



UNIVERSITA'
DEGLI STUDI
DI **TERAMO**

Corso di laurea BIOTECNOLOGIE

Fisiologia cellulare e Laboratorio di Colture cellulari

Prof.ssa Luisa Gioia



Corso di laurea BIOTECNOLOGIE

Fisiologia cellulare e Laboratorio di Colture cellulari

UNIVERSITA'
DEGLI STUDI
DI TERAMO

**IL MATERIALE CONTENUTO IN QUESTE
DIAPOSITIVE E' AD ESCLUSIVO USO DIDATTICO PER
L'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TERAMO.**

ALCUNE IMMAGINI CONTENUTE SONO STATE TRATTE DAI
SEGUENTI LIBRI:

“Biologia molecolare della cellula” – Bruce Alberts *et al.* (Ed. Zanichelli)

“FISIOLOGIA Molecole, cellule e sistemi” – Egidio D'Angelo e Antonio Peres (Edi-ermes)

“Introduzione alle colture cellulari” - G.L. Mariottini *et al.* (Ed. Tecniche nuove)

“Cell Biology: a short course” – S.R. Bolsover *et al.*
(Ed. Wiley-Blackwell)

Il potenziale di membrana a riposo può cambiare ogni volta in cui cambia la distribuzione degli ioni dai due lati della membrana

Ciò può accadere ogni volta che cambia la permeabilità della membrana, cioè la conduttanza agli ioni (Na^+ , K^+ , Cl^- , ...) rispetto alle condizioni di riposo

Cellule eccitabili

**VARIAZIONI DI
CONDUTTANZA** sono
fondamentali per le
cellule eccitabili (es.
nervose, muscolari)
dove hanno la
**CAPACITÀ DI
AUTOAMPLIFICARSI**



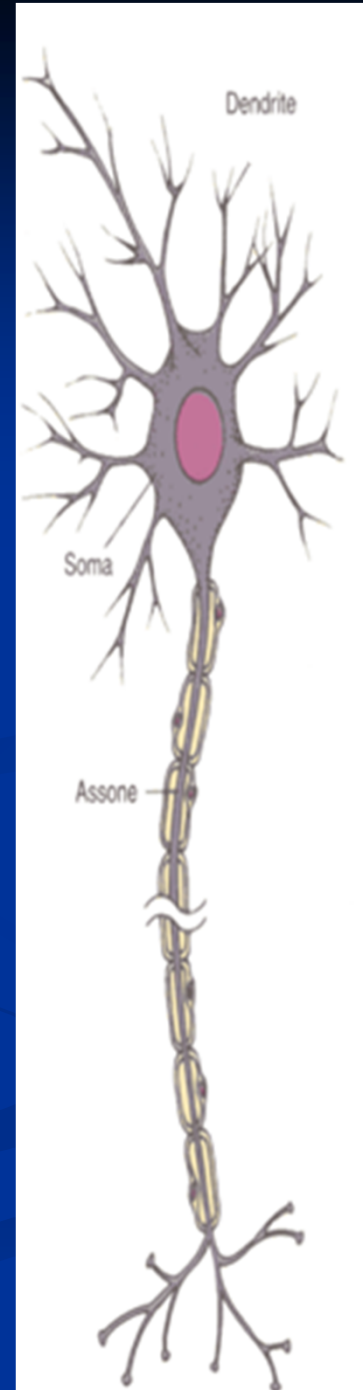
segnali
elettrici

CELLULE ECCITABILI E POTENZIALE D'AZIONE

**Il sistema nervoso è composto di unità
morfologico-funzionali dette
NEURONI**

I neuroni mostrano due tipi
di potenziale elettrico:

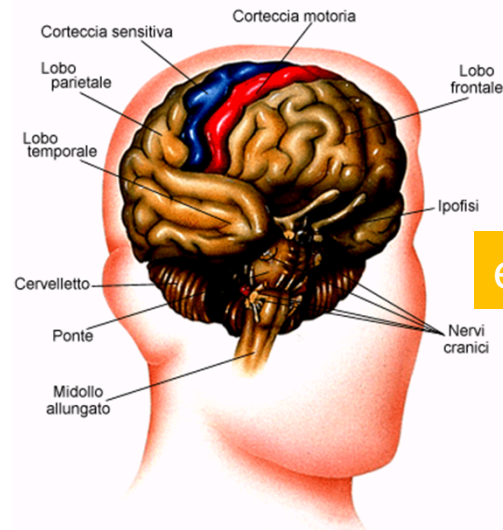
- il **potenziale di riposo**
- il **potenziale d'azione**



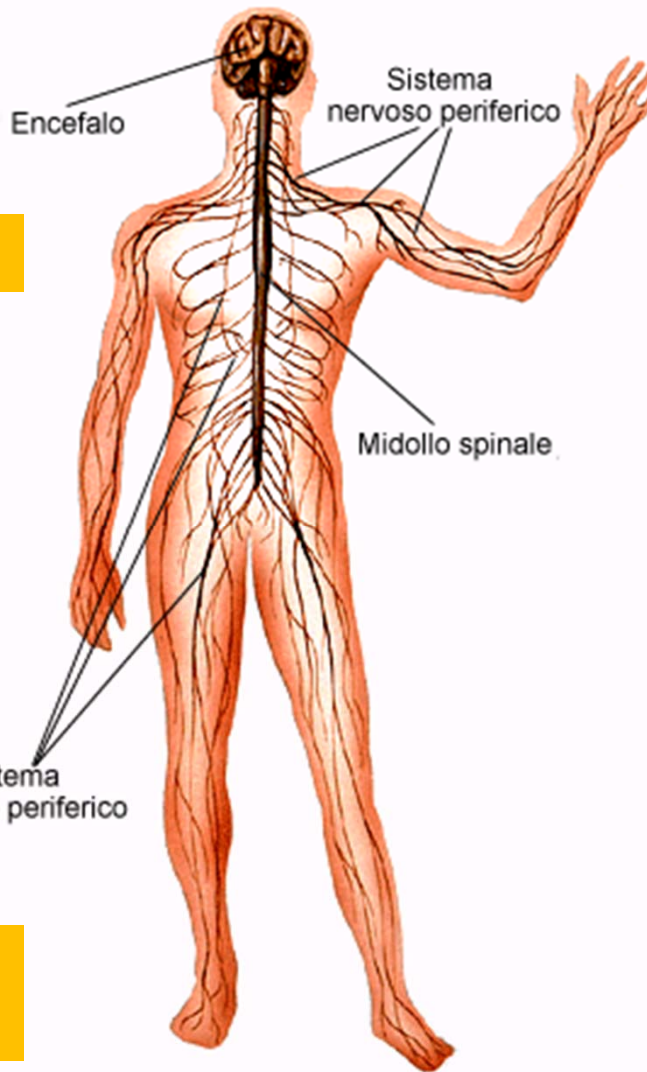
sistema nervoso centrale

SISTEMA NERVOSO

→ coordina tutte le funzioni del nostro organismo



encefalo

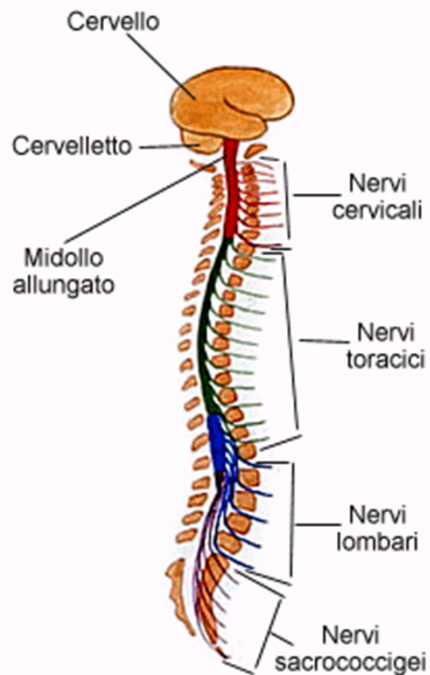


sistema nervoso periferico:

comprende tutti gli organi dell'apparato nervoso (**nervi cranici e spinali**), che collegano il sistema centrale con la periferia costituita dagli organi di senso

i **nervi sensitivi** portano informazioni dalla periferia del corpo verso il midollo spinale e verso l'encefalo

i **nervi motori** trasferiscono i comandi elaborati dall'encefalo e dal midollo ai muscoli scheletrici



midollo spinale

sistema nervoso vegetativo o autonomo

Destinato all'innervazione degli organi che regolano la vita vegetativa dell'organismo, come la respirazione o la circolazione sanguigna. Si divide in simpatico e parasimpatico

Il nucleo di tutto il sistema nervoso è la cellula nervosa o NEURONE

Uno **STIMOLO ESTERNO** viene recepito, correlato con altri giunti contemporaneamente, memorizzato, messo in relazione con le condizioni esterne e giudicato valido o meno per il funzionamento di tutto l'organismo.

Questo avviene in continuazione, grazie alle cellule nervose che consentono il passaggio e la trasmissione degli **IMPULSI NERVOSI** (ovvero delle informazioni) al cervello.

