

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione
Corso di Laurea Triennale in Ingegneria dell'Informazione

IL MODELLO DI HODGKIN-HUXLEY:
SIMULAZIONI MATLAB DELL'ANDAMENTO
DEL POTENZIALE D'AZIONE

THE HODGKIN-HUXLEY MODEL:
MATLAB SIMULATIONS OF THE ACTION
POTENTIAL TREND

Laureanda:
Eleonora DAL SASSO

Relatrice:
Gianna Maria TOFFOLO

MCCXXII

27 novembre 2012

«Voli, e volli sempre, e fortissimamente volli »

(Vittorio Alfieri, dalla Lettera responsiva a Ranieri de' Calsabigi, 1783)

Sommario

Il lavoro sviluppato in questo elaborato riguarda lo studio del modello di Hodgkin-Huxley per la membrana neuronale e, in particolare, la simulazione dell'andamento del potenziale d'azione e l'analisi qualitativa di altre grandezze a esso connesse, quali le conduttanze tempo-varianti e le correnti ioniche. Tali simulazioni sono state svolte al fine di verificare come il modello considerato riesca a ricreare, in maniera adeguata e puntuale, i meccanismi di generazione del potenziale d'azione, ovvero le modalità con cui la cellula nervosa trasmette e riceve le informazioni. L'analisi tratterà le varie fasi del potenziale d'azione, descrivendo le cause che portano alla depolarizzazione della membrana e di come quest'ultima attraversi una fase di ripolarizzazione e una di iperpolarizzazione per ritornare alla condizione di equilibrio. Saranno inoltre trattati concetti quali potenziale di soglia, legato al carattere tutto-o-nulla del potenziale d'azione, e periodi refrattari.

Abstract

The work developed in this paper concerns the study of the Hodgkin-Huxley model for the neuronal membrane and specifically the action potential simulation and the qualitative analysis of other related quantities, such as time-variant conductances and ionic currents. Purpose of these simulations was to see how the model is able to reproduce the mechanisms of action potential generation and how neurons transfer information. The phases of the action potential were analyzed, describing the causes that lead to membrane depolarization, repolarization and hyperpolarization. Topics related to the all-or-nothing nature of the action potential and refractory periods such as potential threshold were also addressed.

Indice

1	Introduzione	1
2	Il neurone	5
2.1	Le cellule che compongono il sistema nervoso	5
2.2	Citologia del neurone	6
2.2.1	Caratteristiche e struttura	6
2.2.2	La membrana	8
2.2.3	Gli organelli cellulari	9
2.3	I canali ionici	11
2.3.1	La funzione di trasporto	12
2.3.2	La selettività dei canali ionici	14
2.3.3	Pompa $\text{Na}^+\text{-K}^+$	14
3	La trasmissione degli impulsi nervosi	17
3.1	Le strutture generatrici dei segnali	18
3.2	Il potenziale di membrana a riposo	19
3.2.1	Il potenziale di equilibrio e l'equazione di Nernst	21
3.2.2	Il ruolo dei canali passivi e della pompa $\text{Na}^+\text{-K}^+$	21
3.2.3	L'equazione di Goldman	22
3.3	Il potenziale d'azione	23
3.3.1	I canali voltaggio-dipendenti	23
3.3.2	I periodi refrattari	24
3.4	Le proprietà elettriche passive del neurone	25
4	Il modello di Hodgkin-Huxley	27
4.1	Descrizione del circuito equivalente	28
4.1.1	I resistori R_{Na} , R_{K} e \bar{R}_l	29
4.1.2	La capacità di membrana	30
4.1.3	La corrente	30
4.2	Le equazioni del modello	32
4.2.1	Le conduttanze tempo-varianti	33
4.2.2	I parametri m , h , n	36

5	Simulazioni MATLAB del potenziale d'azione	39
5.1	Simulazione e analisi degli andamenti delle variabili di stato	40
5.1.1	Il potenziale d'azione	40
5.1.2	Andamento delle conduttanze	45
5.1.3	Andamento delle correnti	49
5.2	Il carattere tutto-o-nulla del potenziale d'azione	51
5.2.1	La soglia	52
5.2.2	L'influenza della forzante	54
6	Conclusioni	57
6.1	Pregi del modello	57
6.2	Limiti del modello	59

Elenco delle figure

2.1	Le cellule che compongono il sistema nervoso.	6
2.2	Schema strutturale del neurone.	7
2.3	Sezione della membrana cellulare con le varie componenti.	9
2.4	Reticolo endoplasmatico di un neurone piramidale.	10
2.5	Microfotografia degli organelli cellulari.	10
2.6	Microfotografia con mezzo di contrasto di dendriti e assone.	11
2.7	Contatti presinaptici localizzati sui dendriti (freccie).	11
2.8	Componenti del citoscheletro.	12
2.9	I canali della membrana neuronale.	13
2.10	Funzionamento della pompa $\text{Na}^+\text{-K}^+$	15
3.1	Schema degli elementi funzionali.	18
3.2	Distribuzione delle cariche sulle interfacce interna ed esterna della membrana neuronale.	20
3.3	Fasi dei canali voltaggio-dipendenti del Na^+	24
3.4	Forma d'onda di un potenziale d'azione che si propaga da destra verso sinistra.	25
4.1	Schema elettrico della membrana.	27
4.2	Il primo grafico ottenuto da Hodgkin-Huxley per il potenziale d'azione.	28
4.3	Significato dei vari componenti dello schema elettrico.	29
4.4	I canali ionici e i loro modelli elettrici.	29
4.5	Andamenti sperimentali delle conduttanze di Na^+ e K^+	33
4.6	Schema degli elettrodi posti nell'assone del calamaro gigante.	35
4.7	Schema elettrico del voltage-clamp.	36
4.8	Il meccanismo di attivazione e disattivazione dei canali Na^+	37
4.9	Dettaglio dei cancelli o gate.	37
5.1	Tabella delle costanti	39
5.2	Andamento del potenziale d'azione per il modello di Hodgkin-Huxley	43
5.3	Fasi del potenziale d'azione	44
5.4	Andamento delle variabili m, h, n.	46
5.5	Andamenti delle conduttanze dei canali ionici.	47

ELENCO DELLE FIGURE

5.6	Contributo di g_{Na} e g_K alla conduttanza totale.	48
5.7	Andamento della conduttanza del cloro.	49
5.8	La corrente capacitiva e le correnti ioniche.	50
5.9	Contributo di I_{Na} e I_K alla corrente ionica totale.	51
5.10	Depolarizzazioni negative della membrana.	52
5.11	Depolarizzazioni negative della membrana.	53
5.12	Influenza delle forzanti.	55
5.13	Particolare dell'andamento delle forzanti.	55

Elenco delle tabelle

3.1	Concentrazioni ioniche.	17
3.2	Potenziali a riposo degli ioni di interesse.	21
4.1	Tabella riassuntiva delle grandezze dell'Equazione 4.3	33

Capitolo 1

Introduzione

Si definisce *cellula eccitabile* una qualsiasi cellula che risponde a cambiamenti del potenziale di membrana compiendo specifiche attività (quali ad esempio la generazione di un potenziale d'azione). Esempi di questo particolare tipo di unità biologica sono

- i neuroni: unità cellulari che costituiscono il tessuto nervoso;
- i recettori cellulari: proteine di membrana che, legandosi a un fattore specifico chiamato *ligando*, subiscono una variazione conformazionale, causando in questo modo l'insorgenza di una risposta cellulare o un effetto biologico;
- gli elementi contrattili: filamenti, più o meno spessi, costituiti da actina e miosina che stanno alla base della contrazione muscolare;
- gli elementi secernenti: si trovano nelle ghiandole.

La differenza tra le cellule eccitabili e qualunque altro tipo di cellula presente nell'organismo è da ricercarsi nel fatto che il loro potenziale di riposo può subire variazioni notevoli, e in maniera repentina, come risposta a stimolazioni esterne. Tali variazioni vengono utilizzate come meccanismi di segnalazione.

In questa tesi tratteremo nello specifico il neurone e quindi la generazione e trasmissione del potenziale d'azione. Le informazioni che viaggiano all'interno della cellula nervosa e tra cellule nervose adiacenti sono dovute sia a segnali elettrici che a segnali chimici, tuttavia, in questo elaborato l'attenzione sarà focalizzata sui segnali elettrici, in quanto questi ultimi costituiscono gli strumenti con cui i neuroni trasmettono i messaggi velocemente e su lunghe distanze. Tali messaggi possono essere di diverso tipo (potenziali recettori, potenziale sinaptico, potenziale d'azione), ma sono tutti il risultato di alterazioni transitorie del flusso di corrente che entra ed esce dai neuroni stessi, il quale tende a modificare il potenziale originario presente ai capi della membrana in condizione di riposo. Tali flussi di corrente sono controllati dai canali ionici presenti sulla superficie della membrana cellulare.

Il documento consta di diversi capitoli strutturati nel modo seguente:

- Nel Capitolo 2 vengono riportate le conoscenze biologiche di base per la comprensione dei meccanismi all'origine della generazione e della trasmissione dei segnali nervosi, quali il potenziale d'azione. Dopo una breve panoramica sulla struttura e sulla citologia del neurone, vengono trattati in maniera approfondita i canali ionici. La presenza di questi complessi proteici è necessaria ai fini della generazione stessa del potenziale d'azione, in quanto permettono agli ioni, presenti all'interno e all'esterno del neurone, di fluire attraverso la membrana dando origine a correnti ioniche, le quali, come vedremo, danno origine al processo di depolarizzazione della membrana stessa. Verranno quindi descritti i tipi di canali che si possono avere (canali passivi, voltaggio-dipendenti, attivi) e i meccanismi che permettono ai canali ionici di essere permeabili rispetto ad alcune specie di ioni piuttosto che ad altre.
- Nel Capitolo 3 vengono spiegati i meccanismi alla base della trasmissione degli impulsi nervosi. A tale scopo, nel neurone esistono delle strutture predisposte per l'ingresso del segnale, l'innescò del potenziale, la conduzione dello stesso e l'uscita del messaggio finale verso il neurone successivo. La cellula nervosa presenta, inoltre, un *potenziale a riposo*, che viene assunto dalla membrana in condizioni di equilibrio (dinamico), che differisce dal *potenziale d'azione*, generato in seguito a uno stimolo che, raggiungendo la cellula, provoca una depolarizzazione progressiva del potenziale di membrana e tale da farle superare un prefissato valore di potenziale, che viene chiamato *potenziale di soglia*. In tutto questo, giocano un ruolo fondamentale i canali voltaggio-dipendenti del sodio Na^+ e del potassio K^+ , la cui apertura/inattivazione determina le varie fasi del potenziale d'azione. In questo capitolo verrà fatto, inoltre, un breve accenno alla definizione e al significato dei periodi refrattari.
- Nel Capitolo 4 viene riportato e analizzato nel dettaglio il modello di Hodgkin-Huxley, primo modello elettrico della membrana neuronale della storia. Lo scopo degli studi e degli esperimenti di questi due medici inglesi fu quello di provare un'ipotesi, verificatasi poi esatta, circa la generazione del potenziale d'azione come funzione dell'attività dei canali ionici di Na^+ e K^+ . Il modello elettrico alla base delle sperimentazioni viene quindi studiato, in ciascuna delle sue componenti, e comparato con l'effettiva realtà fisiologica. Le equazioni che regolano il modello, ricavate passo per passo nell'analisi, risultano essere funzione della tensione, del tempo e di diverse variabili (le frazioni dei canali attivi per ciascuna specie ionica presente in concentrazioni rilevanti) a loro volta funzione della tensione, del tempo e di parametri chiamati *rate di trasferimento*. In questo capitolo viene anche riportato l'esperimento del *voltage-clamp*, fondamentale per il calcolo delle conduttanze associate ai canali ionici.

-
- Nel Capitolo 5 sono illustrate le simulazioni eseguite sul modello di Hodgkin-Huxley al fine di verificare che gli andamenti ricavati siano effettivamente coerenti con quelli misurati sperimentalmente tramite, ad esempio, esperimenti di voltage-clamp. In particolare, le simulazioni effettuate riguardano:
 1. Il potenziale d'azione: inizialmente ne viene riprodotto l'andamento considerando una depolarizzazione prefissata della membrana, tale da superare il valore di soglia. La curva viene quindi analizzata in tutte le sue fasi tenendo conto dei fenomeni di apertura/inattivazione dei canali ionici Na^+ e K^+ .
 2. Le conduttanze di canale e le frazioni di canali aperti/attivati/disattivati: dal momento che questa componente del circuito assume rilevanza particolare nell'analisi, si è voluto analizzarne in maniera approfondita i comportamenti in funzione del tempo e delle frazioni m , h , n da cui dipendono in maniera proporzionale.
 3. Le correnti: si è trattata per completezza anche questa terza variabile di stato, la quale presenta due componenti: la prima è dovuta ad una corrente relativa alla capacità associata alla membrana mentre la seconda è dovuta alla corrente associata ai flussi ionici che attraversano la membrana in seguito all'apertura dei canali ionici.

Inoltre si è provveduto a verificare la proprietà di tutto-o-nulla del potenziale d'azione e l'influenza della forzante del sistema sugli andamenti prodotti.

- Nel Capitolo 6, infine, sono riportate le conclusioni relative alla parte di simulazione e quindi alla fedeltà con cui il modello di Hodgkin-Huxley descrive gli andamenti reali delle grandezze considerate.

Capitolo 2

Il neurone

2.1 Le cellule che compongono il sistema nervoso

Il cervello umano è composto approssimativamente da 100 miliardi di neuroni che possono assumere diverse forme e dimensioni. In generale nel sistema nervoso sono presenti due classi principali di cellule: le cellule nervose (o *neuroni*) e le cellule gliali (o *glia*). Le cellule gliali si trovano in quantità notevolmente maggiori rispetto ai neuroni (da 10 a 50 volte più numerose) e, seppur non partecipino al processo di trasmissione delle informazioni, svolgono importanti funzioni, di cui ricordiamo le seguenti in quanto utili ai fini della nostra analisi:

- **sostegno:** le cellule gliali circondano i neuroni contribuendo a dare forma e struttura al tessuto nervoso;
- **produzione di mielina:** la mielina è costituita da sottili lembi citoplasmatici di cellule particolari (che citeremo in seguito) avvolti attorno all'assone del neurone con funzione di isolante;
- **manutenzione:** compiono alcuni processi che permettono di avere maggiore efficienza per quanto riguarda la trasmissione dei segnali nervosi.

Inoltre, le cellule gliali si suddividono in due classi principali: la *microglia* e la *macroglia*. In particolare la macroglia è composta da tre tipi cellulari predominanti:

- *oligodendrociti e cellule di Schwann:* sono cellule molto piccole che si avvolgono in strette spirali attorno agli assoni delle cellule nervose formando, con i loro processi membranosi, la guaina mielina, sopra citata, che ha la funzione di isolante. La differenza tra le due è da ricercarsi nel fatto che gli oligodendrociti rivestono l'assone nel sistema nervoso centrale, mentre le cellule di Schwann nel sistema nervoso periferico.
- *astrociti:* contribuiscono a mantenere normale la concentrazione extracellulare di ioni potassio. Infatti, come vedremo più avanti, dai neuroni fuoriesce un flusso di

ioni potassio, in seguito a determinati meccanismi, che fa aumentare la concentrazione degli stessi negli spazi intracellulari che separano i vari neuroni provocando interferenze con le attività dei neuroni limitrofi. In questi casi gli astrociti possono assorbire l'eccesso di potassio, a causa della loro elevata permeabilità nei confronti di questo ione, in modo da proteggere le cellule nervose circostanti.

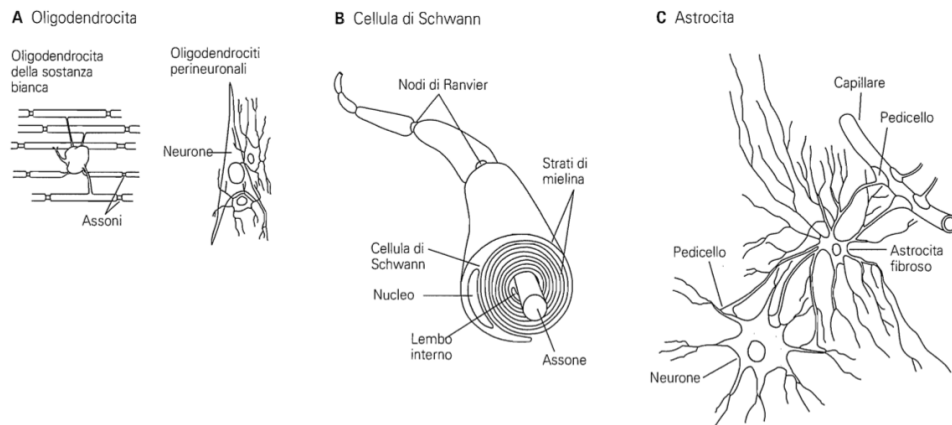


Figura 2.1: Le cellule che compongono il sistema nervoso.

2.2 Citologia del neurone

2.2.1 Caratteristiche e struttura

I neuroni possono essere di diversi tipi, ma presentano delle caratteristiche comuni. In generale, sono fortemente polarizzati e le funzioni cellulari sono destinate a compartimenti distinti: questo facilita notevolmente la trasmissione dei segnali. Si possono distinguere quattro zone differenti dal punto di vista morfologico che costituiscono veri e propri compartimenti cellulari distinti in quanto si trovano separati da notevoli distanze:

1. *Corpo cellulare* (o *soma*): costituisce il centro metabolico del neurone, ospita il nucleo (che a sua volta custodisce i geni della cellula), gli organelli cellulari necessari per sintetizzare l'RNA e le proteine. Questo compartimento partecipa a meno di un decimo del volume totale della cellula nervosa che per la maggior parte è impegnato nei due o più processi che si dipartono dal corpo cellulare stesso: i *dendriti* e l'*assone*.
2. *Dendriti*: solitamente si tratta di numerosi processi o fibre di modesta lunghezza che si suddividono a partire dal corpo cellulare formando un specie di arborizzazione particolarmente adatta a ricevere i messaggi che arrivano dalle altre cellule nervose (costituiscono infatti il centro principale di ricezione di informazione proveniente dall'esterno della cellula).

