

Corso di Fisiologia

(Basi morfologiche molecolari e funzionali del corpo umano)

Lezione 2

3 dicembre 2024

1) Potenziale di membra

Corso di Fisiologia

(Basi morfologiche molecolari e funzionali del corpo umano)

Dove: Porto Vecchio (V.le Miramare, 24/2) - Magazzino 28
Trieste Convention Center - Aula Margherita Hack

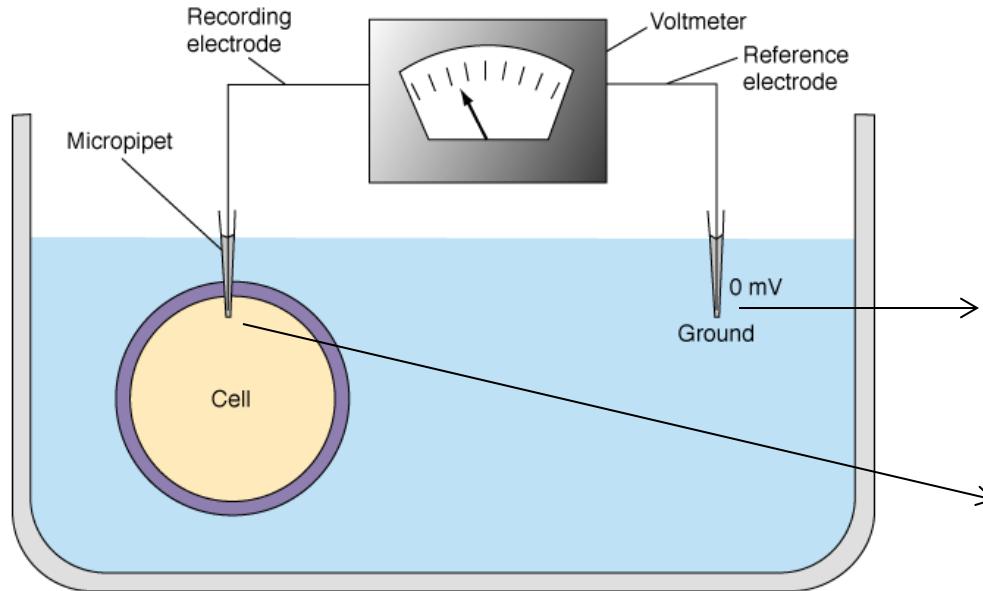
Quando:

Lunedì 25/11	8:30 - 12:30
Martedì 3/12	8:30 - 12:30
Venerdì 6/12	8:30 - 12:30
Lunedì 9/12	8:30 - 12:30 (Cattinara)
Mercoledì 11/12	8:30 - 12:30 (Cattinara)
Lunedì 16/12	8:30 - 12:30 Test di prova

- La membrana plasmatica: struttura e caratteristiche.
- Permeabilità e trasporto di sostanze attraverso la membrana: trasportatori e canali ionici.
- **Il potenziale di membrana a riposo.**
- I potenziali graduati.
- Il potenziale d'azione e sua conduzione.

Potenziale di membrana di riposo

Come misurare il potenziale di riposo della membrane (V_m)



Utilizzando un voltmetro possiamo misurare il V_m , che è la differenza di cariche elettriche tra due punti: l'elettrodo di riferimento è posto nella soluzione extracellulare a cui è assegnata una carica di 0 mV mentre la micropipetta di vetro è inserita attraverso la membrana nella cellula

V_m varia da tipo di cellula a tipo di cellula, ma è **negativa** e va da -45 a -90 mV

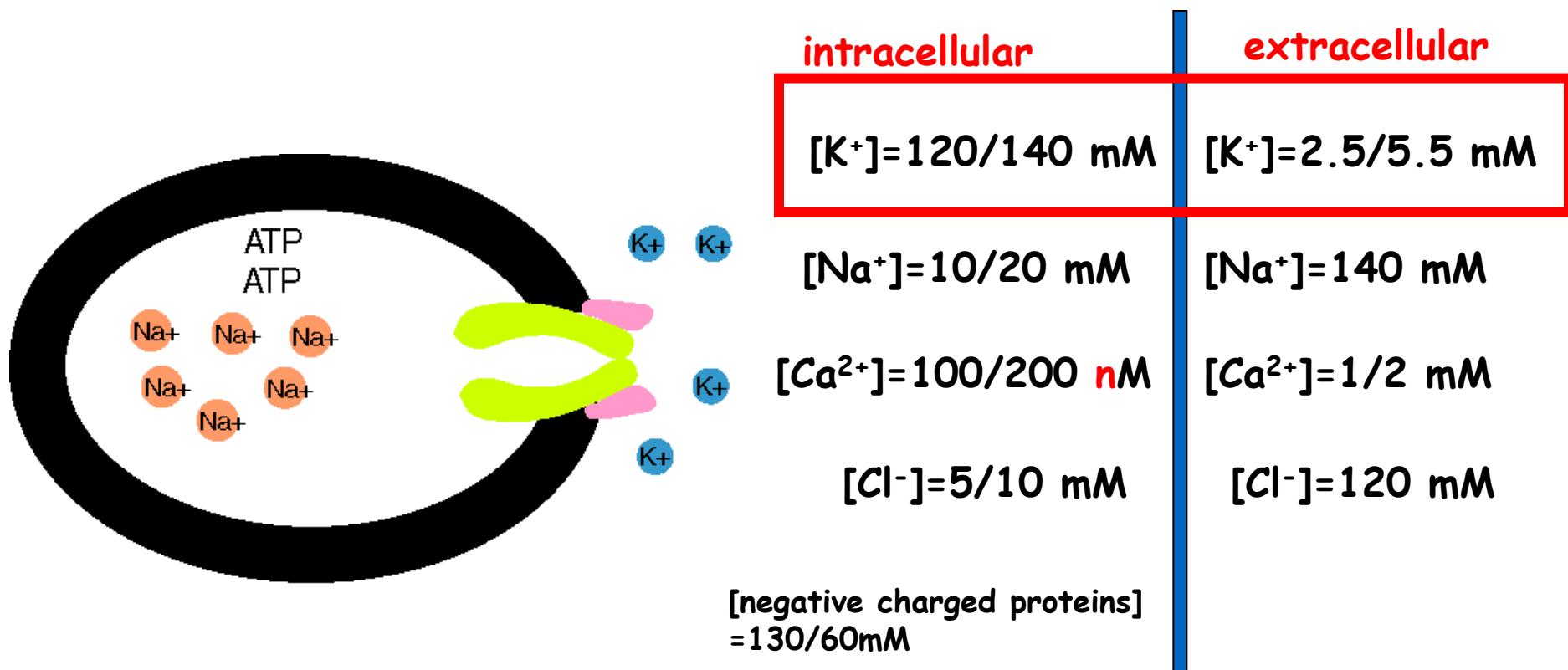
Per capire perché le cellule hanno un potenziale di membrana e perché questo è negativo dobbiamo concentrare la nostra attenzione sulla pompa Na^+/K^+ ATPasi e sui canali K^+ passivi

Potenziale di membrana di riposo

Alla base della V_m negativa ci sono:

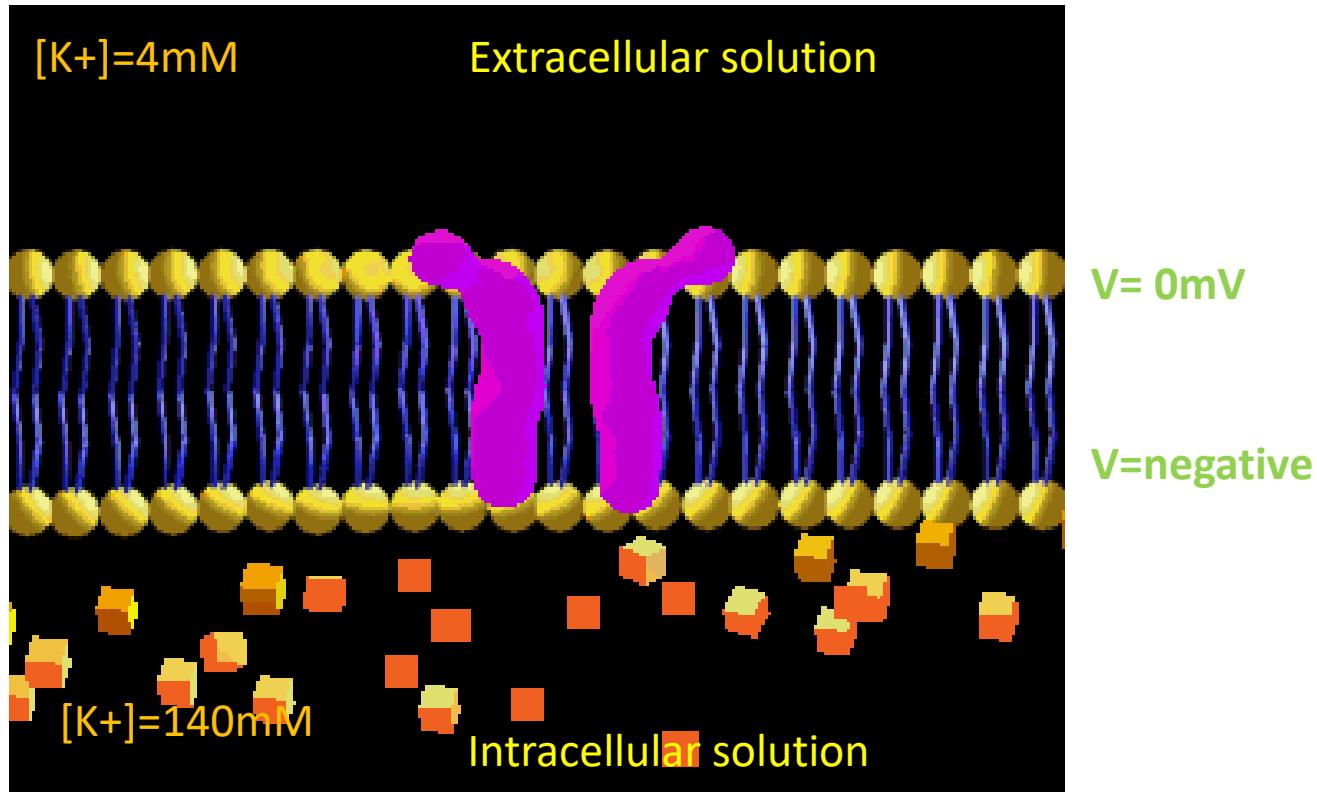
- 1) il gradiente ionico Na^+/K^+ , generato dalla pompa Na^+/K^+ ATPasi
- 2) l'alta densità di canali passivi (sempre aperti) per il K^+

La pompa Na^+/K^+ ATPasi mantiene le concentrazioni di Na^+ e K^+ diverse tra interno e esterno della cellula. Ogni ciclo di cambiamento conformazionale muove 2 K^+ all'interno e 3 Na^+ all'esterno (effetto netto eletrogenico) → Contributo diretto piccolo (<10 mV) a V_m



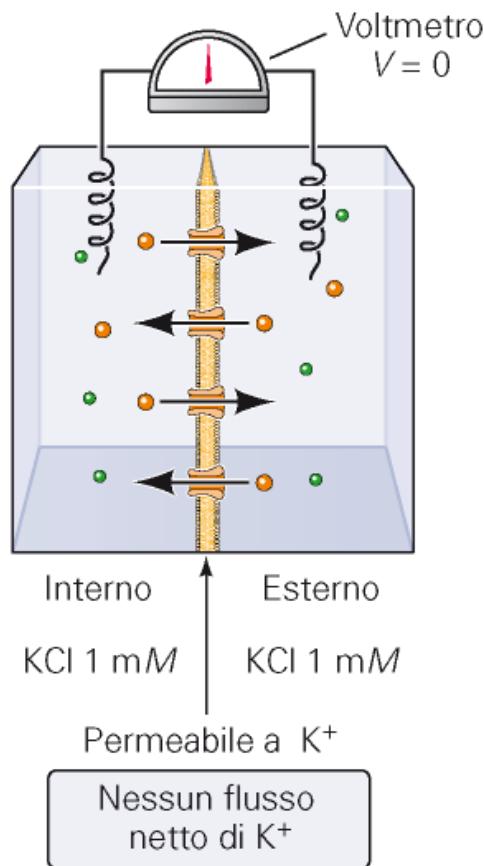
Alla base della V_m negativa ci sono:

- 1) il gradiente ionico Na^+/K^+ generato dalla pompa Na^+/K^+ ATPasi
- 2) l'alta densità di canali passivi per il K^+

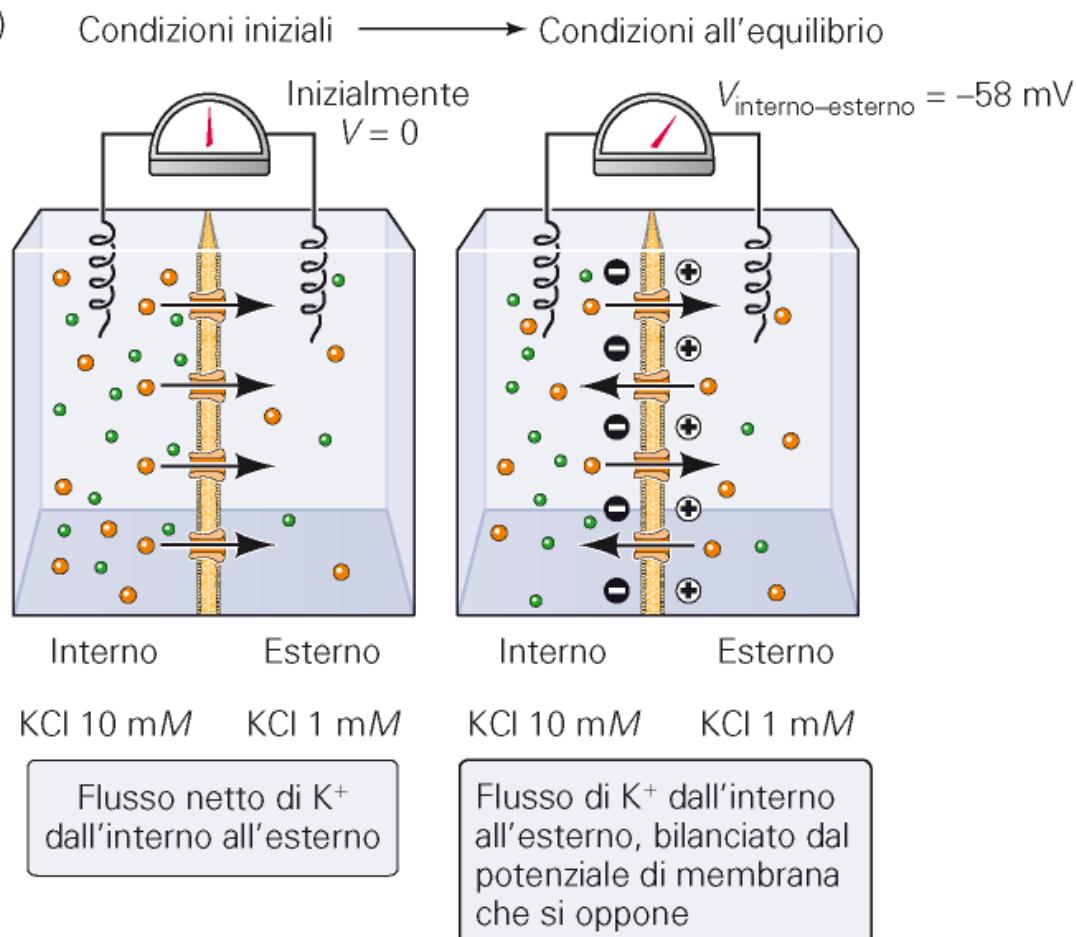


Come una permeabilità selettiva al K^+ genera il potenziale di riposo della membrana

(A)

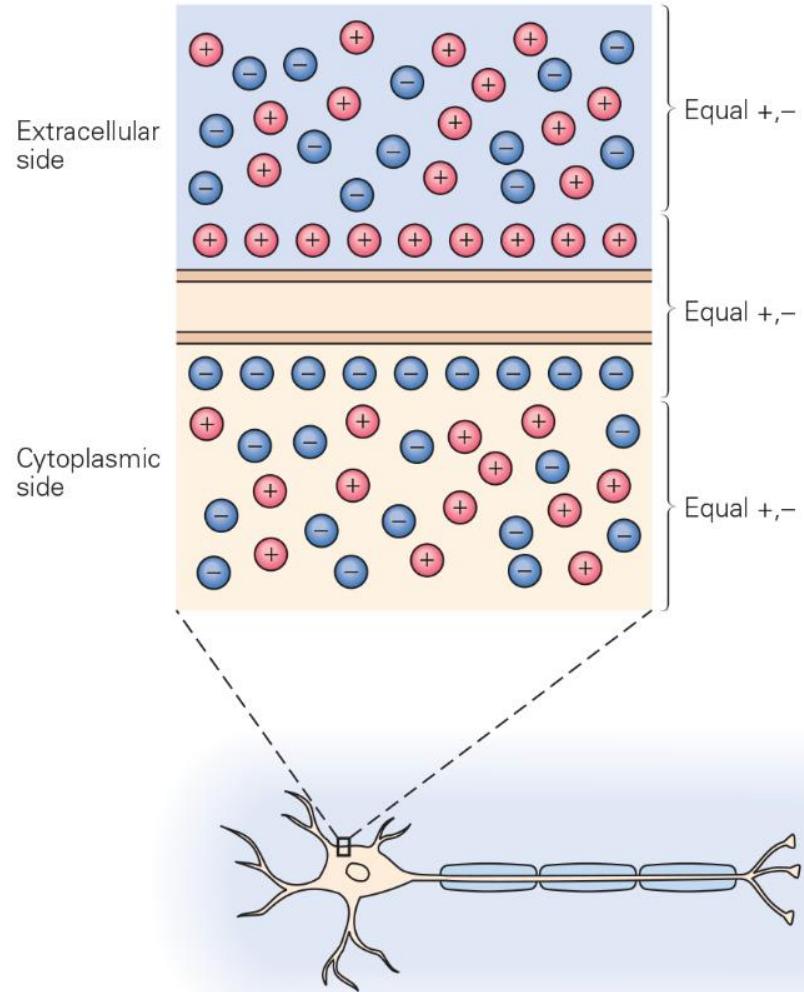


(B)



Equilibrio elettrochimico

L'eccesso di ioni positivi sul lato extracellulare e di ioni negativi sul lato intracellulare è una piccola frazione del numero totale di ioni



The Nernst equation

Nel 1888 lo scienziato tedesco Walter Nernst formulò l'equazione che permette di calcolare il potenziale al quale uno ione differenzialmente distribuito tra i due lati della membrana raggiunge l'equilibrio.