Struttura e organizzazione del neurone

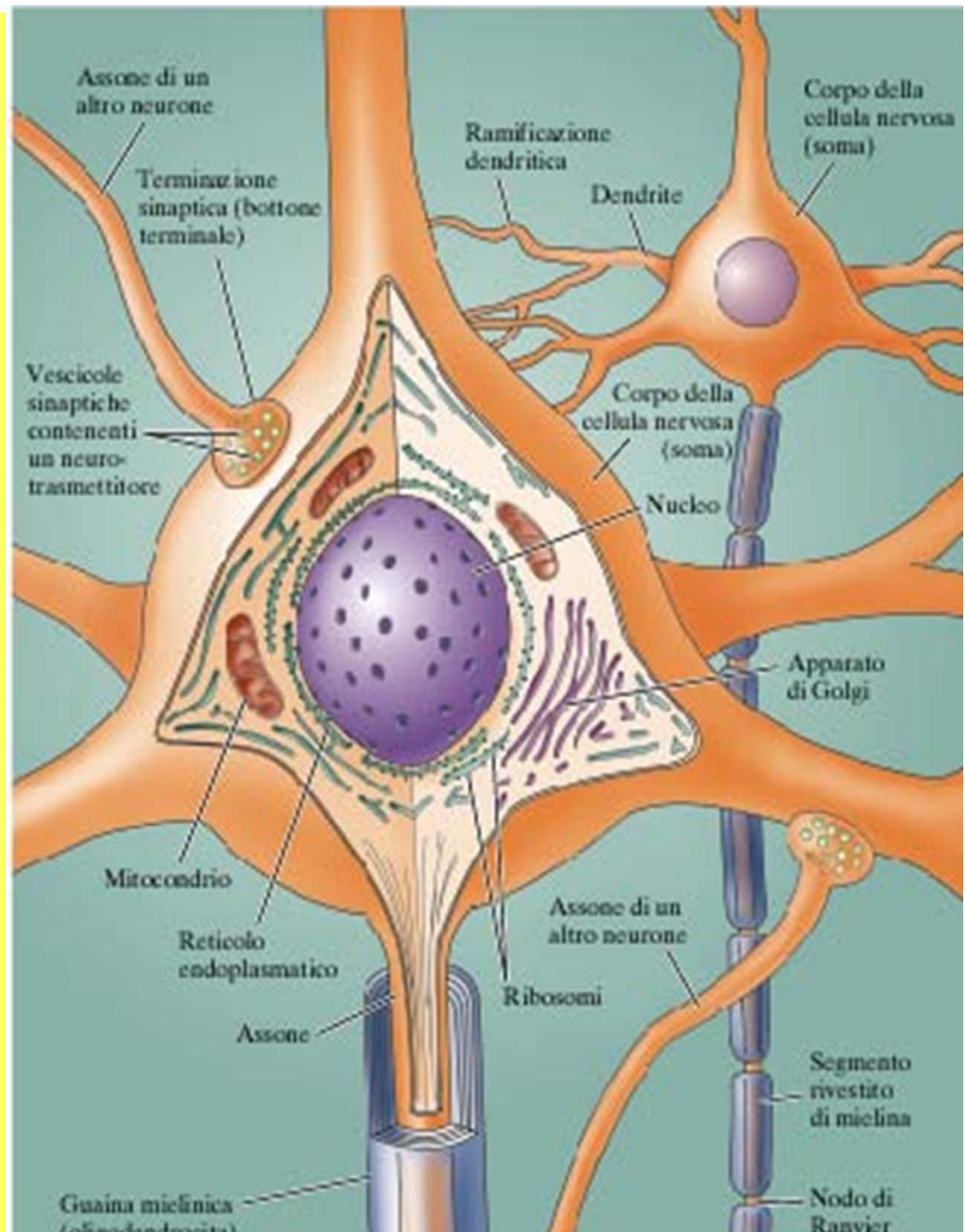
I neuroni possiedono 4 regioni funzionalmente distinguibili:

Corpo cellulare contiene il nucleo, è sede della sintesi proteica

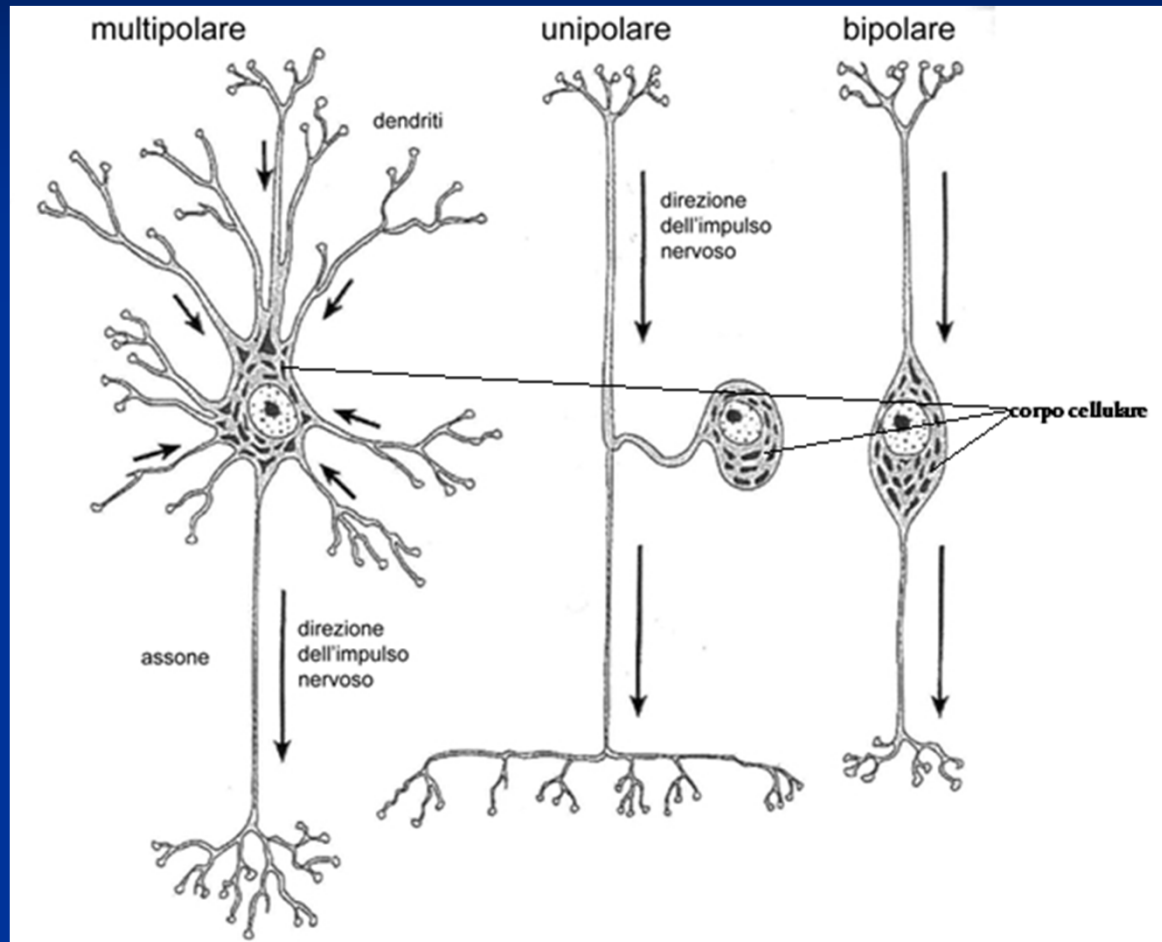
Dendriti, specializzati per ricevere segnali chimici ed elettrici da altri neuroni, integrarli e trasmetterli al corpo cellulare

Assone, in genere unico, specializzato nella conduzione del segnale (potenziale d'azione) in periferia

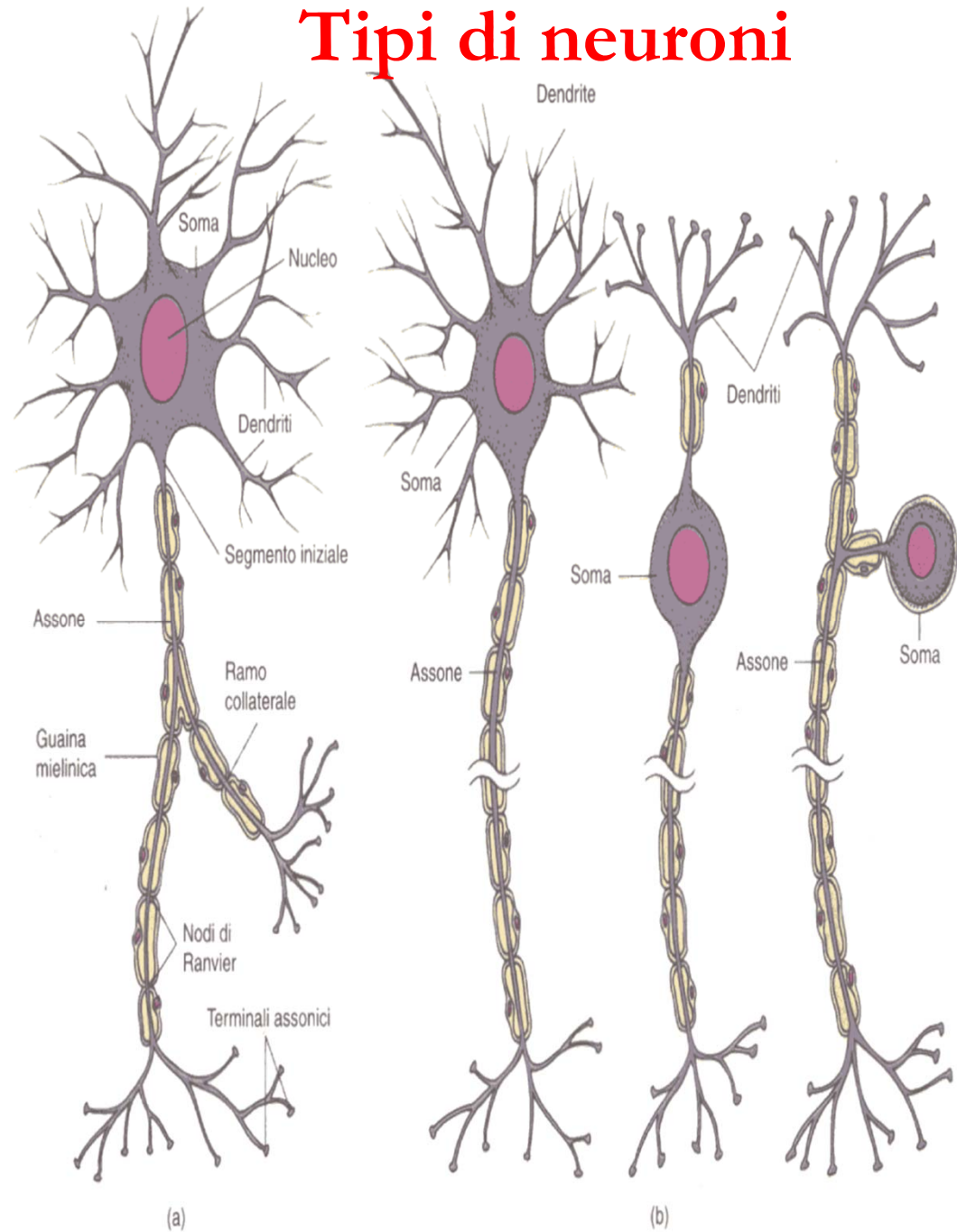
Terminazione assonica con sinapsi di tipo elettrico o chimico. Rilascio del neurotrasmettitore nelle sinapsi



