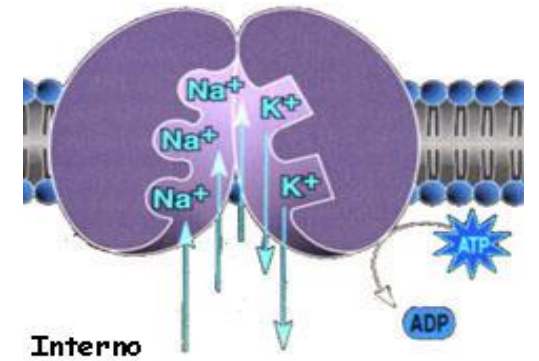
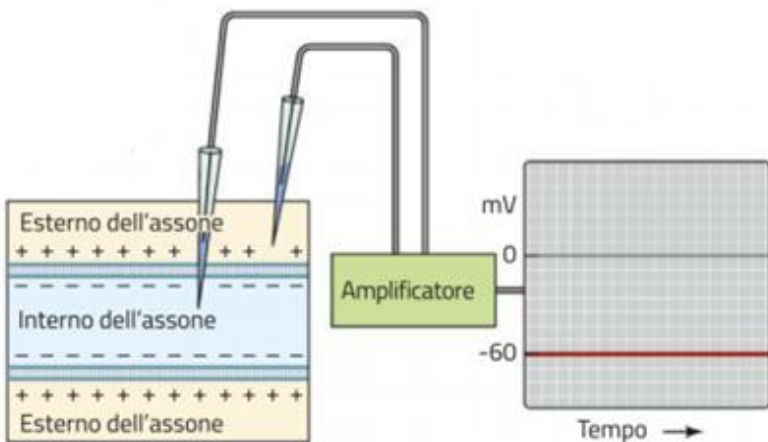


Esterno

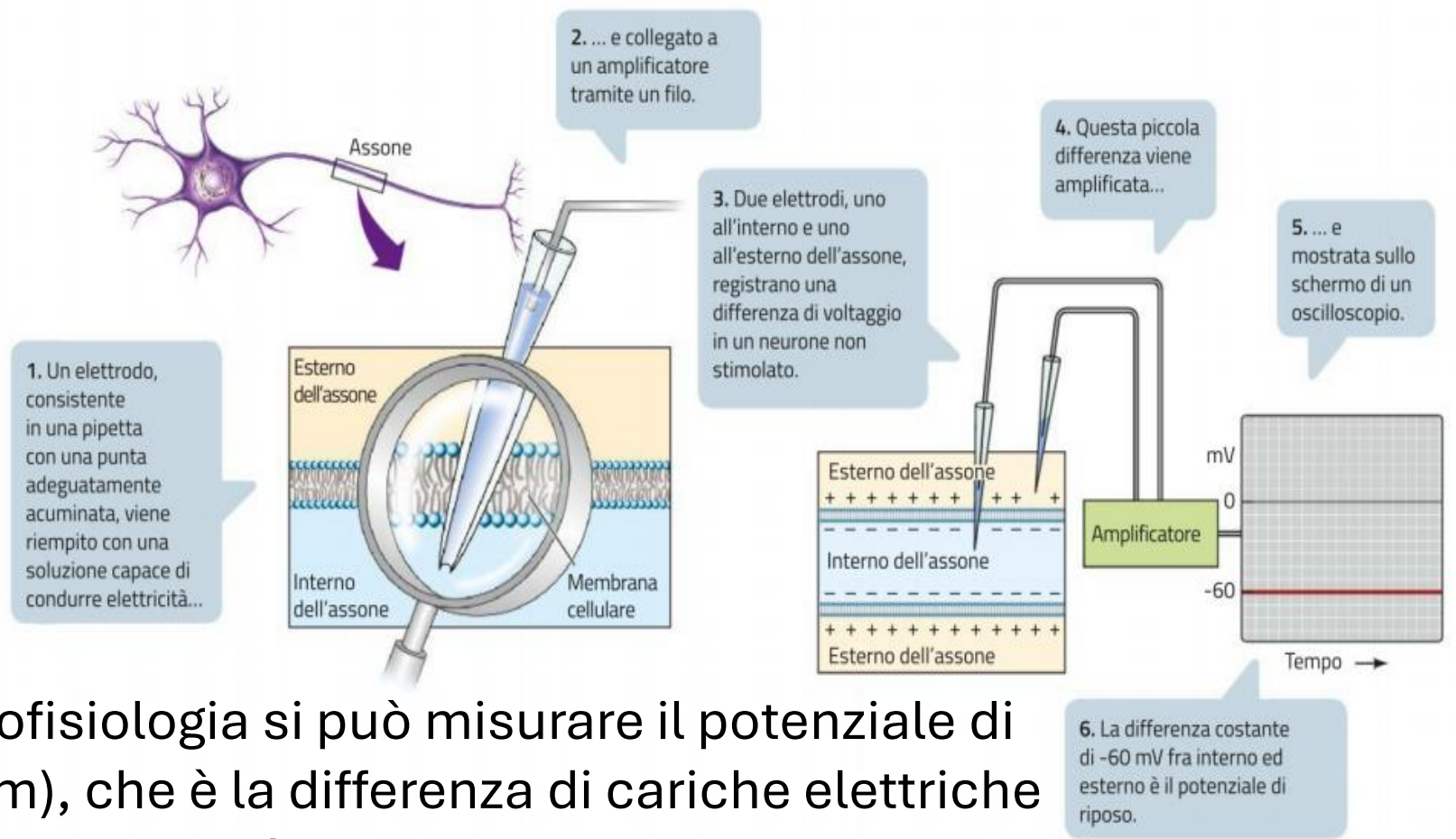
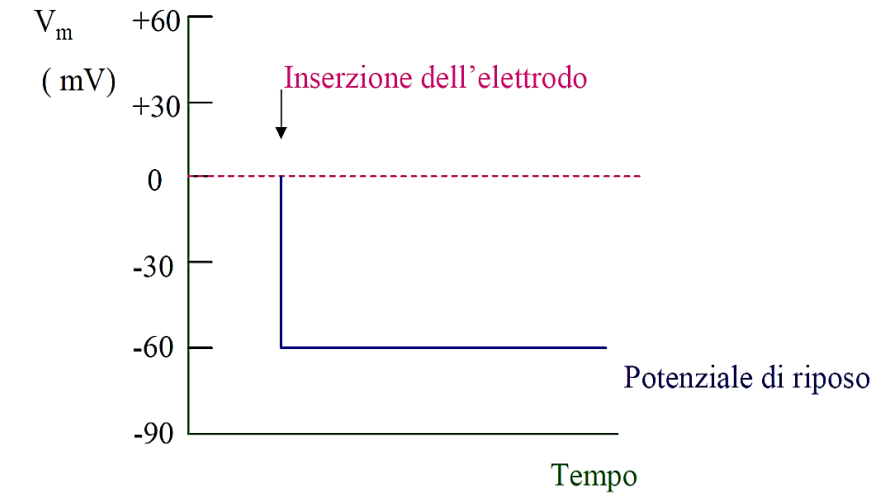


Interno

3. Generazione di segnali elettrici nei neuroni



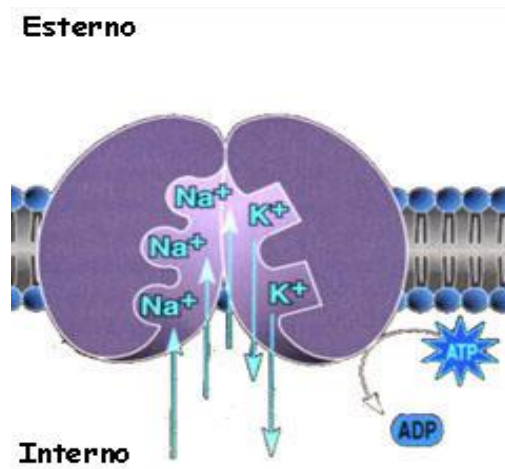
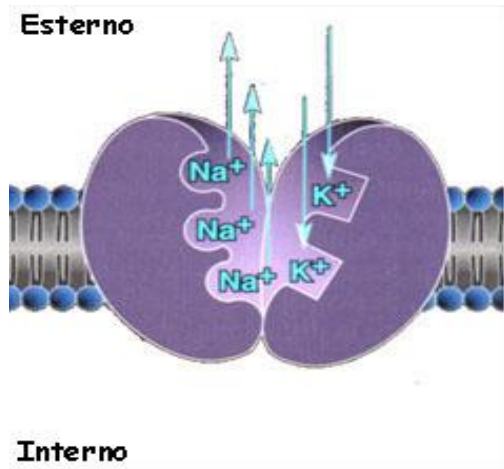
Il potenziale di membrana di riposo: come misurarlo



