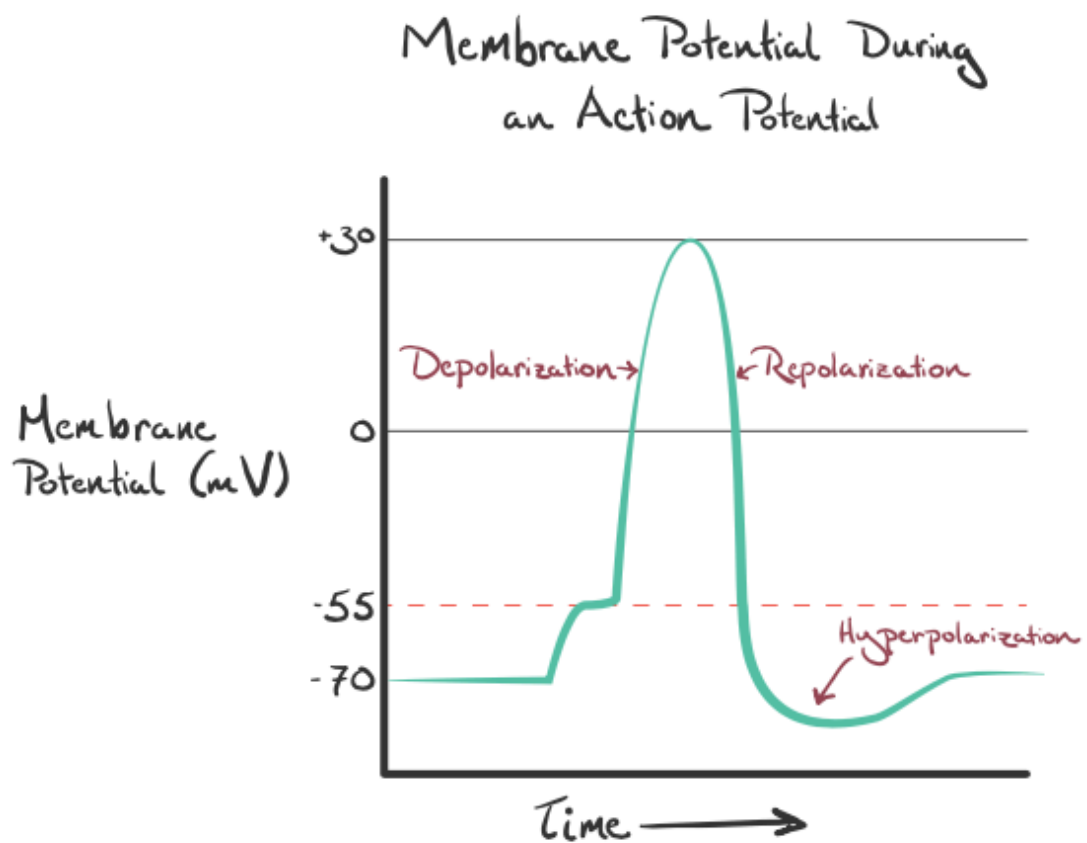


## VJEŽBA 9 – MEMBRANA KAO BIOKONDENZATOR. AKCIJSKI POTENCIJAL



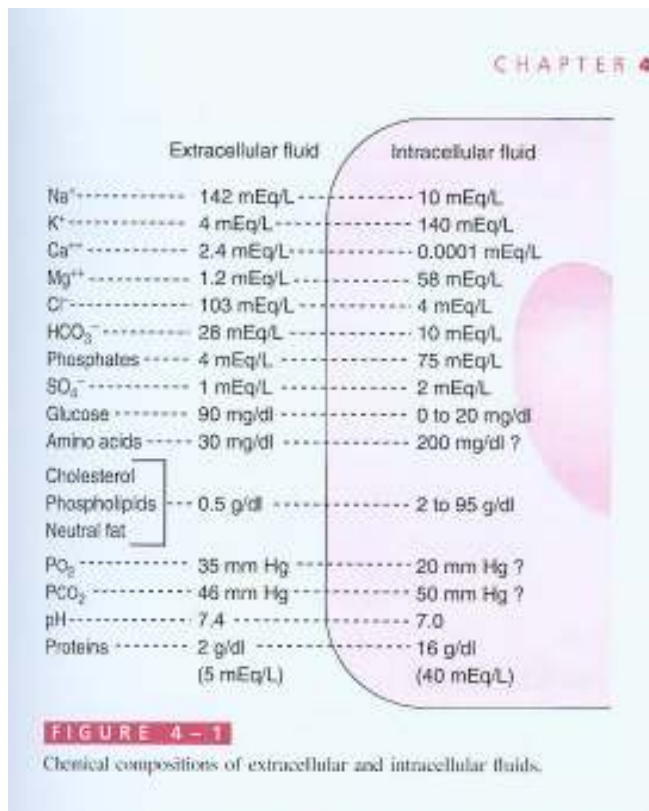
# BIOTRANSPORTI

## MEMBRANE ODRŽAVAJU RAZLIČITOST

Stanična membrana osigurava **različit** sastav ekstracelularne i intracelularne tekućine (plazme i citoplazme).

U pogledu električnih svojstava stanice ključna je razlika to što plazma sadrži puno iona natrija, a citoplazma puno iona kalija. U nepobuđenoj stanici ti koncentracijski gradijenti osiguravaju njenu **polarnost** (negativnost iznutra), te, poput napete puške, omogućavaju brze promjene polarnosti stanice, kada je stanica pobuđena, tj. kada joj se promijeni propusnost za te ione. Time se omogućava nastajanje i širenje živčanog signala, tzv. **akcijskog potencijala** u specijaliziranim živčanim stanicama, neuronima.

Osim iona, ta se dva odjeljka razlikuju i po koncentracijama drugih molekula. Ono što im je zajedničko su: 1. **elektroneutralnost** (molarne koncentracije pozitivnih i negativnih čestica jednake su i u plazmi i u citoplazmi) i 2. jednaki **osmotski tlakovi (izoosmolarnost)** u ravnoteži, kada nema neto protoka vode. Naime, stanična membrana vrlo je propusna za vodu, a slabo za ione, tako da djeluje kao polupropusna membrana, a otopljene čestice s obje strane stvaraju osmotske tlakove, približno proporcionalno svojim molarnim koncentracijama.

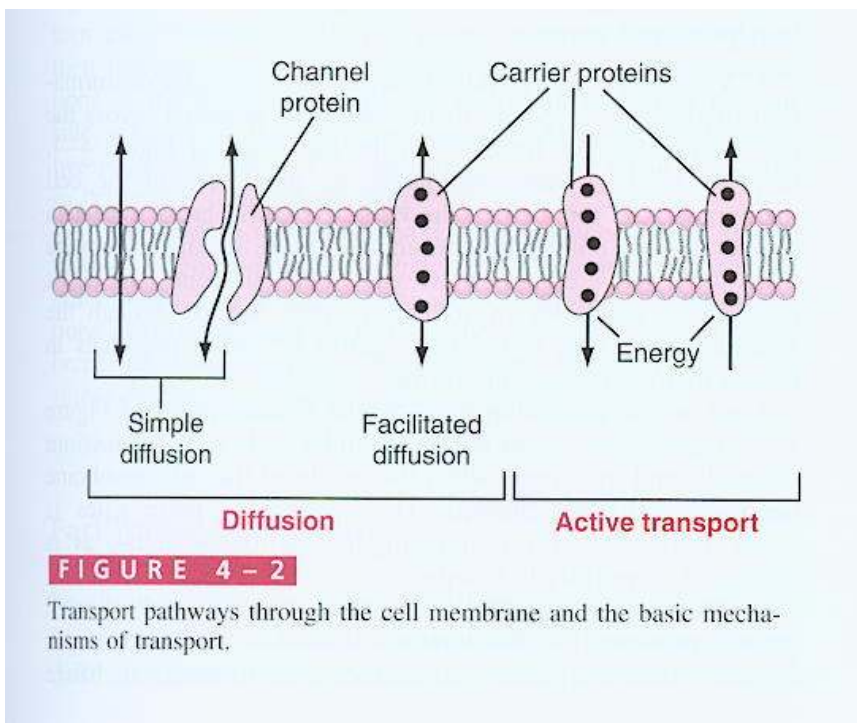


## SELEKTIVNA PROPUSNOST MEMBRANA

Stanična se membrana sastoji od lipidnog dvosloja (zid za polarne molekule) čiji kontinuitet narušavaju membranski proteini, često potpuno prekidajući dvosloj (transmembranski proteini). Neki od tih proteina imaju ulogu vrata u lipidnom zidu kroz koja u stanicu mogu ući ili iz nje izići polarne molekule. To su **transportni proteini**.

