

Potenziale d'Azione

Cos'è l'eccitabilità della membrana?

Modificazione transitoria delle proprietà della membrana (permeabilità ionica e potenziale transmembrana) in seguito all'azione di uno stimolo. È un fenomeno molto rilevante nelle **cellule nervose** e nelle **cellule muscolari**.

Potenziali

- Potenziali d'azione
- Potenziali graduati

Applicare uno stimolo alle membrane eccitabili

- Non deve causare danno ai tessuti
- È definibile in ampiezza (voltaggio), durata (ms), frequenza (Hz), forma
- È finemente graduabile
- Determina effetti reversibili
- Può attivare indifferentemente qualsiasi tipo di membrana eccitabile

Se stimolo la membrana con una **corrente limitata** si ha solo una piccola variazione di potenziale e si genera un **potenziale locale**, cioè una variazione del potenziale della membrana che interessa solo un piccolo tratto.

Nel momento in cui **aumento l'intensità della stimolazione**, il **potenziale locale che ottengo è più ampio rispetto al precedente**. Quindi, nel caso del potenziale locale, se aumento l'intensità dello stimolo, si ha un aumento dell'intensità e della durata della depolarizzazione.

Se aumento ulteriormente l'intensità dello stimolo, si raggiunge la **soglia** ed ottengo un'altra forma di potenziale ovvero il **potenziale d'azione**.

Se aumento ulteriormente l'intensità di stimolazione, ottengo un **potenziale d'azione che è identico a quello precedente**, per questa ragione il potenziale d'azione è detto **potenziale tutto o nulla**: o il potenziale d'azione non viene generato o viene generato sempre con la stessa ampiezza.

Quindi una membrana biologica può dare due possibili risposte che sono:

- **Potenziale locale**
- **Potenziale d'azione**

Fasi del Potenziale d'azione

- Soglia
- Potenziale tutto-o-nulla
- Si propaga senza decremento
- Depolarizzazione
- Ripolarizzazione
- Potenziale postumo
- Periodo refrattario
- Canali ionici

Quando applichiamo ad una membrana uno stimolo sufficiente a far raggiungere la **soglia**, si genera un potenziale d'azione.

La membrana in questione ha **potenziale di riposo di -75mV** , una volta applicato lo stimolo si ha:

Depolarizzazione: il potenziale di membrana va **da -75mV a $+30\text{mV}$** . In particolare, prima si ha una depolarizzazione leggermente più lenta, fino al raggiungimento della **soglia (-55mV)**, dopo di che si ha una depolarizzazione più rapida;

Ripolarizzazione: il potenziale di membrana va da $+30\text{mV}$ fino a valori più negativi di quelli del potenziale a riposo, chiamato **iperpolarizzazione postuma (-80mV)**;

Il potenziale va da valori più negativi fino al **potenziale di riposo**.

Tutto questo processo nei neuroni dura 5 millisecondi.

Canali voltaggio-dipendenti

Tutto ciò si spiega grazie ai canali voltaggio-dipendenti. In generale, distinguiamo:

- **Canali voltaggio-dipendenti:** si aprono grazie al fatto che contengono un sensore per il voltaggio e che consentono di spiegare l'andamento del potenziale d'azione;
- **Canali ligando-dipendenti:** in grado di aprirsi e chiudersi grazie al legame con una determinata molecola.

I **canali voltaggio-dipendenti**, oltre al **filtro di selettività** e al **sensore per il voltaggio**, presentano almeno un “**cancello**” per l'apertura e la chiusura. La variazione di voltaggio è in grado di determinare una variazione conformazionale di questi canali.

Lo studio *voltage clamp* ha consentito l'identificazione di questi canali. In questi esperimenti si sono usati dei bloccanti specifici, cioè molecole che si legano specificamente a uno di questi canali, in modo da identificare il tipo di corrente che stava attraversando la membrana in quel momento.

Se **blocco la conduttanza al Na^+** mediante una molecola specifica, osservo che il potenziale d'azione non si genera, perché tutta la fase di depolarizzazione del potenziale d'azione è garantita dall'ingresso di Na^+ nella cellula, grazie appunto all'apertura dei canali voltaggio dipendenti che consentono l'ingresso del Na^+ .

Se **blocco la conduttanza al K^+** , avviene una depolarizzazione, che poi si esaurisce senza il ritorno al potenziale di riposo; in questo modo si è correlata la conduttanza al K^+ con la ripolarizzazione del potenziale d'azione.

Potenziale d'azione e Canali voltaggio-dipendenti

Durante lo stadio di **riposo** la percentuale di canali aperti per il K^+ è 25 volte maggiore di quella dei canali aperti per il Na^+ .

