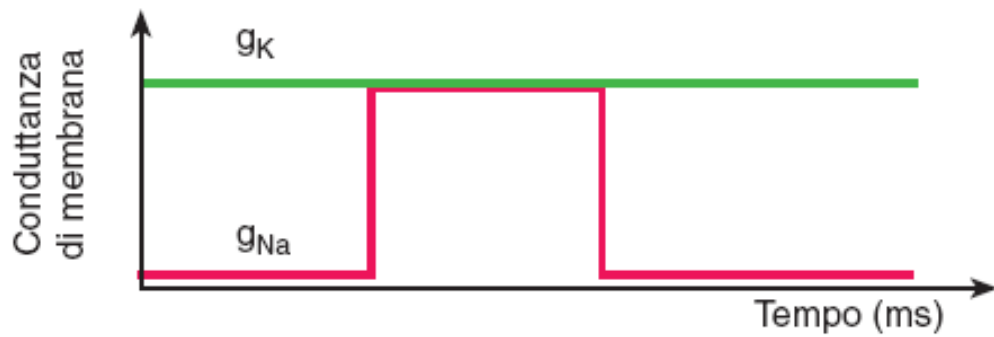


## 1.3 GENESI DEL POTENZIALE D'AZIONE

COME SI MODIFICA  $V_m$  QUANDO LE  
CONDUTTANZE AL  $\text{Na}^+$  E AL  $\text{K}^+$  VARIANO NEL  
TEMPO?

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

**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)



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

**a riposo:  $P_{Cl} = 0$**

**$P_{Na} / P_K = 0.01$**

$$[K^+]_e = 4 \text{ mM}$$

$$[Na^+]_e = 145 \text{ mM}$$

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

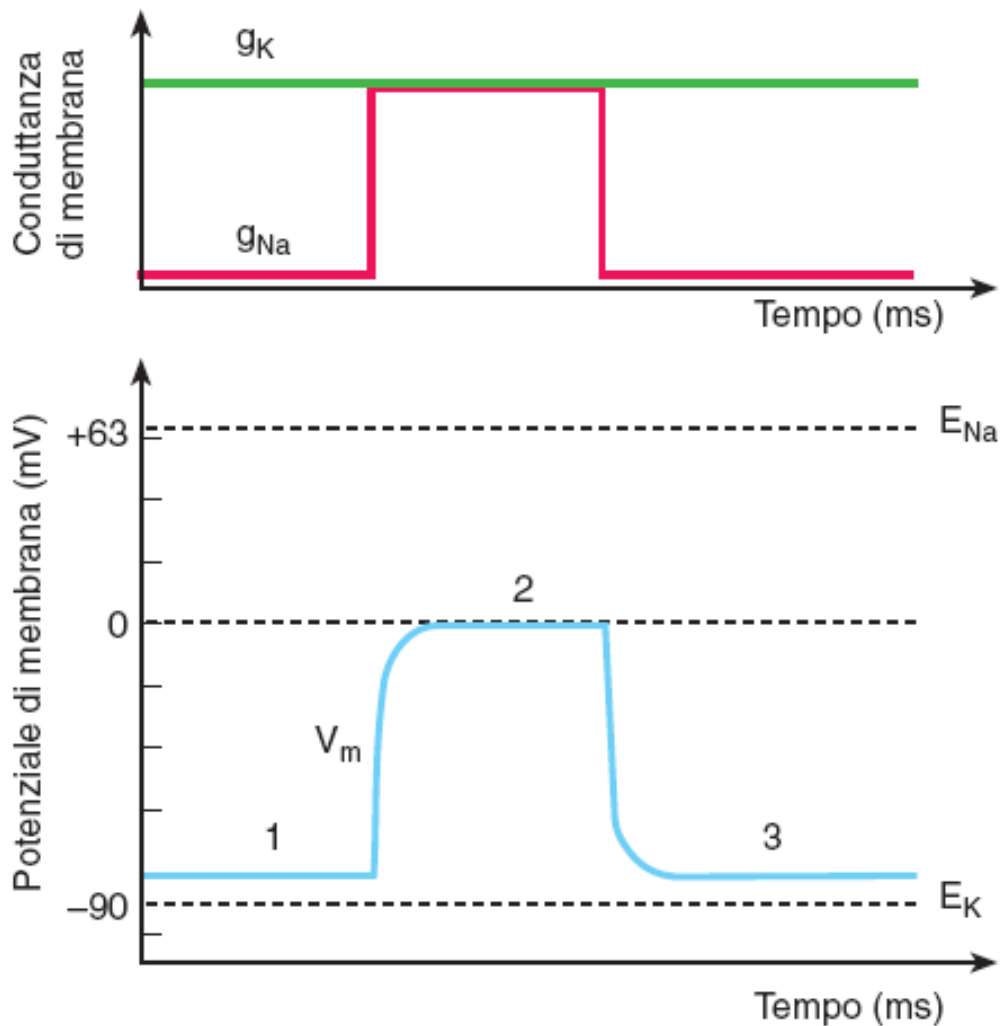
$$[Na^+]_i = 12 \text{ mM}$$

$$V_m = 58 \text{ mV} \log \frac{4 + 0.01 \times 145}{140 + 0.01 \times 12} = -82 \text{ mV}$$