Kroz lipidni dvosloj relativno lako prolaze male, nepolarne i slabo polarne molekule (plinovi, alkohol, ureja). Topljivost kisika veća je u lipidima membrane, nego u vodi. Zbog toga kisik prolazi kroz stanične membrane kao da ih nema.

Transportni proteini omogućavaju prolaz vodi i ionima. Dva su načina. Tzv. **kanalni proteini** imaju u svojoj strukturi rupu kroz koju slobodno ulazi voda i u njoj otopljeni *određeni* (ne svi!) ioni, ovisno o obliku i veličini svoje hidratantne ovojnice. Drugi je način putem proteina **nosača**: molekula se vezuje na nosač na jednoj od njegovih strana, time se inicira njegova konformacijska promjena, čiji je rezultat prenošenje i oslobađanje molekule na suprotnoj strani. Ovisno o tome da li konformacijska promjena nosača zahtijeva utrošak metaboličke energije ili ne, ovakav se način transporta naziva **aktivni transport**, odnosno **potpomognuta difuzija**.



Iako je voda u lipidima netopljiva, lako prolazi kroz stanične i druge, subcelularne membrane, gotovo u potpunosti kroz kanalne proteine. Za neometani prolaz vode služe posebni proteini, **akvaporini**, kojih ima više vrsta, osobito u bubrežnim stanicama, nefronima. Nesmetan prolaz molekule vode osigurava njena mala veličina. Tako u jednoj sekundi kroz membranu eritrocita prođe 100 puta veći volumen od volumena same stanice. Samo malo veće molekule prolaze znatno teže. Tako ureja, kojoj je molekulski dijametar samo 20% veći od vode, prolazi oko 100 puta sporije.

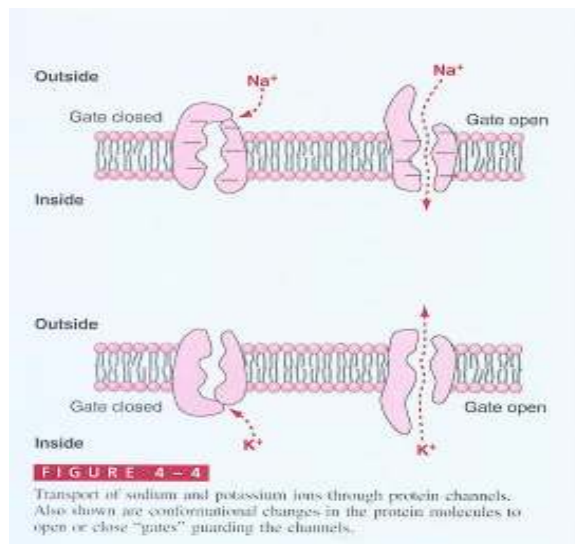
## DIFUZIJA KROZ KANALNE PROTEINE

Kanalni proteini često su vrlo selektivni za u vodi otopljene čestice. Neki od njih stalno su otvoreni, a drugi se otvaraju i zatvaraju na vanjsku pobudu.

U nepobuđenoj stanici ioni natrija, zajedno s ionima kalija prolaze kroz staničnu membranu putem tzv. **Na-K propusnih kanala** koji su stalno otvoreni. Pri tome ioni kalija prolaze puno lakše zato što im je hidratantna ovojnica manja (iako je atom kalija veći od atoma natrija!).

Nakon vanjske pobude, bitan je selektivan transport sasvim određenog iona. Selektivnost kanalnih proteina određena je veličinom, oblikom i rasporedom efektivnog naboja njegove unutrašnje površine. Tako su **natrijski kanali** široki oko 0.4 nm i jako su negativno nabijeni. Taj negativan naboj brzo oslobađa ione natrija svoje relativno velike hidratantne ovojnice, tako da se vrlo brzo ion natrija nađe u unutrašnjosti proteina. Drugi važan tip kanalnih proteina su **kalijski kanali**. Oni su uži od natrijskih i nisu iznutra nabijeni. Tako ion kalija kroz njih prolazi zajedno sa svojom hidratantnom ovojnicom, a ion natrija kroz njega ne može proći, zato što mu je ovojnica veća. Slično tako kroz natrijski kanal ne može proći ion kalija, iako mu je hidratantna ovojnica manja, zato što je unutrašnjost tog kanala oblikom i rasporedom naboja dizajnirana samo za natrijsku ovojnicu.

Na-K propusni kanali uvijek su otvoreni. Nasuprot tome, posebnim natrijskim i kalijskim kanalima propusnost se može regulirati. Kažemo da takvi kanali imaju **vrata**.



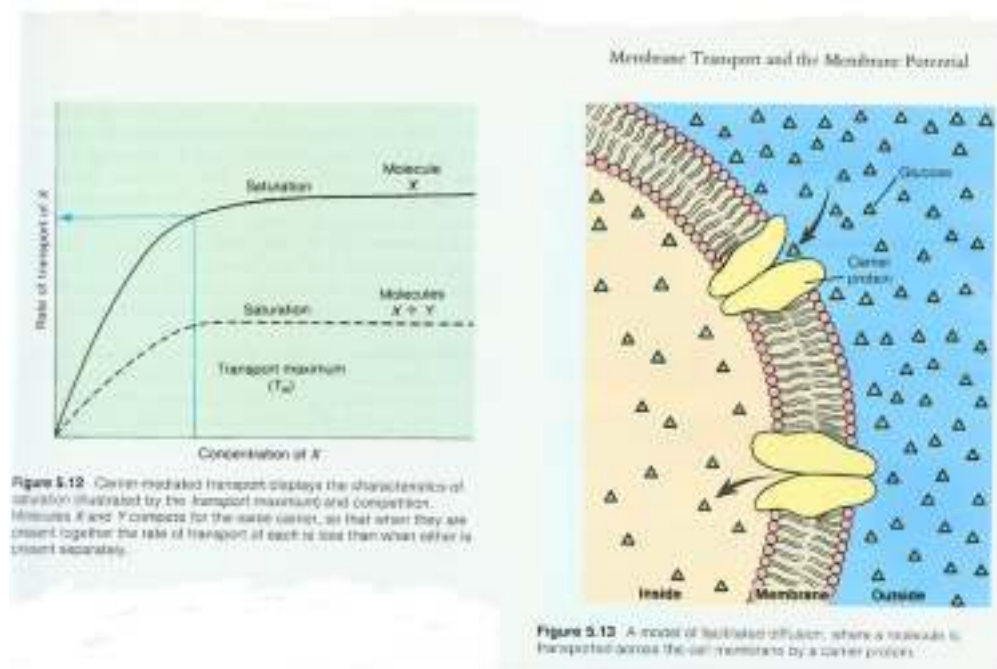
Otvaranje i zatvaranje natrijskih i kalijevih vrata ovisi o razlici potencijala između unutrašnjosti stanice i ekstracelularne tekućine, tzv. **membranskom potencijalu**. Zbog toga kažemo da su kalijevi i natrijski kanali voltažno ovisni. Vjeruje se da konformacijskom promjenom posebna ekstenzija proteinske molekule zatvara ili otvara ulaz u proteinski kanal. U slučaju natrijskog kanala postoje dvojica, ulazna i izlazna vrata, svaka sa svoje strane, dok kalijev kanal ima samo jedna vrata na intracelularnoj strani.