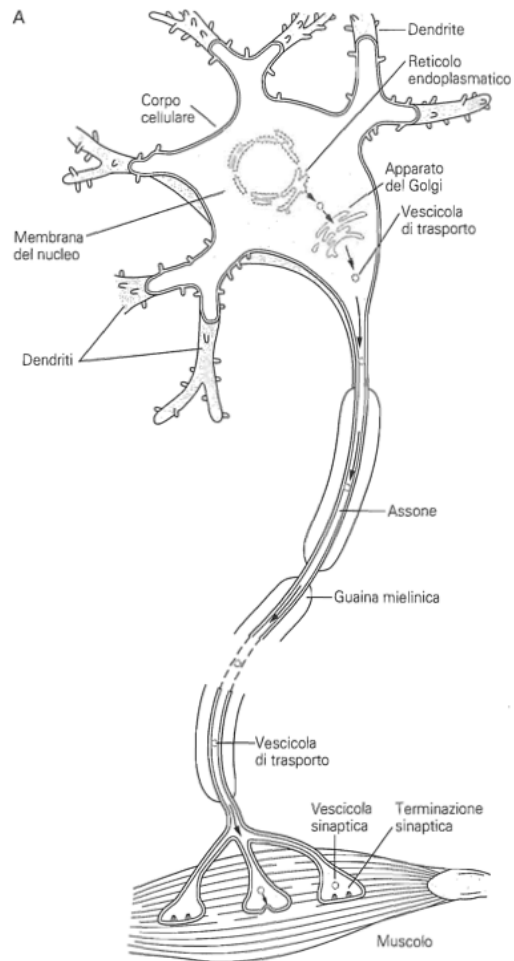


Figura 2.2: Schema strutturale del neurone.

3. *Assone (o neurite o cilindrassa)*: è costituito solitamente da un singolo processo o fibra che, al contrario dei dendriti, si estende per notevoli distanze, allontanandosi talvolta in maniera significativa dal corpo cellulare, e rappresenta il principale elemento di conduzione per la trasmissione di messaggi tra i neuroni, infatti è adatto a trasmettere segnali elettrici per tratti anche molto estesi. Dal momento che questi processi possono assumere dimensioni considerevoli, per aumentare la velocità con cui i segnali sono trasmessi lungo gli assoni di dimensioni maggiori, questi ultimi sono circondati da un involucro lipidico altamente isolante composto da *mielina*. Tale guaina mielinica, come già specificato, è composta da una sequenza di cellule di Schwann o oligodendrociti avvolti attorno all'assone stesso. Tuttavia, questa copertura non è continua, bensì presenta delle interruzioni a intervalli regolari, che sono chiamate *nodi di Ranvier* e che permettono, dal momento che l'assone in questi punti rimane privo di rivestimento isolante, la rigenerazione dell'energia del segnale. In particolare, per quanto riguarda il segnale trasmesso, l'assone conduce gli impulsi in direzione distale, si parla cioè di conduzione centrifuga o cellulifuga rispetto al corpo cellulare.
4. *Terminazioni presinaptiche*: vicino alla terminazione dell'assone, quest'ultimo si suddivide in numerose e sottili ramificazioni che permettono di entrare in contatto¹ con gli altri neuroni o organi bersaglio e sono caratterizzate da dei rigonfiamenti chiamati *terminazioni presinaptiche*² o *bottoni presinaptici*.

La caratteristica più importante delle cellule nervose è la loro eccitabilità elettrica, infatti sulla membrane neuronali sono presenti delle strutture proteiche specializzate che controllano i flussi di ioni attraverso la membrana stessa. Tali complessi vengono chiamati *pompe* o *canali ionici* e saranno analizzati in seguito più nel dettaglio.

2.2.2 La membrana

Le cellule nervose presentano, come ogni altra cellula, una membrana, o *plasmalemma*, che separa l'ambiente interno da quello esterno. Tale membrana è costituita da un doppio strato fosfolipidico che è impermeabile alla maggior parte delle sostanze idrosolubili e nel quale sono immerse un certo numero di proteine (che attraversano la membrana da parte a parte con la funzione di permettere il passaggio di determinate sostanze) e di glucidi in forma di *glicolipidi*³ o *glicoproteine*⁴. La membrana contiene il citoplasma, che a sua volta è composto da citosol e organelli. Il citosol costituisce la fase acquosa del citoplasma e in esso sono solubilizzate alcune proteine tra cui, per lo più, enzimi che catalizzano diverse reazioni metaboliche. Vi sono, inoltre, delle proteine connesse all'invio di messaggi nervosi e che, a tale scopo, si trovano concentrate soprattutto nella periferia

¹In realtà, le cellule nervose non entrano fisicamente in contatto, ma sono sperate da uno spazio che viene chiamato *fessura presinaptica*.

²Si definisce *cellula presinaptica* la cellula nervosa che trasmette il segnale. In maniera complementare, si definisce *cellula postsinaptica* la cellula nervosa che riceve il segnale.

³Si definisce *glicolipide* un lipide a cui è legata una catena di carboidrati.

⁴Si definisce *glicoproteina* una proteina alla cui catena peptidica è legata una catena di carboidrati.

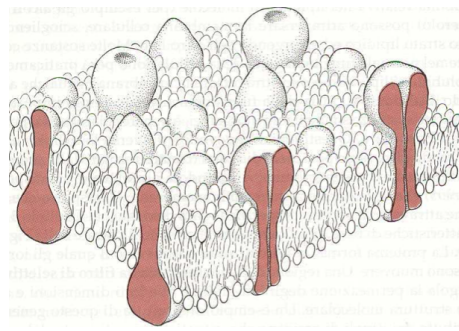


Figura 2.3: Sezione della membrana cellulare con le varie componenti.

della cellula dove si trova la matrice del citoscheletro e immediatamente a ridosso della membrana plasmatica.

2.2.3 Gli organelli cellulari

Il citoplasma della cellula nervosa contiene diversi organelli tra cui il nucleo, i mitocondri e un complesso sistema di membrane interne di cui fanno parte il reticolo endoplasmatico liscio, il reticolo endoplasmatico rugoso, il complesso di Golgi, i lisosomi, le vescicole secretorie e di trasporto che mettono in contatto i vari compartimenti. Sebbene non esista una separazione fisica tra il citoplasma contenuto nel corpo cellulare e quello dell'albero dendritico, gli organelli elencati si trovano prevalentemente nel corpo cellulare e diminuiscono progressivamente a mano a mano che ci si sposta da esso, mentre gli assoni sono ricchi di vescicole sinaptiche.

Il nucleo

Il nucleo è costituito anch'esso da una doppia membrana sulla cui superficie sono presenti dei fori, chiamati *pori nucleari*, formati da complessi proteici che permettono il passaggio di RNA e proteine dal nucleo al citoplasma. Al suo interno è presente una matrice, chiamata *matrice nucleare*, nella quale si muovono strutture specializzate quali DNA e nucleolo. Il DNA si trova normalmente disposto in modo da formare una "matassa" ed è abbinato ad alcune proteine in modo da costituire lunghissimi filamenti chiamati *cromatina*. Il nucleolo è costituito da tratti di DNA cromatinico combinato con RNA e proteine, e permette di assemblare i ribosomi. La membrana nucleare si trova in condizioni di continuità con il reticolo endoplasmatico rugoso.

Sistema vacuolare

Il reticolo endoplasmatico rugoso deve il nome alla sua superficie granulata dovuta ai ribosomi presenti sulla membrana dell'organulo stesso. È formato da una rete di sacche appiattite e impilate che comunicano tra loro. Il reticolo endoplasmatico rugoso è



Figura 2.4: Reticolo endoplasmatico di un neurone piramidale.

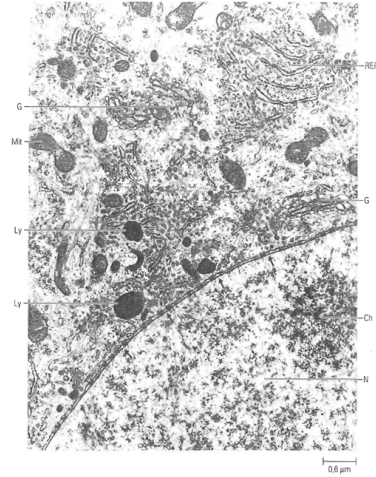


Figura 2.5: Microfotografia degli organelli cellulari.

impiegato nella sintesi proteica e nel ripiegamento iniziale delle catene polipeptidiche, in quanto i ribosomi introducono all'interno della membrana del reticolo stesso la proteina sintetizzata. Quest'ultima, a mano a mano che passa da una sacca all'altra dell'organulo tramite vescicole di trasporto, viene modificata fino a raggiungere la sua struttura finale e ivi viene inviata all'apparato di Golgi che si occuperà di inglobarla in nuove vescicole destinate a fondersi con la membrana nucleare per essere inviate al di fuori della cellula. Il reticolo endoplasmatico liscio non presenta ribosomi sulla superficie ed è formato da una serie di tubuli tra loro collegati il cui scopo è quello di sintetizzare lipidi.

Mitocondri

I mitocondri sono strutture che utilizzano l'ossigeno per generare ATP, la principale fonte energetica della cellula. Presentano una doppia membrana e due compartimenti: il primo è compreso tra le due membrane e contiene un liquido, il secondo invece è quello racchiuso dalla membrana interna, che si ripiega in creste in modo da massimizzare l'area, e contiene anch'esso un fluido chiamato *matrice mitocondriale* che rappresenta la sede dove avvengono le reazioni chimiche necessarie per la sintesi dell'ATP.

Citoscheletro

Il citoscheletro è ciò che determina la struttura del neurone ed è formato da tre tipi principali di filamenti:

- *microtubuli* si estendono su tutta l'area del neurone ed hanno la funzione di sviluppare e mantenere i processi neurali. Sono composti da *protofilamenti* (composti a loro volta da subunità di tubulina) riuniti assieme;

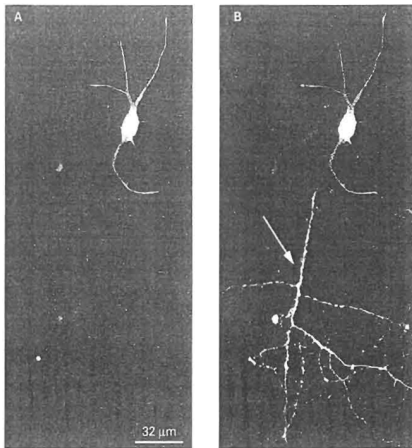


Figura 2.6: Microfotografia con mezzo di contrasto di dendriti e assone.

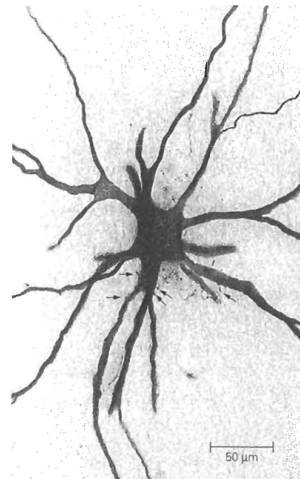


Figura 2.7: Contatti presinaptici localizzati sui dendriti (freccie).

- *neurofilamenti* rappresentano una specie di impalcatura ossea e sono molto abbondanti negli assoni;
- *microfilamenti* sono i più sottili tra i filamenti presenti e sono composti da polimeri di actina avvolti a doppia elica.

2.3 I canali ionici

Sulla membrana neuronale sono presenti numerosi canali ionici che permettono il passaggio attraverso la stessa di specie particolari di ioni presentando specifiche selettività. In particolare, sono costituiti da proteine che attraversano la membrana cellulare da parte a parte e posseggono tre importanti caratteristiche:

1. permettono il passaggio di ioni attraverso la membrana cellulare;
2. riconoscono e selezionano le diverse specie ioniche;
3. la loro apertura/chiusura è regolata da segnali specifici.

Sono in grado di condurre gli ioni a velocità elevate in modo da assicurare flussi di corrente anche molto consistenti (tali flussi sono proprio quelli che determinano le rapide variazioni del potenziale di membrana necessarie per la generazione e trasmissione del potenziale d'azione). Tuttavia, sono molto selettivi e ognuno di essi permette il passaggio di una o alcune specie ioniche. Vi sono inoltre canali che permettono un accesso regolato e che, in condizioni di riposo, sono generalmente chiusi (come ad esempio i *canali voltaggio-dipendenti* regolati dalle variazioni del potenziale elettrico come dice il nome stesso) e canali non regolati che a riposo sono generalmente sempre aperti (si tratta di *canali passivi*

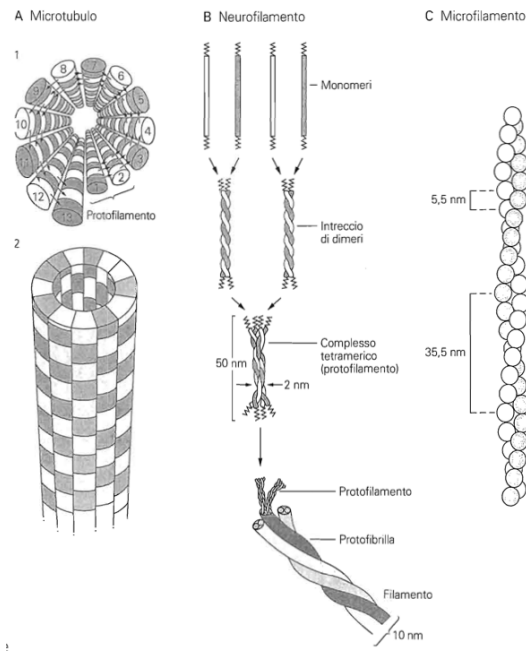


Figura 2.8: Componenti del citoscheletro.

che hanno rilevanza per quanto riguarda la generazione del potenziale di riposo in quanto mantengono costante il potenziale elettrico ai capi della membrana cellulare in assenza di trasmissione dei segnali).

2.3.1 La funzione di trasporto

Gli ioni non possono attraversare liberamente la membrana nucleare, ma devono fare uso dei canali in quanto, in soluzione acquosa (quale può essere ad esempio il liquido interstiziale presente fra le cellule di un determinato tessuto), presentano dimensioni maggiori di quelle effettive. Infatti, gli ioni presenti all'interno e all'esterno della cellula sono idrofili e, grazie alla carica che posseggono in quanto ioni, attraggono le molecole d'acqua, dal momento che queste presentano momento di dipolo permanente (l'acqua è una molecola polare)⁵, formando attorno allo ione una nube acquosa che contribuisce ad aumentarne le dimensioni. Inoltre, la membrana è formata, come già menzionato, da un mosaico di proteine e lipidi organizzati in un doppio strato la cui caratteristica più importante è quella di avere le code interne idrofobe che ostacolano il passaggio degli ioni come mostrato in Figura 2.9.

⁵Il dipolo permanente si manifesta in quelle molecole formate da due atomi che presentano elettronegatività differente, per cui l'atomo più elettronegativo attrae con maggiore forza gli elettroni di legame acquisendo una parziale carica negativa e inducendo nell'altro atomo una parziale carica positiva.

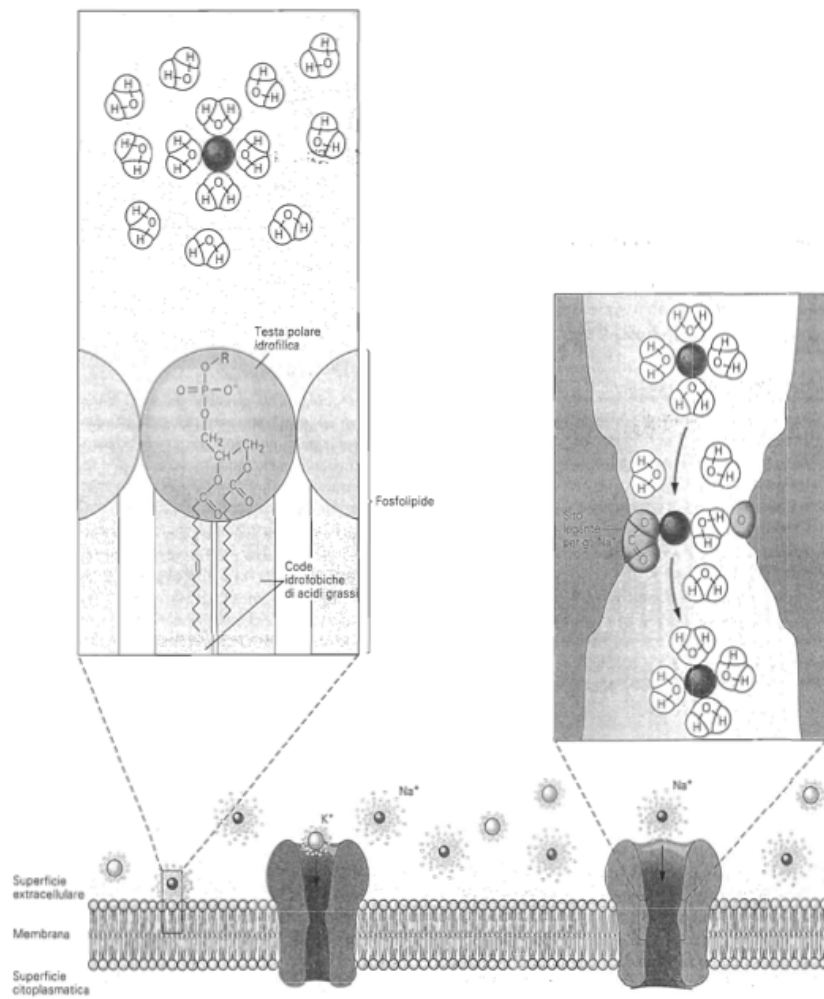


Figura 2.9: I canali della membrana neuronale.

2.3.2 La selettività dei canali ionici

La selettività dei canali dipende da specifiche interazioni chimiche e dalle dimensioni del filtro molecolare presente nella proteina che costituisce il canale (che a sua volta è funzione della diametro del poro).

