

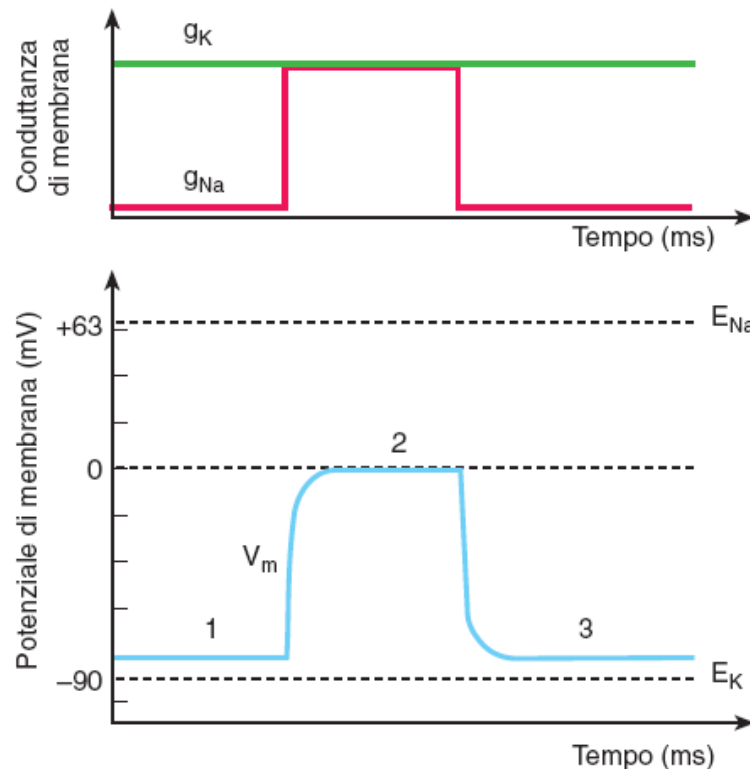
1.3 GENESI DEL POTENZIALE D'AZIONE

COME SI MODIFICA V_m QUANDO P_{Na} e P_K VARIANO?

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

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)



1) membrana inizialmente 100 volte più permeabile al K^+ rispetto al Na^+
 $P_{Na} / P_K = 0.01$

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{1[K^+]_e + 0.01[Na^+]_e}{1[K^+]_i + 0.01[Na^+]_i} \quad P_{Cl} = 0$$

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

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

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

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

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

2) Membrana ugualmente permeabile a K^+ e Na^+ $P_{Na} / P_K = 1$

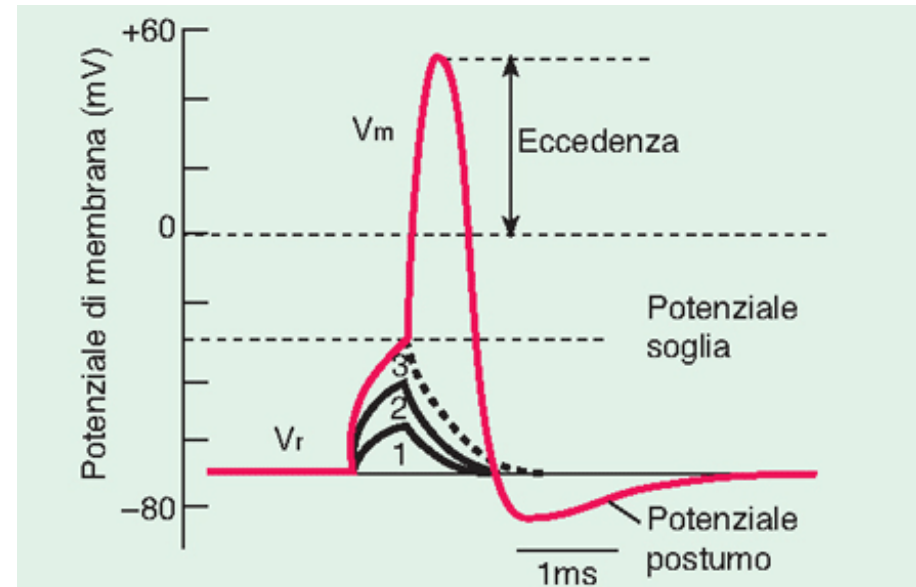
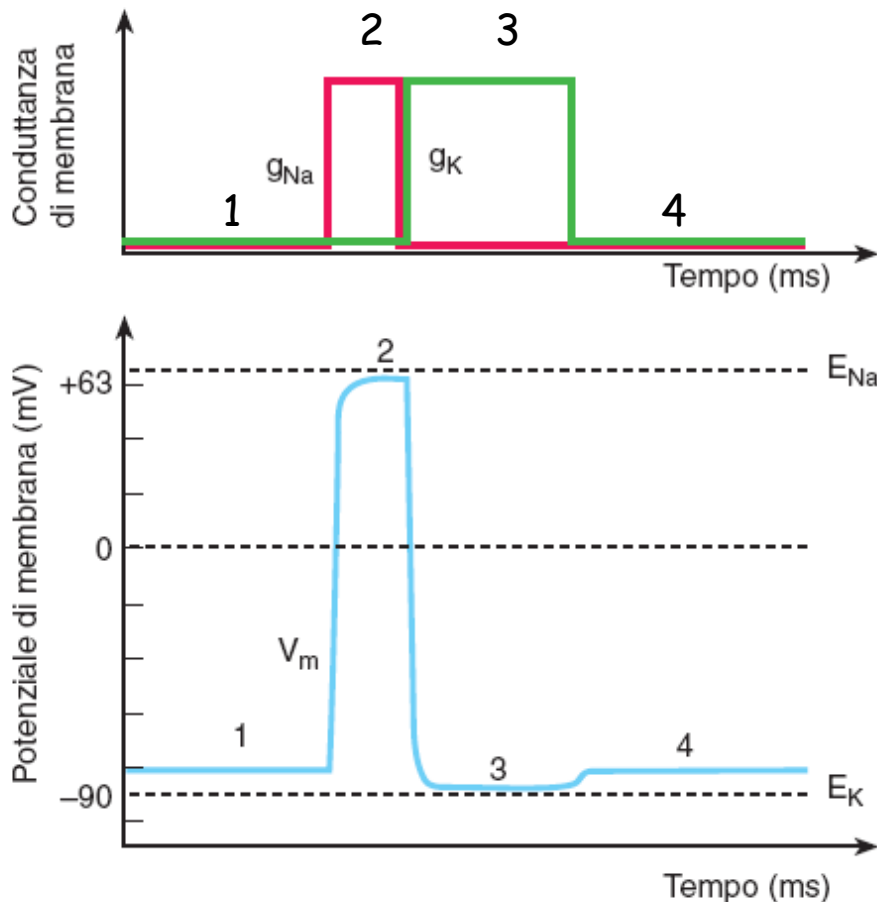
$$V_m = 58 \log \frac{4+145}{140+12} = -0.5 \text{ mV}$$