All'equilibrio:

gradiente di concentrazione = gradiente elettrico



$$V_{\text{eq. ione}} = \frac{58 \text{ mV}}{Z} \log_{10} \frac{[I]_{\text{out}}}{[I]_{\text{in}}}$$

Il valore +58 mV è dato dalla temperatura (in questo caso temperatura ambiente = 25 °C)

EQUAZIONE DI NERNST

Valida per qualsiasi ione!

Z = carica elettrica di uno ione: ad es: per K⁺ e Na⁺ Z = +1; per Ca²⁺ = +2; per Cl⁻ Z = -1

Ione positivo (Z positive, ad es. K⁺ Na⁺ o Ca²⁺): atomo che ha perso un elettrone)

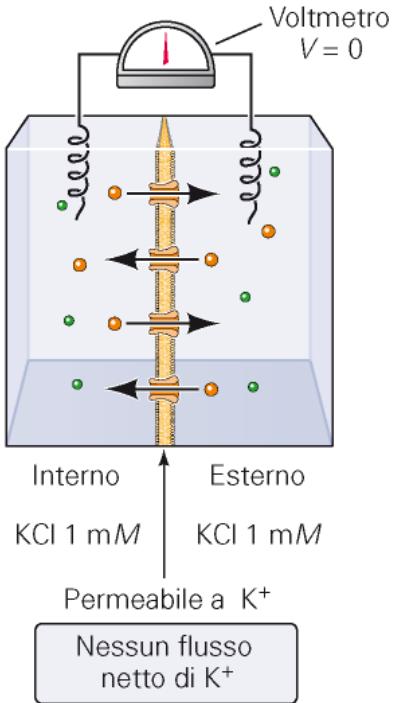
Ione negativo (Z negativo, ad es. Cl⁻): atomo che ha preso un elettrone

[I]_{out}= concentrazione dello ione fuori dalla cellula

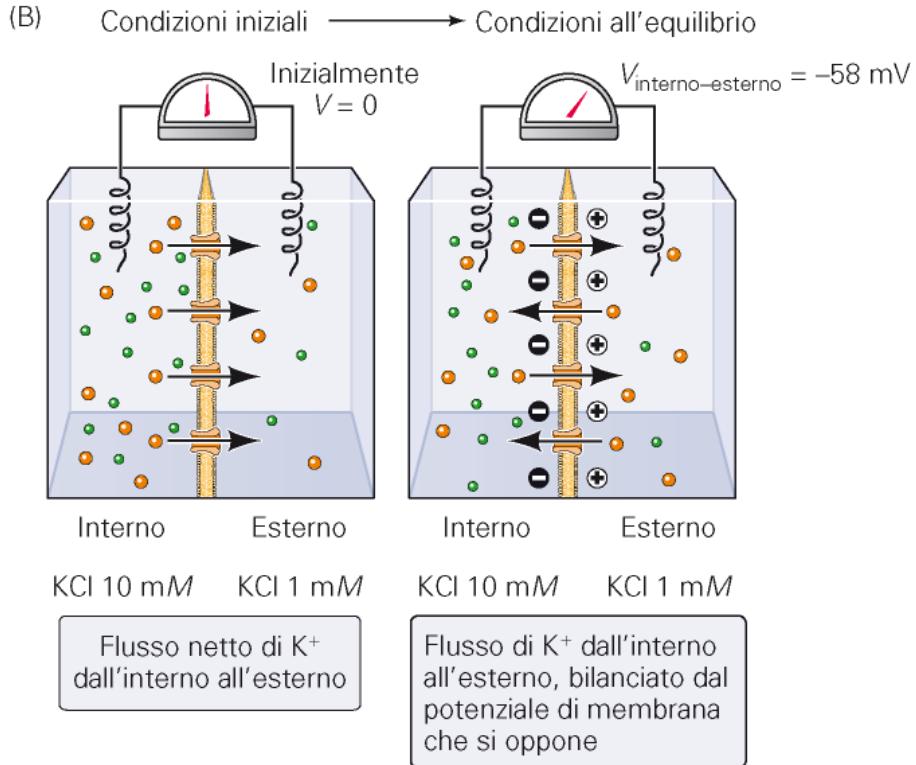
[I]_{in}= concentrazione dello ione dentro la cellula

The Nernst equation

(A)



(B)



$$V_M = \frac{58 \text{ mV}}{z} \log_{10} \frac{[X]_{\text{out}}}{[X]_{\text{in}}}$$

$$V_M = \frac{58 \text{ mV}}{1} \log_{10} \frac{1}{10}$$

$$V_M = 58 \text{ mV} * (-1) = -58 \text{ mV}$$

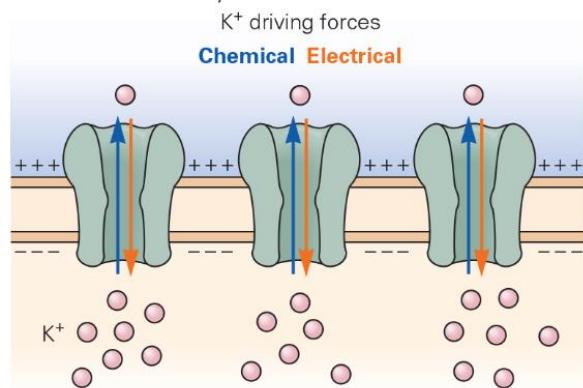
Problema tipo

Calcolate il potenziale di equilibrio per una cellula a 25°C la cui membrana è permeabile solo al Cl^- , se $[\text{Cl}^-]_{\text{in}} = 1 \text{ mM}$ e $[\text{Cl}^-]_{\text{out}} = 100 \text{ mM}$.

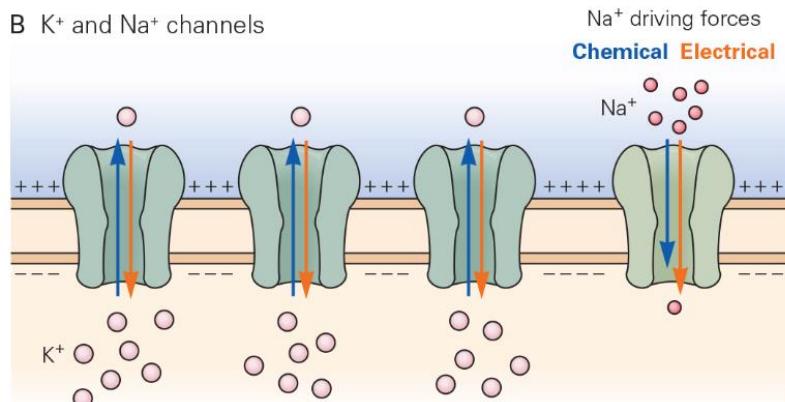
**Nei neuroni è (leggermente) più
complicato**

V_m in neurons

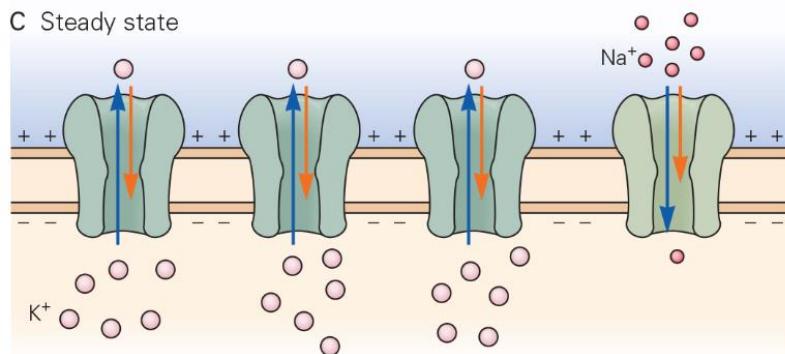
A K^+ channels only



B K^+ and Na^+ channels



C Steady state



$$E_K = 58 \text{ mV} * \log_{10} \frac{[K_O]}{[K_I]}$$

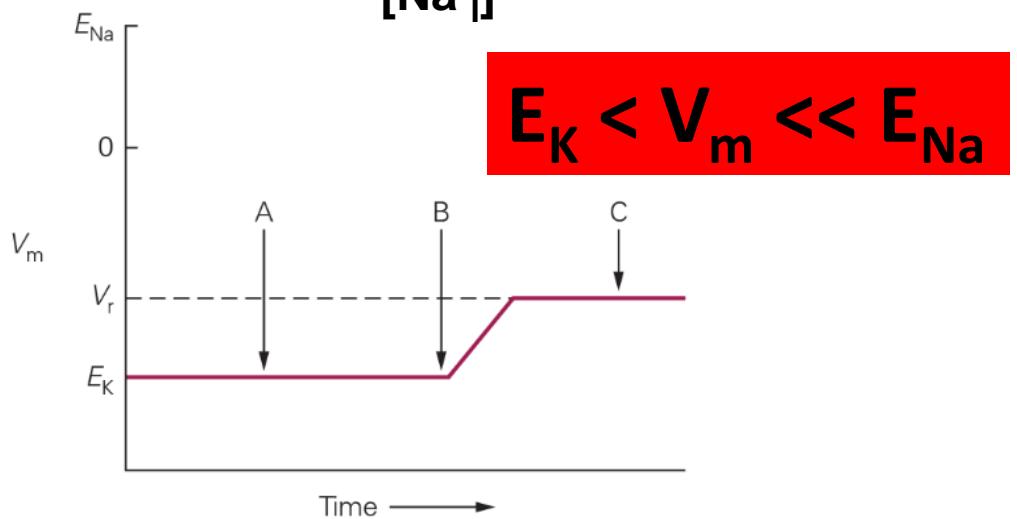
$K_O = 4.5 \text{ mM}$
 $K_I = 140 \text{ mM}$

$$V_m = E_K = -87 \text{ mV}$$

$$E_{Na} = 58 \text{ mV} * \log_{10} \frac{[Na_O]}{[Na_I]}$$

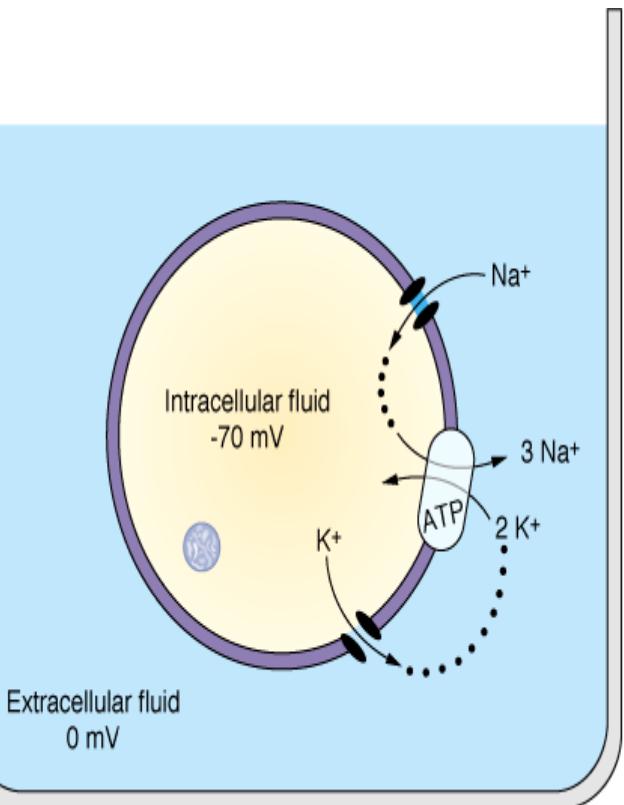
$Na_O = 140 \text{ mM}$
 $Na_I = 14 \text{ mM}$

$$E_{Na} = +58 \text{ mV}$$



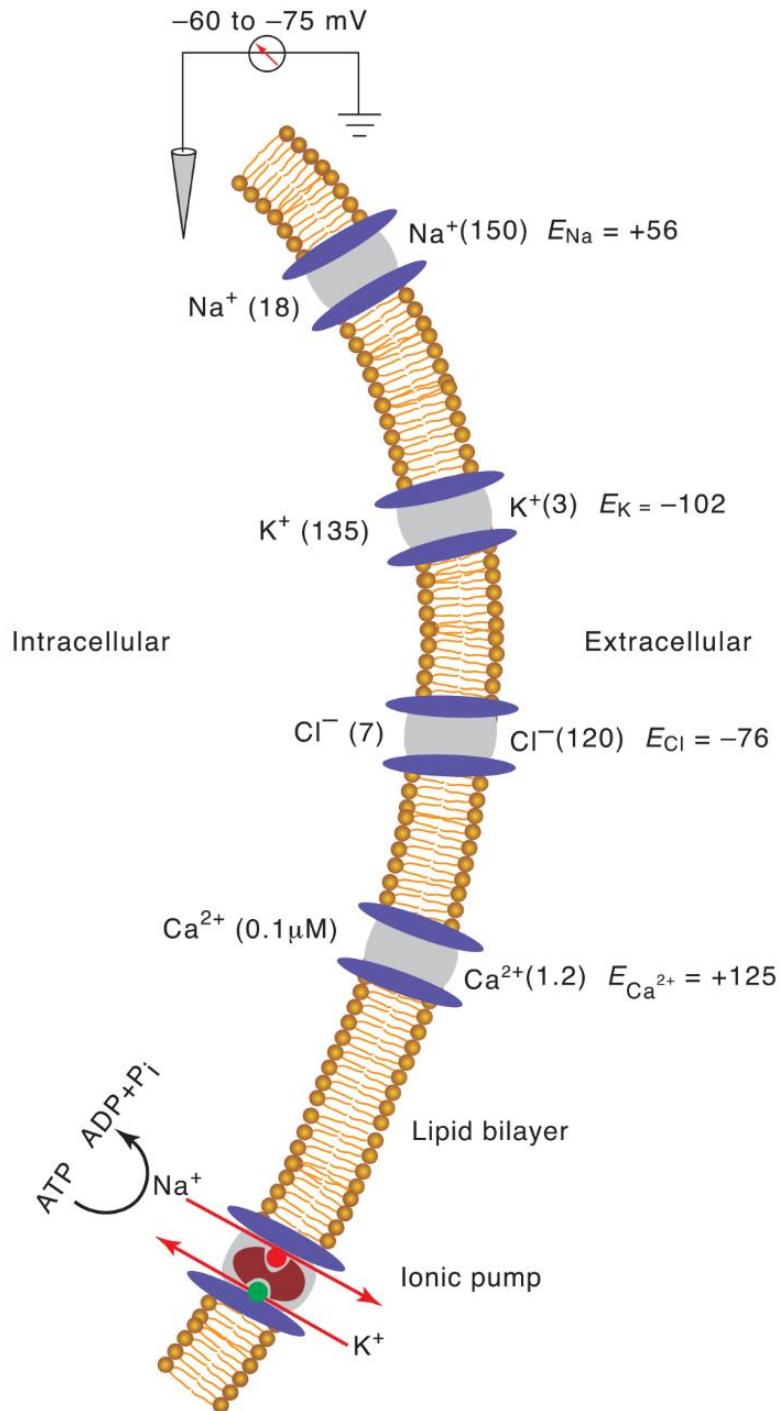
Il potenziale di membrana a riposo dei neuroni non è = E_{K^+} ma è lievemente più positivo di E_{K^+}

- L'ATPasi Na⁺/K⁺ mantiene costante la forza motrice elettrochimica
- I neuroni sono passivamente permeabili a K⁺ e Na⁺. Tuttavia, la conduttanza passiva al K⁺ è 20/40 volte superiore a quella per il Na⁺. Di conseguenza il potenziale di membrana a riposo è molto più vicino a E_K che a E_{Na}
- $E_K = -87 \text{ mV}$; $E_{Na} = +58 \text{ mV} \rightarrow V_m = \sim -70 \text{ mV}$. Il V_m è un po' più positivo di E_K perché una piccola quantità di Na⁺ penetra nella cella.



In generale il potenziale di membrana (V_m) sarà determinato dal flusso di vari ioni con un contributo relativo che dipende dalla loro permeabilità.

