mathbf{C} \mathbf{p}\|^2$$

# Elettrocardiografia

Alcune considerazioni:

1. La sorgente equivalente del cuore,  $\mathbf{p}$ , è funzione del tempo perché varia durante le fasi cardiache. Di conseguenza sono funzioni del tempo le tensioni, mentre le derivazioni sono costanti nel tempo per definizione.
2. Le derivazioni  $c_n$  sono quantità note, scelte in maniera opportuna durante la definizione del problema. In pratica sono definite dalla posizione degli elettrodi; in linea di principio dipendono anche dalla conducibilità del mezzo che circonda la sorgente, ma in prima approssimazione questo può essere supposto omogeneo.
3. L'ampiezza assoluta delle derivazioni non è importante, perché non si vuole stimare l'ampiezza assoluta della sorgente, ma solo la sua orientazione e variazione nel tempo.

# Elettrocardiografia

4. Se il numero  $N$  di derivazioni fosse esattamente 2, la soluzione del problema inverso sarebbe  $\mathbf{p} = \mathbf{C}^{-1}\mathbf{V}$  e la funzione errore sarebbe sempre nulla,  $\mathcal{E} = 0$ . Avere  $N > 2$  permette di avere una certa ridondanza attraverso la quale stimare la bontà della soluzione. Infatti se il modello della sorgente non è una buona approssimazione della sorgente reale, nella migliore delle ipotesi la funzione errore non sarà nulla. Analogamente, la funzione errore non è nulla anche in presenza di inevitabili errori di misura.
5. In linea di principio, il risultato del problema inverso sarebbe lo stesso comunque siano scelte le derivazioni. In pratica, però, il modello di sorgente è solo una approssimazione della sorgente reale, perciò il risultato può variare a seconda di come sono scelte le derivazioni. Per questo gli elettrocardiogrammi fanno riferimento a **derivazioni standard** (alle quali corrispondono posizioni standard degli elettrodi).

# Elettrocardiografia

Il primo tentativo di modellazione del cuore e "standardizzazione" dell'elettrocardiogramma è stato fatto all'inizio del '900 da Einthoven, che propose le 3 derivazioni mostrate in figura:

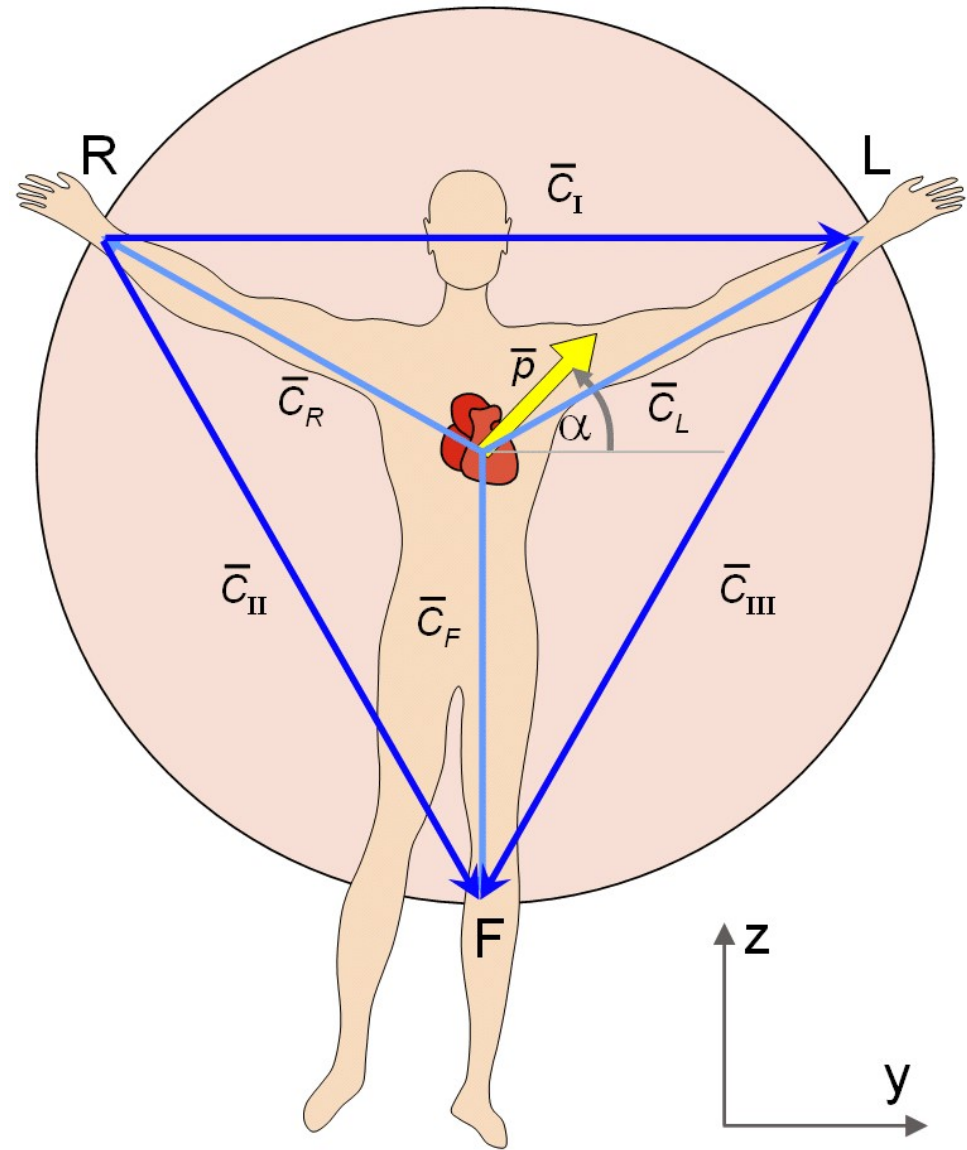
$$\mathbf{c}_I = (1, 0)^T$$

$$\mathbf{c}_{II} = (0.5, -0.87)^T$$

$$\mathbf{c}_{III} = (-0.5, -0.87)^T$$

Successivamente il cosiddetto "triangolo di Einthoven" è stato modificato per tenere conto delle disomogeneità del mezzo.

L'ECG standard attuale prevede l'uso di 12 derivazioni ottenute da 10 elettrodi (si osservi che 10 elettrodi possono dare  $\binom{10}{2} = 45$  derivazioni).



# Elettrocardiografia

Dall'ECG fatto usando le derivazioni di Einthoven è possibile stimare l'evoluzione temporale del dipolo di corrente equivalente.

Nonostante vi sia sempre un modello di sorgente equivalente dietro la scelta delle derivazioni, nella pratica medica comune la stima dei parametri della sorgente equivalente non viene effettuata, dal momento che il medico è addestrato a mettere in relazione diretta le tracce fornite dall'ECG con le eventuali patologie.