2° Esempio:

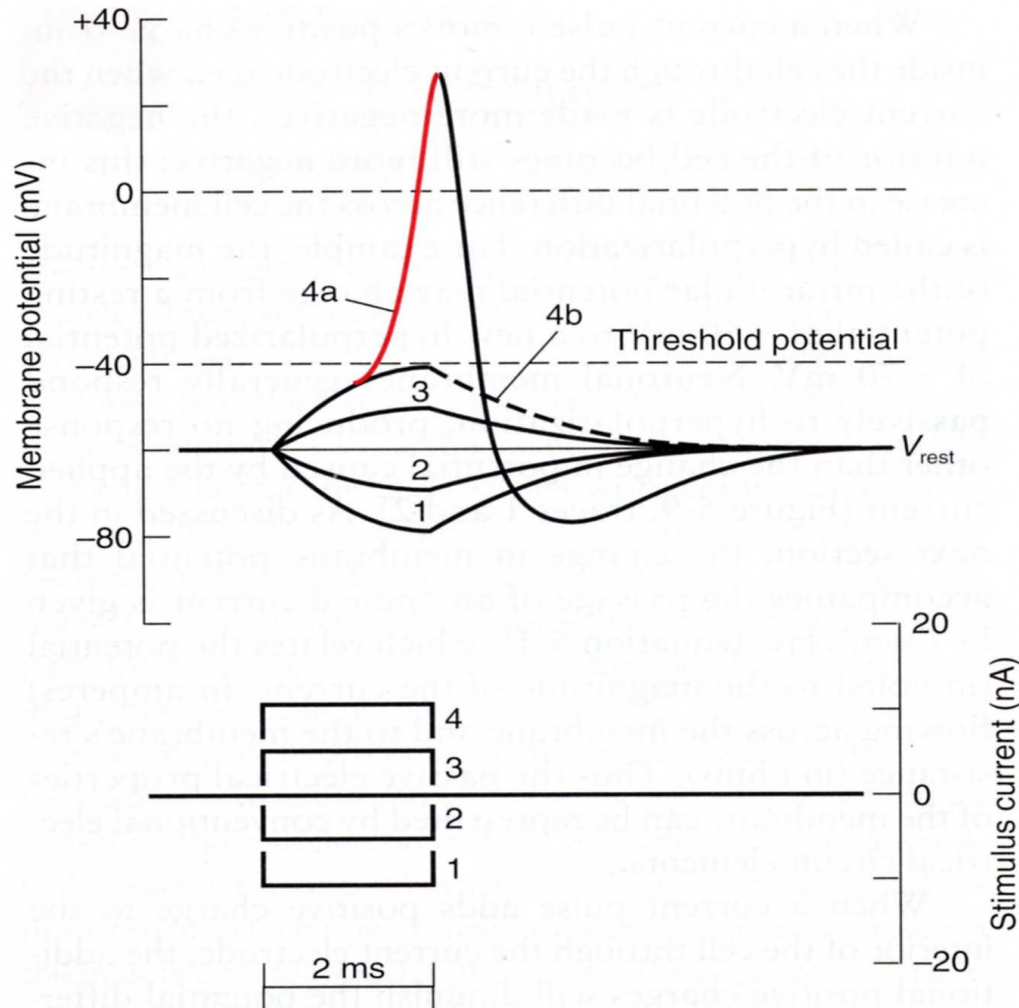
membrana parzialmente permeabile al K^+ e poco al Na^+ (1)

molto permeabile solo al Na^+ per un breve periodo (2)

molto permeabile solo al K^+ (per un intervallo più lungo) (3)



RISPOSTE ATTIVE E RISPOSTE PASSIVE



Impulsi di corrente (stimoli) di ampiezza moderata (s_1 - s_2) producono **risposte passive** della membrana: la variazione del potenziale di membrana è direttamente proporzionale allo stimolo,

Il neurone genera una **risposta attiva (potenziale d'azione)** se lo stimolo porta V_m oltre un valore **soglia** (s_3). In questo caso la risposta non è proporzionale allo stimolo.