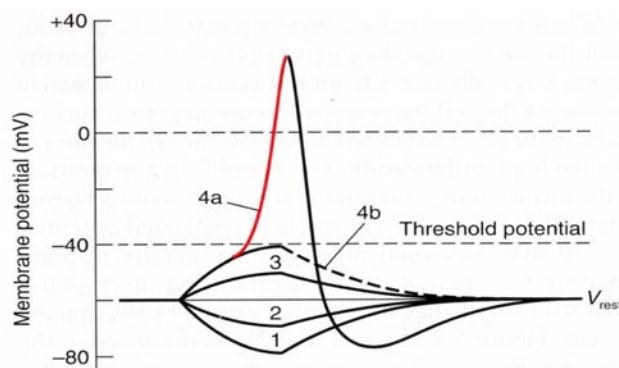
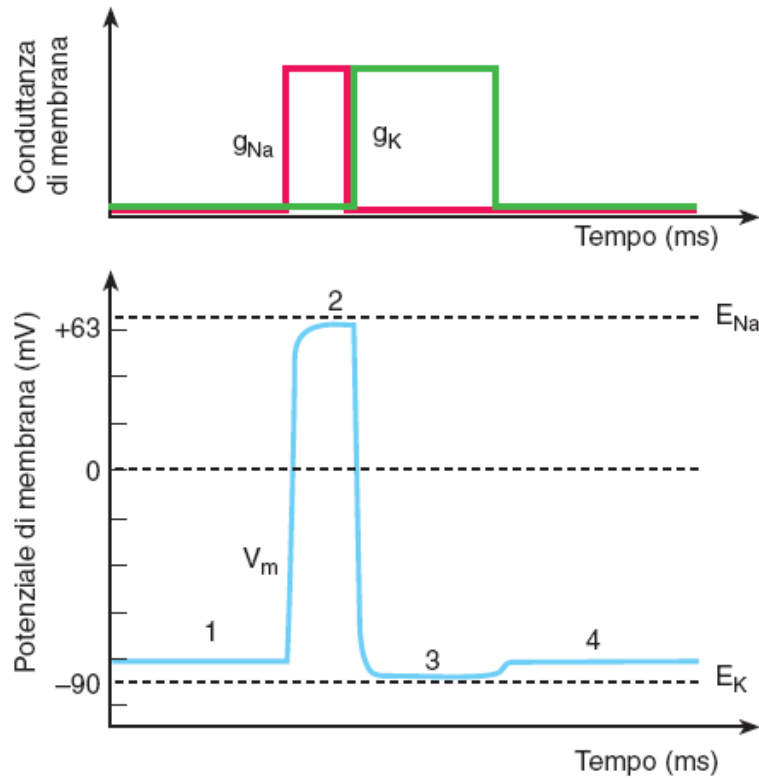
**durante l'attività cellulare:  $P_{Na} / P_K = 1$**

$$V_m = 58 \log \frac{4+145}{140+12} = -0.5 \text{ mV}$$

**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)

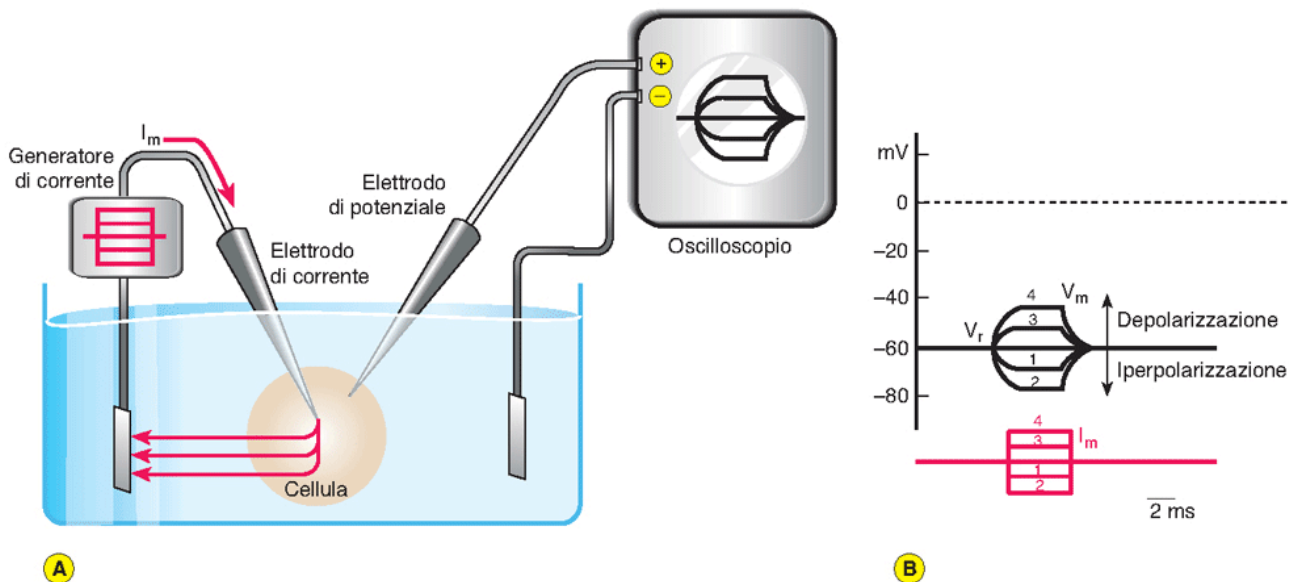


2° Esempio: membrana parzialmente permeabile al  $K^+$  e poco al  $Na^+$  a riposo che diventa prima *molto* permeabile al  $Na^+$  (per un breve intervallo) e poi *molto* permeabile al  $K^+$  (per un intervallo più lungo)



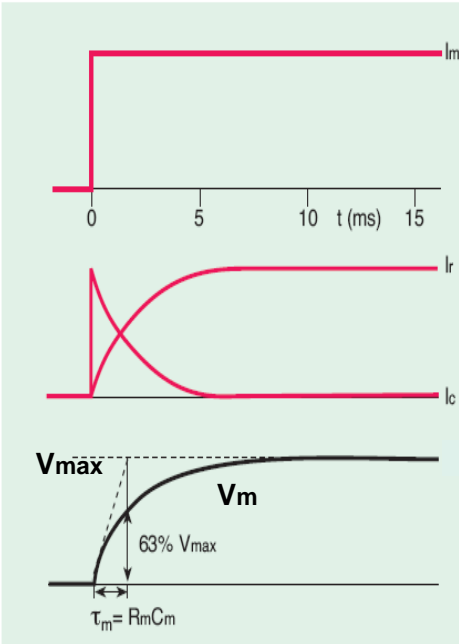
## **RISPOSTE ATTIVE E RISPOSTE PASSIVE**

