

TUTORATO DI FISIOLOGIA 2 MODULO DI FISIOLOGIA CELLULARE

Potenziale di riposo e potenziale d'azione

La prima suddivisione operabile tra i tessuti è quella tra

- Tessuti eccitabili
- Tessuti non eccitabili

Ai tessuti eccitabili appartengono il tessuto nervoso e il tessuto muscolare, nella sua tripla funzione di tessuto muscolare liscio, scheletrico e cardiaco. Cosa distingue un tessuto eccitabile da un tessuto non eccitabile? Il fatto che un tessuto eccitabile risponde ad uno stimolo opportuno con una variazione del proprio potenziale transmembrana, variazione che prende il nome di **potenziale d'azione**. Il potenziale d'azione, che nel caso dei neuroni prende il nome di **segnale nervoso**, quando opportunamente elaborato viene trasmesso in sede generale di informazioni. Il potenziale d'azione, nell'ambito del tessuto muscolare, è accoppiato ad attività fisiologiche, ovvero all'azione biomeccanica propria del tessuto, la contrazione muscolare, che può tradursi per esempio nella locomozione o nella peristalsi viscerale. Questo è dovuto alla variazione del potenziale di membrana. Il **potenziale di membrana** a riposo è la differenza di potenziale transmembrana che tutte le cellule e tutti i tessuti possiedono per il semplice fatto di essere vivi, sia che siano eccitabili, sia che non lo siano. I tessuti eccitabili sono inoltre connotati dalla capacità di generazione di un potenziale d'azione, mentre i tessuti non eccitabili non sono connotati da questa caratteristica.

Comunicazione tra cellule

La cellula sente le variazioni dell'ambiente, riceve e manda messaggi. Sono varie le modalità con cui una cellula comunica con le altre:

1. Nelle **giunzioni comunicanti** la trasmissione del messaggio avviene da cellula a cellula, è locale, ovvero la cellula di un determinato tessuto comunica con le cellule fisicamente adiacenti in quella specifica sede anatomica.
2. La **comunicazione sinaptica** funziona attraverso un'organizzazione citoarchitettonica locale, la specificità della quale dipende dalla sede anatomica e da particolari recettori. Nell'ambito della sinapsi vale l'**unidirezionalità di trasmissione**, in cui si individuano classicamente:
 - Un elemento a monte della sinapsi
 - Un elemento a valle della sinapsi o elemento post-sinaptico

In una sinapsi chimica il segnale viene veicolato da un opportuno messaggero che l'elemento presinaptico rilascia nella fessura sinaptica. L'elemento postsinaptico ha specifici recettori sulla membrana affacciati alla fessura sinaptica in grado di sentire quanto l'elemento presinaptico fa in termini di versamento di materiale (sì/no/quanto). L'elemento postsinaptico varia la propria attività funzionale facendo, per esempio, passare o no un segnale nervoso, oppure riorganizzando la propria attività funzionale in modo da ottenere un risultato all'interno. Facendo l'esempio di una giunzione neuromuscolare, quindi di una giunzione tra neurone e muscolo, se si vuole alzare il braccio, si pensa l'azione, quindi si manda un segnale per via nervosa ai muscoli, i quali si contraggono in un certo modo realizzando il movimento voluto. Il muscolo ha "capito" cosa fare perché l'articolazione sinaptica ha sentito la

liberazione di un determinato neurotrasmettitore (il muscolo stesso presenta specifici recettori per questa sostanza) che ha portato ad una contrazione di determinate fibre muscolari il cui risultato netto è che io possa alzare il braccio.

3. **Comunicazione paracrina:** diffusa localmente, viene sentita in un determinato ambito mediante diffusione nel liquido interstiziale di determinati mediatori o sostanze che vengono liberate da una determinata cellula. Queste sostanze sono necessarie ad una certa concentrazione: solo in questo caso possono produrre un effetto.

Che cos'è una concentrazione? È un quantitativo su un volume; si può ottenere un'alta concentrazione se si ha un grosso volume in cui si scioglie un grosso quantitativo di sostanza, ma si può ottenere la stessa grossa concentrazione anche avendo un piccolissimo quantitativo di sostanza: basta sciogliere il quantitativo in una soluzione proporzionale alla quantità di soluto.

4. **Comunicazione endocrina:** trasmissione del messaggio generale. Raggiunge potenzialmente ogni punto all'interno dell'organismo, in quanto un ormone è una sostanza secreta nel sangue. Una sostanza che non venga secreta nel circolo ematico non è un ormone, è un mediatore, un trasmettitore. Un ormone entrando nella circolazione può raggiungere tutto l'organismo; questo non significa però che tutti gli ormoni agiscano dappertutto. Dove l'ormone esercita la sua azione? Laddove ci sono specifici recettori atti a riconoscerlo.

5. **Modalità iuxtacrina:** il messaggio viene trasmesso ad una cellula fisicamente adiacente, la cellula produce sostanze che vengono recepite solo dalle cellule strettamente adiacenti. Qual è la differenza tra modalità paracrina e iuxtacrina? In quest'ultima la sostanza da liberare viene mantenuta ancorata alla membrana plasmatica e quindi verrà sentita solo dalle cellule che toccano l'elemento cellulare.

6. **Modalità autocrina:** la cellula produce un fattore cui essa stessa risponde, per esempio un fattore di crescita e lo espone sulla propria membrana. La stessa cellula che ha prodotto quella sostanza presenta i recettori specifici per la sostanza stessa. La cellula produce qualcosa che regola se stessa. Questo processo è molto importante per alcuni sviluppi incontrollati della cellula, come quelli tumorali.

	GIUNZIONE COMUNICANTE	COMUNICAZIONE SINAPTICA	COMUNICAZIONE PARACRINA ED AUTOCRINA	COMUNICAZIONE ENDOCRINA
Trasmissione del messaggio	Direttamente da cellula a cellula	Attraverso la fessura sinaptica	Mediante diffusione nel liquido interstiziale	Mediante liquidi corporei circolanti
Locale o generale	Locale	Locale	Diffusa localmente	Generale
La specificità dipende da	Sede anatomica	Sede anatomica e recettori	Recettori	Recettori

... e i loro mediatori messaggeri chimici. A, autocrina, P, paracrina.

Trasporti Transmembrana

La membrana separa il dentro dal fuori consentendo allo stesso tempo comunicazioni con l'esterno che hanno implicazioni in termini di volume cellulare e di caratteristiche elettriche della membrana stessa a causa del passaggio

di ioni che possono permeare in vario modo.

Ci sono vari *trasportatori* per gli ioni e vari *canali per gli ioni*.

Attraverso la membrana passano sia sostanze liposolubili che si muovono per *diffusione passiva* ma anche sostanze idrosolubili il quale transito è regolato e permesso da trasportatori.

Pompa sodio-potassio- trasporto attivo primario

Ci sono varie forme di trasporto che consentono il movimento degli ioni e di altre sostanze.

Un concetto chiave da tenere presente è che, da un punto di vista energetico, il trasporto ha un ruolo dominante. In particolare circa il 40% del metabolismo basale è utilizzato dalla *pompa sodio-potassio* che è presente in ogni cellula anche se con delle implicazioni variabili a seconda del fatto che la cellula sia eccitabile o meno.