Le risposte passive

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

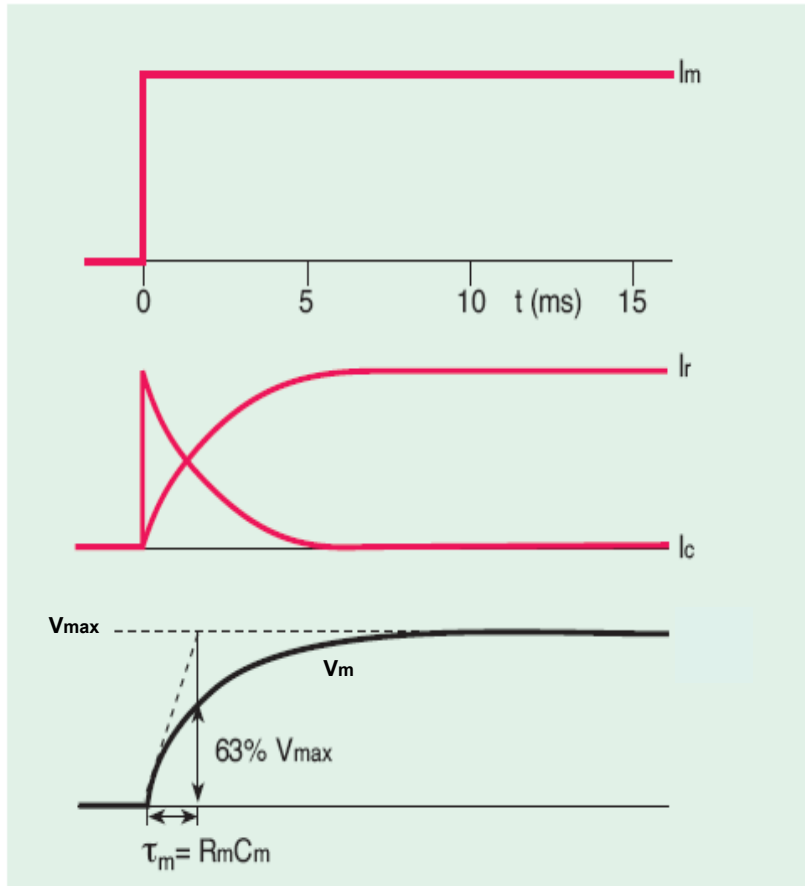
- **Doppio strato lipidico** a cui è associata una **capacità elettrica (C_m)** (proprietà della membrana di accumulare e mantenere separate le cariche elettriche)
- **Canali ionici** a cui è associata una **conduttanza** (inverso della **resistenza, R_m**) (proprietà di permeabilità della membrana agli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

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

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

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

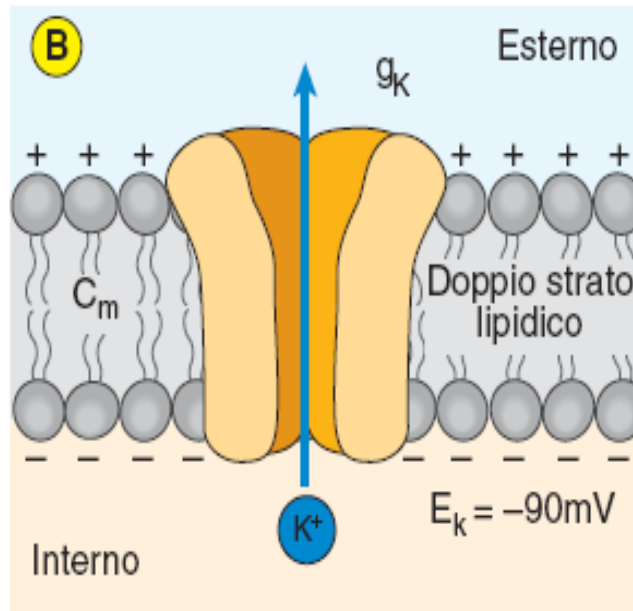
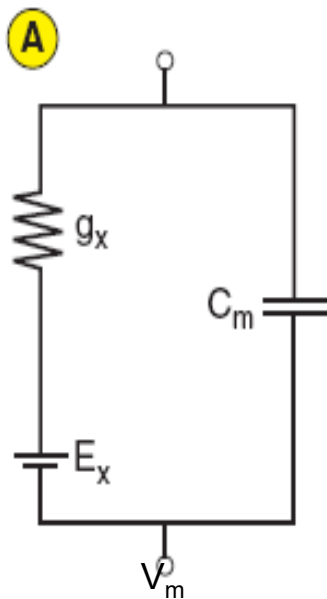
MENTRE LO STIMOLO DI CORRENTE CAMBIA
ISTANTANEAMENTE, LA RISPOSTA DEL POTENZIALE DI
MEMBRANA (V_m) VARIA LENTAMENTE.