- ✓ Attraverso tecniche di elettrofisiologia si può misurare il potenziale di membrana di una cellula (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 a riposo varia da tipo di cellula a tipo di cellula, ma è **negativa** e in genere ha valori tra -50 a -90 mV

Alla base del potenziale di membrana negativo a riposo ci sono due fattori:

1) il gradiente ionico Na^+/K^+ , generato dalla pompa Na^+/K^+ ATPasi



La pompa Na^+/K^+ ATPasi (ogni ciclo di cambiamento conformazionale muove 2 K^+ all'interno e 3 Na^+ all'esterno), più che indurre una diversa concentrazione di Na^+ e K^+ tra interno e esterno della cellula, tende a mantenere questi gradienti di concentrazione in equilibrio quando il neurone è attivo.

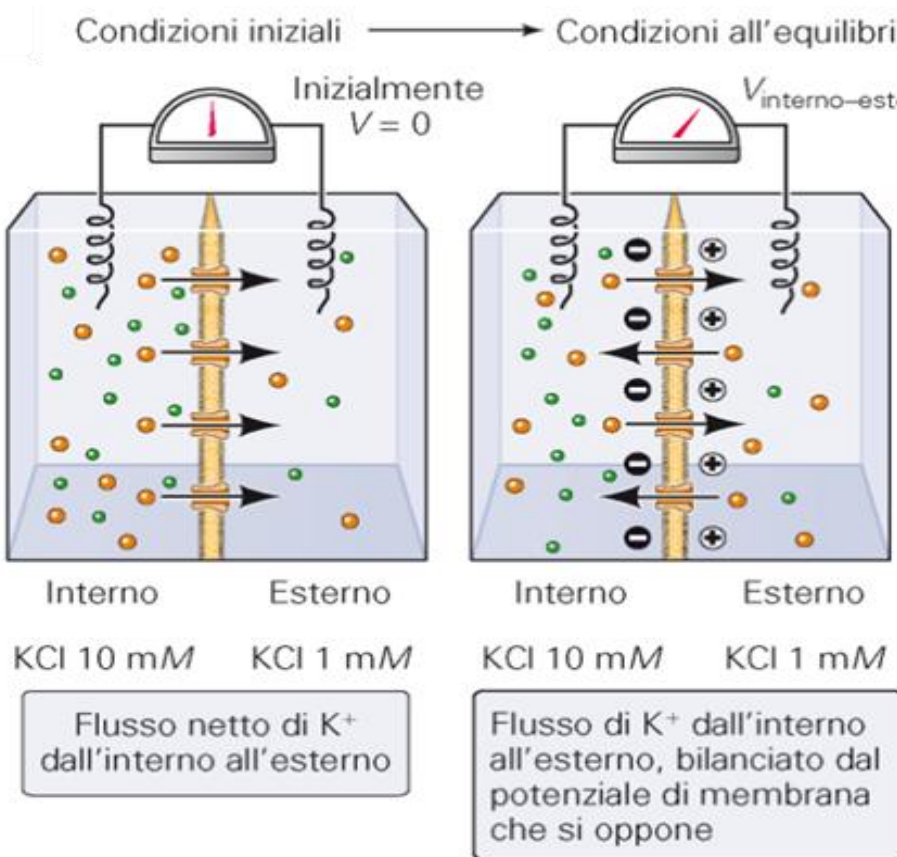
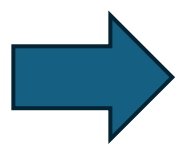
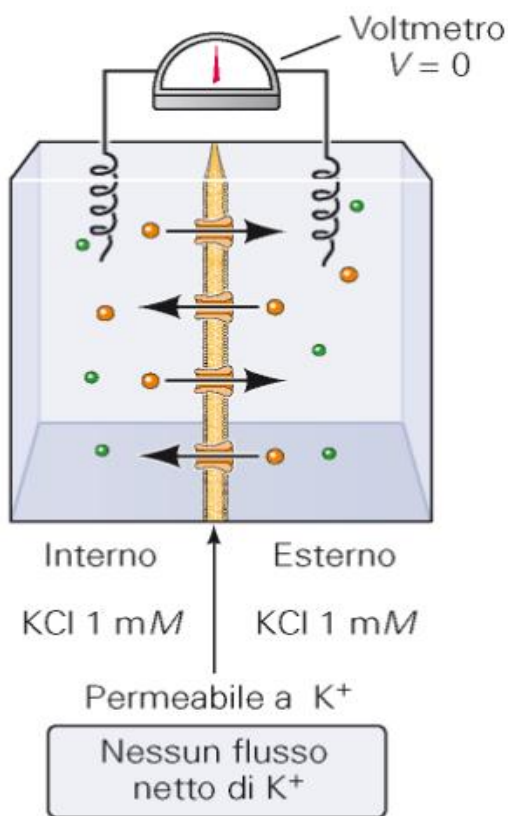
2) l'alta densità di canali passivi (sempre aperti) per il K^+ espressi nella membrana

ione	conc. Est.	conc. Int.	Est/Int
K ⁺	5 mM	150 mM	1:30
Na ⁺	150 mM	15 mM	10:1
Ca ²⁺	2 mM	100-200 nM	10000:1
Cl ⁻	150 mM	13 mM	11.5:1

Alla base della V_m negativa ci sono due fattori:

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

Legge di Ohm:
 $V = R * i$



Quando si ferma il flusso di ioni attraverso i canali di membrana?



ione	conc. Est.	conc. Int.	Est/Int	E_{ione}
K+	5 mM	150 mM	1:20	-90 mV
Na+	150 mM	15 mM	10:1	62 mV
Ca ²⁺	2 mM	100-200 nM	10000:1	123 mV
Cl-	150 mM	13 mM	11.5:1	-65 mV

L'equilibrio elettrochimico per uno ione si raggiunge quando la forza del gradiente chimico (concentrazione) che spinge gli ioni attraverso la membrana è bilanciata da una forza elettrica uguale e opposta

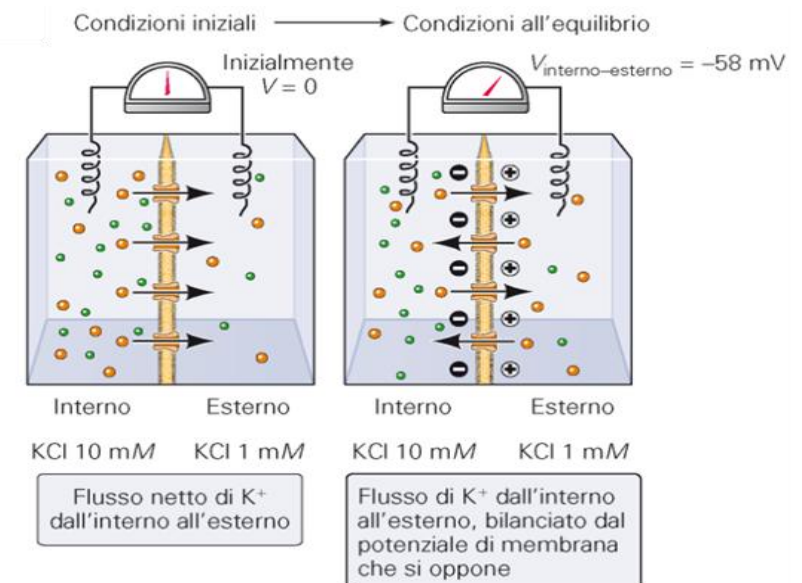
L'equilibrio elettrochimico per uno ione si può calcolare usando l'equazione di Nernst

