

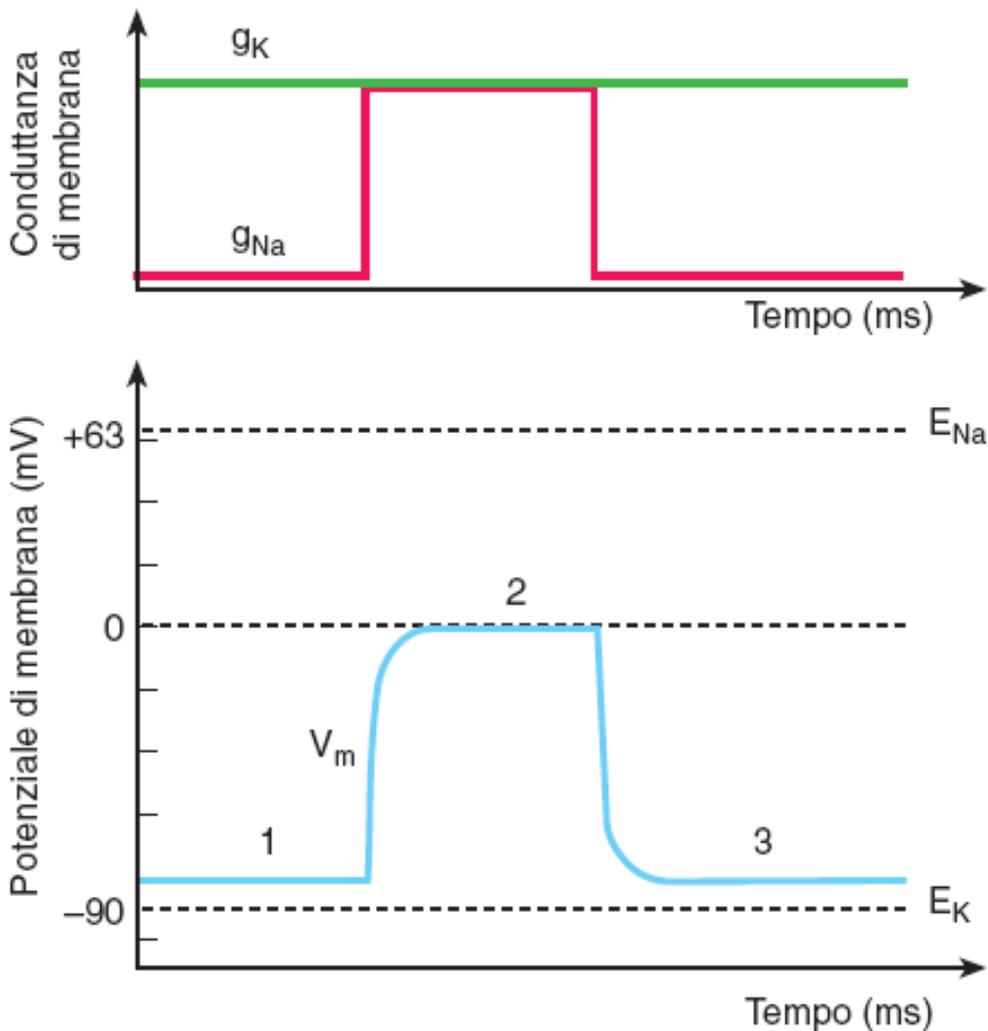
1.3 GENESI DEL POTENZIALE D'AZIONE

- Variazioni del potenziale di membrana dalle condizioni di riposo
- Risposte passive della membrana cellulare
- Risposte attive della membrana cellulare: il potenziale d'azione
- Soglia del PA
- Periodo refrattario del PA
- Gli eventi ionici del potenziale d'azione

- Variazioni del potenziale di membrana dalle condizioni di riposo

COME SI MODIFICA V_m QUANDO LE
CONDUTTANZE AL Na^+ E AL K^+ VARIANO NEL
TEMPO?

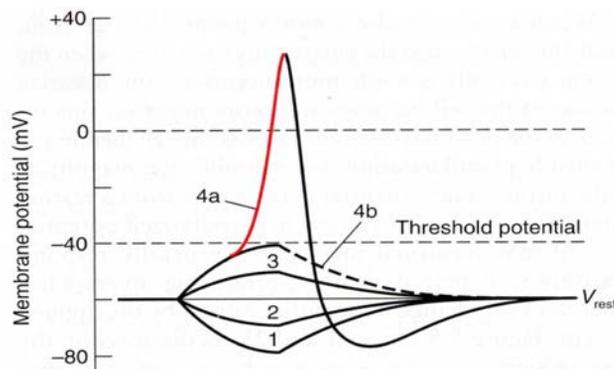
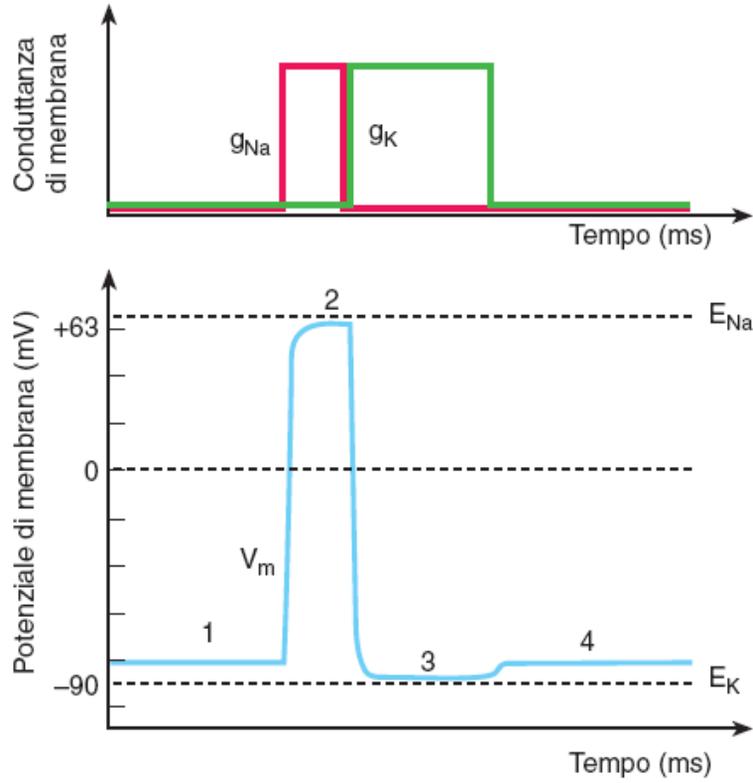
1° Esempio: membrana inizialmente 100 volte più permeabile al K^+ rispetto al Na^+ (1);
 ugualmente permeabile a K^+ e Na^+ (2);
 (3) come intervallo (1)



A riposo, quando $g_K = 100 g_{Na}$ $\Rightarrow V_m = -82 \text{ mV}$

Durante la variazione di conduttanza, quando $g_{Na} = g_K$ $\Rightarrow V_m = -0.5 \text{ mV}$ (calcolato con l'eq. di Goldman)