Stimolo di corrente

Variazione di V_m

Circuito equivalente di una membrana cellulare permeabile solo al K^+



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

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

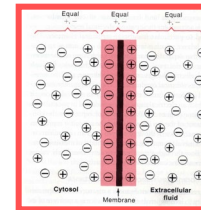
Per un condensatore ad armature piane e parallele:

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

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

$$\epsilon_0 = 5$$

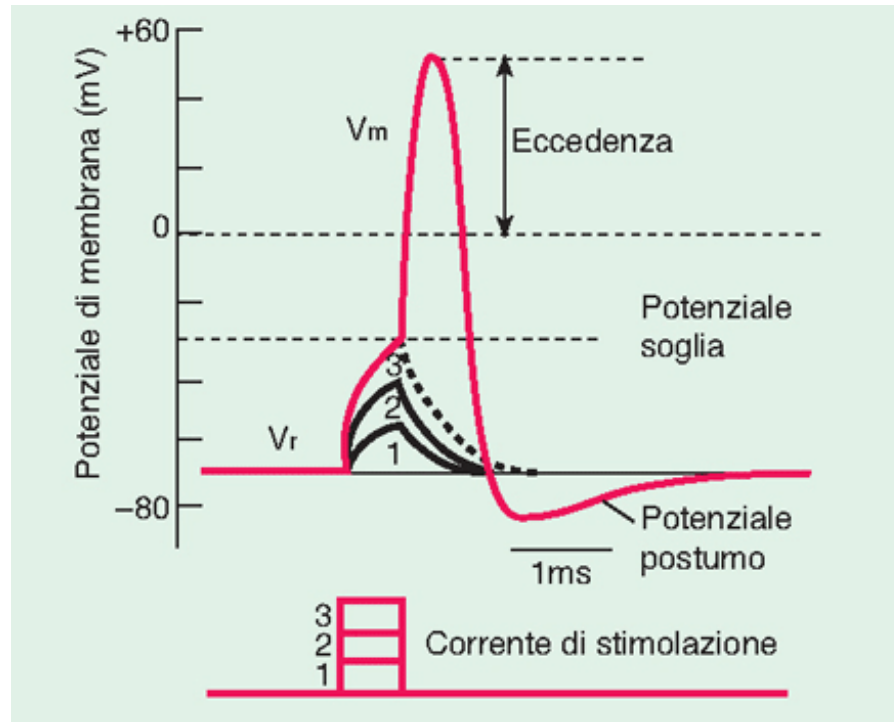
$$d = 50 \text{ (Å)}$$



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

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

Le risposte attive (potenziale d'azione)



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

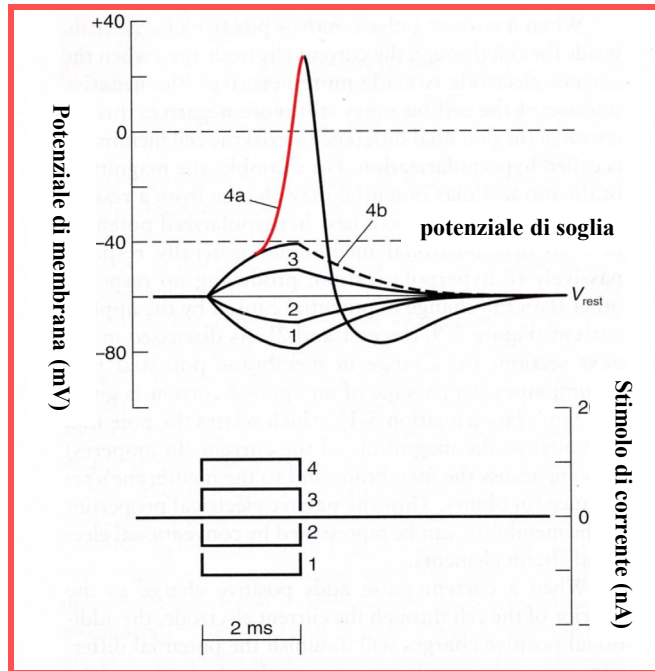
Per questo motivo il PA è un fenomeno rigenerativo del tipo “tutto o nulla”.

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^+ .

Riepilogo: risposte elettriche della membrana cellulare agli stimoli

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:

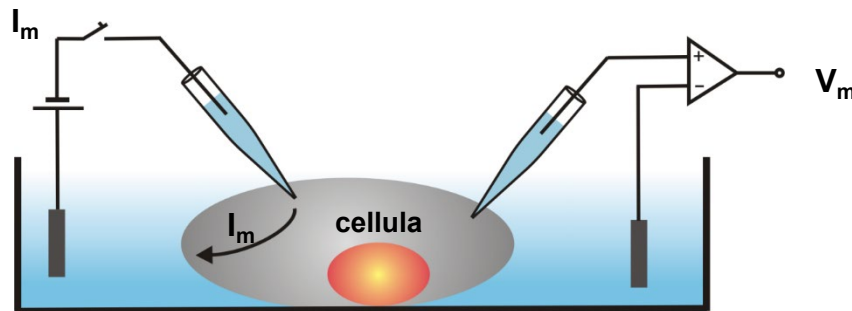
depolarizzazione

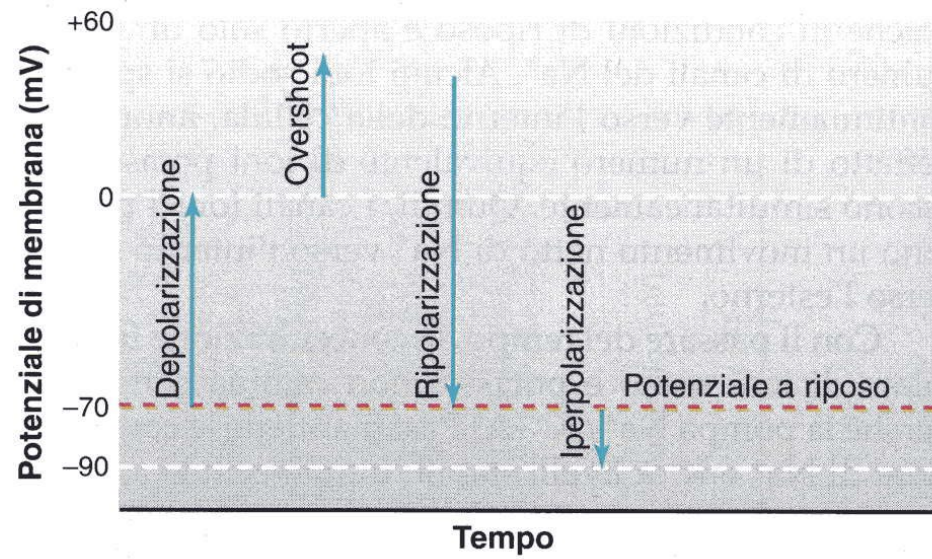
(fornisco cariche + al citoplasma, risposta passiva)

Traccia 4:

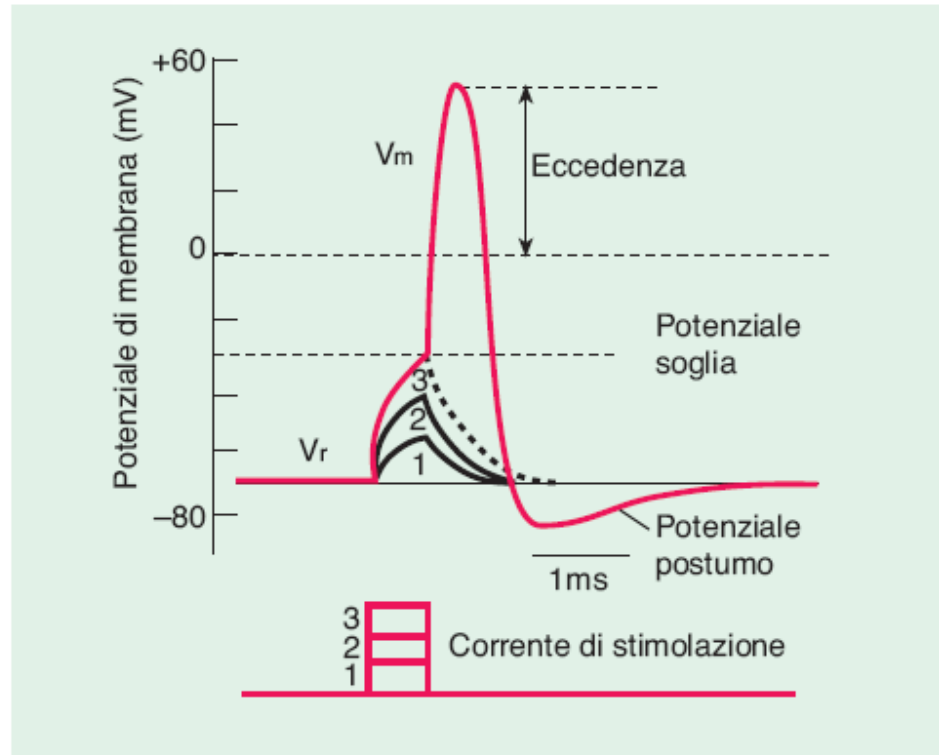
lo stimolo è sufficiente a raggiungere un **pot. soglia** e ad innescare una risposta attiva:

potenziale d'azione



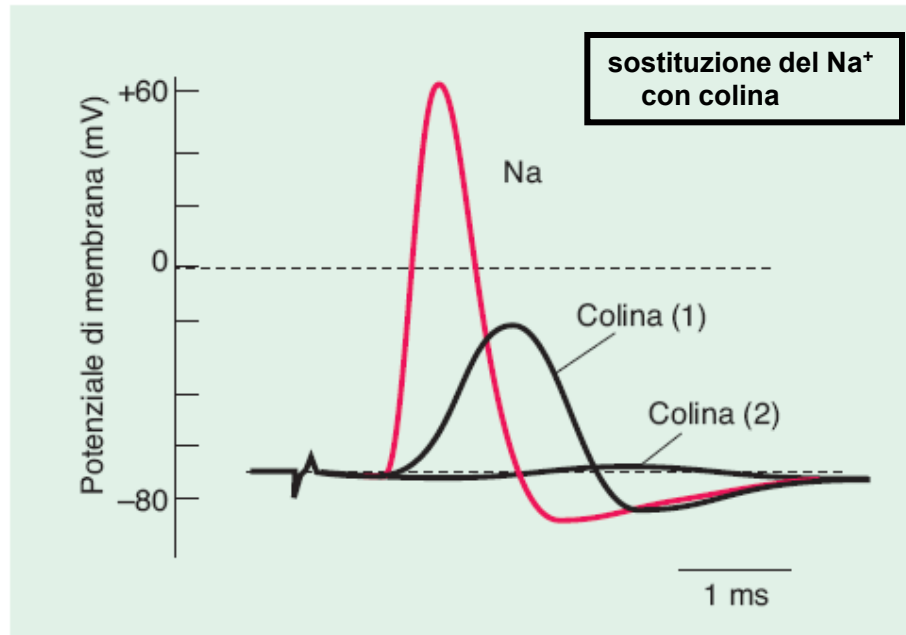


Proprietà del PA: “soglia”