Equazione di Nernst:

$$E_K = 2.3 \frac{RT}{zF} \log \frac{[K]_{\text{EST}}}{[K]_{\text{INT}}}$$

R: costante dei gas
T: temperatura
F: costante di Faraday
z: carica dello ione
 $2.3 \frac{RT}{zF} = 58 \text{ mV (20 °C)}$

Se siamo in equilibrio non ci sarà movimento di carica attraverso il canale ionico



ione	conc. Est.	conc. Int.	Est/Int	E_{ione}
K+	5 mM	150 mM	1:20	-90 mV
Na+	150 mM	15 mM	10:1	62 mV
Ca ²⁺	2 mM	100-200 nM	10000:1	123 mV
Cl-	150 mM	13 mM	11.5:1	-65 mV

- ✓ Il potenziale di membrana a riposo è determinato da quali canali ionici passivi (sempre aperti) sono presenti:
 - principalmente canali permeabili al K⁺ (che spostano il potenziale di membrana (Vm) verso $E_K = -90 \text{ mV}$)
 - ma ci sono anche quelli permeabili a Na⁺ e Cl⁻, con E_{Na} di 62 mV e E_{Cl} di -65 mV
 - Si dice che la membrana è meno permeabile a Na⁺ e Cl⁻, cioè ci sono meno canali passivi per queste specie ioniche, quindi il potenziale d'equilibrio di questi ioni influirà meno sul determinare il potenziale di riposo della cellula. In altri termini, il Vm sarà determinato dal flusso di vari ioni con un contributo relativo che dipende dalla loro permeabilità.

ione	conc. Est.	conc. Int.	Est/Int	E_{ione}
K+	5 mM	100 mM	1:20	-80 mV
Na+	150 mM	15 mM	10:1	62 mV
Ca ²⁺	2 mM	100-200 nM	10000:1	123 mV
Cl-	150 mM	13 mM	11.5:1	-65 mV

Il **potenziale di membrana a riposo** e' determinato dai contributi combinati dei gradienti di concentrazione moltiplicato per la permeabilita della membrana, per ogni ione.

$$V_m \approx -70 \text{ mV}$$

con l'interno della cellula piu' negativo rispetto all'esterno

Equazione di Goldman-Hodgkin-Katz

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_{Na^+} [Na^+]_o + P_{K^+} [K^+]_o + P_{Cl^-} [Cl^-]_i}{P_{Na^+} [Na^+]_i + P_{K^+} [K^+]_i + P_{Cl^-} [Cl^-]_o} \right)$$

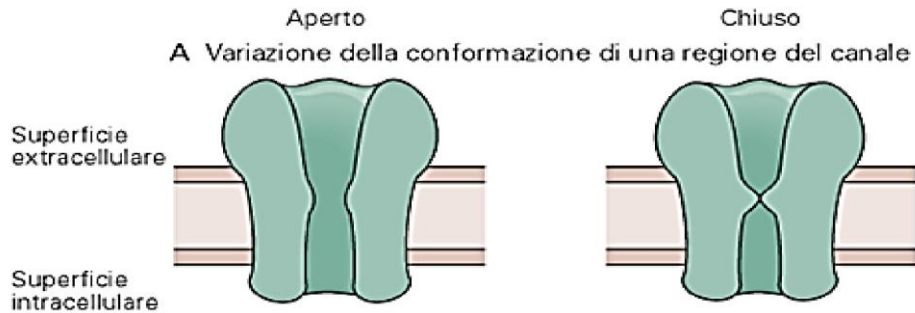
P = permeabilita dello ione

Conclusioni - Potenziale di membrana (V_m) a riposo

1. In tutte le cellule V_m è sempre negativo (accumulo di cariche negative all'interno rispetto all'esterno); nei neuroni $V_m = \sim -70\text{mV}$
2. I fattori che contribuiscono a determinare questo valore di V_m sono:
 - a. il gradiente di concentrazione attraverso la membrana di Na^+ e K^+ , generato dalla pompa Na^+/K^+ ATPasi
 - b. l'alta densità di canali passivi (sempre aperti) per il K^+ . L'equazione di Nernst ci permette di calcolare il potenziale di equilibrio di uno ione (E_{ione}) note le sue concentrazioni intracellulare e extracellulare. Se la membrana è permeabile a un solo ione, allora $E_{\text{ione}} = V_m$
 - c. Tuttavia per i neuroni sono presenti altri canali ionici passivi a più bassa densità \rightarrow effetto netto V_m nella maggior parte dei neuroni = -70 mV

Segnali elettrici nei neuroni

- ✓ I neuroni comunicano attraverso la generazione di segnali elettrici, ovvero determinando variazione del potenziale di membrana rispetto al suo valore di riposo (-70 mV)
- ✓ Alla base della capacità delle cellule di generare segnali elettrici c'è l'attivazione dei **canali ionici attivi**



Legge di Ohm: $V=R \cdot I$

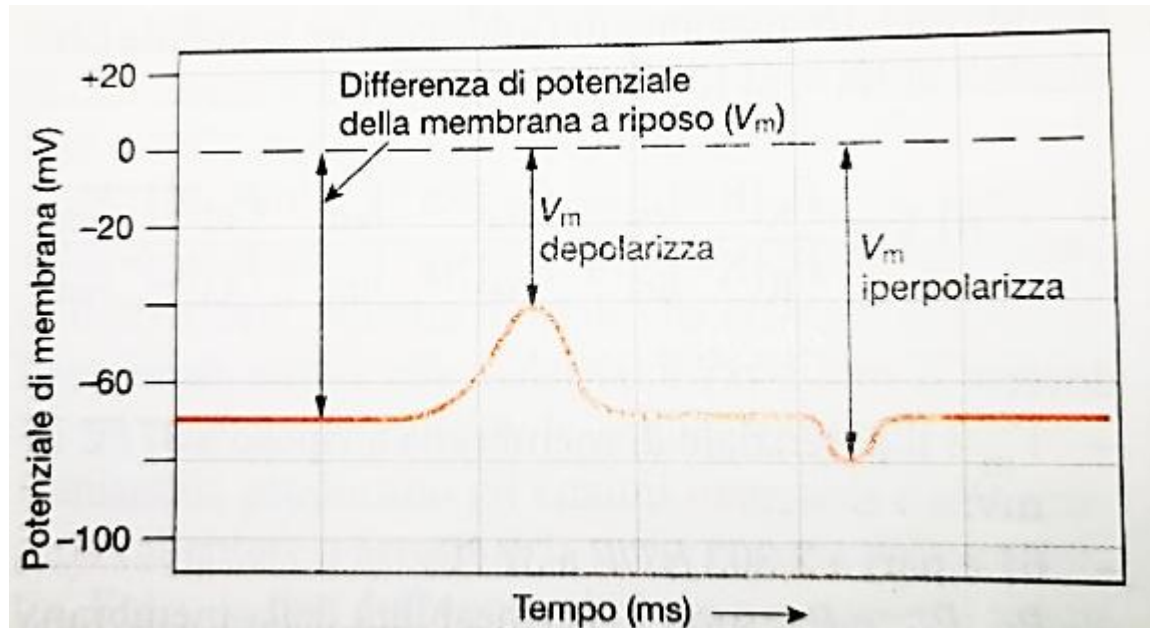
Flussi di ioni (Correnti ioniche) attraverso la membrana plasmatica determinano proporzionali variazioni del suo potenziale

- I canali ionici possono essere **selettivi** per una specie ionica (canali Ca^{2+} , Na^{+} , K^{+} e Cl^{-})
- Canali ionici “a cancello”:
 - regolati meccanicamente
 - regolati chimicamente
 - voltaggio dipendenti