# 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 ( $\tau$ )

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

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



## 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:

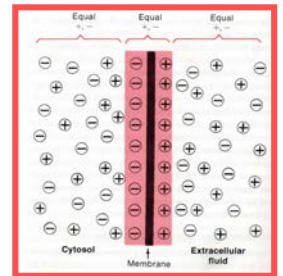
$$C = \epsilon \epsilon_0 S / d$$

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

$$\epsilon_0 = 5$$

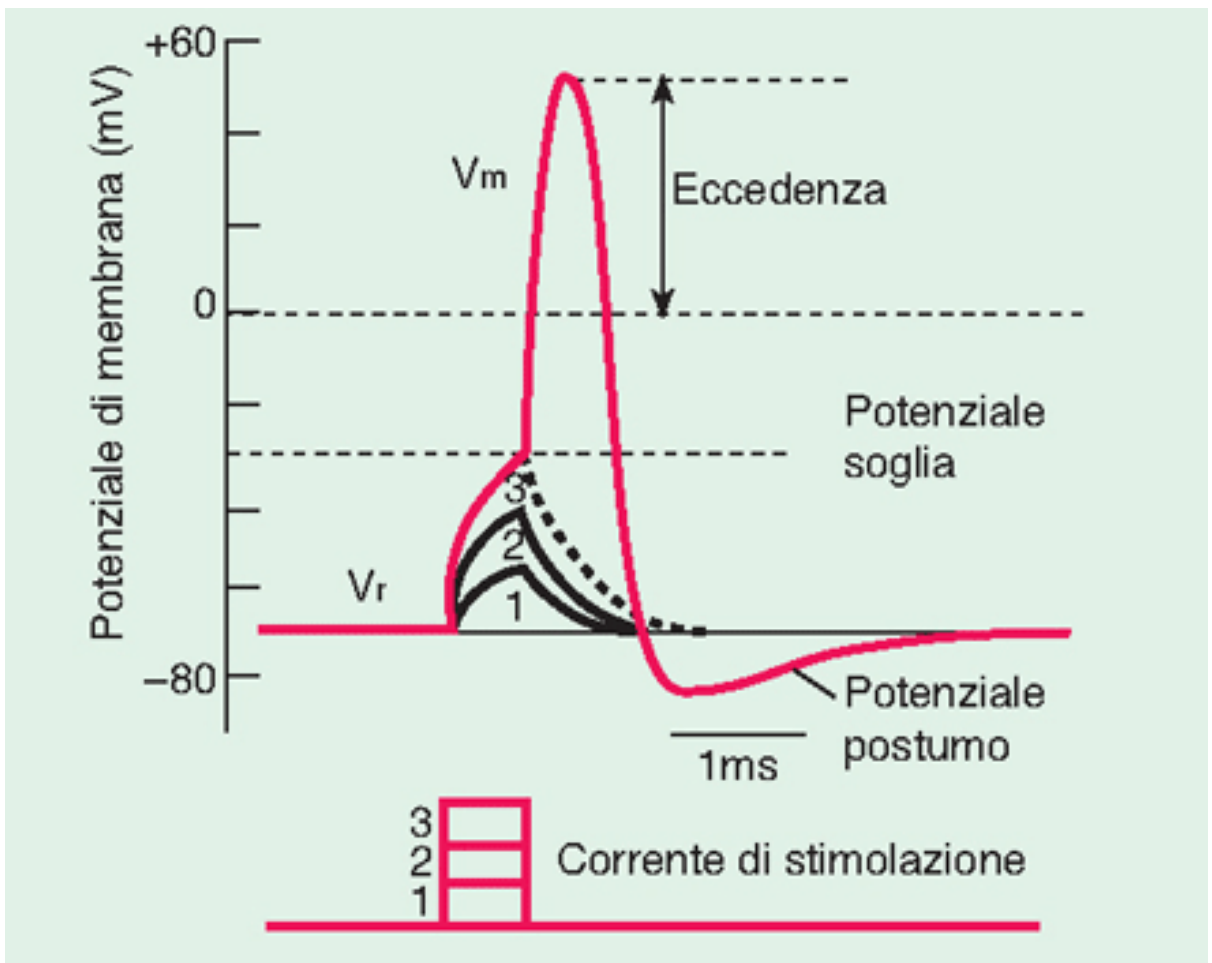
$$d = 50 \text{ (Å)}$$

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



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

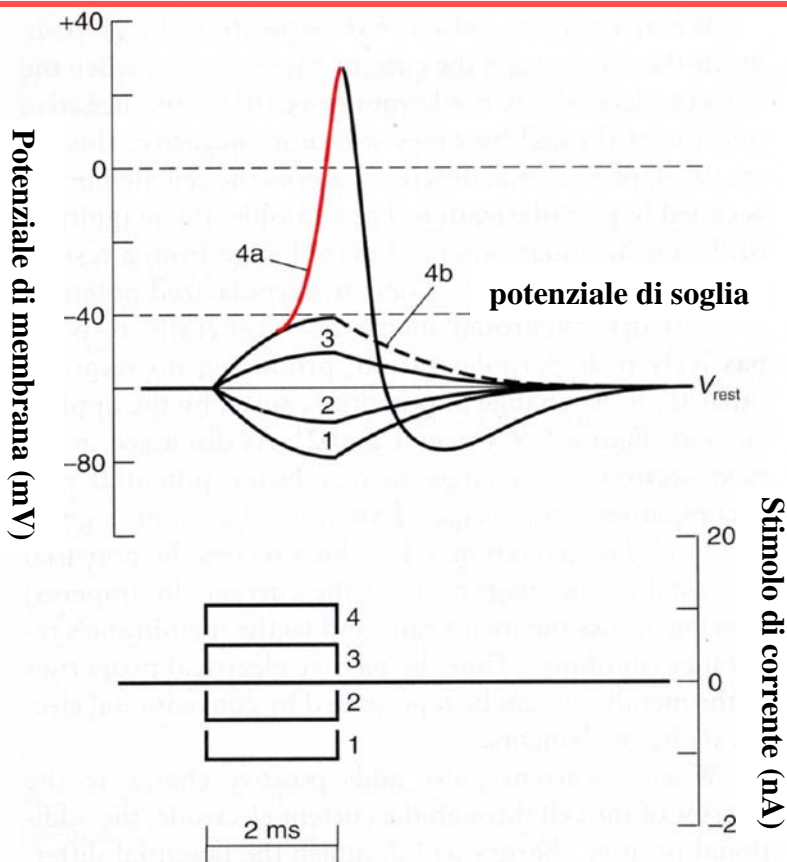
Per questo motivo il PA è un fenomeno rigenerativo del tipo "tutto o nulla".