Consideriamo ora gli ioni Na^+ e K^+ . Come abbiamo visto queste due specie chimiche in soluzione sono circondate da molecole d'acqua e questo ha come conseguenza che la mobilità degli stessi non è influenzata solo dalle dimensioni dello ione, bensì anche dalla dimensioni che esso assume quando è circondato dall'involucro acquoso. Dal momento che, in uno ione di dimensioni inferiori, la carica che esso porta è maggiormente localizzata, il campo elettrico che si genera è superiore rispetto a quello di uno ione di dimensioni maggiori e quindi maggiore sarà la forza esercitata sulle molecole d'acqua e l'ampiezza dell'involucro acquoso. Perciò lo ione Na^+ avrà, in soluzione acquosa, maggiori dimensioni e minore mobilità di K^+ e, per questo motivo, esistono canali che lasciano passare K^+ , ma non Na^+ . D'altra parte, solo in base a considerazioni sulla dimensione, non si spiega come invece esistano canali che permettono il passaggio di Na^+ , ma non di K^+ sebbene quest'ultimo abbia dimensioni inferiori. Alla fine degli anni '70 si ipotizzò che esistessero dei filtri molecolari tali da privare gli ioni della maggior parte delle molecole d'acqua che li circondano formando legami deboli con le pareti del canale. Lo ione riesce perciò a passare attraverso il canale solo se l'energia che acquista con questi legami deboli è tale da compensare quella perduta con l'acqua. Considerando il nostro esempio, poiché Na^+ presenta un raggio minore rispetto a K^+ , si avvicinerà alla parete di un poro con elevata carica negativa molto di più, quindi formerà legami più energetici e la nuova energia acquisita supplirà più facilmente la perdita di acqua. Al contrario, se il poro ha una carica negativa più ridotta quello che si legherà con maggiore facilità sarà K^+ .

2.3.3 Pompa Na^+ - K^+

A differenza dei canali ionici che permettono il passaggio agli ioni in base al loro gradiente di concentrazione (si parla in tal caso di *trasporto passivo*), la pompa Na^+ - K^+ permette il trasporto attivo di sodio e potassio, contro il loro gradiente di concentrazione. È composta, analogamente a un canale ionico, da una proteina di membrana che presenta però notevoli dimensioni e possiede dei siti catalitici leganti per gli ioni potassio (sulla faccia extracellulare) e per lo ione sodio e l'ATP (sulla faccia intracellulare). La pompa compie dei cicli e per ognuno di questi viene idrolizzata una molecola di ATP, l'energia liberata da questo processo viene utilizzata per inviare all'esterno tre ioni Na^+ ogni due K^+ che vengono introdotti. Questo meccanismo dà origine ad una corrente netta uscente dal neurone e il flusso di cariche positive tende ad iperpolarizzare la membrana che si porta ad un potenziale leggermente più negativo rispetto a quello che avrebbe avuto considerando solo i canali ionici passivi. Vediamo più nel dettaglio come questa proteina sia in grado di mantenere costanti i gradienti di concentrazione per il sodio e il potassio considerando la Figura riportata di seguito.

1. Durante il primo stadio del ciclo, la pompa lega l'ATP e lo idrolizza. Il gruppo fosfato viene quindi trasferito dall'ATP alla proteina trasportatrice e il legame che

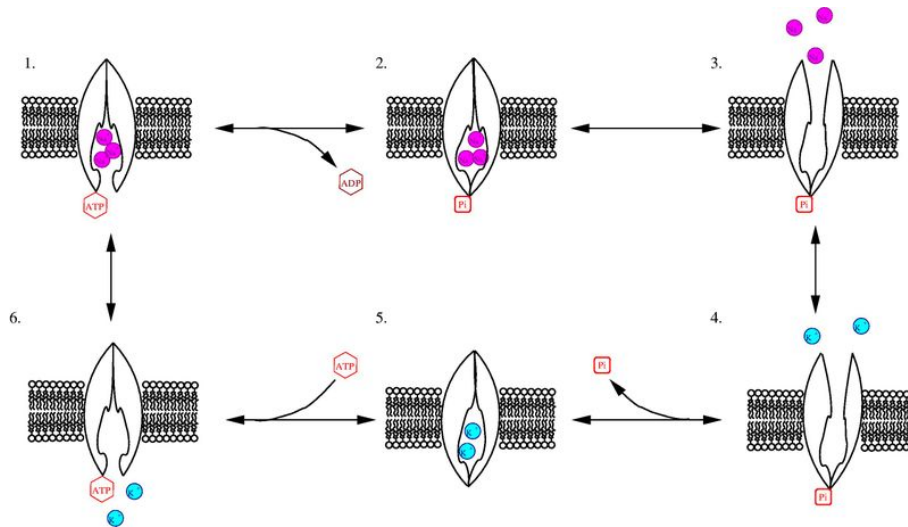


Figura 2.10: Funzionamento della pompa $\text{Na}^+\text{-K}^+$.

si viene a formare fa in modo che il sito di interazione per Na^+ diventi un sito ad alta affinità.

2. La proteina cattura tre ioni sodio presenti nel citoplasma del neurone e ivi si chiude.
3. L'interazione con Na^+ induce una modifica di conformazione sulla proteina che si apre verso l'esterno esponendo il sito di legame sull'altra faccia della membrana. Il sito di legame per Na^+ passa perciò ad una configurazione a bassa affinità e libera gli ioni.
4. Il sito di legame viene attivato per due ioni K^+ che ora sono in grado quindi di legarsi con la proteina. Viene inoltre rilasciato il gruppo fosfato.
5. Il legame con K^+ induce una nuova modifica conformazione sulla pompa.
6. La proteina si riapre sulla faccia interna della cellula e il potassio viene rilasciato, dal momento che il suo sito di legame passa ad una configurazione di bassa affinità con K^+ . La proteina torna quindi nello stato iniziale pronta a compiere un nuovo ciclo.

Come illustrato, il trasportatore funziona in modo da espellere tre ioni Na^+ e da assumere due ioni K^+ ad ogni ciclo ed è proprio questo che dà origine a una corrente netta positiva uscente dal neurone.

Capitolo 3

La trasmissione degli impulsi nervosi

I segnali generati dalle cellule nervose sono determinati dalle proprietà elettriche della membrana neuronale. Come vedremo con maggior dettaglio nei paragrafi successivi, ogni cellula, compresi quindi anche i neuroni, presenta ai capi della propria membrana un potenziale elettrico. Questo potenziale viene chiamato *potenziale di membrana* e in generale, per un neurone a riposo, assume un valore pari a -65mV^1 , dove il segno negativo viene usato convenzionalmente per indicare che la carica netta presente all'esterno della membrana viene posta a zero in maniera arbitraria. Questa differenza di potenziale presente nel neurone a riposo è dovuta principalmente a due fattori:

- *l'ineguale distribuzione delle cariche positive (ioni sodio e potassio) e negative (aminoacidi e proteine) sulle due facce della membrana*: questo scompenso viene mantenuto costante da una pompa ionica che prende il nome di *pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$* , che fa in modo che la concentrazione $[\text{Na}^+]$ sia minore all'interno della cellula (circa 10 volte inferiore rispetto alla concentrazione esterna) contrariamente alla concentrazione $[\text{K}^+]$ che invece è maggiore all'interno della cellula (circa 20 volte superiore rispetto alla concentrazione esterna) come illustrato in Tabella 3.1.

Specie ionica	Concentrazione citoplasmatica mM	Concentrazione nel liquido extracellulare mM
K^+	400	20
Na^+	50	440
Cl^-	52	560

Tabella 3.1: Concentrazioni ioniche.

- *la permeabilità selettiva della membrana stessa allo ione potassio*: la membrana presenta dei canali, detti *canali ionici*, che sono strutture simili a pori che l'attraversano

¹Il potenziale di membrana può variare per le diverse cellule nervose in un range di valori compreso tra -40mV e -80mV .

da parte a parte e sono altamente permeabili a K^+ e meno a Na^+ , quindi quando la cellula è a riposo questi canali sono aperti e, a causa degli elevati gradienti di concentrazione, gli ioni potassio diffondono liberamente verso l'esterno del neurone. A mano a mano che gli ioni K^+ fuoriescono dalla cellula nervosa, lasciano all'interno una carica negativa non bilanciata tale da produrre sull'interfaccia interna della membrana una carica netta più negativa rispetto all'esterno.

3.1 Le strutture generatrici dei segnali

Tutti i neuroni impiegano gli stessi meccanismi per generare i messaggi che devono trasmettere, in particolare ogni cellula nervosa genera quattro segnali che hanno a loro volta origine in quattro zone localmente differenti:

1. segnale di ingresso,
2. segnale di innesco,
3. segnale di conduzione,
4. segnale di uscita.

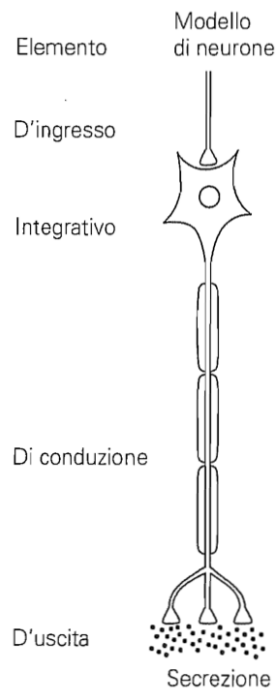


Figura 3.1: Schema degli elementi funzionali.

Gli elementi funzionali che danno origine a questi quattro segnali sono:

1. **un elemento locale di ingresso o recettivo:** generalmente in condizioni di riposo nei neuroni non si ha flusso di corrente. Tale flusso, infatti, prende inizio in seguito ad un determinato stimolo e genera, attraverso un gruppo di proteine recettoriali, un segnale locale e graduato chiamato *potenziale recettore* che diffonde passivamente lungo l'assone e può avere sia carattere depolarizzante (eccitatori) che iperpolarizzante (inibitorio). Affinché questo potenziale locale possa essere trasmesso al resto del sistema nervoso deve essere amplificato e dare origine ad un potenziale d'azione.
2. **un elemento di innesco dove ha inizio il segnale:** il segnale d'ingresso depolarizza la membrana del neurone e la variazione del potenziale determina l'apertura dei canali voltaggio-dipendenti del sodio in seguito alla quale questi ioni diffondono liberamente verso l'interno della cellula. Questi canali non sono localizzati uniformemente lungo l'assone, ma si trovano in maggiori quantità all'altezza del primo nodo di Ranvier ed è proprio per questo motivo che il potenziale recettore ha maggiori probabilità di generare un potenziale d'azione in questa zona piuttosto che in qualsiasi altra parte della cellula. Tale zona del neurone viene chiamata *zona di innesco* degli impulsi nervosi.
3. **un elemento di conduzione a distanza:** il segnale che conduce il neurone è il potenziale d'azione ed ha carattere tutto-o-nulla, quindi i segnali in sottosoglia non danno origine ad alcun potenziale d'azione, mentre tutti gli stimoli di intensità maggiore al valore della soglia originano sempre lo stesso segnale. La durata e l'ampiezza dei potenziali d'azione sono costanti dal momento che non si tratta di segnali passivi, bensì sono segnali che si rigenerano periodicamente lungo l'assone.
4. **un elemento secretorio o di uscita:** quando un potenziale d'azione raggiunge la fine dell'assone, e quindi le terminazioni del neurone, viene liberato un neurotrasmettitore. I neurotrasmettitori sono contenuti in vescicole sinaptiche che si raggruppano nelle *zone attive* specializzate nella loro liberazione nell'ambiente extracellulare tramite fusione delle vescicole con la membrana. La quantità che ne viene liberata dipende dal numero e dalla frequenza di potenziali d'azione che giungono alle terminazioni presinaptiche. Il neurotrasmettitore, una volta liberato all'esterno, diffonde attraverso la fessura sinaptica verso le molecole recettrici localizzate sulla membrana del neurone postsinaptico, determinando la formazione di un potenziale sinaptico che può avere un effetto eccitatorio o inibitorio a seconda del tipo di recettore.

3.2 Il potenziale di membrana a riposo

Come visto in precedenza, la membrana a riposo dei neuroni presenta, sia sull'interfaccia interna sia su quella esterna, uno strato sottile di ioni rispettivamente negativo e positivo.

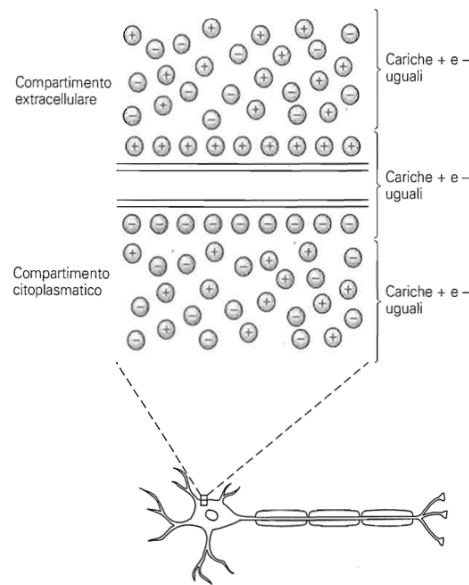


Figura 3.2: Distribuzione delle cariche sulle interfacce interna ed esterna della membrana neuronale.

Tale situazione è mantenuta costante dal fatto che gli ioni non possono muoversi liberamente attraverso la membrana cellulare per le caratteristiche chimico-fisiche di quest'ultima e questo genera una differenza di potenziale tra l'interno e l'esterno del neurone che viene chiamato *potenziale di membrana* o anche *potenziale di membrana a riposo* ed è definito come segue:

$$V_m = V_i - V_o$$

dove V_i è il potenziale presente all'interno della cellula e V_o è invece il potenziale presente al suo esterno. Tale potenziale assume valori compresi tra -40mV e -80mV , dove il segno negativo viene usato perché si pone convenzionalmente a zero il potenziale all'esterno della cellula, e si mantiene costante lungo tutto il neurone. I segnali elettrici che si manifestano sono dovuti a rapide variazioni del potenziale di membrana dovute a loro volta a variazioni del flusso elettrico (ioni) che attraversa la membrana neuronale in seguito all'apertura o chiusura dei canali ionici.

Quando si verifica un flusso netto di cariche verso l'interno o l'esterno del neurone, si modifica la distribuzione delle cariche sulle interfacce della membrana. Questo può provocare un aumento del potenziale di membrana (ovvero un potenziale meno negativo) che viene chiamato *depolarizzazione*, oppure una diminuzione dello stesso (ovvero un potenziale più negativo) che invece viene chiamato *iperpolarizzazione*. La fase di iperpolarizzazione è da considerarsi passiva. Al contrario, quando la depolarizzazione raggiunge un particolare livello chiamato *soglia di potenziale*, il neurone reagisce in maniera attiva aprendo i canali voltaggio-dipendenti che innescano, grazie a questo livello critico, il

Specie ionica	Potenziale di Nernst
K ⁺	-75
Na ⁺	+55
Cl ⁻	-60

Tabella 3.2: Potenziali a riposo degli ioni di interesse.

potenziale d'azione. Le variazioni che invece non determinano l'apertura dei canali ionici sono considerate come risposte passive della membrana.

Analizziamo ora più in dettaglio come sia possibile mantenere costante il potenziale di membrana a riposo.

3.2.1 Il potenziale di equilibrio e l'equazione di Nernst

Il potenziale all'equilibrio per un generico ione X presente su una delle due facce della membrana neuronale può essere calcolato applicando un'equazione, chiamata *equazione di Nernst*, derivata in base ai principi della termodinamica:

$$E_X = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_o}{[X]_i} \quad (3.1)$$

dove

- R costante universale dei gas²
- T temperatura espressa in gradi Kelvin
- z valenza dello ione
- F costante di Faraday³

$[X]_o$ concentrazione dello ione X all'esterno della membrana neuronale

$[X]_i$ concentrazione dello ione X all'interno della membrana neuronale

3.2.2 Il ruolo dei canali passivi e della pompa Na⁺-K⁺

Le cellule nervose a riposo sono permeabili agli ioni Na⁺, K⁺ e Cl⁻ i cui gradienti di concentrazione si mantengono costanti ai capi della membrana. Spieghiamo come questo possa avvenire considerando che, inizialmente, sulla membrana neuronale siano presenti solo canali passivi per il potassio: in queste condizioni il potenziale di riposo è determinato unicamente dal gradiente di concentrazione di K⁺. Se ora consideriamo di inserire anche alcuni canali passivi per il sodio, lo ione Na⁺ risentirà di due forze

²È una costante che mette in relazione la pressione p , la temperatura T espressa in Kelvin, il volume V e il numero di moli n di un gas, secondo l'equazione: $pV = nRT$

³È la quantità di carica elettrica posseduta da una mole di elettroni, il suo valore si calcola attraverso la relazione seguente: $F = N_A \cdot q$, dove N_A è il numero di Avogadro e q è la carica dell'elettrone

entrambe entranti nel neurone: la prima è dovuta ai gradienti di concentrazione, per cui il sodio diffonderà dall'esterno della cellula (dove si trova in maggiore concentrazione) verso l'interno (dove si trova in minore concentrazione); la seconda è dovuta al fatto che il potenziale presente ai capi della membrana è negativo e quindi il sodio è favorito nel suo moto di ingresso nella cellula. L'ingresso del sodio ha come conseguenza quella di modificare lievemente il potenziale di riposo, inizialmente dovuto solo agli ioni K^+ , dal momento che la quantità di canali del sodio è notevolmente inferiore al numero dei canali per il potassio. Infatti, l'ingresso degli ioni Na^+ crea una depolarizzazione della membrana, ovvero un allontanamento del valore che si aveva per i K^+ e questo provoca la rottura dell'equilibrio e la conseguente uscita degli ioni potassio per bilanciare gli Na^+ entranti. Il potenziale di membrana raggiungerà quindi un nuovo valore di equilibrio.