Segnali elettrici nei neuroni: generazione di potenziali

ione	conc. Est.	conc. Int.	Est/Int	E_{ione}
K ⁺	5 mM	150 mM	1:20	-90 mV
Na ⁺	150 mM	15 mM	10:1	62 mV
Ca ²⁺	2 mM	100-200 nM	10000:1	123 mV
Cl ⁻	150 mM	13 mM	11.5:1	-65 mV

Legge di Ohm: $V=R*i$



- Al potenziale di riposo, l'apertura dei canali Na⁺ genera una corrente entrante di ioni positivi che depolarizza la membrana
- Al potenziale di riposo, l'apertura dei canali Cl⁻ genera una corrente entrante di ioni negativi che iperpolarizza la membrana

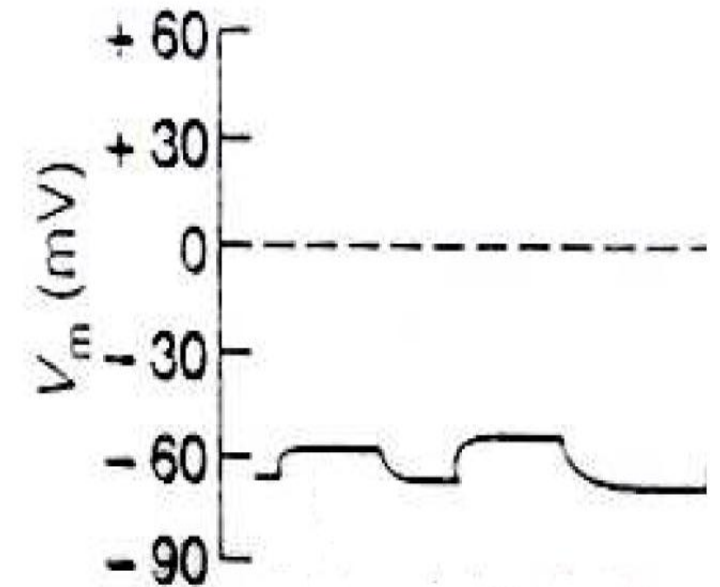
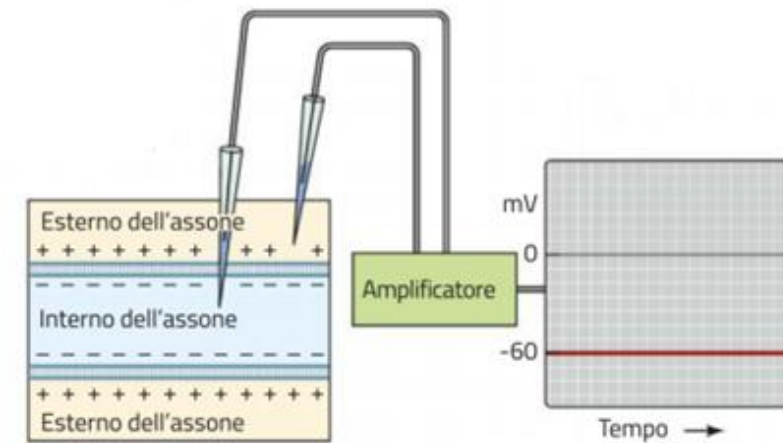
I neuroni: possono generare due tipi di potenziali:

- **Potenziali graduati**
- **Potenziali d'azione**

Segnali elettrici nei neuroni:

Potenziali graduati (o elettrotonici)

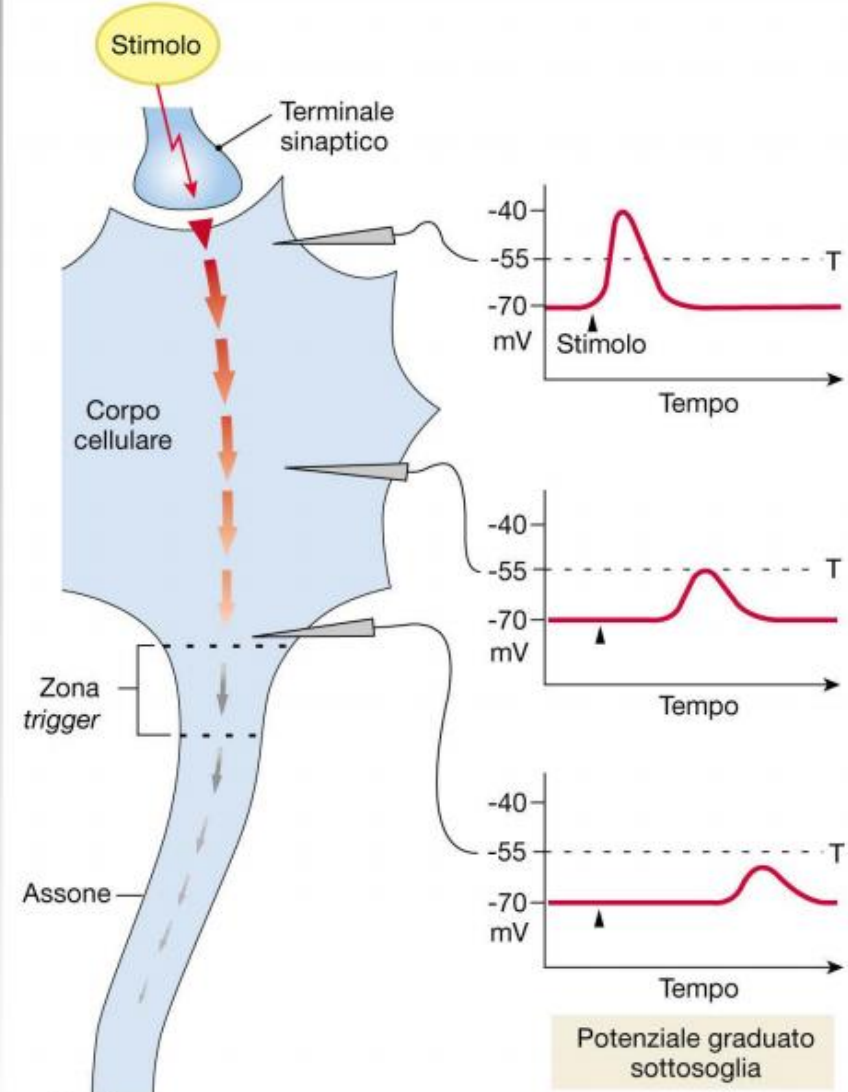
- ✓ Variazioni **depolarizzanti** o **iperpolarizzanti** del potenziale di membrana,
- ✓ hanno ampiezze **proporzionali** a quelle dell'evento scatenante
- ✓ In genere si propagano **localmente** e diminuiscono di ampiezza con la distanza dal punto di origine



