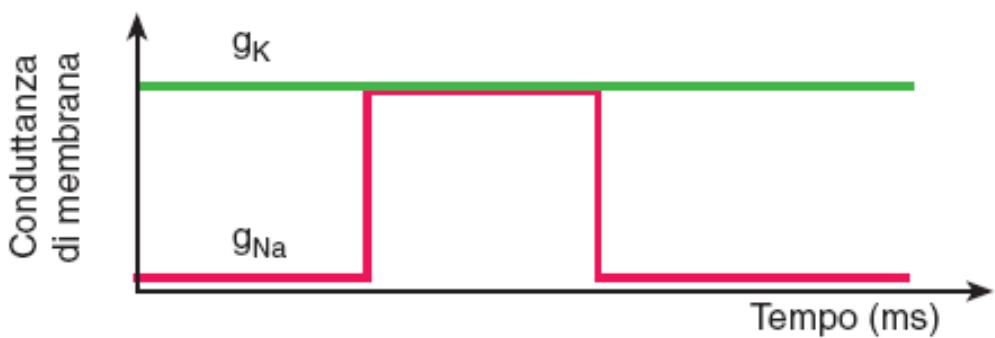


1.3 GENESI DEL POTENZIALE D'AZIONE

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

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

1º 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: $P_{Cl} = 0$ **$P_{Na} / P_K = 0.01$**

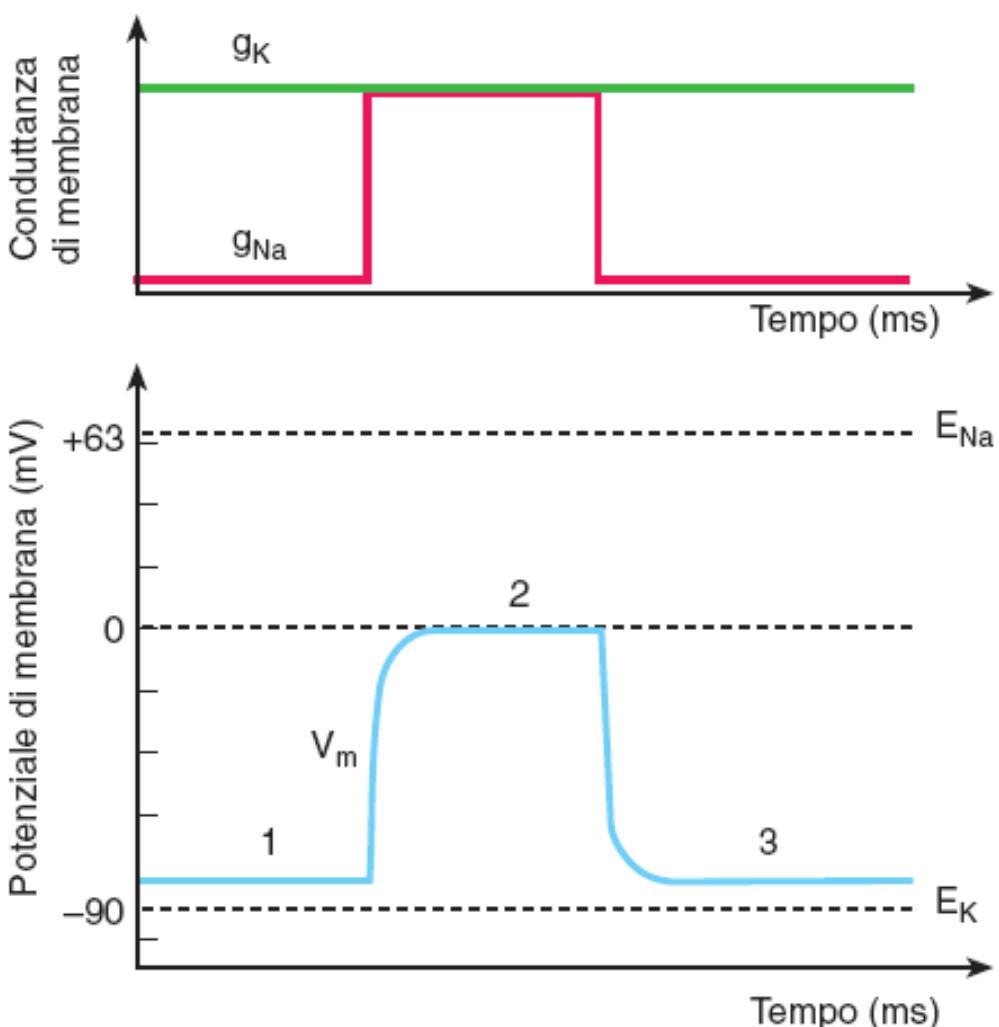
$$\begin{array}{ll} [K^+]_e = 4 \text{ mM} & [Na^+]_e = 145 \text{ mM} \\ [K^+]_i = 140 \text{ mM} & [Na^+]_i = 12 \text{ mM} \end{array}$$