Questa è definita *pompa elettrogenica*:

- *Pompa*: è una struttura proteica complessa a funzione ATPasica in quanto scinde ATP in ADP+P liberando energia. È paragonabile ad un motore che brucia un combustibile (ATP) per generare un movimento (in questo caso il trasporto attivo controgradiente dello ione Na⁺ e K⁺)
- *Elettrogenica*: crea uno sbilancio elettrico. Ad ogni ciclo la pompa butta fuori 3 ioni sodio che vengono scambiati con 2 ioni potassio. Per ogni ciclo funzionale quindi 3 cariche positive escono mentre 2 cariche positive entrano creando di conseguenza uno squilibrio di una carica positiva in più fuori rispetto al dentro della cellula.

Cotrasporto e Controtrasporto

Nel caso della pompa sodio-potassio si parla di *controtrasporto* (due sostanze si muovono in direzione opposta) che è diverso dal *cotrasporto*. In quest'ultimo un trasportatore veicola lo spostamento di due sostanze nella stessa direzione, ne è un esempio il trasporto di glucidi o amminoacidi insieme al sodio.

Il controtrasporto può essere o *elettrogenico* (come per la pompa Na-K) o *elettro-neutro*. Un esempio di trasporto elettro-neutro è la H⁺/K⁺ ATPasi che non è presente in tutte le cellule ma solo nelle cellule parietali dello stomaco ed è alla base del meccanismo di produzione della componente acida del succo gastrico. In questo caso a fronte dell'estrusione di uno ione H⁺ la cellula recupera dall'esterno uno ione K⁺; quindi per ogni carica positiva che entra una carica positiva esce, creando una situazione di neutralità elettrica.

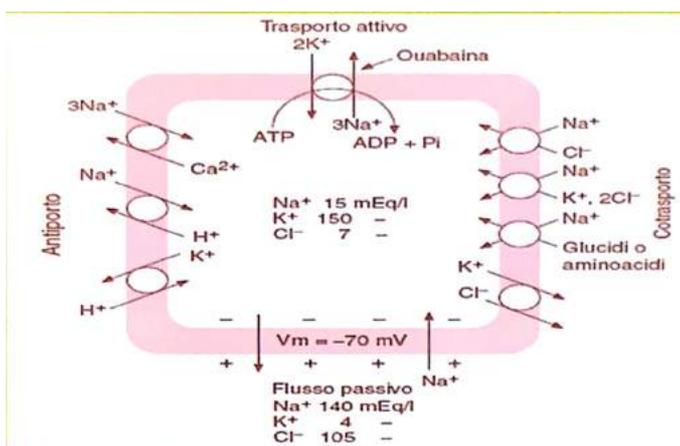


Figura 1-33. Schema composto dei principali effetti secondari del trasporto attivo di Na⁺ e K⁺. La Na⁺-K⁺ ATPasi converte l'energia chimica della idrolisi di ATP in mantenimento di un gradiente verso l'interno di Na⁺ e di un gradiente verso l'esterno di K⁺. L'energia dei gradienti è usata per cotrasporto, antipporto, e mantenimento del potenziale di membrana. (Riproduzione autorizzata; da Skou JC: The Na-K pump. *News Physiol Sci*

Guardando la figura vediamo come si può avere ad esempio:

- Un trasporto di sostanze ionizzate con glucidi e amminoacidi
- Cotrasporto elettro-neutro: escono uno ione K⁺ e uno ione Cl⁻
- Controtrasporto elettro-neutro: H⁺ entra, K⁺ esce
- Controtrasporto elettrogenico: 2 K⁺ entrano, 3 K⁺ escono.

Trasporto attivo secondario

L'azione nella pompa contribuisce a generare e a mantenere uno squilibrio ionico. È alla base del mantenimento della bassa concentrazione intracellulare di sodio e parallelamente dell'alta concentrazione di potassio (i termini alta e bassa vanno ovviamente sempre riferiti alle normali concentrazioni di questi due ioni nel liquido extracellulare). Questo squilibrio porta al fatto che il sodio extracellulare per gradiente chimico e elettrico (l'interno della cellula è più negativo ed il sodio è carico positivamente) tende ad entrare nella cellula. Alcuni trasportatori sfruttano il gradiente del sodio per veicolare l'ingresso di altre sostanze in cotrasporto. Per esempio il glucosio entra nella cellula grazie ad una serie di trasportatori della serie SGLT (*Sodium Glucose Transporter*). Per convenzione questi trasportatori devono essere denominati con 4 lettere, per questo motivo altri trasportatori di glucosio che prescindono dall'utilizzo del sodio vengono chiamati GLUT (*Glucose Transporter*). Sfruttando il gradiente del sodio questi trasportatori permettono il movimento contro gradiente di altre molecole. In questo caso si parla di trasporto attivo secondario in quanto è possibile solo perché qualcosa (trasporto attivo primario) ha prima creato il gradiente di sodio (pompa sodio-potassio).

Canali ionici

Ci sono poi dei Canali ionici che permettono il passaggio degli ioni. Questi possono essere

- Passivi : sempre aperti, potenzialmente bidirezionali. Lo spostamento avviene grazie alle caratteristiche e al gradiente della molecola.
- Canali ad accesso variabile : canali a cancello.

Potenziale di membrana a riposo e cellule eccitabili

La distribuzione di ioni attraverso la membrana è asimmetrica. Questo è dato dal fatto che l'interno della cellula (protoplasma) è altamente ricco di proteine mentre lo spazio extracellulare ne è altamente povero. Le proteine sono dei polianioni (portano molteplici cariche negative) che *non* si diffondono attraverso la membrana equilibrandosi con l'esterno, questo determina la necessità di riarrangiare, secondo regole opportune, il corredo ionico dei due compartimenti per quanto riguarda quegli ioni in grado di diffondere attraverso la membrana.

Di conseguenza a cavallo della membrana di *tutte* le cellule vive abbiamo una differenza di potenziale denominata *differenza di potenziale transmembrana a riposo*. Le cellule eccitabili a differenza delle altre (non eccitabili) hanno la peculiarità di rispondere ad un opportuno stimolo con una variazione del potenziale di membrana a riposo generando un *potenziale d'azione*.

N.B. Il potenziale transmembrana a riposo dipende dal tipo di cellula (-70 mV è quello di un normale neurone) però il concetto di potenziale a riposo è lo stesso per TUTTE le cellule.

L'epatocita e l'enterocita non sono cellule eccitabili quindi non produrranno mai un potenziale d'azione.

