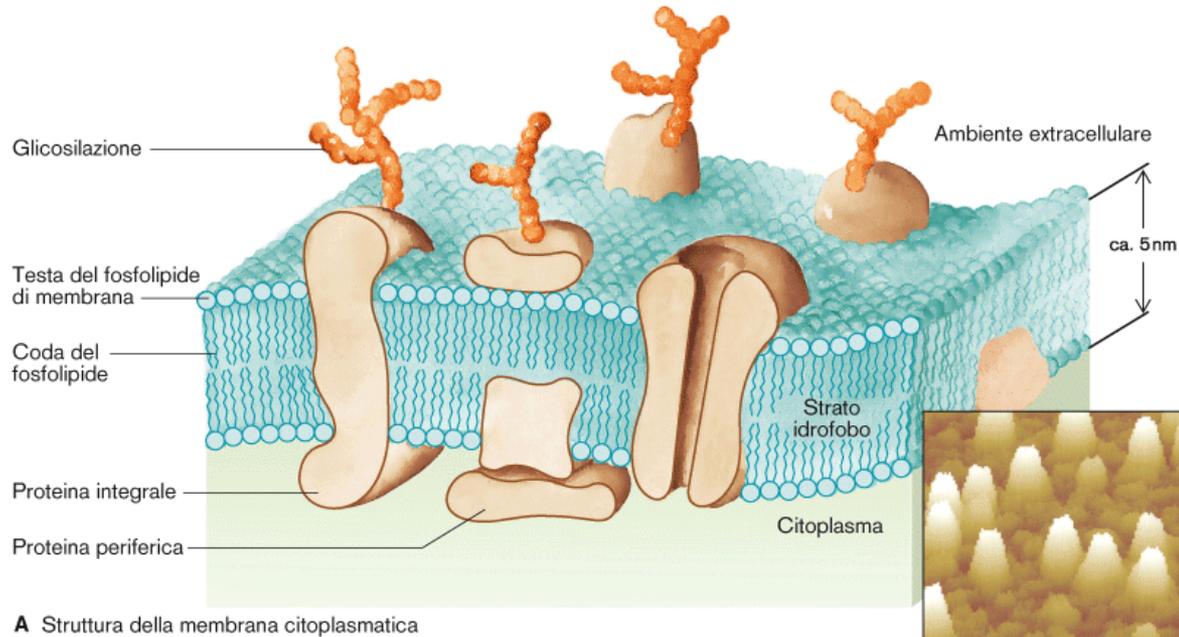
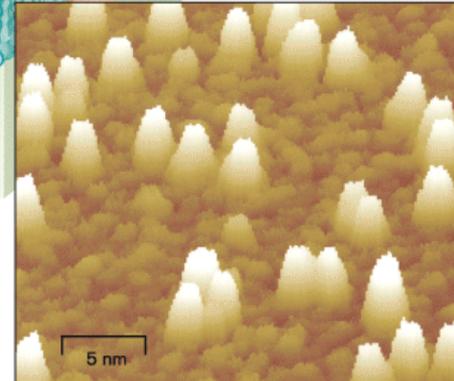


L'eccitabilità cellulare

La membrana citoplasmatica e il modello a mosaico fluido



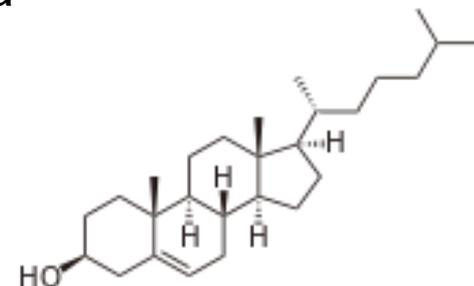
B Immagine al microscopio a forza atomica (AFM) della superficie della membrana citoplasmatica



Funzioni della membrana plasmatica:

- 1 separazione dei liquidi intra/extracellulari
- 2 regolazione scambi con l'esterno
- 3 comunicazione tra cellula e ambiente
- 4 stabilizzazione strutturale

Struttura del colesterolo, molecola fondamentale della membrana plasmatica



Le proteine di membrana

Classificazione:

Recettori

Canali ionici (selettivi/ Gate di attivazione)

Trasportatori (diffusione facilitata/trasporto attivo primario/secondario)

Pompe ioniche

TRASPORTO PASSIVO

- **non richiede energia**
- avviene **secondo gradiente di concentrazione**
- tende a **dissipare i gradienti di concentrazione** (ioni e molecole passano dal compartimento a maggior concentrazione verso quello a minor concentrazione)
- avviene in due modi diversi:
 - 1) **Diffusione semplice**
 - 2) **Diffusione facilitata**

TRASPORTO ATTIVO

- **richiede energia metabolica (ATP)**
- avviene **contro gradiente di concentrazione**
- **crea gradienti di concentrazione**
- **è sempre mediato da proteine di membrana**
- avviene in due modi diversi:
 - 1) **Trasporto attivo primario** (**direttamente accoppiato** a una sorgente di energia metabolica)
 - 2) **Trasporto attivo secondario** (**indirettamente accoppiato** a una sorgente di energia metabolica)