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

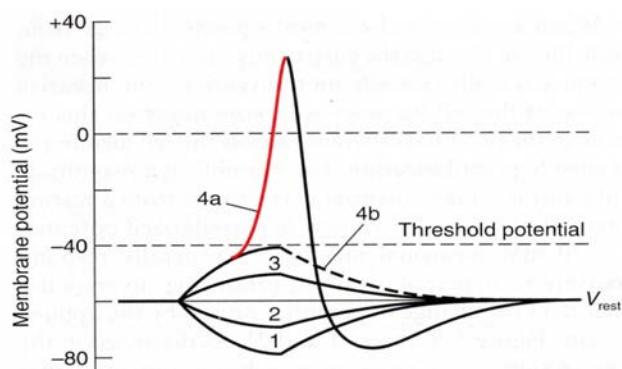
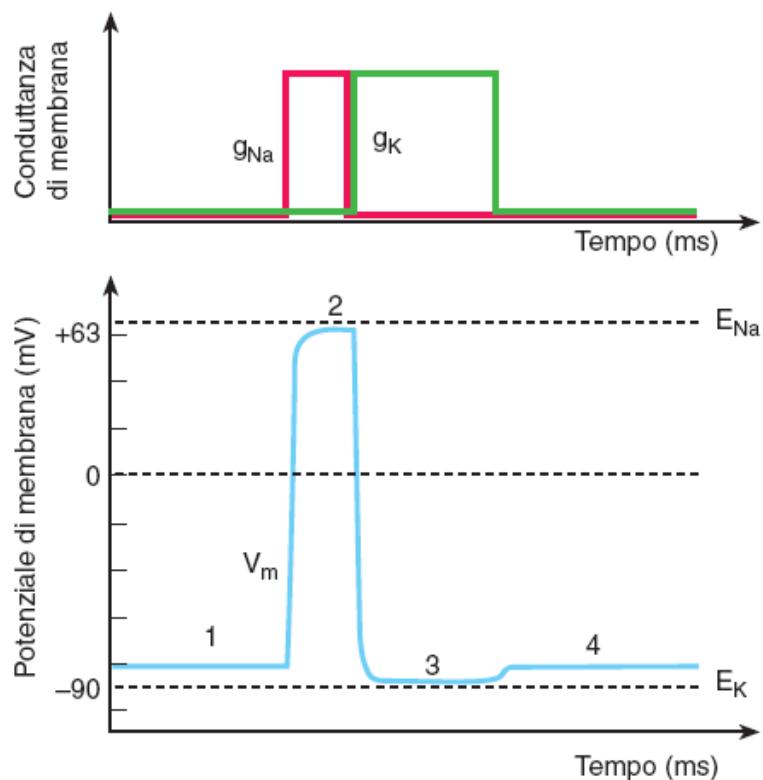
durante l'attività cellulare: $P_{Na} / P_K 1$

$$Vm= 58 \log \frac{4+145}{149+12} = -0.5 \text{ mV}$$

1º 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

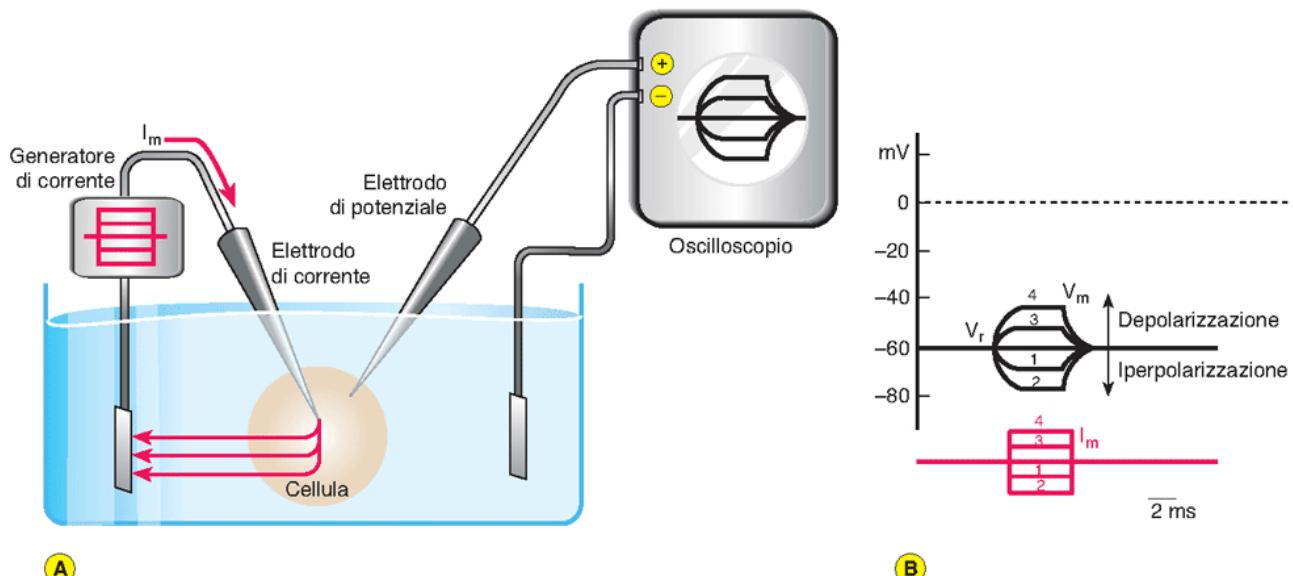
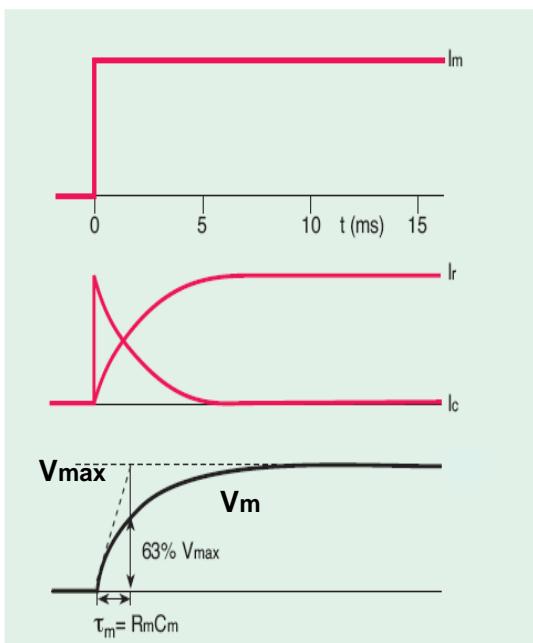


Figura 3.1 Proprietà passive di membrana di una cellula eccitabile. Il potenziale (V_m) e la corrente di membrana (I_m) sono misurati con microelettrodi diversi, disposti come indicato in A). Il generatore di corrente produce brevi stimoli di corrente crescenti (tracce rosse 3, 4 in B) o decrescenti (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 (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)