Osim voltažno ovisnih kanalskih proteina, postoje i oni čija se otvorenost regulira neposrednim vezivanjem određene molekule za protein. To su **kanali ovisni o ligandu**. Primjer su acetilkolinški kanali koji se otvaraju vezivanjem molekule acetilkolina. Vrlo su važni u sinaptičkom prenošenju živčanog signala s jednog neurona na drugi, kao i s neurona na mišićnu stanicu.

## POTPOMOGNUTA DIFUZIJA

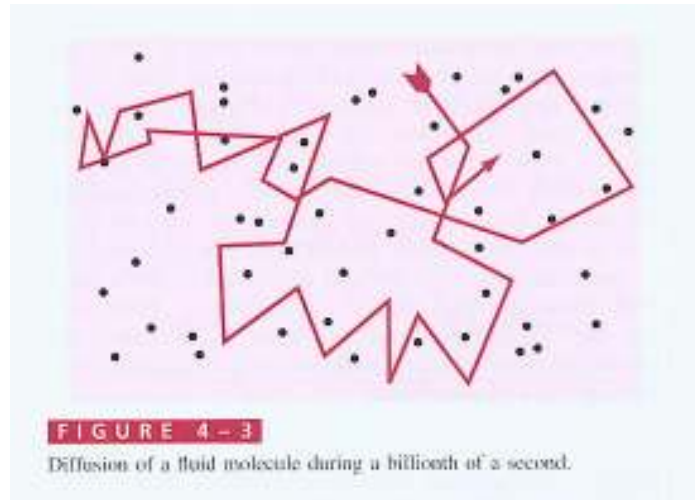
U ovom slučaju, za razliku od aktivnog transporta, energija koja osigurava transport je toplinska energija nasumičnog gibanja. Zato se, kao i kod obične difuzije, neto transport događa iz smjera veće prema nižoj koncentraciji. Razlika je prisustvo transportnog proteina koji osigurava prolaz molekuli kroz membranu. Obzirom da je broj raspoloživih transportnih proteina ograničen, te da svaki transport zahtijeva vrijeme tijekom kojeg protein prelazi u drugo stanje, te se potom vraća u prvobitni oblik spreman za novi prihvata, potpomognuta difuzija pokazuje znakove **saturacijske kinetike**, tj. neto difuzijski transmembranski protok ne može biti veći od određene maksimalne veličine.

Potpomognutom difuzijom ulazi u stanice glukoza i većina aminokiselina. Transport glukoze, putem utjecaja na unutar-staničnu sintezu nosača, u velikoj mjeri određuje **inzulin**.



## ČIMBENICI NETO DIFUZIJSKOG PROTOKA

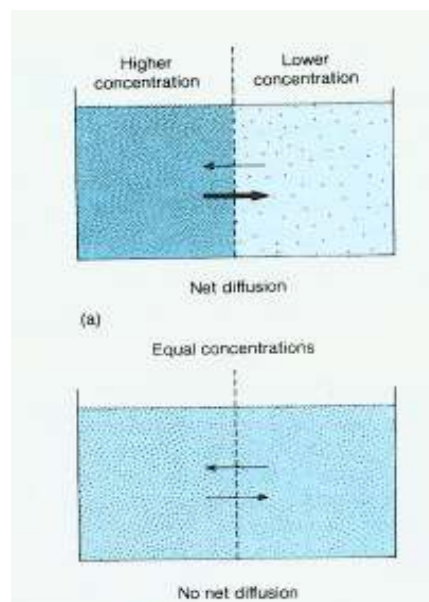
Difuzija je nasumično, toplinsko gibanje molekula. Pri tome se smjer gibanja pojedine čestice neprestano mijenja, zbog sudara s drugim česticama.



Ako se koncentracija tvari  $c(x)$  smanjuje s udaljenošću  $x$  u sredstvu viskoznosti  $\eta$ , nasumično toplinsko gibanje nastoji koncentraciju izjednačiti, te se javlja maseni protok  $J$  kroz površinu  $S$  od veće prema manjoj koncentraciji (prvi Fickov zakon):

$$J = -D \cdot S \cdot \Delta c / \Delta x$$

$D$  je difuzijska konstanta, a  $\Delta c / \Delta x$  brzina (gradijent) promjene koncentracije po osi  $x$ .



Iz molekulske kinetičke teorije:

$$D = u \cdot k \cdot T$$

$k$  je Boltzmanova konstanta,  $T$  apsolutna temperatura,  $u$  zovemo pokretljivost (mobilnost, difuzibilnost) čestice u mediju.

Za sferične čestice polumjera  $a$  Einstein je pokazao:

$$u = 1/6 \Pi a \eta$$

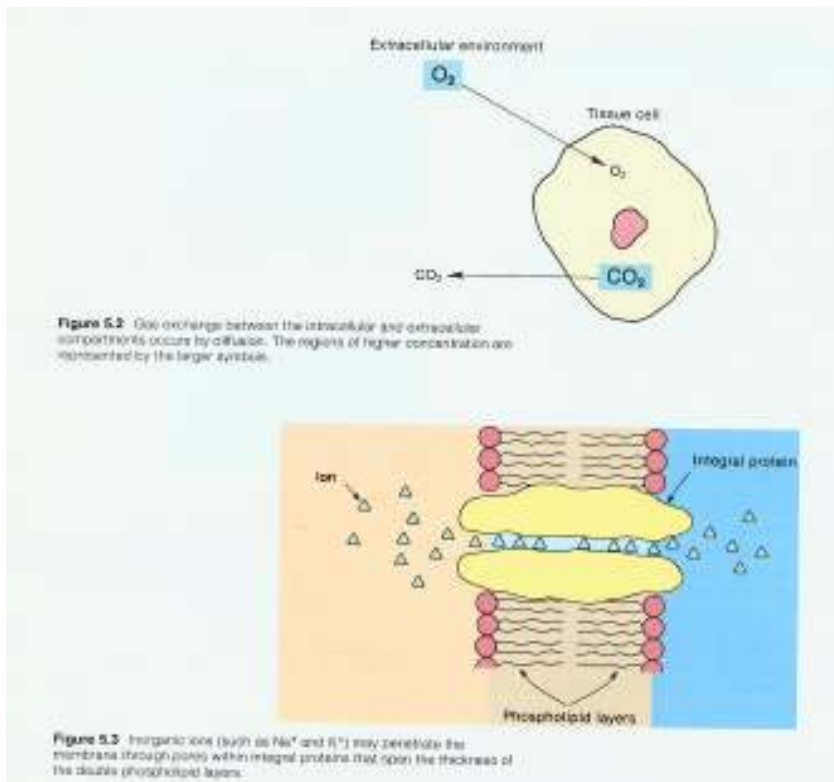
Dakle, brže difundiraju male čestice u sredstvu koje pruža mali otpor.