Trasporto passivo attraverso la membrana: I canali ionici

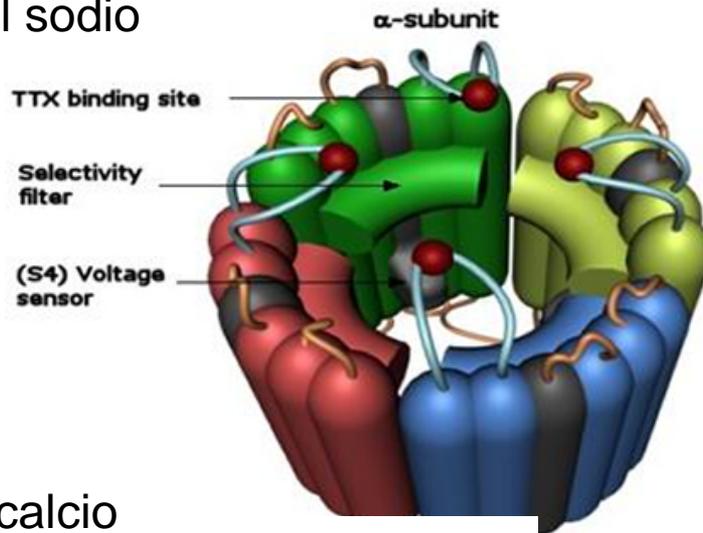
Classificazione

VOC: Voltage-Operated channels

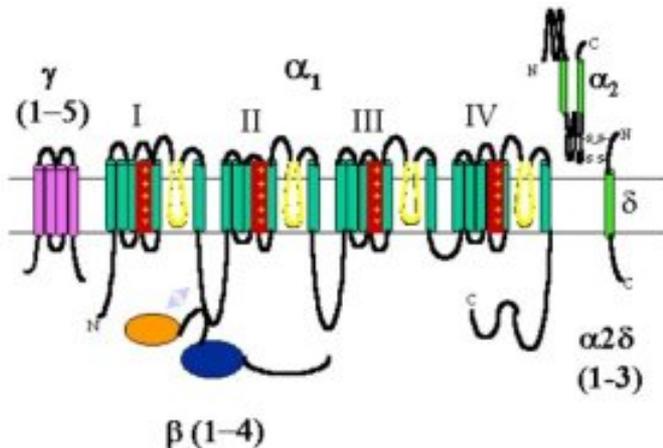
ROC: Receptor-Operated channels

SOC: Second messengers –Operated channels

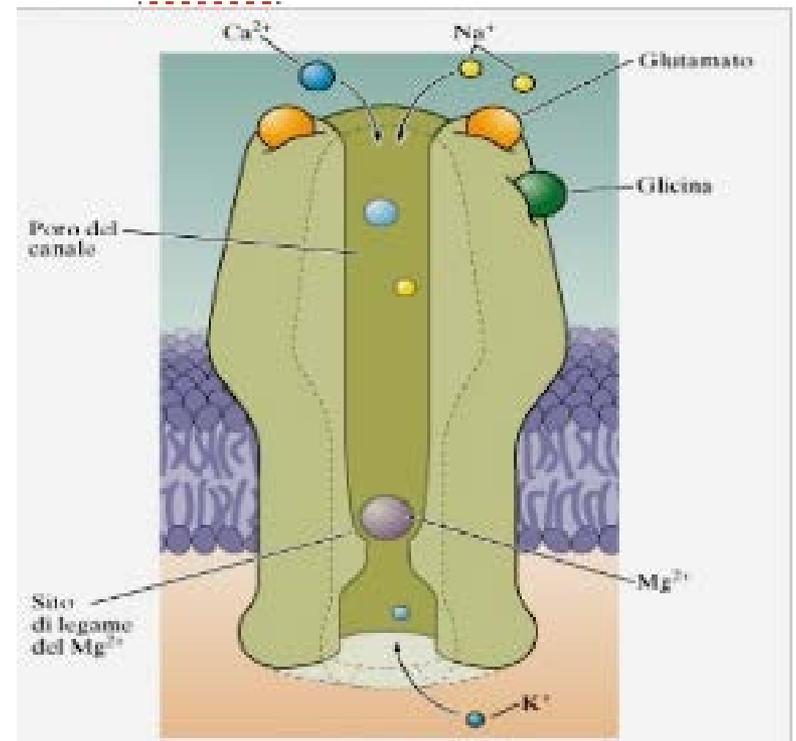
Canali del sodio



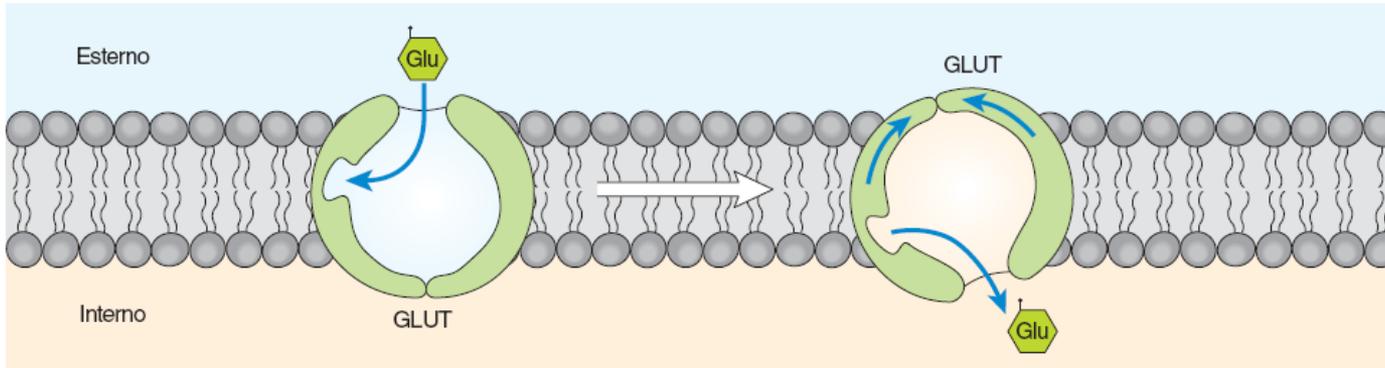
Canali del calcio



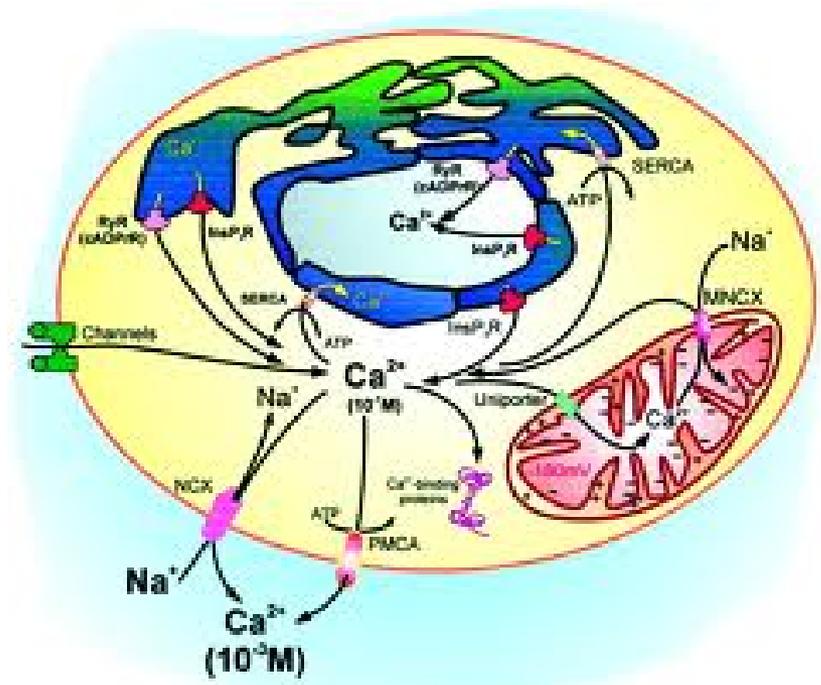
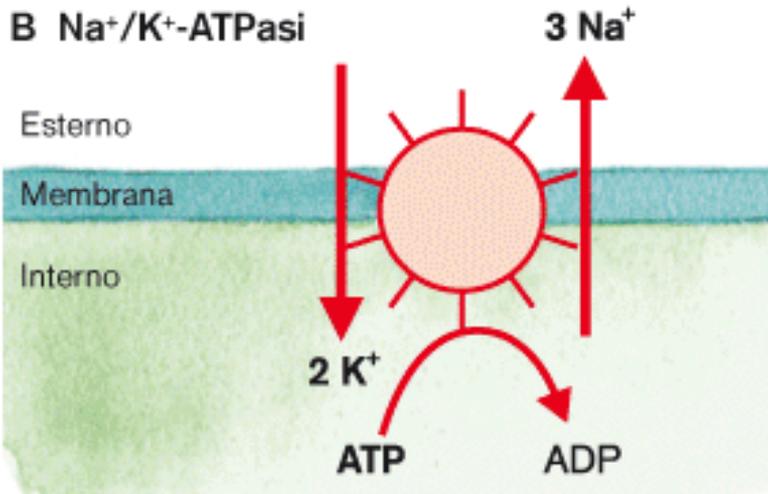
Recettori NMDA



Trasporto passivo attraverso la membrana: La Diffusione facilitata (GLUT)



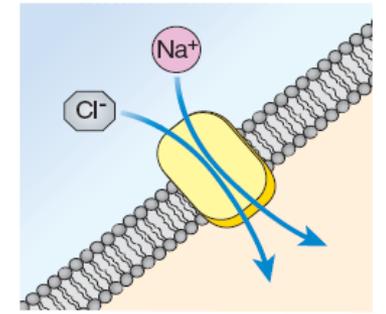
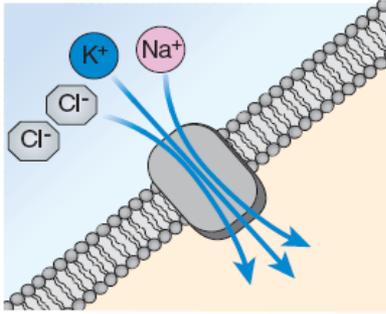
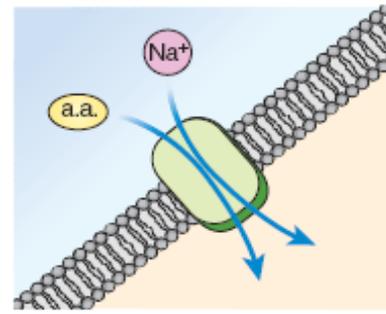
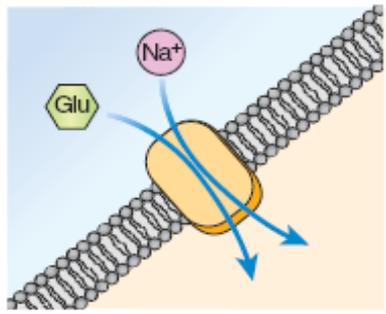
Trasporto attivo primario (pompe Na^+/K^+ ATPasi, Ca^{2+} -ATPasi; H^+/K^+ -ATPasi)



Trasporto attivo secondario

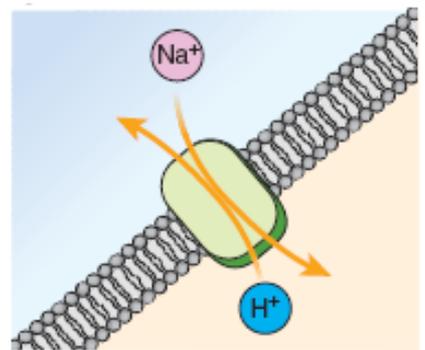
I simporti Na⁺-dipendenti

- **simporto Na⁺/ glucosio**
- **simporto Na⁺/ aminoacidi**
trasportano glucosio e amino acidi all'interno delle cellule epiteliali
- **simporto Na⁺/ K⁺/ 2Cl⁻**
trasporta Cl⁻ all'interno della cellula
- **simporto Na⁺/ Cl⁻**
trasporta Cl⁻ all'interno della cellula

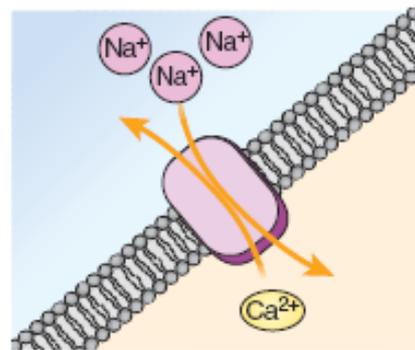


Gli antiporti Na⁺-dipendenti

- **antiporto Na⁺/ H⁺**
contribuisce al mantenimento del pH intracellulare
- **antiporto Na⁺/ Ca²⁺**
contribuisce a mantenere bassi i livelli di Ca²⁺ intracellulare



1Na⁺/1H⁺



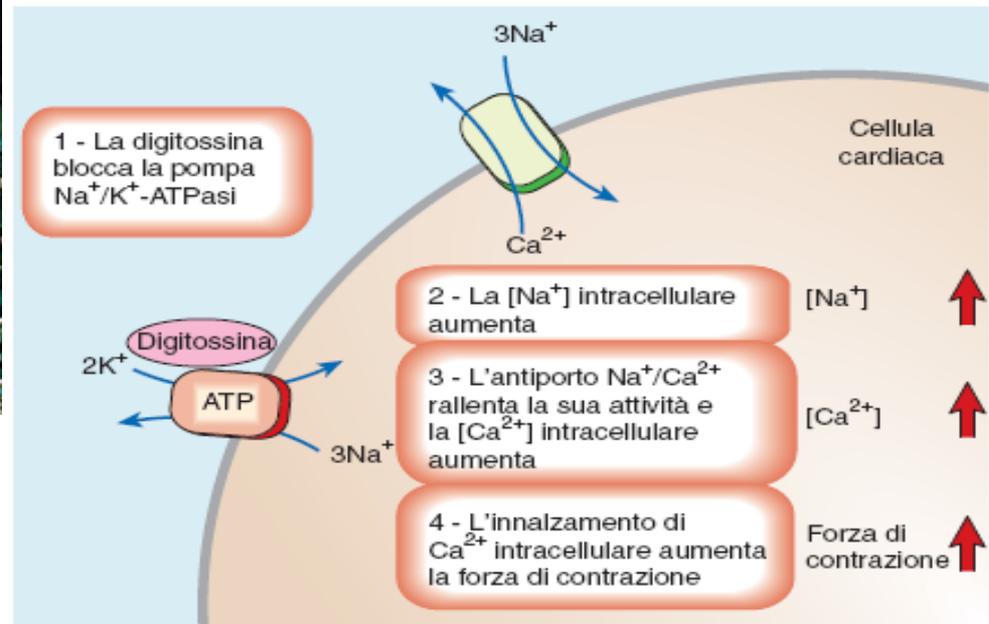
3Na⁺/1Ca²⁺

Una cura del XVII secolo per l'insufficienza cardiaca

Digitalis purpurea
(contiene digitossina,
glicoside cardiaco)