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

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

RESISTENZA DI MEMBRANA

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

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

CAPACITÀ DI MEMBRANA

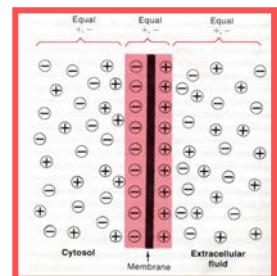
Per un condensatore ad armature piane e parallele:

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

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

$$\epsilon_0 = 5$$

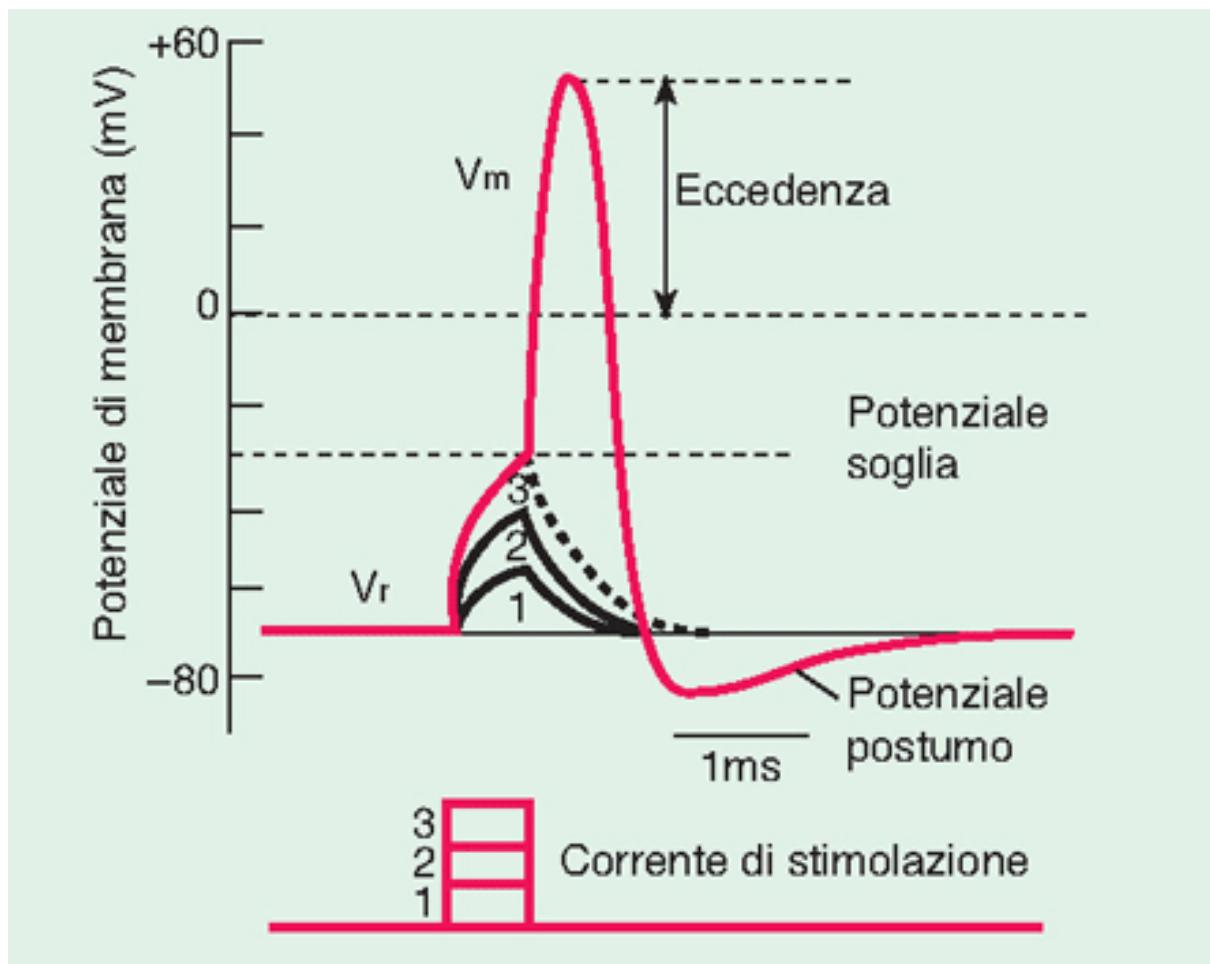
$$d = 50 \text{ (\AA)}$$



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

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

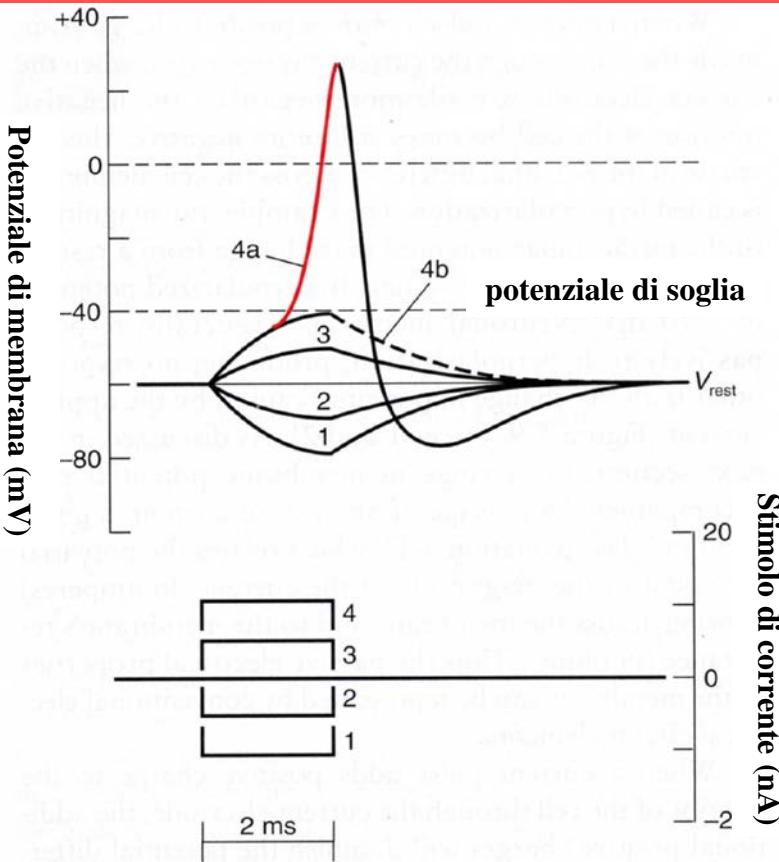
Per questo motivo il PA è un fenomeno rigenerativo del tipo "tutto o nulla".