Pri prijelazu iz tekućine u membranu difuzija se usporava ili onemogućuje, ovisno o topljivosti čestice

$$J = - D \cdot k_p \cdot S \cdot dc/dx$$

$k_p$  je koeficijent particije membrane: omjer koncentracija čestica na površini membrane i tik uz nju ( $k_p < 1$ ).

Omjer  $J/S$  naziva se jedinični difuzijski protok  $j$ .



## OSMOZA: NETO DIFUZIJA VODE KROZ POLUPROPUSNE MEMBRANE

Zamislamo da horizontalnu posudu dijeli vertikalna membrana, koja propušta vodu, ali ne i otopljene čestice, čija je koncentracija u jednom odjeljku veća nego u drugom. Ukupni su tlakovi s obje strane membrane jednaki. Tlak s pojedine strane membrane sastoji se od tlaka koji čine molekule vode i tlaka zbog toplinskog gibanja otopljenih čestica. Dakle, s one strane gdje je više otopljenih čestica, parcijalni će tlak vode biti manji i obrnuto. Obzirom da otopljene čestice ne mogu prolaziti kroz membranu, njihovi se parcijalni tlakovi ne mogu izjednačiti. Suprotno je s molekulama vode, koje će prelaziti iz rjeđe otopine u gušću, sve dok se parcijalni tlakovi vode ne izjednače. Pri tome će se i koncentracije otopljenih čestica izjednačiti samo ako je posuda beskonačno popustljivih stijenci, tj. ako se ne opire povećanju volumena.

**Osmoza** je protok vode kroz polupropusnu membranu iz odjeljka gdje je koncentracija otopljene tvari niža u odjeljak gdje je viša. Kada se parcijalni tlakovi vode izjednače, postignuta je ravnoteža i neto protok vode prestaje.

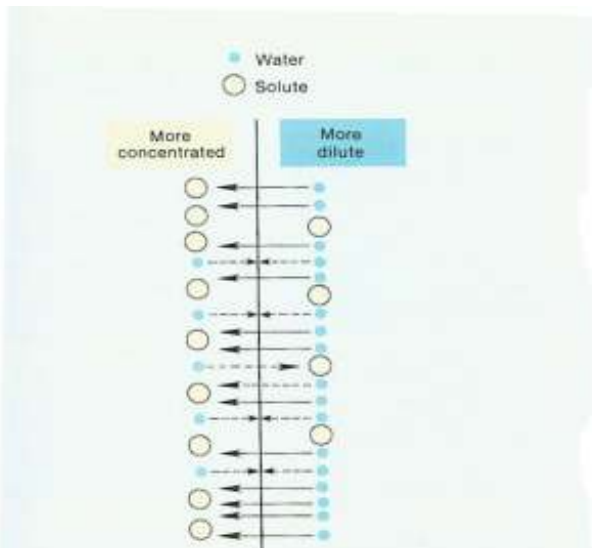


Figure 5.4 A model of osmosis, or the net movement of water from the solution of lesser solute concentration to the solution of greater solute concentration.

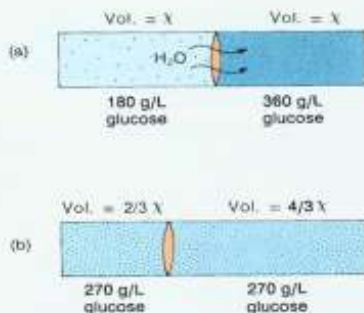


Figure 5.5 A movable semipermeable membrane (permeable to water but not glucose) separates two solutions of different glucose concentration (a). As a result, water moves by osmosis into the solution of greater concentration until (b) the volume changes equalize the concentrations on both sides of the membrane.

Za osmotski tlak otopljenih čestica ( $\pi$ , manjak parcijalnog tlaka vode) približno vrijede plinski zakoni (vant-Hoffov zakon): proporcionalan je **molarnoj** koncentraciji ( $c$ ) otopljenih čestica i temperaturi ( $T$ ):

$$\pi = iRTc$$

$i$  je broj iona nastalih disocijacijom molekule, a  $R$  plinska konstanta.

Umnožak  $ic$  naziva se **osmolarna koncentracija** ili **osmolarnost** i mjeri se u osmolima po litri (Os/L). Vant Hoffov zakon vrijedi približno za rijetke otopine. Točniji oblik sadrži korekcijski faktor, osmotski koeficijent  $\theta$ :

$$\pi = RT\theta ic$$

umnožak  $\theta ic$  naziva se **efektivna osmolarna koncentracija**. Osmotski koeficijent može biti veći ili manji od 1. Manji je od 1 za fiziološki važne elektrolite. Za sve otopljene čestice približava se jedinici kako im se koncentracija smanjuje. Osim o koncentraciji, ovisi i kemijskim



svojstvima otopljene tvari.

Otopine proteina jako odstupaju od vant Hoffvog zakona, a stupanj odstupanja različit je za različite proteine. U pravilu je osmotski tlak proteina veći od onog kojeg predviđa vant Hoffova relacija ( $\theta > 1$ ). Tako je za albumine, najčeće krvne proteine, u krvi  $\theta$  oko 1.5.

Normalna je osmolarnost tekućine u čovjeka (u ravnoteži ista je u plazmi i citoplazmi!) oko 300 mOs/L, što bi uzrokovalo osmotski tlak od 5790 mm Hg ! Izmjerena vrijednost je međutim nešto manja i iznosi oko 5500 mm Hg. Njoj bi se približili korištenjem efektivne osmolarne koncentracije.

Ustvari, odstupanje od realnosti vant Hoffvog zakona manje je ako umjesto molarnih koncentracija (množina tvari/volumen otopine) radimo s molalnim (množina tvari/masa otapala). Zbog toga se osim osmolarnosti otopine definira i njena **osmolalnost**. Međutim, osmolarnost je jednostavnije mjeriti, a razlika između dvije veličine je manja od 1% za tekućine u ljudskom tijelu.

Tablica prikazuje vrijednosti osmotskog koeficijenta za koncentracije otopljenih tvari u fiziološkom rasponu.

■ **Table 1-2** Osmotic coefficients ( $\phi$ ) of certain solutes of physiological interest

Substance	$i$	Molecular weight	$\phi$
NaCl	2	58.5	0.93
KCl	2	74.6	0.92
HCl	2	36.6	0.95
NH <sub>4</sub> Cl	2	53.5	0.92
NaHCO <sub>3</sub>	2	84.0	0.96
NaNO <sub>3</sub>	2	85.0	0.90
KSCN	2	97.2	0.91
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2	136.0	0.87
CaCl <sub>2</sub>	3	111.0	0.86
MgCl <sub>2</sub>	3	95.2	0.89
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3	142.0	0.74
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3	174.0	0.74
MgSO <sub>4</sub>	2	120.0	0.58
Glucose	1	180.0	1.01
Sucrose	1	342.0	1.02
Maltose	1	342.0	1.01
Lactose	1	342.0	1.01

Reproduced with permission from Lifson N, Visscher MB: *Osmosis in living systems*. In Glasser O, editor: *Medical physics*, vol 1. 1944, Chicago, Year Book Medical Publishers, Inc.

Osmotski se tlakovi rijetko mjere izravno, već koristeći činjenicu da prisustvo otopljene tvari snižava ledište otopine.

Ako dvije otopine imaju iste osmotske tlakove, kažemo da su **izoosmotske**. Ako njihovi osmotski tlakovi nisu jednaki, otopina s većim **hiperosmotska**, a ona s nižim **hipoosmotska** prema onoj drugoj.