Differenze tra i processi di trasporto

Tabella 2.1 Meccanismi di trasporto nelle membrane cellulari

	Tipo	Meccanismo	Flusso dipende da	Trasporto massimo
Processi passivi	Diffusione	Attraverso matrice della membrana	Concentrazione substrato Gradiente elettrochimico Dimensione e mobilità ¹ Area/spessore membrana	Virtualmente infinito alle concentrazioni fisiologiche
		Attraverso pori	Concentrazione substrato Gradiente elettrochimico Dimensione e mobilità ² Numero diametro pori	Virtualmente infinito alle concentrazioni fisiologiche
	Diffusione regolata	Poro regolato (canaie)	Concentrazione ione Gradiente elettrochimico Numero e conduttanza dei canali Frazione del tempo a canale aperto ³	Numero di canali - conduttanza - driving force ($V-V_{eq}$)
	Diffusione facilitata	Trasportatore semplice	Concentrazione substrato o turnover rate del trasportatore ⁴ Gradiente elettrochimico Numero delle molecole di trasportatore	Numero di molecole di carrier - turnover rate
Processi attivi	Trasporto primario (pompa)	ATPasi	Concentrazione substrati o turnover rate ⁴ Gradiente elettrochimico Disponibilità di ATP Numero di molecole di pompa	Numero di molecole di pompa - turnover rate
	Trasporto secondario (sinporto, antiporto)	Trasportatore accoppiato	Concentrazione substrati o turnover rate ⁴ Gradienti elettrochimici ⁵ Numero delle molecole di trasportatore	Numero di molecole di trasportatore - turnover rate

La tabella riassume i parametri dei trasporti. Abbiamo:

- processi passivi: diffusione (o attraverso la membrana per le sostanze liposolubili o attraverso i pori); diffusione regolata (con passaggio attraverso pori che si possono o aprire o chiudere): diffusione facilitata (attraverso i trasportatori che permettono lo spostamento di sostanze idrosolubili attraverso una membrana idrosolubile. Questi però non sono in grado di spostarle contro il gradiente di concentrazione)
- processi attivi: trasporto primario (pompa che presuppone attività ATPasica); trasporto secondario (sinporto, antiporto)

Tipi di trasduzione recettoriale

1. **Recettori metabotropici** (importanti in neurofisiologia). Nel momento in cui il ligando si lega a questo tipo di recettori determina delle variazioni di permeabilità ionica non perché il recettore è di per sé un canale che si apre, (pur potendolo fare in alcuni momenti) ma per l'attivazione di un complesso proteico (una proteina G-trimerica) che attraverso una cascata di reazioni comporta in ultima analisi l'apertura di canali ionici che causa la variazione elettrica.

Ex. Recettore muscarinico. La muscarina si trova in un fungo e non è una sostanza fisiologica. E' un agonista dell'*acetilcolina* (si lega ai suoi stessi recettori). La classificazione dei recettori dell'*acetilcolina* è fatta sulla base della sensibilità dei diversi recettori per sostanze sperimentalmente testate. In particolare i recettori per l'*acetilcolina* si dividono in due grandi gruppi: recettori *nicotinici* (si legano anche alla nicotina) e recettori muscarinici (che rispondono oltre che all'*acetilcolina* alla muscarina che è un alcaloide) che poi si dividono in M1, M2 M3 ecc. Il recettore muscarinico ha delle determinate localizzazioni sulle vie nervose in cui è implicata l'*acetilcolina* ed è, come abbiamo detto, un recettore metabotropico. L'*acetilcolina* (legando fisiologico) si lega e avvia una cascata per cui alla fine si ottiene una variazione del potenziale di membrana.

. **Canali ionici attivati da ligandi** (*recettore canale*). Un esempio sono alcuni neurotrasmettitori.

Ex. Recettore nicotinic (recettore ionotropico). La nicotina è una sostanza presente nel tabacco, non è una sostanza

normalmente presente nel corpo. E' una struttura proteica che riconosce l'acetilcolina, il legame recettore-ligando comporta l'apertura di un canale attraverso cui fluiscono determinati ioni.

Nel caso di una classica neurotrasmissione come la placca motrice si ha il rilascio di acetilcolina, questa interagisce con recettori nicotinici che la riconoscono e generano nel muscolo il potenziale di azione. Grazie a questo il muscolo può dar luogo alla contrazione. In questo contesto il sito di legame è posto sull'esterno della cellula. Esistono però dei casi in cui i canali ionici operati da ligando hanno siti di legame sul versante interno.

Canali ionici

Sono delle porte attraverso cui possono passare ioni. Possono essere in tre stati possibili:

- Chiusura*: porta chiusa, lo ione specifico per il canale non passa.
- Apertura*: si ha il movimento dello ione secondo condizioni specifiche.
- Inattivazione* (o stato di refrattarietà): all'apertura si ha un blocco funzionale del canale attraverso meccanismi specifici che si possono concettualizzare come una subunità di attivazione del canale diversa dalla porta di attivazione che occlude.

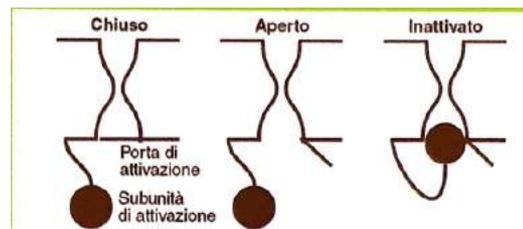


Figura 1-31. Inattivazione rapida dei canali al K^+ a voltaggio dipendenti. La depolarizzazione apre una porta di attivazione e quindi la porzione aminoterminale della subunità scivola dentro il canale, fermando la conduttanza anche se la depolarizzazione continua. Dopo la ripolarizzazione della membrana, si ritorna alla conformazione delle proteine in condizioni di riposo. (Riprodotta col permesso di Antz C., Fakler B.: Fast inactivation of voltage-gated K^+ channels: from Cartoon to Structure. *News Physiol. Sci.* 1998; 13:177)

Esempio pratico: Un negozio apre alle 9. Prima delle 9 la porta è chiusa; alle 9 la porta si apre e la gente può entrare però se il flusso è eccessivo dopo un po' si può interporre una guardia che, anche se la porta è aperta, la 'inattiva' bloccandone l'accesso. La porta è aperta ma non abbiamo flusso.

Oscillazioni probabilistiche delle situazioni che si possono creare:

- Un canale chiuso può passare allo stato di aperto
- Un canale aperto può: o tornare nella posizione di chiusura o (molto più probabilmente) passare nella condizione di inattivazione.
- Un canale inattivato può: o tornare alla condizione di apertura (con scarsissima probabilità) oppure ritornare allo stato di chiusura (condizione predominante).

Quindi prima di avere una nuova apertura, partendo da una condizione di inattivazione, bisogna passare prima per la rimozione della subunità e quindi per la chiusura della porta di attivazione. Solo quando ho acquisito questo stato posso andare incontro ad un nuovo ciclo funzionale (apertura-inattivazione-chiusura).

I canali ionici sono molto eterogenei nella loro distribuzione e nella loro composizione: sono costituiti da proteine integrali di membrana che organizzano un complesso il cui risultato netto è la costituzione di un foro all'interno della matrice della membrana attraverso cui, in modo regolato, si può avere o meno un flusso ionico specifico per determinati ioni o famiglie di ioni.

Alcuni *canali ionici* sono canali *voltaggio dipendenti* (a differenza di quelli dipendenti da ligando) che posseggono un sensore di voltaggio (il canale risponde ad una variazione elettrica). Sono paragonabili ad un cancello automatico che si apre con il telecomando solo a determinate frequenze per cui io posso aprire solo il cancello di casa mia e non quello del mio vicino. La variazione di voltaggio dà il segnale di far passare oppure no un determinato ione o molecola.