Azione degli steroidi cardiotonici *ouabaina, digitossina* (glicosidi cardiaci)



L'eccitabilità cellulare

Definizione: Si definisce eccitabile una cellula capace di generare potenziali d'azione

Caratteristiche

Presenza di una membrana selettivamente permeabile agli ioni (particelle elettricamente cariche) che consente alla cellula di mantenere dei gradienti ionici tra compartimento intracellulare ed extracellulare

Il versante intracellulare è carico negativamente rispetto al versante extracellulare

Le cellule impiegano buona parte della loro energia per mantenere una differente concentrazione di ioni ai due lati della membrana

Diffusione ed osmosi

La diffusione è il passaggio spontaneo di soluto secondo un gradiente di concentrazione

la quantità di soluto che la attraversa una membrana nell'unità di tempo e per unità di superficie è:

$$F = P * (C_e - C_i);$$

essendo P= permeabilità; C_e e C_i = conc ext e int del soluto rispetto alla cellula (o C_a e C_b relativamente all'esempio in figura a lato

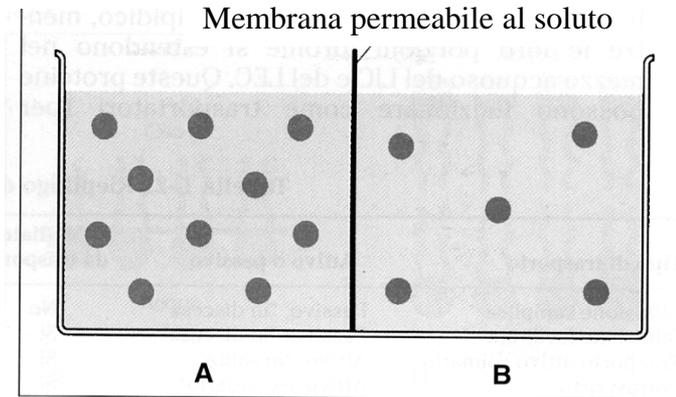


FIGURA 1-5. Diffusione semplice. Le due soluzioni, A e B, sono separate da una membrana semipermeabile. La soluzione A all'inizio contiene una maggiore quantità di soluto rispetto alla soluzione B. [Costanzo] fig1-5

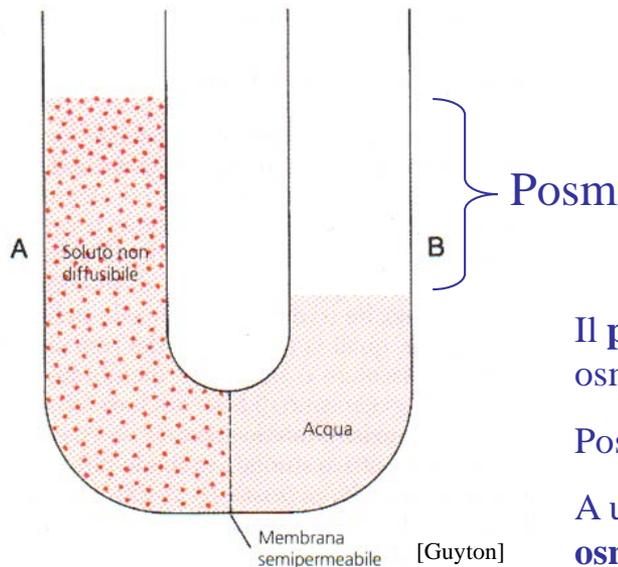


Figura 4-10. Dimostrazione della pressione osmotica ai due lati di una membrana semipermeabile.

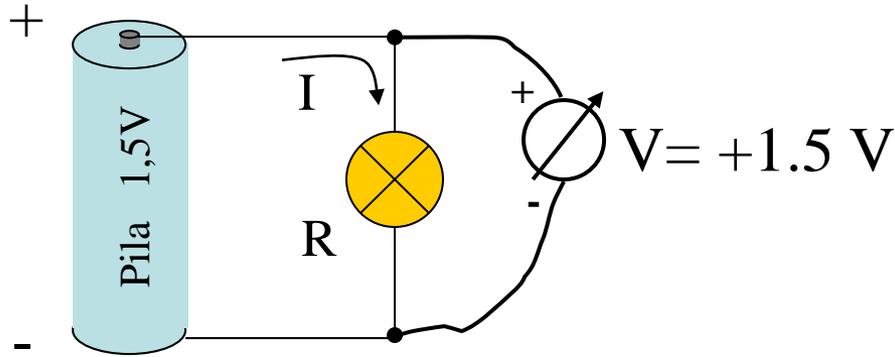
L'osmosi è il passaggio di solvente (H₂O) attraverso una membrana semipermeabile (perm solo al solvente) in direzione inversa al gradiente di concentrazione (del soluto): dalla soluzione meno concentrata a quella più concentrata.

Il **potere osmotico** di una soluzione è dato dalla sua *osmolalità* (n° di osmoli/litro di H₂O; 1 osmole=1 mole/n° particelle per molecola di soluto)

$$Posm = \text{osmolalità} * R * T$$

A un gradiente di concentrazione 1 milli osmolale corrisponde una **pressione osmotica** Posm = 23 mmHg

Differenza di potenziale

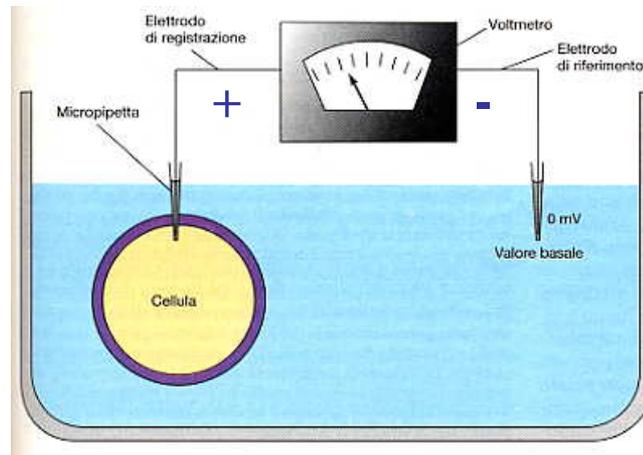


V: differenza di potenziale (V, Volt),
energia potenziale che si applica a
particelle elettricamente cariche
($V=J/C$, energia per unità di carica)

I: corrente elettrica (A, Ampère) =
flusso di cariche elettriche; la freccia
indica il percorso di cariche positive,
quelle negative vanno in senso
inverso



R: resistenza elettrica (Ω , Ohm)



■ **Figura 5-32 Misura della differenza del potenziale di membrana** In laboratorio, due elettrodi vengono connessi a un voltmetro che misura la differenza di cariche elettriche tra due elettrodi. L'elettrodo posizionato nel bagno è l'elettrodo di riferimento e corrisponde alla terra, in senso elettrico. L'elettrodo di registrazione è posizionato all'interno della cellula e la misura sul voltmetro fornisce la differenza del potenziale di membrana.

[Silverthorn]

Diffusione di particelle cariche

Come le particelle senza carica anche gli ioni tendono a diffondere verso l'ambiente in cui la loro concentrazione è minore (secondo il gradiente di concentrazione) ma il loro spostamento comporta adesso la formazione di uno squilibrio di carica elettrica (gradiente elettrico) ovvero la generazione di una differenza di potenziale tra i due ambienti.

Tale gradiente elettrico esercita sugli ioni una forza che inizialmente frena e alla fine arresta il processo di diffusione. Esempio con ione sodio e ione cloro

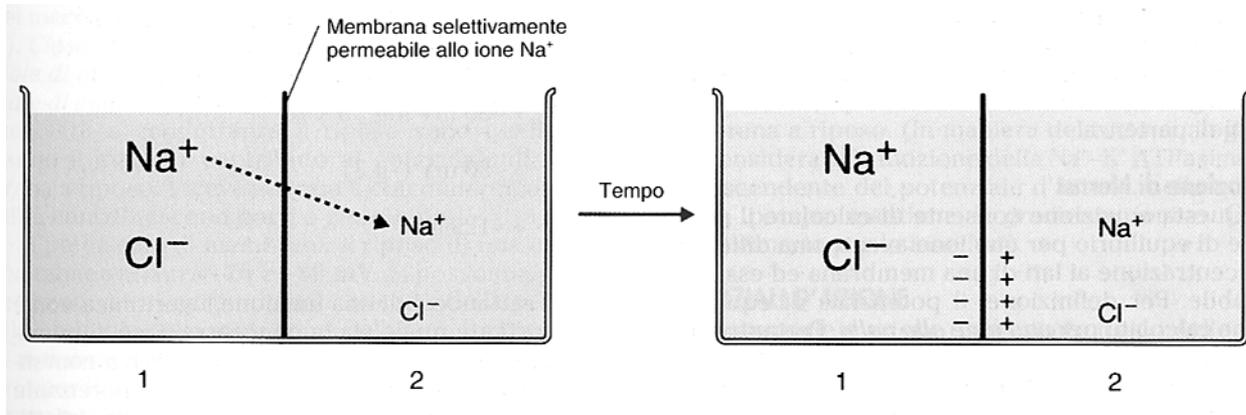


FIGURA 1-10. Generazione del potenziale di diffusione dello ione Na^+ .