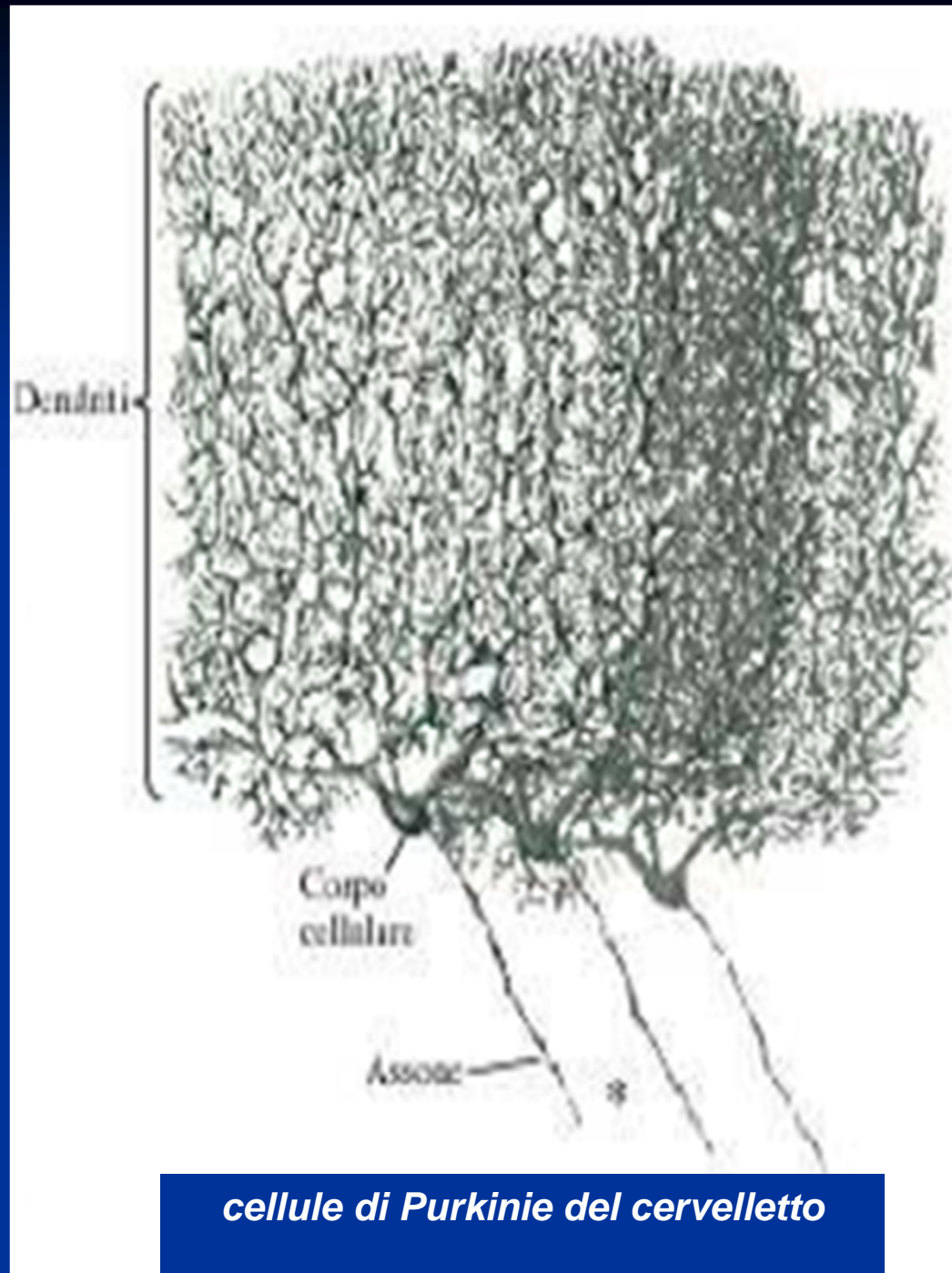
Tipi di neuroni



Tipi di neuroni



alcuni tipi di neurone sono privi di dendriti



altri tipi di neurone hanno **numerosissimi dendriti** forniti di complesse ramificazioni (arborizzazione dendritica)

cellule di Purkinie del cervelletto

Nel **sistema nervoso** sono presenti:

- **NEURONI** (circa 100 miliardi)
- **CELLULE GLIALI** (oltre 1000 miliardi)

**1 milione di
miliardi di
sinapsi!**

Sinapsi chimiche: le più diffuse nel SNC

TRASMISSIONE DEL SEGNALE

Il segnale elettrico diffonde lungo la membrana attenuandosi con la distanza, man mano che si propaga, a meno che venga amplificato

- piccoli neuroni → diffusione passiva
- grandi neuroni → **segnalazione attiva**

amplificazione

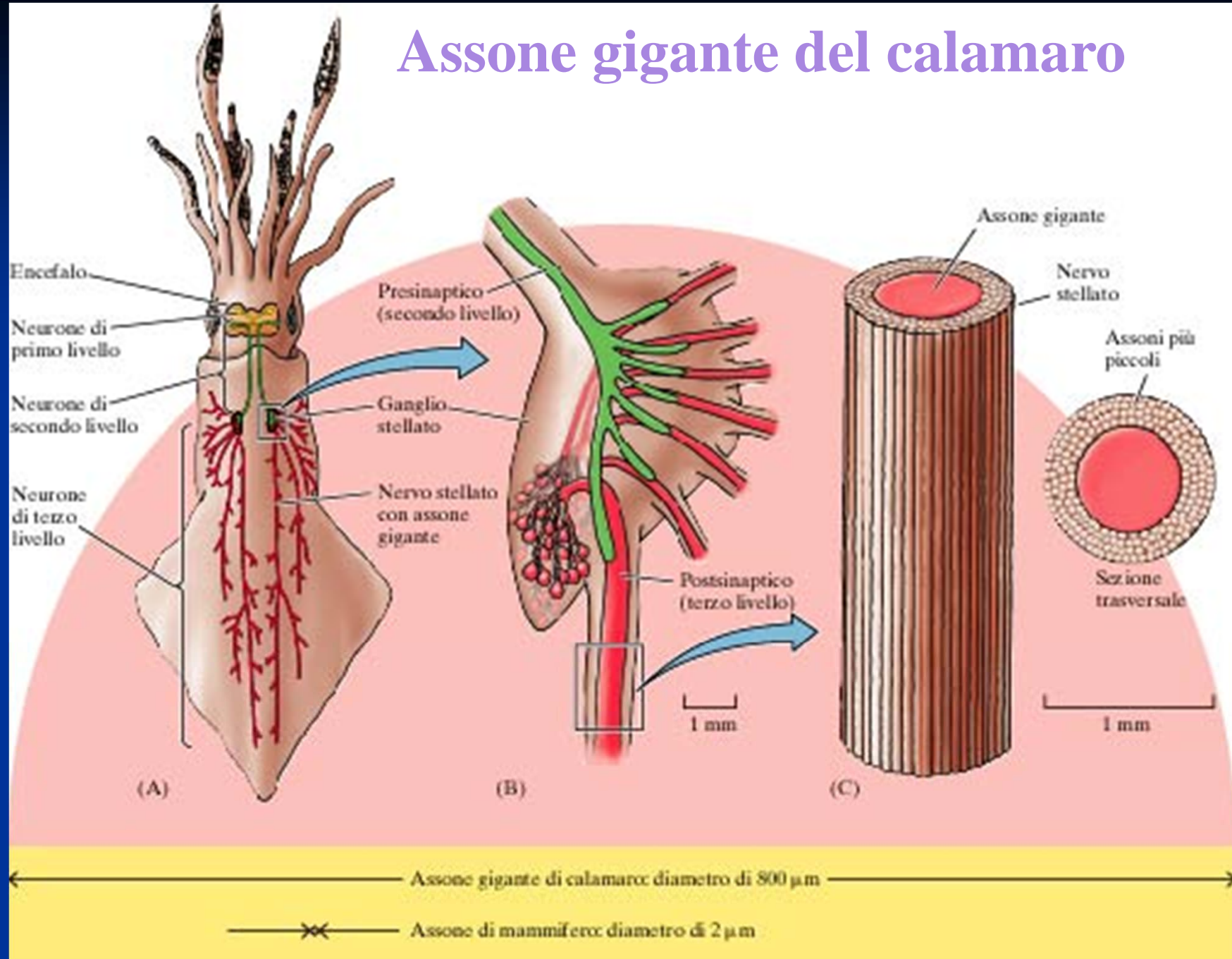
Potenziale d'azione (PA)