Gli ioni con alta permeabilità (ad esempio K^+) contribuiscono maggiormente al potenziale di membrana: il potenziale di membrana è più vicino al potenziale di equilibrio dello ione più permeabile)

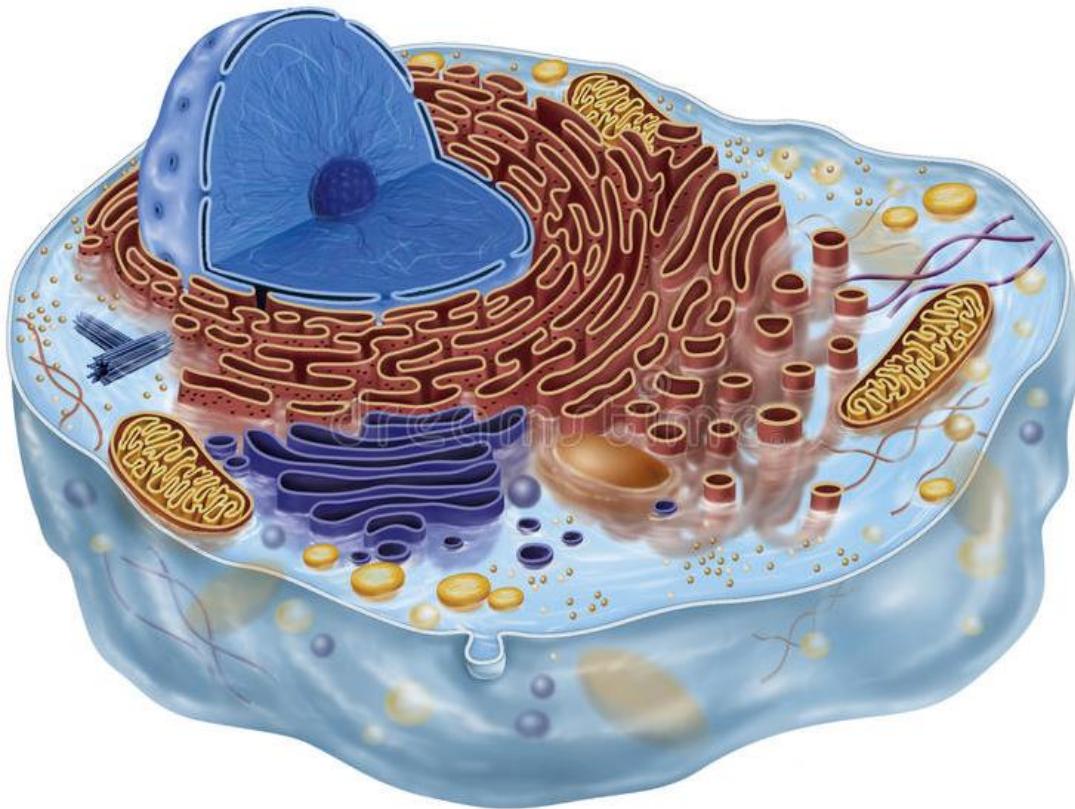


Conclusioni - Potenziale di membrane (V_m)

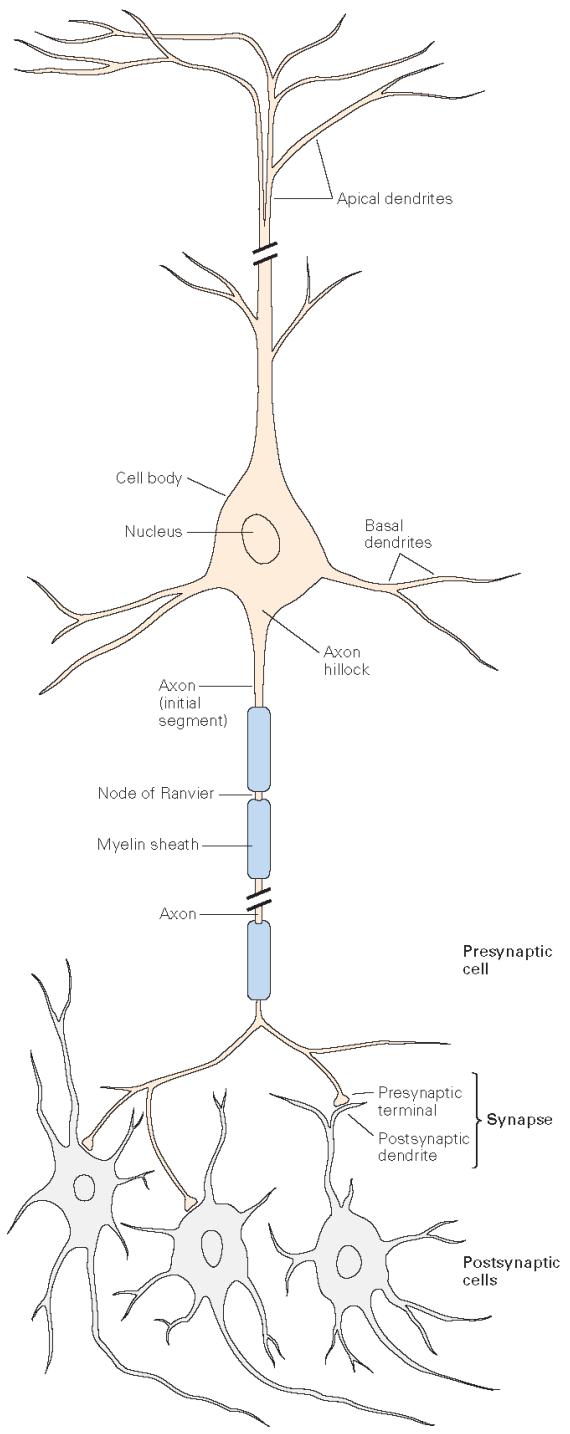
1. In tutte le cellule V_m è sempre **negativo** (all'interno verso l'esterno; può variare da -45 a -90 mV)
2. Alla base di V_m ci sono:
 - a. il gradiente ionico Na⁺/K⁺, generato dalla **pompa Na⁺/K⁺ ATPasi**
 - b. l'alta densità di **canali passivi** (sempre aperti) per il K⁺
 - c. per i neuroni bisogna considerare anche **altri canali ionici** a più bassa densità → effetto netto **V_m** nella maggior parte dei neuroni = **-70 mV**
3. L'**equazione di Nernst** ci permette di calcolare il **potenziale di equilibrio di uno ione** (E_{ione}) note le sue concentrazioni intracellulare e extracellulare. Solo se la membrana è permeabile a un solo ione, allora $E_{ione} = V_m$

- La membrana plasmatica: struttura e caratteristiche.
- Permeabilità e trasporto di sostanze attraverso la membrana: trasportatori e canali ionici.
- Il potenziale di membrana a riposo.
- **I potenziali graduati.**
- Il potenziale d'azione e sua conduzione.

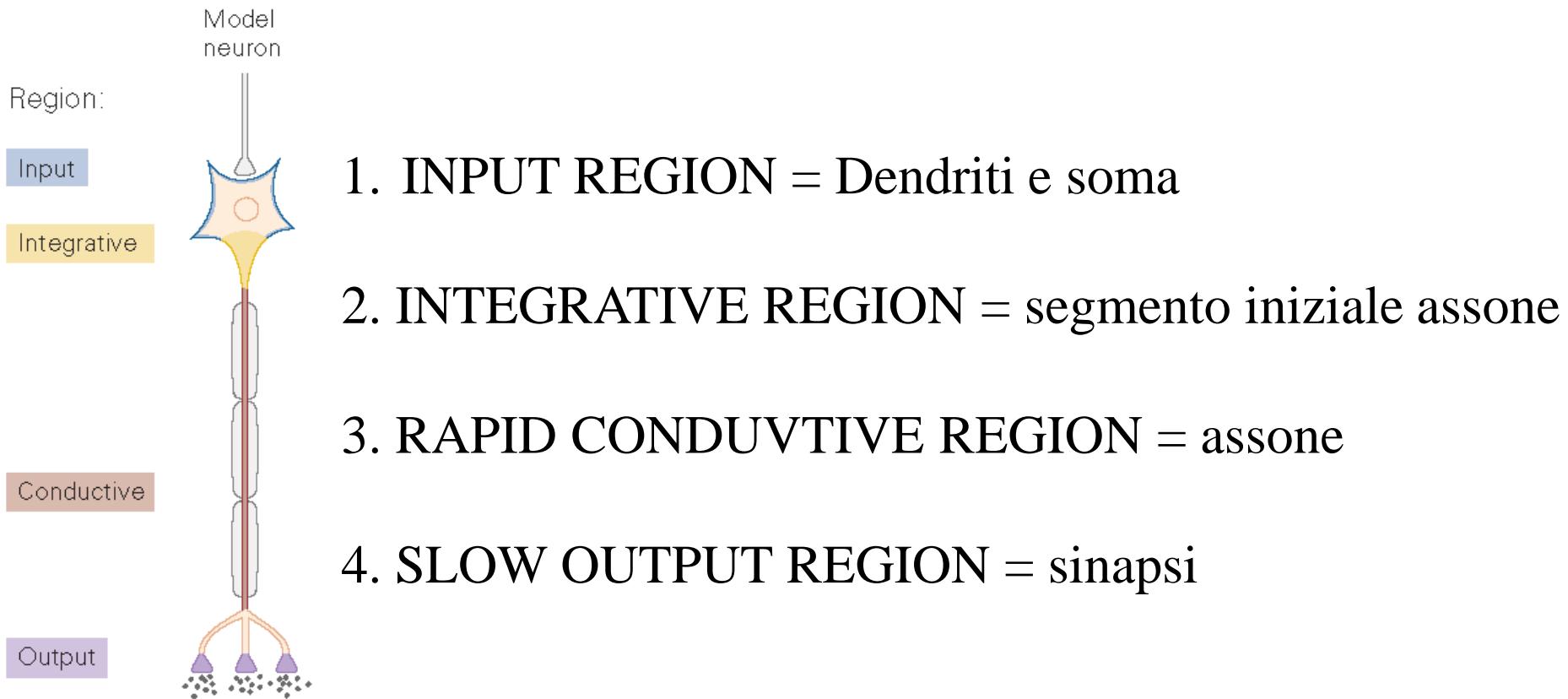
La cellula



**Il neurone è una cellula
specializzata nella ricezione,
conduzione e trasmissione di
segnali elettrici**



La maggior parte dei neuroni ha 4 regioni funzionali



Polarità funzionale

A microscopic image showing a dense network of neurons. The cell bodies (soma) are stained red, while the branching processes (dendrites and axons) are stained green. The background is black, making the red and green colors stand out.

QUAL'E' IL LINGUAGGIO
UTILIZZATO DAI NEURONI
PER COMUNICARE ?

IL LINGUAGGIO DEI NEURONI

"**IO SONO TRISTE**"

INGLESE

I'm sad

FRANCESE

je suis triste

TEDESCO

Ich bin traurig

RUSSO

я грустный

POLACCO

ja jestem smutnym

EBRAICO

אֲנִי עָצֹב

CAMUNO



MORSE

.....



11011111

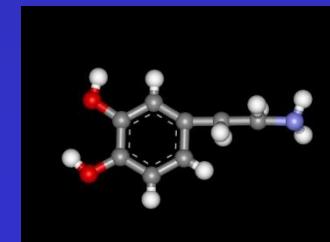
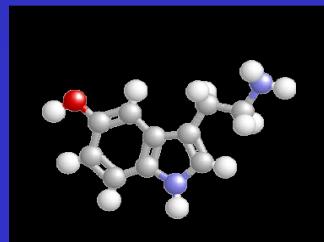
BINARIO

00100000



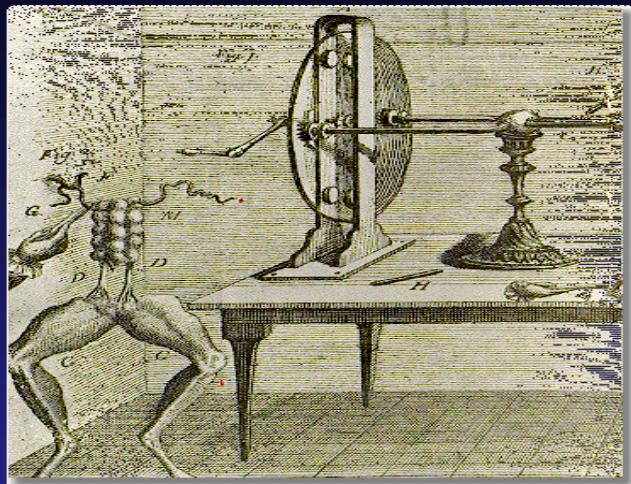
NEURONI

Linguaggio elettrico



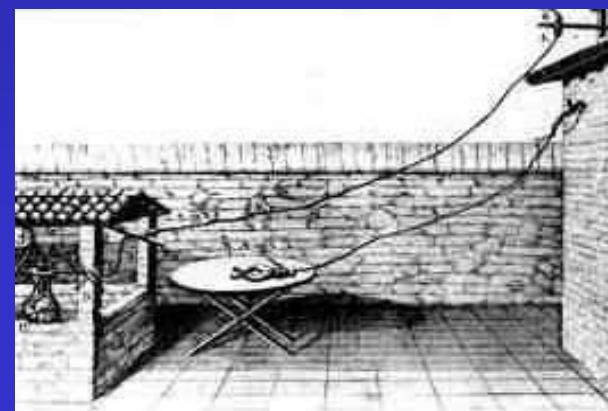
Linguaggio chimico

LUIGI GALVANI PER PRIMO DESCRISSE LA "BIOELETTRICITA' animale"

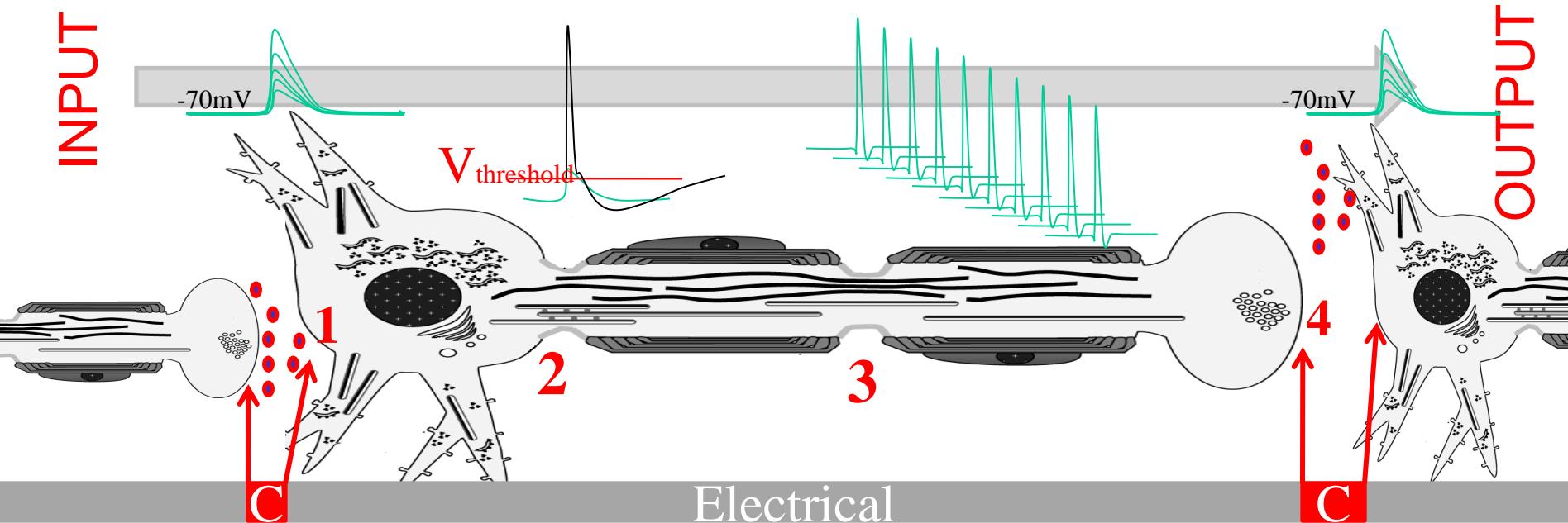


Più di duecento anni fa Luigi Galvani (1737-1798), lavorando all'Università di Bologna, scoprì che la conduzione nervosa e la contrazione muscolare sono fenomeni elettrici. Galvani pubblicò i suoi risultati nel 1791.

Il "rilevatore di scariche atmosferiche" di Galvani: mezza rana aveva i nervi crurali connessi a un parafulmine e i muscoli connessi all'acqua del pozzo. Tale sistema era in grado di rilevare le onde elettromagnetiche emesse dai fulmini.



INPUT



Digital signal

Analog signal

Digital signal

Analog

Dig

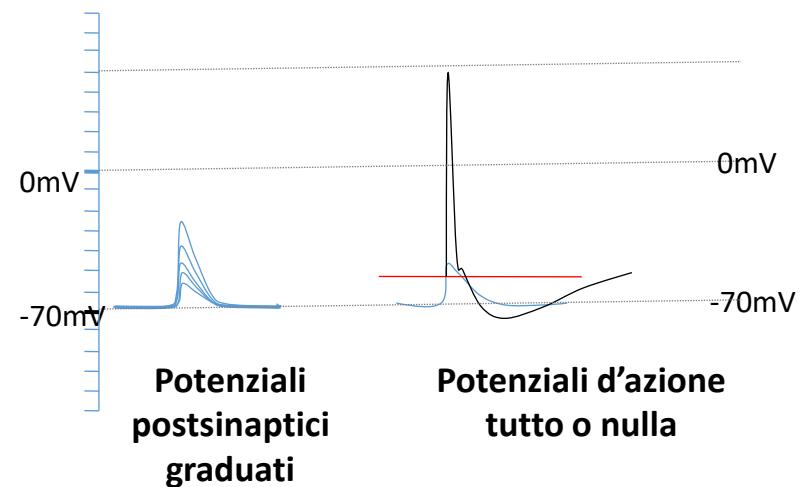
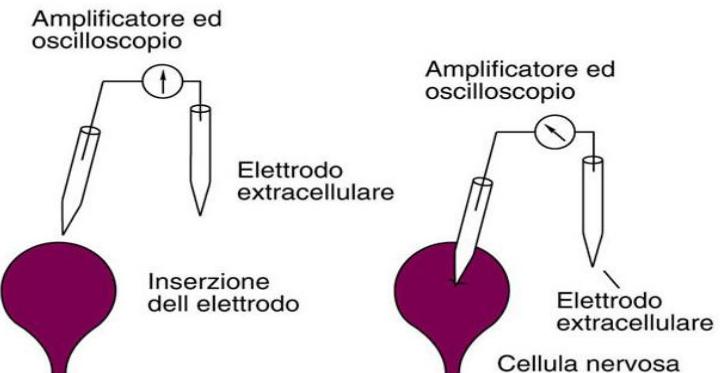
- 1. INPUT AREA:** trasduzione di segnali chimici (=neurotrasmettitori) in segnali elettrici analogici (=graduati) detti **potenziali postsinaptici**
- 2. INTEGRATIVE AREA:** segnali elettrici graduati si propagano fino al segmento iniziale dell'assone dove SI PUO' generare un segnale elettrico digitale (=tutto o nulla) detto **potenziale d'azione** (PA)
- 3. RAPID TRANSFER:** PA si propaga rapidamente lungo l'assone
- 4. SLOW TRANSFER:** trasduzione del segnale da elettrico (PA) a chimico

Che cosa intendiamo per segnale elettrico?