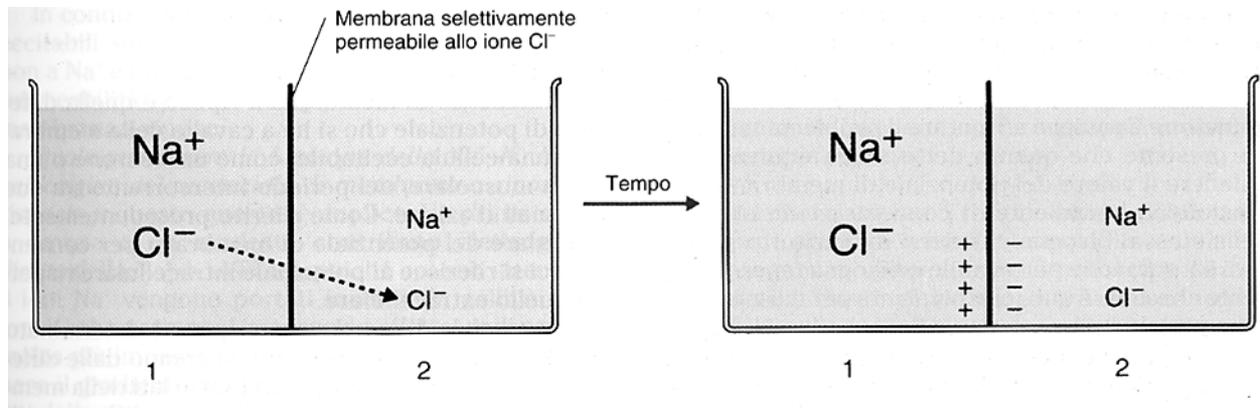
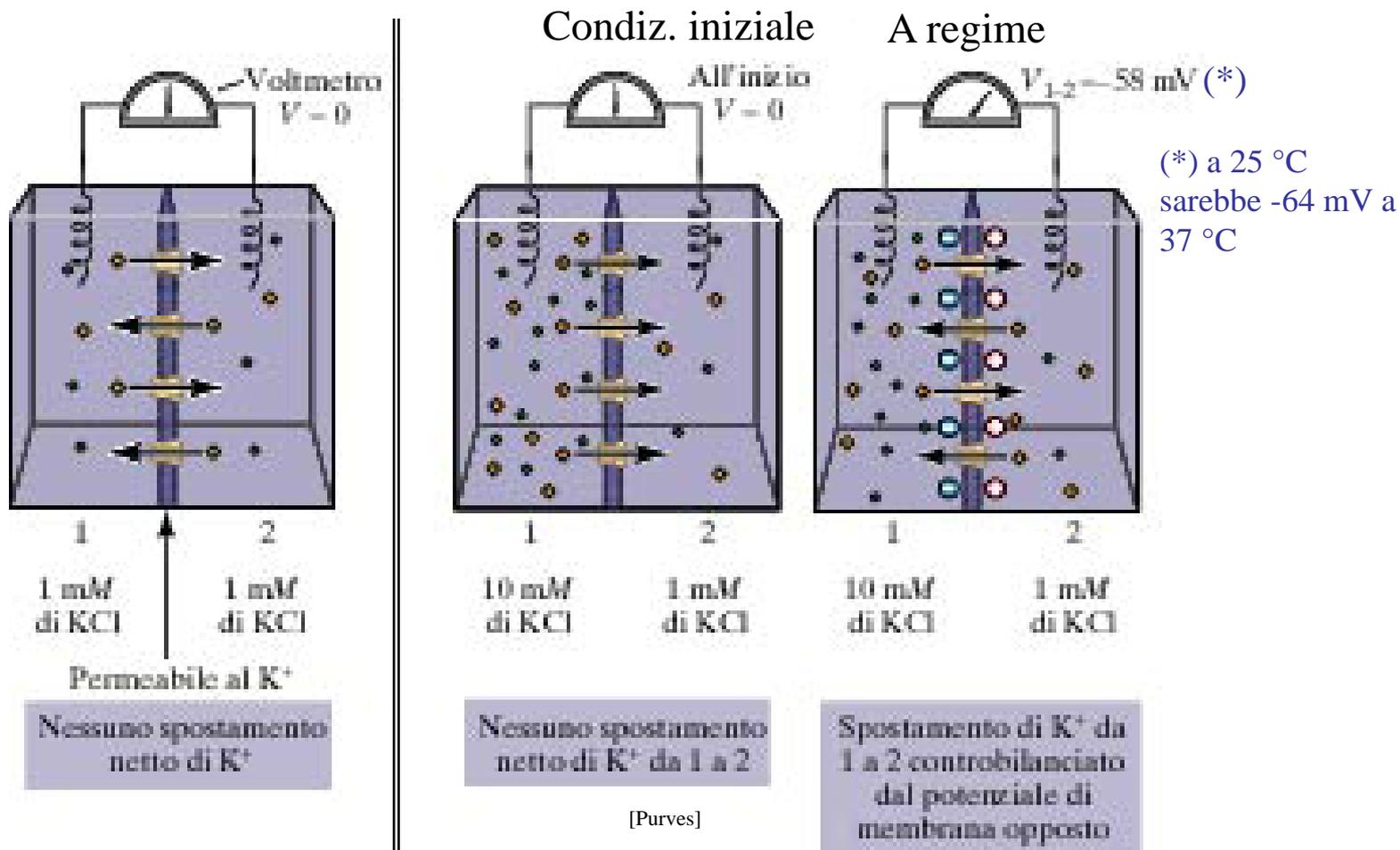


FIGURA 1-11. Generazione del potenziale di diffusione dello ione Cl^- .

Gradiente di concentrazione e gradiente elettrico

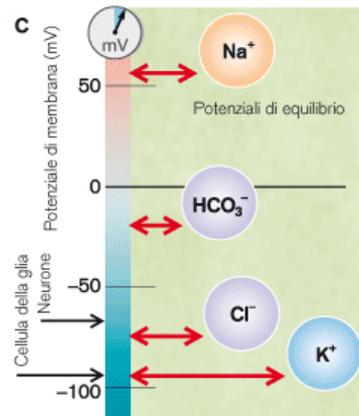
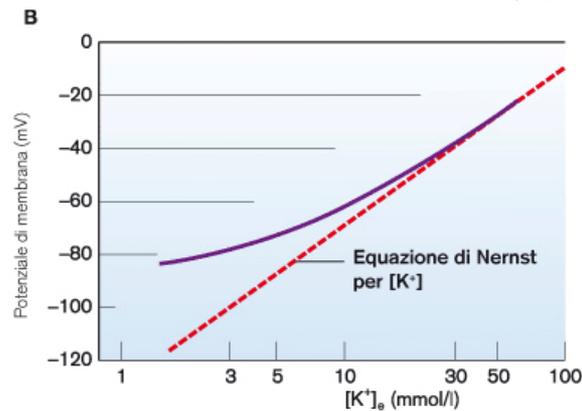
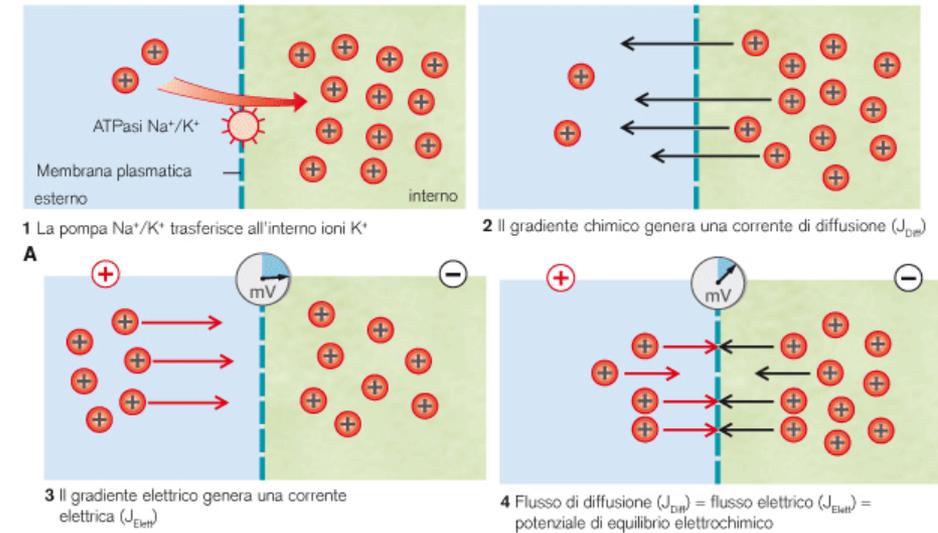


La soluzione di KCl è all'inizio elettricamente neutra (K^+ bilanciato da Cl^-)

La diffusione di particelle cariche genera un gradiente elettrico (differenza di potenziale tra i due comparti)

A regime, la corrente dovuta al gradiente elettrico bilancia la corrente dovuta al gradiente di concentrazione

Il potenziale di equilibrio dipende dal rapporto di concentrazioni, a regime, dello ione nei due comparti (L. di Nernst)



mostrano la direzione della variazione del potenziale di membrana a seconda dell'apertura dei canali ionici selettivi alle suddette specie ioniche. Sulla sinistra sono indicati con le frecce nere i potenziali di riposo della membrana di una cellula caratterizzata da una conducibilità ionica transmembrana dominante per gli ioni K^+ (cellula della glia) e di una cellula con un'addizionale conducibilità transmembrana per gli ioni Na^+ e Cl^- (neurone).

Fig. 3.1 Potenziali di membrana e potenziali di inversione ionica. **A** Rappresentazione schematica della genesi del potenziale di diffusione chimica transmembrana per gli ioni potassio (diretto verso l'esterno). Il fenomeno della diffusione ionica prende piede con l'accumulo intracellulare degli ioni K^+ per azione della pompa ionica di scambio Na^+/K^+ (vedi **1**). Infatti, è questa loro distribuzione chimica diseguale tra i due lati della membrana a portare a una loro diffusione verso l'esterno (J_{Diff} = flusso di diffusione chimica transmembrana, vedi **2**), diffusione che a sua volta instaura un gradiente elettrico transmembrana diretto in direzione contraria (J_{Elett} , vedi **3**). Il raggiungimento del potenziale di equilibrio (elettrochimico) indica il completo annullamento reciproco delle correnti ioniche J_{Diff} e J_{Elett} (**4**).