Selettività di membrana

Bisogna considerare che ioni di carica equivalente hanno una dimensione complessiva diversa e che questa non dipende soltanto dalla massa dello ione. Ad esempio la massa dello ione sodio è minore di quella del potassio pur avendo la stessa carica (una carica positiva).

È importante considerare che tutti gli ioni presentano un alone di solvatazione: si circondano di molecole d'acqua con cui interagiscono tramite gli atomi di ossigeno. L'alone di solvatazione è direttamente proporzionale alla concentrazione di carica, la carica dello ione sodio (che è +1 come per il potassio) è più concentrata rispetto al potassio perché ha dimensioni minori (ione più piccolo implica concentrazione più alta). Quindi il diametro dell'alone di solvatazione del sodio è maggiore rispetto a quello del potassio. Il risultato è che il sodio è più grande del potassio.

Esistono canali selettivi per il sodio e canali selettivi per il potassio attraverso i quali lo ione sodio non passa. Come fa lo ione sodio che è più piccolo a non passare attraverso il canale per il sodio che è più grande?

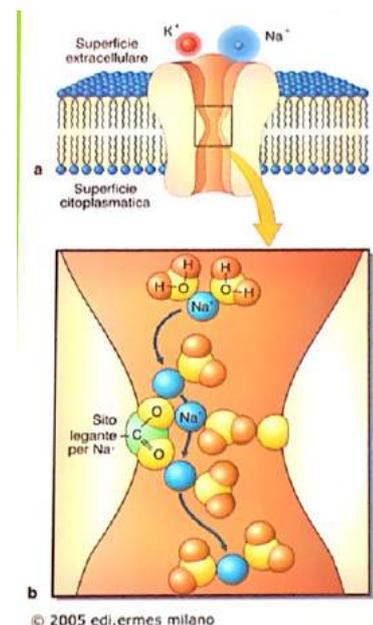
1. Una prima risposta è quella descritta precedentemente relativa all'alone di solvatazione: anche se il sodio è più piccolo il suo alone di solvatazione è più grande e quindi complessivamente sodio + acqua ha dimensioni maggiori di potassio + acqua.

2. Si è visto che l'alone di solvatazione a livello di una componente centrale del canale viene perso quasi del tutto. Quindi: lo ione con l'alone di solvatazione raggiunge il canale ed arriva in una regione critica chiamata *filtro di selettività* (paragonabile a dei buttafuori)

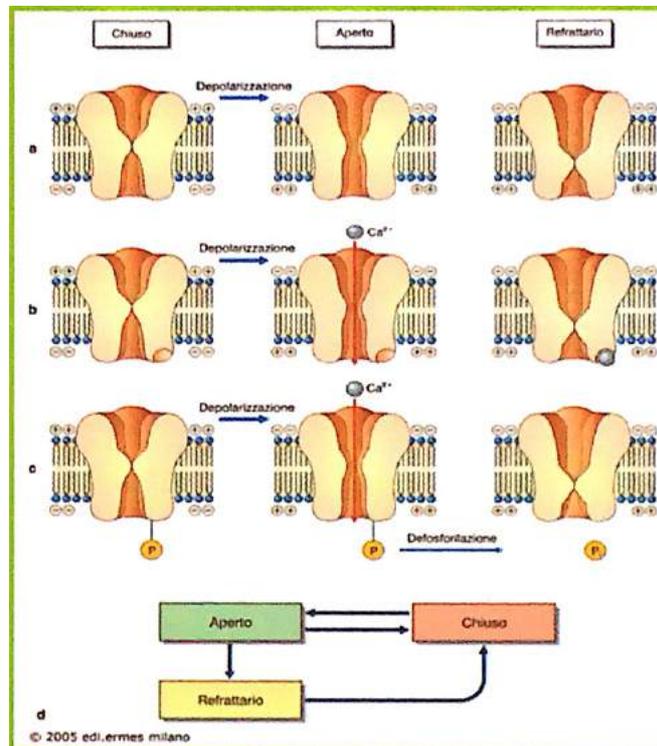
che seleziona cosa far passare. Dopo di ciò gli ioni si spogliano dell'alone di solvatazione ed interagiscono con queste componenti critiche; questa interazione determina la selettività del canale.

Se ci sono delle mutazioni puntiformi nelle proteine del canale e nello specifico in regioni strutturali, queste risultano irrilevanti per la funzione del canale; se invece la mutazione colpisce un amminoacido che ha una funzione chiave nel filtro di selettività, pur essendo tutto il resto normale il canale non funziona più.

Nell'immagine che segue sono descritte le condizioni di apertura/ chiusura/ refrattarietà in tre diverse colonne in relazione a delle condizioni specifiche.



A. Condizione A: (leggendo l'immagine in orizzontale) il canale è chiuso; arriva la depolarizzazione (si tratta di un canale voltaggio-dipendente); la depolarizzazione (che si vede con l'inversione della polarità: cariche positive all'interno e negative all'esterno) comporta l'apertura del canale; condizione di refrattarietà a causa di una deformazione conformazionale (il sito di inattivazione è ad un livello diverso dalla porta d'ingresso), tuttavia la depolarizzazione è mantenuta (persistenza dello stimolo).



B. Condizione B: Il canale è chiuso; arriva la depolarizzazione e il canale si apre; lo ione specifico del canale (il calcio che solitamente è più concentrato fuori dalla cellula che dentro) può entrare; una quota del calcio che entra occupa un sito di legame sul versante citoplasmatico della proteina canale; il legame del calcio ad un sito interno comporta una variazione conformazionale che inattiva il canale.

Esempio pratico: entro con la macchina dal cancello, quando sono dentro schiaccio con la mia mano un pulsante e il cancello si chiude.

C. Condizione C: Questo canale presenta un sito di fosforilazione per cui quando è fosforilato il canale è aperto. Canale chiuso; arriva la fosforilazione che porta all'apertura del canale; entra lo ione specifico (in questo caso il Calcio) che poi va per il suo destino; si ha poi un arrangiamento della funzione cellulare tale per cui si attiva la defosforilazione del canale che ha come conseguenza finale l'inattivazione del canale stesso.

A fronte del concetto chiuso-aperto-inattivato le modalità attraverso le quali questo avviene sono diverse in base alle famiglie di canali che si prendono in considerazione. Lo stesso risultato si può ottenere con modalità diverse.

Canali ionici

Genesi del potenziale di membrana

Prendiamo in considerazione una cellula artificiale in una condizione di elettroneutralità in entrambi gli ambienti. Apriamo un canale per il K⁺: esso può uscire dalla cellula, diffondendo secondo il suo gradiente di concentrazione fino alla formazione di un gradiente elettrico che fermerà la sua fuoriuscita (potenziale di equilibrio -90 mV).