2° Esempio: membrana parzialmente permeabile al K^+ e poco al Na^+ a riposo che diventa prima *molto* permeabile al Na^+ (per un breve intervallo) e poi *molto* permeabile al K^+ (per un intervallo più lungo)



RISPOSTE ATTIVE E RISPOSTE PASSIVE

Le risposte passive

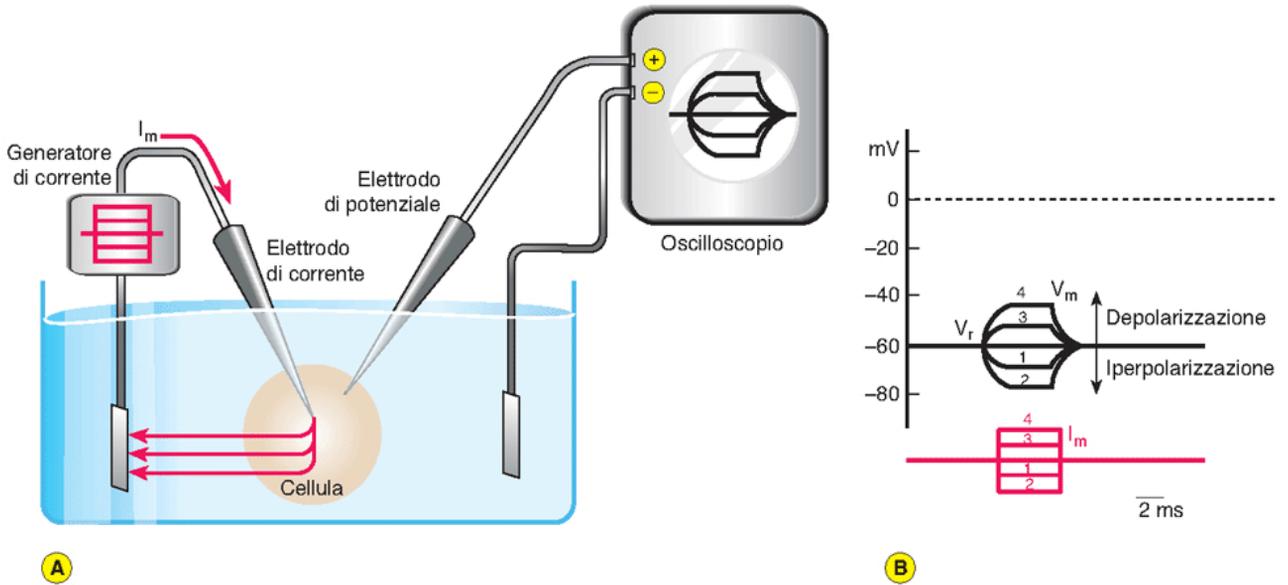
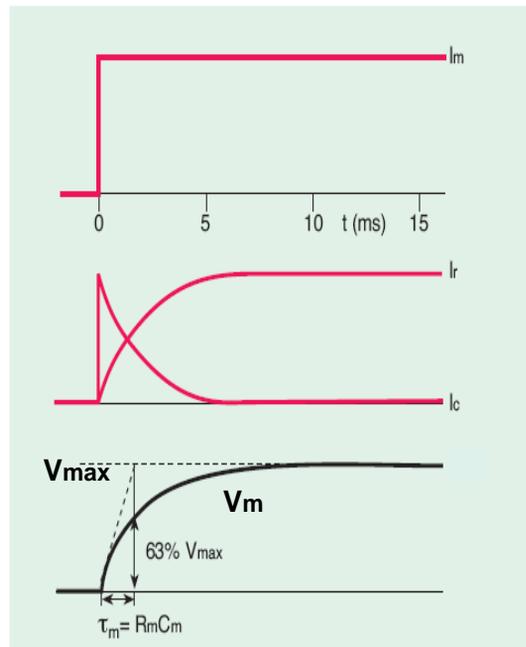


Figura 3.1 Proprietà passive di membrana di una cellula eccitabile. Il potenziale (V_m) e la corrente di membrana (I_m) sono misurati con microelettrodi diversi, disposti come indicato in **A**). Il generatore di corrente produce brevi stimoli di corrente crescenti (tracce rosse 3, 4 in **B**) o decrescenti (1, 2). V_m è visualizzato sull'oscilloscopio collegato con l'elettrodo di potenziale. Gli impulsi di corrente I_m che passano attraverso la membrana prima in un senso (1, 2) e poi nell'altro (3, 4), generano variazioni di potenziale (V_m) prima iperpolarizzanti (1, 2) e poi depolarizzanti (tracce 3, 4).

**MENTRE LO STIMOLO DI CORRENTE CAMBIA
ISTANTANEAMENTE, LA RISPOSTA DEL POTENZIALE DI
MEMBRANA (V_m) VARIA LENTAMENTE.**



Stimolo di corrente

Variazione di V_m

Le risposte elettriche *passive* della membrana sono determinate da *due costituenti* strutturali di natura diversa:

- **Doppio strato lipidico** a cui è associata una **capacità elettrica** (proprietà della membrana di accumulare e mantenere separate le cariche elettriche)
- **Canali ionici** a cui è associata una **conduttanza** (inverso della **resistenza**) (proprietà di permeabilità della membrana agli ioni)

I valori di R_m e C_m e fissano i tempi di risposta della membrana cellulare (τ)

$$\tau = R_m C_m = \text{costante di tempo della membrana}$$

$$\tau = R_m C_m = 1 \text{ (k}\Omega \times \text{cm}^2) \times 1 \text{ (}\mu\text{F/cm}^2) = 1 \text{ ms}$$

RESISTENZA DI MEMBRANA

$$\Delta V_m = \Delta I * R$$

$$R_m = R \times A \text{ (resistenza specifica di membrana)} = 10 \div 10^6 \text{ Ohm} \times \text{cm}^2$$

CAPACITÀ DI MEMBRANA

Per un condensatore ad armature piane e parallele:

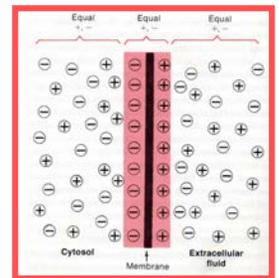
$$C = \epsilon \epsilon_0 S / d$$

$$\epsilon = 8.85 \cdot 10^{-12} \text{ (C/Vm)}$$

$$\epsilon_0 = 5$$

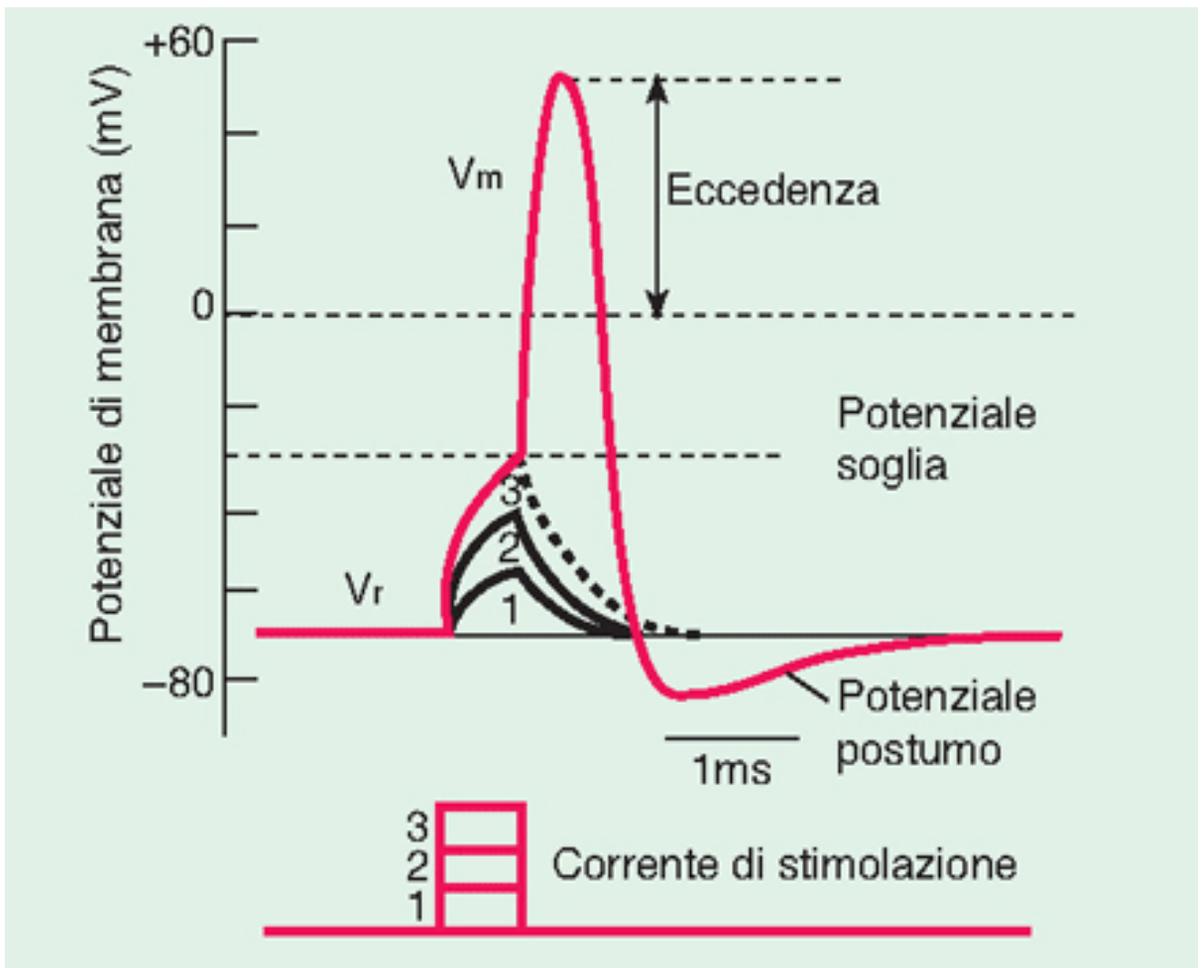
$$d = 50 \text{ (Å)}$$

$$C/S = 10^{-2} \text{ (C/Vm}^2) = 10^{-6} \text{ (C/Vcm}^2) = 1 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$$



Le membrane biologiche hanno una capacità specifica di circa 1 $\mu\text{F/cm}^2$

Le risposte attive (potenziale d'azione)



Impulsi di corrente depolarizzanti di ampiezza moderata (s_1 - s_2) producono **depolarizzazioni passive** della membrana.

Il neurone genera un **potenziale d'azione** se lo stimolo porta V_m oltre un valore **soglia** (s_3): questo può variare tra -50 e -30 mV

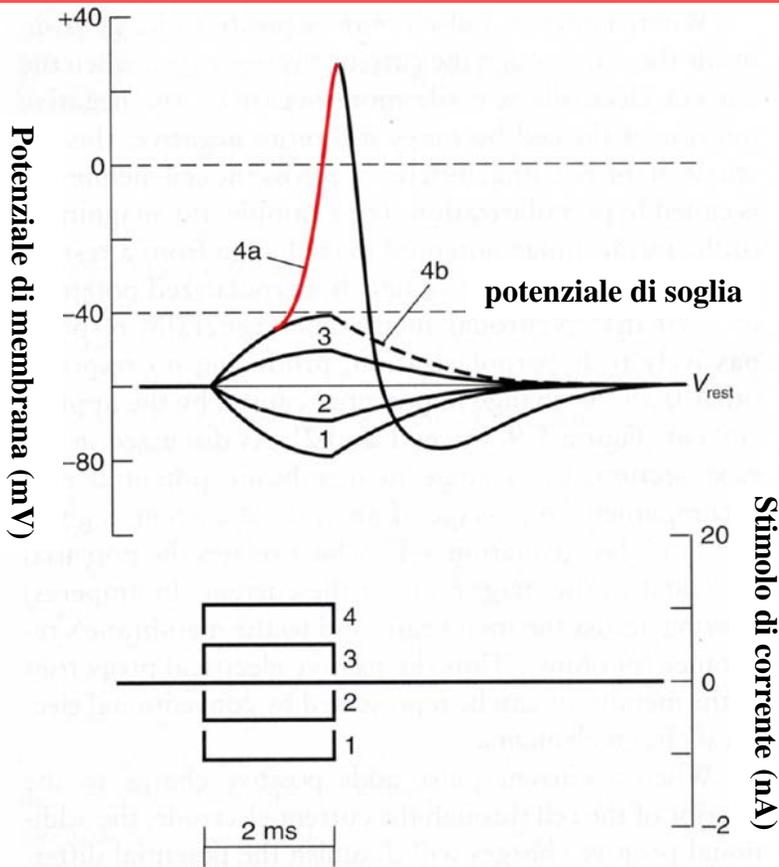
Per questo motivo il PA è un fenomeno rigenerativo del tipo "tutto o nulla".

Differenza tra risposte passive e risposte attive:

- Nelle risposte **PASSIVE** la variazione di V_m è direttamente proporzionale allo stimolo di corrente.
- Nelle risposte **ATTIVE** la variazione di V_m è maggiore di quella che ci si aspetta da una risposta passiva.
- E' una risposta "*tutto o niente*" (*potenziale d'azione*), caratteristica delle cellule eccitabili, che si scatena quando V_m supera un valore soglia (V_s).
- Durante un potenziale d'azione si aprono dei canali del Na^+ che depolarizzano ulteriormente la membrana e attivano in cascata altri canali del Na^+ .

Risposte elettriche della membrana cellulare alle stimolazioni

Se iniettiamo corrente (I_m) in un neurone per far variare V_m , cosa succede?