Quindi si ha la fuoriuscita del K^+ per gradiente chimico e il suo ingresso per gradiente elettrico. Si raggiunge quindi un potenziale di membrana di $-75mV$ (potenziale di riposo). Sostanzialmente, in questa fase si ha l'aumento della conduttività del Na^+ che fa sì che il potenziale di membrana tenda al potenziale di equilibrio del Na^+ ($+55mV$), senza però raggiungerlo, poiché contemporaneamente ci sono dei canali per il K^+ aperti, creando così una corrente di K^+ in uscita. La **depolarizzazione** comporta l'apertura dei canali voltaggio-dipendenti per il Na^+ determinando l'ingresso di questi ioni sia per gradiente chimico che per gradiente elettrico. Il Na^+ che entra rende l'interno meno negativo, depolarizzando la membrana. Questa depolarizzazione, a sua volta, fa aprire altri canali per il Na^+ e così via, fino al **picco di depolarizzazione**.

Si tratta di un meccanismo a **feedback positivo**, chiamato **ciclo di Hodgkin**.

Nella fase di **ripolarizzazione** i canali per il Na^+ in successione passano allo stadio di inattivazione, mentre i canali per il K^+ sono tutti aperti, quindi si ha la massima conduttanza del K^+ , che cerca di raggiungere il suo potenziale di equilibrio (-90 mV).

Per questo motivo si ha l'**iperpolarizzazione postuma**, cioè si raggiunge un potenziale di membrana più negativo del potenziale di riposo.

Il potenziale di riposo viene raggiunto grazie all'attività della **pompa Na^+/K^+** , la quale trasporta attivamente 3Na^+ dall'interno verso l'esterno e 2K^+ dall'esterno verso l'interno, ripristinando così il **potenziale di riposo**.

Periodo refrattario

Dopo aver stimolato la cellula in modo da generare un primo potenziale d'azione, posso ottenerne un altro di uguale intensità solo dopo che si è rigenerato il potenziale di riposo. Per esempio, una cellula nervosa può dare un potenziale d'azione ogni 5ms.

Viene definito **periodo refrattario assoluto** l'intervallo di tempo in cui, anche se stimolo la cellula con una corrente più intensa della prima, non ottengo nessuna risposta e quindi nessun potenziale d'azione. Questo accade finché avremo dei canali per il Na^+ che sono inattivati, ma non sono chiusi.

Per **periodo refrattario relativo** intendo invece quell'intervallo di tempo in cui se stimolo la cellula con una corrente, anche più intensa della prima, ottengo un potenziale d'azione diverso dal primo, esso infatti avrà una **soglia più alta e un'intensità minore**. Questo si verifica quando i canali per il Na^+ cominciano a chiudersi e quindi possono essere riattivati. Però comunque ci sono un numero di canali chiusi che è inferiore rispetto a quelli disponibili nella membrana, quindi può entrare meno Na^+ , quindi meno conduttanza del Na^+ , maggiore difficoltà a raggiungere il valore soglia e naturalmente una minore ampiezza del potenziale.

Generalmente si ha una **refrattarietà assoluta** quando stimolo la cellula **1ms** dopo il primo stimolo.

La **refrattarietà relativa** invece si ha quando stimolo la cellula **2,5ms** dopo il primo stimolo.

Ipotesi del *gating*

Mantenendo le condizioni sperimentali costanti, i canali cambiano continuamente conformazione, si parla infatti di natura stocastica del *gating*.

Canali ionici voltaggio-dipendente per il sodio

Fu il primo canale voltaggio-dipendente ad essere studiato.

Questi canali sono costituiti da una **subunità α** e una o più **subunità β** .

La subunità α è costituita da **4 domini** simili (I-IV), ciascuno dei quali presenta **6 segmenti transmembrana** (S1-S6).

Il **sensore per il voltaggio** è rappresentato dai segmenti **S4**, i quali presentano numerosi **amminoacidi basici** che li rendono **fortemente carichi**.

I loop tra i segmenti S5 e S6 partecipano alla formazione del **poro del canale**.

Il canale voltaggio-dipendente per il sodio passa attraverso tre diversi tipi di configurazioni:

Chiuso: quando è chiusa la porta di chiusura;

Aperto: quando si aprono tutte e due le porte;

Inattivo: quando è chiusa la porta di inattivazione.

Se il canale non si chiude, non si potrà passare allo stadio aperto.

Il primo canale voltaggio-dipendente per il sodio fu scoperto nel 1984 e da allora ne sono stati trovati diversi tipi in tessuti diversi. Si parla di un'**unica famiglia** di canali, con diverse **varianti** che vengono identificate con una numerazione che va da 1.1 a 1.9.

Questi canali possono essere ulteriormente suddivisi in sottotipi che generano correnti diverse: **transienti, persistenti e risorgenti**.

Canali ionici voltaggio-dipendente per il potassio

È formato da **4 subunità α** ciascuna con **6 domini transmembrana**. Il canale voltaggio dipendente per il potassio passa da uno stato di **apertura** a uno di **chiusura**, cioè non presenta uno stato di inattivazione.