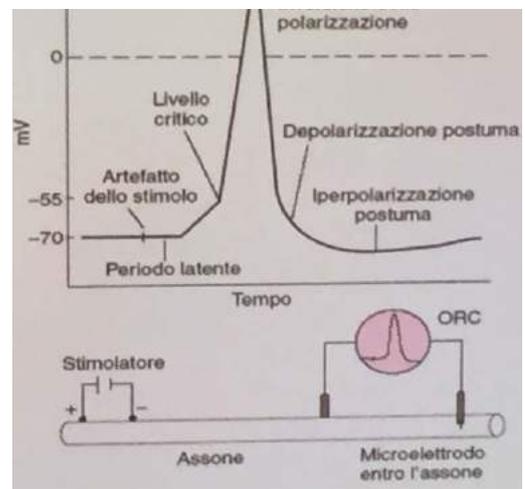
Rendendo invece la membrana permeabile solamente al Na⁺ si sviluppa un potenziale di membrana positivo (Na⁺ è più concentrato all'esterno, all'apertura dei canali entra) e, quando viene raggiunto il potenziale di equilibrio (+60mV) il flusso di ioni Na⁺ si ferma; in una cellula reale invece abbiamo un'alta permeabilità al K⁺, una bassa permeabilità al Na⁺ e la pompa Na⁺/K⁺ che fa sì che il potenziale di riposo sia -70 mV, cioè il valore che viene realmente misurato.

Struttura del neurone

I neuroni hanno una morfologia estremamente variabile, ma il prototipo di cellula nervosa presenta un soma (corpo cellulare o pirenoforo), dove si trova il nucleo, prolungamenti minori detti dendriti e un prolungamento maggiore detto assone; l'assone parte dal *monticolo assonico* (o cono d'emergenza) e da esso si diparte l'assone, la cui terminazione si sfrangia a dare i *bottoni terminali*, che creano sinapsi con altri neuroni.

Le cellule di Schwann nel sistema nervoso periferico e gli oligodendrociti nel sistema nervoso centrale costituiscono una guaina che avvolge l'assone e che costituisce un isolante attorno al sistema: essi costituiscono la guaina mielinica, e mentre una cellula di Schwann avvolge una porzione di un singolo assone di un neurone del sistema nervoso periferico, ciascun oligodendrocita presenta numerosi prolungamenti che avvolgono più fibre nervose del sistema nervoso centrale. La

velocità di conduzione dell'impulso di un assone è direttamente proporzionale al suo diametro¹, ed è aumentata dalla presenza di guaina mielinica, in quanto l'isolamento migliora la performance conduttiva dell'assone. Si definisce nodo di Ranvier il punto di giunzione fra due singoli tratti di avvolgimento, ovvero un breve tratto dell'assone privo di mielina.

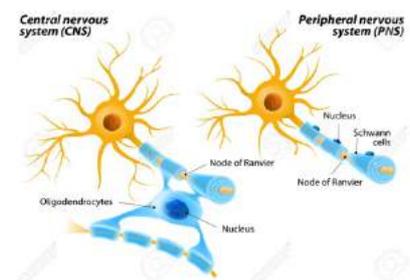


Potenziale d'azione²

Considero l'assone di un neurone e posiziono gli elettrodi, connessi ad uno stetoscopio a raggi catodici, a un determinato livello: se misuro il potenziale di membrana a riposo, esso è di -70mV. Stimolo il neurone mettendo ad una determinata distanza da quella dove eseguo la misurazione un circuito di stimolazione, che permette la creazione di stimoli elettrici sopra ad una certa intensità di scossa registro il cosiddetto *artefatto dello stimolo*, cioè un disturbo elettrico sul tracciato che mi indica il momento in cui lo stimolo è stato applicato (permette di capire il tempo 0 in cui parte la stimolazione). Successivamente si ha un *periodo latente*, quel tempo necessario affinché lo stimolo generato in un determinato punto si riverberi nel punto di registrazione; quando lo stimolo arriva nel punto di misurazione si registra una depolarizzazione (cioè un avvicinamento allo 0), con una determinata pendenza per un certo periodo, fino al valore di -55mV, detto *livello critico* (o livello di soglia): a questo punto si verifica una grossa e rapida depolarizzazione (sul grafico viene rappresentata da un "spike").

Se lo stimolo fosse stato inferiore al livello critico si avrebbe avuto soltanto una *deflessione locale*, ovvero una leggera depolarizzazione che lentamente sarebbe scomparsa per tornare al potenziale di riposo, senza innescare la depolarizzazione, mentre se lo stimolo fosse stato anche molto maggiore di questo valore la risposta sarebbe stata comunque identica.

Insomma, quando si raggiunge il valore di -55mV avviene un fenomeno di tipo tutto o nulla, il vero e proprio potenziale d'azione, che è rappresentato da una depolarizzazione che accelera brutalmente fino al raggiungimento dello 0 e al suo superamento, con inversione di polarità: la cellula presenta in questo momento l'interno positivo rispetto all'esterno.

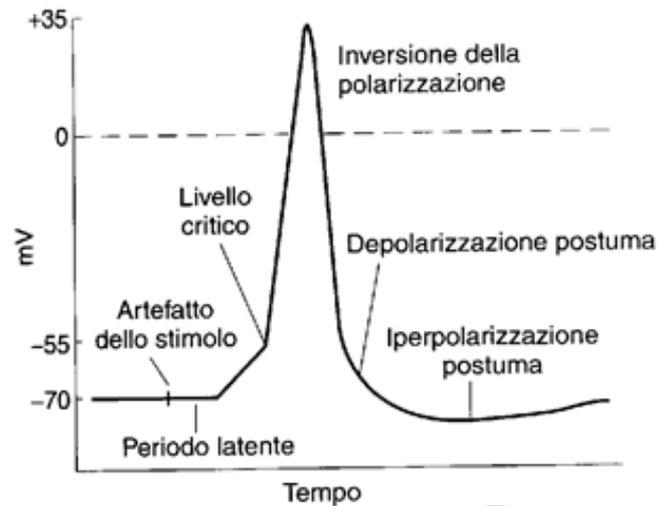


¹ Esempio: se ho una strada dissestata di campagna stretta e una strada larga e asfaltata la velocità di percorrenza è molto differente.

Il potenziale d'azione

La **fig.1** rappresenta uno dei 5 grafici più importanti del corso di fisiologia.

In ascissa è indicato il tempo espresso in ms, in ordinata la differenza di potenziale espressa in mV. Il suddetto è stato ricavato registrando la differenza di potenziale tra l'interno e l'esterno di un assone prima, durante e dopo l'arrivo di uno stimolo elettrico in corrispondenza di un punto della membrana. La registrazione è stata realizzata ponendo due elettrodi, uno nei pressi del versante interno e l'altro nei pressi di quello esterno della membrana, connessi ad un oscilloscopio a raggi catodici.



In assenza di stimoli il potenziale di membrana di questa cellula viva risulta -70mV, il che (per definizione) rappresenta il **potenziale di membrana a riposo**. In seguito viene posizionato, in un punto più o meno distante dal registratore, un circuito di stimolazione (strumento che attraverso una pila o una connessione alla rete elettrica, consente di dare degli stimoli elettrici, calibrati per intensità e tempo, al sistema).