Ampiezza dello stimolo

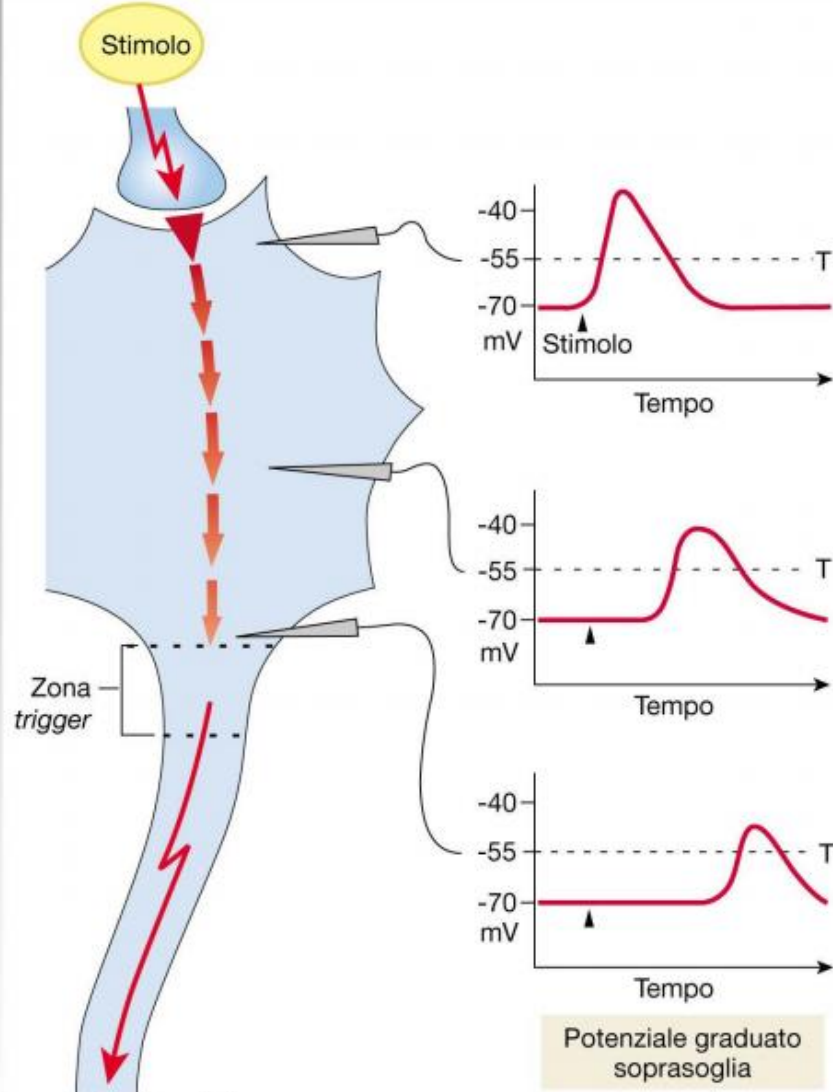
Segnali elettrici nei neuroni: Potenziali graduati (o elettrotonici)

(a) Un potenziale graduato parte sopra la soglia (T) nel suo punto d'inizio, ma diminuisce di ampiezza mentre viaggia attraverso il corpo cellulare. Nella zona *trigger* è sottosoglia e quindi non scatena un potenziale d'azione.



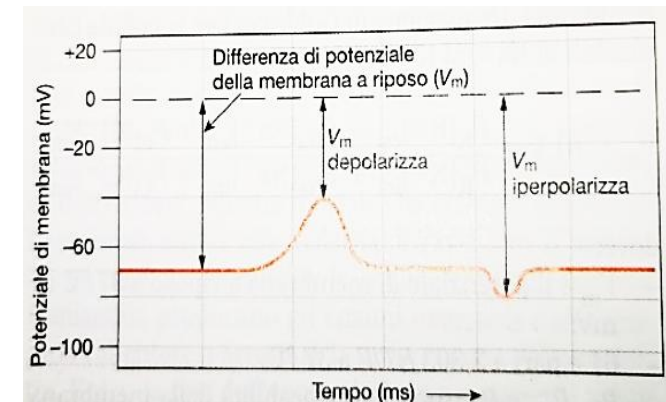
Non insorge il potenziale d'azione

(b) Uno stimolo più intenso condotto allo stesso punto sul corpo cellulare crea un potenziale graduato che è ancora soprasoglia quando raggiunge la zona *trigger*, perciò provoca l'insorgenza di un potenziale d'azione.



Insorge il potenziale d'azione

Potenziali graduati depolarizzanti sono **ECCITATORI** (*vanno verso soglia*), quelli iperpolarizzanti sono **INIBITORI** (*allontanano dal valore soglia*)



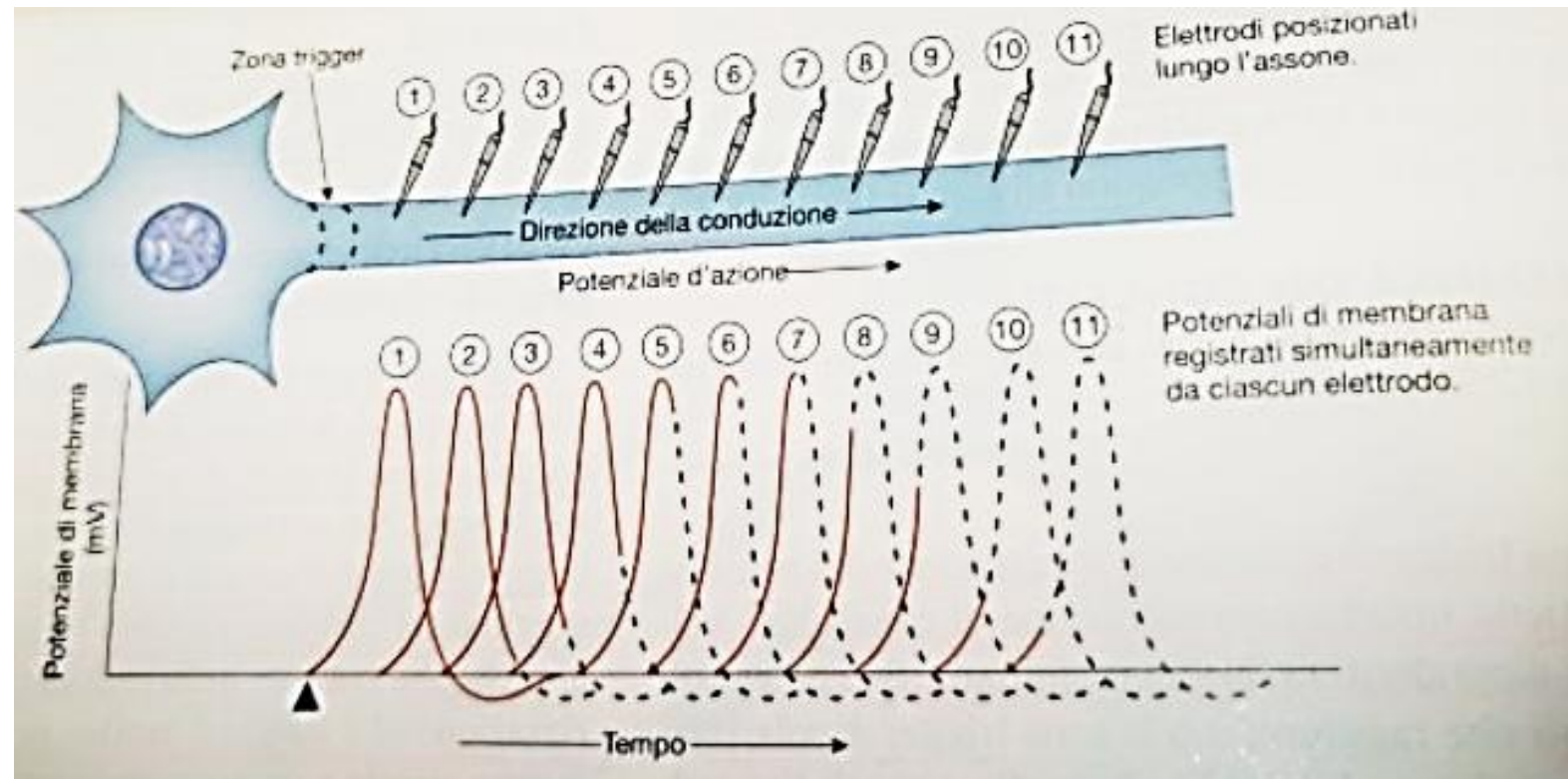
Segnali elettrici nei neuroni:

Potenziali d'azione (PA)

- ✓ Rapide variazioni **depolarizzanti** del potenziale di membrana
- ✓ si propagano **a lunga distanza**
- ✓ mantenendo **costante** la propria **ampiezza**.

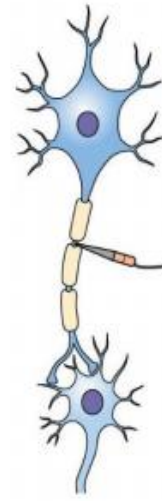
- Fenomeno tutto o niente: un PA o è generato e si sviluppa in tutta la sua ampiezza, se lo stimolo raggiunge o supera la soglia, oppure non è generato affatto, se l'ampiezza dello stimolo è inferiore alla soglia.

Una cellula è definita eccitabile quando è in grado di generare potenziali d'azione (neuroni, cellule muscolari, alcune cellule endocrine...).