Una variazione del potenziale di membrana dal suo valore di riposo (-70 mV) ad altro valore è un segnale elettrico

Alla base della capacità delle cellule di generare segnali elettrici c'è l'attivazione dei canali ionici

Tipici segnali elettrici
osservabili in un neurone



Segnale elettrico - Concetti chiave

- Il **potenziale di membrana** (V_m) è una differenza di potenziale elettrico tra l'int./est. della membrana cell. dovuto alla **eterogenea distribuzione degli ioni/cariche tra i liq. intra e extracell.**
- Un segnale elettrico è una variazione di V_m
- Tutte le cellule possono andare incontro a variazioni del proprio V_m in risposta a vari stimoli spesso chimici ma anche meccanici o termici
- Solo alcune cell. sono definite **eccitabili** (**neuroni, muscolo, alcune cell. endocrine** ad es. cell β del pancreas endocrino e **cell. cromaffini** delle midollare del surrene) perchè in grado di generare **potenziali d'azione (PA)**; improvvisa rapida inversione del V_m)

Intracellular

$$[K^+] = 120/140 \text{ mM}$$

$$[Cl^-] = 5/10 \text{ mM}$$

$$[Na^+] = 10/20 \text{ mM}$$

$$[Ca^{2+}] = 200 \text{ nM}$$

Extracellular

$$[K^+] = 2.5/5.5 \text{ mM}$$

$$[Cl^-] = 120 \text{ mM}$$

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

$$[Ca^{2+}] = 1/2 \text{ mM}$$

Una volta aperti i canali ionici 'spingono' V_m verso il potenziale d'equilibrio dello ione a cui sono permeabili (secondo l'equazione di Nernst).

$$E_{K^+} = -87 \text{ mV}$$

$$E_{Cl^-} = -70 \text{ mV}$$

$$E_{Na^+} = +58 \text{ mV}$$

$$E_{Ca^{2+}} = +107 \text{ mV}$$

Correnti inibitorie

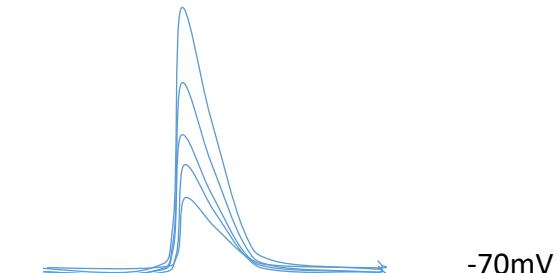
Correnti eccitatorie

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} : P_{Ca} = 1 : 1 : 0.45 : 0.5$$

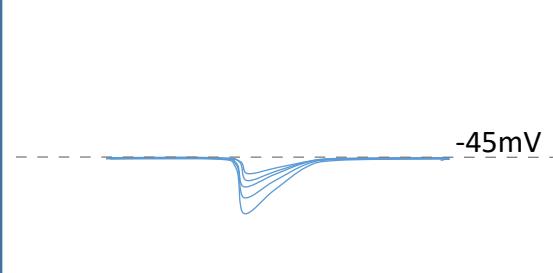
$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0.04 : 10$$

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 20/40 : 0.45$$

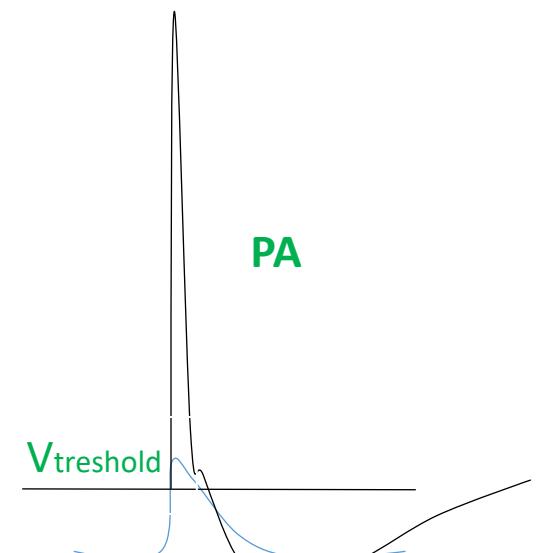
EPSP (glut; Ach)



IPSP (GABA; Gly)



PA



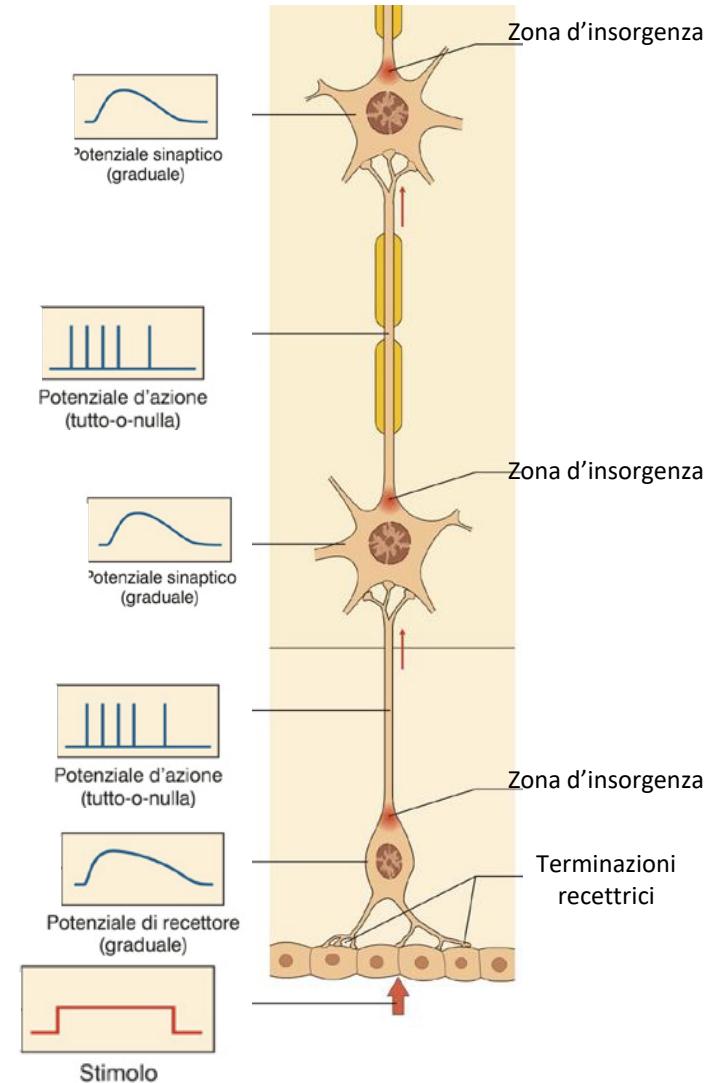
Potenziali graduati e Potenziali d'azione.

I segnali elettrici generati sono di due tipi:

POTENZIALI GRADUATI: possono essere **modulati in ampiezza**, agiscono a breve distanza, poiché **decrescono allontanandosi dal punto di genesi**.

POTENZIALE D'AZIONE: fenomeno **non graduabile** in ampiezza, ma solo in **frequenza**, si propaga a **distanza senza decremento**.

Trasferimento dell'informazione rapida e su lunghe distanze.



Potenziali graduati (PG).

Piccole modificazioni del V_m che si hanno quando i canali ionici si aprono (o si chiudono) per:

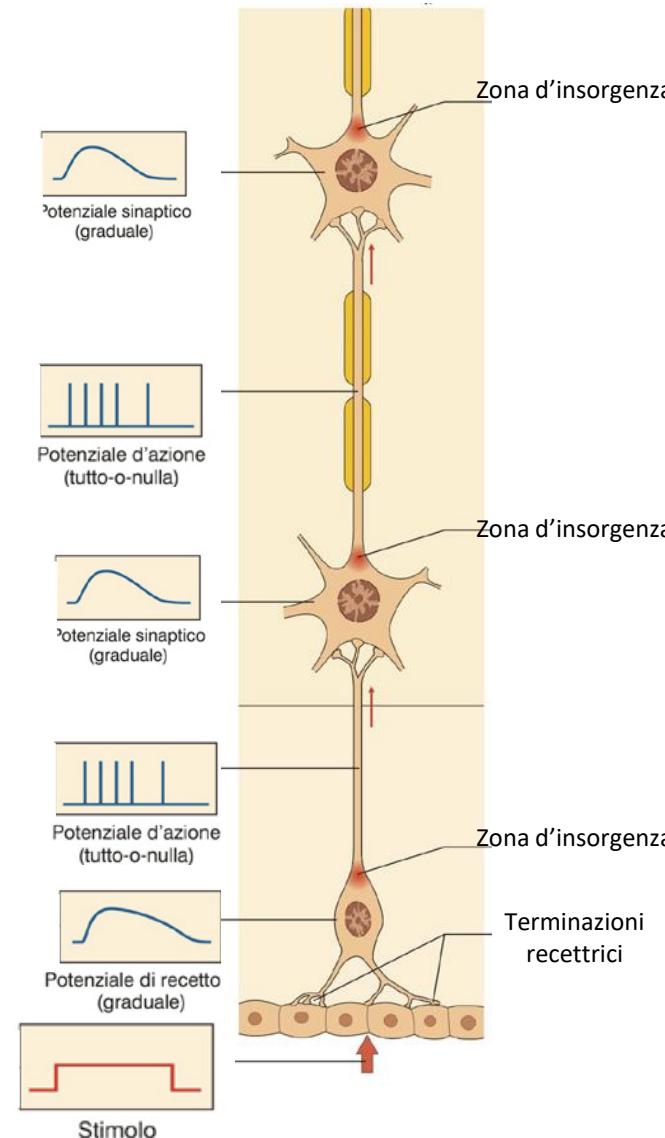
- a. Uno **stimolo sensoriale**
- b. Legame tra **Neurotrasmettore-Recettore**

La variazione di potenziale è in funzione dell'ampiezza dello stimolo.

Il potenziale graduato decresce all'allontanarsi dal sito di stimolazione.

FUNZIONE: determinare se un neurone genererà o meno potenziali d'azione.

Questo dipende dalla grandezza **del PG**



I potenziali postsinaptici sono integrati da un neurone per generare un potenziale d'azione

Un neurone riceve comunicazioni da centinaia o migliaia di neuroni; su di esso si genera pertanto una convergenza di input

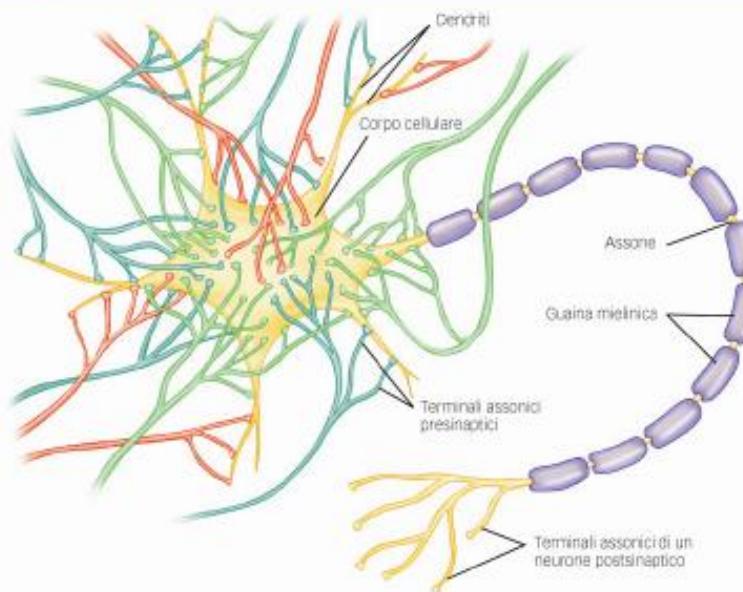


Figura 9.7 Il fenomeno della convergenza. Molte cellule presinaptiche formano sinapsi su un'unica cellula postsinaptica. La maggioranza delle sinapsi si stabilisce a livello del corpo cellulare e dei dendriti.

In media un neurone riceve 10000 sinapsi. Ogni sinapsi può generare un potenziale graduato

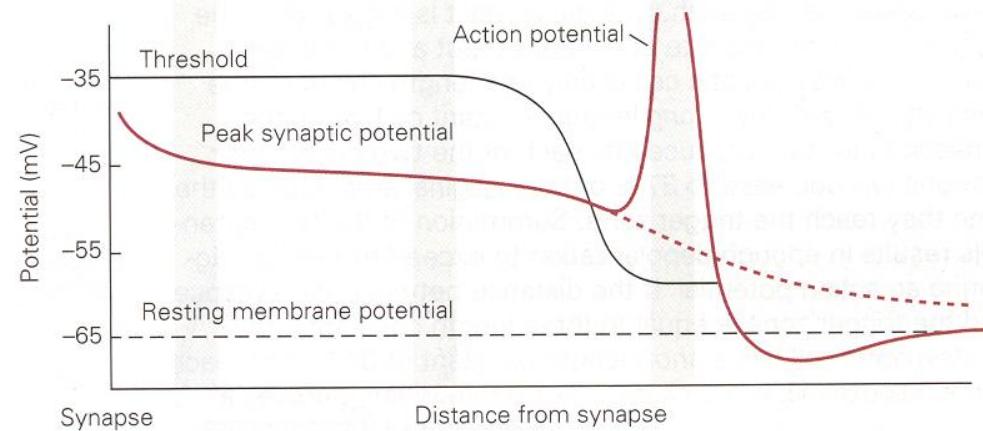
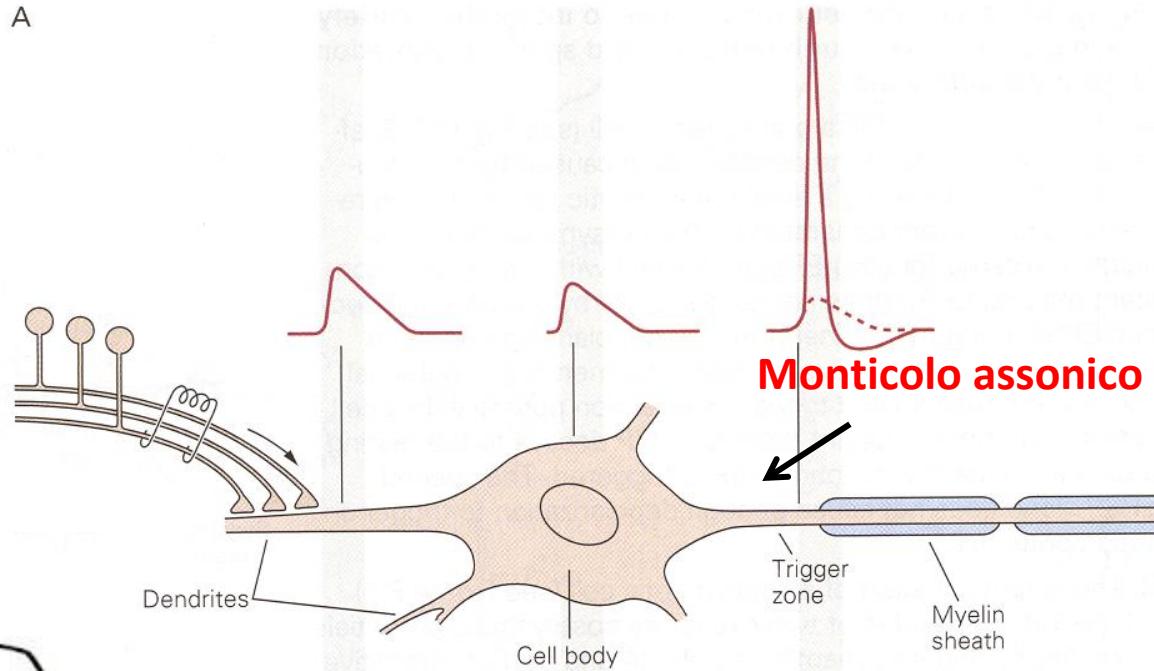
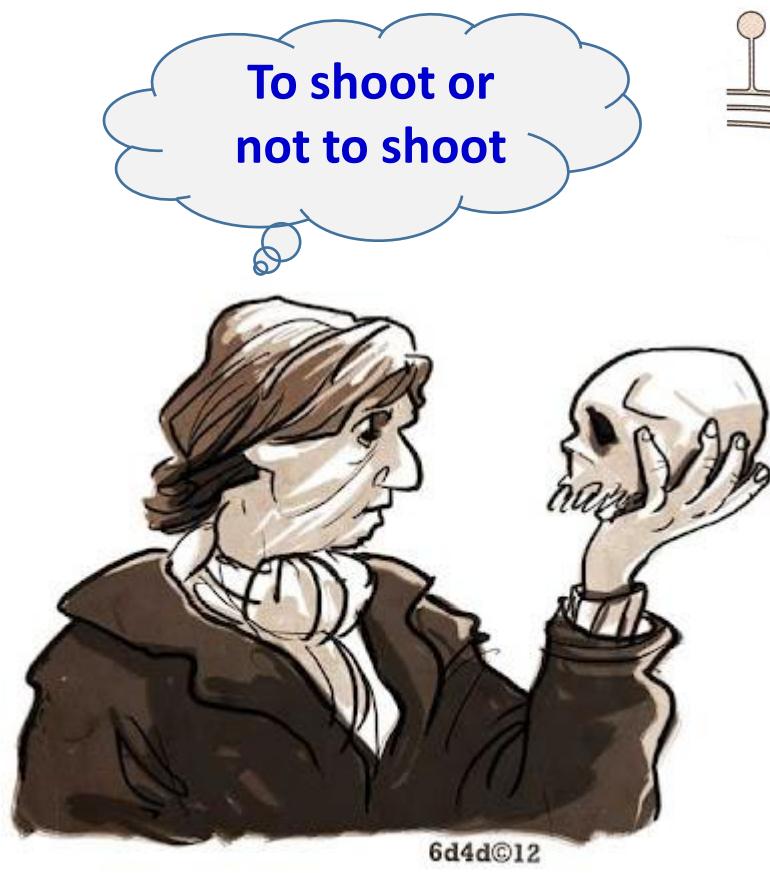


Germann, Stanfield
Fisiologia, II Ed.
EdiSES

L'integrazione sinaptica operata dal neurone fa sì che quando la sommazione dei potenziali postsinaptici eccitatori prevale su quelli inibitori ed è in grado di portare il potenziale di membrana del mонтicolo аssonale al valore soglia, nasce un potenziale d'azione.