Il PA si genera solo se lo stimolo è sufficiente a far raggiungere la soglia di eccitabilità del potenziale di membrana (-30, -50 mV)

Proprietà del PA: l'ampiezza del potenziale d'azione dipende dalla concentrazione di Na^+ extracellulare

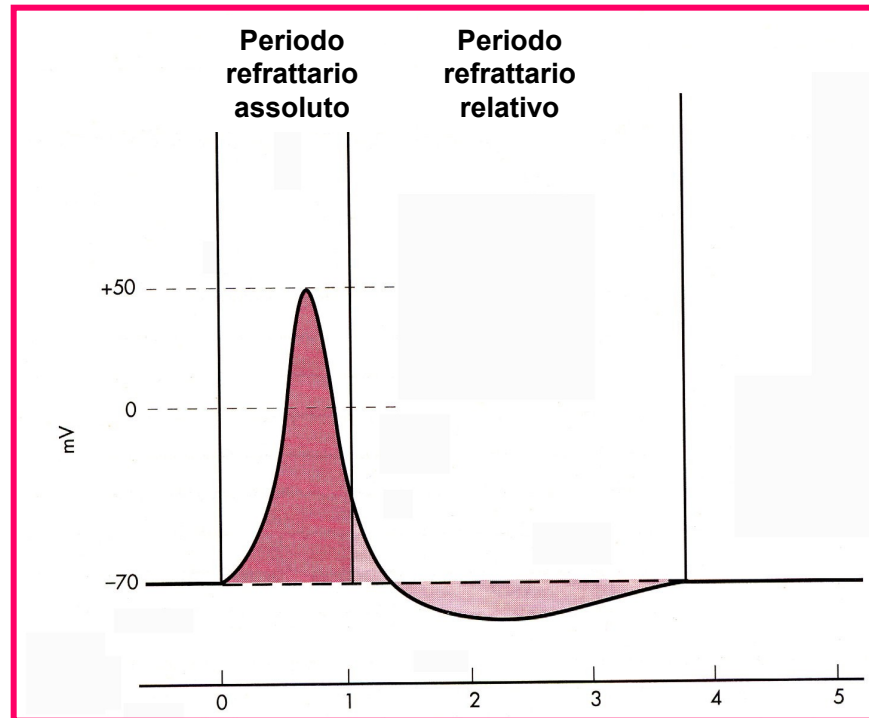


Questa proprietà dipende dal fatto che Na^+ è la specie ionica maggiormente responsabile della fase di depolarizzazione del PA.

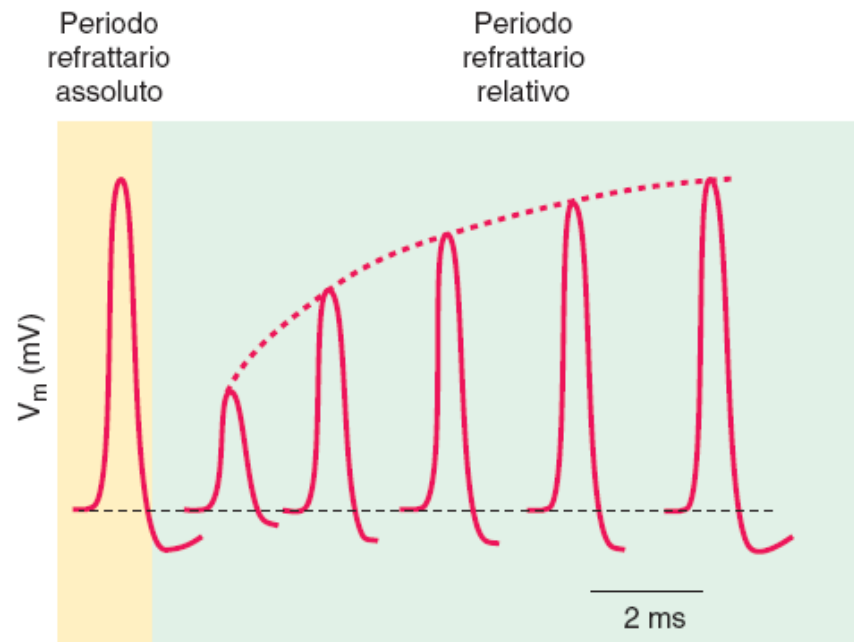
Infatti:

- 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 $[\text{Na}^+]_o$

Proprietà del PA: 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***

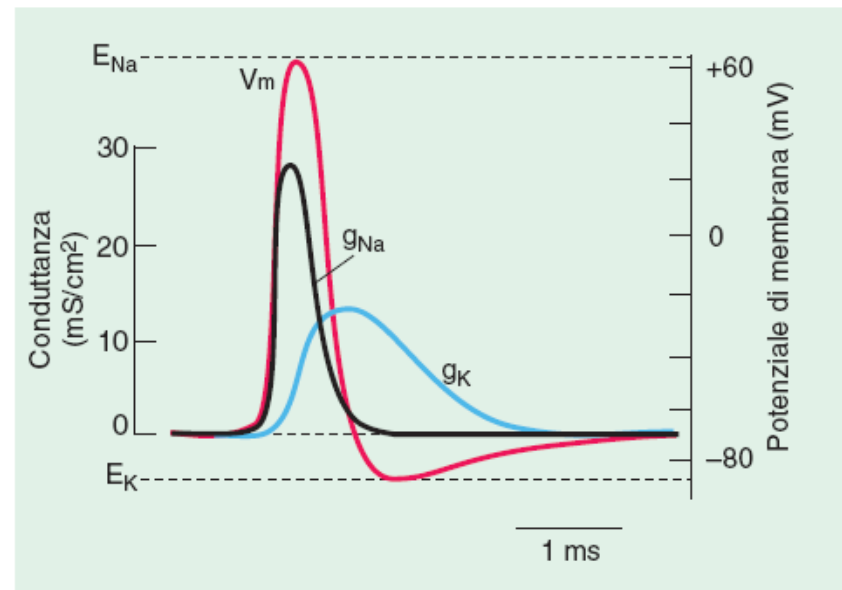


periodo refrattario assoluto (molto breve; ≈ 1 ms) - non è possibile evocare alcun potenziale d'azione
periodo refrattario relativo (prolungato)

- 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 ($f = 1/t_r$).

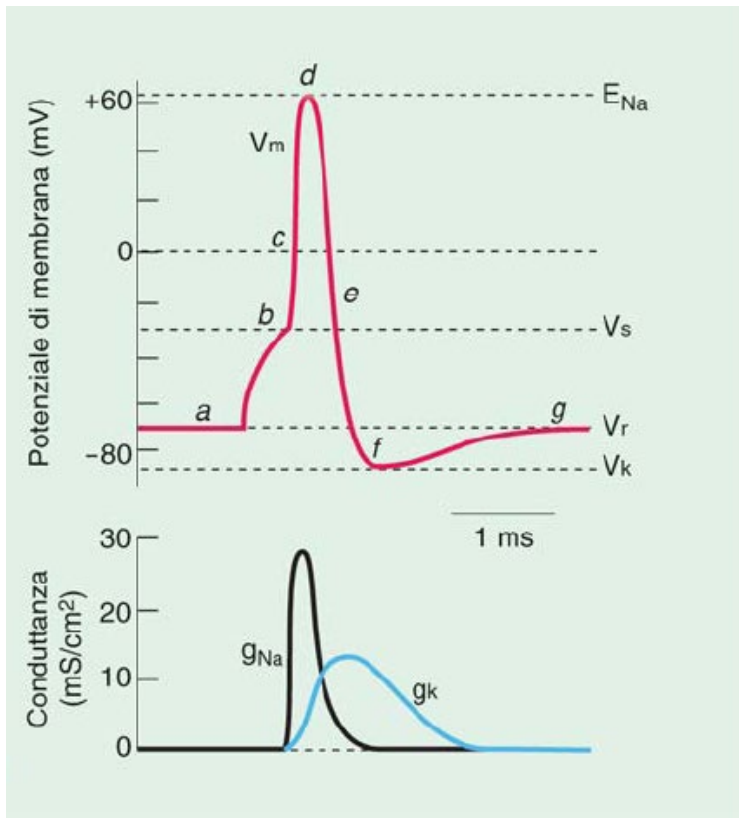
Proprietà del PA: aumento sequenziale delle conduttanze di Na^+ e K^+



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

RIEPILOGO: 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

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

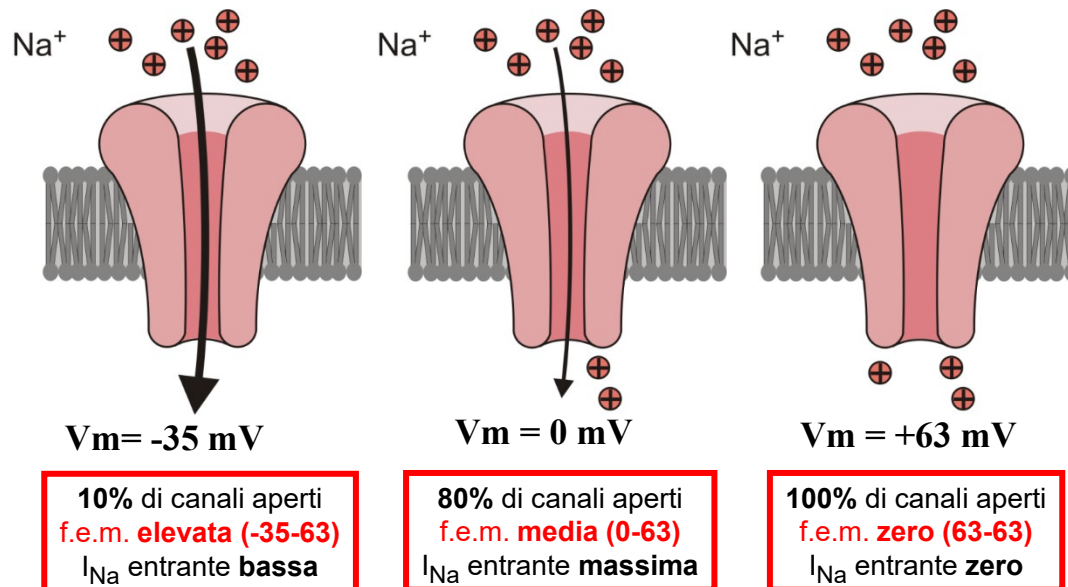
Correnti entranti di Na^+

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}):