## 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  $\text{Na}^+$  che depolarizzano ulteriormente la membrana e attivano in cascata altri canali del  $\text{Na}^+$ .

# 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:

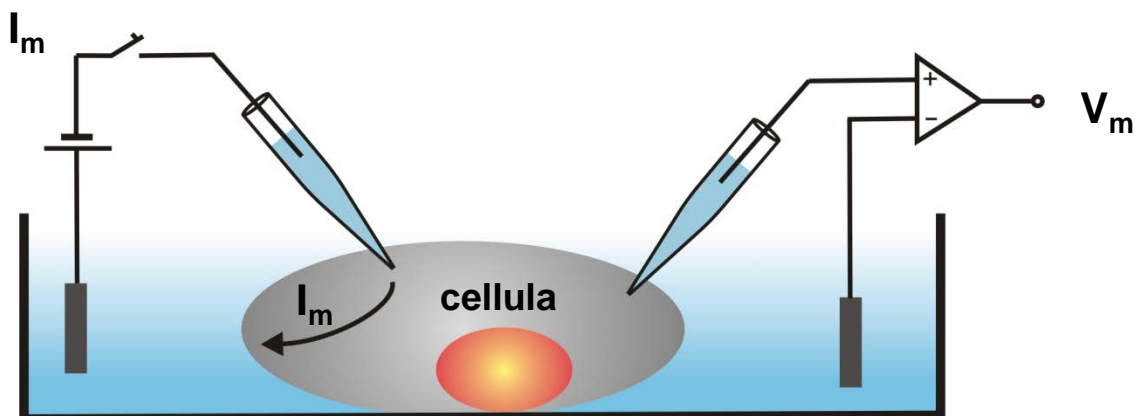
**depolarizzazione**

(fornisco cariche + al citoplasma, risposta passiva)

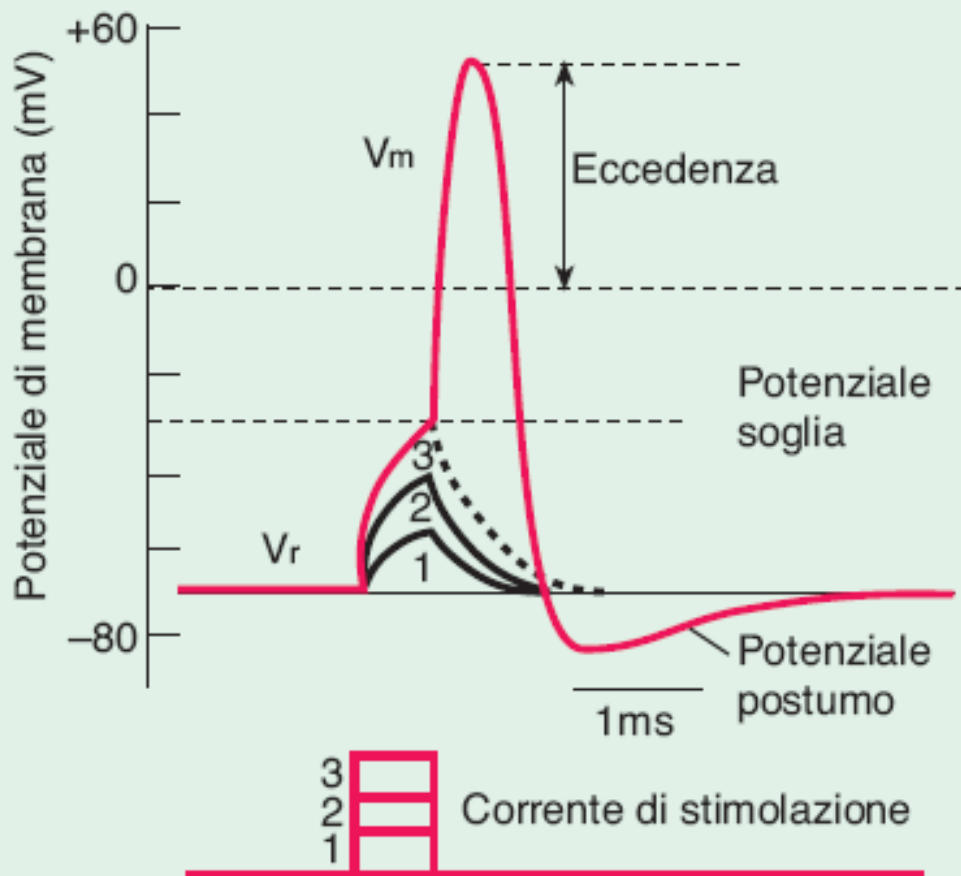
Traccia 4:

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

**potenziale d'azione**



- La “soglia” del potenziale d'azione

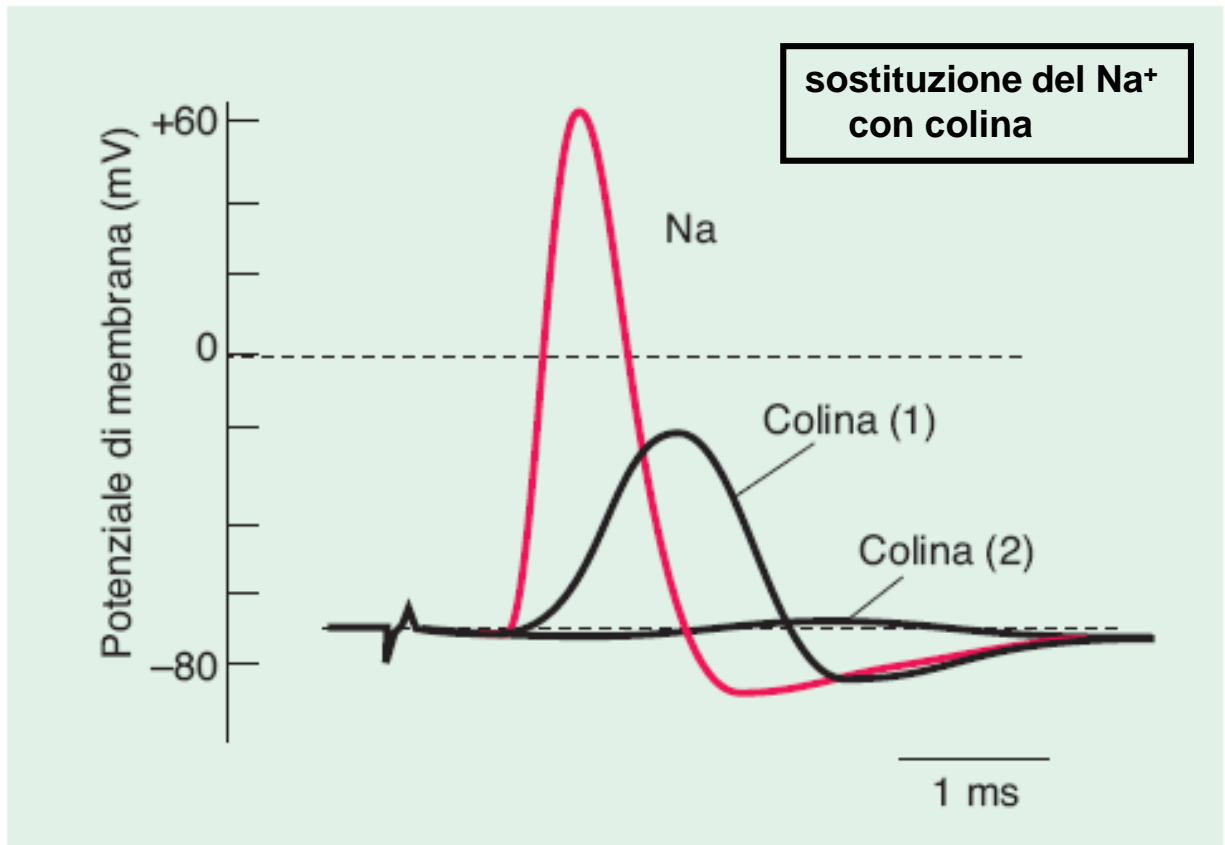


3 - Impulsi di corrente depolarizzanti di ampiezza moderata (1, 2) producono *depolarizzazioni passive* della membrana (1, 2). Il neurone genera un *potenziale d'azione* (PA) se lo stimolo (3) porta  $V_m$  oltre un valore *soglia* ( $V_s$ )

$V_s$  può variare tra -50 e -30 mV

E' un fenomeno rigenerativo del tipo “*tutto o niente*”

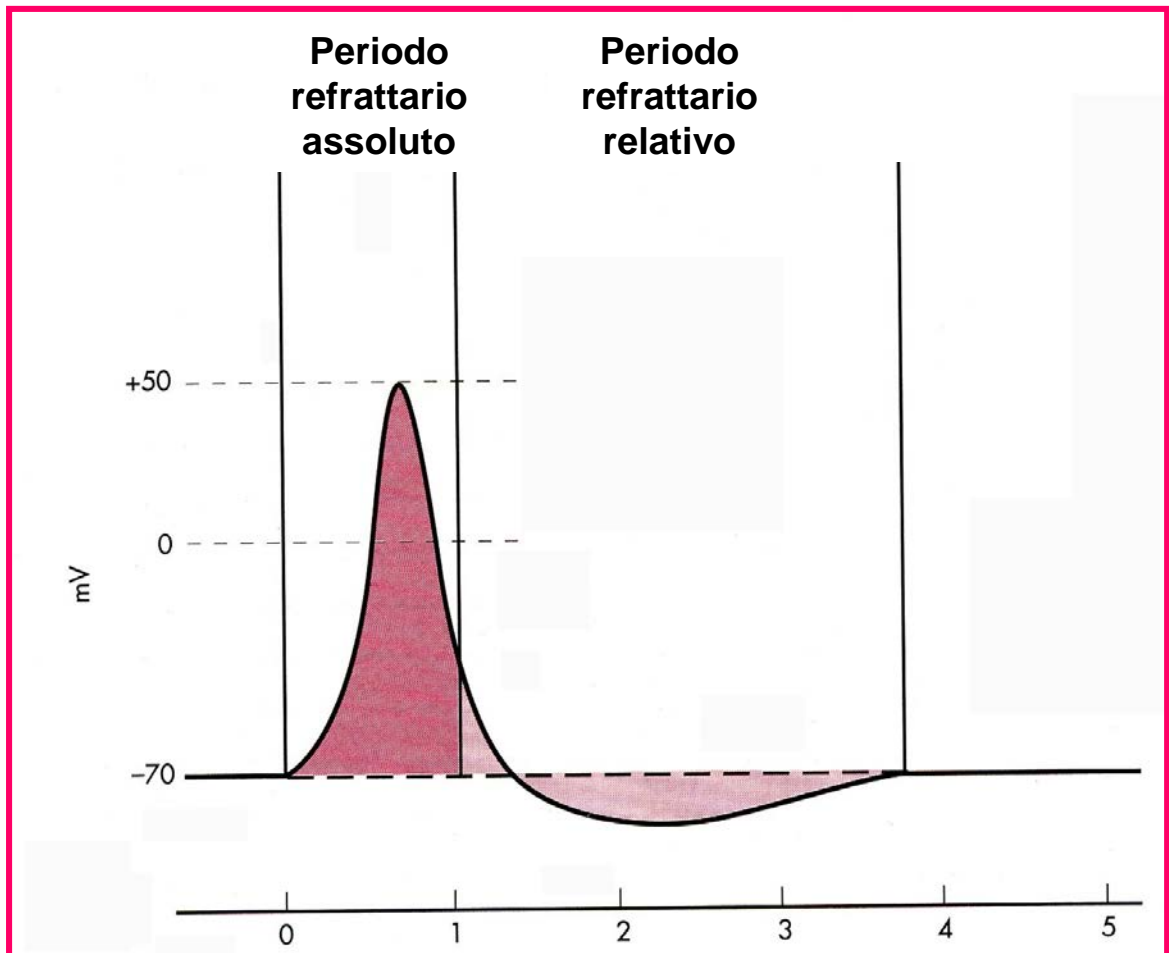
L'*ampiezza* del PA dipende dalla concentrazione di *Na<sup>+</sup> extracellulare*