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

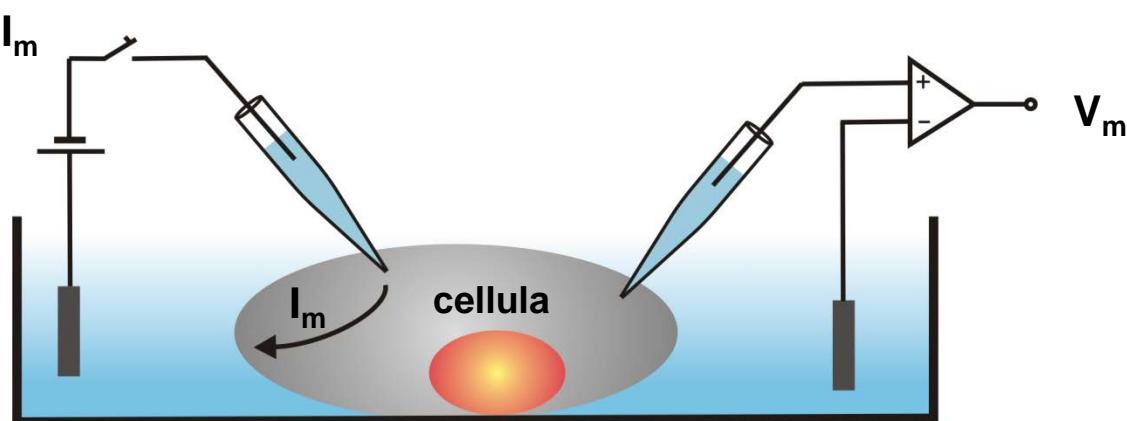
Se iniettiamo corrente (I_m) in un neurone per far variare V_m , cosa succede?



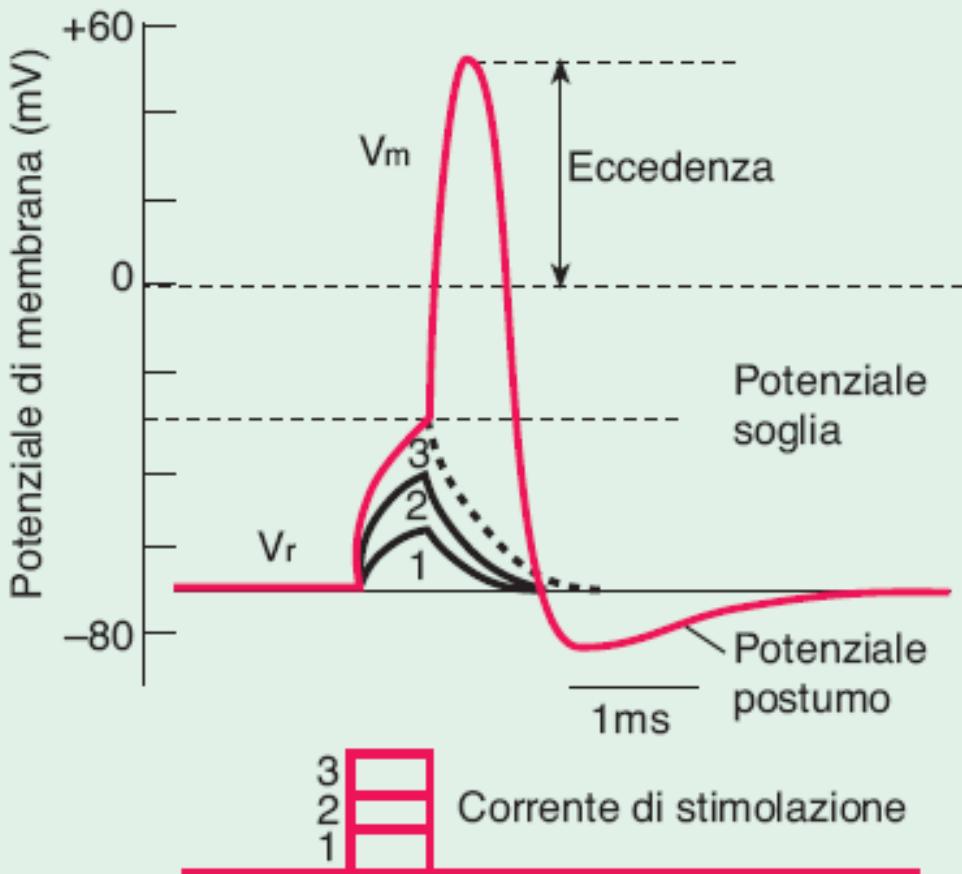
Tracce 1-2:
iperpolarizzazione
(rimuovo cariche + dal citoplasma, risposta passiva)