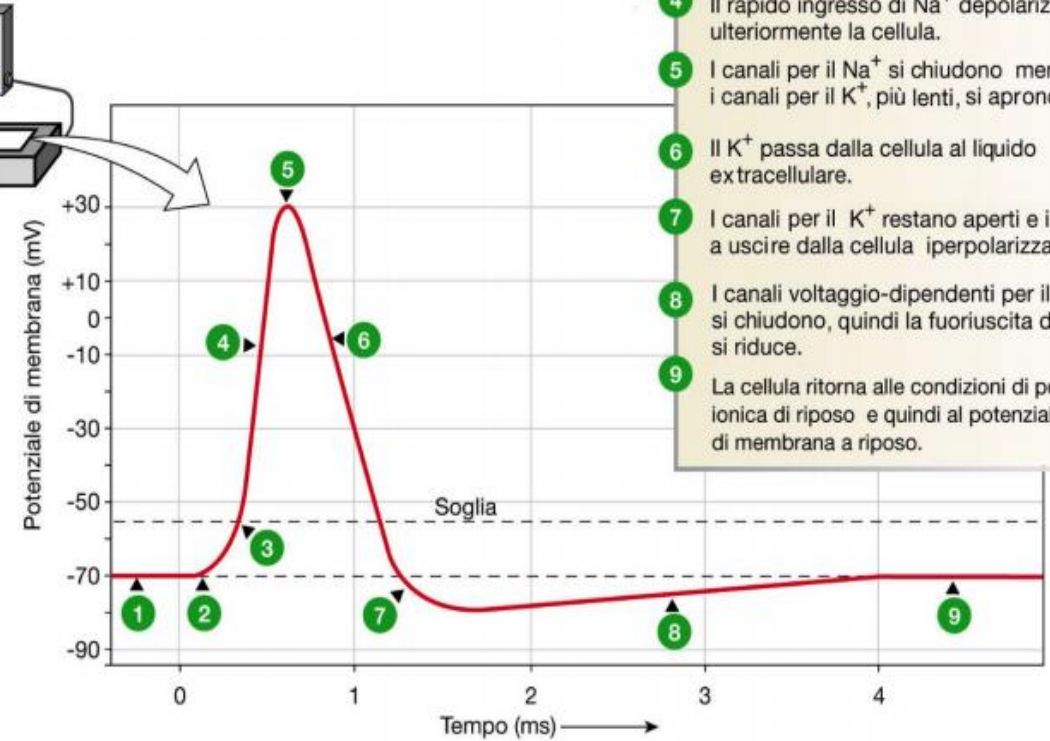


Come fanno i neuroni a generare potenziali d'azione?

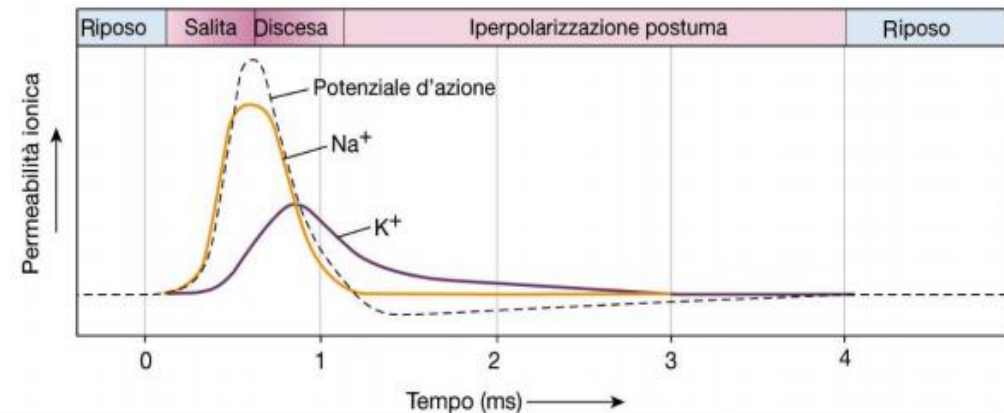
- ✓ Richiede l'attivazione e l'inattivazione coordinata di diverse famiglie di canali ionici voltaggio-dipendenti
- canali voltaggio dipendenti per il sodio
- canali voltaggio dipendenti per il potassio

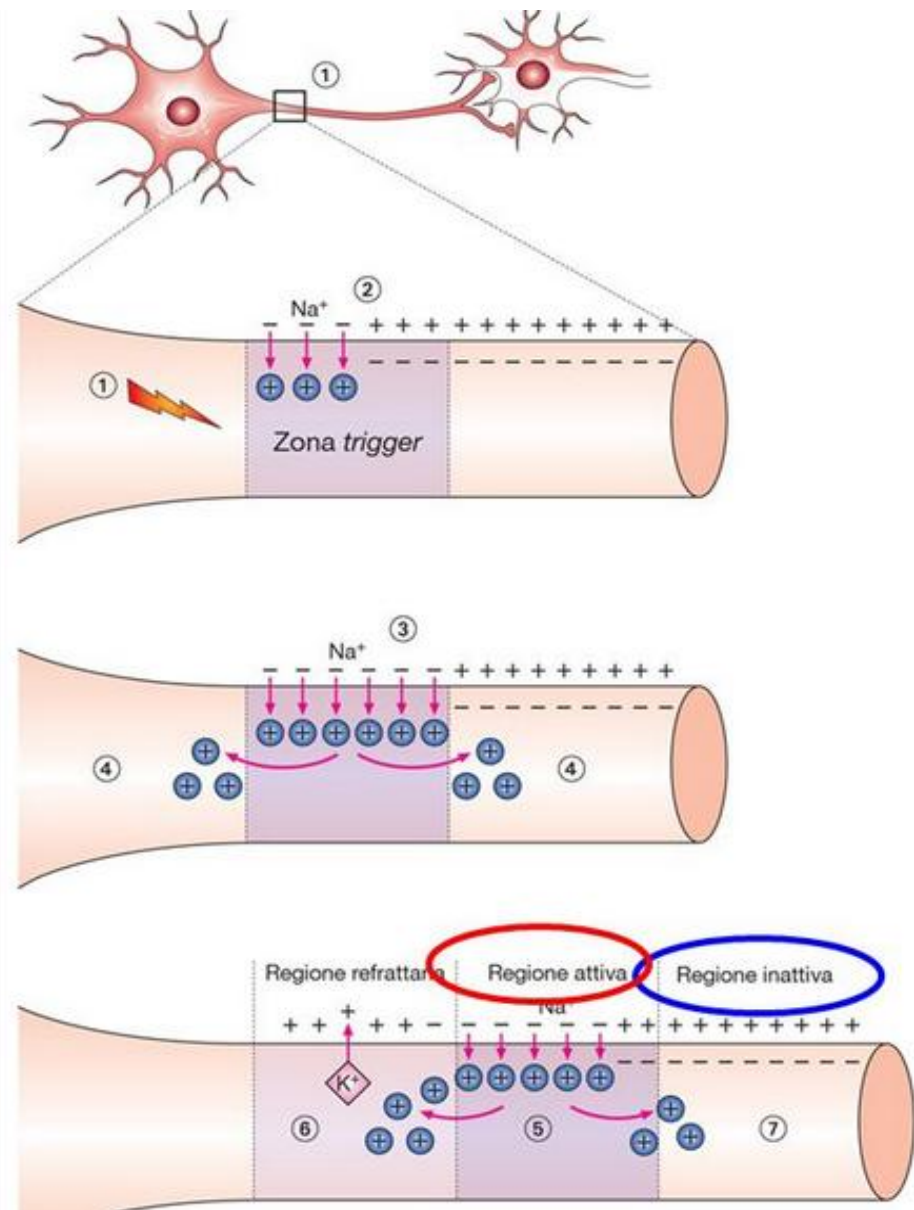


Potenziale d'azione



- 1 Potenziale di membrana a riposo.
- 2 Stimolo depolarizzante.
- 3 La membrana si depolarizza fino alla soglia. I canali voltaggio-dipendenti per il Na^+ si aprono e il Na^+ entra nella cellula. I canali voltaggio-dipendenti per il K^+ cominciano ad aprirsi più lentamente.
- 4 Il rapido ingresso di Na^+ depolarizza ulteriormente la cellula.
- 5 I canali per il Na^+ si chiudono mentre i canali per il K^+ , più lenti, si aprono.
- 6 Il K^+ passa dalla cellula al liquido extracellulare.
- 7 I canali per il K^+ restano aperti e il K^+ continua a uscire dalla cellula iperpolarizzandola.
- 8 I canali voltaggio-dipendenti per il K^+ si chiudono, quindi la fuoriuscita di K^+ si riduce.
- 9 La cellula ritorna alle condizioni di permeabilità ionica di riposo e quindi al potenziale di membrana a riposo.