Possiamo distinguere **diverse famiglie** di canali per il potassio, alcuni si aprono/chiudono a seguito della variazione del voltaggio, altri sono aperti in condizioni di riposo ed altri ancora consentono meccanismi collegati all'ingresso di calcio:

- Voltaggio dipendenti: 9 tipi
- Ca-dipendenti
- Rettificatori interni
- ATP-dipende

Sistema nervoso

Nel sistema nervoso troviamo due grosse famiglie cellulari: i **neuroni** e la **glia**.

La glia ha funzione di protezione, sostegno ed aiuto metabolico ed è costituita da tipi diversi di cellule che sono:

astrociti,

cellule di Schwann (SNP)

oligodendriciti (SNC)

microglia.

Recentemente si è scoperto che le **cellule gliali** servono anche per rifornire i neuroni di K^+ poiché possiedono **solo canali per il K^+** e sono in grado di ridurre la concentrazione extracellulare del potassio.

Il neurone ha una struttura particolare, ha dei **dendriti** e un **assone** più o meno lungo. Grazie alle **terminazioni presinaptiche** il neurone entra in contatto con le altre cellule.

Gli assoni dei neuroni possono essere **amielinici** oppure essere rivestiti da una **guaina mielinica**. L'assone mielinizzato è una caratteristica degli organismi superiori.

Ciascuna cellula di Schwann avvolge la sua membrana plasmatica intorno all'assone in strati concentrici, dai quali viene successivamente estromesso il citoplasma.

Il processo di mielinizzazione del SNP è simile a quello attuato dagli oligodendrociti nel SNC, una delle differenze è che mentre nel SNC uno stesso oligodendrocita avvolge segmenti di più assoni, nel SNP le cellule di Schwann si avvolgono intorno al segmento di un solo assone.

Gli oligodendrociti si trovano nella sostanza bianca e nella sostanza grigia.

Propagazione del potenziale d'azione

Il potenziale d'azione ha principalmente tre caratteristiche: ha una **soglia**, è **tutto o nulla** e **si propaga senza decremento**.

Fisiologicamente il potenziale d'azione si genera nel **cono d'emergenza** dell'assone e si propaga senza decremento lungo tutto l'assone, fino alle **terminazioni nervose**.

La propagazione del potenziale d'azione avviene **punto per punto** negli assoni amielinici mentre negli assoni mielinici si parla di **conduzione saltatoria** perché l'impulso si propaga da un **nodo di Ranvier** al successivo, aumentando la velocità di conduzione.

Teoria del cavo

Il potenziale d'azione percorrendo l'assone, attraversa tutte le sue componenti elettriche. Quindi in ogni tratto della membrana dobbiamo considerare la **conduttanza** per i singoli ioni, le **resistenze**, le **batterie** e i **condensatori (teoria del cavo)**. I diversi tratti dell'assone sono collegati mediante **resistenze in serie ed in parallelo**.

La corrente che si propaga dal punto in cui la inietta a quello successivo diminuisce di intensità perché bisogna sommare le resistenze in serie.

Quindi è vero che la corrente decresce in modo esponenziale da un tratto ad un altro ma la corrente che fluisce è comunque sufficiente per la generazione del potenziale d'azione. Infatti il potenziale d'azione si rigenera, con ampiezza costante, da un nodo di Ranvier all'altro, negli assoni mielinici, o punto per punto, negli assoni amielinici.

Trasporto anterogrado e retrogrado

Il potenziale d'azione si può definire in maniera diversa, in relazione alla direzione, con lo stesso sistema concettuale si definisce come:

-TRASPORTO ANTEROGRADO → dal corpo cellulare alla terminazione nervosa;

-TRASPORTO RETROGRADO → dai bottoni sinaptici al corpo cellulare

Queste due diverse modalità di trasporto sono molto importanti per le cellule e per diversi aspetti funzionali che sono legati non solo all'elettricità della membrana ma anche a tutto il metabolismo, e quindi a tutta la funzionalità delle cellule nervose.

Il **trasporto anterogrado** si è visto mediante *patch clamp* che può avere due velocità diverse. Un tipo di trasporto che viene definito **assoplasmatico** ed è **più rapido**, ha una velocità di **40cm/gg**, ed è un meccanismo che è collegato ai **neurotubuli**, cioè le strutture che compongono il citoscheletro degli assoni. La **chinesina**, per esempio, che è una delle molecole che fa parte di questo sistema, è molto importante in quanto utilizzando ATP, riesce a trasferire delle sostanze che vengono prodotte dal corpo cellulare e che vengono poi trasferite alla terminazione nervosa.

Accanto a questo trasporto abbiamo il trasporto **assonale lento**, che ha una velocità di **1mm/gg**. Questo trasporto è associato alla capacità di crescita dell'assone e alla possibilità di riparare eventuali punti danneggiati quindi questo trasporto è continuo ed è in relazione con il rinnovamento della membrana.

Il **trasporto retrogrado** ha una velocità media di **25cm/gg**.