È necessario che il potenziale a riposo si mantenga costante nel tempo e quindi le cariche che entrano con un determinato segno all'interno del neurone devono essere bilanciate da cariche dello stesso segno che ne fuoriescono. I moti di diffusione, tuttavia, non possono continuare indisturbati e senza controllo, altrimenti i gradienti degli ioni Na^+ e K^+ verrebbero dissipati rapidamente. A tale scopo interviene un meccanismo chiamato *pompa Na^+-K^+* che muove i due ioni contro il gradiente di concentrazione, quindi iniettando K^+ e prelevando Na^+ . Perciò, non è corretto affermare che il neurone a riposo si trova in equilibrio, ma è più adeguato dire che è in uno *stato stazionario*, ovvero in uno stato di *equilibrio dinamico*, durante il quale gli ingressi di Na^+ e le uscite di K^+ (entrambi meccanismi passivi) sono bilanciati dai flussi attivi promossi dalla pompa Na^+-K^+ .

Il contributo degli ioni Cl^- in alcuni casi può essere trascurato, infatti esistono neuroni in cui non vi sono meccanismi di trasporto attivo contro il gradiente elettrochimico per questo ione e quindi in ultima analisi il potenziale a riposo dipende unicamente dalle concentrazioni di sodio e potassio. In altri neuroni invece sono presenti proteine di membrana dette *trasportatori di Cl^-* (che non richiedono l'idrolisi dell'ATP, ma sfruttano l'energia di un gradiente ionico preesistente e appartenente ad un'altra specie ionica) che promuovono il flusso del cloro attraverso la membrana. Tale processo viene indicato come *trasporto attivo secondario*.

3.2.3 L'equazione di Goldman

Come visto in precedenza, i flussi ionici di Na^+ e K^+ attraverso la membrana determinano il potenziale di riposo della membrana stessa. Tuttavia E_r , potenziale di riposo, non è uguale né a E_{Na} né a E_K , potenziali di riposo per gli ioni sodio e potassio rispettivamente, ma assume un valore intermedio tra questi due valori e l'influenza di ciascuna specie ionica non dipende unicamente dalle concentrazioni dei diversi ioni all'interno e all'esterno della cellula, ma anche dalla permeabilità della membrana agli stessi. Il grado di dipendenza del potenziale a riposo da questi due fattori è espresso dall'equazione di Goldman:

$$E_r = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{Na}[Na^+]_e + P_K[K^+]_e + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_{Na}[Na^+]_i + P_K[K^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_e} \quad (3.2)$$

dove P_X è la permeabilità relativa allo ione P e $[X]_x$ è invece la sua concentrazione con pedice $x = i$ se interna e $x = e$ se esterna al neurone. L'equazione di Goldman è valida se e solo se il potenziale di membrana a riposo E_r è costante e asserisce che l'importanza di uno ione nella determinazione del valore del potenziale di membrana è tanto maggiore quanto più elevate sono la sua concentrazione e la permeabilità. Nel caso in cui la permeabilità della membrana per un certo ione sia molto più elevata rispetto alla permeabilità degli ioni rimanenti, allora l'equazione di Goldman si riduce all'equazione di Nernst. Se per esempio consideriamo $P_K \gg P_{Cl}, P_{Na}$ allora:

$$E_r \simeq \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_e}{P_K [K^+]_i}$$

Questo ha come conseguenza che, ad esempio, nel picco del potenziale d'azione quando si ha la massima depolarizzazione, la membrana è molto più permeabile agli ioni Na^+ che agli altri presenti e il potenziale di membrana è approssimativamente pari al potenziale di Nernst per gli Na^+ , che tuttavia non viene mai raggiunto a causa della permeabilità non nulla per K^+ e Cl^- che determina un flusso di questi ioni tale da contrastare l'ingresso dello ione sodio.

3.3 Il potenziale d'azione

L'insorgenza del potenziale d'azione è dovuta ai flussi di ioni che attraversano i canali voltaggio-dipendenti secondo il meccanismo descritto di seguito. Una prima depolarizzazione (dovuta all'ingresso di ioni sodio) provoca l'alterazione del potenziale di equilibrio della membrana neuronale, in seguito, il superamento del valore di soglia innesca l'apertura dei canali voltaggio-dipendenti del sodio e la generazione del potenziale d'azione. L'ingresso di Na^+ risulta essere di entità maggiore rispetto al flusso contrario di K^+ che fuoriesce dalla cellula (a causa dell'elevatissimo numero di canali del sodio che si sono aperti) e questo crea un'ulteriore depolarizzazione della membrana secondo un meccanismo a feedback positivo. Il potenziale di equilibrio si sposta quindi verso il potenziale di Nernst per Na^+ senza tuttavia raggiungerlo completamente a causa dell'efflusso di K^+ . A questo punto intervengono due processi per riportare il potenziale di membrana al suo valore di riposo:

1. i canali del sodio iniziano a chiudersi progressivamente grazie a un processo di inattivazione;
2. l'apertura dei canali del potassio voltaggio-dipendenti (con cinetica più lenta di quelli del sodio) provocano un aumento graduale della fuoriuscita di K^+ .

L'azione combinata di questi due fattori provoca un flusso netto di cariche positive verso l'esterno del neurone che si prolunga nel tempo fino a che la membrana non sarà ripolarizzata al suo valore di equilibrio.

3.3.1 I canali voltaggio-dipendenti

La densità dei canali voltaggio-dipendenti è direttamente proporzionale alla velocità con la quale il neurone è in grado di condurre il potenziale d'azione, infatti maggiore è la densità

dei canali, maggiore sarà la corrente che attraversa la parte già attivata della membrana, permettendo una scarica più veloce delle capacità associate alle porzioni successive della stessa ancora inattive.

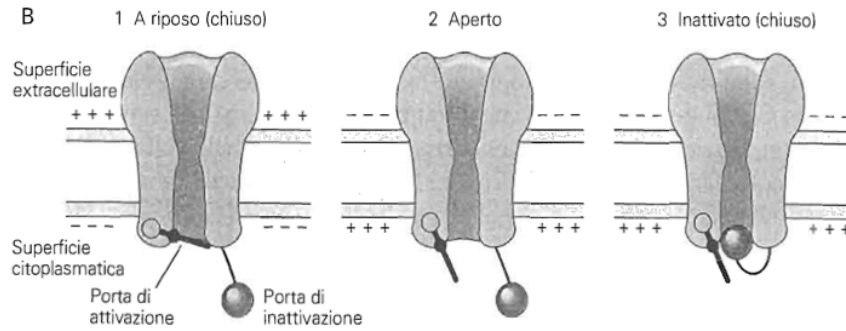


Figura 3.3: Fasi dei canali voltaggio-dipendenti del Na^+ .

Tramite esperimenti di patch-clamp si dimostrò che i canali voltaggio-dipendenti del sodio presentano due stati possibili: aperto o chiuso. Durante la fase di apertura, il canale dà origine a un impulso di corrente di durata variabile, ma di intensità costante che non si verifica invece durante la fase di chiusura. Durante la fase di apertura è presente tuttavia anche una fase di inattivazione, infatti il canale possiede una porta di attivazione e una di inattivazione: la prima permette alle cariche di fluire liberamente, la seconda invece è composta da una struttura vincolata che blocca temporaneamente le cariche all'interno della membrana, infatti sperimentalmente si osserva che, quando l'impulso depolarizzante ha una durata abbastanza prolungata nel tempo e tale da dare luogo all'inattivazione dei canali del sodio, il ritorno delle cariche all'interno della membrana alla fine della depolarizzazione appare ritardato.

3.3.2 I periodi refrattari

Il potenziale d'azione è seguito da una fase in cui il neurone presenta una eccitabilità ridotta o refrattarietà dovuta alla parziale inattivazione dei canali Na^+ e all'eccesso di canali aperti per K^+ . In particolare si possono individuare due intervalli temporali distinti:

1. *periodo di refrattarietà assoluta* è immediatamente successivo al verificarsi del potenziale d'azione e nell'arco della sua durata è impossibile eccitare il neurone, qualunque sia la corrente a esso applicata;
2. *periodo di refrattarietà relativa* in questo caso è possibile far sorgere un potenziale d'azione usando degli stimoli di intensità notevolmente superiori a quelli normalmente impiegati per ottenere lo stesso risultato.

3.4 Le proprietà elettriche passive del neurone

Ogni cellula che compone il corpo umano presenta un potenziale di membrana, ma solo i neuroni (o più in generale le cellule eccitabili) hanno la proprietà di dare origine a segnali elettrici che possono venire trasmessi anche a grandi distanze nell'organismo. Questi segnali sono condotti passivamente lungo l'assone del neurone: non appena la membrana si è depolarizzata in maniera tale da superare il valore di soglia in un generico punto dell'assone, in quel punto viene generato il potenziale d'azione come risposta all'apertura dei canali voltaggio-dipendenti del sodio. La depolarizzazione quindi si propaga lungo l'assone facendo in modo che le zone adiacenti della membrana raggiungano anch'esse il valore di soglia necessario per la generazione del potenziale d'azione. Se consideriamo la Figura 3.4, si può vedere come l'assone risulti essere suddiviso di volta in volta in tre zone:

1. rappresenta la regione inattiva che precede il potenziale d'azione;
2. è la regione attiva nella quale la depolarizzazione si propaga attraverso i flussi di corrente che si sviluppano in circuiti locali (dovuti alla differenza di potenziale tra zone attive e passive della membrana) che danno origine alla diffusione passiva delle cariche con la regione 1;
3. costituisce la regione in cui il potenziale d'azione è già passato.

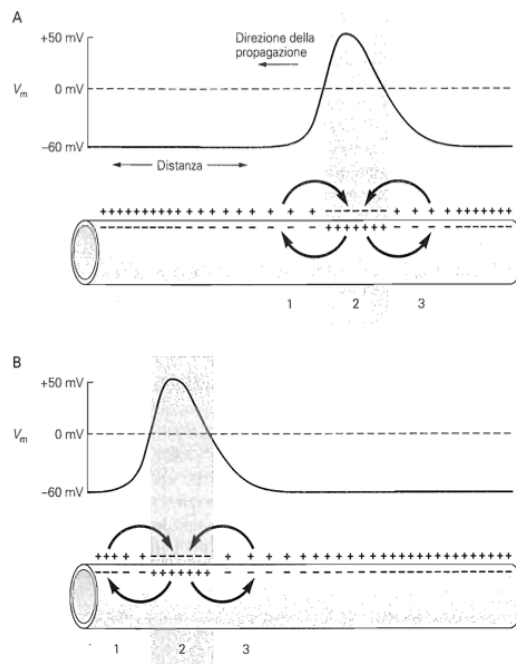


Figura 3.4: Forma d'onda di un potenziale d'azione che si propaga da destra verso sinistra.

Capitolo 4

Il modello di Hodgkin-Huxley

Nel 1952 venne pubblicato *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve*, un documento che contiene il primo modello elettrico della membrana neuronale derivato da studi condotti da Alan Lloyd Hodgkin e Andrew Huxley sull'assone gigante del calamaro europeo (chiamato anche *Loligo vulgaris*) e che valse ai due ricercatori il premio Nobel per la medicina nel 1963. Per gli esperimenti venne scelto questo tipo di calamaro in quanto presenta un assone di notevoli dimensioni (il diametro è dell'ordine di 1mm) rispetto al soma del neurone di un generico mammifero che raggiunge in media solo $70\mu\text{m}$.

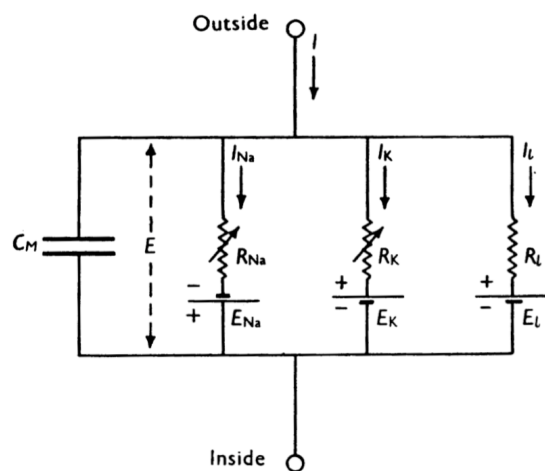


Figura 4.1: Schema elettrico della membrana.

Hodgkin e Huxley supposero che la depolarizzazione della membrana determini la rapida apertura dei canali del sodio (elettricamente equivale a un aumento della conduttanza g_{Na}) e la comparsa della corrente I_{Na} . Quest'ultima scarica la capacità C_M associata alla membrana e provoca un'ulteriore depolarizzazione che a sua volta ha come conseguenza quella di aprire altri canali voltaggio-dipendenti di Na^+ , in precedenza inattivi, e di

generare il potenziale d'azione portando il potenziale di membrana verso valori prossimi a quello assunto dal potenziale a riposo per gli ioni Na^+ . Questo processo non continua in maniera arbitraria, ma si auto-limita in due modi: la depolarizzazione provoca una graduale inattivazione dei canali del sodio (riducendo g_{Na}) e l'apertura dei canali del potassio, si presenta infatti una corrente uscente di K^+ che ripolarizza la membrana. Inoltre, questo modello riuscì a prevedere il carattere tutto-o-nulla del potenziale d'azione e quindi l'esistenza di un valore di soglia ben preciso per il manifestarsi dello stesso. Il valore di soglia, come abbiamo visto in precedenza, è il valore assunto dal potenziale di membrana tale per cui la corrente ionica totale (ovvero quella data dalla somma delle tre componenti dei canali ionici: $I_{\text{Na}} + I_{\text{K}} + I_{\text{l}}$) risulta unicamente entrante (dal momento che la corrente I_{Na} entrante è di entità maggiore delle correnti I_{K} e I_{l} uscenti).

Riassumendo, gli studi di Hodgkin e Huxley avevano come scopo la verifica della seguente

IPOTESI: La depolarizzazione della membrana, a partire da una condizione di riposo, apre certi canali di Na^+ presenti sulla membrana neuronale. Questo consente un massiccio ingresso di ioni sodio all'interno della cellula, producendo in questo modo la fase ascendente del potenziale d'azione. A questa fase, segue la fase discendente del potenziale d'azione causata dalla progressiva inattivazione dei canali Na^+ , che riduce l'ingresso nel neurone dello ione stesso, e dall'apertura dei canali K^+ che determina una maggiore fuoriuscita di ioni potassio dal neurone.

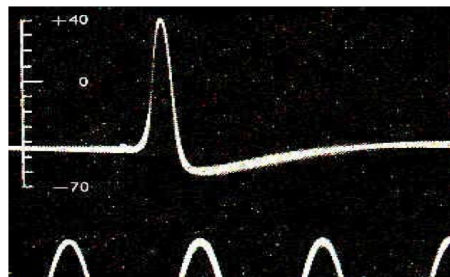


Figura 4.2: Il primo grafico ottenuto da Hodgkin-Huxley per il potenziale d'azione.

4.1 Descrizione del circuito equivalente

Hodgkin e Huxley verificarono sperimentalmente che il comportamento elettrico della membrana neuronale può essere descritto mediante il circuito illustrato in Figura 4.1 che comprende, per ogni canale ionico, la serie di un generatore di tensione costante, che rappresenta la forza motrice di natura chimica che spinge gli ioni attraverso la membrana ed è data dal potenziale di Nernst, e di un resistore (o conduttore) con resistenza (o

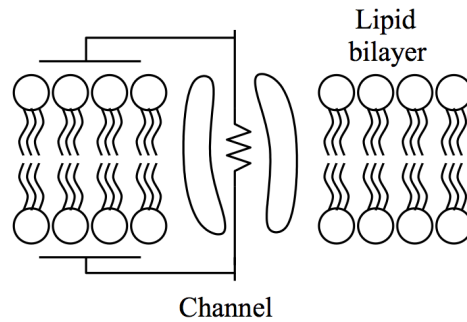


Figura 4.3: Significato dei vari componenti dello schema elettrico.

conduttanza) variabile nel tempo (per questo motivo sulla rappresentazione grafica del resistore è sovrapposta una freccia). Avremo quindi un ramo per lo ione sodio, uno per il potassio e uno per gli ioni presenti in concentrazioni minori (come ad esempio il cloro), e tali rami sono connessi in parallelo. Analizziamo più in dettaglio le caratteristiche dei vari componenti dello schema elettrico.

4.1.1 I resistori R_{Na} , R_K e \bar{R}_l

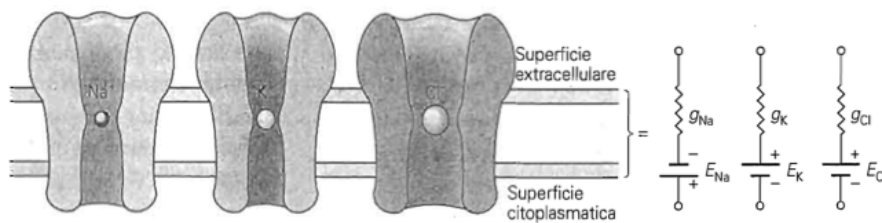


Figura 4.4: I canali ionici e i loro modelli elettrici.

I canali ionici possono venire rappresentati come un resistore (o, in maniera analoga, come un conduttore), con resistenza variabile nel tempo, avente in serie un generatore costante di tensione. Gli esperimenti di Hodgkin e Huxley misero in evidenza che le conduttanze dei canali del sodio e del potassio dipendono dal potenziale presente ai capi della membrana, infatti, esse aumentano notevolmente nel corso del potenziale d'azione, rendendo inferiore la resistenza del canale e quindi riducendo la "difficoltà" con cui gli ioni lo attraversano. Questa osservazione fu la prima dimostrazione che il potenziale d'azione è dovuto ad una variazione dei flussi ionici.

Le resistenze che compaiono nel circuito sono così definite:

$$\begin{aligned}R_{Na} &= \frac{1}{g_{Na}} \\R_K &= \frac{1}{g_K} \\ \bar{R}_l &= \frac{1}{\bar{g}_l}\end{aligned}$$

dove g_{Na} e g_K sono funzioni del tempo e del potenziale di membrana (dal momento che la permeabilità della membrana cambia in base all'effetto del campo elettrico che si viene a creare), mentre \bar{g}_l può essere considerato come una costante dal momento che i canali di dispersione (ovvero quelli degli ioni Cl^-) non sono voltaggio-dipendenti.