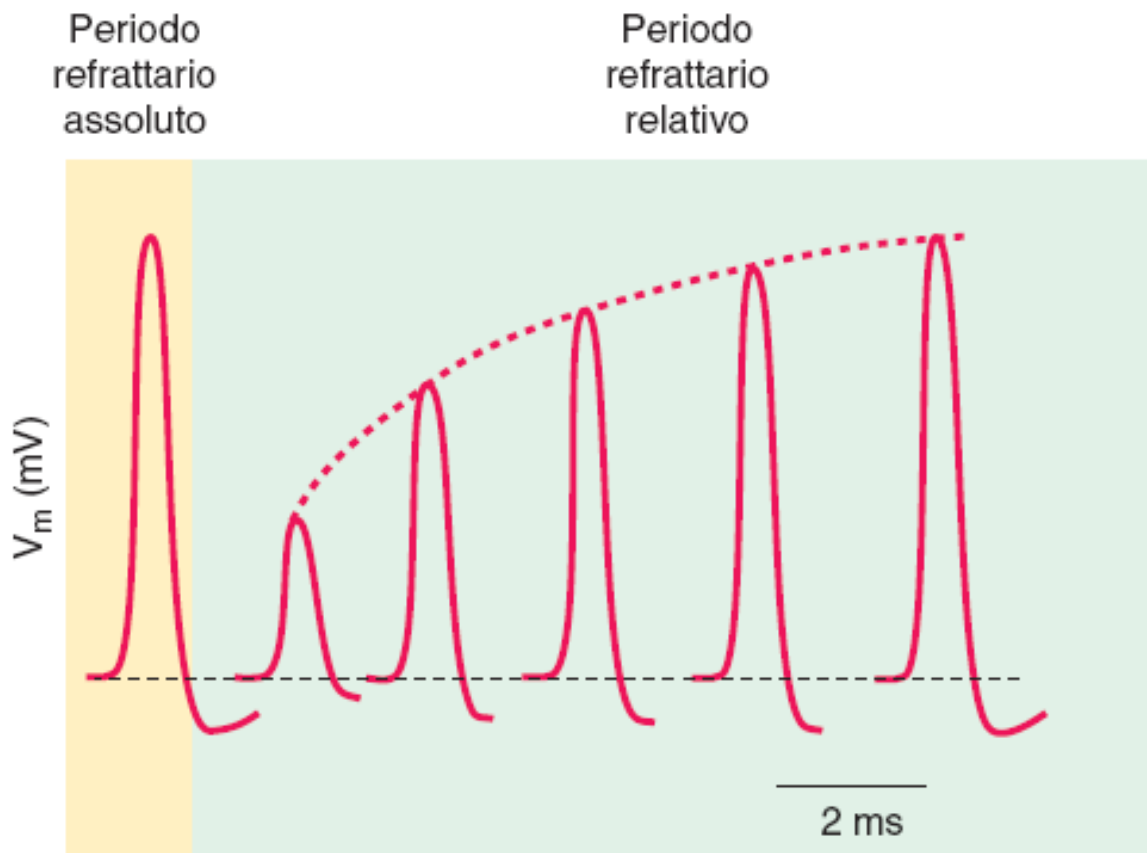
il Na<sup>+</sup> è la specie ionica maggiormente responsabile della fase di depolarizzazione del PA, infatti:

- 1)  $[Na^+]_o = 12 [Na^+]_i$  , da cui:  $E_{Na} \sim +63 \text{ mV}$
- 2) l'ingresso di Na<sup>+</sup> 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;  $\approx 1$  ms)

- non è possibile evocare alcun potenziale d'azione

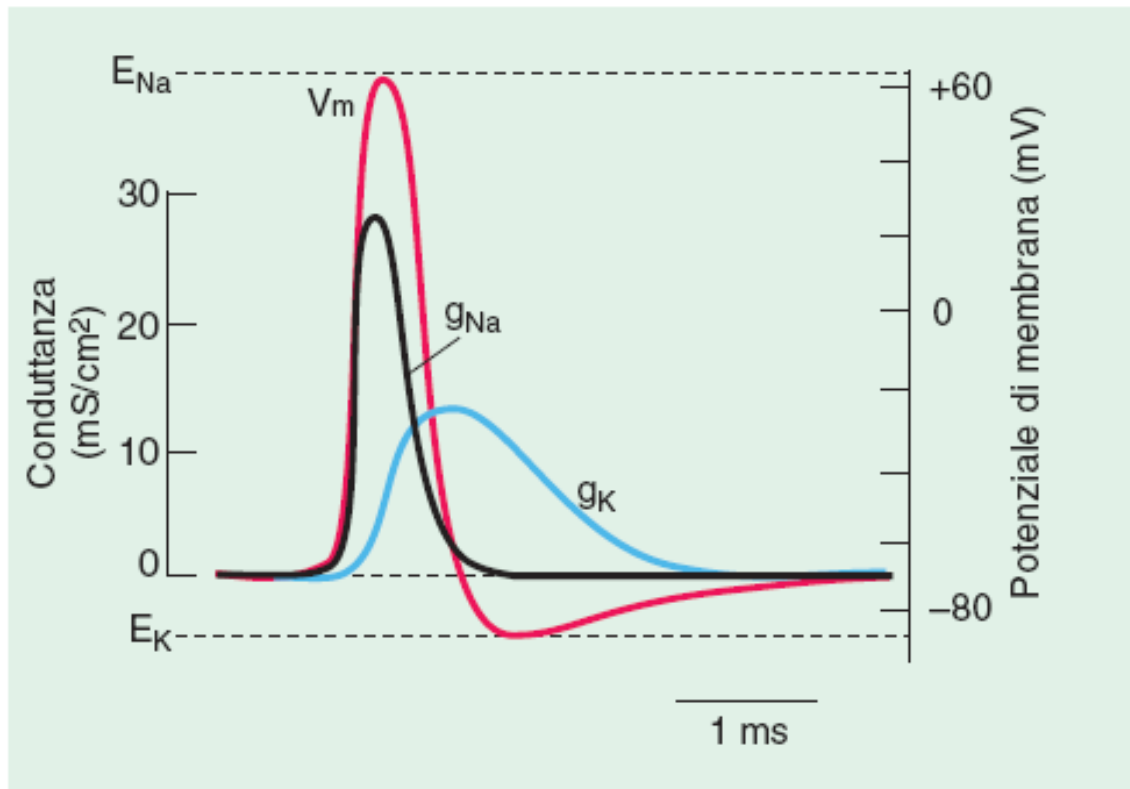
***periodo refrattario relativo*** (prolungato)