Tracce 1-2:

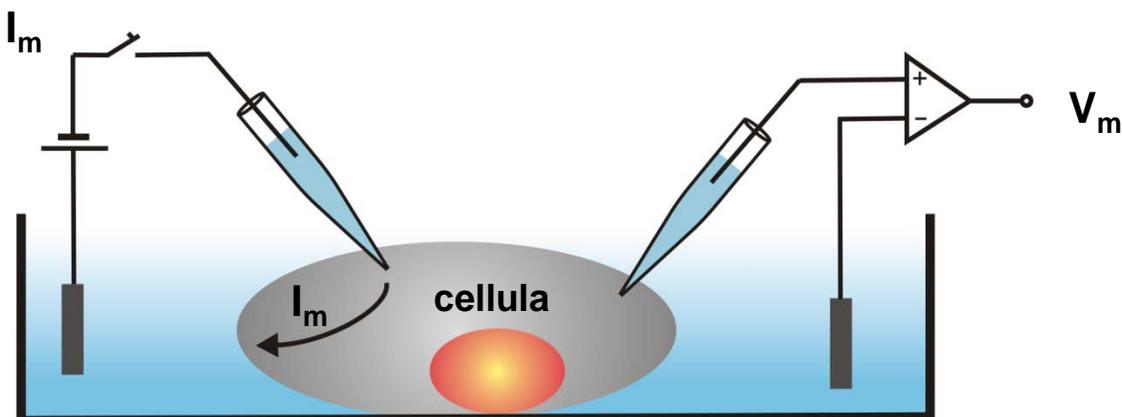
iperpolarizzazione
(rimuovo cariche + dal citoplasma, risposta passiva)

Traccia 3:

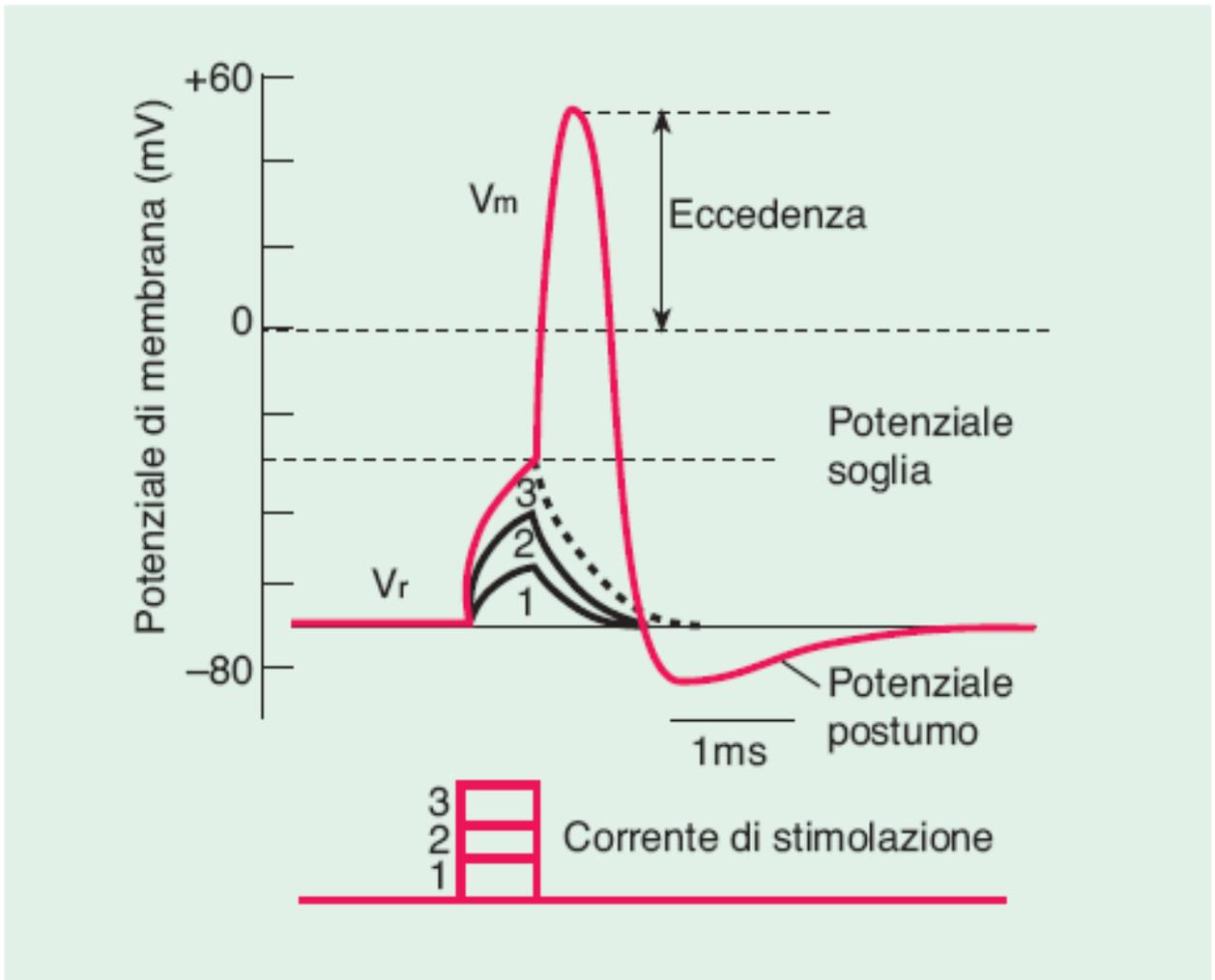
depolarizzazione
(fornisco cariche + al citoplasma, risposta passiva)

Traccia 4:

lo stimolo è sufficiente a raggiungere un **pot. soglia** e ad innescare una risposta attiva: **potenziale d'azione**