Il monticolo assonico è generalmente il sito dove si genera il potenziale d'azione

A

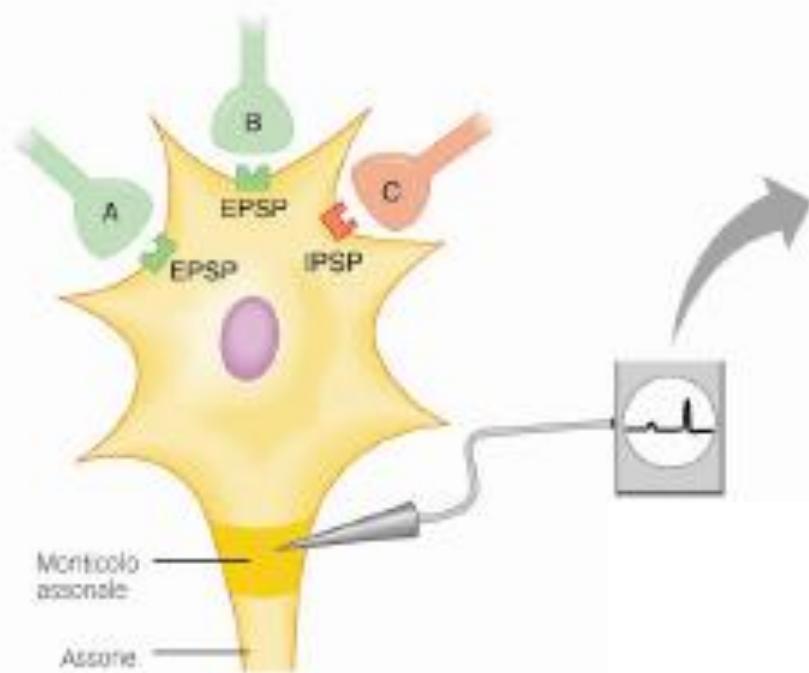


Integrazione sinaptica

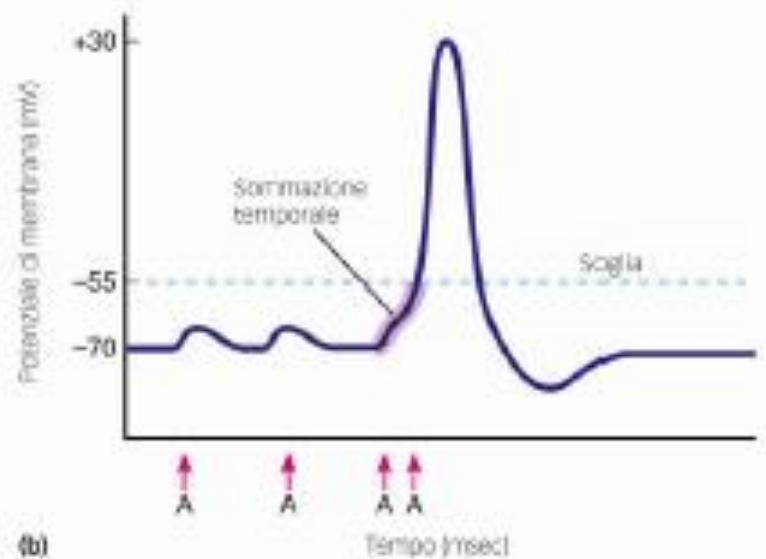
- a. Sommazione temporale**

- b. Sommazione spaziale**

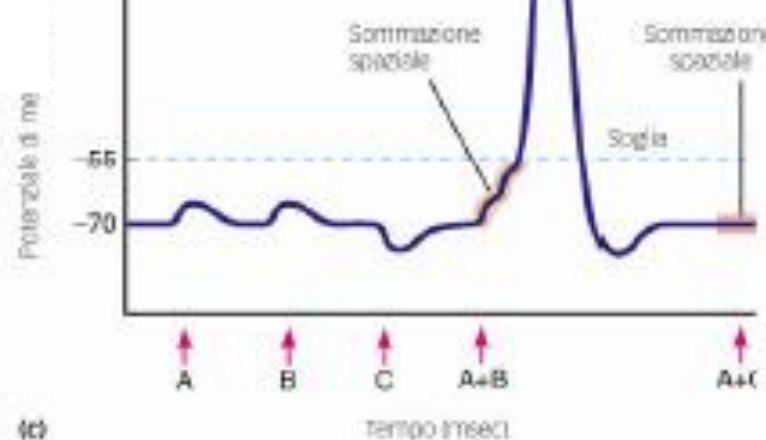
Sommazione temporale e spaziale dei potenziali graduati



(a)

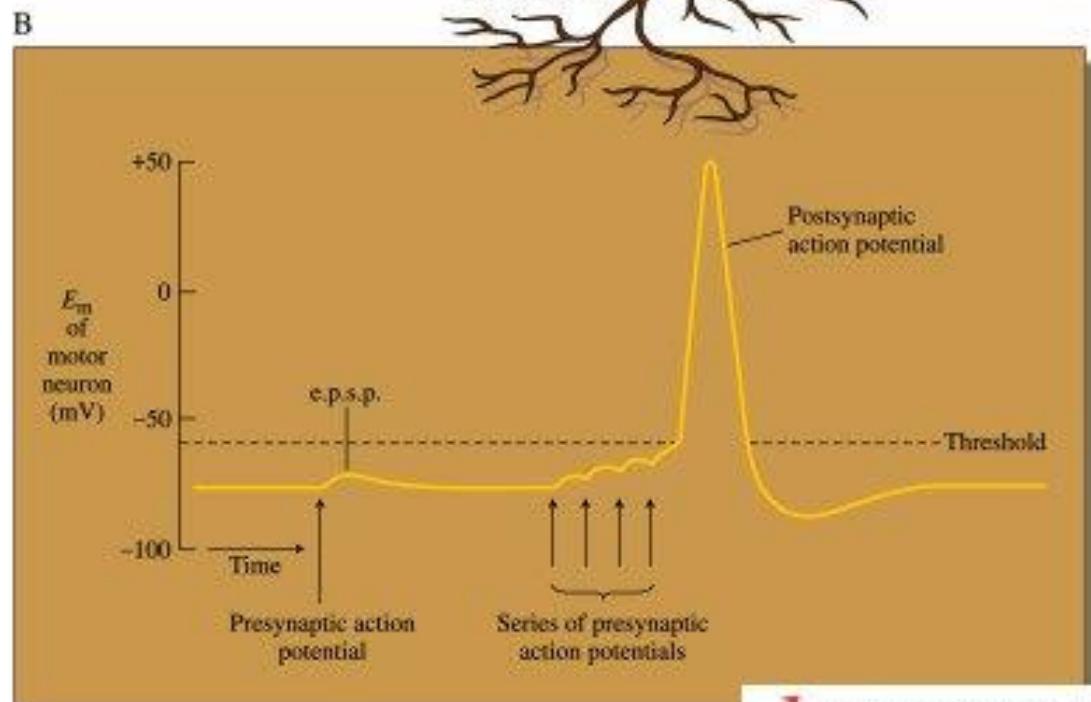
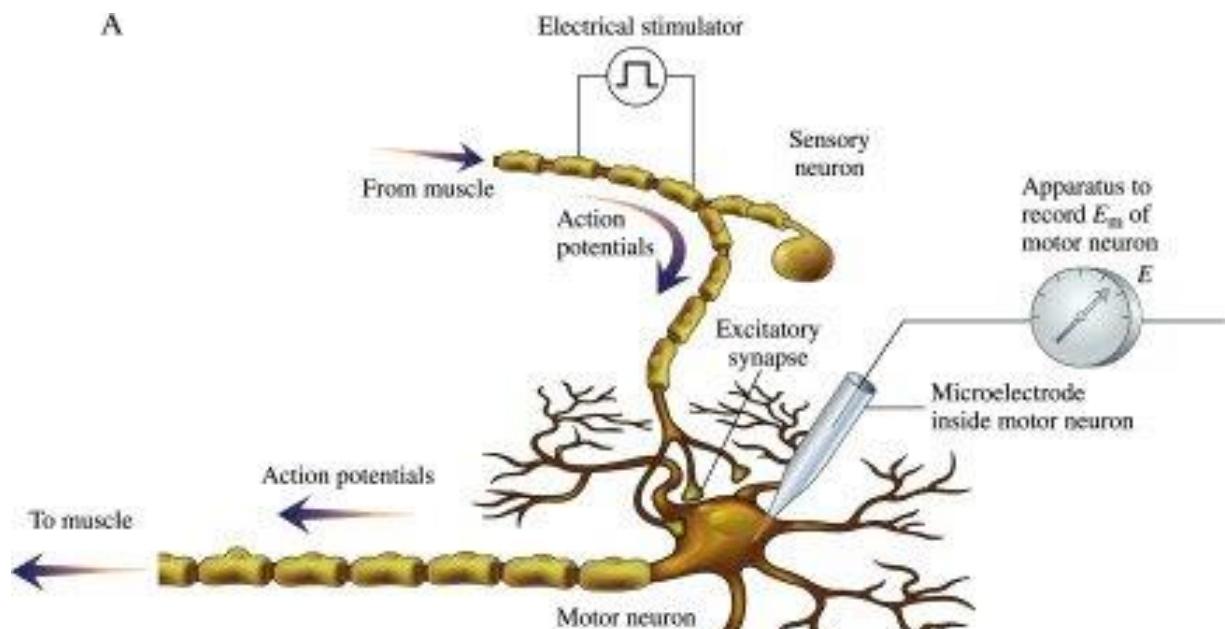


(b)



(c)

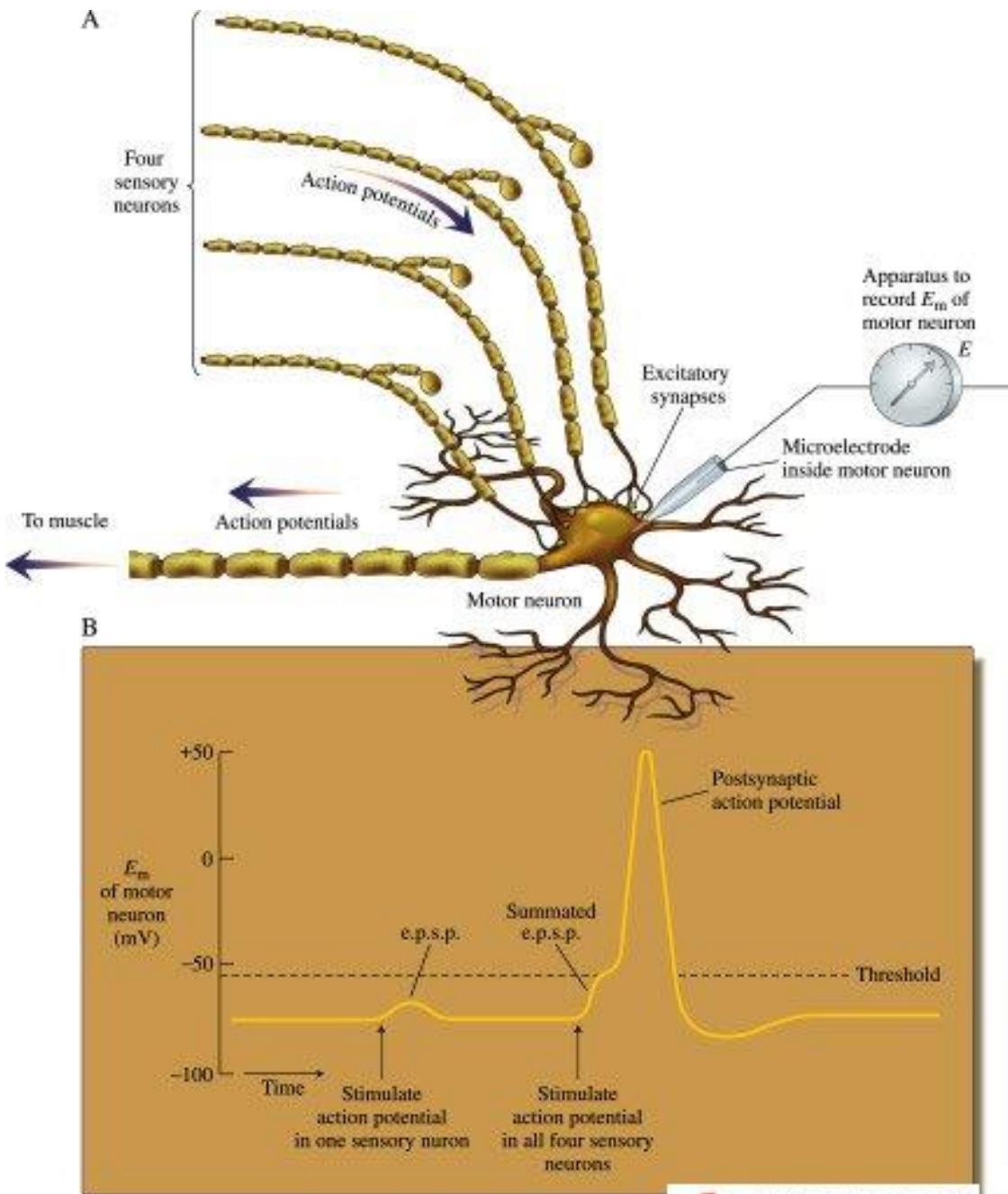
Sommazione temporale



- **Setup sperimentale:**
 - Stimolare neurone presinaptico
 - Misurare dal neurone postsinaptico
- **ePSPs**
 - excitatory post synaptic potentials
 - = Potenziali graduati eccitatori
- **Sommazione temporale:**
 - Stimolazioni ravvicinate generano ePSPs ravvicinati che superano la soglia e generano un AP

Sommazione spaziale

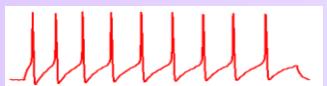
- Considera diversi neuroni sensoriali che formano sinapsi su uno stesso motoneurone
 - Un ePSP da un neurone sensoriale è debole e non supera la soglia
 - ePSPs da diversi neuroni sensoriali possono sommarsi e superare la soglia per generare un AP



Conclusioni - Potenziali graduati

1. Si generano a seguito di uno **stimolo chimico** (neurotrasmettore) alle sinapsi o **sensoriale** (alle terminazioni sensoriali)
2. Sono **modulabili in ampiezza** (maggiore lo stimolo maggiore il potenziale)
3. Agiscono a breve distanza e **decrescono allontanandosi dal punto di genesi**
4. Possono essere **eccitatori** (= depolarizzanti) o **inibitori** (= iperpolarizzanti / stabilizzanti)
5. Si possono sommare **algebricamente**
 - a. **Spazialmente**
 - b. **Temporalmente**
6. Se a livello di monticolo assonico la loro somma supera la **soglia** per il PA, **si genera un PA**

- La membrana plasmatica: struttura e caratteristiche.
- Permeabilità e trasporto di sostanze attraverso la membrana: trasportatori e canali ionici.
- Il potenziale di membrana a riposo.
- I potenziali graduati.
- **Il potenziale d'azione e sua conduzione.**



Eccitabilità

Una cellula è definita eccitabile quando è in grado di generare potenziali d'azione.

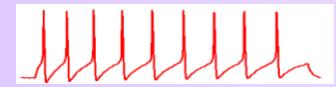
Tipiche cellule eccitabili

Neuroni - PA propagandosi lungo la fibra nervosa consente la trasmissione di messaggi elettrici (informazione).

Fibrocellule muscolari - PA innesca la contrazione muscolare.

Alcune cellule endocrine - PA innesca rilascio di ormoni - midollare del surrene, neuroipofisi...





Come può una cellula generare un PA?

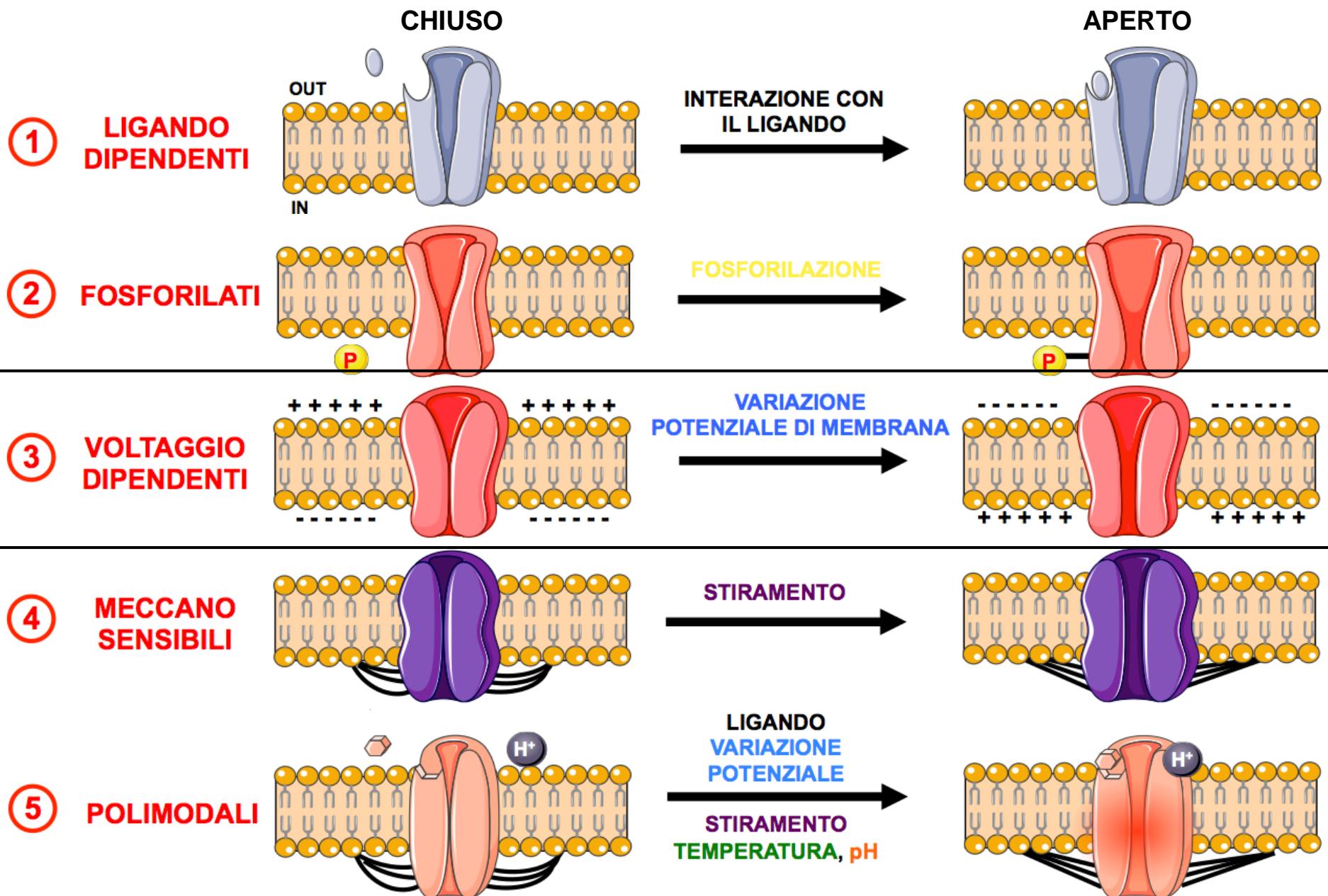


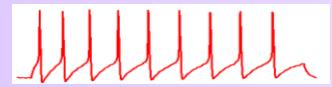
dreamstime.com

Una cellula per generare PA ha bisogno di:

- 1) canali ionici voltaggio-dipendenti per il Na⁺
- 2) canali ionici voltaggio-dipendenti per il K⁺

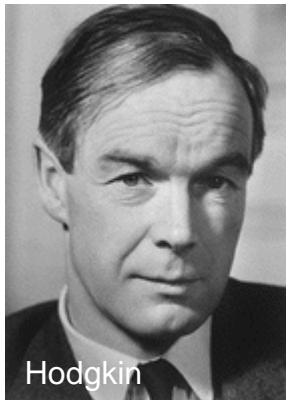
Stimuli che controllano apertura e chiusura dei canali ionici



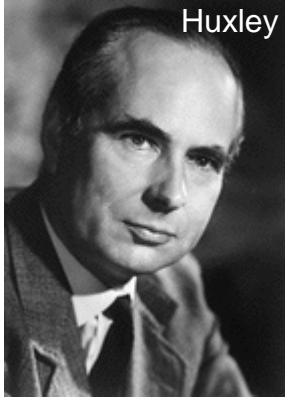


IL POTENZIALE D'AZIONE: cenni storici

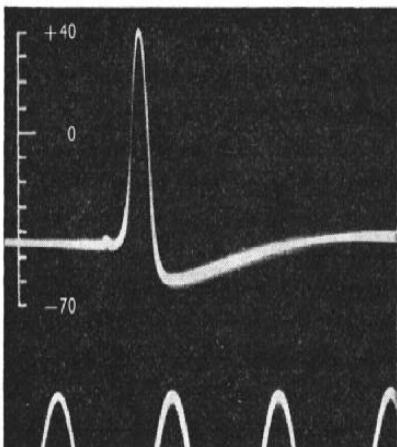
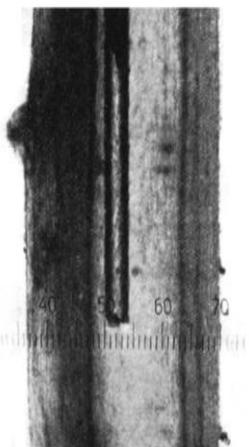
The Nobel Prize in
Physiology or Medicine
1963



Hodgkin



Huxley

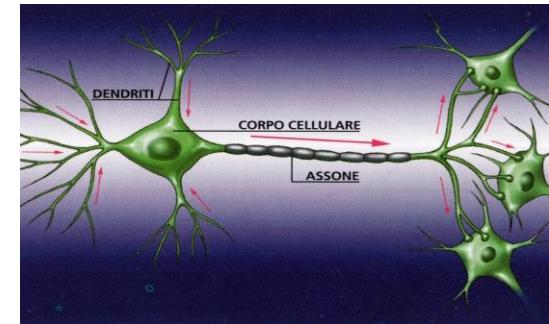


Elettrodo inserito
all'interno
dell'assone di
calamaro

La prima
registrazione del PA

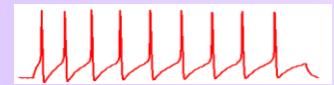
Dal 1939 al 1952, con una pausa di 5 anni dovuta alla guerra, Hodgkin and Huxley, sfruttando il lavoro di Young (1936 che trovò il miglior modo di inserimento degli elettrodi nell'assone di calamaro), hanno dato una spiegazione chiara e corretta del PA **senza mai citare la parola canale**. Il concetto di canale prese consenso dai primi del '70 grazie alla messa a punto delle tecniche del Patch-Clamp (Neher and Sackman Nobel nel 1991).

Perché proprio l'assone del calamaro?



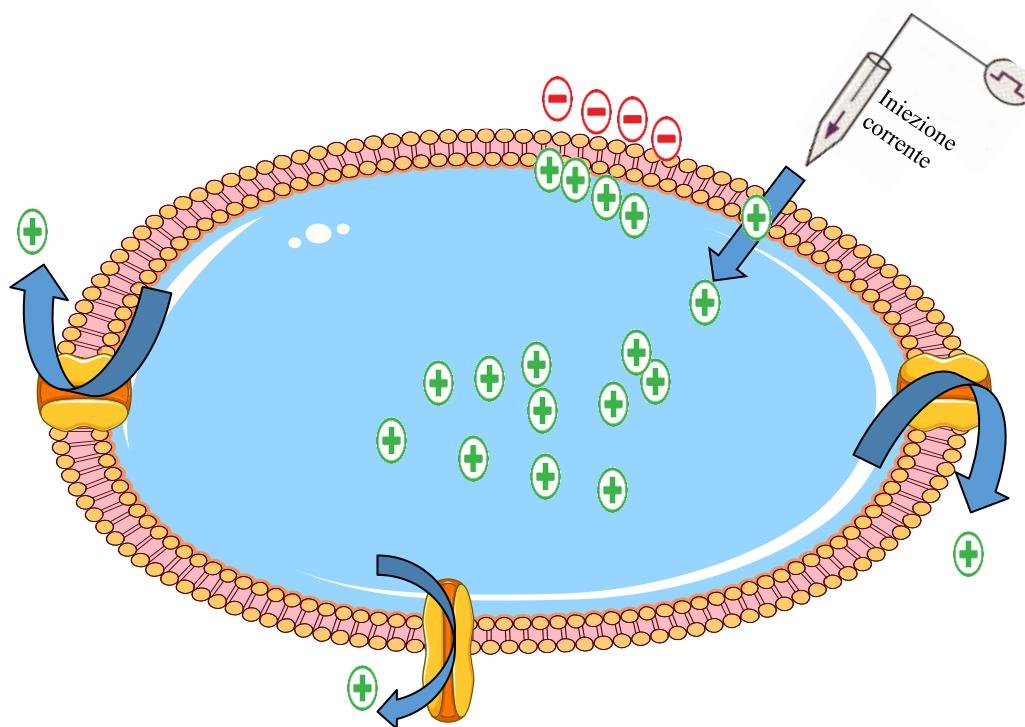
Molto di quello che sappiamo oggi su come il segnale elettrico viaggia lungo la rete nervosa deriva da esperimenti condotti sull'assone gigante di calamaro.

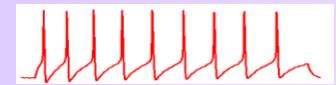
Figura 6-16 ► Il calamaro e il suo assone gigante. L'assone gigante è un prolungamento molto largo (fino a 1 mm di diametro) e lungo (diversi cm) di un singolo neurone che controlla la propulsione a getto d'acqua in questi cefalopodi. (Immagine tratta da Memorial University)



Ipotizziamo di avere in membrana solo canali passivi (=sempre aperti) per il K^+

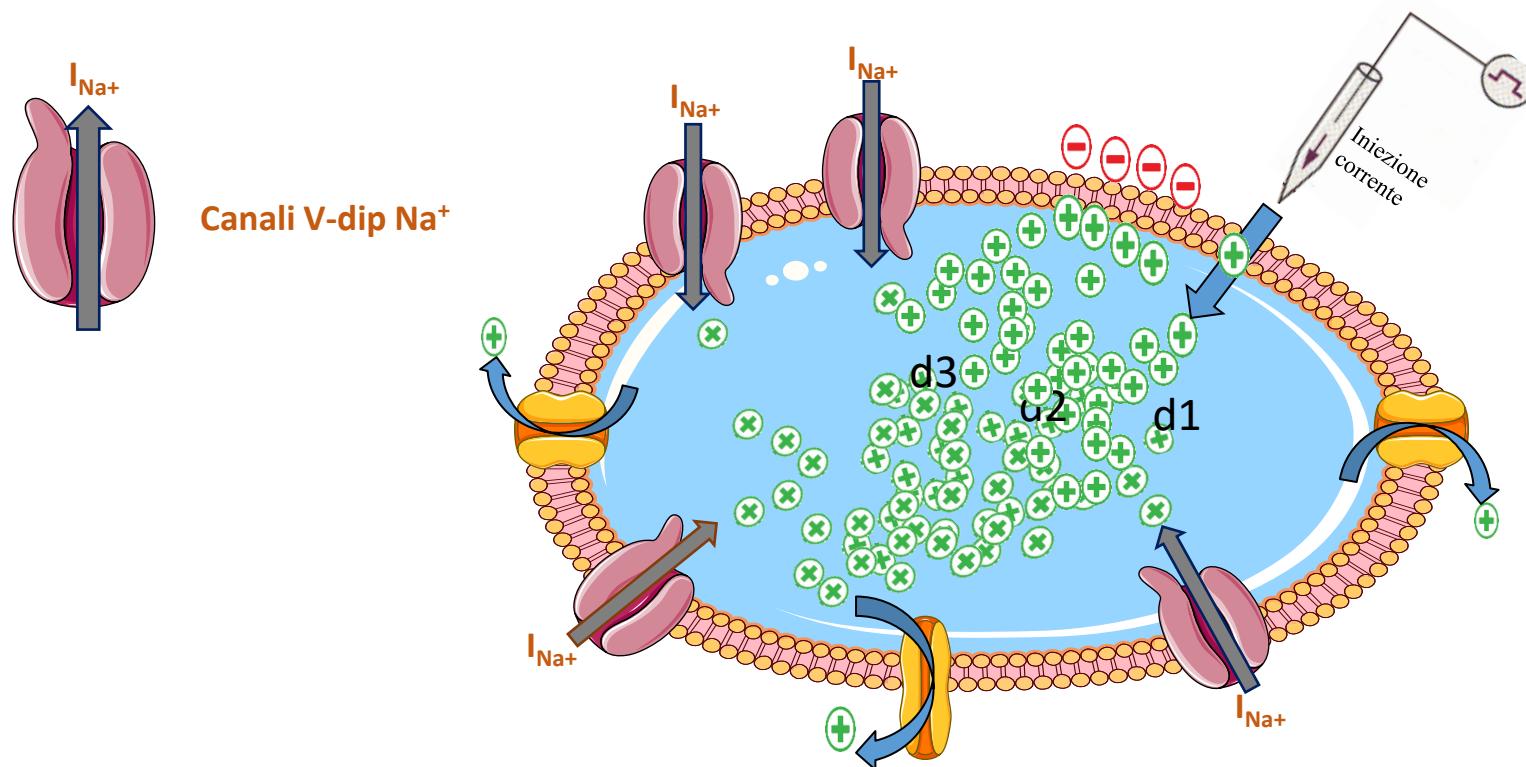
Cosa succede se iniettiamo corrente positiva?



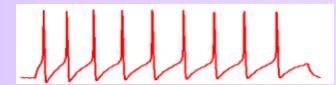


Ipotizziamo di avere in membrana non solo canali passivi per il K^+ , ma anche canali attivi (= V-dipendenti) per Na^+

Cosa succede se iniettiamo una corrente sufficiente all'attivazione (=apertura) dei canali Na^+ V-dipendenti?