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

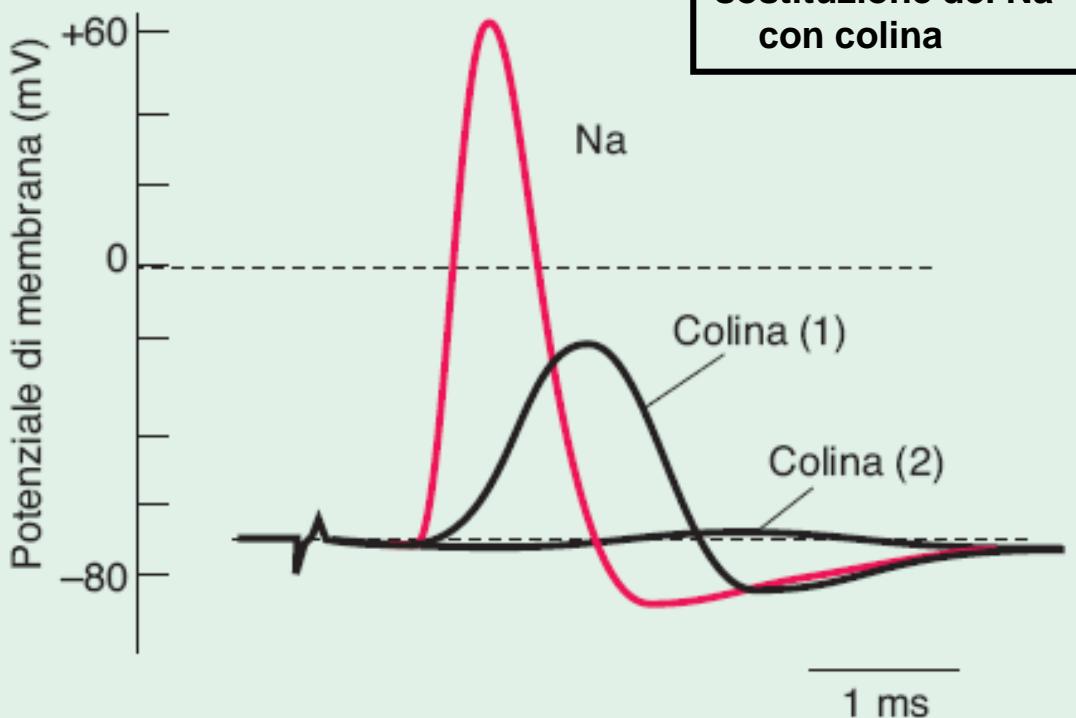


3 - Impulsi di corrente depolarizzanti di ampiezza moderata (1, 2) producono *depolarizzazioni passive* della membrana (1, 2). Il neurone genera un *potenziale d’azione (PA)* se lo stimolo (3) porta V_m oltre un valore *soglia* (V_s)

V_s può variare tra -50 e -30 mV

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

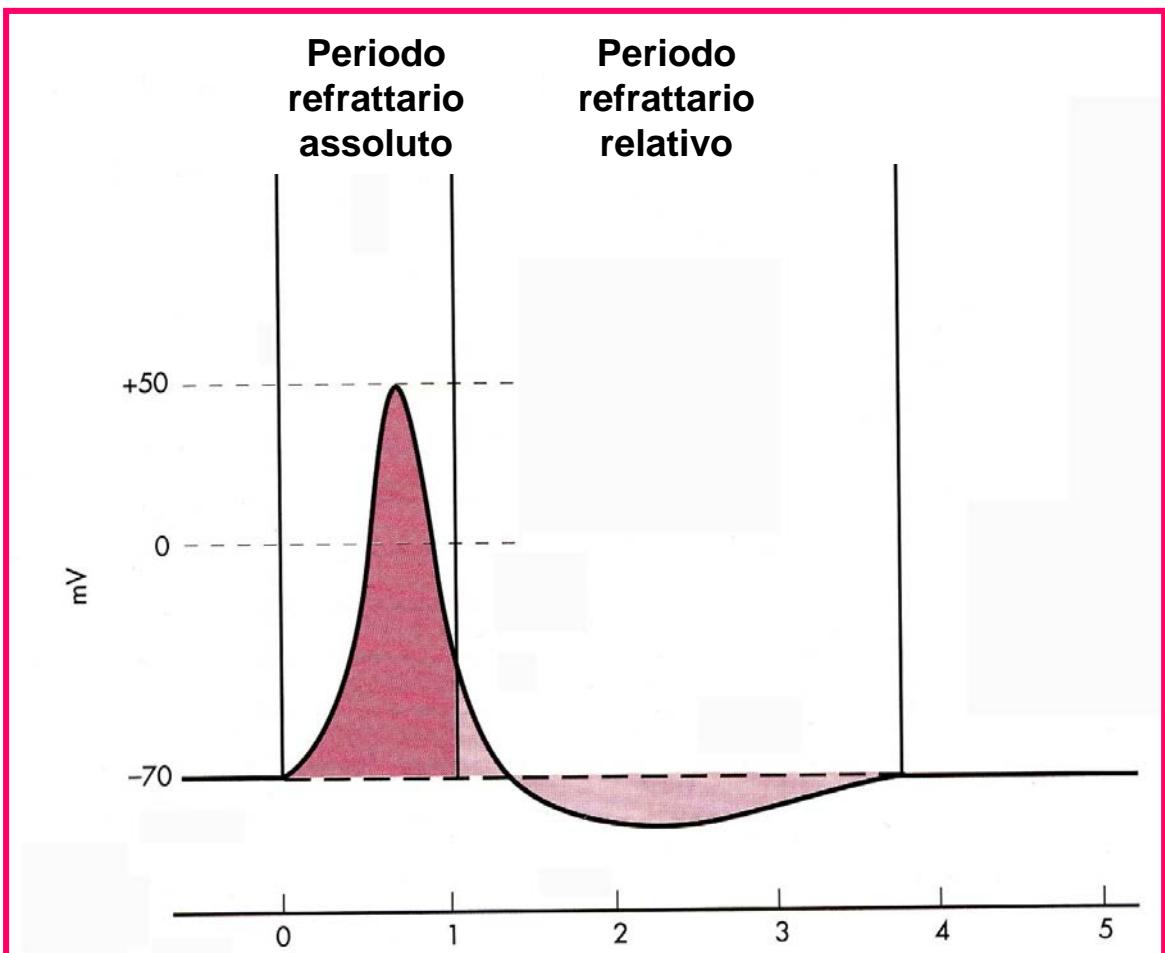
L'ampiezza del PA dipende dalla concentrazione di Na^+ extracellulare