## OSMOTSKO BUBRENJE I SKUPLJANJE STANICE

Membrane većine tjelesnih stanica gotovo su nepropusne za dobar dio čestica otopljenih u intersticijskoj tekućini, a vrlo su propusne za molekule vode. Zbog toga, kada se osmotski tlak u intersticiju poveća, voda osmozom napušta stanicu, koja se skuplja. Posljedično se povećava koncentracija čestica u citoplazmi, sve dok se njen osmotski tlak ne izjednači s intersticijskim. Obrnuto, ako se osmotski tlak u intersticiju smanji, voda ulazi u stanicu, koja bubri, čime se razlika osmotskih tlakova smanjuje i na kraju izjednači.

Ako u neku otopinu suspendiramo stanice, nakon čega se ne primjećuje njihova promjena volumena, kažemo da je otopina **izotonična**, **hipertonična** je ako se stanice skupljaju, a **hipotonična** ako bubre.

Može se učiniti da će otopina biti izotonična ako su unutarstanična i izvanstanična tekućina izoosmotske. Međutim, to je istina samo ako je stanična membrana potpuno nepropusna za sve otopljene čestice (u citoplazmi i vanjskoj tekućini). Čestice koje slobodno prolaze neće uzrokovati (osim kratkotrajno, na početku) osmotski tlak, dok će utjecaj onih koji prolaze otežano biti dugotrajniji, ali također prolazan. To znači da npr. izotoničnost nije sinonim za izoosmolarnost (kao niti hiper ili hipotoničnost za hiper i hipoosmolarnost). U obzir se mora uzeti i propusnost stanične membrane za pojedine otopljene čestice. **Refleksijski koeficijent** je bezdimenzionalna veličina u rasponu od 0 (potpuna propusnost) do 1 (potpuna nepropusnost). Omjer je između osmotskog protoka vode određene čestice i potpuno nepropusne čestice, za istu membranu i istu razliku osmotskih tlakova.

## AKTIVNI TRANSPORT

Ponekad je stanici potrebno osigurati velike koncentracije nekih čestica, iako ih u ekstracelularnoj tekućini ima relativno malo. Primjer su ioni kalija. Suprotan je slučaj za ione natrija. Jasno je da spontani proces difuzije to zadaću ne može obaviti, dapače joj se protivi. Stoga moraju postojati posebni, energetske ovisni procesi specifične namjene. Zovemo ih **aktivni transporti**.

Razne čestice koje se aktivno prenose barem kroz neke stanične ili intracelularne membrane su ioni natrija, kalija, kalcija, željeza, vodika, klora, joda, uratni ioni, neki šećeri i većina aminokiselina.

Postoje **primarni i sekundarni aktivni transporti**. U primarnom aktivnom transportu energiju dobavlja raspad adenozin trifosfata (ATP) ili nekog drugog visokoenergetskog fosfatnog spoja. U sekundarnom aktivnom transportu energija se osigurava posredno, putem ionskih koncentracijskih gradijenata, koji su prethodno ostvareni primarnim aktivnim transportom. U oba se slučaja transport obavlja posredstvom transmembranskog proteina-nosača, kao i kod potpomognute difuzije.

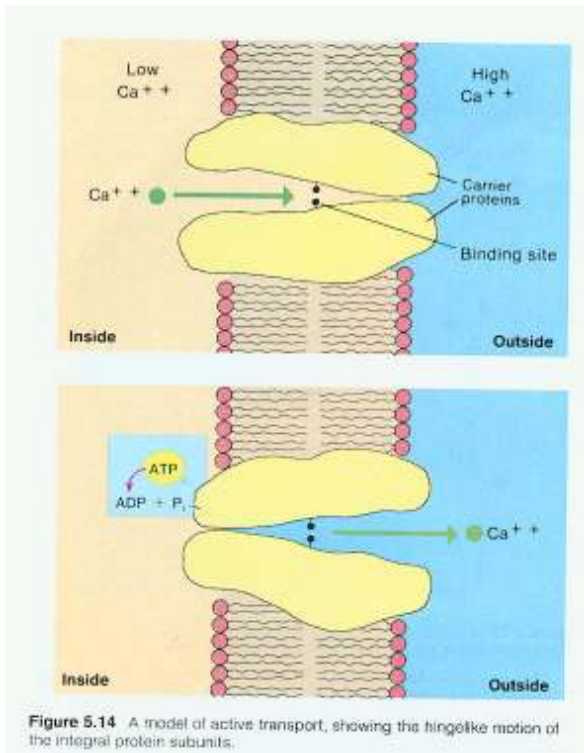


Figure 5.14 A model of active transport, showing the hinged motion of the integral protein subunits.

Najproučavaniji aktivni transport je putem Na-K pumpe. Radi se o proteinskom kompleksu od dva zasebna globularna proteina. Veća jedinica ima tri receptorska mjesta za ione natrija na intracelularnom dijelu i dva mjesta za ione kalija na dijelu koji strši u ekstracelularni prostor. Dio proteina u blizini vezivnih mjesta za ione natrija ima ATP-aznu aktivnost i aktivira se nakon vezivanja iona natrija iz intracelularne tekućine i ekstracelularnih iona kalija. ATP se raspada u ADP, dok oslobođena energija, na do kraja nepoznat način, sudjeluje u mijenjaju konformacije nosača, na način da se ioni natrija izbače iz stanice, a ioni kalija u nju ubace.

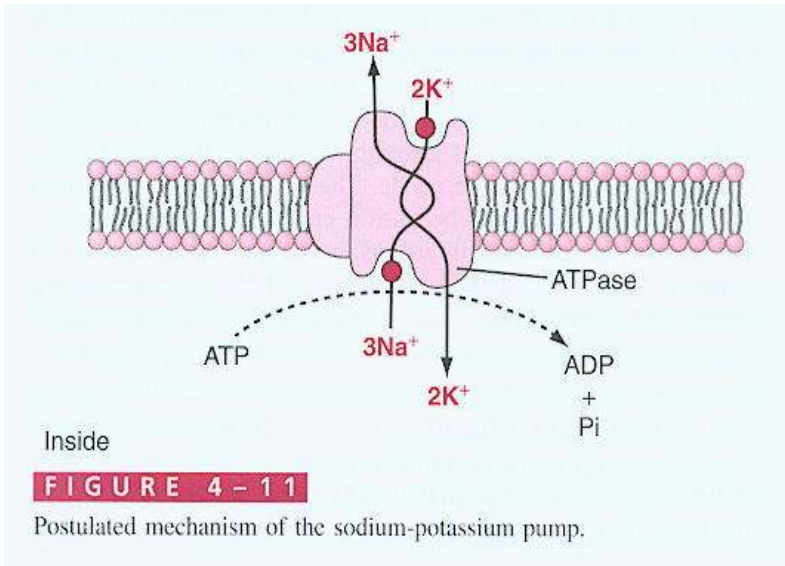


FIGURE 4-11

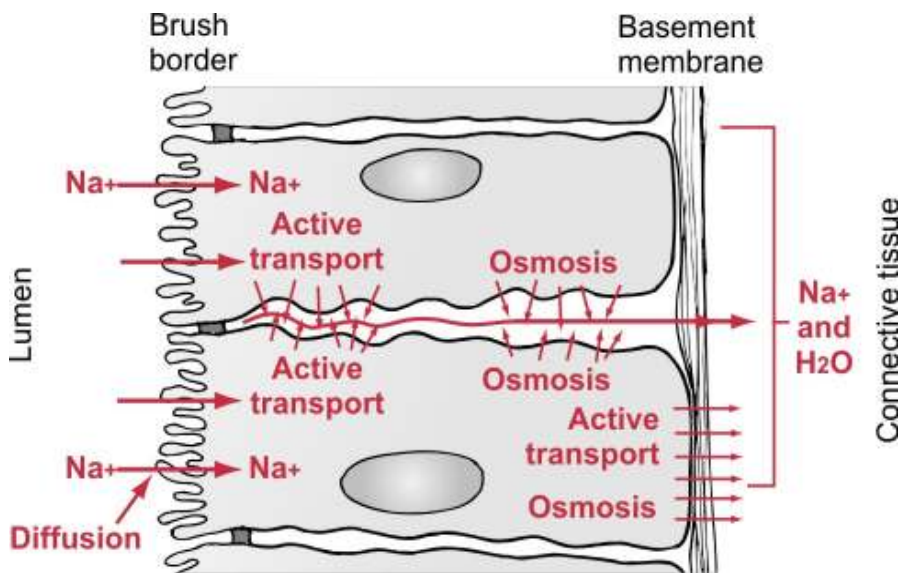
Postulated mechanism of the sodium-potassium pump.