○

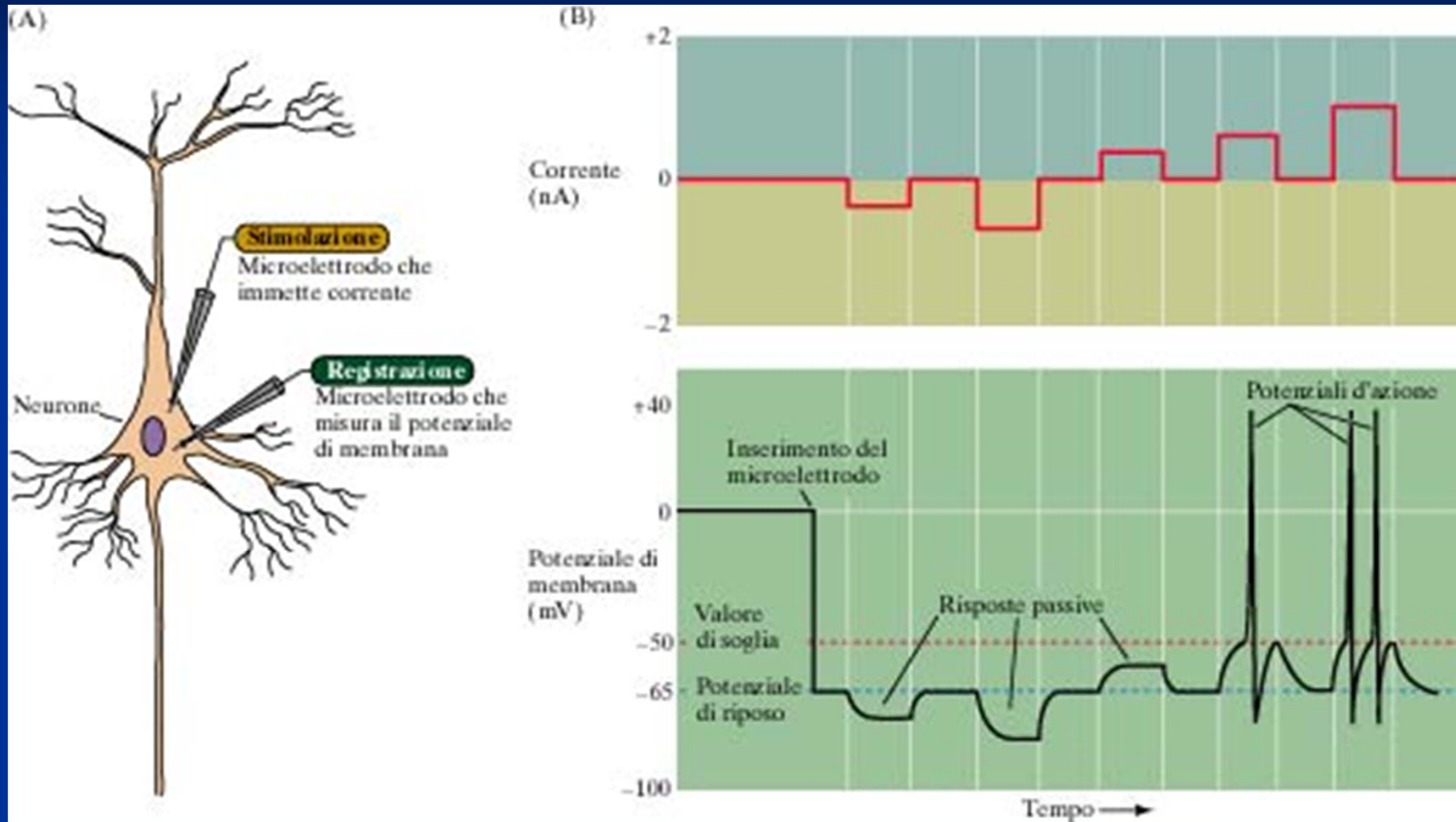
Impulso nervoso

→ Diretta conseguenza delle proprietà dei **canali cationici regolati dal voltaggio**

Assone gigante del calamaro



Risposte passive o attive delle cellule nervose



La membrana di tutte le cellule eccitabili contiene canali cationici regolati dal voltaggio che sono responsabili della generazione di un POTENZIALE D'AZIONE

GENESI DEL POTENZIALE D'AZIONE (PA)

stimolo

```
graph TD; Stimolo[stimolo] --> Depolarizzazione[depolarizzazione]; Depolarizzazione --> Apertura1[rapida apertura dei canali del Na+ voltaggio-dipendenti]; Apertura1 --> Entrata[una piccola quantità di Na+ entra secondo gradiente]; Entrata --> Depolarizzazione2[ulteriore depolarizzazione]; Depolarizzazione2 --> Apertura2[apertura di altri canali del Na+ voltaggio-dipendenti];
```

depolarizzazione

rapida apertura dei **canali del Na⁺ voltaggio-dipendenti**

una piccola quantità di **Na⁺** entra secondo gradiente

ulteriore depolarizzazione

apertura di altri **canali del Na⁺ voltaggio-dipendenti**

Si arriva ad una situazione in cui tutti i canali del Na-voltaggio dipendenti sono aperti e il Na^+ può raggiungere il suo E_{Na^+}

potenziale a riposo = -70 mV

~ potenziale di equilibrio del Na^+ (E_{Na^+})
= ~+55 mV

In condizioni di riposo:

$K^+ : Na^+ : Cl^- = 1 : 0.04 : 0.45$



durante il potenziale d'azione:

$K^+ : Na^+ : Cl^- = 1 : 20 : 0.45$



RIPOLARIZZAZIONE?

- 1. Inattivazione dei canali del Na⁺**
- 2. Apertura dei canali del K⁺ voltaggio-dipendenti**

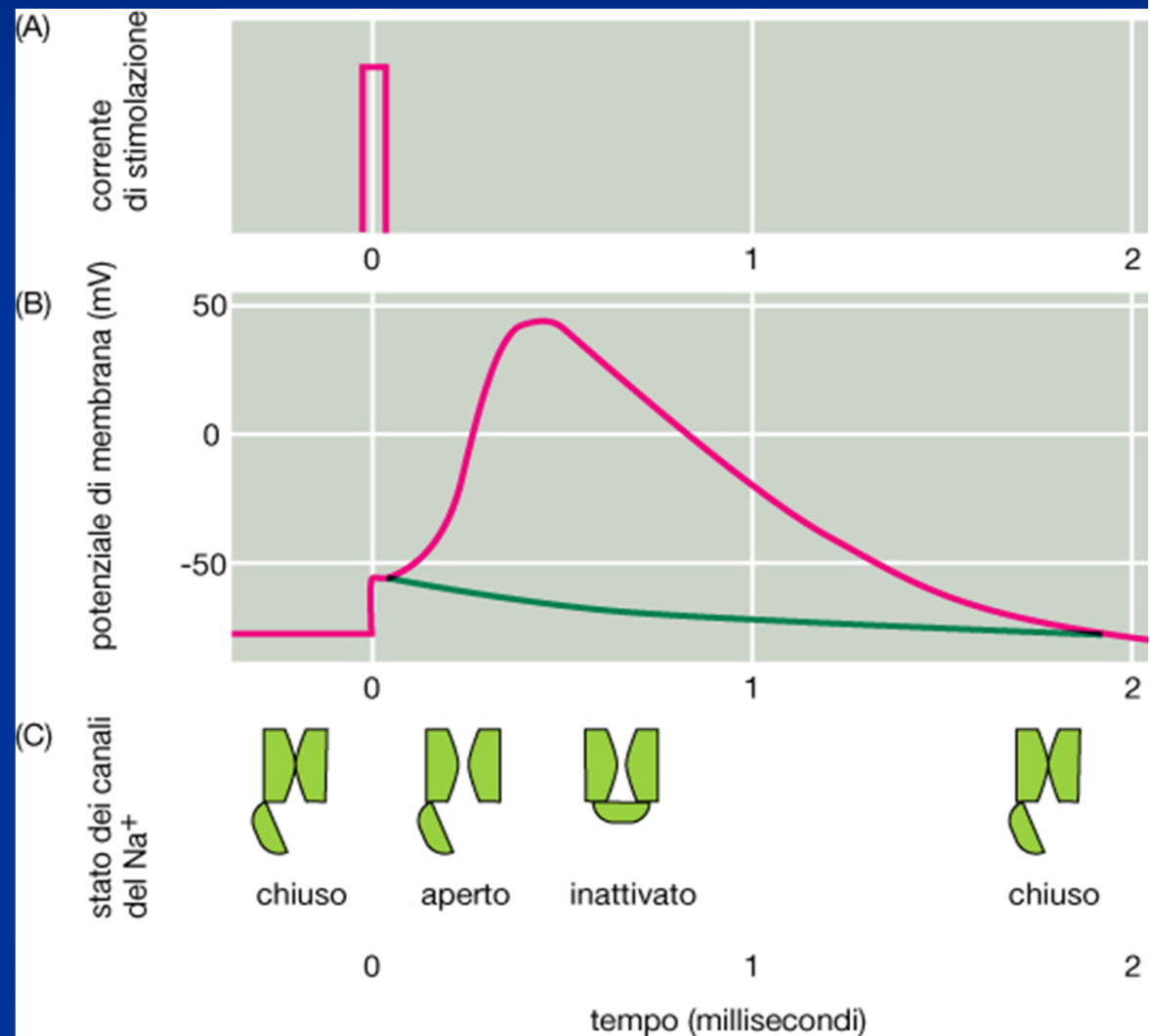
RIPOLARIZZAZIONE

1) I canali del Na hanno un **meccanismo di inattivazione automatico** che fa richiudere rapidamente i canali anche se la m. è ancora depolarizzata

I canali del Na⁺ possono trovarsi in 3 stati:

- Chiusi
- Aperti
- **Inattivati**

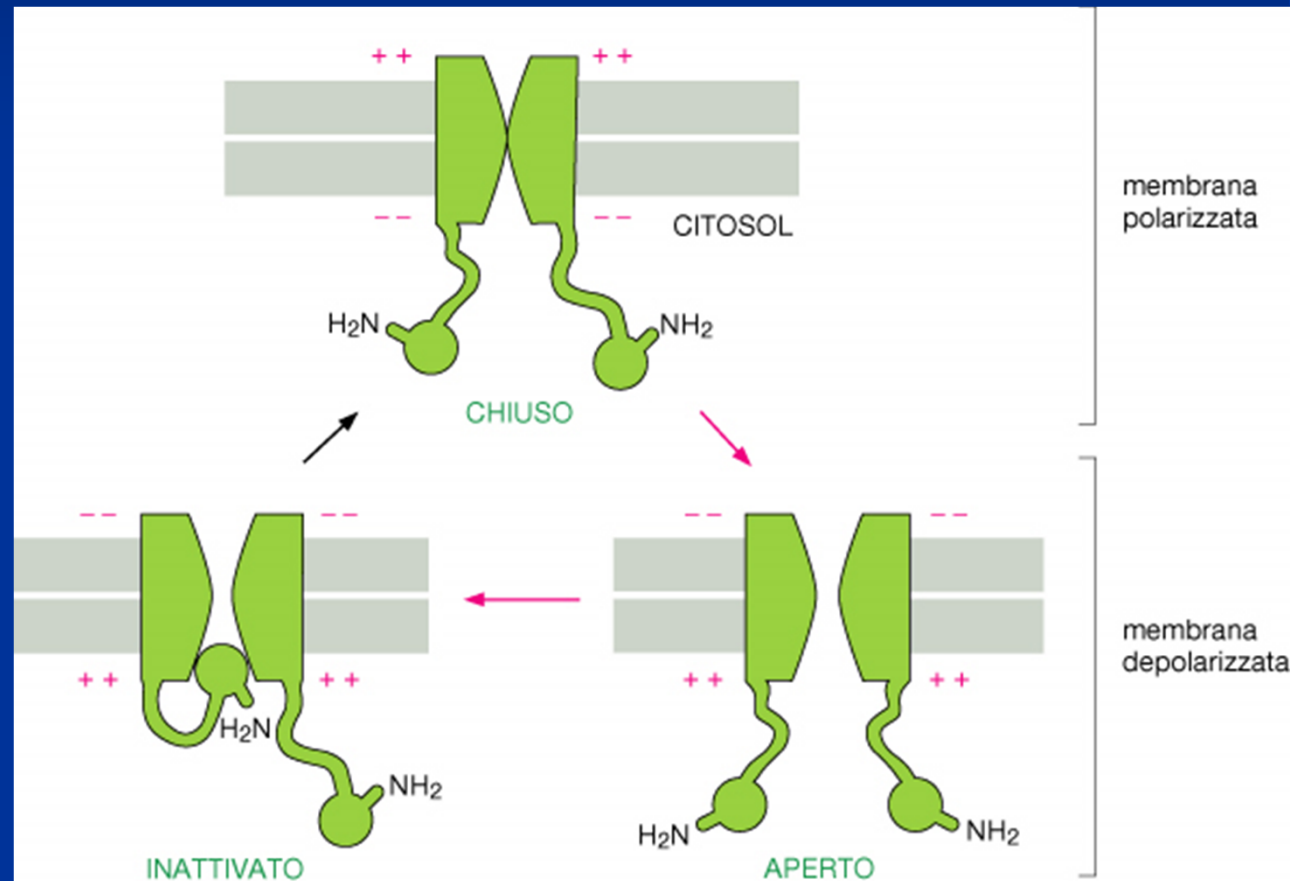
incapaci di riaprirsi



RIPOLARIZZAZIONE

2) meccanismo per la ripolarizzazione: Apertura dei canali del K⁺ voltaggio-dipendenti

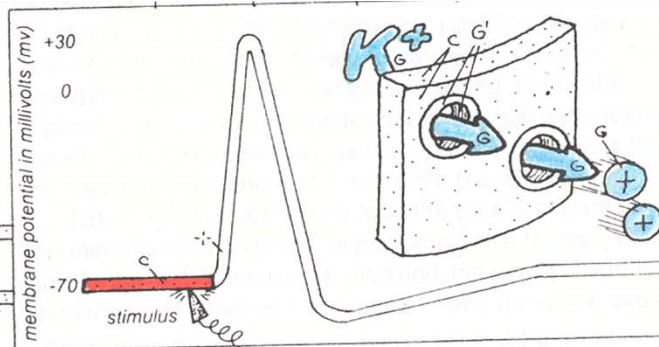
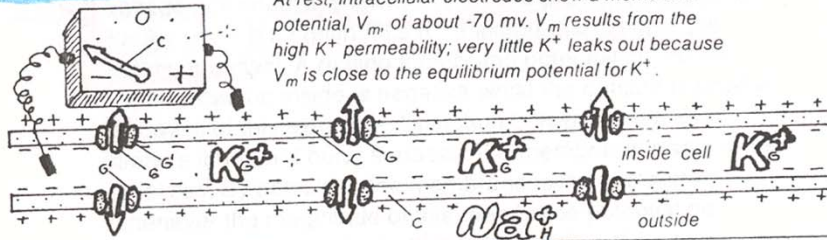
l'influsso temporaneo di Na⁺ è rapidamente superato da un **efflusso di K⁺** che rapidamente spinge la M verso il E_{K^+} anche prima che sia completata l'inattivazione dei canali del Na⁺



Anche i canali del K⁺ possono inattivarsi

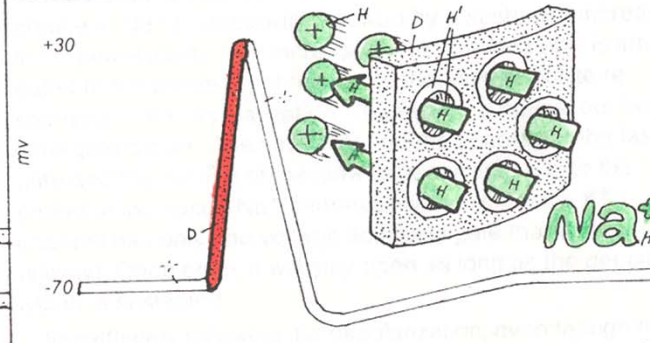
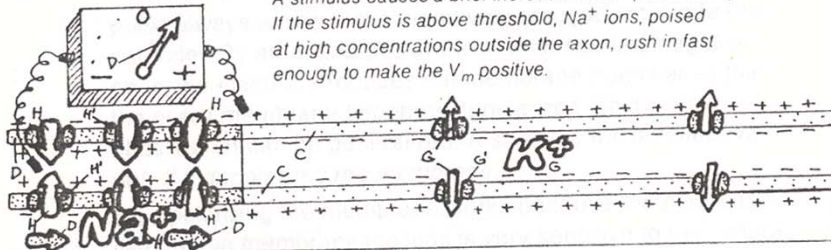
POLARIZED_c (RESTING): HIGH K⁺ PERMEABILITY

At rest, intracellular electrodes show a membrane potential, V_m , of about -70 mv. V_m results from the high K⁺ permeability; very little K⁺ leaks out because V_m is close to the equilibrium potential for K⁺.



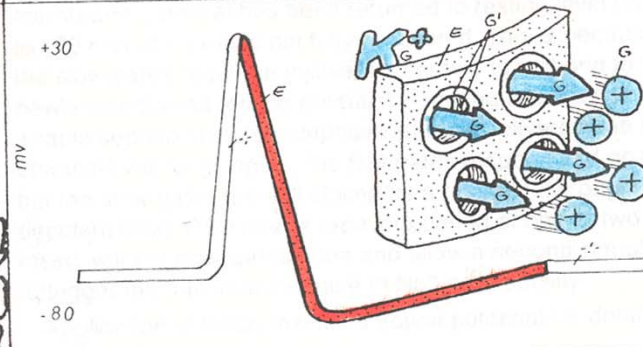
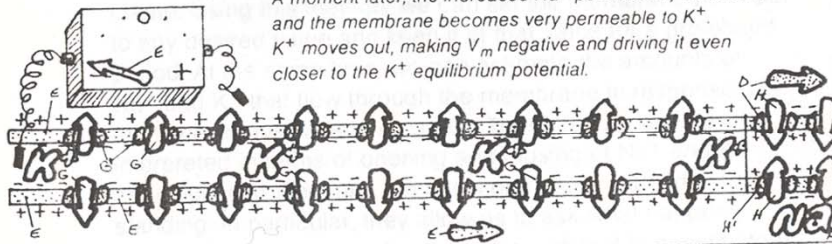
REVERSED POLARITY: VERY HIGH Na⁺ PERMEABILITY_H

A stimulus causes a brief increase in Na⁺ permeability. If the stimulus is above threshold, Na⁺ ions, poised at high concentrations outside the axon, rush in fast enough to make the V_m positive.



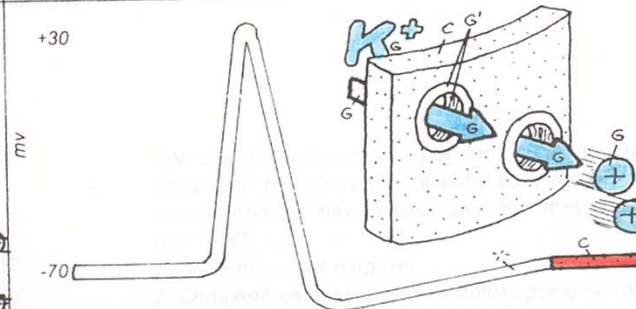
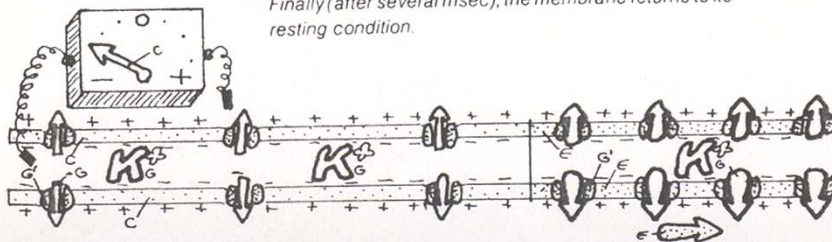
REPOLARIZED: VERY HIGH K⁺ PERMEABILITY_E

A moment later, the increased Na⁺ permeability subsides, and the membrane becomes very permeable to K⁺. K⁺ moves out, making V_m negative and driving it even closer to the K⁺ equilibrium potential.