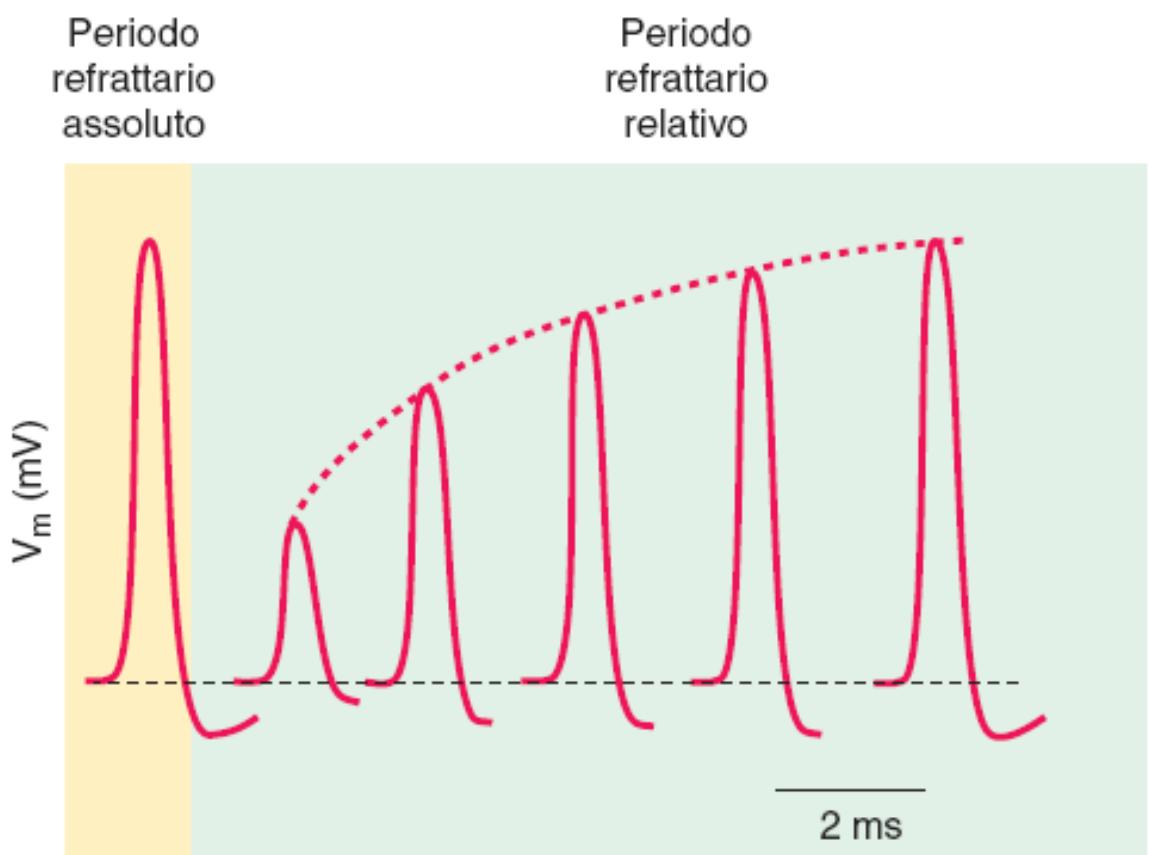
il Na^+ è la specie ionica maggiormente responsabile della fase di depolarizzazione del PA, infatti:

- 1) $[\text{Na}^+]_o = 12 [\text{Na}^+]_i$, da cui: $E_{\text{Na}} \sim +63 \text{ mV}$
- 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 $[\text{Na}^+]_o$

• 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**



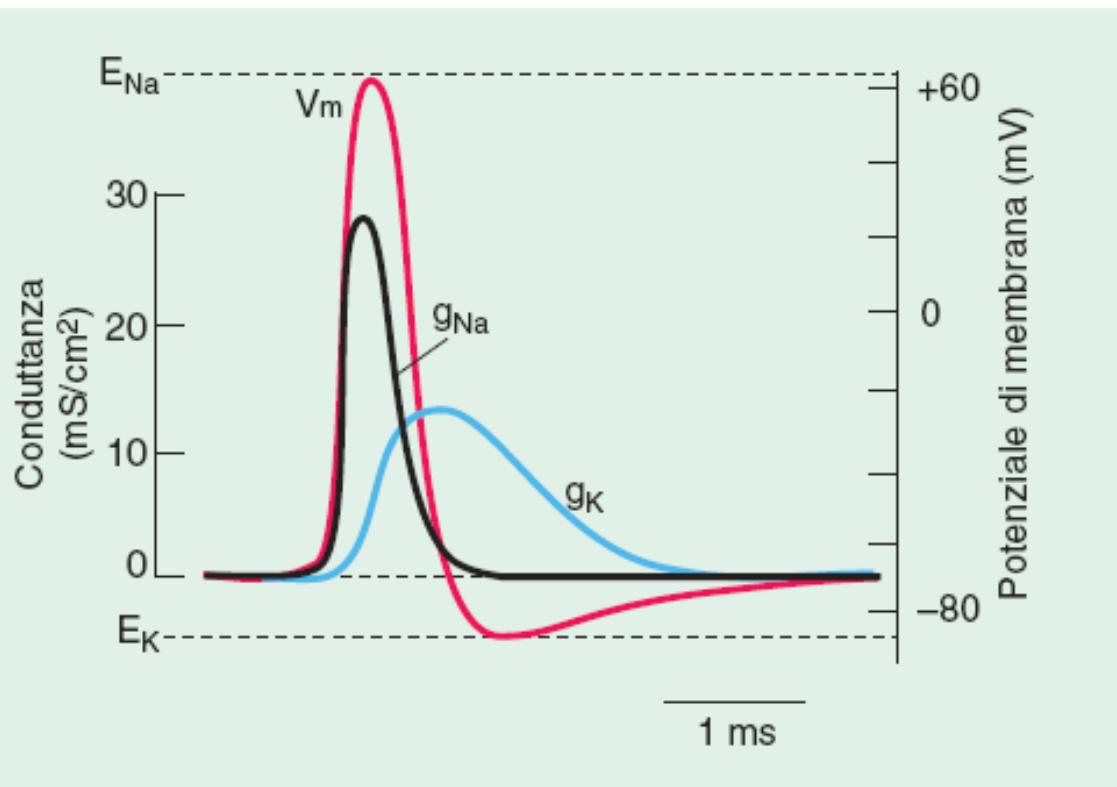
periodo refrattario assoluto (molto breve; ≈ 1 ms)

- 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 ($f = 1/t_r$).