- 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 ( $f = 1/t_r$ ).



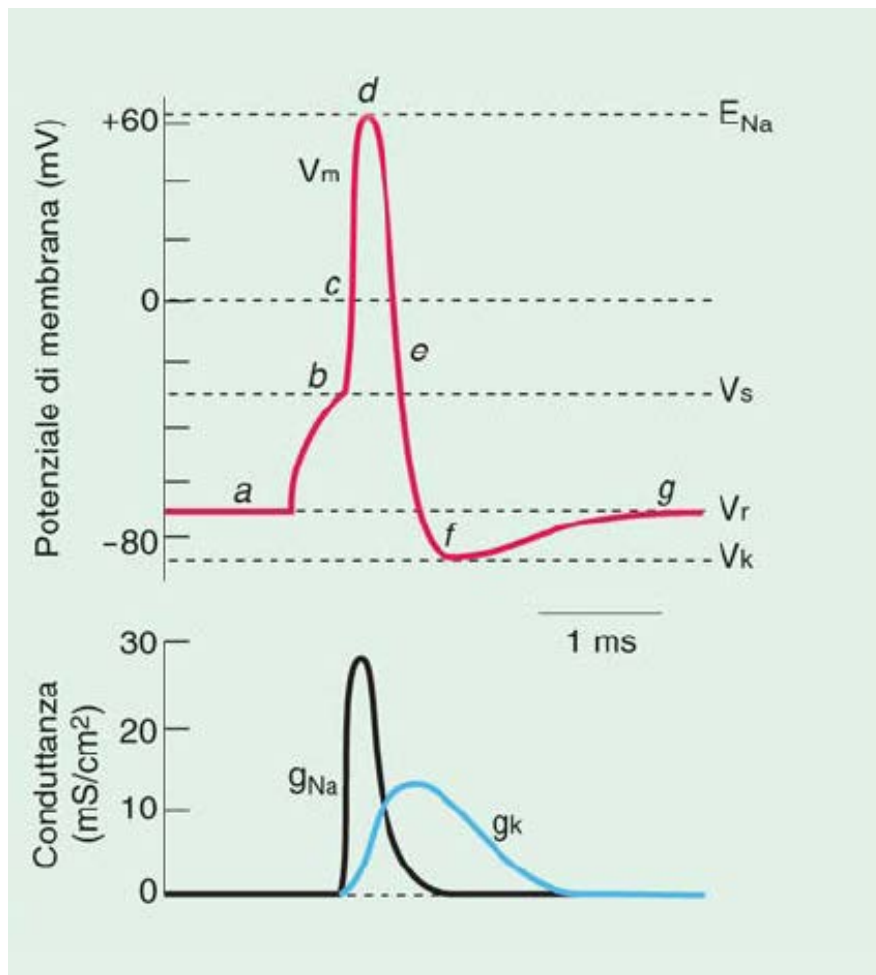
Il PA è causato dall'*aumento transiente e sequenziale* delle *conduttanze* al  $\text{Na}^+$  e al  $\text{K}^+$