• La "soglia" del potenziale d'azione

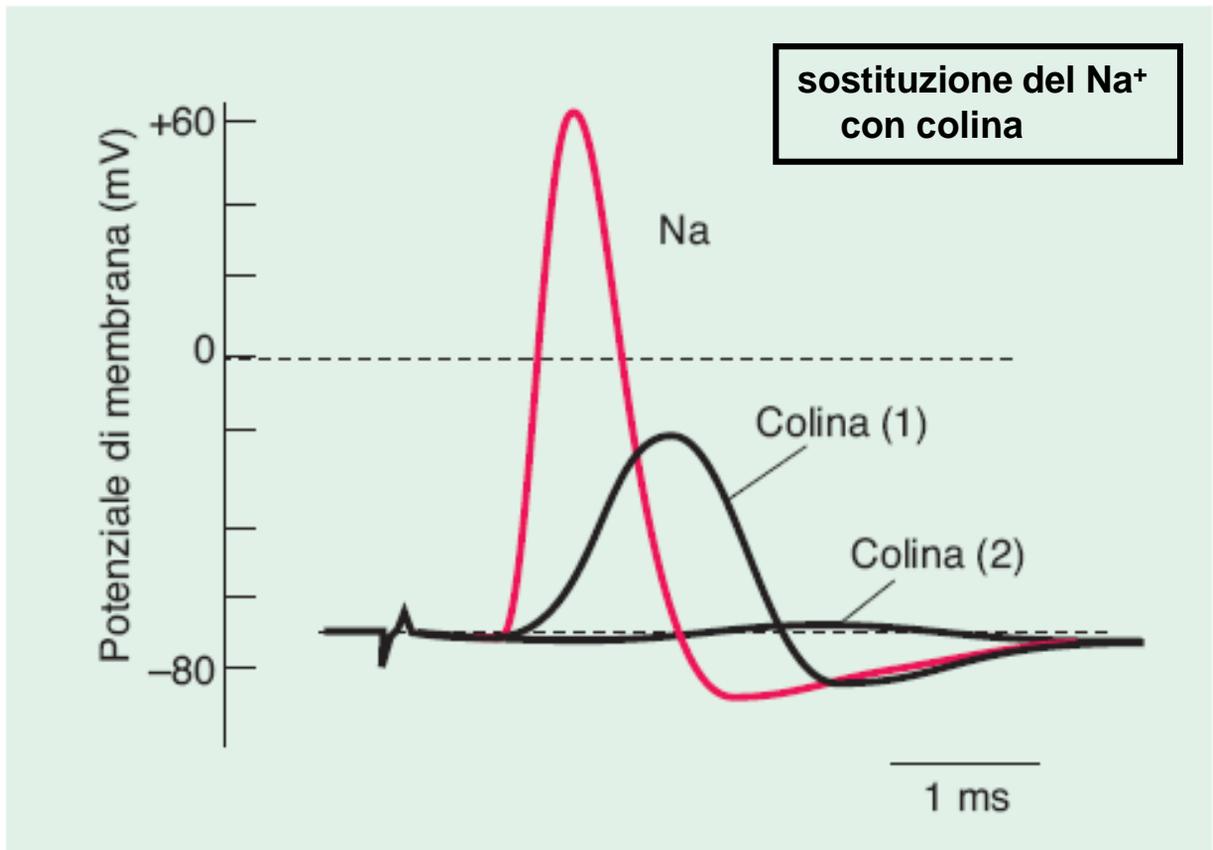


3 - Impulsi di corrente depolarizzanti di ampiezza moderata (1, 2) producono *depolarizzazioni passive* della membrana (1, 2). Il neurone genera un *potenziale d'azione (PA)* se lo stimolo (3) porta V_m oltre un valore *soglia* (V_s)

V_s può variare tra -50 e -30 mV

E' un fenomeno rigenerativo del tipo "*tutto o niente*"

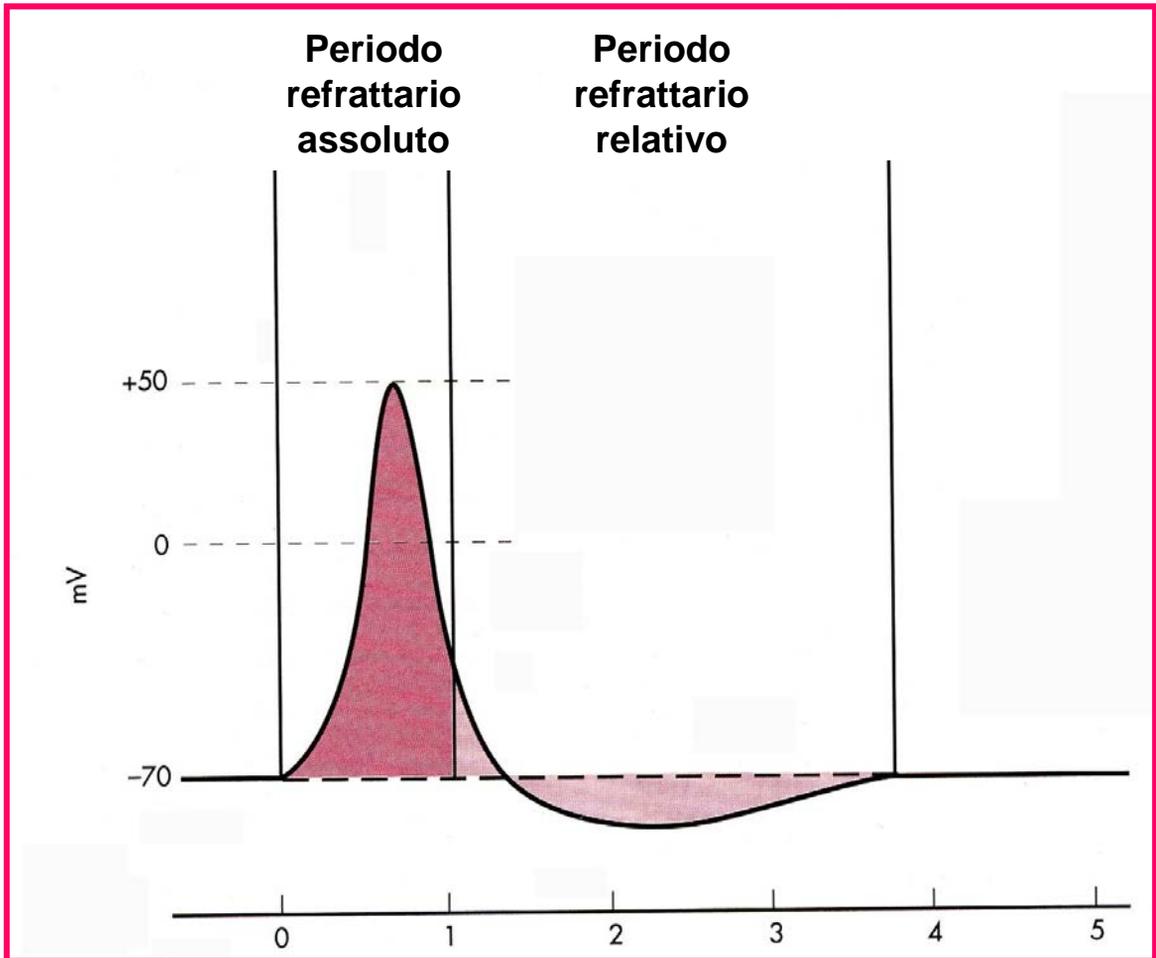
L'*ampiezza* del PA dipende dalla concentrazione di *Na⁺ extracellulare*