Facendo partire lo stimolo, in primo luogo, viene registrato il cosiddetto **artefatto dello stimolo** un leggero disturbo elettrico che indica il momento in cui lo stimolo viene applicato al sistema. Successivamente il segmento del tracciato è orizzontale (identico al segmento precedente all'artefatto dello stimolo) e in quanto tale può essere convertito in un determinato tempo, chiamato **periodo latente**. Concettualmente è il tempo necessario affinché lo stimolo prodotto dal circuito si riverberi al punto di registrazione.

Il potenziale di membrana va in contro ad una depolarizzazione³ di un determinato andamento (rappresentato dalla pendenza di questo tratto) per un certo tempo, dopo il quale esso cambia quando viene raggiunto il valore di -55 mV, detto **livello critico/soglia**.

- Se lo stimolo è tale da portare il potenziale di membrana a - 55mV si innesca un sistema **"tutto o nulla"**, il potenziale d'azione, il quale nella prima fase consta di una depolarizzazione. Oltre questa soglia la depolarizzazione non si arresta allo 0 ma prosegue causando l'**inversione della polarizzazione**, momento in cui l'interno della cellula diventa più positivo rispetto all'esterno, che diventa più negativo. Nel primo tratto l'inversione di polarità aumenta progressivamente e la cellula diventa sempre più positiva verso l'esterno. Nel secondo, la cellula torna a depolarizzarsi per poi, quando raggiunge lo 0, ripolarizzarsi. Nella branca ripolarizzante dopo aver raggiunto -70 mV (**depolarizzazione postuma** o potenziale postumo negativo) c'è una fase in cui supera questo valore e ne assume di più negativi (**iperpolarizzazione postuma** o potenziale postumo positivo⁴), per poi ritornare con una determinata cinetica al valore di riposo.

Il livello critico è il livello per cui si aprono determinati canali che causano il passaggio di specifiche correnti, quindi essendo dei canali che si attivano a fronte di una determinata depolarizzazione vengono classificati come canali sensibili al voltaggio. Essi sono attivati solo quando vengono raggiunti -55 mV. Se vengono superati i -55 mV (salto di

Il livello critico è il livello per cui si aprono determinati canali che causano il passaggio di specifiche correnti, quindi essendo dei canali che si attivano a fronte di una determinata depolarizzazione vengono classificati come canali sensibili al voltaggio. Essi sono attivati solo quando vengono raggiunti -55 mV. Se vengono superati i -55 mV (salto di

³ Depolarizzazione: quando il potenziale si avvicina allo zero

⁴ Attenzione: chiamato "positivo" nonostante esso sia più negativo del potenziale di riposo!

15 mV) e raggiunti -40 mV (salto di 30 mV) non ho un potenziale doppio, semmai può partire una sequenza di potenziale d'azione.

- Se lo stimolo è di entità inferiore viene registrata una leggera depolarizzazione, ad esempio -65/-60 mV, che non toccando i -55 mV si rinormalizza, costituendo un potenziale locale, non propagato, che non innesca il potenziale d'azione.

In questo grafico (**fig.2**), a differenza del primo, la tempistica è proporzionale alle varie fasi. Qui si nota che il tracciato del potenziale d'azione assume la morfologia di una punta (*spike*). Inoltre è evidente che la fase di depolarizzazione e ripolarizzazione siano assolutamente rapide, mentre la depolarizzazione postuma e la ripolarizzazione postuma vengono ad occupare un tempo largamente più lungo rispetto alle altre fasi.

Questo è il potenziale d'azione di una cellula nervosa, che è molto simile come caratteristiche e tempistica al potenziale d'azione di una cellula muscolare scheletrica. Invece è sostanzialmente diverso da

quello di una cellula muscolare cardiaca dove la tempistica è totalmente diversa, poiché nella fase di depolarizzazione c'è la cosiddetta "fase di plateau" che mantiene per un tempo decisamente lungo (150/200/250 ms) la depolarizzazione (caratteristica fondamentale per la funzione cardiaca). Infatti il sistema nervoso ha come fine la percezione d'informazione e la trasmissione di essa, perciò necessita di elementi rapidi e di un grosso numero di stimoli in una breve unità di tempo. Se ci fosse un potenziale che dura molti secondi, per poter comunicare un messaggio, servirebbe molto più tempo.

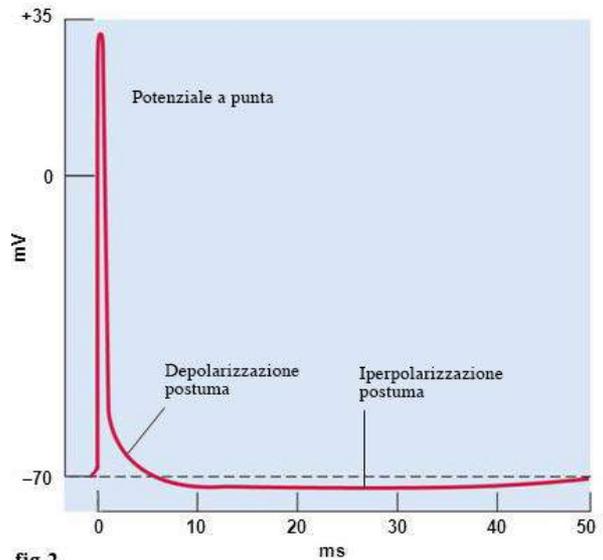


fig.2

Basi ioniche del potenziale d'azione

Al livello soglia (-55 mV) si attivano delle conduttanze per il sodio presenti nella membrana che in condizioni di riposo sono chiuse. A questo segnale i canali del sodio si aprono ed esso è libero di andare ovunque. Ma per le condizioni elettrochimiche si può prevedere che il sodio li attraversi, entrando nella cellula, a causa del:

- gradiente chimico: il sodio è più concentrato fuori che dentro
- gradiente elettrico: l'ambiente è positivo fuori dalla cellula e negativo dentro

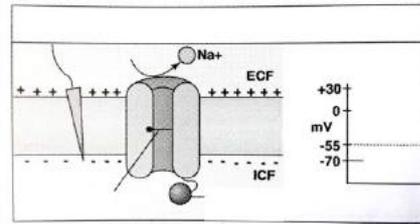
A questo punto l'interno si arricchisce di cariche positive, infatti da -55 mV parte la ripida fase ascendente dovuta all'ingresso massivo del sodio, la quale dopo aver raggiunto lo 0 non si arresta e causa l'inversione di polarità. A un certo punto il canale per il sodio si inattiva. Inoltre è presente la pompa sodio potassio, che butta fuori il sodio causando la depolarizzazione nella fase di inversione di polarità. Contemporaneamente si aprono i canali per il potassio (che come il sodio porta una carica positiva), ma la transizione ha una dinamica diversa, perché aprendosi i canali per il potassio, esso esce. Quest'ultimo, con la chiusura dei canali per il sodio, costituisce l'evento ripolarizzante. L'apertura dei canali potassio è l'evento dominante nella ripolarizzazione nella branca discendente del

potenziale d'azione. Questi canali poi andranno a chiudersi.