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

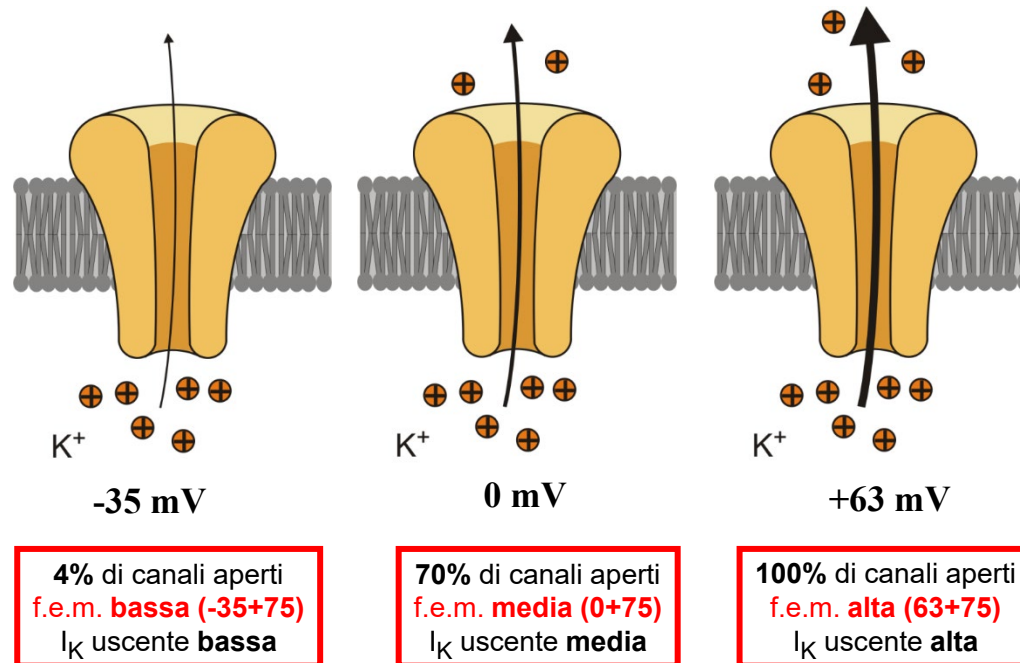


Correnti uscenti di K^+

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:

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



RIEPILOGO: le correnti ioniche di Na^+ e K^+ nel potenziale d'azione

La **fase crescente** del PA (**depolarizzazione**) è determinata dal:

- 1) **rapido e massivo ingresso** di Na^+ attraverso i canali che si aprono in numero crescente all'aumentare del potenziale (feedback +)
- 2) durante questa fase c'è una **debole uscita** di K^+
- 3) al picco del PA tutti i canali del Na^+ sono aperti ma **la corrente di Na^+** è nulla (equilibrio elettrochimico del Na^+)

- La **fase decrescente** del PA (**ripolarizzazione**) è determinata da:

- 1) **aumento** delle correnti **uscenti** di K^+ che aumentano 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** delle correnti **entranti** di Na^+ . Dopo il picco del PA, le correnti di Na^+ diminuiscono. Nel periodo in cui V_m ritorna verso valori negativi:
- 3) i canali del Na^+ in parte si **richiudono** e in parte **si inattivano**

Esempio di differenti PA generati da diverse cellule eccitabili (neuroni, miocardio ventricolare, cellule cromaffini).

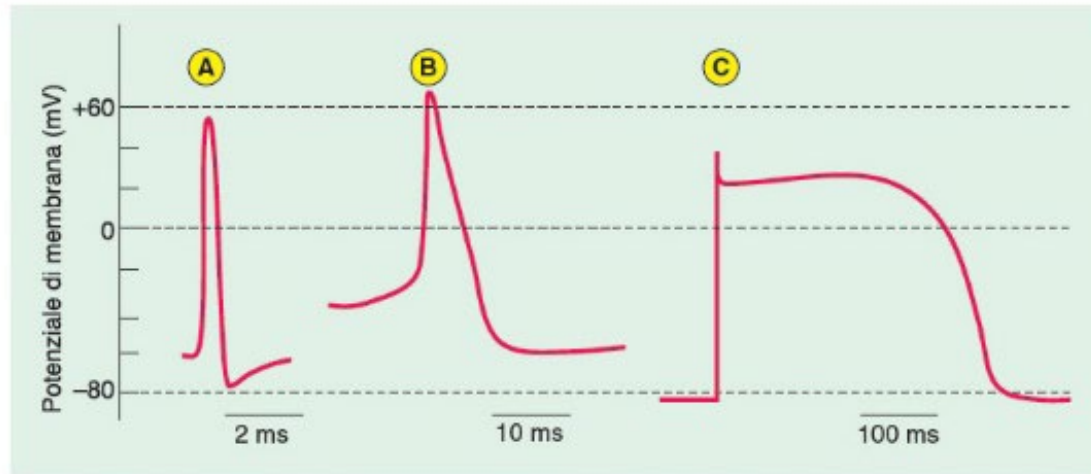


Figura 3.4 Esempi di potenziali d'azione registrati da tre tipi di cellule eccitabili diverse: motoneurone (A), cellula cromaffine della midollare surrenale (B) e cellula ventricolare cardiaca (C).



G. Aicardi, V. Carabelli, E. Carbone, R. Maggi
Fisiologia: dalle molecole ai sistemi integrati, III Ed.
EdiSES Edizioni