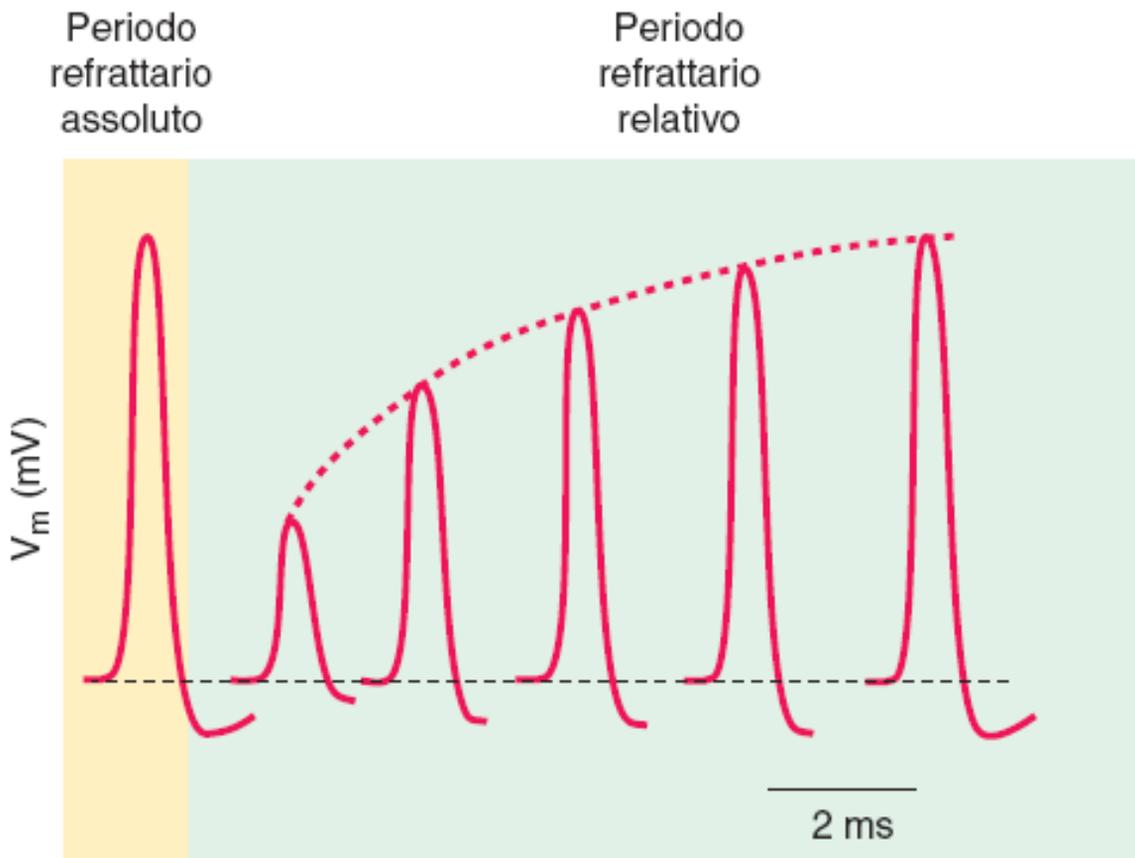
il Na⁺ è la specie ionica maggiormente responsabile della fase di depolarizzazione del PA, infatti:

- 1) $[Na^+]_o = 12 [Na^+]_i$, da cui: $E_{Na} \sim +63$ mV
- 2) l'ingresso di Na⁺ sposta V_m verso valori positivi
- 3) l'eccedenza è prossima ad E_{Na}
- 4) l'ampiezza del PA dipende da $[Na^+]_o$

• Periodo refrattario assoluto e relativo



- Nel *periodo refrattario assoluto*: non si genera un altro PA, indipendentemente dall'intensità dello stimolo
- Nel *periodo refrattario relativo*: uno stimolo da origine ad un PA di ampiezza inferiore
- È necessario un tempo di recupero dei canali (5-10 ms) per la generazione di un *secondo* PA
- Il periodo refrattario totale (5-10 ms) impone un limite alla *frequenza di scarica* dei PA che può essere al massimo di *200-100 impulsi al secondo*



periodo refrattario assoluto (molto breve; ≈ 1 ms)

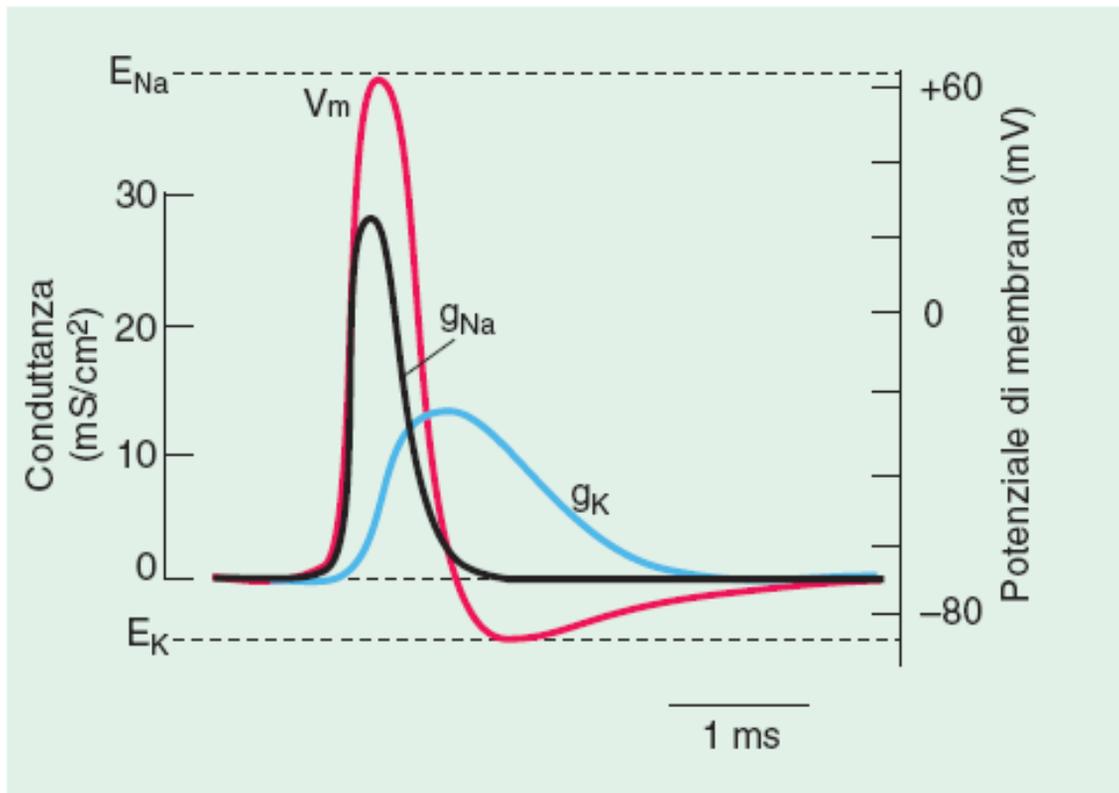
- non è possibile evocare alcun potenziale d'azione

periodo refrattario relativo (prolungato)

- aumentando la corrente di stimolazione è possibile generare potenziali d'azione di ampiezza inferiore che recuperano gradualmente la loro ampiezza all'aumentare dell'intervallo tra la 1a e la 2a stimolazione

- il ***periodo refrattario*** ha un ruolo fisiologico molto importante nella trasmissione di segnali nervosi.
- condiziona la ***frequenza*** (f) alla quale possono essere evocati e propagati ***treni di potenziali d'azione***.
- un neurone che ha un periodo refrattario (t_r) complessivo di 10 ms non può generare treni di potenziali d'azione con frequenze superiori a 100 impulsi/s ($f = 1/t_r$).