4.1.2 La capacità di membrana

A differenza dei canali ionici, che essendo modellabili con una resistenza, rispondono all'applicazione di un gradino di corrente con una variazione della tensione a gradino, la membrana neuronale presenta per lo stesso ingresso un andamento non discontinuo. Questo è dovuto al fatto che la membrana è rappresentata come un condensatore (Figura 4.3): per fare variare il potenziale presente su un condensatore è necessario variare la carica contenuta sulle sue armature, in maniera analoga per variare la tensione ai capi della membrana è necessario modificare la carica presente sulle due interfacce tramite i flussi ionici che danno origine ai vari processi di depolarizzazione. La tensione ai capi del condensatore è quindi proporzionale alla carica presente sulle sue piastre secondo la relazione:

$$V = \frac{Q}{C}$$

dove Q è la carica espressa in Coulomb e C , la costante di proporzionalità tra V e Q , viene definita *capacità* del condensatore ed è espressa in Farad. La variazione della carica, e quindi del potenziale ai capi delle armature, è determinata da un flusso di corrente (analogo per la membrana), che a sua volta è definita come un moto di cariche nell'unità di tempo ($i = \frac{dQ}{dt}$), possiamo perciò scrivere:

$$dV = \frac{i \cdot dt}{C}$$

Da questa relazione si evince che l'entità della variazione del potenziale ai capi del condensatore, in risposta ad un determinato impulso di corrente, è proporzionale alla durata della corrente stessa.

4.1.3 La corrente

Misurando sperimentalmente la corrente che attraversa il canale in seguito all'applicazione di una generica tensione, si osserva che tra queste due misure sussiste una dipendenza

lineare¹. Se non fossero presenti i gradienti di concentrazione, la corrente che attraversa il canale sarebbe quindi calcolabile semplicemente applicando la legge di Ohm : $I_X = g_X E_r$, dove g è la conduttanza del canale, E_r il potenziale di membrana a riposo e X denota lo ione considerato. Tuttavia, in condizioni normali, tali gradienti assumono sempre valori non nulli e quindi è necessario tenere conto anche dell'esistenza di una forza elettromotrice, di natura chimica, che spingerà gli ioni attraverso la membrana. Tale forza elettromotrice è quindi determinata dal gradiente di concentrazione dello ione considerato, e viene rappresentata mediante un generatore costante di tensione che assume valore pari al potenziale di Nernst dello ione. Ricordando che il gradiente di concentrazione di uno ione con carica positiva ha segno discorde con il potenziale all'equilibrio², per una corrente determinata unicamente dal gradiente di concentrazione possiamo scrivere la seguente relazione:

$$I_X = -g_X E_X$$

Considerando, infine, che un neurone reale possiede sia il potenziale di membrana, sia i gradienti di concentrazione per i vari ioni, la corrente totale è data dalla somma delle correnti dovute alla legge di Ohm per il potenziale di membrana e al gradiente chimico:

$$I_X = (g_X E_r) + [-(g_X E_X)] \quad (4.1)$$

$$= g_X (E_r - E_K) \quad (4.2)$$

In ultima analisi, la corrente complessiva che attraversa la membrana è composta da tre contributi principali, in quanto ciascun resistore che compare nel circuito di Figura 4.1 è attraversato da una corrente ionica. Le tre componenti sono quindi la corrente del sodio (I_{Na}), la corrente del potassio (I_K) e la corrente, di entità ridotta rispetto alle precedenti, chiamata corrente di perdita (I_l , *leakage current*), dovuta al cloro e ad altri ioni presenti in concentrazioni minori. La corrente di perdita I_l rappresenta la componente costante delle correnti ioniche e la sua presenza è dovuta al fatto che i canali di fondo sono sempre aperti in quanto responsabili del potenziale a riposo della membrana.

Con riferimento all'Equazione 4.2, se sostituiamo X con i nomi degli ioni considerati, possiamo ricavare le relazioni che definiscono le tre correnti che fluiscono nei canali ionici:

$$I_{Na} = g_{Na}(E - E_{Na})$$

$$I_K = g_K(E - E_K)$$

$$I_l = \bar{g}_l(E - E_l)$$

dove E è il potenziale ai capi della membrana neuronale, E_{Na} e E_K sono i potenziali di equilibrio del sodio e del potassio rispettivamente, E_l è il potenziale tale per cui la corrente di perdita I_l è pari a zero. A fini pratici risulta più conveniente esprimere queste relazioni in funzione della depolarizzazione della membrana, ovvero della differenza tra

¹Questo andamento lineare è verificato soprattutto quando gli ioni si trovano in modeste concentrazioni, infatti per concentrazioni particolarmente elevate la corrente raggiunge un punto di saturazione superato il quale la concentrazione di ioni non aumenta più.

²Equazione di Nernst

il potenziale assunto dalla membrana in seguito all'ingresso di ioni Na^+ e il modulo del valore di riposo ($E - E_r$):

$$\begin{aligned} I_{Na} &= g_{Na}(V - V_{Na}) \\ I_K &= g_K(V - V_K) \\ I_l &= \bar{g}_l(V - V_l) \end{aligned}$$

avendo definito

$$\begin{aligned} V &= E - E_r \\ V_{Na} &= E_{Na} - E_r \\ V_K &= E_K - E_r \\ V_l &= E_l - E_r \end{aligned}$$

dove V è la variazione rispetto al potenziale di riposo misurata sperimentalmente (depolarizzazione) e V_{Na} , V_K , V_l sono le variazioni rispetto al potenziale di equilibrio di Nernst per i vari ioni presi singolarmente, anch'esse misurabili sperimentalmente.

Nel modello equivalente a circuito della membrana neuronale, i tre rami che rappresentano i canali ionici sono posti in parallelo a un quarto ramo sul quale è posizionata la capacità di membrana. Questo avviene perché la corrente che attraversa la membrana può passare sia per i canali ionici sia per il condensatore (in questo caso è la corrente che fa variare la carica netta custodita nella membrana): la prima viene chiamata *corrente resistiva di membrana* e la seconda *corrente capacitiva della membrana*.

4.2 Le equazioni del modello

A questo punto possiamo scrivere agevolmente le equazioni che regolano il modello. Facendo riferimento al circuito di Figura 4.1 e usando la legge di Kirchhoff per le correnti, la corrente totale I è data dalla somma di una componente capacitiva I_m e di una componente resistiva (dovuta ai tre canali ionici considerati) I_i :

$$I = I_m + I_i$$

dove

$$I_m = C_M \frac{dV}{dt}$$

e

$$\begin{aligned} I_i &= I_{Na} + I_K + I_l \\ &= g_{Na}(V - V_{Na}) + g_K(V - V_K) + \bar{g}_l(V - V_l) \end{aligned}$$

complessivamente possiamo quindi scrivere:

$$I = C_M \frac{dV}{dt} + g_{Na}(V - V_{Na}) + g_K(V - V_K) + \bar{g}_l(V - V_l) \quad (4.3)$$

Grandezza	Significato	Unità di misura
I	densità di corrente totale	$\mu A/cm^2$
I_m	densità di corrente capacitiva	
I_i	densità di corrente ionica o resistiva	
I_{Na}, I_K, I_l	componenti della corrente ionica	
t	tempo	ms
C_M	capacità di membrana	$\mu F/cm^2$
g_{Na}, g_K, g_l	conduttanze dei canali	mS/cm^2
V	differenza del potenziale di membrana rispetto al suo valore a riposo	mV
V_{Na}, V_K, V_l	potenziali all'equilibrio di Na^+ , K^+ e Cl^-	

Tabella 4.1: Tabella riassuntiva delle grandezze dell'Equazione 4.3

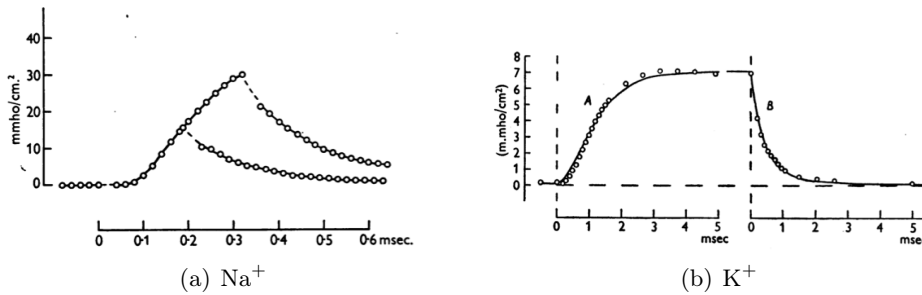


Figura 4.5: Andamenti sperimentali delle conduttanze di Na^+ e K^+ .

4.2.1 Le conduttanze tempo-varianti

Hodgkin e Huxley si proposero di trovare delle equazioni che descrivessero le conduttanze di canale con un'accuratezza ragionevole e che, allo stesso tempo, fossero sufficientemente semplici al fine di utilizzarle per il calcolo del potenziale d'azione e del periodo refrattario. In primo luogo la difficoltà di trovare questi andamenti stava nel fatto che, sia la conduttanza del sodio sia la conduttanza del potassio, durante la fase di depolarizzazione aumentano con un certo ritardo, mentre durante la fase di ripolarizzazione decadono rapidamente.

In base ai dati ricavati sperimentalmente con la tecnica del patch-clamp, Hodgkin e Huxley dimostrarono che la conduttanza g_{Na} è proporzionale alla terza potenza di una variabile che è soluzione di un'equazione differenziale del primo ordine e di un termine che tiene conto dell'inattivazione progressiva dei canali del sodio. In maniera analoga, la conduttanza g_K è proporzionale alla quarta potenza di una variabile che è soluzione di un'equazione differenziale del primo ordine:

$$g_{Na} = \bar{g}_{Na} m^3 h \quad (4.4)$$

$$g_K = \bar{g}_K n^4 \quad (4.5)$$

dove \bar{g}_{Na} e \bar{g}_K sono delle costanti che rappresentano il massimo valore raggiungibile dalle conduttanze e m , h , n sono adimensionali e assumono valori compresi nell'intervallo $[0,1]$. Tali variabili sono soluzione delle seguenti equazioni differenziali:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m \quad (4.6)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(1 - h) - \beta_h h \quad (4.7)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n \quad (4.8)$$

con α e β funzioni della tensione V ai capi della membrana e con unità di misura $[ms^{-1}]$:

$$\alpha_m = 0.1 \frac{(V + 25)}{\exp \frac{V+25}{10} - 1} \quad (4.9)$$

$$\beta_m = 4 \exp\left(\frac{V}{18}\right) \quad (4.10)$$

$$\alpha_h = 0.07 \exp\left(\frac{V}{20}\right) \quad (4.11)$$

$$\beta_h = \frac{1}{\exp \frac{V+30}{10} + 1} \quad (4.12)$$

$$\alpha_n = 0.01 \frac{(V + 10)}{\exp \frac{V+10}{10} - 1} \quad (4.13)$$

$$\beta_n = 0.125 \exp\left(\frac{V}{80}\right) \quad (4.14)$$

Questi parametri determinano il rate di trasferimento degli ioni attraverso la membrana: α dall'esterno all'interno e β dall'interno all'esterno.

L'esperimento del blocco del voltaggio o voltage-clamp

Per provare la loro ipotesi, Hodgkin e Huxley dovettero misurare le variazioni delle conduttanze di membrana in funzione della tensione ai capi della membrana. Queste misurazioni, tuttavia, non erano agevoli e presentavano notevoli difficoltà a causa del mutuo accoppiamento tra il potenziale di membrana e le conduttanze stesse, dovuto al fatto che, se la membrana è depolarizzata, si ha l'apertura dei canali del sodio e l'ingresso dello ione provoca un'ulteriore depolarizzazione. Tale ciclo rendeva quindi impossibile il mantenimento di un potenziale di membrana costante. Questi problemi furono risolti mediante una tecnica chiamata "blocco del voltaggio" (o *voltage-clamp*). Tale tecnica consiste nel collegare ai capi di una batteria, tramite due elettrodi, i fluidi che sono a contatto con le due facce della membrana neuronale che avvolge l'assone del calamaro. In questo modo il potenziale può essere mantenuto costante dallo sperimentatore, il quale può imporre le variazioni desiderate al potenziale e misurare con un amperometro la

corrente che fluisce attraverso la membrana (ovvero la corrente erogata dal generatore per mantenere costante il potenziale di membrana). Il circuito impiegato è rappresentato in Figura 4.6.

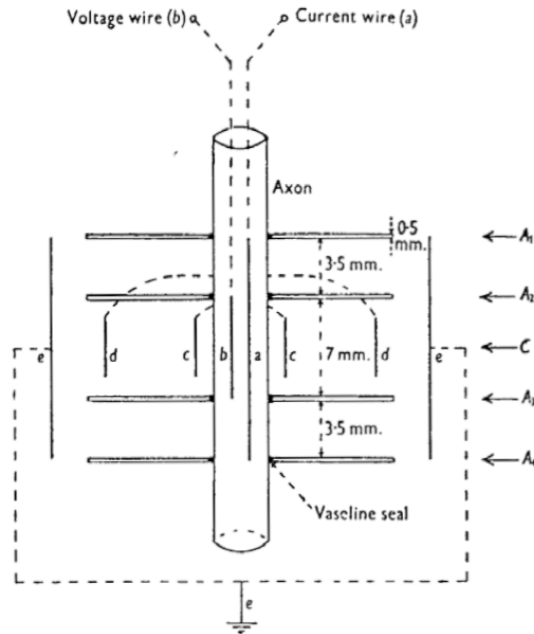


Figura 4.6: Schema degli elettrodi posti nell'assone del calamaro gigante.

Vediamo più nel dettaglio come sia possibile calcolare il valore delle conduttanze facendo riferimento alla schema elettrico di Figura 4.7. La relazione che lega la corrente alla differenza di potenziale presente ai capi della conduttanza di canale è esprimibile mediante la legge di Ohm:

$$\begin{aligned} I_{Na} &= g_{Na}(V_m - E_{Na}) \\ I_K &= g_K(V_m - E_K) \end{aligned}$$

risolvendo per la conduttanza si ottengono le relazioni:

$$\begin{aligned} g_{Na} &= \frac{I_{Na}}{(V_m - E_{Na})} \\ g_K &= \frac{I_K}{(V_m - E_K)} \end{aligned}$$

A questo punto, per risolvere le due equazioni è necessario conoscere:

- la variabile V_m : è nota in quanto viene imposta, tramite la batteria, dallo sperimentatore;
- I_{Na} e I_K : si misurano tramite l'amperometro;

- E_{Na} e E_K : sono valori noti che si possono ricavare sperimentalmente, calcolando per quali valori di V_m le correnti I_{Na} e I_K invertono la loro polarità, in quanto costituiscono i potenziali di inversione.

quindi gli unici valori che non sono noti, sono le conduttanze che si possono ricavare agevolmente dalle relazioni sopra indicate.

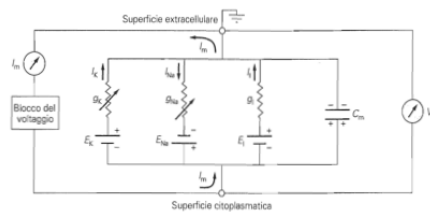


Figura 4.7: Schema elettrico del voltage-clamp.

Il patch-clamp

Uno sviluppo successivo della tecnica di blocco del voltaggio è costituito dal metodo di blocco dell'area (o *patch-clamp*). Questa tecnica consiste nel bloccare la differenza di potenziale in una piccola area della membrana cellulare e fa uso di un elettrodo inserito in una micropipetta di vetro contenente una soluzione ionica. Durante tale esperimento, la punta della pipetta aderisce alla membrana in maniera tale da isolarne una piccola area, in questo modo al suo interno viene racchiuso un numero molto piccolo di canali ionici. Lo sperimentatore può, quindi, agire sulla composizione della soluzione contenuta nella pipetta e misurare le correnti che ne derivano per mezzo dell'elettrodo.

4.2.2 I parametri m , h , n

Le variabili che compaiono nelle relazioni che esprimono le conduttanze sono dovute alla fisiologia dei canali ionici. Infatti, l'apertura di ciascun canale è regolata nel caso del sodio da tre particelle (*gate* o "cancelli") e nel caso del potassio da quattro. Ognuna di queste particelle può assumere due stati: "aperto" con probabilità p o "chiuso" con probabilità $1 - p$. La cinetica che regola le transizioni da stato "aperto" a stato "chiuso" (e viceversa) è, come descritto sopra, del primo ordine e presenta rate di trasferimento differenti a seconda della transizione (interno \rightarrow esterno o esterno \rightarrow interno) e dello ione considerato:

$$p \xrightarrow{\beta} (1 - p) \quad \text{e} \quad (1 - p) \xrightarrow{\alpha} p$$

Nello specifico, Hodgkin e Huxley ipotizzarono, in maniera euristica, che per l'apertura canale del sodio (Figura ??) fosse necessario l'allineamento contemporaneo di tre cancelli M e un cancello H , in sedi specifiche della membrana neuronale, in maniera tale da garantire il foro necessario al passaggio degli ione Na^+ . In base alle leggi della probabilità,

si giustifica quindi la relazione di proporzionalità tra g_{Na} e le variabili m (alla terza potenza) e h che indicano rispettivamente le frazioni di canali attivati e inattivati per il sodio: $g_{Na} \propto m^3 h$. La probabilità con cui questo avviene è, inoltre, funzione della tensione V e questa dipendenza può essere spiegata supponendo che i cancelli portino delle cariche elettriche.

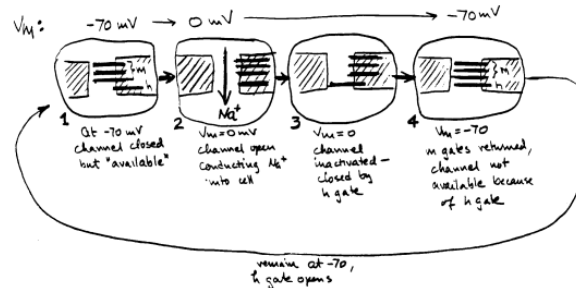


Figura 4.8: Il meccanismo di attivazione e disattivazione dei canali Na^+ .