Uočite dvije posljedice rada Na-K pumpe: 1. smanjenje pozitivnih iona u stanici i 2. smanjenje ukupnog broja iona u stanici. Suprotstavljajući se stalnom ulazu iona natrija i izlazu iona kalija kroz propusne kanale, Na-K pumpa osigurava njihove koncentracijske gradijente, što, zajedno s njenim elektronegativnim efektom, osigurava postojanje membranskog potencijala i održava provođenje živčanog signala. Osim toga, Na-K

pumpa presudna je u kontroli staničnog volumena. Stanica stalno proizvodi proteine i druge, pretežno negativne čestice, koje potom oko sebe okupljaju pozitivne ione. Sve te čestice povećavaju osmotski tlak i vuku vodu u stanicu. Na-K pumpa, svojim stalnim smanjenjem broja čestica u citoplazmi, djeluje suprotno, sprječavajući da se stanica rasprsne. U uvjetima kada se osmotski tlak poveća u ekstracelularnoj tekućini, njena se aktivnost smanjuje.

Na-K pumpa posredno osigurava i energiju za sekundarne aktivne Transporte, koji se dijele na **ko-transporte** i **kontra-transporte**. U oba je slučaja pokretač spontana težnja iona natrija da se uđe u stanicu. U ko-transportu se na izvanstaničnom dijelu transportne molekule zajedno vežu ion natrija i određena molekula (npr. glukoza ili aminokiselina u bubrežnim tubulima). Njihovo vezivanje pokreće konformacijsku promjenu koja završava ubacivanjem iona natrija i te molekule u unutrašnjost stanice. U kontra-transportu se određena molekula valja izbaciti iz stanice. Stoga transportni protein ima za nju vezivno mjesto na dijelu koji strši u stanicu, dok se ion natrija vezuje na suprotnoj strani. Tako se iz stanice izbacuju ioni kalcija i vodika.

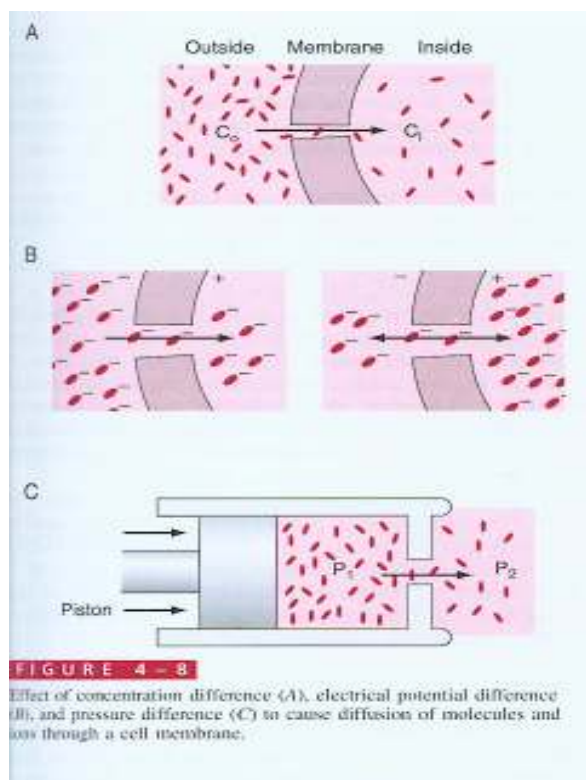
Na mnogim se mjestima u tijelu čestice valjaju prebaciti kroz sloj stanica, a ne samo ubaciti ili samo izbaciti iz njih. To znači da na jednoj strani čestica mora u stanicu ući, a na drugoj iz nje izići. To nužno povlači da odgovarajući dijelovi stanične membrane moraju biti različito građeni i imati različite funkcije. Najčešće se čestice s jedne strane aktivno ubacuju u stanicu, a na drugoj iz nje izlaze procesom obične ili potpomognute difuzije. Na taj se način osigurava transport određenih tvari u epitelu crijeva, bubrežnih tubula, egzokrinih žlijezda, žučne vrećice, kao i drugdje.



## UČINAK MEMBRANSKOG POTENCIJALA NA IONSKI TRANSPORT

Do sada smo zanemarili da je unutrašnjost stanice na negativnom potencijali obzirom na ekstracelularnu tekućinu (o uzroku te pojave raspraviti ćemo u sljedećem poglavlju: Membranski potencijal). To znači da kroz membranu postoji razlika potencijala (membranski potencijal, točnije bi bilo: transmembranski napon), odnosno električno polje koje pozitivne ione privlači u stanicu, a negativne iz nje tjera. To polje uzrokuje usmjereno (ne kaotično, kao kod difuzije) gibanje iona, odnosno ionsku struju. Ako istovremeno postoji i koncentracijski gradijent, postoji i neto difuzijski protok iona od veće prema manjoj koncentraciji i usmjereno gibanje u ili izvan stanice, ovisno o naboju. Ta se dva protoka algebarski zbrajaju, čime je određen neto protok iona. (Ne zaboravite da kaotično, difuzijsko, temperaturno gibanje iona postoji uvijek, neovisno o razlici koncentracija.)

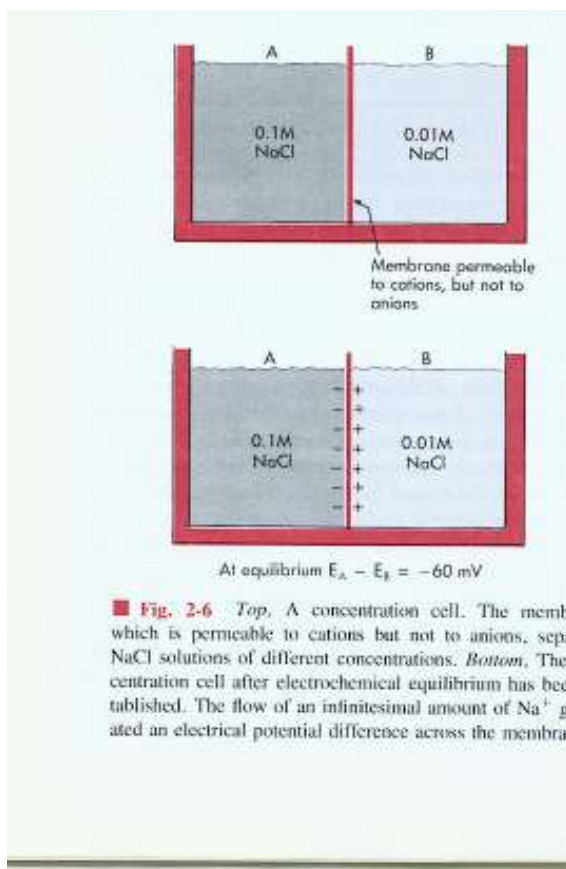
Ion je u **elektrokemijskoj ravnoteži** ako je njegov transmembranski neto protok nula. To znači da je protok zbog električnog polja jednak i suprotno usmjeren difuzijskom protoku, koji je posljedica koncentracijskog gradijenta.