Canali voltaggio dipendenti

I canali voltaggio-dipendenti hanno due cancelli: il cancello di attivazione e il cancello di inattivazione

Quando abbiamo la condizione di potenziale di membrana a -55 mV il cancello di attivazione è chiuso mentre il cancello di inattivazione è aperto (fig.3)

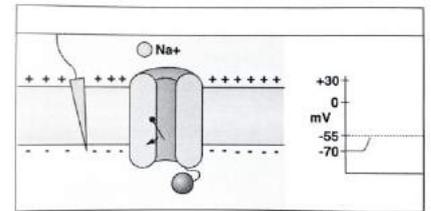


attivazione

riposo il

Fornito lo stimolo i canali riconoscono il valore -55 mV, si aprono, il Na^+ entra e la membrana si depolarizza (fig.4). A un certo punto c'è l'inversione della polarità e il canale si inattiva (fig.5).

Contemporaneamente si attiva la pompa sodio-potassio che butta fuori il sodio. Tutto ciò costituisce la branca ascendente del potenziale d'azione, cui fa seguito la branca discendente.



Il canale inattivato per essere riutilizzato in un ciclo successivo deve portarsi in uno stato di chiusura, cioè la porta di inattivazione deve essere aperta e la porta di attivazione deve essere chiusa.

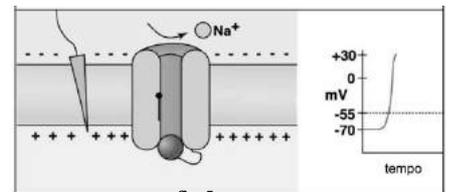
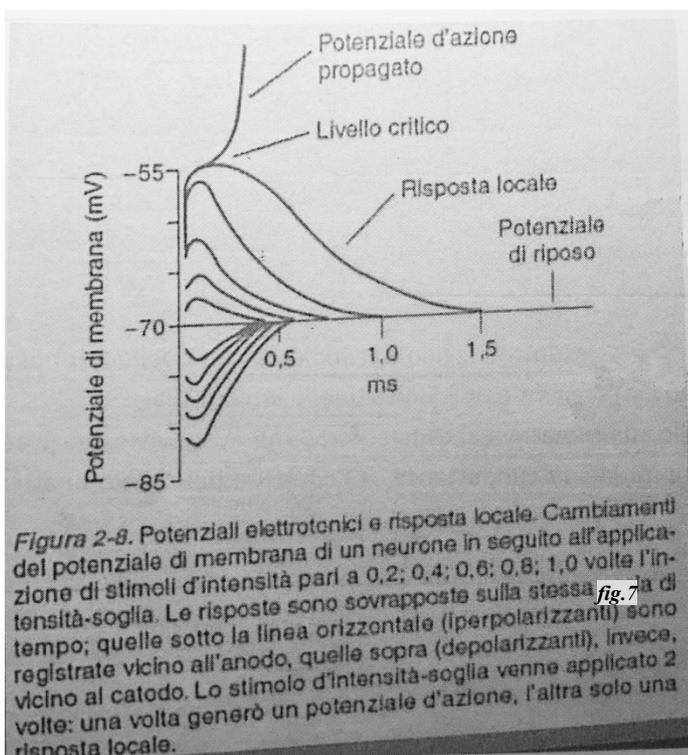
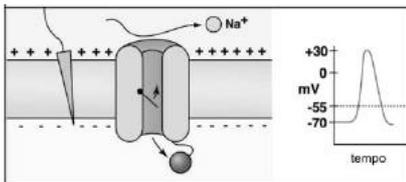


fig.5



Supponendo di iperpolarizzare la membrana a -75 mV, la cellula, subito dopo, ritorna al potenziale di riposo. Iperpolarizzando a -80 mV ci mette più tempo per ritornare nella condizione di riposo. Questi sono i potenziali elettrotonici a **risposta locale**, potenziali che si estinguono con una tempistica proporzionale all'entità della variazione di potenziale.

Supponendo di depolarizzare, ad esempio a -65 mV, sospendendo lo stimolo, la cellula ritorna al potenziale di riposo. Depolarizzando a -60 mV, una volta cessato lo stimolo lui si rinormalizza.

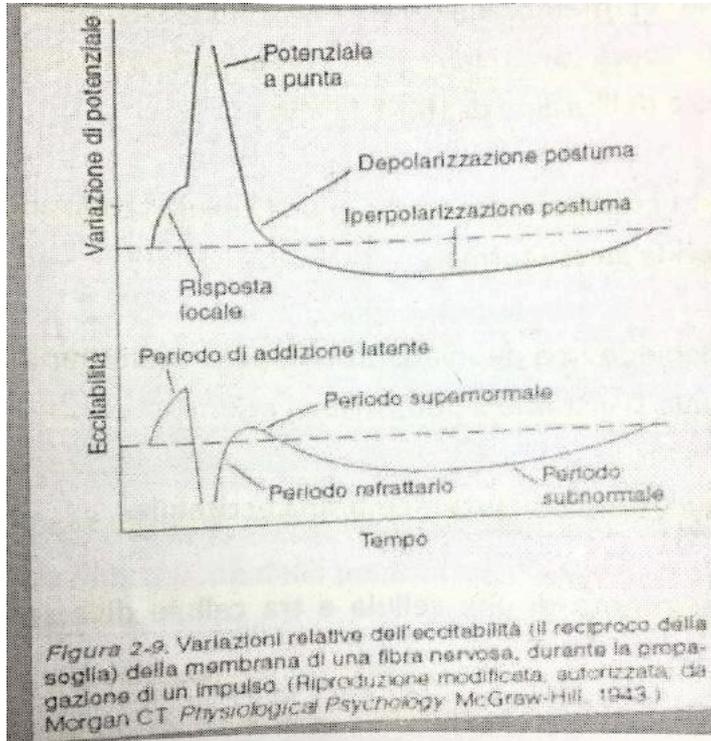
Se depolarizzo più consistentemente si comincia ad osservare una certa modificazione, in quanto si può raggiungere un livello di potenziale locale per cui si

genera il **potenziale d'azione propagato**. Quindi si possono avere delle risposte che rimangono locali finché non raggiungono **livelli critici** che innescano la propagazione del potenziale d'azione. Questa propagazione ha la

caratteristica di rigenerarsi. Infatti progressivamente l'informazione viene propagata per rigenerazione, per cui rimane inalterata se ha la possibilità di essere ripetuta passo dopo passo. (fig.7)

Eccitabilità e refrattarietà

“L'eccitabilità è l'inverso della refrattarietà. Una cellula è eccitabile quanto più facilmente risponde ad un determinato stimolo. Una cellula è più refrattaria quanto più è difficile indurle una risposta.”



Durante la risposta locale (passaggio da -70 a -55 mV) l'eccitabilità aumenta progressivamente. Questo periodo è chiamato **periodo di addizione latente**: periodo di ipereccitabilità (in cui la cellula diventa più eccitabile)

Esempio pratico: Supponendo che ci vogliono 15 kg per aprire una porta. Ipotizzando di applicare una forza di 10kg, ci vogliono altri 5kg per aprire la porta. Effetto additivo. Per chi ne ha messi 5 è più facile, in quanto se prima il contributo era insufficiente, adesso è sufficiente.