POLARIZED: HIGH K⁺ PERMEABILITY_C

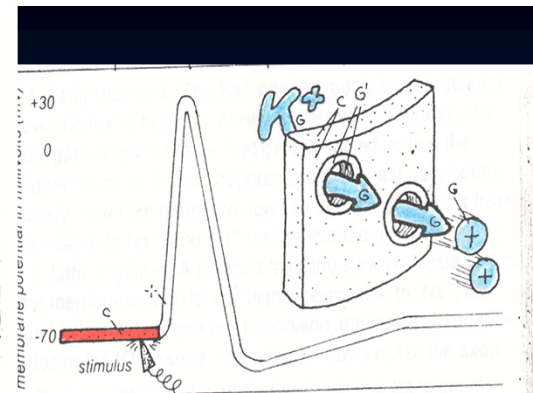
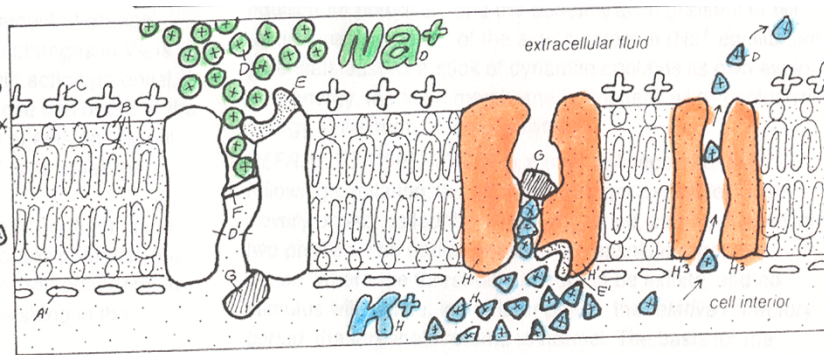
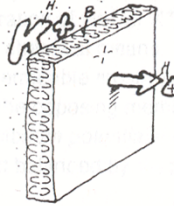
Finally (after several msec), the membrane returns to its resting condition.



LEAK CHANNEL

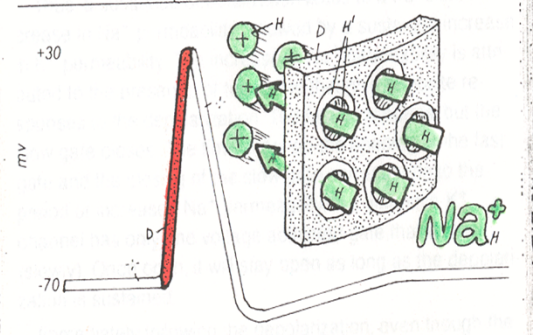
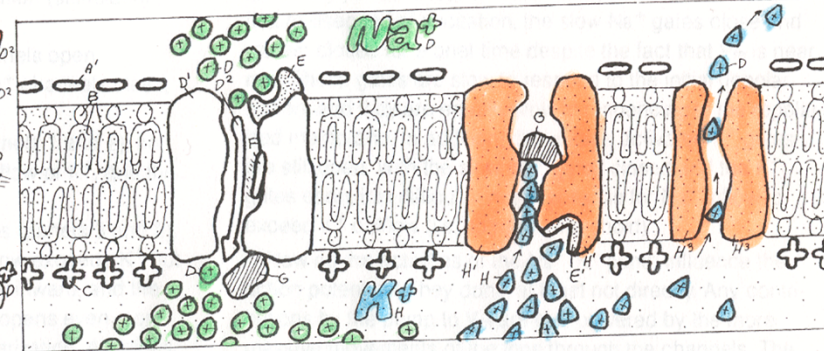
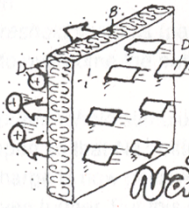
NORMAL (RESTING POTENTIAL)

There are two types of K^+ channels. One is always open, it is the pathway for the small K^+ leakage that creates the resting potential. The other is voltage activated; it is mostly closed when the membrane is highly polarized. Voltage activated Na^+ channels are also closed in the highly polarized state.



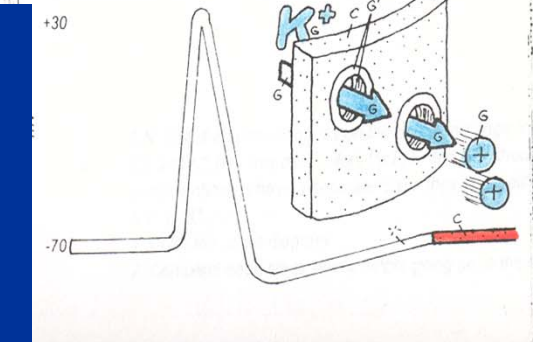
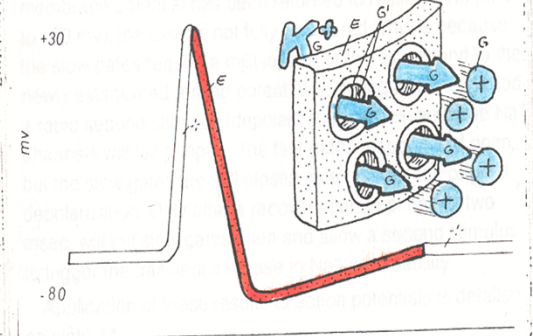
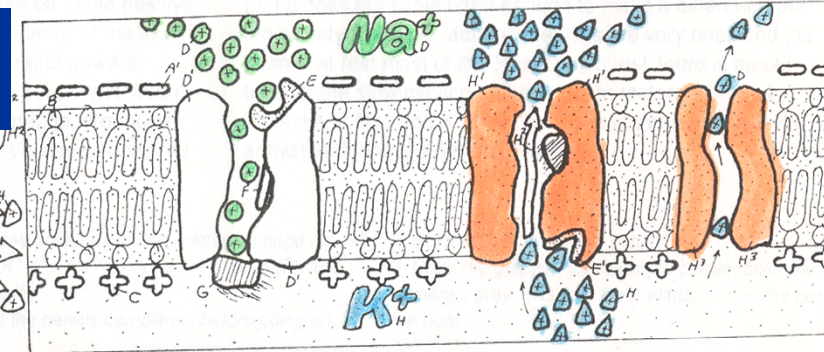
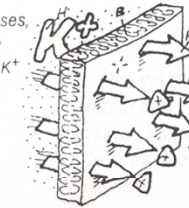
DEPOLARIZATION EARLY (< 1 msec)

The Na^+ channel contains two gates, a slow one and a fast one. At rest (polarized membrane), the slow gate is open, but the fast gate is closed so that the channel is closed. Upon depolarization, the fast gate opens quickly, making the membrane permeable to Na^+ . This depolarized state can be artificially sustained.



REPOLARIZED: LATE (2-3 msec)

A moment later the slow Na^+ gate closes, and the membrane is no longer highly permeable to Na^+ . In addition, a slow K^+ opens, making the membrane more permeable to K^+ than it was at rest.



Potenziale d'azione in una cellula nervosa

➤ Il potenziale d'azione si verifica solo se la depolarizzazione raggiunge il **POTENZIALE SOGLIA**;

•una volta raggiunta la soglia la depolarizzazione é autorigenativa;

•l'ampiezza del potenziale d'azione é indipendente dallo stimolo (legge del "tutto o nulla");

➤ Rapida ripolarizzazione

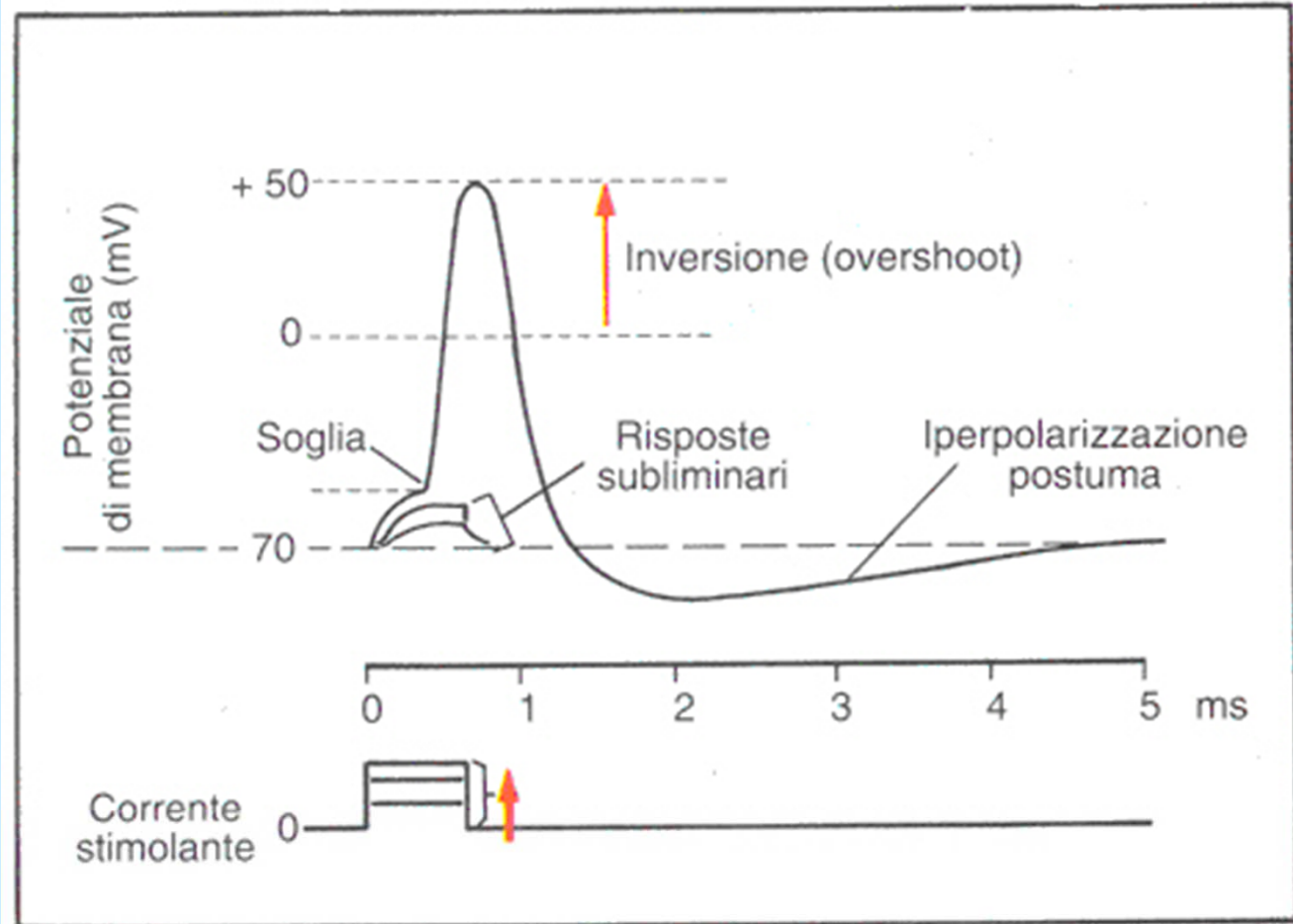
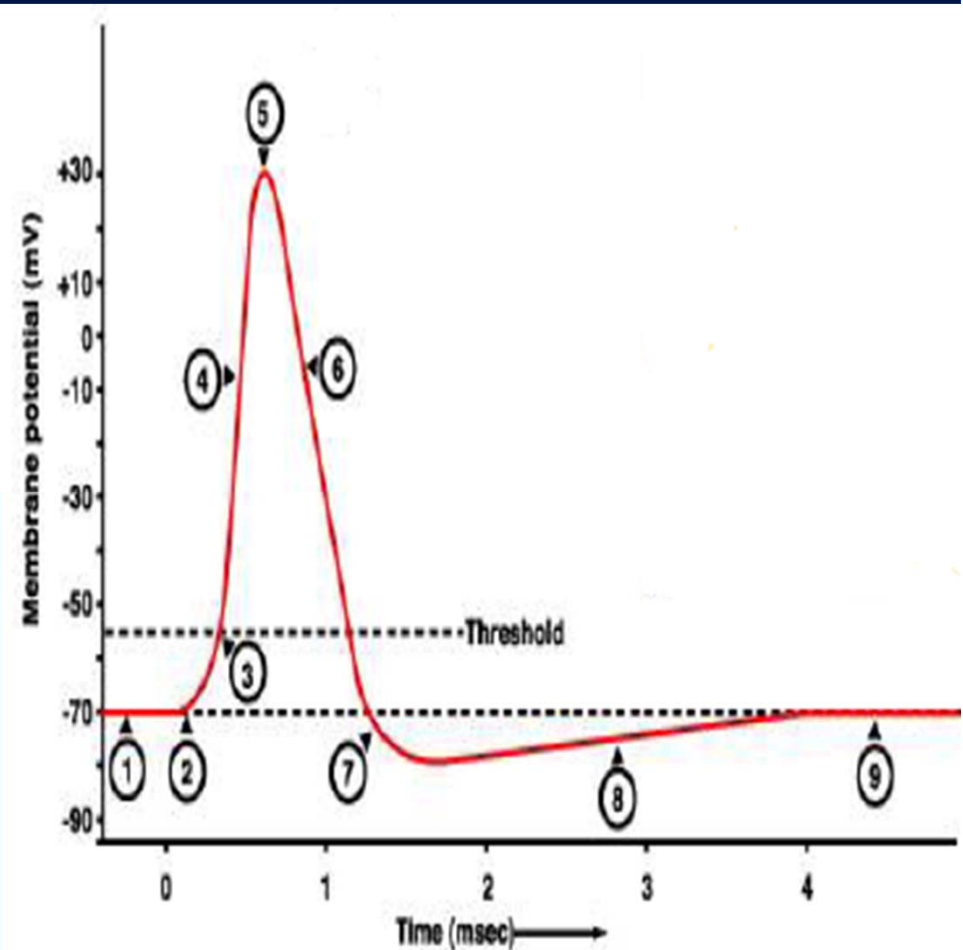