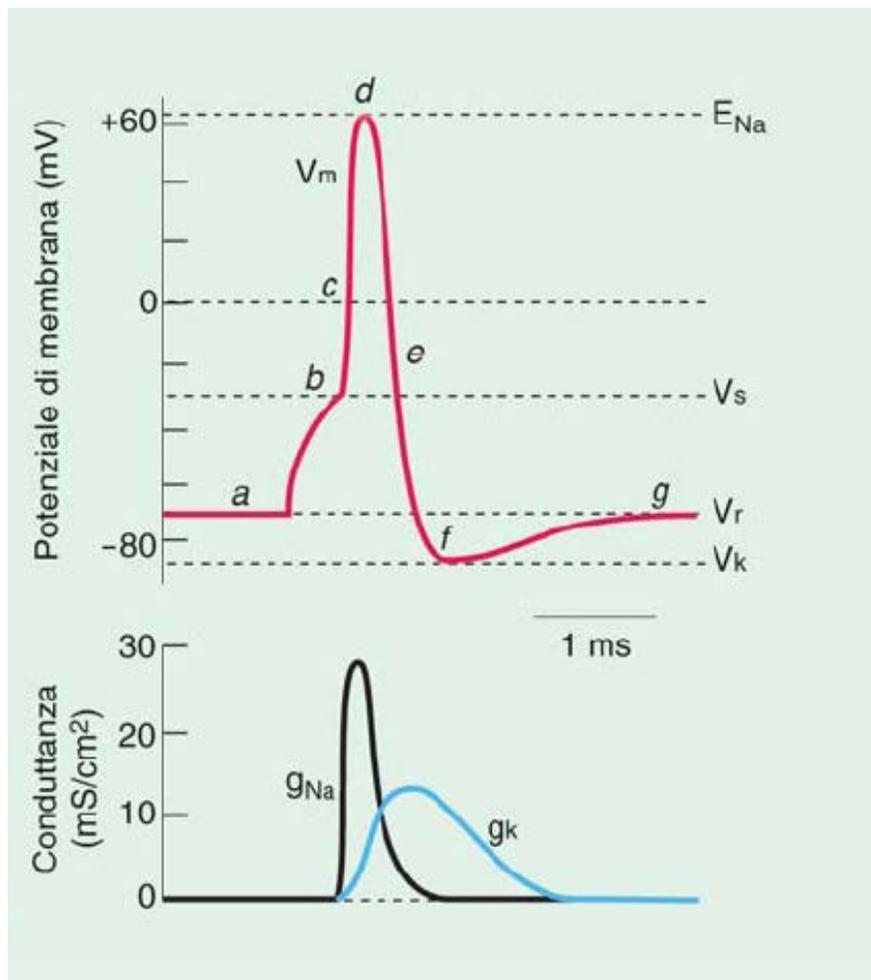
Il PA è causato dall'*aumento transiente e sequenziale* delle *conduttanze* al Na^+ e al K^+



Ipotesi del Na^+ :

- durante il PA avviene un aumento incontrollato della conduttanza al Na^+ che porta, per un breve periodo, V_m al potenziale di equilibrio del Na^+ ($E_{\text{Na}} = +63 \text{ mV}$)
- i canali del Na^+ (voltage dipendenti) dopo una breve apertura si *inattivano* ed i canali del K^+ (voltage dipendenti) si aprono con *ritardo*. I due eventi sono responsabili della fase di discesa del p.a. che raggiunge il valore di E_{K} (-85 mV, *potenziale postumo*) prima di ritornare al valore di riposo

• Gli eventi ionici del potenziale d'azione



- a)** a riposo i canali Na^+ sono quasi tutti chiusi, V_m (potenziale di riposo) è determinato dalla permeabilità al K^+
- a-b)** la capacità di membrana si carica (a seguito della corrente di stimolazione) fino a raggiungere il potenziale soglia, al quale si aprono i primi canali del Na^+
- b)** avvicinandosi alla soglia, g_{Na} aumenta. Al potenziale di soglia l'ingresso di Na^+ supera l'uscita di K^+
- b-c)** depolarizzazione **autorigenativa**
- c-d)** i canali del Na^+ sono quasi tutti aperti. Avvicinandosi a E_{Na} la f.e.m del Na^+ ($V_m - E_{Na}$) diminuisce, fino ad arrivare all'eccedenza (**d**): quando $V_m = E_{Na}$, la corrente di Na^+ si annulla
- d-e)** i canali del Na^+ si **inattivano** e si **aprono** i canali del K^+ . L'uscita di K^+ **ripolarizza** la membrana

- f) il potenziale di membrana V_m raggiunge il valore del potenziale di equilibrio del potassio ($V_m = E_K$). A questo valore di potenziale, i canali del K^+ si chiudono (solo una piccola frazione rimane aperta)
- f-g) g_K si riduce e V_m torna al valore di riposo

Inizia il periodo refrattario relativo che persiste per 5-10 ms, durante il quale il PA non può essere evocato interamente

La **pompa Na^+/K^+ -ATPasica** mantiene inalterate le concentrazioni di Na^+ e K^+ dentro la cellula che cambiano continuamente durante i PA

Flussi di Na^+ e K^+ che determinano l'andamento temporale del potenziale d'azione

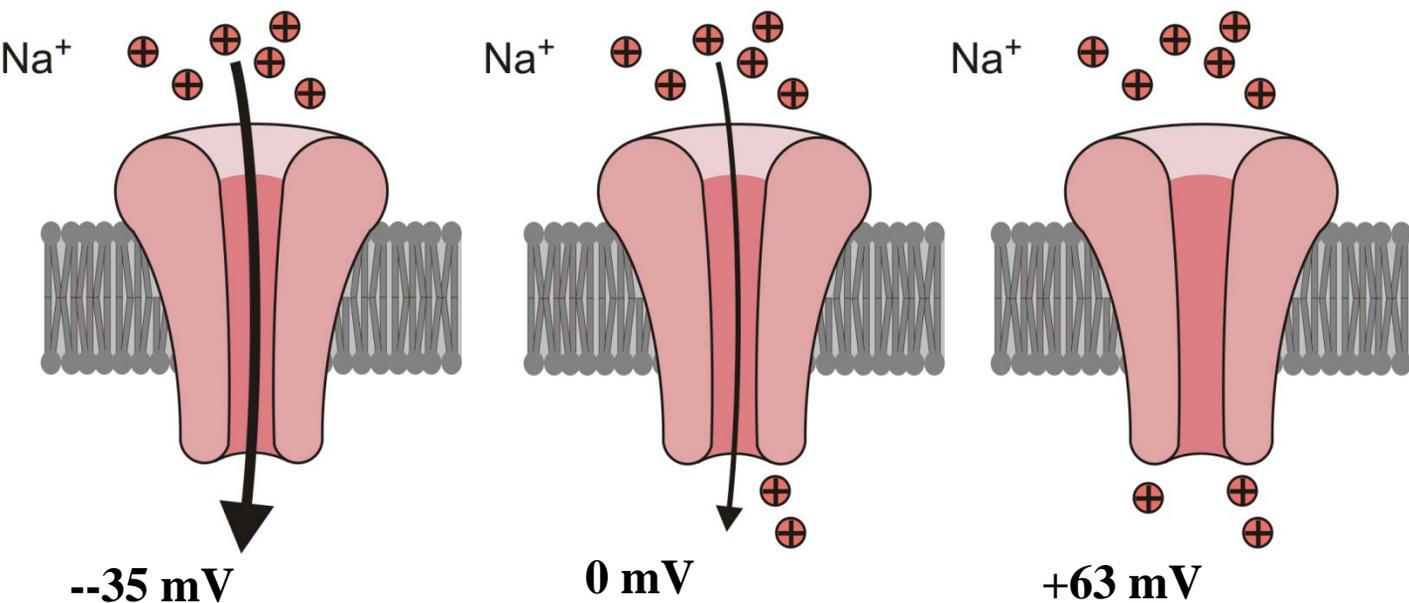
I flussi entranti di Na^+

Il singolo canale (s.c.) aperto diventa permeabile agli ioni che si muovono proporzionalmente alla **f.e.m.** che agisce su di essi:

Nel caso del Na^+ : $\text{f.e.m.} = V_m - E_{\text{Na}}$ con $E_{\text{Na}} = +63\text{mV}$

La corrente totale di Na^+ che entra nella cellula dipende oltre che dalla f.e.m. anche dal numero di canali aperti ad un certo potenziale, ovvero dalla conduttanza (g_{Na}):

$$I_{\text{Na}} = g_{\text{Na}} (V_m - E_{\text{Na}})$$



10% di canali aperti
f.e.m. elevata
flussi di Na^+ **elevati** (s.c.)
 I_{Na} entrante **bassa**

80% di canali aperti
f.e.m. media
flussi di Na^+ **medi** (s.c.)
 I_{Na} entrante **massima**

100% di canali aperti
f.e.m. zero
flussi di Na^+ **nulli** (s.c.)
 I_{Na} entrante **zero**

I flussi uscenti di K^+

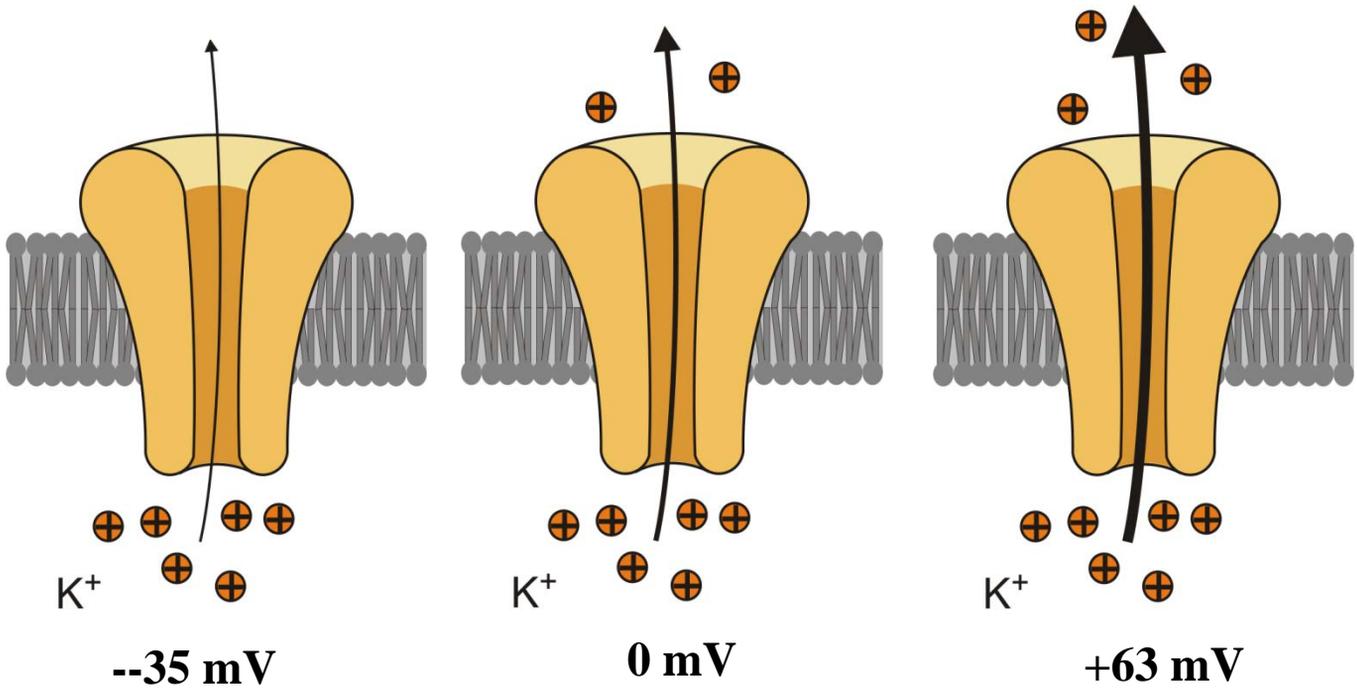
Nel caso del K^+ :

$$\text{f.e.m.} = V_m - E_K$$

con $E_K = -75 \text{ mV}$

Il flusso totale di ioni K^+ è descritto dalla:

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



4% di canali aperti
f.e.m. **bassa**
flussi di K^+ **bassi** (s.c.)
 I_K uscente **bassa**

70% di canali aperti
f.e.m. **media**
flussi di K^+ **medi** (s.c.)
 I_K uscente **media**

100% di canali aperti
f.e.m. **alta**
flussi di K^+ **alti** (s.c.)
 I_K uscente **alta**

Riepilogo

- La **fase crescente** del p.a. (**depolarizzazione**) è determinata dal:
 - 1) **rapido e massivo ingresso** di Na^+ attraverso i canali che si aprono in numero crescente all'aumentare del potenziale
 - 2) durante questa fase c'è una **ritardata e debole uscita** di K^+
 - 3) al picco del PA tutti i canali del Na^+ sono aperti ma **il flusso di Na^+** è nullo perché il flusso di ioni entranti dovuto all'azione del potenziale elettrochimico è perfettamente bilanciato dal flusso uscente dovuto al potenziale di membrana (+63 mV) che spinge il Na^+ fuori dalla cellula.
- La **fase decrescente** del PA (**ripolarizzazione**) è determinata da:
 - 1) **aumento dei flussi uscenti** di K^+ che crescono durante la fase di depolarizzazione (aumento del numero di canali aperti e aumentata f.e.m.). Il K^+ uscente rende l'interno della cellula più negativo e il potenziale di membrana diminuisce
 - 2) **diminuzione dei flussi entranti** di Na^+ . Dopo il picco, i flussi di Na^+ prima riaumentano e poi diminuiscono man mano che il potenziale ritorna verso valori negativi
 - 3) i canali del Na^+ in parte si **richiudono** e in parte **si inattivano**

Figura 3.4 Esempi di potenziali d'azione registrati da tre tipi di cellule eccitabili diverse: motoneurone (A), cellula cromaffine della midollare surrenale (B) e cellula ventricolare cardiaca (C).