In questo modo un evento insufficiente adesso diventa idoneo a indurre l'evento perché si somma a un

qualcosa che ha permesso alla cellula di diventare sensibile.

Durante la fase di potenziale d'azione l'eccitabilità è 0, di conseguenza, il potenziale è nel **periodo refrattario**. Infatti la cellula, durante la fase di potenziale d'azione, deve non rispondere ad altri stimoli, altrimenti si creerebbe confusione.

Durante la fase tardiva di ripolarizzazione la cellula comincia ad uscire dalla sua refrattarietà e a ritornare a mostrare una certa eccitabilità. A un certo punto (tra -55 e -70 mV) la cellula entra nel **periodo supernormale**. Uno stimolo in questo momento anche più debole di 15 mV, può portare la cellula a -55 mV, quindi la cellula è più eccitabile.

L'ipereccitabilità è l'innesto di un evento a fronte di uno stimolo di intensità minore.

L'ipoeccitabilità è la necessità di uno stimolo di intensità superiore per avere una risposta dello stesso tipo.

Nella fase di iperpolarizzazione postuma, se il potenziale è, ad esempio, a -80 mV ci vorranno 25 mV per raggiungere il livello soglia. A questo punto la cellula è ipoeccitabile (**periodo subnormale**).

Caratteristiche dei potenziali d'azione.

- Sono depolarizzazioni rapide del potenziale di membrana, che raggiunge quasi istantaneamente valori di potenziale al di sopra di 0 mV per poi ripolarizzarsi più lentamente. L'ampiezza complessiva del picco è dell'ordine di 100-120 mV.

- Sono eventi stereotipati, cioè sempre uguali, in grado di rigenerarsi: in una cellula tendono a ripetersi nel tempo e nello spazio sempre con la stessa forma.
- Sono eventi “tutto o nulla”; la generazione richiede una depolarizzazione della membrana oltre un valore critico – soglia – superato il quale si instaura il potenziale d’azione.
- Si possono osservare solo in cellule specializzate, dotate di una membrana eccitabile.
- Vengono usati per trasferire informazioni all’interno di una cellula e tra cellule diverse (grazie alle connessioni sinaptiche).
- Dopo, o meglio durante un potenziale d’azione, si instaura un periodo di non responsività prima completa e poi parziale, rispettivamente periodo refrattario assoluto e relativo.
- Si propagano nello spazio con una velocità compresa tra 1 m/s e 100 m/s senza grandi alterazioni di ampiezza e forma (perché è un fenomeno rigenerante, non dissipativo).

Generazione di potenziale d'azione in un assone mielinizzato e non

Considerando un assone lungo un metro, fornendo una scossa a metà della distanza con un circuito di stimolazione e mettendo un registratore a destra e sinistra, il potenziale d’azione viene generato.

Considerando l’inizio come $t=0$, adesso, nel momento $t=1$, sul versante interno ed esterno della membrana ho dei **richiami di cariche**, cioè nella zona in cui è presente il potenziale d’azione si verificano richiami di cariche da parte delle cariche opposte contigue presenti sul medesimo versante della membrana. Tutto ciò rappresenta sottrazione/spostamento di cariche in cui il risultato netto è la variazione progressiva di potenziale di membrana, immediatamente a sinistra e a destra. Se questi movimenti di carica sono tali da far raggiungere il valore di -55 mV nelle zone adiacenti, il potenziale d’azione si propaga sia a sinistra che a destra. Da questi punti poi il fenomeno si ripete progressivamente.

La domanda che ci si pone adesso è: perché non ritorna indietro (di nuovo al centro)?

Prima si partiva da una condizione di riposo, adesso invece il sistema va solo esternamente perché medialmente è in refrattarietà e quando si riprenderà da questa condizione il potenziale sarà già troppo lontano.

Questa appena descritta è una **propagazione punto a punto**, caratteristica dell’assone amielinico, determinata da una velocità ridotta. (**fig.9**)

Nell’assone mielinizzato invece la **propagazione è saltatoria** in cui i punti critici sono i nodi di Ranvier. L’assone preso in considerazione è della stessa lunghezza e dello stesso diametro, ma in esso è presente la mielina. Generando il potenziale e registrando come nel caso precedente, si formano le stesse correnti, ma non in punti strettamente adiacenti, perché avendo la zona di isolante, i circuiti si generano da un nodo di Ranvier all’altro. Quindi se nel momento 0 è presente il potenziale d’azione nel nodo su cui mi sono posto a operare, nel momento 1 si ha l’innesco ai due nodi di ranvier adiacenti di destra e sinistra, che come prima si propagano progressivamente senza tornare indietro (e come prima il segmento refrattario ritorna attivo quando il potenziale si è allontanato).

Quindi l'assone mielinico a parità di stimolazione conduce il potenziale d'azione ad una velocità maggiore.

In condizioni fisiologiche, nell'ambito di una normale modulazione del circuito nervoso, la zona innesto (trigger zone) è inserita a livello del segmento iniziale dell'assone, in quanto a questo livello abbiamo una particolare densità di canali ionici la cui marginazione in questa zona è unità funzionale in questo tipo di cellule, dovuta a un contributo specifico di elementi post-elettrici che marginano l'espressione di canali ionici in questa zona. Quindi in una soluzione fisiologica risulta che il corpo cellulare risente di vari stimoli, che vengono propagati alla zona trigger, dove ci sono i canali ionici responsabili dell'innesto fisiologico del potenziale d'azione. Si avrà l'innesto del potenziale d'azione dopo questo dialogo sinaptico solo se in questa zona il potenziale di membrana passa da -70 a -55 mV. Se le forze di stimolazione non sono sufficienti, non si ha l'innesto del potenziale. Se le forze d'azione superano la soglia, qui si aprono i canali del sodio e il potenziale percorre l'assone.

La sinapsi impedisce la propagazione a ritroso del potenziale d'azione, aiutata dal fatto che nel corpo cellulare non ci sono queste strutture.

L'apertura dei canali ionici porta ad una depolarizzazione della membrana che apre ulteriori canali ionici e questi determinano il flusso di potenziale d'azione nella direzione determinata.

La condizione saltatoria è garantita dalla guaina mielinica e la demielinizzazione dell'assone comporta problemi devastanti.

Considerando un assone in cui è in corso la propagazione del potenziale d'azione verso destra, poniamo il sistema di registrazione, l'oscilloscopio a raggi catodici, con i due elettrodi a distanza l'uno dall'altro. Analizzando la genesi delle onde che si registrano, abbiamo che il passaggio del potenziale d'azione in corrispondenza dei due elettrodi dà un'onda positiva e un'onda negativa. Deflessioni sotto lo 0 vengono chiamate onde negative, quelle sopra lo 0 vengono chiamate onde positive. Nel primo momento ho una deflessione positiva, poi un tratto isoelettrico, perché il potenziale d'azione è contenuto tra i due elettrodi. Successivamente ottengo il contrario quando il potenziale passa sotto l'altro elettrodo avendo una deflessione negativa. Questa è la rappresentazione bifasica del potenziale