B mostra che il potenziale di riposo della membrana cellulare dipende dalla concentrazione extracellulare degli ioni K^+ . In pratica, la curva tratteggiata descrive il caso in cui la cellula sia permeabile esclusivamente agli ioni K^+ , mentre la curva continua descrive il caso più frequente, ovvero quello di una permeabilità anche agli ioni Na^+ e Cl^- (secondo i rapporti $P_{\text{K}^+} : P_{\text{Na}^+} : P_{\text{Cl}^-} = 1 : 0,002 : 0,1$). In entrambe le ipotesi, all'aumento della concentrazione extracellulare del potassio consegue una depolarizzazione della membrana cellulare. **C** rappresenta l'intervallo di variazione dei potenziali di equilibrio elettrochimico rilevati per la membrana plasmatica delle cellule. I valori tipici indicati con le frecce rosse, relativi ai potenziali di equilibrio di Nernst delle diverse specie ioniche (E_{ion}), mo-

La legge di Nernst

$$E_x = RT/zF \ln[x]_e/[x]_i \quad (\text{equazione di Nernst})$$

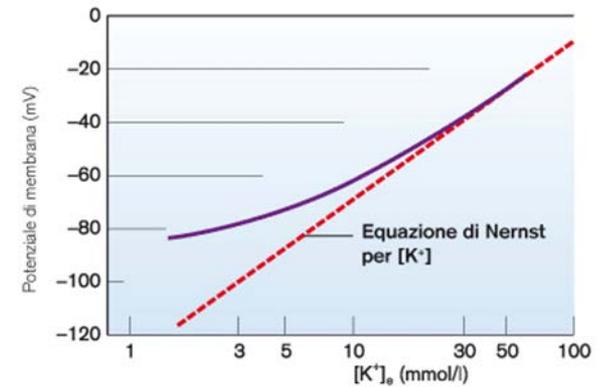
R = costante dei gas = 8.315 (J K⁻¹ mol⁻¹)

F = costante di Faraday = 9.649 x 10⁴ (C mol⁻¹)

z = valenza

T = temperatura assoluta

E = potenziale elettrico



Ad una temperatura di 20° C, con **z** = +1 il rapporto **RT/zF** vale 25.2 mV e ricordando che:

$$\ln x = 2.303 \log x$$

possiamo riscrivere l'equazione di Nernst come:

$$E_x = 58 \text{ mV } \log[x]_e/[x]_i$$

Consideriamo una membrana permeabile unicamente al K⁺, in cui **[K]_i = 10 [K]_e**.

In queste condizioni:

$$E_K = 58 \text{ mV } \log[K]_e/[K]_i$$

$$= 58 \text{ mV } \log 1/10 = -58 \text{ mV} \quad (\text{è}$$

negativo!!!)

La differenza di potenziale aumenta di un fattore **58 mV** quando la differenza di concentrazione dello ione permeante aumenta di **10 volte**.

Potenziali di equilibrio di altri ioni permeanti

$$E_{\text{Na}} = RT/zF \ln [\text{Na}]_e/[\text{Na}]_i$$

$$E_{\text{Ca}} = RT/zF \ln [\text{Ca}]_e/[\text{Ca}]_i$$

$$E_{\text{Cl}} = RT/zF \ln [\text{Cl}]_i/[\text{Cl}]_e$$

nel caso di concentrazioni intra- ed extracellulari di una cellula *muscolare scheletrica di rana*:

| ione | conc. intracellulare (mM) | conc. extracellulare (mM) |
|------------------|---------------------------|---------------------------|
| Na ⁺ | 12 | 145 |
| K ⁺ | 155 | 4 |
| Ca ²⁺ | 10 ⁻⁷ (M) | 1.5 |
| Cl ⁻ | 4.2 | 123 |

si ottengono i seguenti valori dei potenziali di equilibrio:

$$E_{\text{Na}} = +67 \text{ mV}$$

$$E_{\text{K}} = -98 \text{ mV}$$

$$E_{\text{Ca}} = +129 \text{ mV}$$

$$E_{\text{Cl}} = -90 \text{ mV}$$

Equazione di Goldman-Hodgkin-Katz

- Membrana permeabile a tre specie ioniche: Na^+ , K^+ , Cl^-
- Ciascuno ione ha un suo coefficiente di permeabilità P_x
- V_m si calcola secondo la seguente equazione:

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

Esempio di applicazione dell'equazione di GHK:

$$P_{\text{Cl}} = 0$$

$$P_{\text{Na}} / P_K = 0.01$$

*dividendo numeratore
e denominatore per P_K*

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{1[\text{K}^+]_e + 0.01[\text{Na}^+]_e}{1[\text{K}^+]_i + 0.01[\text{Na}^+]_i}$$

sostituendo:

$$[\text{K}^+]_e = 2.5 \text{ mM}$$

$$[\text{Na}^+]_e = 120 \text{ mM}$$

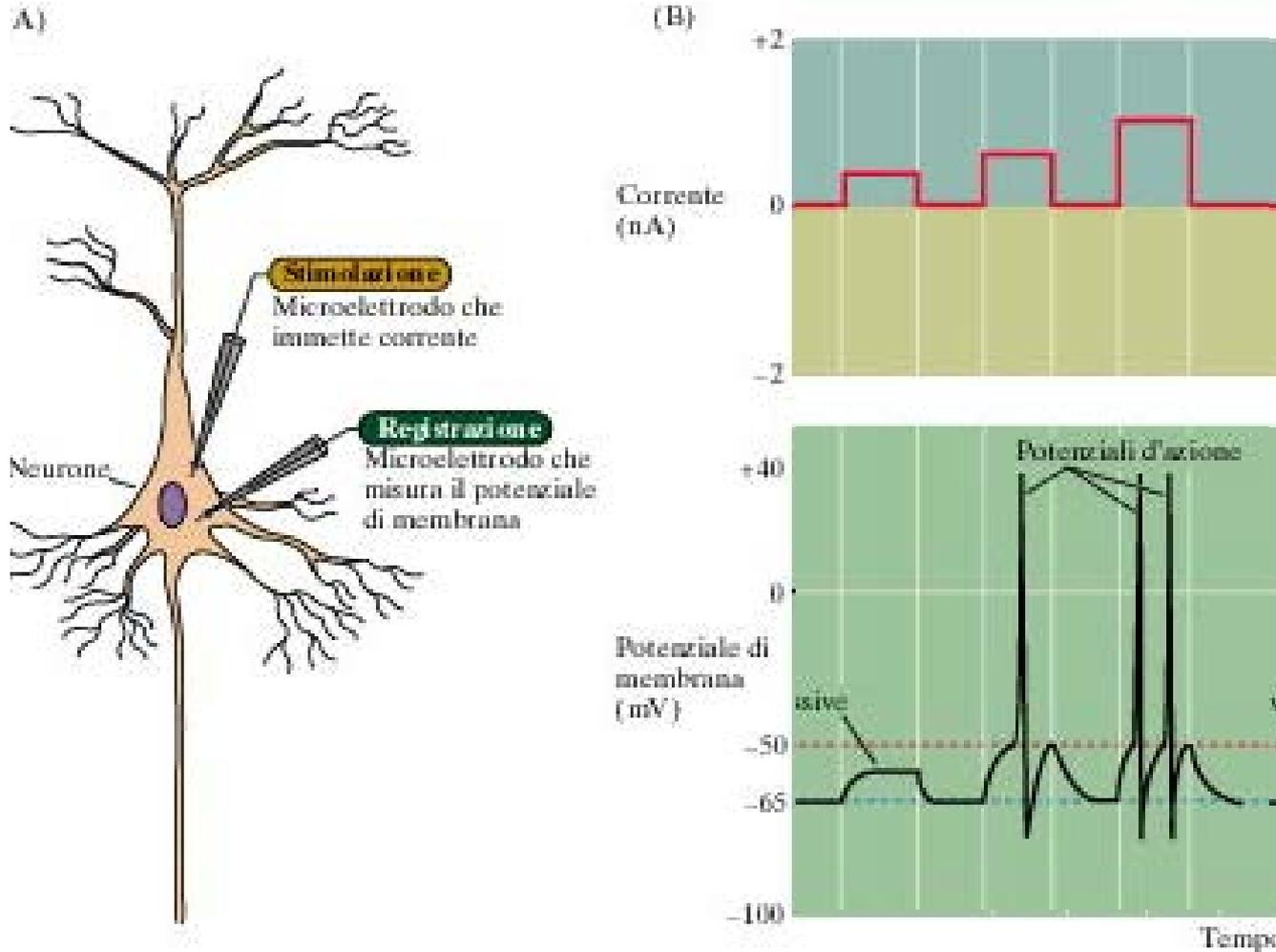
$$[\text{K}^+]_i = 140 \text{ mM}$$

$$[\text{Na}^+]_i = 10 \text{ mM}$$

$$V_m = 58 \text{ mV} \log \frac{2.5 + 0.01 \times 120}{140 + 0.01 \times 10} = -92 \text{ mV}$$

Nota: Nelle condizioni ioniche dell'esempio, i potenziali di equilibrio calcolati con l'eq. di Nernst valgono: $E_{\text{Na}} = +63 \text{ mV}$ e $E_{\text{K}} = -102 \text{ mV}$