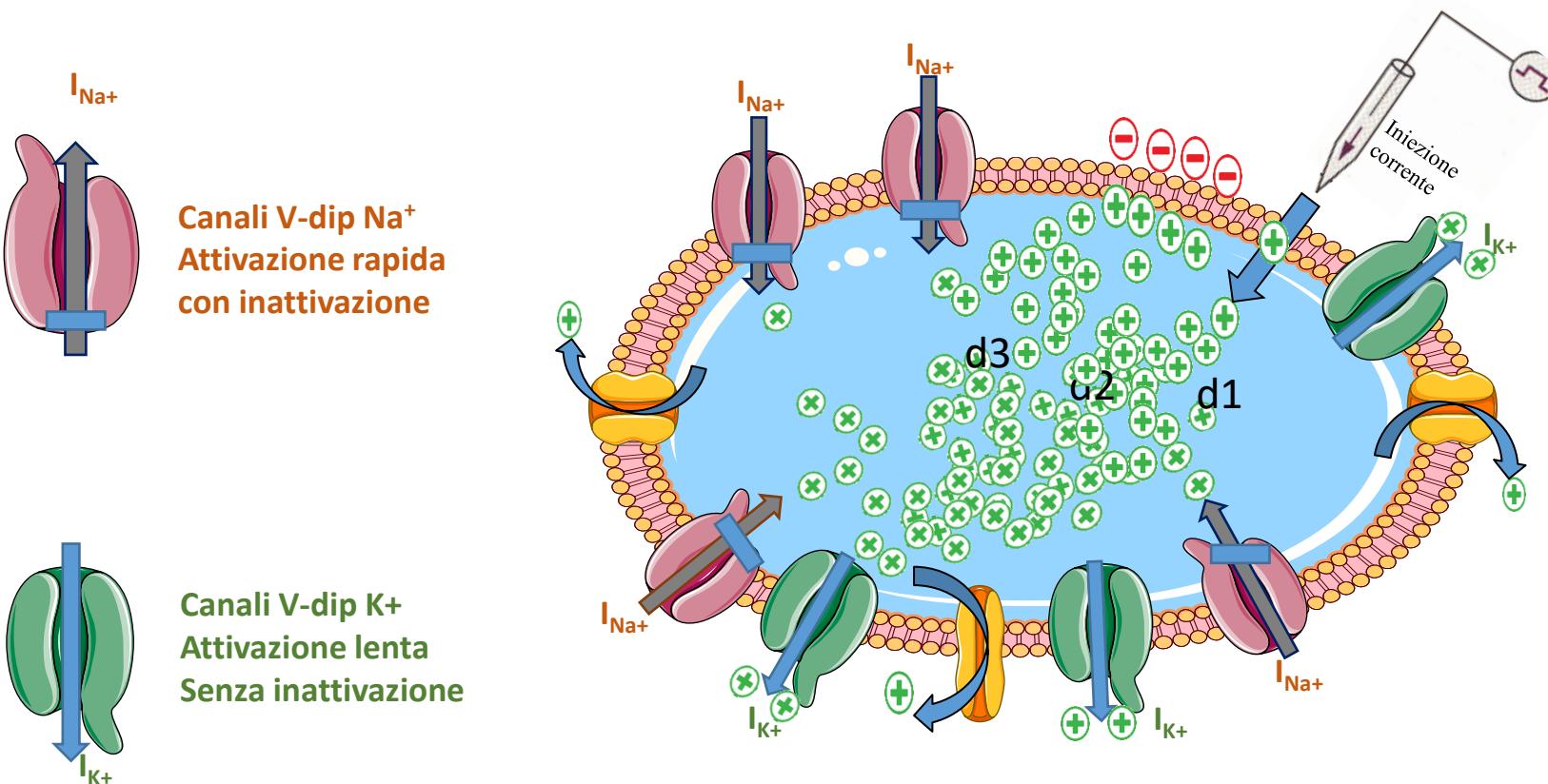
Il Potenziale d'Azione



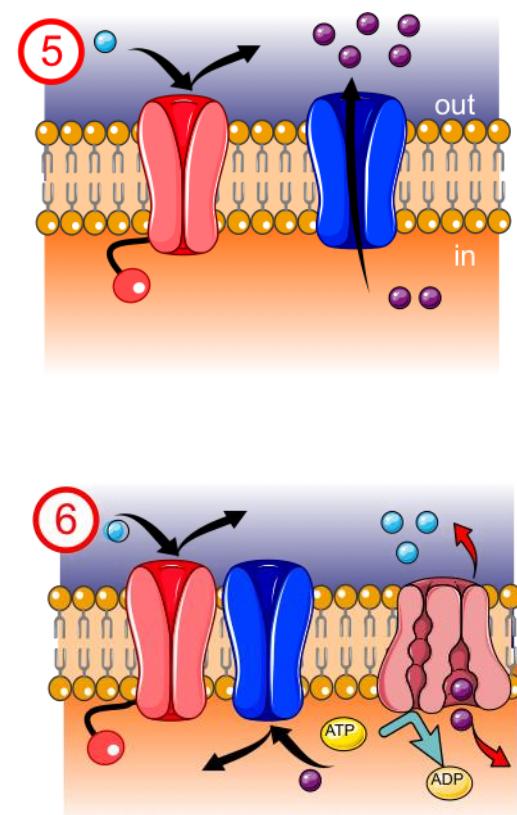
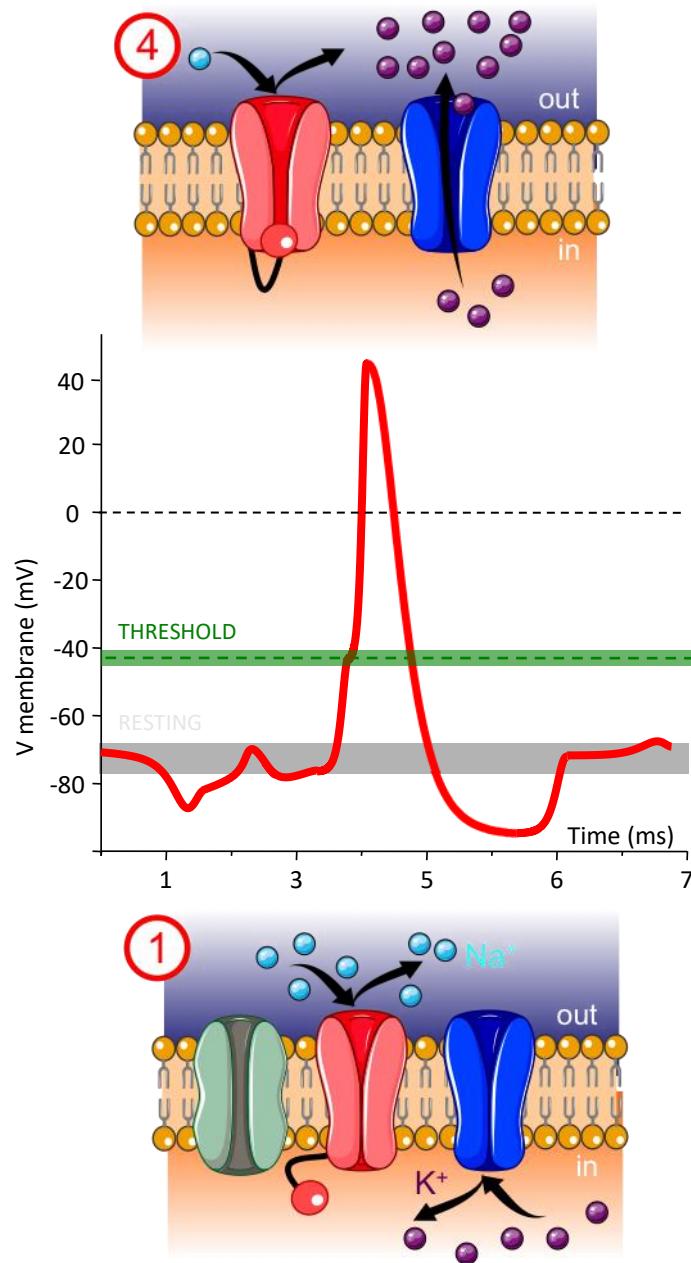
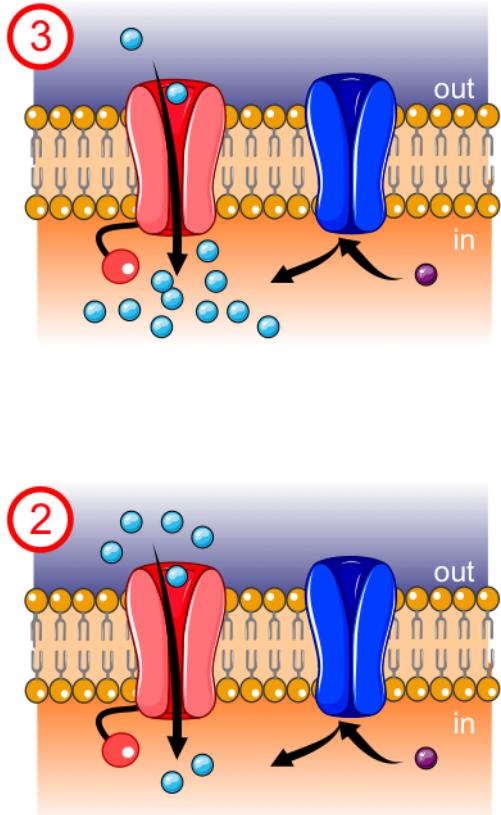
Ipotizziamo di avere in membrana non solo canali passivi per il K^+ ma anche

- 1) canali V-dipendenti per Na^+ con inattivazione
- 2) canali V-dipendenti per K^+

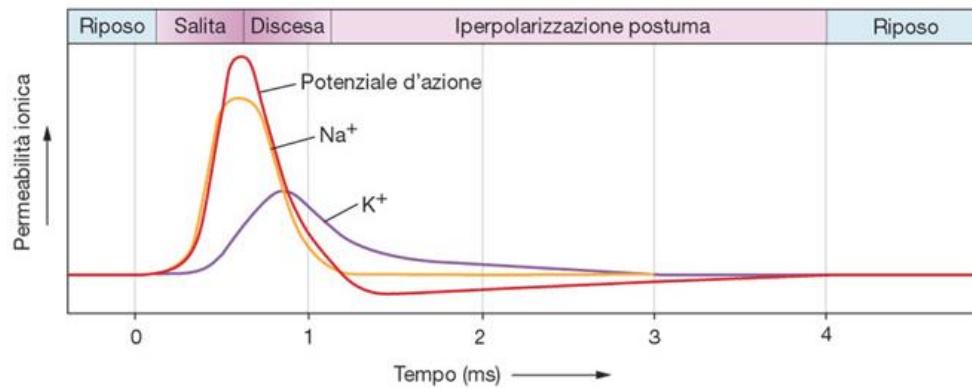
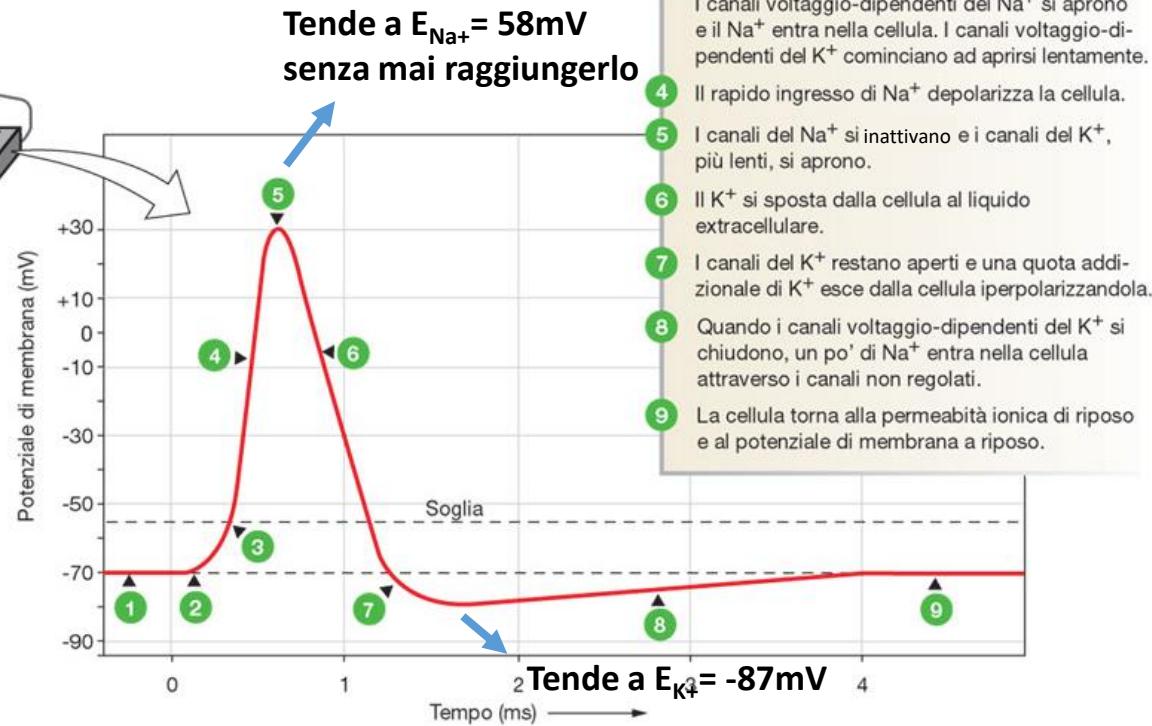
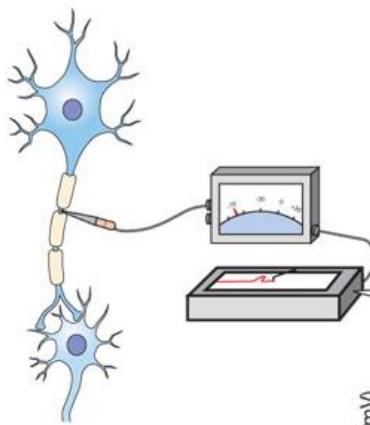
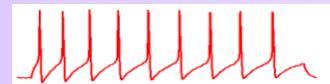
Cosa succede se iniettiamo una corrente sufficiente all'attivazione (=apertura) di canali del Na^+ V-dip con inattivazione e canali K^+ V-dip? ... un potenziale d'azione!

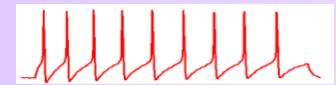


Basi ioniche del potenziale d'azione

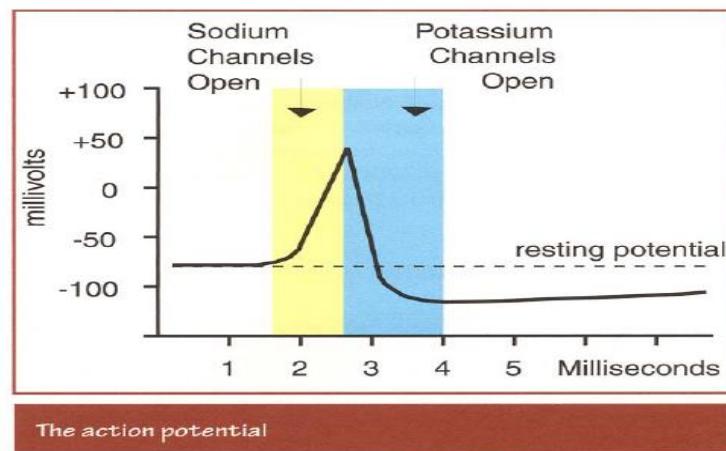
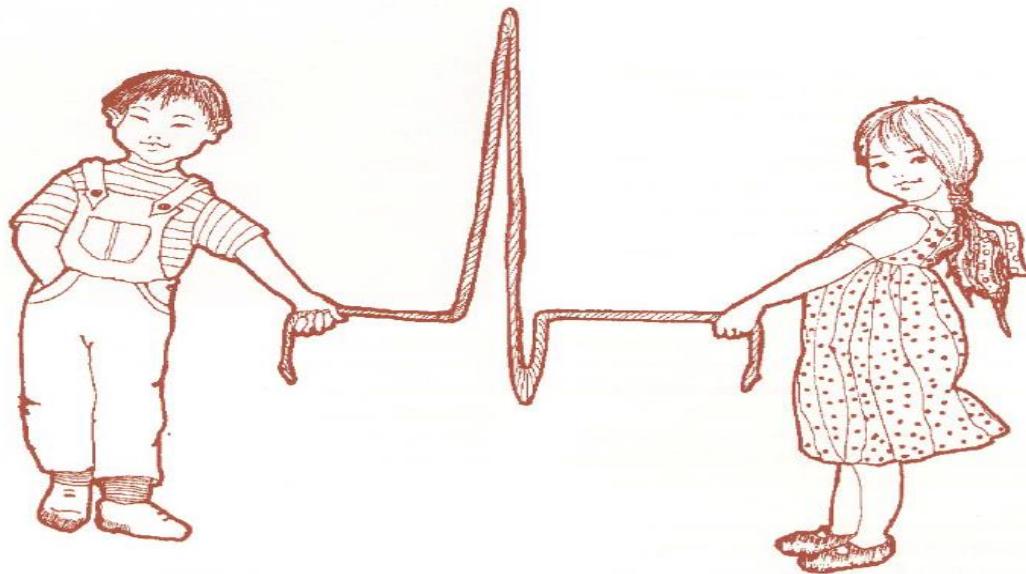


Il Potenziale d'Azione

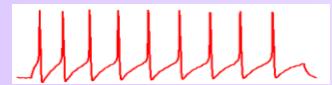




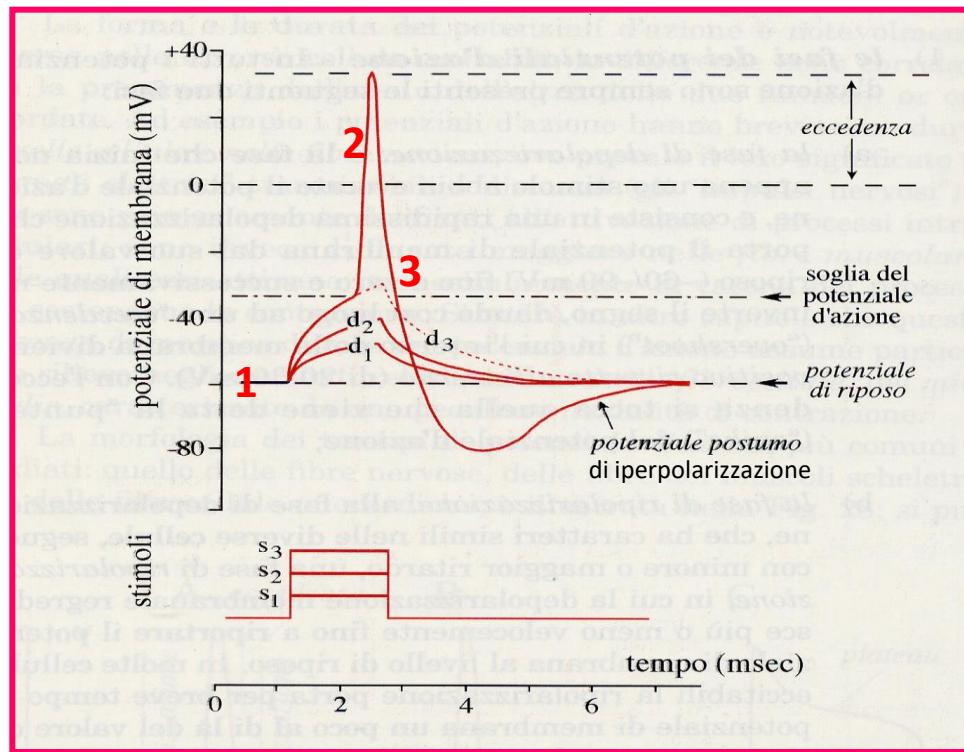
Le due fasi del PA neurale: attivazione e ripolarizzazione



Il Potenziale d'Azione



La "soglia" del potenziale d'azione

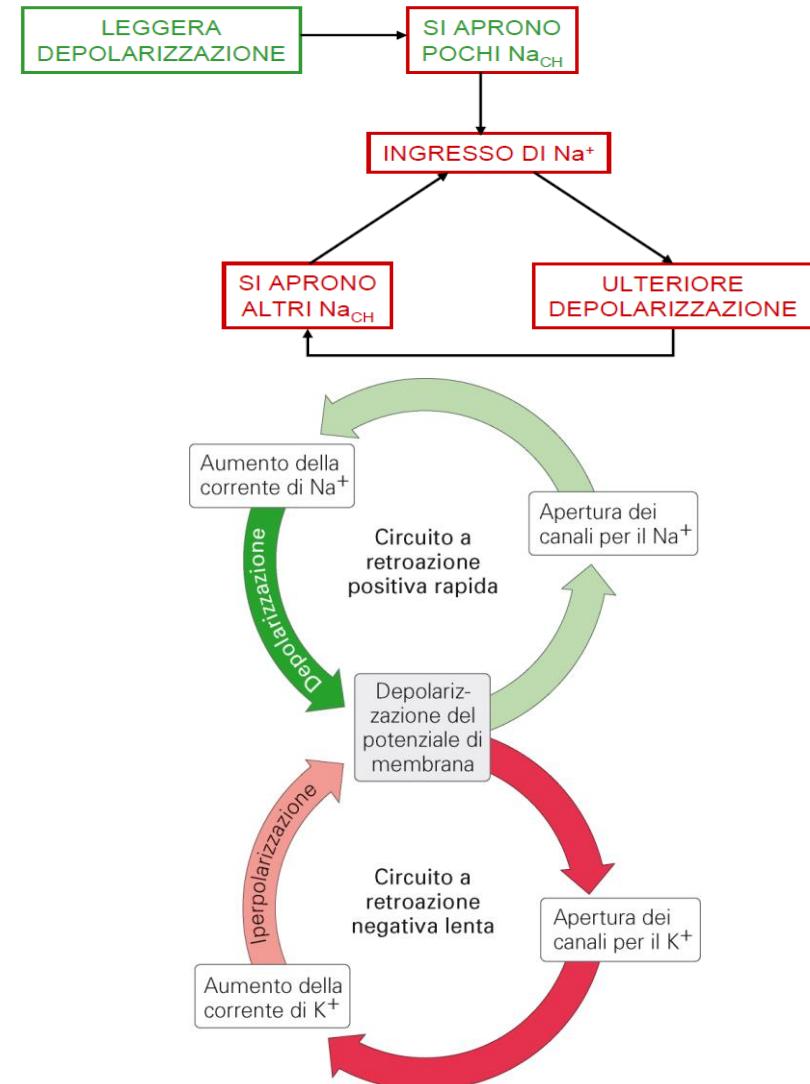


Impulsi di corrente depolarizzanti di ampiezza moderata (s_1 , s_2) producono depolarizzazioni passive della membrana (d_1 , d_2 , d_3).

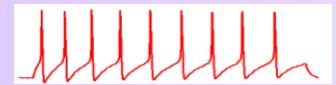
Il neurone genera un potenziale d'azione se lo stimolo (s_3) porta V_m oltre un valore soglia (V_s).