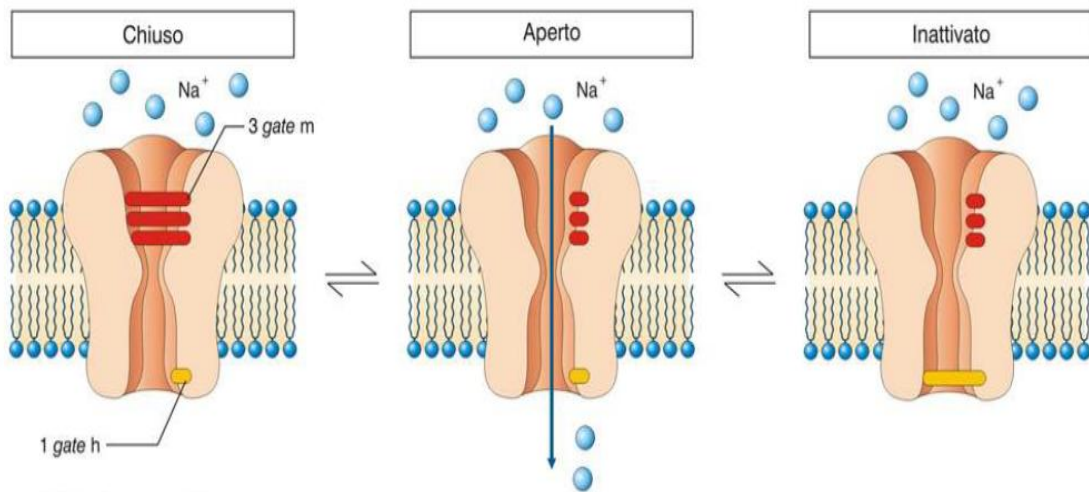




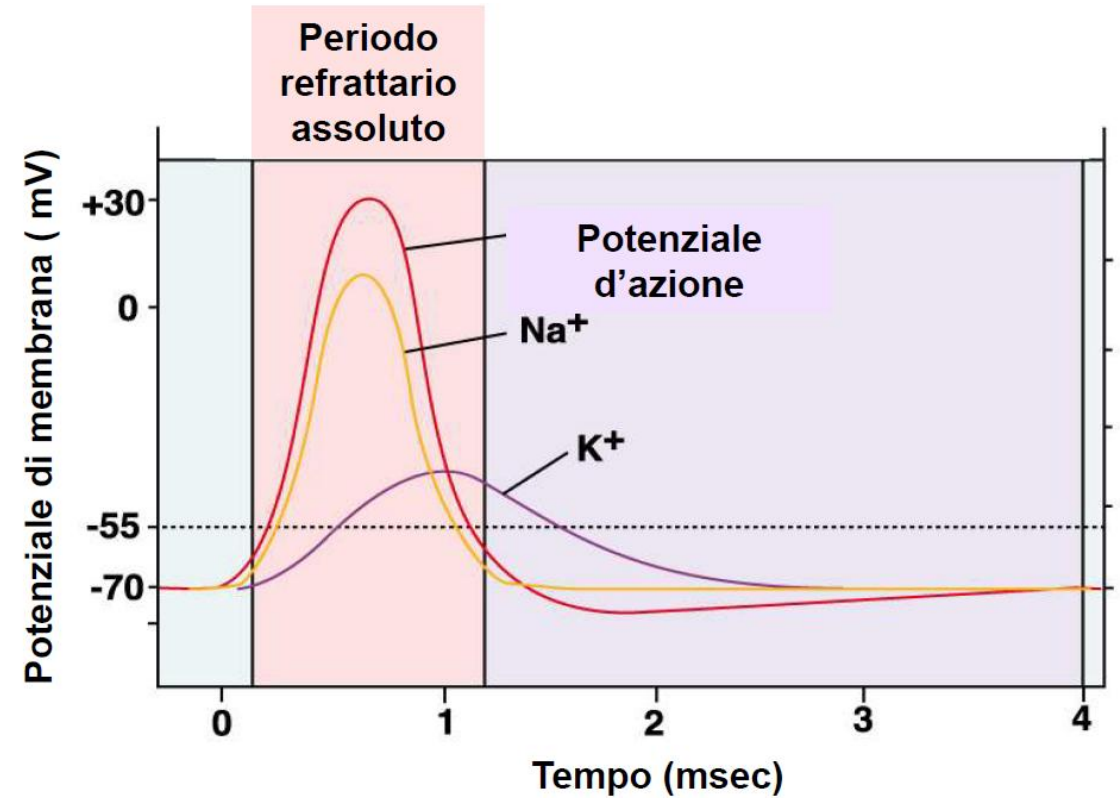
Il PA si genera solitamente a livello del monticolo assonico (zona trigger), regione ricca di canali sodio voltaggio dipendenti

L'ingresso di ioni sodio determina la depolarizzazione di zone adiacenti dell'assone, provocando l'attivazione di altri canali voltaggio dipendenti e la propagazione del PA

Il PA tuttavia può viaggiare solo in modo unidirezionale, verso il terminale assonico. Questo è dovuto alle proprietà dei canali sodio voltaggio dipendenti, che vanno incontro ad inattivazione