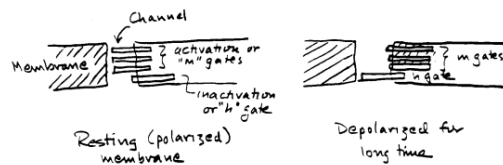


Figura 4.9: Dettaglio dei cancelli o gate.

Durante il periodo in cui il potenziale di membrana si trova a riposo, la maggior parte dei cancelli M non si trova nello stato "chiuso", bensì sono pronti a formare il canale. Quando il potenziale di membrana, depolarizzandosi, supera il valore di soglia, la velocità di spostamento di questi cancelli verso posizioni utili al fine della costituzione del canale dipende dal potenziale di Nernst di Na^+ . Al momento della ripolarizzazione la chiusura avviene molto velocemente in quanto è sufficiente che solo uno dei quattro cancelli assuma lo stato di chiusura. Per quanto riguarda i cancelli H , questi si trovano per la maggior parte aperti quando il potenziale è a riposo e solo durante la fase di depolarizzazione iniziano a chiudersi con velocità, tuttavia, molto inferiore rispetto ai cancelli M . Al fine della riattivazione del canale, e quindi della comparsa di una nuova depolarizzazione, è necessario che la fase di inattivazione sia portata a termine.

I canali del potassio funzionano in maniera simile, ma non analoga dal momento che presentano una cinetica differente. Non possiedono la fase di inattivazione, ma necessitano che quattro cancelli N siano contemporaneamente allineati per avere il foro che permette il passaggio di K^+ . La conduttanza g_K risulta quindi essere direttamente proporzionale alla quarta potenza della variabile n che rappresenta la frazione di canali K^+ aperti: $g_K \propto n^4$.

Capitolo 5

Simulazioni MATLAB del potenziale d'azione

Mediante l'ausilio di MATLAB è possibile simulare il modello di Hodgkin-Huxley e quindi verificare l'effettiva corrispondenza tra gli andamenti delle variabili di stato previsti da tale modello e gli andamenti reali osservati sperimentalmente.

Tutte le simulazioni svolte utilizzano i valori delle seguenti costanti

- capacità di membrana C_M ,
- valore massimo delle conduttanze di canale $\bar{g}_{Na}, \bar{g}_K, \bar{g}_l$,
- potenziali di Nernst V_{Na}, V_K, V_l .

riportati nella pubblicazione di Hodgkin e Huxley, già menzionata in precedenza, che per completezza ripostiamo qui di seguito:

Constant (1)	Value chosen (2)	Experimental values	
		Mean (3)	Range (4)
C_M ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$)	1.0	0.91	0.8 to 1.5
V_{Na} (mV)	-115	-109	-95 to -119
V_K (mV)	+ 12	+ 11	+ 9 to + 14
V_l (mV)	-10.613*	- 11	- 4 to - 22
\bar{g}_{Na} (m.mho/cm ²)	120	{ 80 160	{ 65 to 90 120 to 260
\bar{g}_K (m.mho/cm ²)	36	34	26 to 49
\bar{g}_l (m.mho/cm ²)	0.3	0.26	0.13 to 0.50

Figura 5.1: Tabella delle costanti

5.1 Simulazione e analisi degli andamenti delle variabili di stato

Le variabili di stato del modello di Hodgkin-Huxley per la membrana neuronale sono le conduttanze variabili $g(t)$, le correnti $i(t)$ e la tensione $V(t)$. Tali variabili, come specificato, sono funzioni del tempo, anche se, nella loro definizione analitica, talvolta questa dipendenza non compare esplicitamente, e presentano andamenti differenti che rispecchiano la fisiologia della cellula nervosa. Analizzeremo per prima la curva del potenziale d'azione, in maniera tale da poter fare riferimento ad essa ed alle varie fasi che attraversa la membrana neuronica depolarizzata nello studio delle successive simulazioni.

5.1.1 Il potenziale d'azione

Per risolvere l'equazione 4.3 si è pensato di utilizzare la function built-in di MATLAB `ode45`. La sintassi di tale function è

```

18 [t,y] = ode45(odefun, tspan, f0)
19
20 -input:
21     odefun
22     tspan
23     f0
24 -output:
25     t
26     y
    
```

dove *odefun* è la funzione di cui si valuta $f(t, y)$, *tspan* è il vettore dei tempi che contiene gli estremi di integrazione, *f0* contiene le condizioni iniziali, *t* è il vettore colonna degli istanti temporali in cui viene calcolata la soluzione e infine *y* è il vettore delle soluzioni calcolate in corrispondenza dei tempi del vettore *t*.

Per utilizzare *ode45* si è quindi resa necessaria la costruzione di un'ulteriore function, che nel nostro caso è stata chiamata *modello*, nella quale sono state riportate l'equazione differenziale che descrive il modello e le relazioni che definiscono le variabili *m*, *h*, *n*. La function ha come ingressi il tempo *t* che, sebbene non appaia esplicitamente nelle relazioni, costituisce la variabile di integrazione per la soluzione che stiamo cercando, e il vettore riga *Y*. Il vettore *Y* ha dimensione 4 e viene costruito in maniera tale da avere nella prima posizione i valori di tensione *V* e nelle posizioni rimanenti i valori delle frazioni di canali (funzioni della tensione *V*) che in un determinato istante sono aperti (K^+), attivi o inattivi (Na^+):

```

23 V=Y(1); % tensione ai capi della membrana
24 m=Y(2); % frazione dei canali di Na^+ attivati
25 h=Y(3); % frazione dei canali di Na^+ inattivati
26 n=Y(4); % frazione dei canali di K^+ aperti
    
```

La tensione *V* ha come unità di misura [*mV*], invece le variabili *m*, *n*, *h* sono adimensionali e assumono valori compresi nell'intervallo $[0,1]$.

5.1. SIMULAZIONE E ANALISI DEGLI ANDAMENTI DELLE VARIABILI DI STATO

La function ha come uscita il vettore colonna dY :

```
63 dY=[dV dm dh dn]';
```

ovvero la derivata del vettore Y . In particolare, dV è l'equazione del modello, e cioè la vera e propria funzione che *ode45* deve risolvere. Per fare questo è necessario conoscere i valori (definiti per ogni valore di tensione considerato) delle variabili m , h , n che sono a loro volta soluzioni di equazioni differenziali del primo ordine:

```
58 dm=alpha_m*(1-m)-beta_m*m;  
59 dh=alpha_h*(1-h)-beta_h*h;  
60 dn=alpha_n*(1-n)-beta_n*n;
```

dove i valori dei rate di trasferimento si ricavano dalle relazioni

```
48 % rate di trasferimento out->in di m  
49     alpha_m = 0.1*(V+25)/(exp((V+25)/10)-1);  
50 % rate di trasferimento in->out di m  
51     beta_m = 4*exp(V/18);  
52 % rate di trasferimento out->in di h  
53     alpha_h = 0.07*exp(V/20);  
54 % rate di trasferimento in->out di h  
55     beta_h = 1/(exp((V+30)/10)+1);  
56 % rate di trasferimento out->in di n  
57     alpha_n = 0.01*(V+10)/(exp((V+10)/10)-1);  
58 % rate di trasferimento in->out di n  
59     beta_n = 0.125*exp(V/80);
```

aventi come unità di misura $[t^{-1}]$. Le equazioni differenziali che definiscono m , h , n presentano delle soluzioni in forma chiusa, ma si è scelto di non utilizzarle in quanto sono valide unicamente per valori puntuali della tensione V .

Ricordiamo, inoltre, che è necessario definire le costanti che compaiono nell'equazione del modello (Figura 5.1) e la forzante I che agisce sul sistema. Come forzante I è stata scelta una corrente continua avente come ampiezza un valore arbitrario, ma conforme dal punto di vista della fisiologia.

```
31 % Definizione delle costanti  
32  
33 C_M = 1.0;           % capacità di membrana           [muF/cm^2]  
34 V_Na = -115;        % potenziale di Nernst per Na^+           [mV]  
35 V_K = 12;           % potenziale di Nernst per K^+           [mV]  
36 V_l = -10.613;      % potenziale di Nernst per Cl^-           [mV]  
37 g_Na = 120;         % massima conduttanza del canale Na^+       [mS/cm^2]  
38 g_K = 36;           % massima conduttanza del canale K^+       [mS/cm^2]  
39 g_l = 0.3;          % conduttanza del canale Cl^-           [mS/cm^2]  
40  
41 % Definizione della forzante del sistema  
42  
43 I=35*1e-6;          % [A]
```

Per quanto riguarda dV , non è possibile definire la variazione di potenziale utilizzando la forma generale espressa nell'Equazione 4.3, che riportiamo per semplicità di seguito

$$I = C_M \frac{dV}{dt} + g_{Na}(V - V_{Na}) + g_K(V - V_K) + \bar{g}_l(V - V_l)$$

bensi è necessario ordinarla in maniera tale che alla sinistra dell'uguale compaia solo la derivata prima di V e alla destra i termini noti siano separati da quelli che dipendono dalla tensione.

$$\begin{aligned} I &= C_M \frac{dV}{dt} + g_{Na}(V - V_{Na}) + g_K(V - V_K) + \bar{g}_l(V - V_l) \\ C_M \frac{dV}{dt} &= I - g_{Na}(V - V_{Na}) - g_K(V - V_K) - \bar{g}_l(V - V_l) \\ \frac{dV}{dt} &= \frac{1}{C_M} (I - g_{Na}(V - V_{Na}) - g_K(V - V_K) - \bar{g}_l(V - V_l)) \\ \frac{dV}{dt} &= \frac{1}{C_M} (I + g_{Na}V_{Na} + g_KV_K + \bar{g}_lV_l) - \frac{1}{C_M} (g_{Na} + g_K + \bar{g}_l)V \\ \frac{dV}{dt} &= \frac{1}{C_M} (I + \bar{g}_{Na}m^3hV_{Na} + \bar{g}_Kn^4V_K + \bar{g}_lV_l) - \frac{1}{C_M} (\bar{g}_{Na}m^3h + \bar{g}_Kn^4 + \bar{g}_l)V \end{aligned}$$

Possiamo infine scrivere:

$$\begin{aligned} 1 \quad dV &= (1/C_M)*(g_K* n^4 *V_K + g_{Na}*m^3*h*V_{Na} + g_l*V_l + I) + \\ 2 \quad &\quad - (1/C_M)*(g_K* n^4 + g_{Na}*m^3*h + g_l)*V; \end{aligned}$$

A questo punto nel metodo *main* viene definita e applicata la sintassi di *ode45*

```
59 % Condizioni iniziali
60
61 V_0=15;           % [mV]
62 m_0=0.056;
63 h_0=0.5961;
64 n_0=0.3177;
65
66 Y_0=[V_0 m_0 h_0 n_0]';
67
68 % Applicazione della funzione ode45
69
70 [t Y] = ode45('modello', tspan, Y_0);
```

dove le condizioni iniziali per le frazioni dei canali sono così definite:

```
20 m_0 = alpha_m0/(alpha_m0+beta_m0);
21 h_0 = alpha_h0/(alpha_h0+beta_h0);
22 n_0 = alpha_n0/(alpha_n0+beta_n0);
```

e i rate di trasferimento sono valutati per $V=0$

```
10 alpha_m0 = 0.01*(25)/(exp((25)/10)-1);
11 beta_m0 = 4;
```

```
12 alpha_h0 = 0.07;  
13 beta_h0 = 1/(exp((30)/10)+1);  
14 alpha_n0 = 0.01*(10)/(exp((10)/10)-1);  
15 beta_n0 = 0.125;
```

La condizione $V_0 = 15$ è stata scelta, in questo caso arbitrariamente, considerando un valore al di sopra della soglia di potenziale e costituisce la depolarizzazione iniziale della membrana, ovvero la variazione rispetto alla condizione di riposo che presenta, invece, depolarizzazione pari a $0mV$. Per plottare il grafico sono necessari semplici comandi e l'accortezza di selezionare la colonna corretta della matrice Y : dal momento che siamo interessati all'andamento del potenziale d'azione si deve scegliere $Y(1)$.

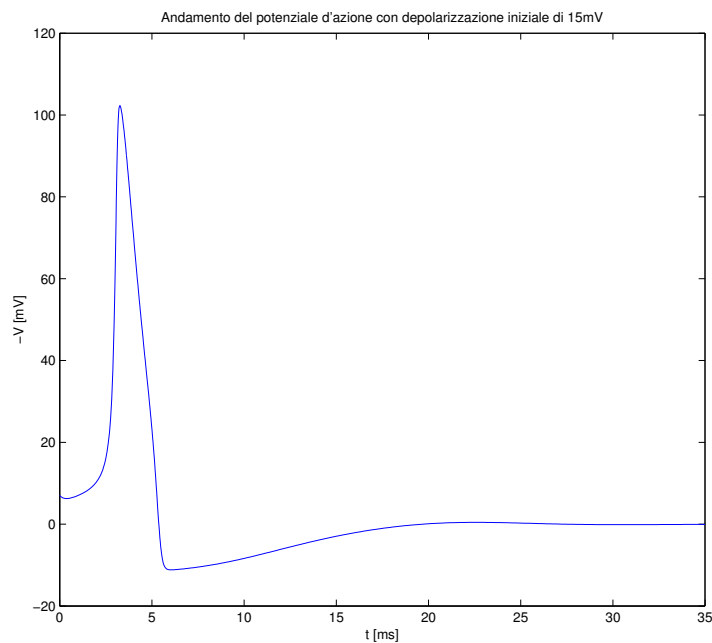


Figura 5.2: Andamento del potenziale d'azione per il modello di Hodgkin-Huxley

Analisi della curva

Consideriamo una membrana neuronale, il cui potenziale a riposo viene calcolato per mezzo dell'equazione di Goldman 3.2 scegliendo i valori delle concentrazioni ioniche riportate in Tabella 3.1, e come i rapporti di permeabilità tra i diversi ioni la proporzione

$$P_{Na} : P_K : P_{Cl} = 0.04 : 1.0 : 0.45.$$

Ne risulta in questo modo un potenziale di riposo E_m circa pari a $-60mV$. Consideriamo quindi uno stimolo esterno che, in base alle ipotesi iniziali da noi fatte, conferisce alla

membrana una depolarizzazione pari a 15mV grazie alla quale il potenziale di membrana supera il valore di soglia ($\sim -45\text{mV}$) e innesca il potenziale d'azione. La fase ascendente della curva è causata dall'attivazione dei canali voltaggio-dipendenti del sodio, dovuta alla depolarizzazione, che permette l'ingresso nella cellula di un numero molto grande di ioni Na^+ . Il potenziale quindi cresce diventando inizialmente sempre meno negativo e in seguito positivo, tendendo, senza raggiungerlo, al valore del potenziale di Nernst per Na^+ . Nel frattempo, prima del picco, si aprono i canali del potassio, che presentano una cinetica più lenta di quelli del sodio. Questo causa una fuoriuscita di ioni K^+ dalla membrana e la curva, dopo aver raggiunto il valore massimo, assume valori di tensione via via più piccoli dal momento che la membrana si sta ripolarizzando per tornare al valore di equilibrio. La fase di ripolarizzazione, che permette al potenziale di tornare al valore di riposo E_m , comprende una fase transitoria di iperpolarizzazione durante la quale il potenziale di membrana assume valori più negativi di E_m .

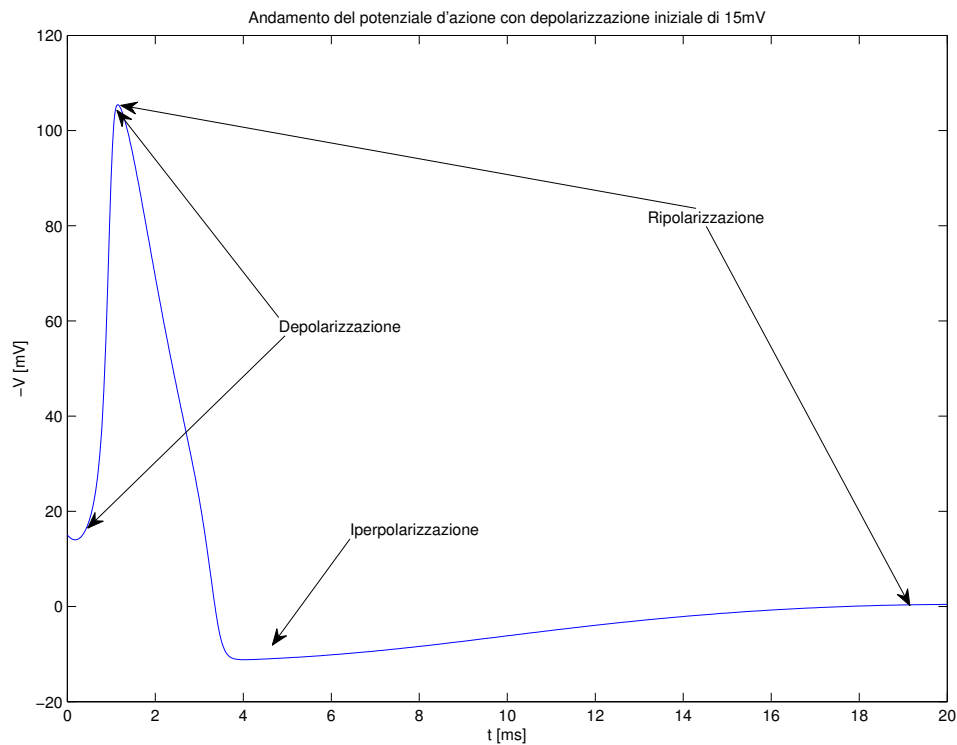


Figura 5.3: Fasi del potenziale d'azione

5.1.2 Andamento delle conduttanze

Le conduttanze della membrana, per i canali del sodio e del potassio, non rimangono costanti nell'arco temporale in cui si sviluppa il potenziale d'azione, bensì variano sia come funzione del tempo sia come funzione della tensione. Come abbiamo visto in precedenza, tali conduttanze sono proporzionali al massimo valore raggiungibile dalla conduttanza stessa (\bar{g}_{Na} e \bar{g}_K) e da variabili che sono soluzione di equazioni differenziali del primo ordine: m , h , n . Le equazioni che legano queste grandezze sono state trattate nel dettaglio nel Capitolo 4 e sono riportate di seguito per semplicità.

$$\begin{aligned} g_{Na} &= \bar{g}_{Na} m^3 h \\ g_K &= \bar{g}_K n^4 \end{aligned}$$

con

$$\begin{aligned} \frac{dm}{dt} &= \alpha_m(1 - m) - \beta_m m \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(1 - h) - \beta_h h \\ \frac{dn}{dt} &= \alpha_n(1 - n) - \beta_n n \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \alpha_m &= 0.1 \frac{(V + 25)}{\exp \frac{V+25}{10} - 1} \\ \beta_m &= 4 \exp \left(\frac{V}{18} \right) \\ \alpha_h &= 0.07 \exp \left(\frac{V}{20} \right) \\ \beta_h &= \frac{1}{\exp \frac{V+30}{10} + 1} \\ \alpha_n &= 0.01 \frac{(V + 10)}{\exp \frac{V+10}{10} - 1} \\ \beta_n &= 0.125 \exp \left(\frac{V}{80} \right) \end{aligned}$$

Le variabili m , h , n sono adimensionali e assumono valori compresi nell'intervallo $[0,1]$. Per simularne l'andamento, consideriamo una variazione del metodo `main`, trattato in precedenza, il quale fa riferimento alla function `modello` per calcolare la soluzione dell'Equazione 4.3 e permette di plottare la soluzione delle equazioni differenziali sopra citate selezionando le colonne corrette del vettore \mathbf{Y} delle soluzioni. In particolare si ha che $\mathbf{m} = \mathbf{Y}(2)$, $\mathbf{h} = \mathbf{Y}(3)$ e $\mathbf{n} = \mathbf{Y}(4)$.