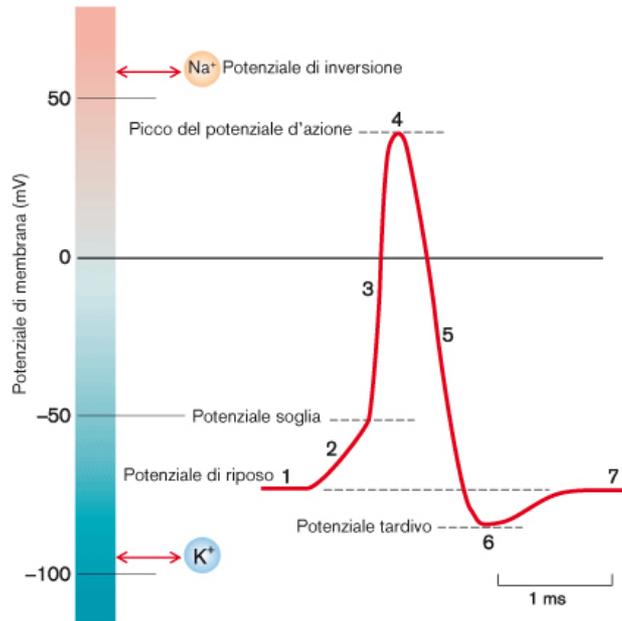
Il potenziale d'azione



Lo stimolo può equivalentemente essere depolarizzante (1) o iperpolarizzante (2):
mantiene le stesse caratteristiche di propagazione con attenuazione => **fenomeno locale**

Il potenziale d'azione ed i canali ionici voltaggio dipendenti

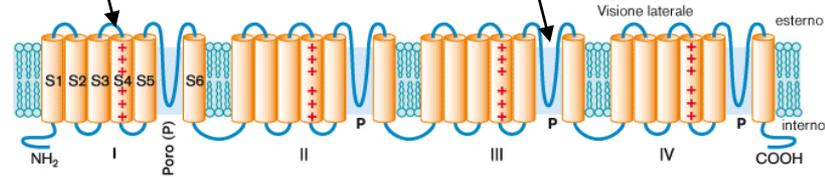
NB: la voltaggio dipendenza implica che i canali passino da **A** → **I** → **C**



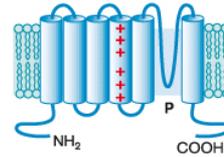
Sensore del voltaggio

Poro con filtro di selettività ionica

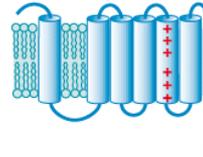
A Canali del Na⁺ e del Ca²⁺ voltaggio-dipendenti (Na_v e Ca_v)



B 1 Canale del K⁺ voltaggio-dipendente (K_v)



2 Canale del K⁺ Ca²⁺-dipendente (K_{Ca})



3 Canale ionico CNG/HCN

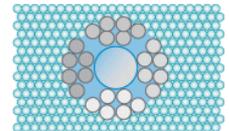
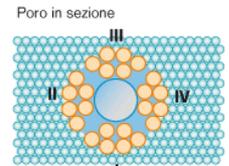
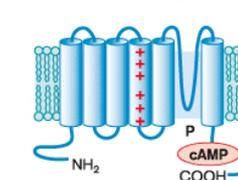


Fig. 3.2 Il potenziale d'azione. Potenziale d'azione di una cellula nervosa. Dal potenziale di riposo (fase 1) si genera (es. previa attivazione di sinapsi eccitatorie) una depolarizzazione iniziale della membrana (fase 2) che, a circa -50 mV, raggiunge il potenziale soglia e sviluppa il tratto rapido ascendente del potenziale d'azione (fase 3). Il picco del potenziale d'azione è contenuto entro valori di circa +30 mV (inversione del potenziale d'azione o fase 4), seguito, per l'inattivazione dei canali del sodio e per l'attivazione dei canali del potassio, dalla ripolarizzazione iniziale della membrana (tratto discendente del picco del potenziale d'azione o fase 5). Alla fine del potenziale d'azione, la conducibilità attraverso la membrana degli ioni K⁺ è ancora elevata, per cui ha origine un potenziale tardivo iperpolarizzante (iperpolarizzazione postuma o fase 6). Infine, la cellula ritorna al suo normale potenziale di riposo (fase 7). Sulla sinistra sono indicati i potenziali d'inversione, rispettivamente, per gli ioni Na⁺ e K⁺, che rappresentano le "forze" motrici responsabili delle variazioni del potenziale di membrana correlate alla prevalenza dell'uno o dell'altro flusso transmembranario.

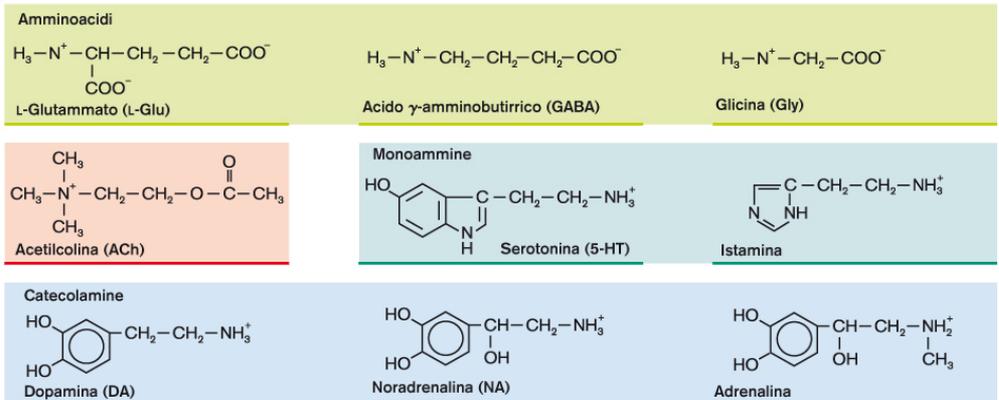


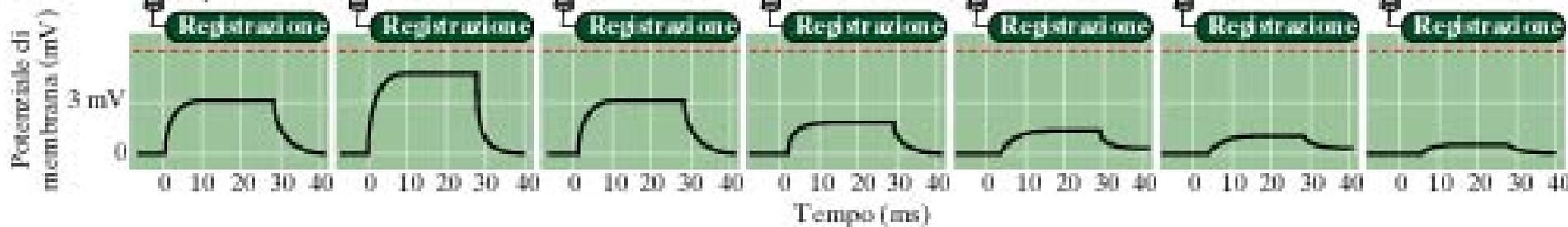
Fig. 3.12 Importanti neurotrasmettitori. I neurotrasmettitori classici, a basso peso molecolare, sono suddivisibili in amminoacidi, acetilcolina monoammine. Si osservi la somiglianza chimica tra le catecolamine dopamina, noradrenalina e adrenalina.

Propagazione elettrotonica nel neurone passivo

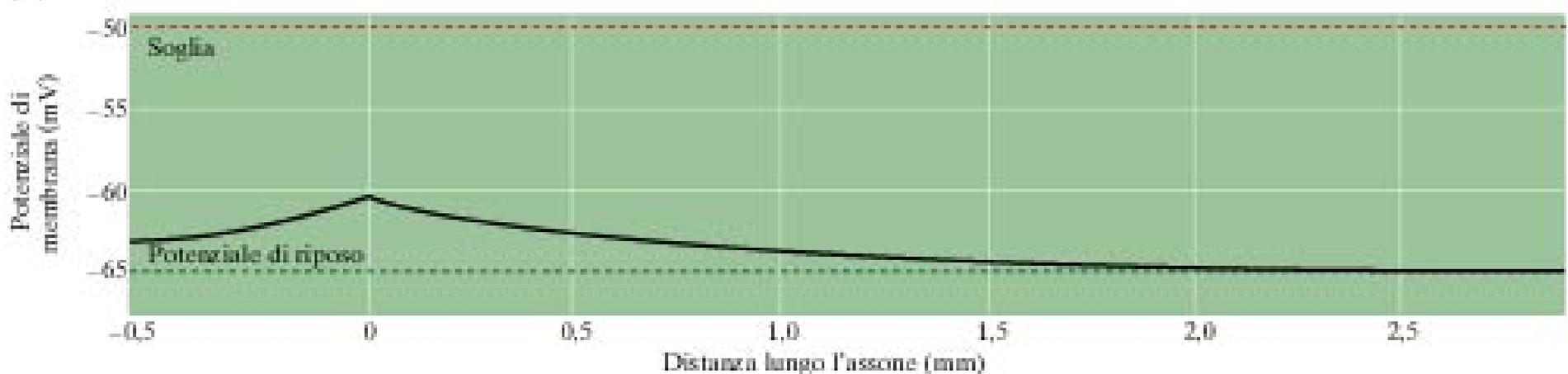
(A)



(B)



(C)



Maggiore il diametro della fibra, migliore la conduzione in senso assiale

[Purves]

La propagazione elettrotonica del segnale elettrico lungo l'assone

Varia da 0.5 a 100 m/s (360 Km/h!)