Sljedeći primjer pokazuje kako se može uspostaviti elektrokemijska ravnoteža iona između dva prostora različitih koncentracija elektrolita, odijeljena membranom. Neka membrana propušta jedan ion, recimo kation, ali ne i anion. U početku nastaje difuzijsko neto gibanje oba iona iz smjera njihove veće koncentracije prema manjoj. Pri tome membrana zaustavlja anione, koji ostaju na njezinoj površini, s iste strane. Kationi

prelaze u drugi odjeljak, ali, privučeni suprotnim negativnim nabojem, ostaju priljubljeni s druge strane membrane. Stvara se električni kondenzator čije polje ubrzava zaustavlja daljnju difuziju kationa, te se ostvaruje ravnotežno stanje bez neto protoka iona, tj. elektrokemijska ravnoteža.

Važna i naizgled neobična činjenica je da je količina iona koja stvori kondenzatorsko polje dostatno za ravnotežu zanemarivo mala. To znači da se početne koncentracije elektrolita tijekom uspostavljanja ravnoteže nisu uopće mjerljivo promijenile. Tako je to i kod naših stanica. Aproximativno je vrlo točno da je stanica električki neutralna. Međutim, ako bi bili sasvim precizni, u stanici je nemjerljivo mali višak negativnih naboja. Ali taj ekstremno mali višak dovoljan je da stvori kondenzator s vrlo snažnim električnim poljem.



Što je veća razlika koncentracija iona u i izvan stanice, tim će i veća razlika potencijala biti potrebna da izbalansira njegov difuzijski protok kroz membranu. Pokažimo egzaktno kakvi odnosi tu vrijede. Pretpostavimo da je neki ion u elektrokemijskoj ravnoteži. Povežimo njegove difuzijske protoke sa strujom zbog postojanja električnog polja i uvažimo uvjet postojanja elektrokemijske ravnoteže.

## 1. Ioni se gibaju zbog postojanja električnog polja

Jakost struje iona  $I$  po jedinici površine  $S$  naziva se gustoće struje  $j$ :

$$j = I/S$$

Prema Ohmovom zakon (mikroskopski oblik) gustoća struje proporcionalna je jakosti polja  $E$  (sila po jedinici naboja):

$$j \text{ (A/m}^2\text{)} = \lambda E$$

$\lambda$  je vodljivost iona, koja je proporcionalna umnošku pokretljivosti iona,  $u$ , i njegove koncentracije,  $c$ . Konstanta proporcionalnosti je jedinični naboj,  $e$ :

$$\lambda = c u e$$

Obzirom da je jakost polja  $E$  povezana s prostornim gradijentom potencijala  $V$ :

$$E = - dV/dx$$

slijedi:

$$j \text{ (A/m}^2\text{)} = - c u e dV/dx$$

## 2. Ioni se gibaju zbog razlike koncentracija

Prema prvom Fickovom zakonu:  $j \text{ (mol/m}^2\text{s)} = - u k T dc/dx$

## 3. Ravnoteža

U ravnoteži su jedinični difuzijski protok i gustoća struje zbog električnog polja po iznosu jednaki i suprotno usmjereni:

$$j \text{ (A/m}^2\text{)} = j \text{ (mol/m}^2\text{s)}$$
$$u k T dc/dx \text{ (mol/m}^2\text{s)} = c u e dV/dx \text{ (A/m}^2\text{)}$$

Nakon integracije i usklađivanja jedinica dobivamo **Nernstovu jednadžbu**:

$$V_1 - V_2 = - \frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_1}{C_2}$$

$R$  je plinska konstanta ( $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),  $F$  Faradayeva konstanta (naboj jednog mola jediničnog naboja,  $9.65 \cdot 10^4 \text{ C mol}^{-1}$ ),  $Z$  valencija iona i  $T$  apsolutna temperatura (K).

Ako s  $V_1$  i  $c_{in}$  označimo intracelularan potencijal i koncentraciju iona, a s  $V_2$  i  $c_{out}$  odgovarajuće ekstracelularne veličine, razliku  $V_1 - V_2$  nazovemo membranskim potencijalom,  $U_m$ , za normalnu temperaturu ljudskog tijela ( $T=310$  K) i monovalentne katione ( $Z=1$ ), te prelazeći na dekadski logaritam, konačno dobivamo poznati oblik Nernstove jednadžbe:

$$U_m \text{ (mV)} = - 61 \times \log \frac{c_{in}}{c_{out}}$$

Naravno, u slučaju aniona predznak desne strane je plus. Također, za viševaletne ione broj 61 valja podijeliti s valencijom.

Uočimo nekoliko važnih stvari:

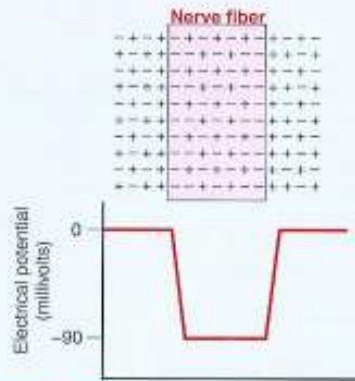
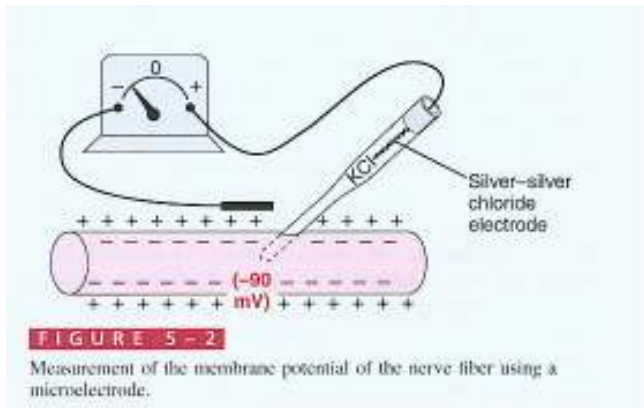
1. Membranski potencijal ne ovisi o razlici, već o omjeru koncentracija iona u i izvan stanice;
2. ta je veza logaritamska, dakle, velika razlika omjera koncentracija iona odgovara maloj promjeni membranskog potencijala i
3. ovisnost o valenciji nije slaba, već izravna, obrnuto proporcionalna.

Blagu ovisnost membranskog potencijala o omjerima koncentracija iona možemo razumjeti i bez analize matematičkog izvoda. Stvar je u tome što svaka promjena koncentracije iona, pored promjene difuzijskog protoka, odmah mijenja i struju zbog električnog polja, bez da se ono uopće promijeni. To je stoga što je ta struja proporcionalna vodljivosti iona, a vodljivost se mijenja s koncentracijom iona.