I canali ionici Na⁺ vanno incontro ad inattivazione

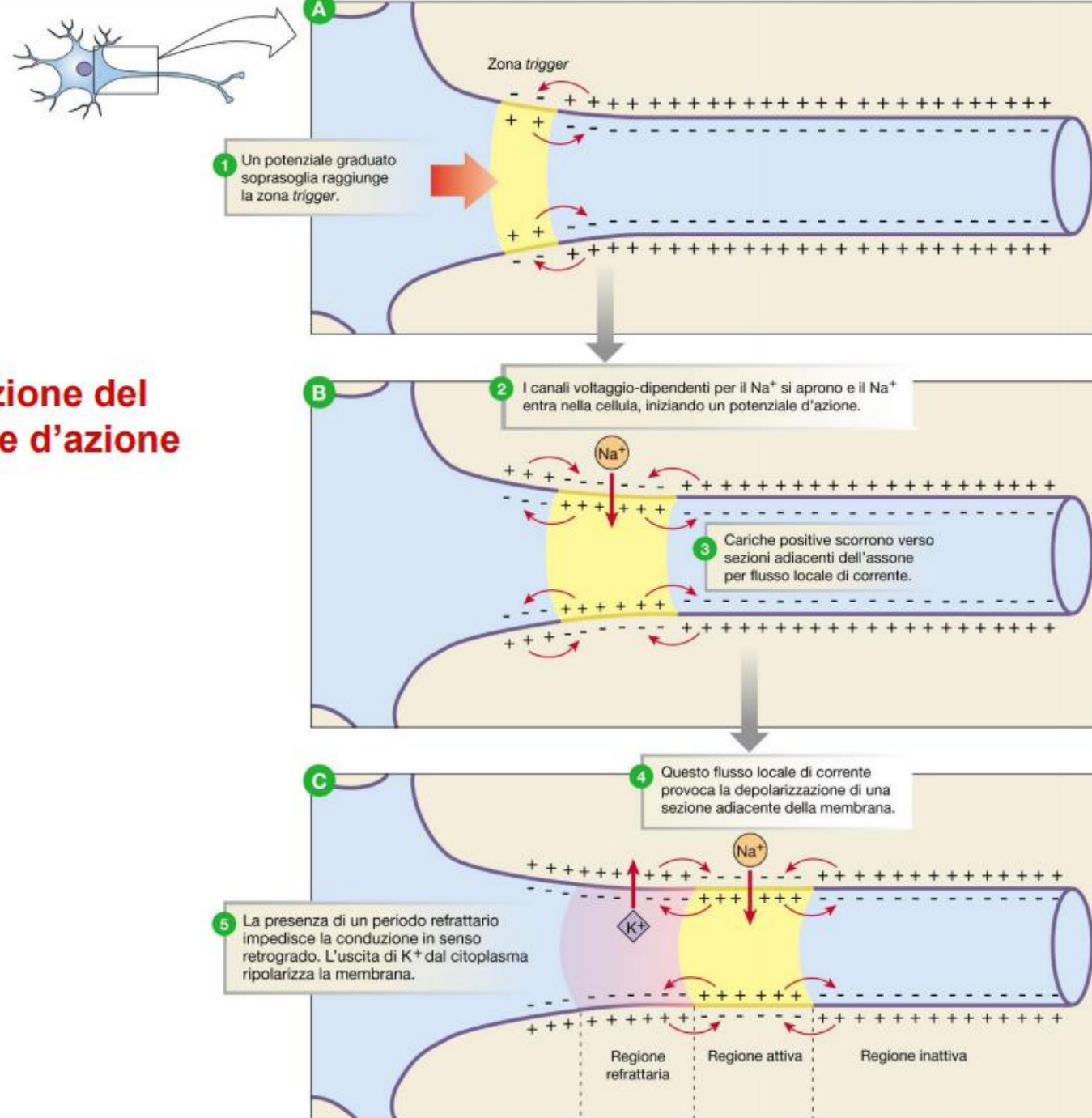


Periodo refrattario: l'inattivazione dei canali Na⁺ impedisce la generazione di un secondo PA immediatamente dopo un altro

Conduzione del potenziale d'azione

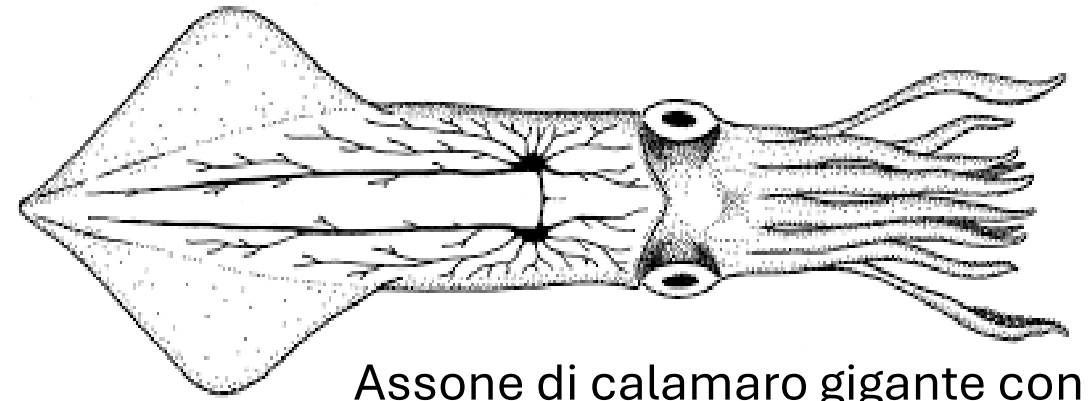
Funzioni del periodo refrattario:

- Impedire che il potenziale d'azione retropropaghi
- Limitare la frequenza di scarica del neurone

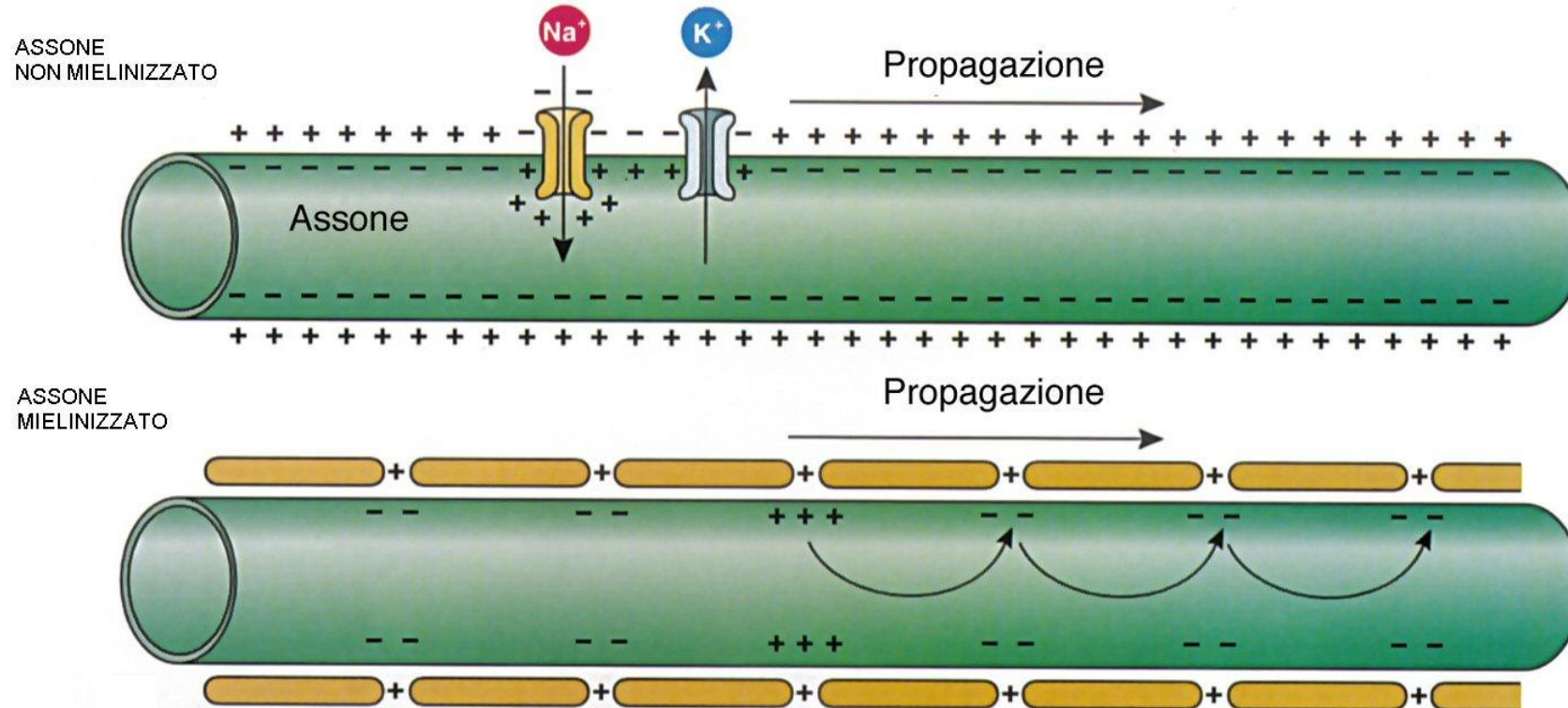


Segnali elettrici nei neuroni

La velocità di conduzione del potenziale d'azione dipende dalla dimensione dell'assone e dalla presenza o assenza di mielina



Assone di calamaro gigante con diametro di 1 mm



Conduzione saltatoria del potenziale d'azione

Conclusioni - Generazione di potenziali nei neuroni

1. I potenziali graduati sono segnali depolarizzanti o iperpolarizzanti di ampiezza proporzionale allo stimolo, che propagano localmente.

2. Se raggiungono la zona trigger sopra soglia possono generare il PA

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. Alla base della generazione del PA ci sono

a. Canali (rapidi) Na^+ voltaggio-dipendenti che inattivano → fase ascendente del PA

b. Canali (lenti) K^+ voltaggio-dipendenti senza inattivazione → fase discendente del PA

4. Periodo refrattario: l'inattivazione dei canali Na^+ impedisce la generazione di un secondo PA immediatamente dopo un altro → limitazione frequenza di scarica dei PA