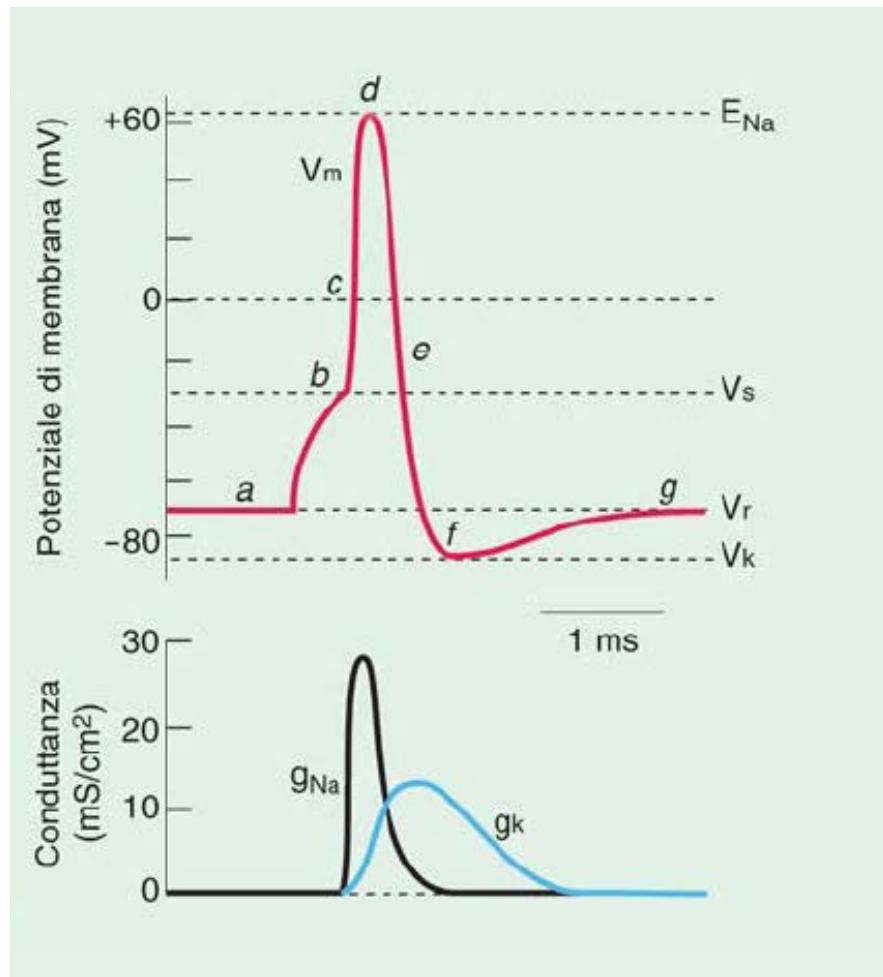
Il PA è causato dall'*aumento transiente e sequenziale* delle *conduttanze* al Na^+ e al K^+



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^+ (voltaggio dipendenti) dopo una breve apertura si *inattivano* ed i canali del K^+ (voltaggio 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 **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 Na^+ e K^+ che determinano l'andamento temporale del potenziale d'azione