V_s può variare tra -50 e -30 mV

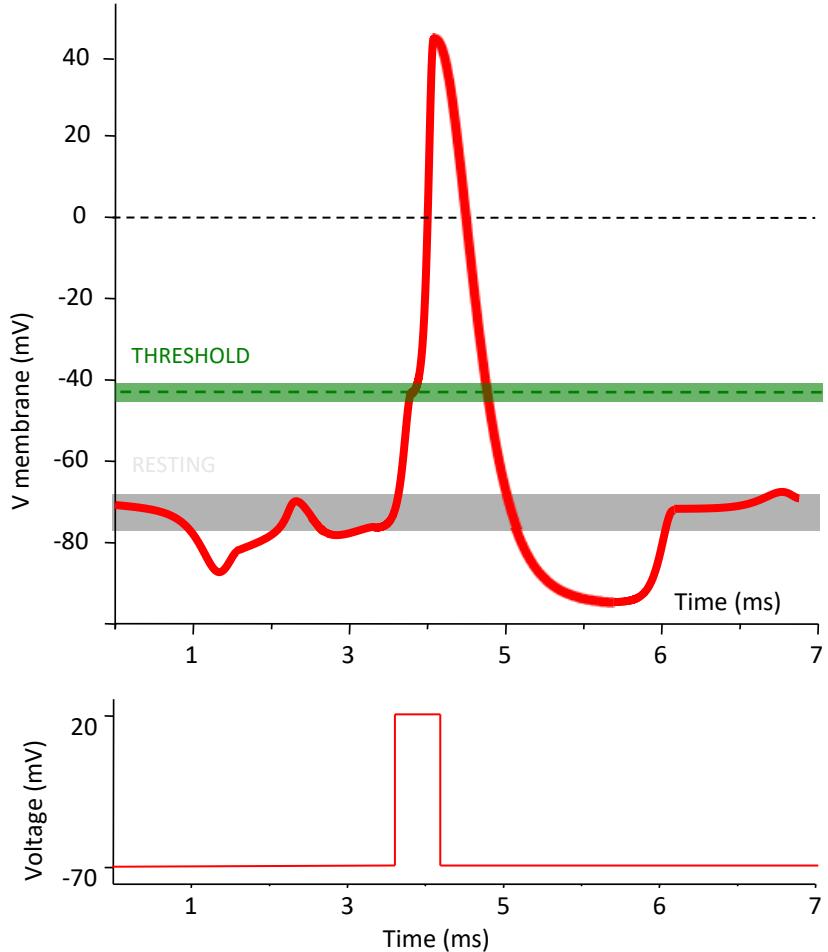
E' un fenomeno rigenerativo del tipo 'tutto o nulla'.



AI VALORE SOGLIA IL FEED-BACK NEGATIVO OPERATO ALL'EFFLUSSO DI K^+ viene sopra-avanzato dal FEED-BACK POSITIVO OPERATO DALL'INFLUSSO DI Na^+



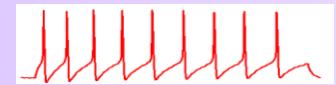
Basi ioniche del potenziale d'azione



LEGGE DEL TUTTO O NULLA: un PA o è generato e si sviluppa in tutta la sua ampiezza, se lo stimolo raggiunge o supera la soglia, oppure non è generato affatto, se l'ampiezza dello stimolo è inferiore alla soglia.

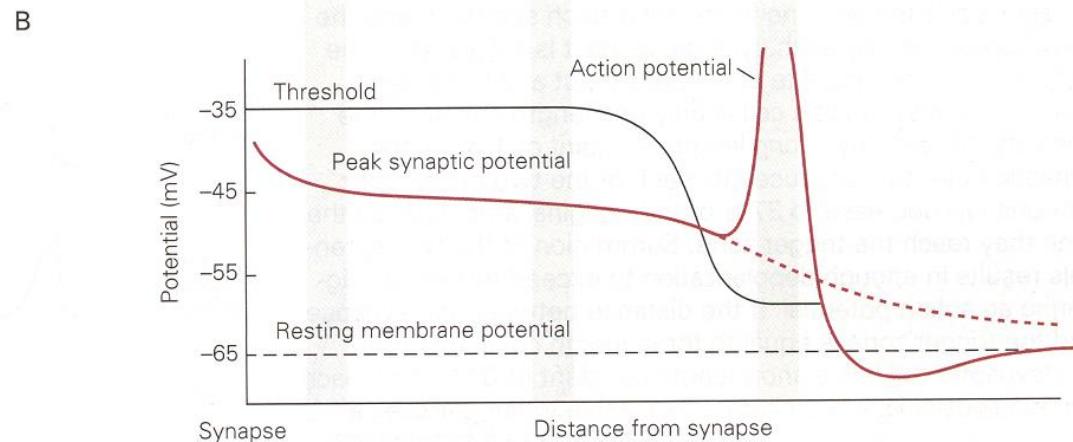
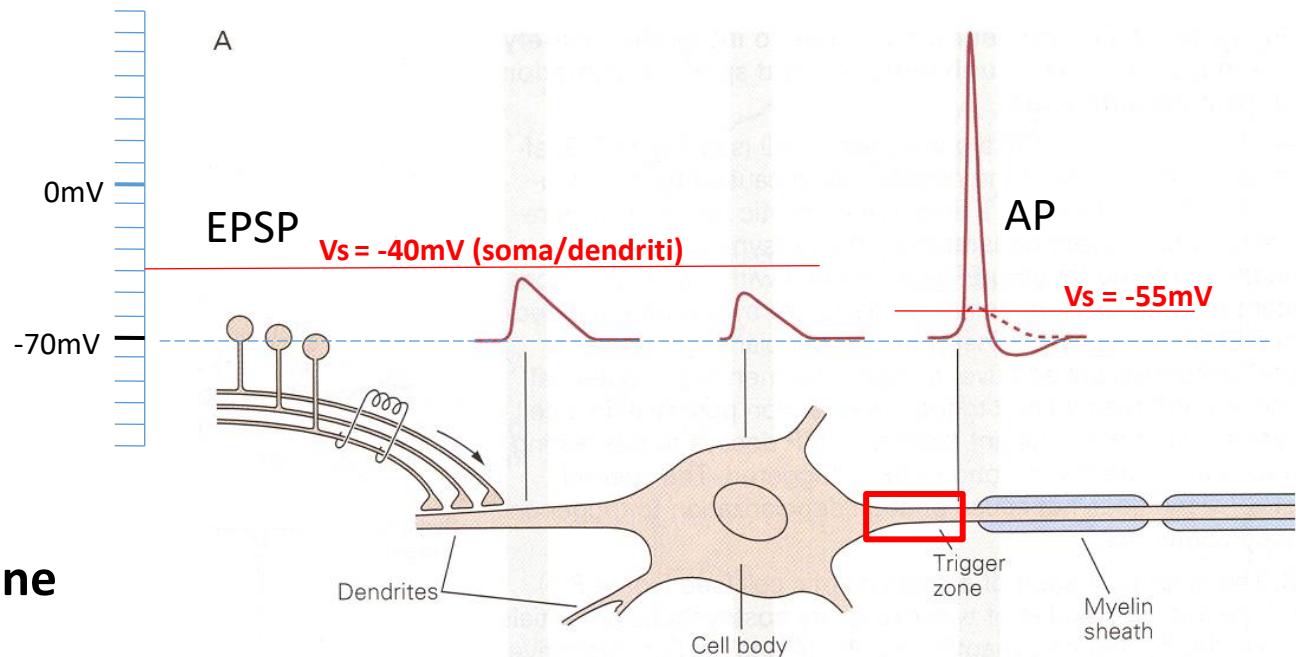
SOGLIA: potenziale a cui uno stimolo depolarizzante è in grado di generare un PA.

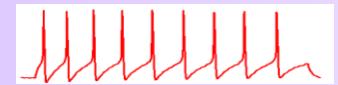
Il Potenziale d'Azione



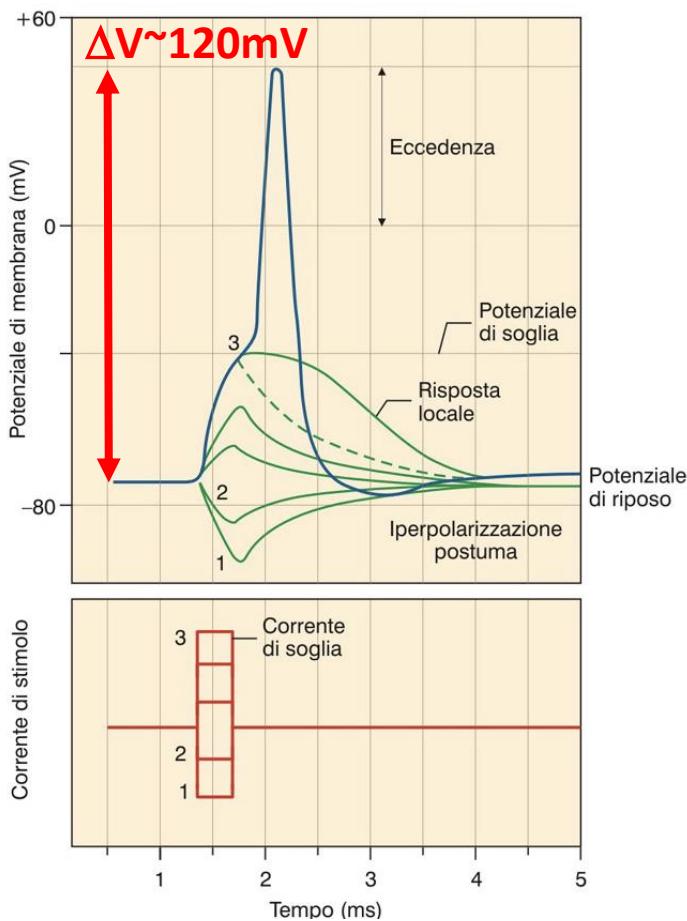
In quale zona del neurone insorge il PA?

Tipicamente il PA si attiva nel cono di insorgenza dell'assone (trigger zone) dove la soglia è più bassa (ma se lo stimolo è molto intenso può attivarsi anche nel soma o nei dendriti).





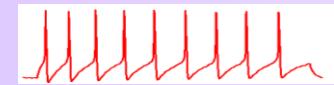
Perchè (funzione) il PA (tutto o nulla) è migliore di un potenziale graduato/decrementale?



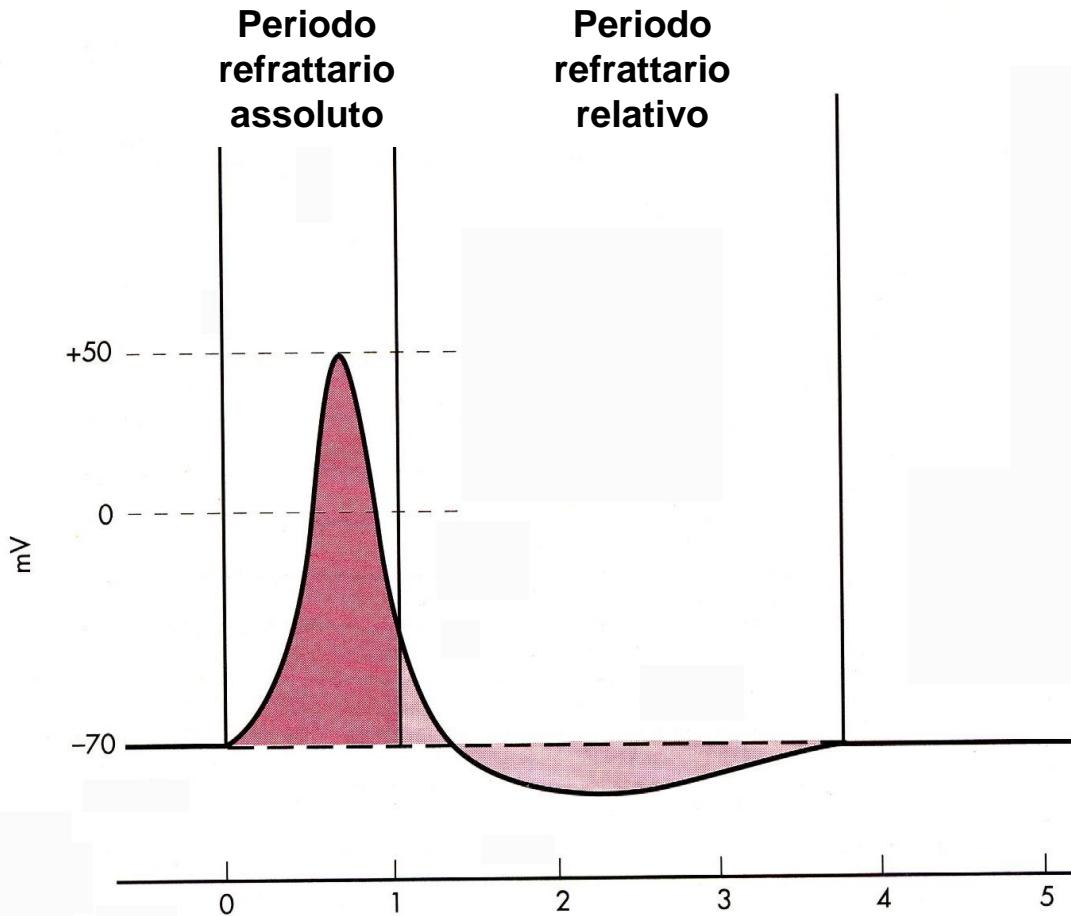
PA = Evento TUTTO O NULLA: in un neurone un PA è generato e si sviluppa in tutta la sua ampiezza, se lo stimolo depolarizzante ‘graduato’ raggiunge o supera la V_s , oppure non è generato affatto, se l’ampiezza dello stimolo ‘graduato’ è inferiore alla V_s .

Il **PA** ha una ampiezza notevole circa 120 - 150 mV, maggiore di qualsiasi evento elettrico graduato: questo **migliora il rapporto segnale/rumore**, quindi l’informazione viaggia con minore disturbo da interferenze (noise/rumore).

Il contenuto informazionale risiede non nell’intensità del segnale ma nella sua **frequenza**.



Periodo refrattario assoluto e relativo



La refrattività è dovuta:

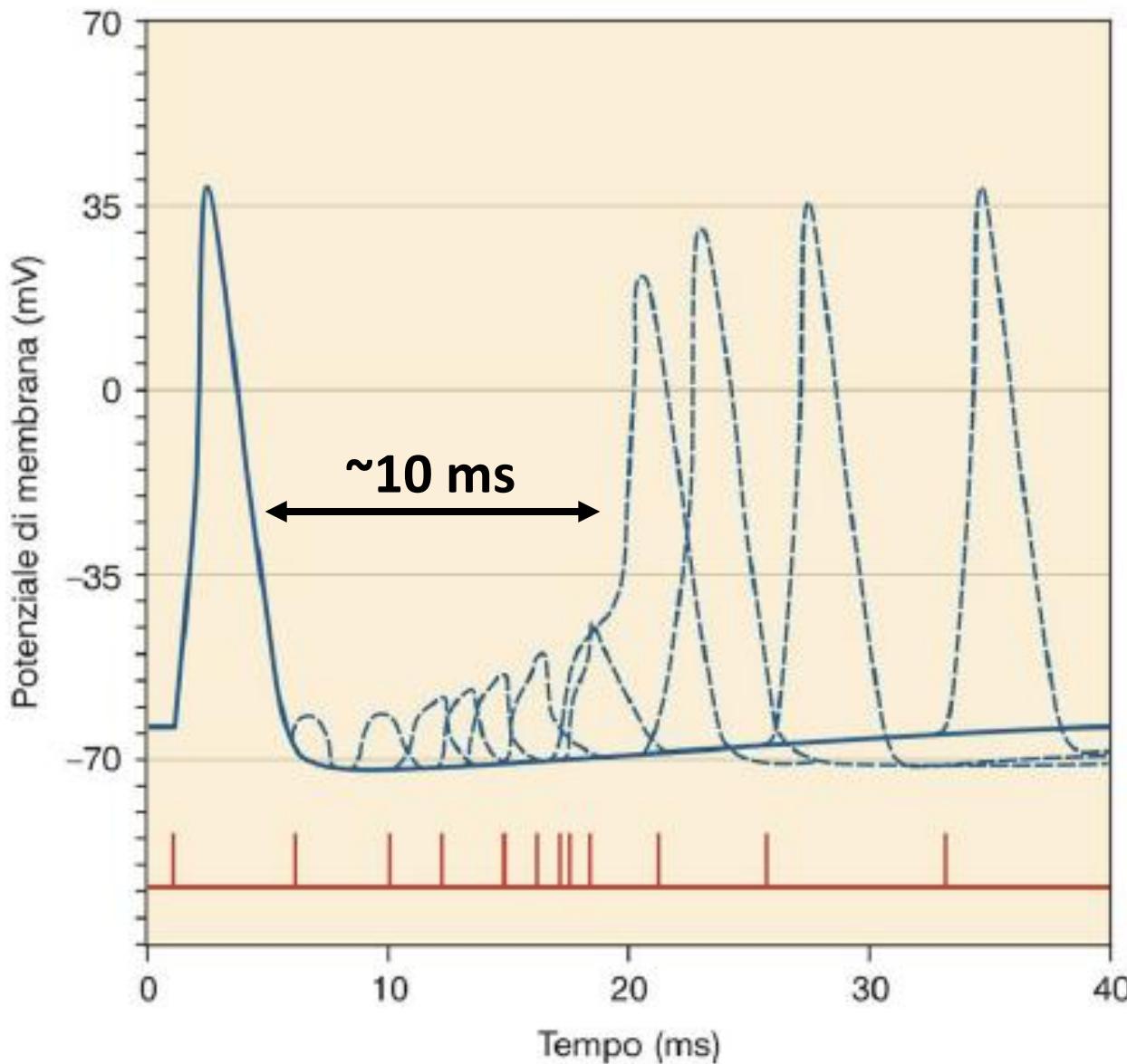
- 1) Al temporaneo aumento della permeabilità al K^+**
- 2) Al contemporaneo processo di inattivazione dei canali del Na^+**

Nel periodo refrattario assoluto non si genera un altro PA, indipendentemente dall'intensità dello stimolo depolarizzante applicato.

Nel periodo refrattario relativo lo stesso stimolo che prima attivava il PA non riesce ad attivarlo ma se si somministra uno stimolo più intenso si attiva un PA. In questo periodo la cellula è meno eccitabile.



Periodo refrattario assoluto e relativo



Significato Funzionale:

1. Limitare la frequenza di scarica di un neurone.
2. Impedire il riverbero dei segnali che devono essere propagati unidirezionalmente.

Conclusioni - Generazione Potenziale d'azione

1. Alla base della generazione del PA ci sono
 - a. Canali (rapidi) Na^+ voltaggio-dipendenti che inattivano → fase ascendente del AP
 - b. Canali (lenti) K^+ voltaggio-dipendenti senza inattivazione → fase discendente del AP
2. Legge del tutto o nulla: se il potenziale graduato supera la soglia il PA si genera e si sviluppa in tutta la sua ampiezza. Se l'ampiezza del potenziale graduato è inferiore alla soglia, il PA non si genera affatto
3. Il PA si genera solitamente nel colletto assonico dove la soglia è più bassa
4. Periodo refrattario: l'inattivazione dei canali Na^+ e l'apertura dei canali K^+ impediscono la generazione di un secondo PA immediatamente dopo un altro → limitazione frequenza di scarica dei PAs