Figura 3-4 Variazioni del potenziale di membrana dell'assone di calamaro in risposta a impulsi di corrente depolarizzante di intensità crescente. Quando la cellula si depolarizza fino al valore soglia si genera un potenziale d'azione.

Potenziale d'azione

1. Potenziale a riposo
2. Stimolo depolarizzante
3. l'assone raggiunge il potenziale soglia. Si aprono (per $\sim 300 \mu\text{s}$) i canali del Na^+ (la sua permeabilità aumenta di un fattore 1000) e ioni Na^+ entrano nella cellula. I canali del K^+ cominciano (da $t \sim 150 \mu\text{s}$) ad aprirsi più lentamente (la permeabilità aumenta di un fattore 30)
4. L'ingresso massiccio di Na^+ depolarizza la membrana
5. Si raggiunge il potenziale di equilibrio di Na^+ ($\sim +55 \text{ mV}$)
6. Escono dalla cellula ioni K^+ ed iperpolarizzano la membrana
7. Si raggiunge il potenziale di equilibrio del K^+ ($\sim -75 \text{ mV}$)
8. La pompa ATP-ase Na/K ripristina il potenziale a riposo



TRASMISSIONE DEL PA (IMPULSO NERVOSO)

autoamplificazione

L'impulso nervoso
viaggia come
un'onda
di negatività
lungo l'assone

A nerve cell has several short processes called dendrites, which extend from the cell body, and branch extensively. It also has a long cylindrical axon, which transmits signals called nerve impulses from one nerve cell to the next, or to muscles or glands. Electrical measurements on the cell surface show that the nerve impulse consists of a wave of electrical negativity that moves along the axon with freeway speeds.

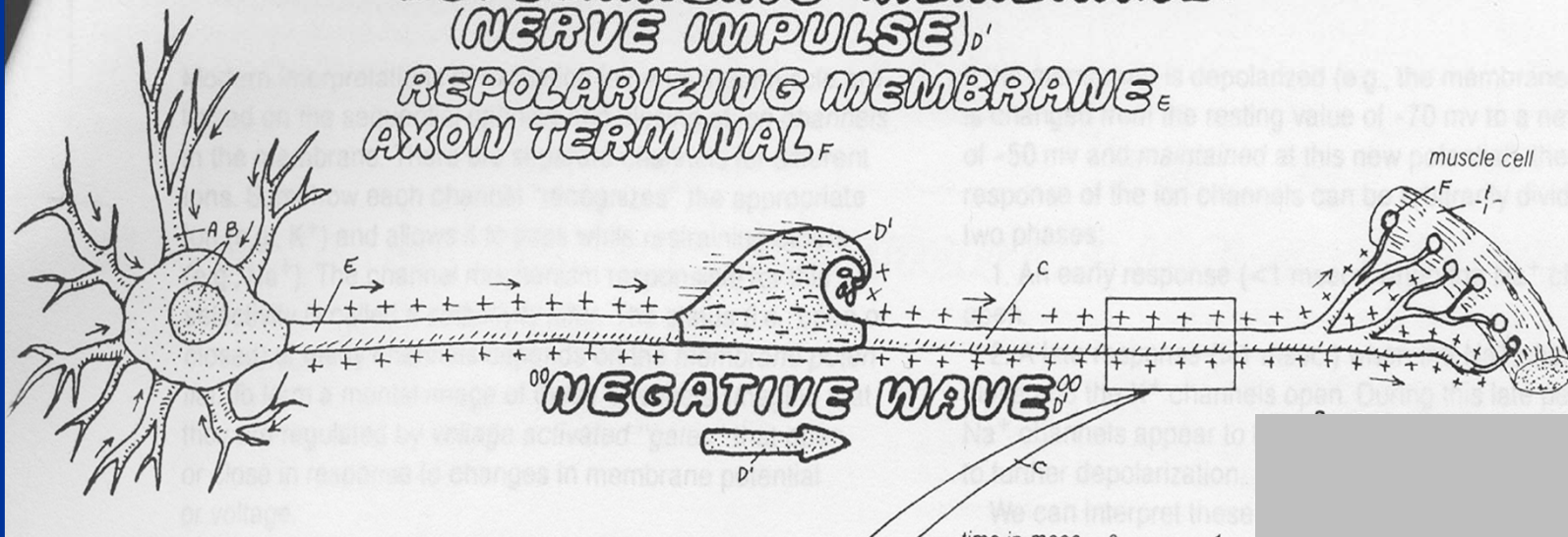
DENDRITE_A
CELL BODY_B
AXON:_C

POLARIZED MEMBRANE_C

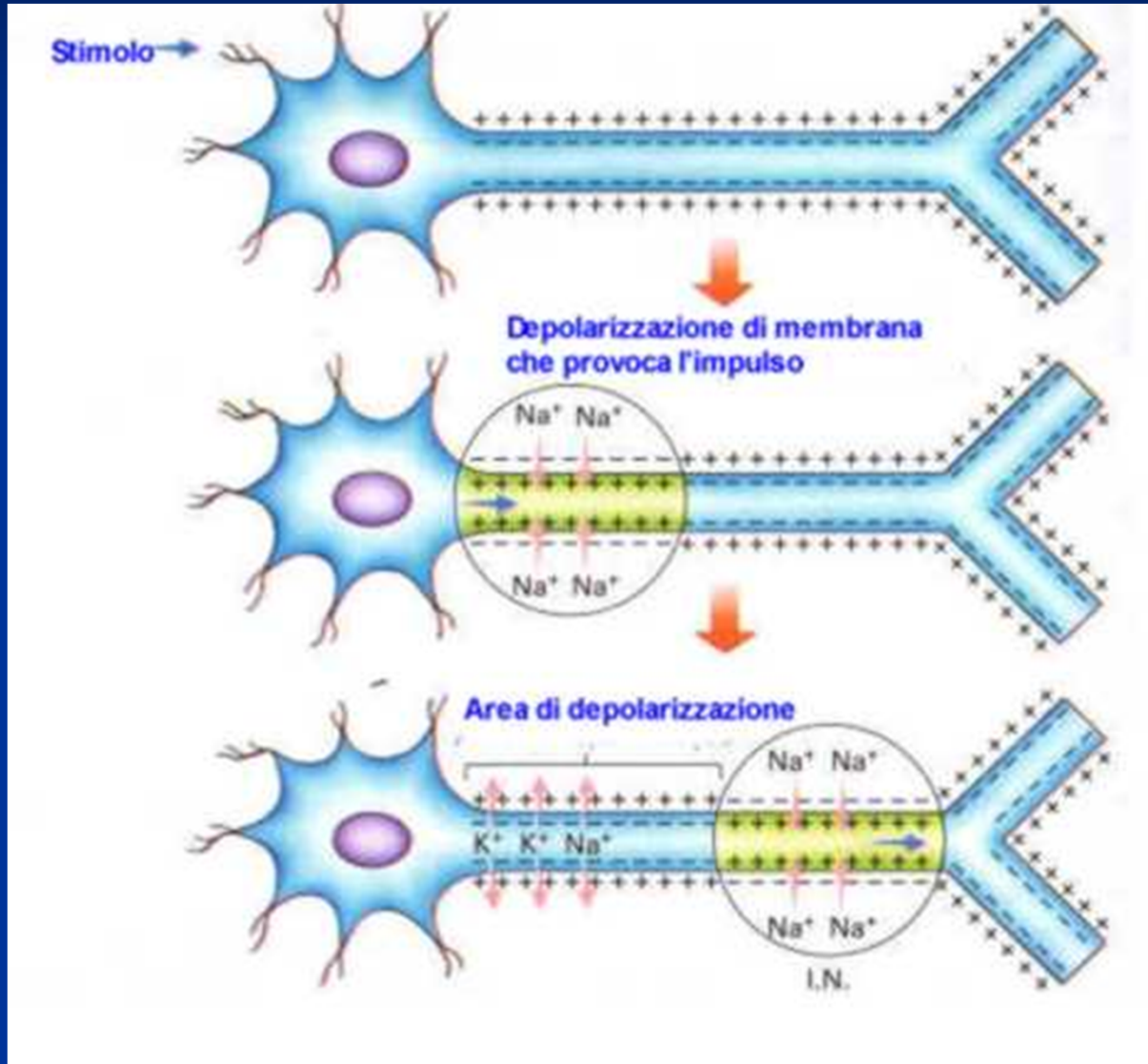
DEPOLARIZING MEMBRANE
(NERVE IMPULSE)_{D'}