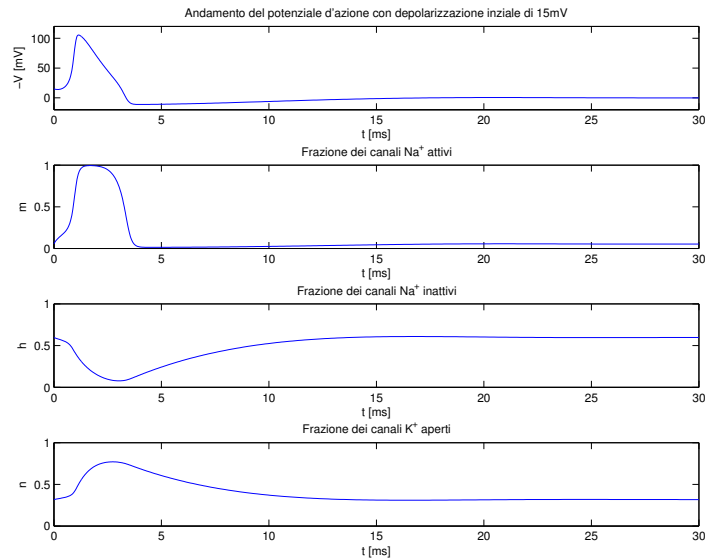


Figura 5.4: Andamento delle variabili m , h , n .

Analisi delle curve

Le curve per m , h e n sono poste in relazione all'andamento del potenziale d'azione, che è rappresentato nel primo riquadro, in maniera tale da visualizzare facilmente le varie fasi che attraversa la membrana neuronale dopo aver ricevuto uno stimolo esterno. Come si può vedere, le frazioni dei canali assumono, correttamente, valori compresi nell'intervallo $[0,1]$, in quanto rappresentano la probabilità che quello specifico canale sia aperto o, più in dettaglio, che i gate considerati (M e H per Na^+ e N per K^-) siano nella configurazione di apertura. Quindi per il sodio, in corrispondenza dello spike del potenziale d'azione, avremo una probabilità tendente a 1 di canali attivati: infatti l'ingresso di ioni Na^+ durante la depolarizzazione ha come conseguenza l'ulteriore apertura di canali per questo ione, dal momento che si attivano i canali voltaggio-dipendenti. Nella fase di ripolarizzazione questa probabilità diminuisce in quanto il meccanismo si auto-regola provocando l'apertura dei canali del potassio (la curva per la frazione n di canali del potassio attivati infatti cresce con un certo ritardo rispetto a quella per m) e quindi l'uscita degli ioni K^+ , in corrispondenza di questo avremo una progressiva inattivazione dei canali voltaggio-dipendenti del sodio al fine di riportare il potenziale di membrana alla condizione di polarizzazione iniziale alla fine della fase di ripolarizzazione stessa. La curva per h presenta un andamento speculare rispetto a m proprio per questo motivo: durante la fase di ripolarizzazione, la frazione di canali inattivati cresce da un valore prossimo allo zero e si assesta circa al valore $\frac{1}{2}$, a indicazione del fatto che ciascun canale del sodio precedentemente attivato, ha il 50% di probabilità di venire inattivato durante

5.1. SIMULAZIONE E ANALISI DEGLI ANDAMENTI DELLE VARIABILI DI STATO

questa fase. L'andamento di n è simile a quello di m , ma presenta due differenze: la prima differenza consiste nell'attivazione, infatti per i canali del potassio avviene successivamente rispetto all'attivazione dei canali del sodio, in quanto, come già menzionato, la loro apertura costituisce un meccanismo di controllo, al fine non fare crescere troppo il picco del potenziale d'azione, quindi la probabilità di attivazione n cresce con un certo ritardo rispetto al verificarsi dello spike; in secondo luogo i canali K^+ mantengono una probabilità non nulla di essere attivi anche dopo la conclusione della fase di ripolarizzazione.

A questo punto possiamo valutare gli andamenti delle conduttanze $g_{Na} = \bar{g}_{Na}m^3h$ e $g_K = \bar{g}_Kn^4$, definendo nel codice, per la conduttanza del sodio

```
24 m3 = Y(:,2);  
25 h = Y(:,3);  
26 g_Na = 120 .* m3 .* h;
```

per la conduttanza del potassio

```
1 n4 = Y(:,4);  
2 g_K = 36 .* n4;
```

e tracciando i grafici:

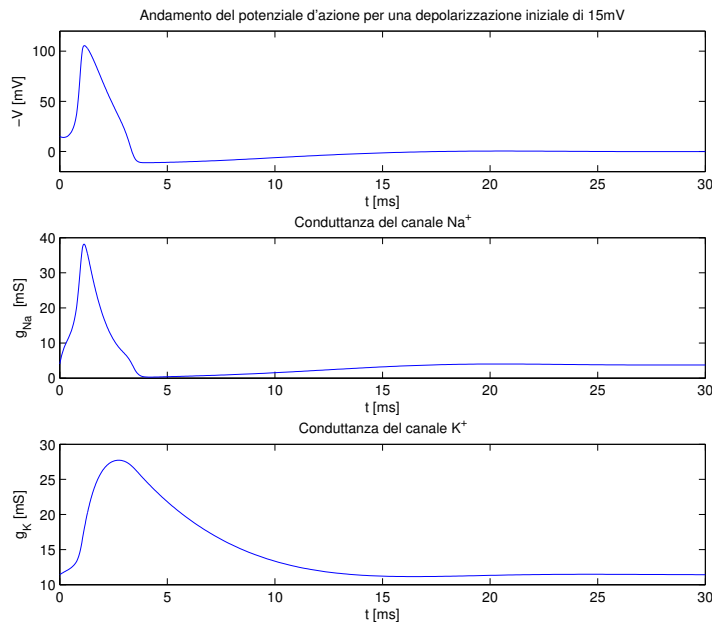


Figura 5.5: Andamenti delle conduttanze dei canali ionici.

Gli andamenti ottenuti rispecchiano quelli ricavati sperimentalmente e sono in accordo con il meccanismo di generazione del potenziale d'azione. Infatti, si può apprezzare

come la conduttanza g_{Na} aumenti e diminuisca più velocemente della conduttanza g_K . Riassumendo, le conduttanze dei canali ionici del sodio e del potassio sono attivati dalla depolarizzazione della membrana in quantità e velocità proporzionale crescere della depolarizzazione, a mano a mano che la depolarizzazione aumenta i canali Na^+ si inattivano, al contrario dei canali K^+ che, invece, rimangono attivati sia durante la fase di depolarizzazione sia durante la fase di ripolarizzazione.

Tuttavia il modello non risulta rigorosamente fedele a quanto avviene realmente della cellula, infatti l'aumento dei valori delle conduttanze avviene con un certo ritardo rispetto all'aumento della depolarizzazione. Allo stesso modo, anche la diminuzione progressiva dei valori, e quindi il raggiungimento del valore di conduttanza a riposo, avviene con ritardo.

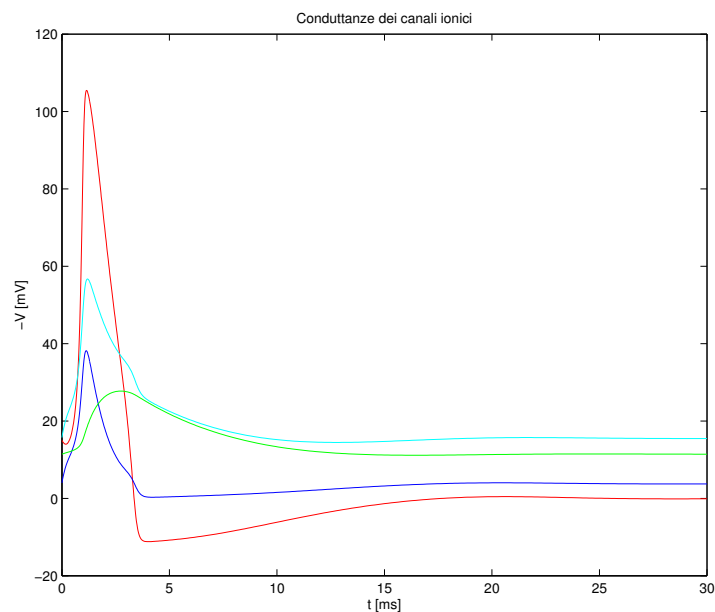


Figura 5.6: Contributo di g_{Na} e g_K alla conduttanza totale.

La figura 5.6 ottenuta definendo nel codice

29 `g_TOT = g_Na + g_K + g_l;`

illustra i contributi di g_{Na} e g_K al valore della conduttanza totale della membrana. La rapida crescita della curva di g_{TOT} è determinata in maniera esclusiva dalla conduttanza del sodio, in quanto i canali Na^+ sono i primi ad attivarsi e presentano una cinetica molto rapida, la parte terminale, al contrario, è regolata unicamente dalla conduttanza del potassio, in quanto quest'ultima assume valori non nulli durante tutta la fase di ripolarizzazione.

La conduttanza associata al canale dello ione Cl^- , e quindi alla corrente di perdita

I_l , non è stata analizzata nel dettaglio in quanto presenta un andamento costante. Infatti, come già menzionato, tali canali si trovano sempre aperti perché contribuiscono al potenziale di riposo del neurone e quindi si attribuisce a g_l un valore costante (\bar{g}_l).

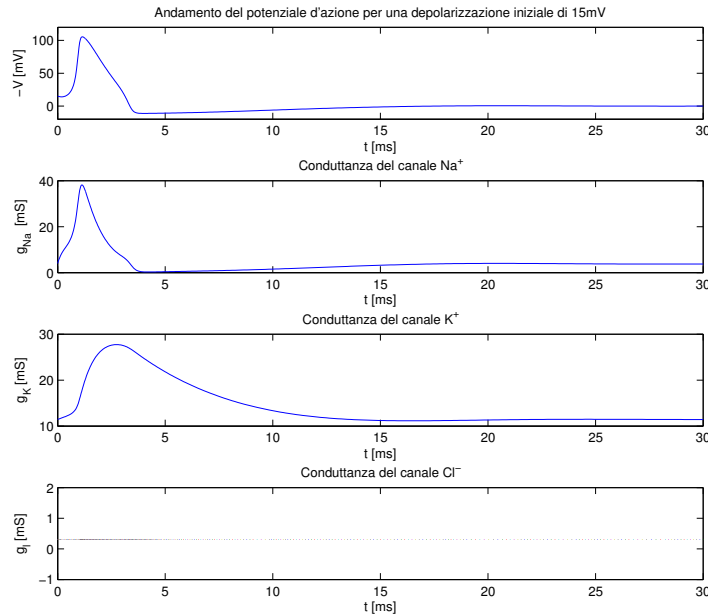


Figura 5.7: Andamento della conduttanza del cloro.

5.1.3 Andamento delle correnti

Abbiamo visto in che modo la corrente totale, che fluisce attraverso la membrana neuronale, presenti due componenti: la prima componente è quella dovuta alla capacità di membrana, la seconda invece è dovuta alle correnti ioniche, ovvero ai flussi di ioni che attraversano i canali proteici. La corrente ionica è composta a sua volta da tre contributi: la corrente I_{Na} del sodio, la corrente I_K del potassio e una corrente I_l di perdita, dovuta principalmente al passaggio di ioni Cl^- . Le tre componenti sono calcolate in questa maniera tenendo conto del potenziale di equilibrio (potenziale di Nernst) dei vari ioni presi singolarmente:

$$\begin{aligned} I_{Na} &= g_{Na}(V - V_{Na}) \\ I_K &= g_K(V - V_K) \\ I_l &= \bar{g}_l(V - V_l) \end{aligned}$$

dove V è la variazione rispetto al potenziale di riposo, V_{Na} , V_K e V_l sono le variazioni dai potenziali di equilibrio del sodio, del potassio e del cloro rispettivamente.

Nel codice le correnti ioniche sono state così definite:

```

37 % Frazione dei canali e conduttanze
38
39 m3 = Y(:,2);
40 h = Y(:,3);
41 g_Na = 120.* m3 .* h;
42 n4 = Y(:,4);
43 g_K = 36 .* n4;
44 g_l = 0.3 * ones(length(V),1);
45
46 % Correnti ioniche
47
48 I_Na = g_Na .* (V-V_Na);
49 I_K = g_K .* (V-V_K);
50 I_l = g_l .* (V-V_l);

```

Questa componente della corrente totale, diventa rilevante, dal punto di vista quantitativo, solo dal momento in cui il potenziale di membrana supera il valore di soglia e ciò è dovuto in parte al fatto che le correnti assumono sempre valori ridotti in prossimità della soglia e in parte al fatto che la conduttanza del sodio aumenta con un certo ritardo quando ancora la depolarizzazione è ridotta. Sono state quindi rappresentate singolarmente e poi

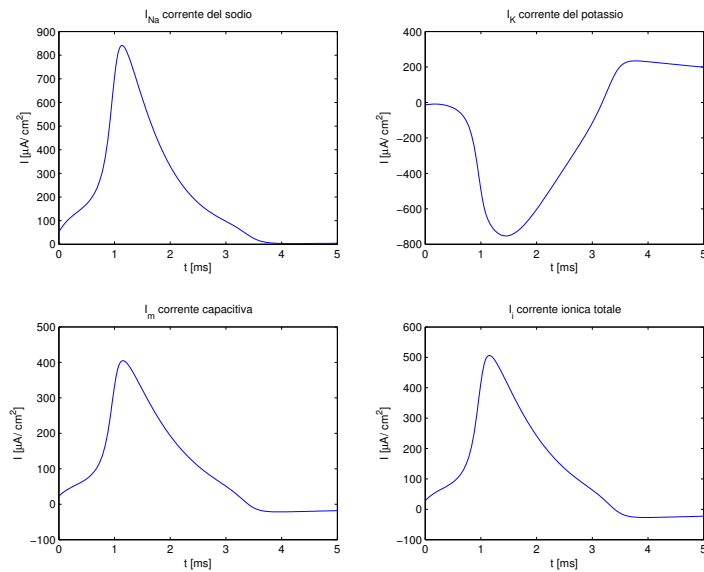


Figura 5.8: La corrente capacitiva e le correnti ioniche.

in relazione alla corrente totale in maniera tale verificarne i contributi. La corrente ionica

totale è stata definita tenendo conto anche della corrente di perdita che, invece, non è stata rappresentata singolarmente:

```
52 % Corrente ionica totale
53
54 I_i = I_Na + I_K + I_l;
```

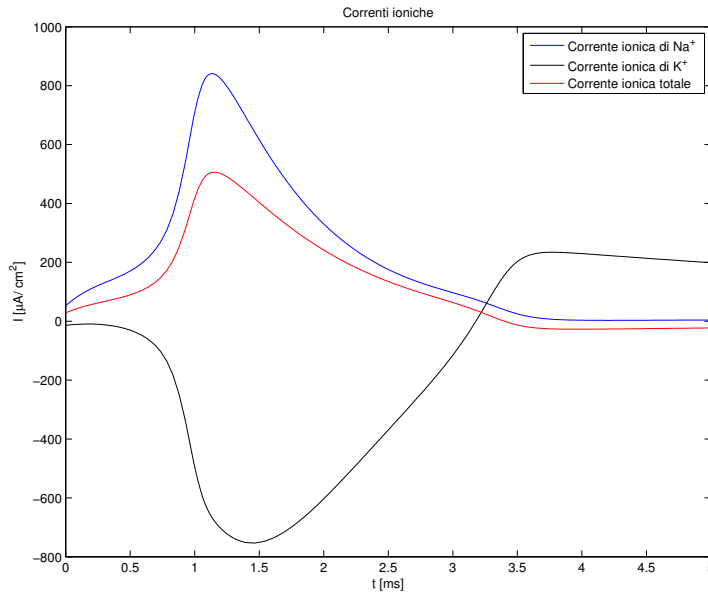


Figura 5.9: Contributo di I_{Na} e I_K alla corrente ionica totale.

5.2 Il carattere tutto-o-nulla del potenziale d'azione

I potenziali d'azione sono un evento tutto-o-nulla, questo significa che quando il segnale, che giunge alla membrana neuronale del neurone postsinaptico, è tale da provocare una depolarizzazione della membrana stessa superiore ad un certo valore di soglia, allora si innesca il potenziale d'azione. Una volta innescato, il potenziale d'azione non dipende più dallo stimolo che l'ha provocato e quindi presenta una forma e un'ampiezza predeterminati. L'accezione "tutto-o-nulla" indica quindi che sono presenti solo due possibilità:

1. la depolarizzazione raggiunge il valore di soglia e si verifica il potenziale d'azione,
2. la depolarizzazione non raggiunge il valore di soglia e il potenziale non si verifica.