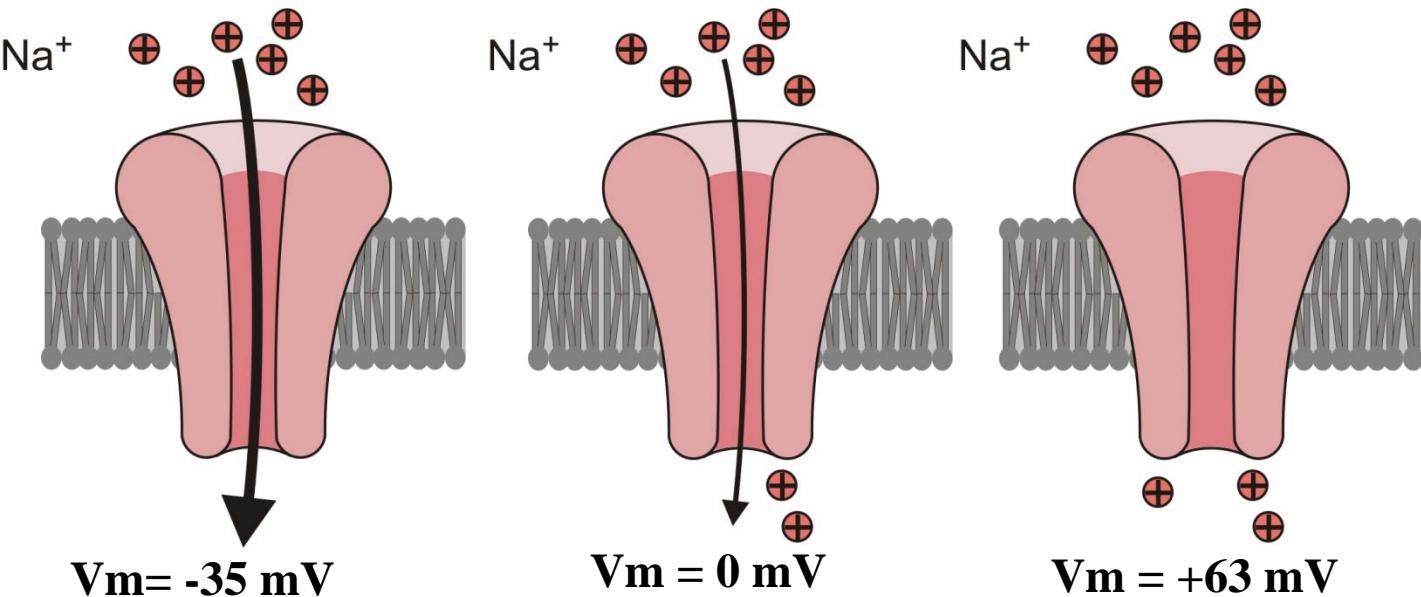
I flussi entranti di Na^+

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^+ : $f.\text{e}.m. = V_m - E_{\text{Na}}$ 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 (-35-63)
 I_{Na} entrante bassa

80% di canali aperti
f.e.m. media (0-63)
 I_{Na} entrante massima

100% di canali aperti
f.e.m. zero (63-63)
 I_{Na} entrante zero

I flussi uscenti di K⁺

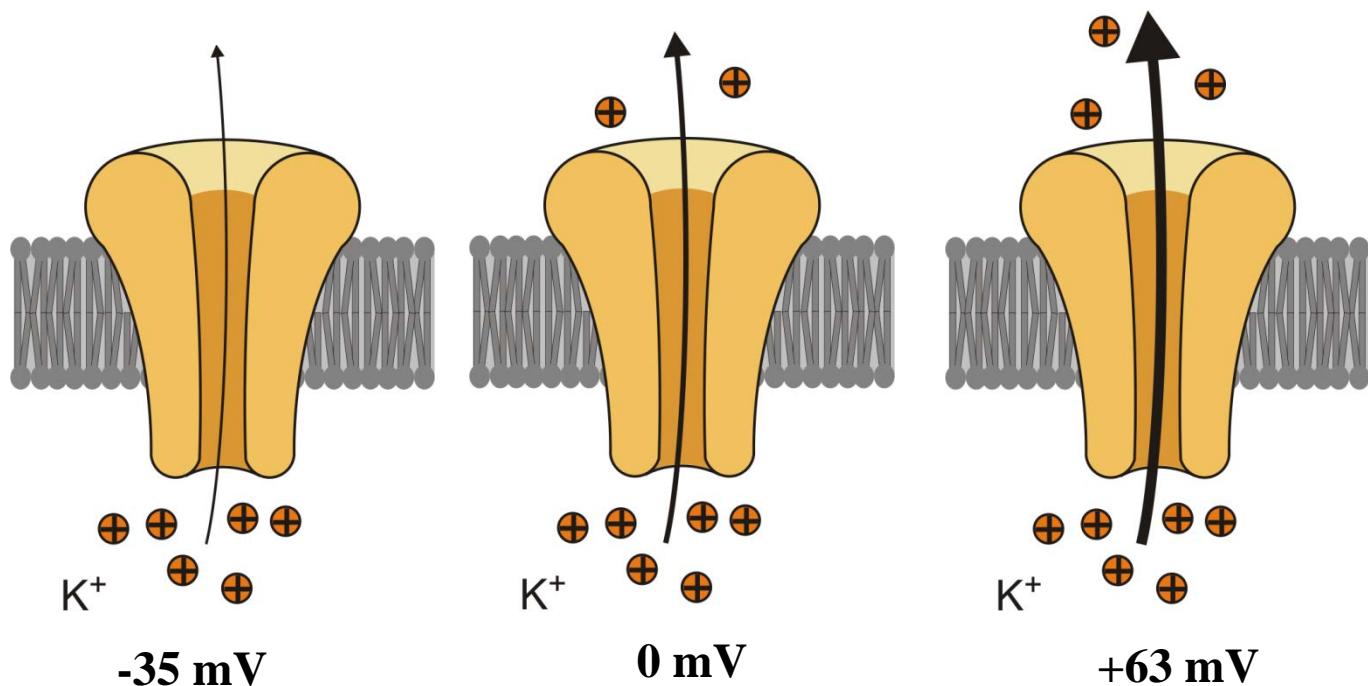
Nel caso del K⁺:

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

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 (-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 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 diminuiscono man mano che il potenziale ritorna verso valori negativi
 - 3) i canali del Na^+ in parte si richiudono** e in parte **si inattivano**

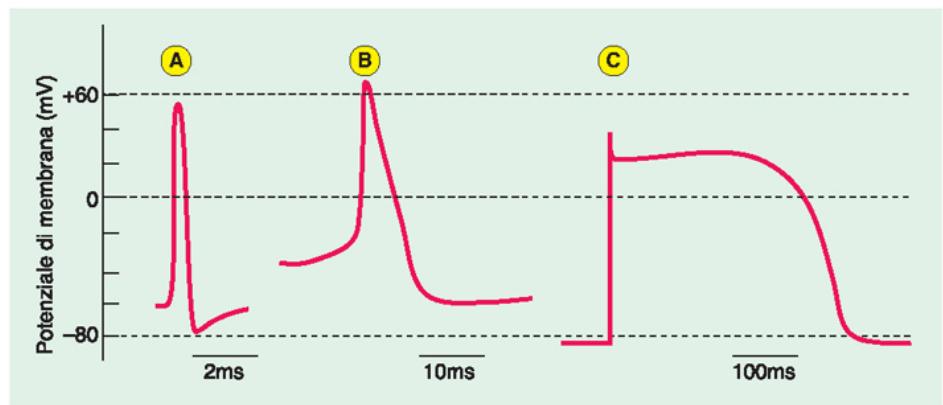


Figura 3.4 Esempi di potenziali d'azione registrati da tre tipi di cellule eccitabili diverse: motoneurone (A), cellula cromaffine della midollare surrenale (B) e cellula ventricolare cardiaca (C).