### Ipotesi del $\text{Na}^+$ :

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

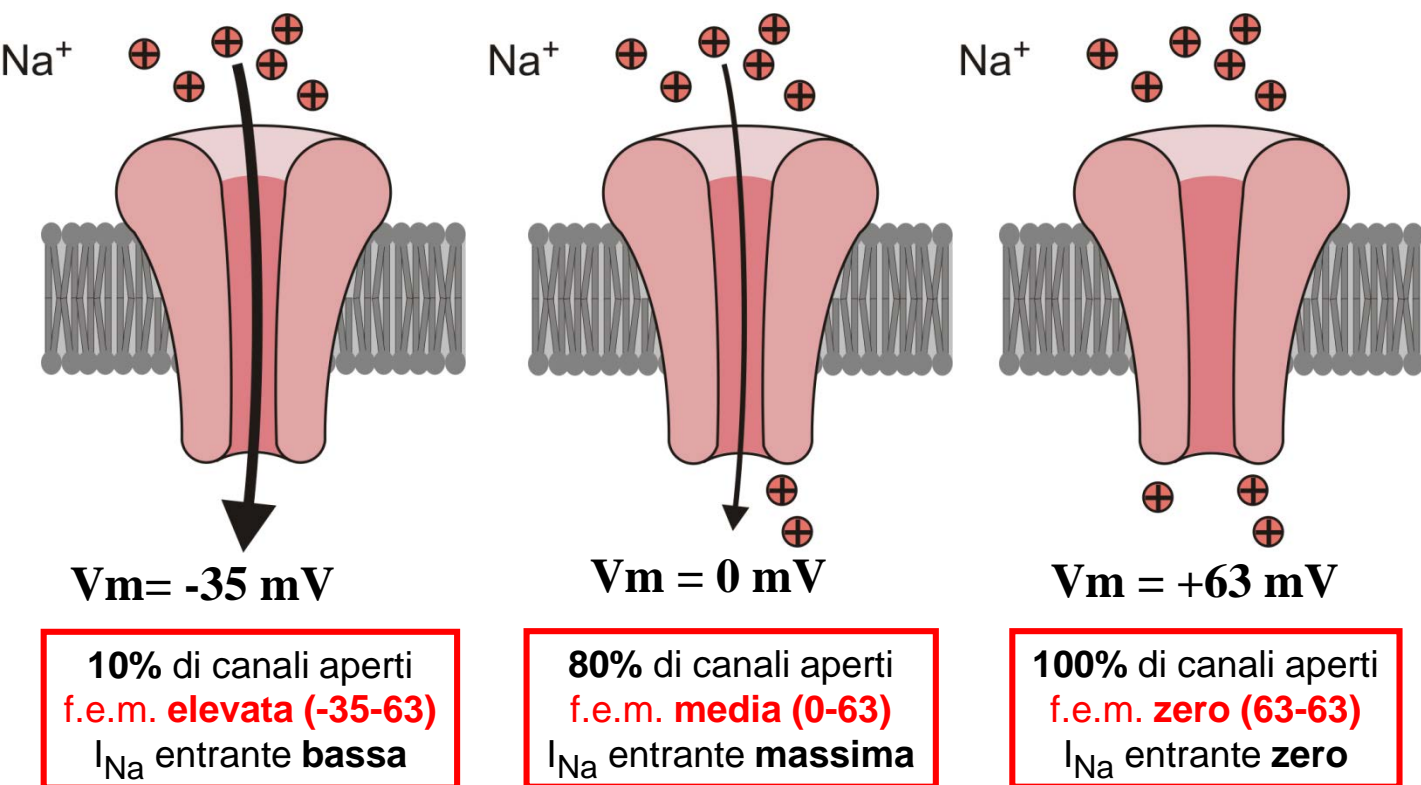
## I flussi entranti di $\text{Na}^+$

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

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

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

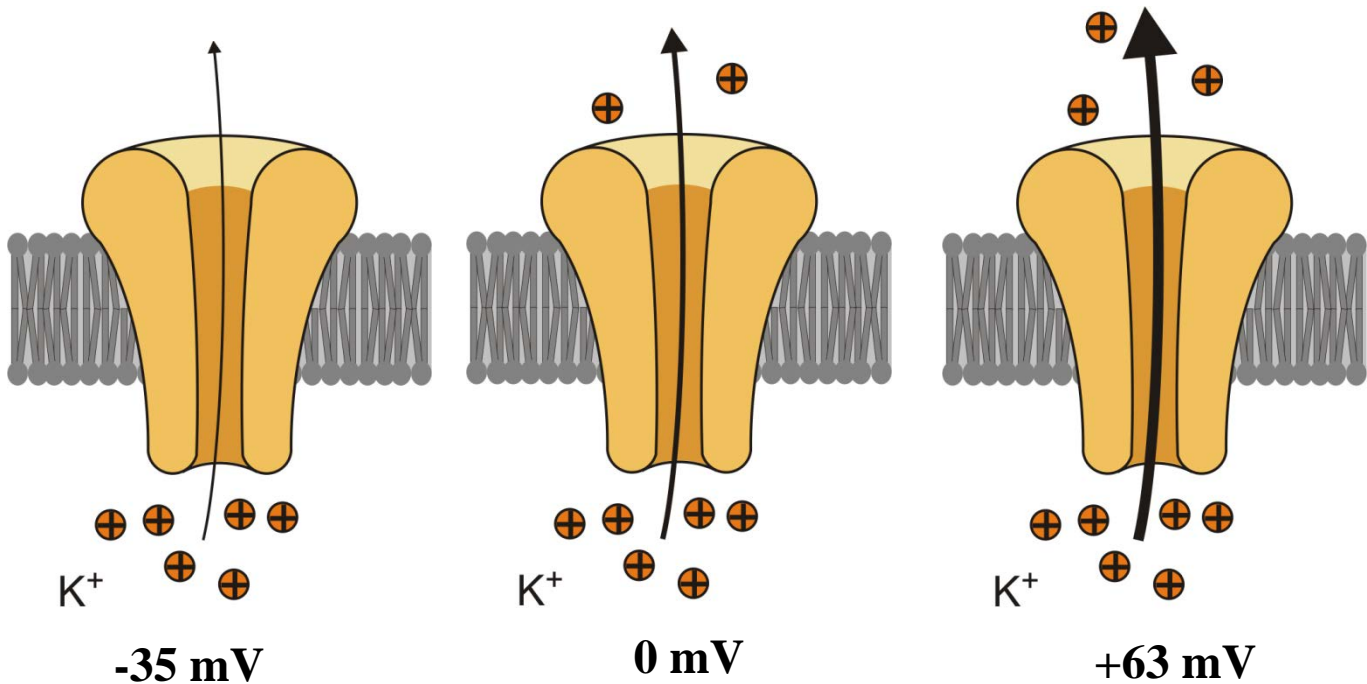


## I flussi uscenti di $K^+$

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**  $(-35+75)$   
 $I_K$  uscente **bassa**

70% di canali aperti  
f.e.m. **media**  $(0+75)$   
 $I_K$  uscente **media**

100% di canali aperti  
f.e.m. **alta**  $(63+75)$   
 $I_K$  uscente **alta**

## Riepilogo

- La **fase crescente** del p.a. (**depolarizzazione**) è determinata dal:
  - 1) **rapido e massivo ingresso** di  $\text{Na}^+$  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  $\text{K}^+$
  - 3) al picco del PA tutti i canali del  $\text{Na}^+$  sono aperti ma **il flusso di  $\text{Na}^+$**  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  $\text{Na}^+$  fuori dalla cellula.
- La **fase decrescente** del PA (**ripolarizzazione**) è determinata da:
  - 1) **aumento dei flussi uscenti** di  $\text{K}^+$  che crescono durante la fase di depolarizzazione (aumento del numero di canali aperti e aumentata f.e.m.). Il  $\text{K}^+$  uscente rende l'interno della cellula più negativo e il potenziale di membrana diminuisce
  - 2) **diminuzione dei flussi entranti** di  $\text{Na}^+$ . Dopo il picco, i flussi di  $\text{Na}^+$  prima diminuiscono man mano che il potenziale ritorna verso valori negativi
  - 3) i canali del  $\text{Na}^+$  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).