5.2.1 La soglia

Per i grafici del potenziale d'azione realizzati abbiamo considerato che il potenziale di membrana sia uniforme nell'area considerata. Inoltre è stato fissato, come valore iniziale di depolarizzazione, $V_0 = 15mV$. Nelle simulazioni seguenti, invece, modificheremo tale valore V_0 in maniera tale da verificare il comportamento tutto-o-nulla del potenziale d'azione.

Consideriamo come valori di depolarizzazione dei valori negativi

```

21 % Depolarizzazioni negative
22
23 V_01 = -20;
24 V_02 = -15;
25 V_03 = -10;
26 V_04 = -5;
27 V_05 = -1;

```

se risolviamo l'equazione differenziale 4.3 usando di volta in volta questi valori come condizioni iniziali, otteniamo i seguenti andamenti rappresentati in Figura 5.10.

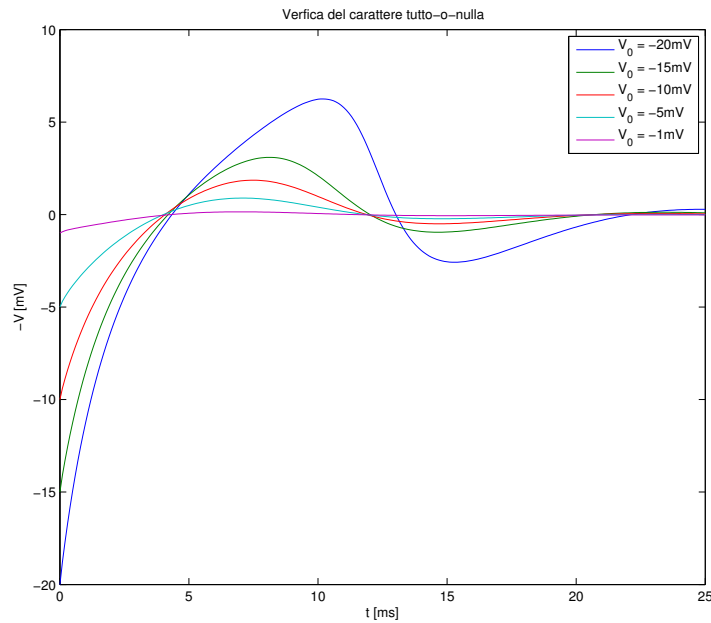


Figura 5.10: Depolarizzazioni negative della membrana.

Come si può vedere, tali depolarizzazioni, essendo inferiori al valore di soglia, non danno origine a potenziali d'azione, bensì provocano oscillazioni del potenziale attorno al

5.2. IL CARATTERE TUTTO-O-NULLA DEL POTENZIALE D'AZIONE

valore di depolarizzazione nulla e, dopo qualche istante, si assestano sul valore di riposo della membrana.

Se consideriamo invece i seguenti valori di depolarizzazione positivi

```
56 % Depolarizzazioni positive
57
58 V_06=1;
59 V_07=3;
60 V_08=5;
61 V_09=7;
62 V_010=15;
63 V_011=30;
64 V_012=60;
```

e risolviamo, in maniera analoga, l'equazione differenziale 4.3, otteniamo gli andamenti riportati in Figura 5.11.

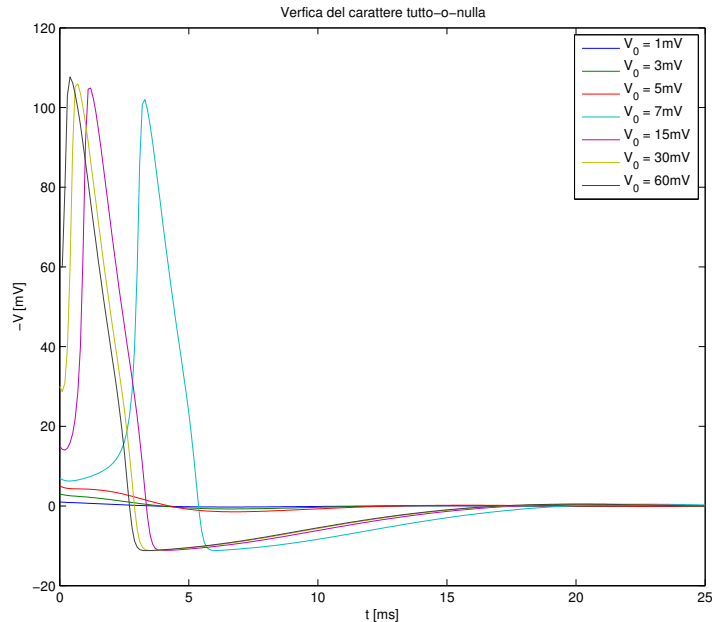


Figura 5.11: Depolarizzazioni negative della membrana.

Per i valori di depolarizzazione $V_0 = 1mV$, $V_0 = 3mV$ e $V_0 = 5mV$, non si osserva nessuno spike e quindi non si ha la generazione di alcun potenziale d'azione, in quanto tali V_0 si trovano al di sotto del valore di soglia. Dopo un breve transitorio, le curve si assestano sul valore di polarizzazione nulla e la membrana torna al potenziale di riposo.

Quando si sceglie, invece, il valore $V_0 = 7mV$, si osserva la generazione del potenziale d'azione, la curva infatti presenta le caratteristiche studiate nel paragrafo precedente: il

picco di depolarizzazione, la discesa di ripolarizzazione, la depressione di iperpolarizzazione e l'assestamento al valore di polarizzazione nulla. Questo significa che una depolarizzazione di $7mV$ fa in modo che il potenziale di membrana E_r , inizialmente pari a $-60mV$ in base ai calcoli precedentemente effettuati, assuma il valore $-53mV$ (in quanto V_0 è da intendersi come variazione $E - E_r$ dal potenziale di riposo) che rappresenta quindi il potenziale di soglia raggiunto il quale si innesca il potenziale d'azione. Tutti i valori di V_0 successivamente considerati, essendo più grandi di $7mV$, danno origine a potenziali d'azione.

5.2.2 L'influenza della forzante

La forzante del sistema è la corrente totale I . Per studiare quanto il valore di quest'ultima influisca sulla soluzione dell'equazione 4.3 consideriamo quattro valori per le condizioni iniziali

```
22 V_01=-15; % Depolarizzazione negativa
23 V_02=-5; % Depolarizzazione negativa
24 V_03=5; % Depolarizzazione positiva (sotto la soglia)
25 V_04=15; % Depolarizzazione positiva (sopra la soglia)
```

e consideriamo due valori di corrente considerevolmente distinti tra loro

```
15 I_min=4*1e-6;
16 I_max=35*1e-3;
```

Quando andiamo a rappresentare i grafici, indichiamo con una linea continua rossa l'andamento prodotto con la forzante I_{\min} e con una linea continua blu l'andamento prodotto dalla forzante I_{\max} . Gli andamenti ottenuti sono riportati in Figura 5.12.

L'andamento del potenziale d'azione non risulta influenzato dalla forzante proprio per il suo carattere tutto-o-nulla, infatti dal momento in cui il potenziale d'azione si verifica, quest'ultimo diventa indipendente dallo stimolo che l'ha generato. Al contrario, per i comportamenti in sottosoglia si osserva (Figura 5.13) una leggera influenza dell'andamento dalla forzante del sistema.

5.2. IL CARATTERE TUTTO-O-NULLA DEL POTENZIALE D'AZIONE

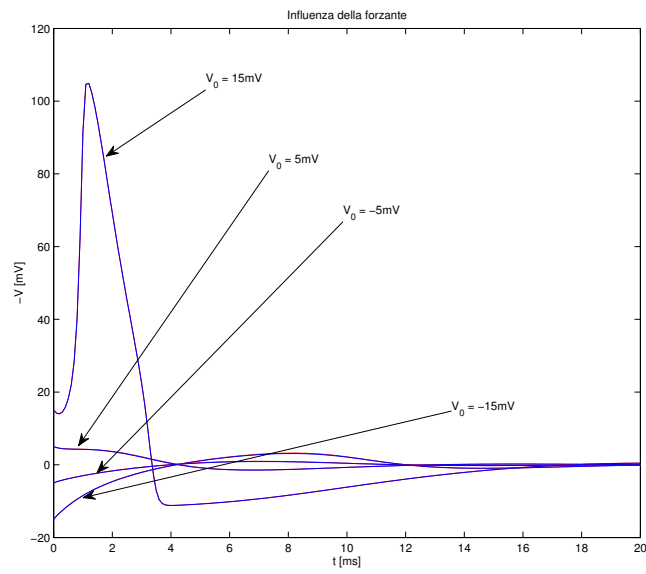


Figura 5.12: Influenza delle forzanti.

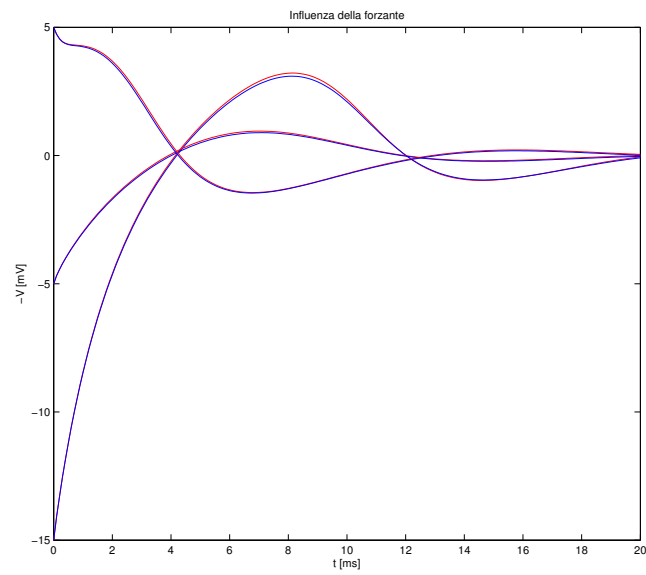


Figura 5.13: Particolare dell'andamento delle forzanti.

Capitolo 6

Conclusioni

Il modello di Hodgkin-Huxley per la generazione e propagazione dei potenziali di azione è considerato il modello quantitativo che ha avuto il maggior successo nell'ambito delle neuroscienze

6.1 Pregi del modello

L'importanza di questo modello sta nel fatto che ha il pregio di descrivere in maniera relativamente semplice e con buona approssimazione i dati osservati dalla serie di esperimenti condotti dai due medici inglesi sull'assone gigante del calamaro europeo. La sua storica importanza deriva, inoltre, anche da altri fattori conseguenti allo scopo per cui è stato ideato e che riportiamo qui di seguito.

I modelli per analogia

L'interesse e la genialità del modello di Hodgkin-Huxley, come si ha avuto modo di vedere nello specifico nei capitoli precedenti, sta nel fatto che quest'ultimo costituisce il perfetto esempio di un modello per analogia. Infatti, è un modello nel quale grandezze tipicamente di natura elettrica, quali capacità, conduttanze, correnti e potenziali, vengono isolate dal loro contesto classico e utilizzate per spiegare e riprodurre, usando configurazioni circuitali adeguate, processi e meccanismi tipici della fisiologia umana, come, ad esempio, flussi di ioni e passaggio degli stessi attraverso le membrane biologiche. Analizzando il sistema "neurone" vennero messi in evidenza i seguenti fenomeni:

1. Sull'interfaccia interna della cellula è presente un eccesso di ioni con carica positiva mentre sull'interfaccia esterna è presente un eccesso di cariche di segno opposto.
2. La membrana è composta da un doppio strato fosfolipidico, dove i suoi costituenti hanno le code idrofobe all'interno e le teste idrofile all'esterno. Tale configurazione non permette il libero transito degli ioni attraverso la membrana.

3. Gli ioni per attraversare la membrana utilizzano strutture proteiche specifiche, i canali ionici, che però possono non essere sempre attivi (ad esempio nel caso dei canali voltaggio-dipendenti).
4. Quando i canali voltaggio-dipendenti sono attivi oppure quando i gradienti di concentrazione lo permettono si ha un flusso di ioni attraverso la membrana.

i quali presentano notevoli analogie con componenti elettrici:

1. Gli eccessi di ioni di segno discorde alle due estremità della membrana possono essere interpretati come una differenza di potenziale, quindi si può dire che ogni membrana biologica in condizioni normali presenta tale potenziale che viene chiamato *potenziale di membrana a riposo*.
2. La membrana costituisce l'analogo biologico di una capacità in quanto la carica sulle sue interfacce può essere modificata solo attraverso un flusso di ioni (i quali possono caricarla o scaricarla a seconda del moto) attraverso la stessa.
3. I canali voltaggio-dipendenti hanno un comportamento simile a delle conduttanze variabili in funzione della tensione a esse applicata. Tali conduttanze possono avere valore molto piccolo, e quindi dare origine a una resistenza grande, oppure assumere valore molto grande, e quindi dare origine a una resistenza molto piccola. Il primo caso descrive bene la condizione di canale inattivo in quanto gli ioni riscontrano una grande "difficoltà" nell'ingresso perché il canale oppone "resistenza" bloccando così il loro flusso, mentre il secondo caso descrive in maniera duale la condizione di canale aperto, in quanto la "resistenza" offerta dal canale è molto bassa e gli ioni non risultano impediti nel loro moto attraverso lo stesso.
4. I flussi di ioni, non sono altro che movimenti di cariche per definizione stessa di "ione", e l'analogo elettrico di questo flusso è la corrente, che viene appunto definita come quantità di carica che fluisce attraverso l'unità di superficie nell'unità di tempo.

Il sistema biologico avente come cause (o ingressi) i flussi di ioni e come effetto (o uscita) il manifestarsi del potenziale d'azione, viene quindi modellato con una rete elettrica a quattro rami in parallelo avente come ingresso le correnti (espresse in funzione delle conduttanze o della capacità di membrana) e come uscita un potenziale. Questo ha permesso un'analisi più agevole dei meccanismi biologici che caratterizzano il neurone in quanto il modello costituisce una semplificazione della realtà fisiologica dal momento che le sue grandezze chiave sono facilmente deducibili da relazioni elettriche o misurabili tramite strumenti.

Gli esperimenti

Lo studio del neurone, al fine di determinare le cause e le modalità con cui viene generato il potenziale d'azione, fu alla base della necessità di trovare nuove tecniche per

misurare andamenti di interesse quali quello delle conduttanze e quello delle correnti. Gli esperimenti ideati grazie a tale modello sono il voltage-clamp e il patch-clamp. Il primo venne ideato da Kenneth Cole nel 1949 e risolse il problema della mutua dipendenza tra il valore delle conduttanze (che sono voltaggio-dipendenti) e il potenziale attraverso il “blocco” di quest’ultimo su un valore scelto dallo sperimentatore. Il secondo, derivante dal voltage-clamp, venne ideato da Erwin Neher e Bert Sakmann nel 1976 e permise, invece, di calcolare le singole correnti associate a ciascuno dei tre canali ionici (Na^+ , K^+ e Cl^-) attraverso l’isolamento, tramite pipette molto sottili, di frazioni infinitesimali di area sulla membrana del neurone.

6.2 Limiti del modello

Nelle simulazioni svolte si è dimostrato come il modello di Hodgkin-Huxley riesca a riprodurre in maniera fedele gli andamenti ricavati sperimentalmente attraverso gli esperimenti di voltage-clamp e patch-clamp più volte citati. Tuttavia tale modello presenta anche dei limiti, i quali però non costituiscono un impedimento al suo utilizzo:

1. Il modello è stato ricavato considerando una semplificazione particolare, ovvero non si tiene conto del coefficiente dielettrico della membrana. Non esiste, però, un metodo semplice per poter stimare l’errore introdotto applicando tale semplificazione, che dovrebbe comunque assumere valori abbastanza ridotti.
2. L’andamento delle conduttanze presenta un ritardo iniziale che non si verifica invece nella fisiologia. Infatti sia la conduttanza del sodio sia quella del potassio aumentano e diminuiscono il proprio valore con un ritardo apprezzabile.
3. A causa del ritardo che si manifesta negli andamenti delle conduttanze, anche le correnti presentano andamenti ritardati rispetto ai valori reali.

Nel corso degli anni si è spesso sentita la necessità di spiegare meglio alcuni comportamenti della membrana neuronale, nonostante il modello di Hodgkin-Huxley costituisca una buona approssimazione dei vari meccanismi che la interessano. Questo ha contribuito alla fioritura di nuovi modelli per la membrana neurale, i quali si limitano ad apportare modifiche e correzioni al modello di Hodgkin-Huxley in merito ai particolari aspetti considerati. A titolo di esempio si ricorda il modello di Patlak, il quale nasce dall’esigenza di una comprensione più profonda della cinetica dei canali del sodio. Infatti il modello di Hodgkin-Huxley non fornisce una descrizione esaustiva dei processi che regolano il comportamento dei canali ionici in quanto considera i fenomeni di attivazione e inattivazione come tra loro indipendenti.

Bibliografia

- [1] Hodgkin A.L., Huxley A.F., Katz B. (1952). *Measurement of Current-Voltage relations in the Membrane of the Giant Axon of Loligo*, J Physiol 116, 449–472.
- [2] Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1952). *Currents Carried By Sodium and Potassium Ions Through the Membrane of the Giant Axon of Loligo*, J Physiol 116, 449–472.
- [3] Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1952). *The Components of Membrane Conductance in Giant Axon of Loligo*, J Physiol 116, 473–496.
- [4] Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1952). *The Dual Effect of Membrane Potential on Sodium Conductance in the Giant Axon of Loligo*, J Physiol 116, 497–506.
- [5] Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1952). *A Quantitative Description of Membrane Current and Its Application to Conduction and Excitation in Nerve*, J Physiol 117, 500–544.
- [6] Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessell T. M. (1981). *Principles of Neural Science* 4th ed. McGraw Hill, New York, 2000. (trad. it. *Principidi di Neuroscienze*, Milano, Casa Editrice Ambrosiana, 2003).