Dipende da:

1 dimensione delle fibre nervose ($S = \pi \cdot R^2$)

2 grado di mielinizzazione

Un potenziale che si propaga lungo l'assone decade secondo la legge:

$$V_x = V_o \cdot e^{-x/\lambda}$$

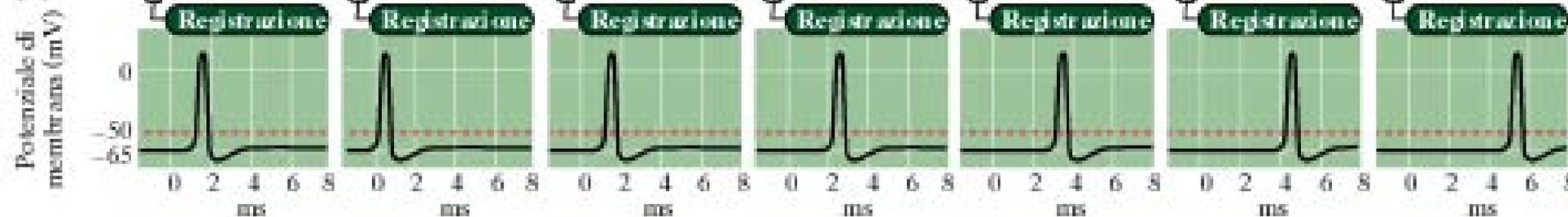
Dove $\lambda = \sqrt{R_m/R_i}$ quindi per aumentare λ posso aumentare R_m (mielina: vertebrati) o diminuire R_i (diametro dell'assone: assone di calamaro, anellidi (lombrichi) artropodi (scarafaggi) pesci teleostei)

Il potenziale di azione si propaga senza attenuazione

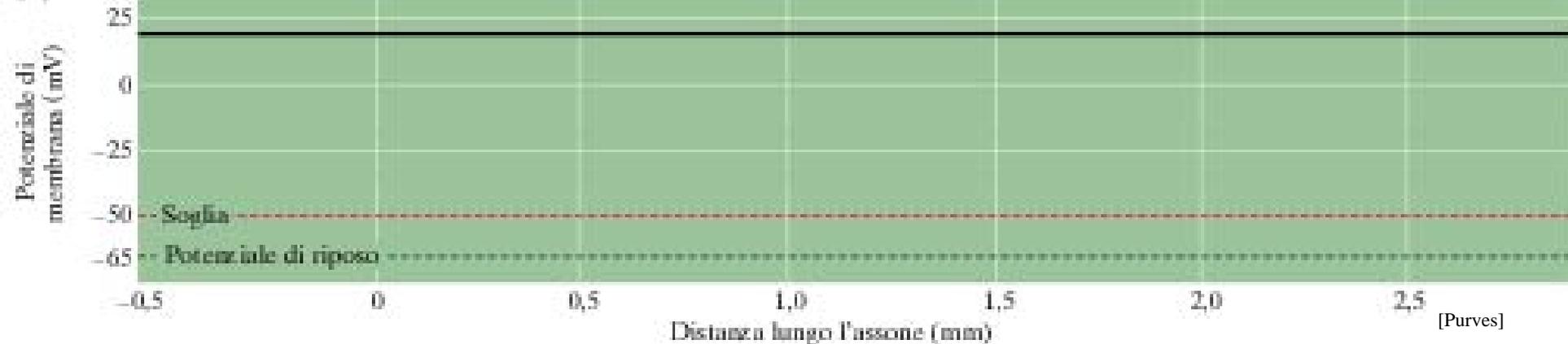
(A)



(B)

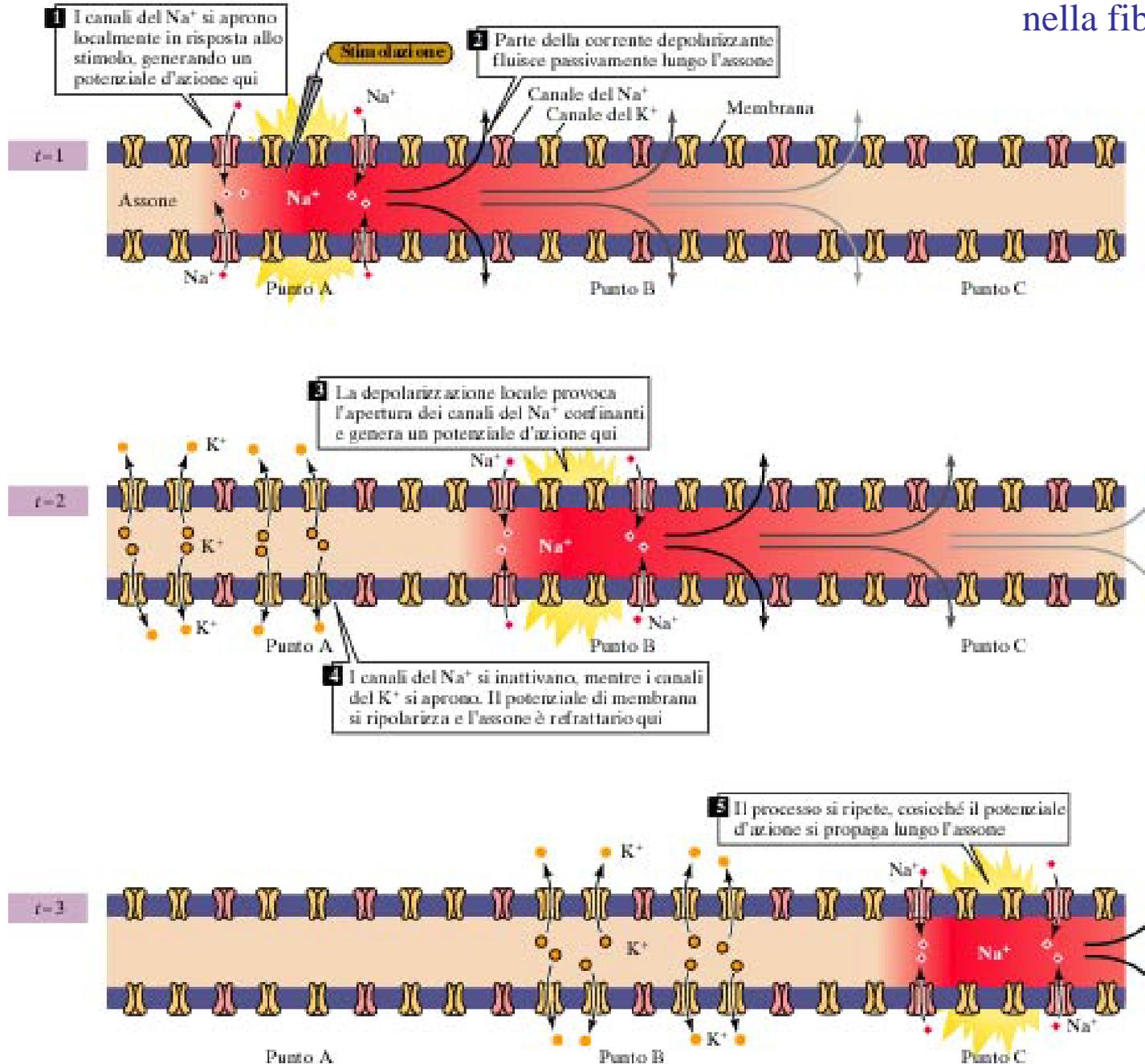


(C)

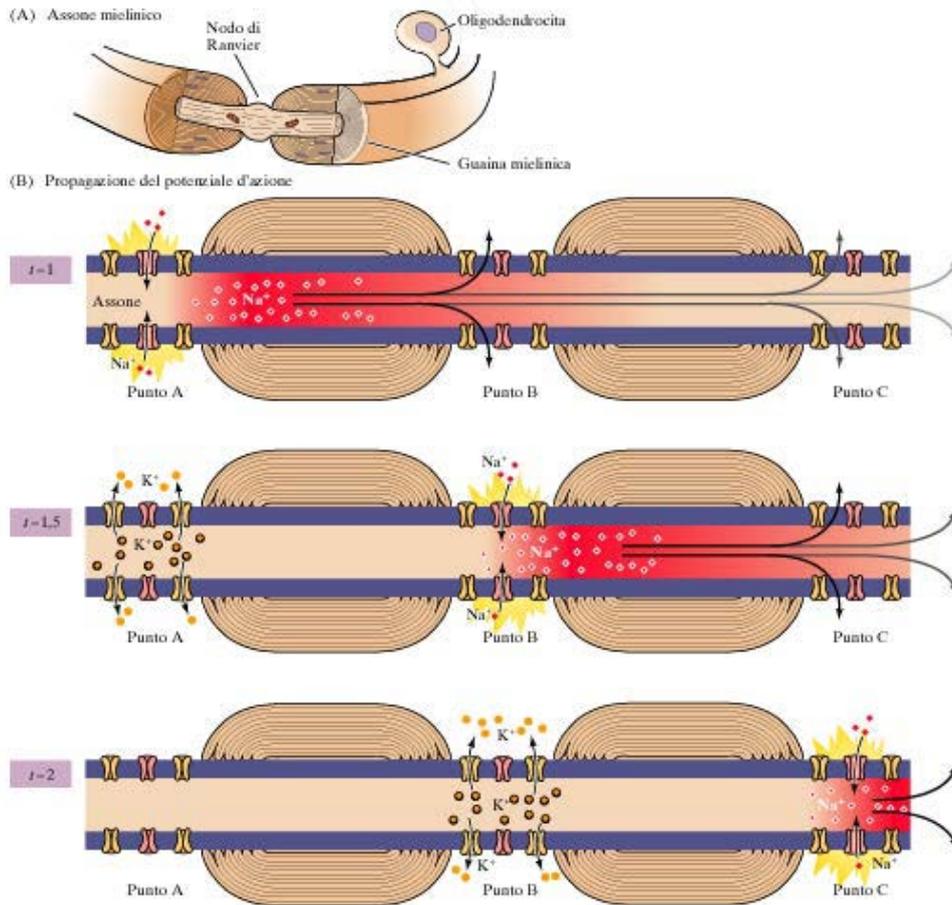


Propagazione del potenziale d'azione

nella fibra amielinica



Propagazione saltatoria del PA nella fibra mielinica



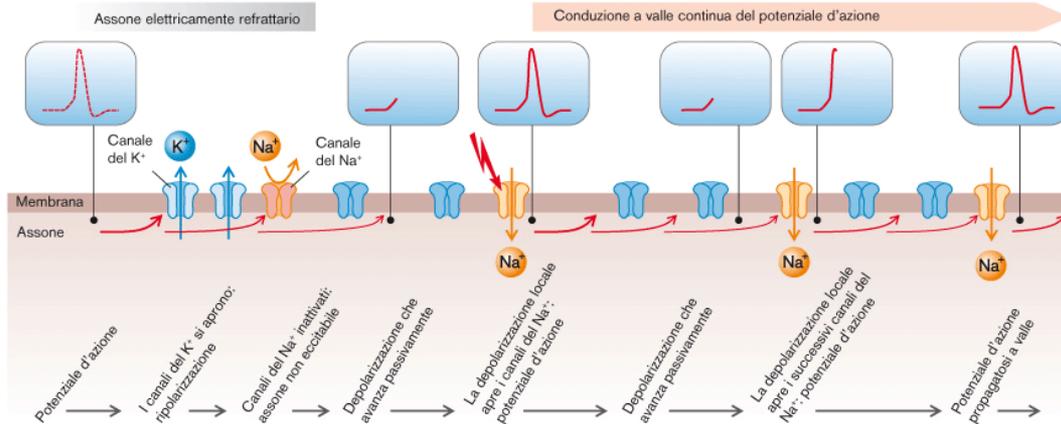
Mielina: rivestimento isolante al disotto del quale non si hanno flussi ionici (cellule di Schwann, oligodendrociti)

Si hanno correnti transmembrinarie (e PA) solo a livello dei nodi di Ranvier che distano 1mm .ca uno dall'altro.