REPOLARIZING MEMBRANE_E

AXON TERMINAL_F



Una volta insorto, il potenziale d'azione si propaga da dove è stato applicato lo stimolo alla zona di membrana successiva, causando la sua depolarizzazione, quindi la trasmissione dell'impulso nervoso lungo tutto l'assone.



Propagazione del potenziale d'azione lungo la fibra nervosa

B)

immagine istantanea a $t = 0$

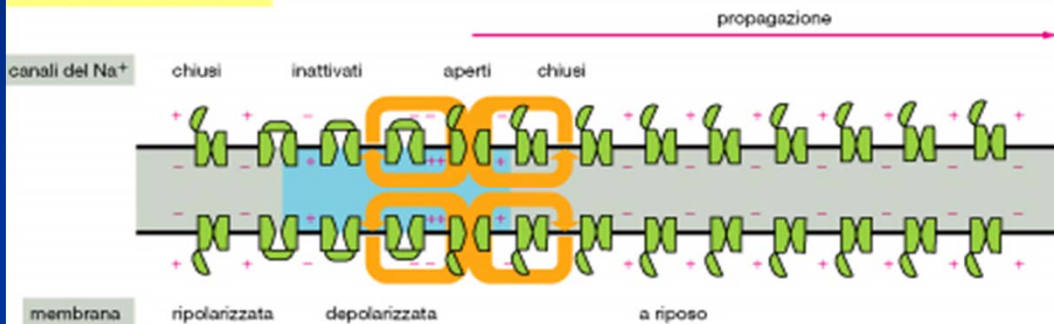
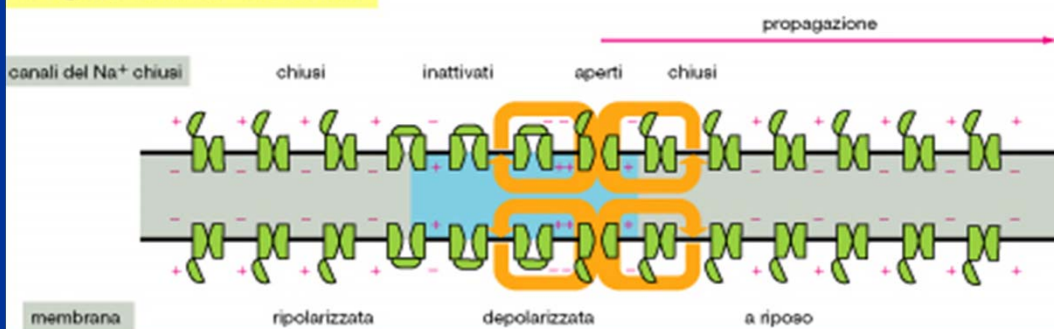


immagine istantanea a $t = 1$ millisecondo



**IL POTENZIALE D'AZIONE
PUÒ PROPAGARSI VERSO
ENTRAMBE LE DIREZIONI?**

L'**inattivazione automatica** dei canali del Na⁺ impedisce al PA di diffondere in modo retrogrado

Potenziale d'azione

Potenziale d'azione
Variazione rapida del potenziale di membrana seguita da ritorno del potenziale alla condizione di riposo.

Funzione principale:

trasmissione rapida di informazioni su lunghe distanze

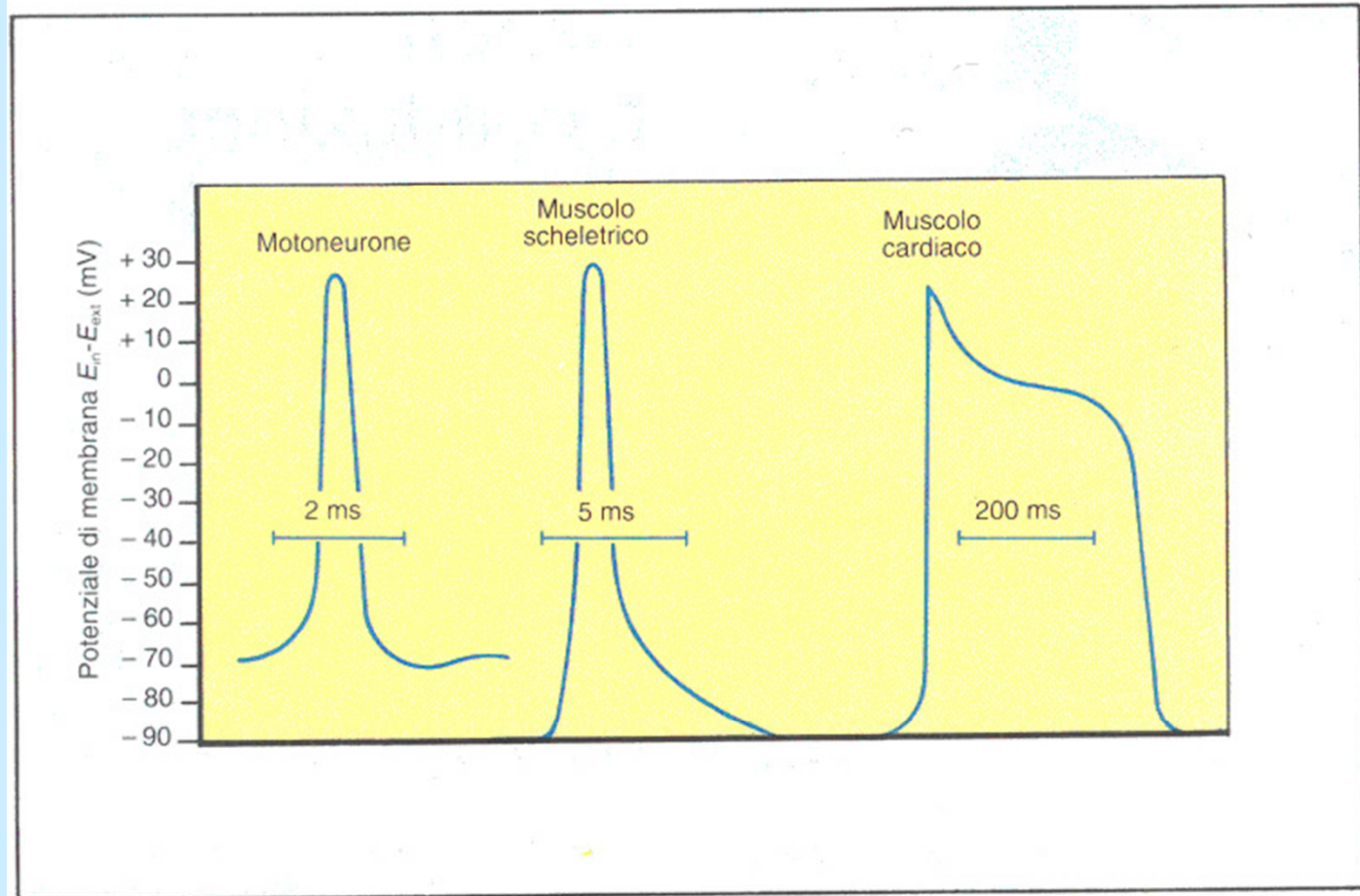


Figura 3-1 Potenziali d'azione registrati da tre diversi tipi di cellule di vertebrato. Si noti la diversa base dei tempi. (Rielaborato da Flickinger C.J. et al., *Medical cell biology*, WB Saunders Co., Philadelphia 1979).

La **mielinizzazione** aumenta la velocità e l'efficienza di propagazione del PA nelle cellule nervose

•Cellule gliali

Cellule di Schwann

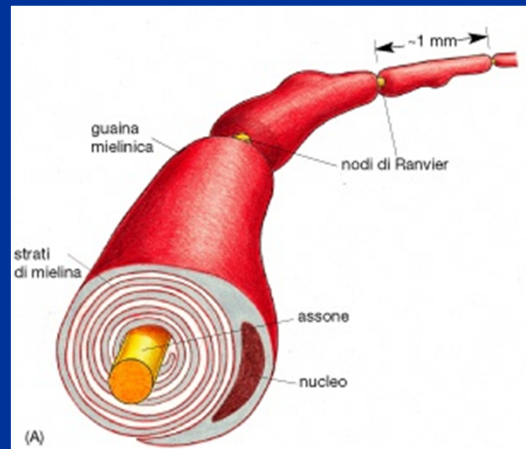


Assoni nervi periferici

oligodendrociti



SNC



•Nodi di Ranvier

I canali del Na⁺ dell'assone sono concentrati quasi tutti a questo livello

Conduzione saltatoria

Conduzione saltatoria

- Ha 2 vantaggi:
 1. I PA viaggiano più velocemente
 2. Viene conservata energia metabolica

Anche altri canali cationici voltaggio-dipendenti possono generare un PA

c.muscolari
c. endocrine
oociti



canali del Ca^{++} voltaggio-dipendenti

canali del K^{+} voltaggio-dipendenti