A livello dei tratti mielinizzati la propagazione è elettrotonica: con attenuazione

- diametri 2-15 μm
- Velocità di conduzione 3-120 m/s
- Risparmio energetico (elevate correnti solo nei nodi di Ranvier)
- Elevata velocità di propagazione (elettrotonica) nei tratti isolati dalla guaina mielinica

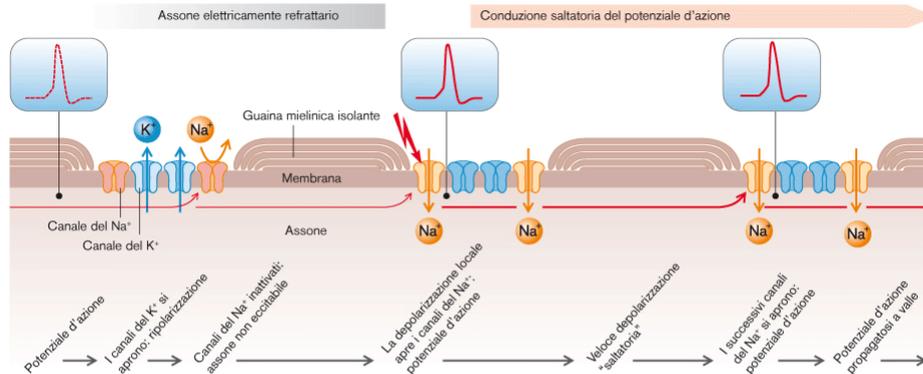
Conduzione del potenziale d'azione lungo l'assone



Assone non mielinizzato

Fig. 3.7 **Conduzione del potenziale d'azione.** Lo schema mostra la propagazione continua del potenziale d'azione in una fibra nervosa non mielinizzata. Tramite la propagazione passiva-elettrotonica, a partire dal

sito di origine del potenziale d'azione, di volta in volta vengono attivati i canali del sodio contigui fino al raggiungimento, anche a quel livello, del potenziale soglia, con genesi di un potenziale d'azione.



Assone mielinizzato

Fig. 3.9 **Conduzione saltatoria dell'impulso nervoso.** Nelle fibre mielinizzate, il potenziale d'azione si propaga molto velocemente in maniera elettrotonica, saltando da un nodo a diametro ridotto non mielinizzato a quello successivo, dove può rigenerarsi in maniera completa, grazie all'attivazione dei canali del sodio e del potassio ivi presenti.

Analogamente a quanto visto con la conduzione continua dell'eccitazione di membrana (Fig. 3.7), anche qui al potenziale non è permesso di propagarsi a monte in quanto la membrana, un istante dopo che il potenziale d'azione è terminato, è elettricamente refrattaria.

La conduzione elettrica saltatoria

Dendriti ed Assoni mielinizzati o dalle cellule di Schwann (nervi periferici) o dagli oligodendrociti (neuroni centrali)

Patologie correlate:
Malattie autoimmuni e sclerosi multipla

Terapie:
Anestetici locali che bloccano l'attività dei canali del sodio dei nodi di Ranvier con blocco della conduzione dello stimolo dolorifico

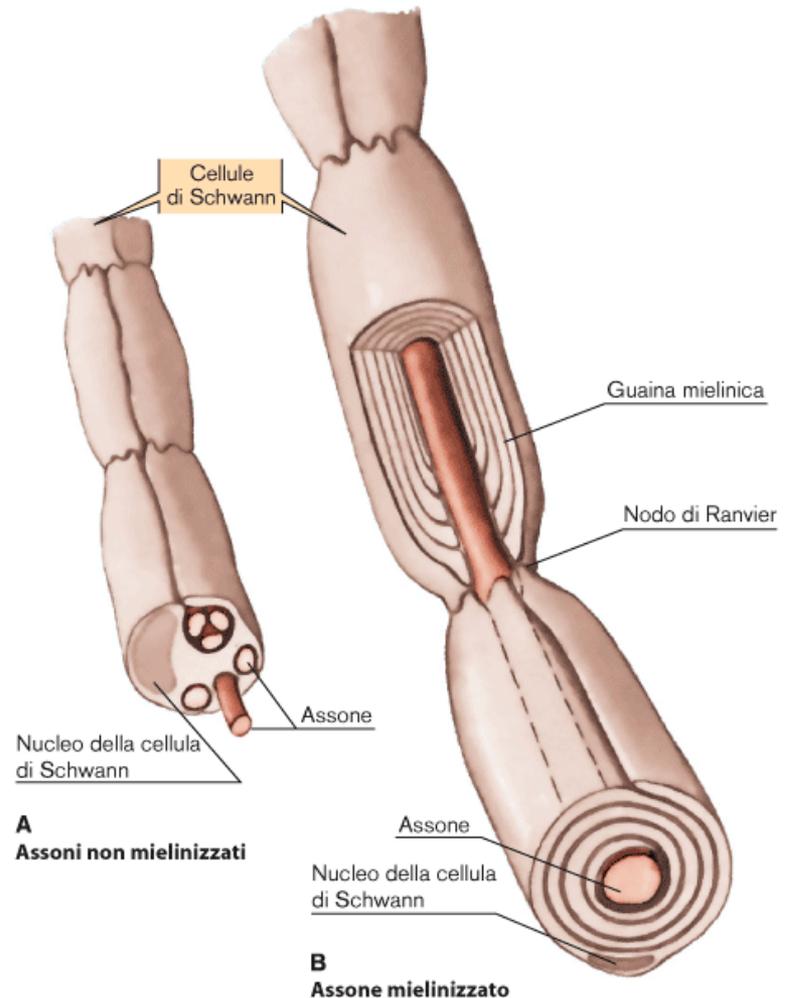


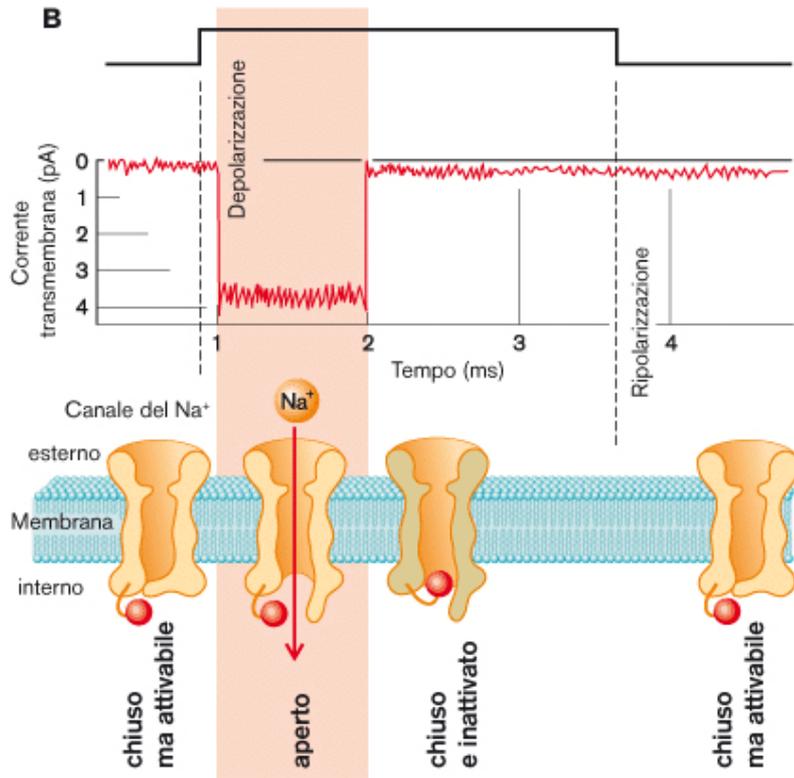
Fig. 17.10 **Cellule di Schwann** in rapporto con le fibre nervose non mielinizzate e nella formazione della guaina mielinica.

TABELLA 7.4 Velocità di conduzione negli assoni dei vari tipi di fibre nervose

| Tipo di fibra | Presenza di mielina | Esempio di funzione | Diametro della fibra (μm) | Velocità di conduzione (m/sec) |
|---------------|---------------------|---|--|--------------------------------|
| A alfa | Sì | Stimola la contrazione muscolare | 12-20 | 70-120 |
| A beta | Sì | Sensibilità tattile e pressoria | 5-12 | 30-70 |
| A gamma | Sì | Stimola la contrazione delle cellule muscolari intrafusali | 3-6 | 15-30 |
| A delta | Sì, ma scarsa | Sensibilità termica e dolorifica | 2-5 | 12-30 |
| B | Sì | Afferenze viscerali vegetative pregangliari | 1-3 | 3-15 |
| C | No | Dolore, sensibilità termica, fibre vegetative postgangliari | 0,3-1,3 | 0,7-2,3 |

Misurazione delle correnti ioniche

Correnti di sodio



Correnti di potassio