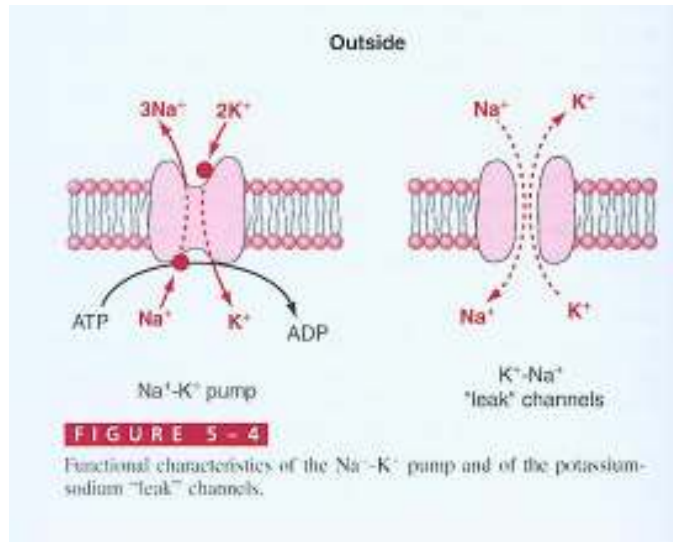
## MEMBRANSKI POTENCIJAL

Mjerenja pokazuju da je većina naših stanica polarna, tj. da im je unutrašnjost na negativnom potencijalu prema ekstracelularnoj tekućini, većinom u rasponu od -30 do -90 mV, ovisno o funkciji. Iako, u usporedbi s umjetnim kondenzatorima, napon tog biološkog kondenzatora nije velik, pripadno električno polje  $E=U_m/d$  je ogromno, zato jer je  $d$ , debljina stanične membrane vrlo mala.



Nasuprot očekivanjima prvih istraživača, brzo je pokazano da većina iona nisu u elektrokemijskoj ravnoteži, čak i u nepobuđenim neuronima. Kalij je ravnoteži najbliže, ali je stanica uvijek nešto pozitivnija (manje negativna) nego što predviđa Nernstova jednačica za taj ion. Stoga ioni kalija stalno, spontano izlaze iz stanice (električno privlačenje nije dovoljno da uravnoteži difuzijske gubitke). Ione natrija u stanicu guraju i električno polje i koncentracijski gradijent. Stoga je natrij potpuno izvan ravnoteže, u stanicama s membranskim potencijalom od -85 mV, njegov je ravnotežni potencijal oko

+60 mV. Ioni natrija nastoje nahrupiti u stanicu, ali im je prolaz kroz propusne kanale puno teži nego ionima kalija (zbog veće hidratantne ovojnice).



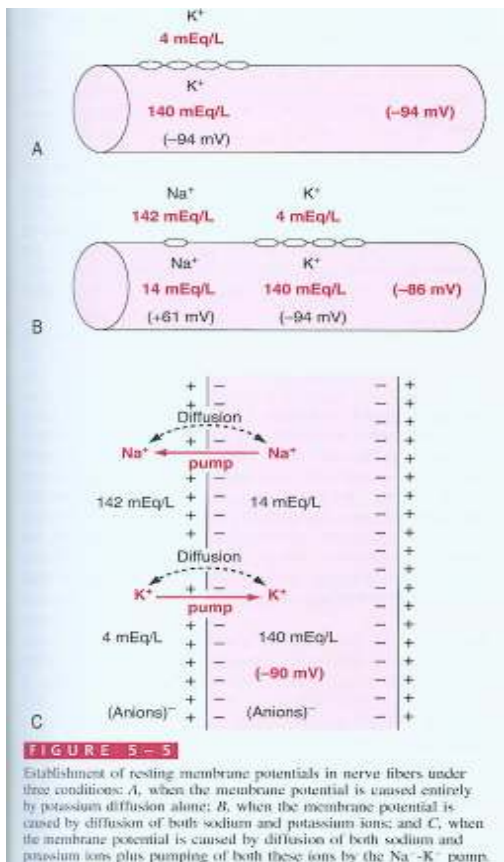
Dakle, kroz uvijek otvorene propusne kanale stalan je **neto** protok iona. To stalno udaljšavanje od ravnoteže kompenziraju ionske pumpe. Ako stanica nema pumpu za neki ion, znači da je taj ion u njoj u elektrokemijskoj ravnoteži, tj. da ako i može prolaziti kroz ionske kanale, to čini u istoj mjeri i van i unutra. Za takve ione Nernstova jednadžba vrijedi egzaktno. Tako neke stanice nemaju (ili nije dokazano da imaju) pumpu za kloridni ion.

Postavlja se pitanje čemu uopće služe propusni kanali, tj. čime se opravdava stalna potrošnja energije zbog toga što valja aktivnim transportom vratiti ione koji kroz njih neprestano cure u težnji da ostvare svoj ravnotežni potencijal. Odgovor će ubrzo biti jasan.

Stanice su uvijek elektroneutralne, tj. ukupan im je naboj nula. To znači da pozitivnih naboja mora biti koliko i negativnih (zanemarujemo nemjerljivi višak negativnih naboja u nepobuđenoj stanici, kao i obrnuti slučaj, višak pozitivnog naboja tijekom nastajanja živčanog signala). Elektroneutralnost stanice povlači da isticanje jednih pozitivnih (negativnih) iona prati podjednako uticanje drugih pozitivnih (negativnih iona). Druga bi mogućnost bila da gubitak (povećanje) pozitivnih iona prati jednak gubitak (povećanje) negativnih iona, ali tada stanica ne bi bila u osmotskoj ravnoteži. Tako stalni izlaz iona kalija iz stanice mora pratiti podjednak ulaz natrijskih iona u stanicu. Iako ioni natrija prolaze puno teže od iona kalija kroz propusne kanale, tjera ih veća 'sila', pa su transmembranski protoci ta dva iona podjednaki i suprotno usmjereni. Stalne gubitke iona kalija i utjecanje iona natrija kompenzira Na-K pumpa. Obzirom da pumpa izbacuje ione natrija i ubacuje ione kalija u omjeru 3:2, a da su, s druge strane, suprotni transporti tih iona kroz propusne kanale podjednaki, ostaje pitanje kako to da se koncentracija iona natrija stalno ne smanjuje. Odgovor je da ioni natrija ulaze u stanicu i putem sekundarnog aktivnog transporta, ta Na-K pumpa mora i njih izbaciti (pored onih koji stalno ulaze kroz propusne kanale).

Pri prolazu kroz membranu kationi vuku za sobom ione suprotnog naboja (anione). Tako se stvaraju pokretni **dipoli**. Dipol je tim jači što su suprotni naboji razmaknutiji. Razmaknutost suprotnih iona tim je veća što je veća razlika u njihovoj pokretljivosti. Općenito je pokretljivost kationa veća od pokretljivosti aniona, koji

kaskaju za njima. Tako se stvaraju pokretni kalijski i natrijski dipoli koji su suprotno orijentirani i prolaze u suprotnim smjerovima. Obzirom da su transmembranski protoci iona kalija i natrija podjednaki, podjednako je i njihovih dipola, te se njihovo djelovanje djelomično poništava. Međutim, pokretljivost iona kalija puno je veća od iona natrija, tako da su kalijski dipoli jači. Zbog toga stalni, podjednaki i suprotno usmjereni protoci iona kalija i natrija kroz staničnu membranu efektivno proizvode električno polje kao u kondenzatora čija je negativna strana s unutrašnje strane membrane.



Taj tzv. difuzijski potencijal najveća je komponenta membranskog potencijala. Preostali je čimbenik višak negativno nabijenih čestica unutar stanice (pretežno proteini i fosfati), za koje je dijelom odgovoran i elektrogenički učinak Na-K pumpe. Ti se negativni ioni grupiraju uz unutrašnju stranu membrane i privlače pozitivne ione s vanjske strane membrane. Dakle, membranski je potencijal samo manjim dijelom rezultat viška nepokretnih negativnih naboja unutar stanice, više je orijentacijski efekt pokretnih dipola. Sad uočavamo fiziološku opravdanost postojanja propusnih kanala. Bez njih bi membranski potencijal bio puno manji. Posljedično se ne bi mogao jako i brzo promijeniti, što je osnova nastajanja i vođenja živčanog signala.

Naglasimo još jednom sveobuhvatni učinak Na-K pumpe. Naime, pored njenog neposrednog elektrogeničkog djelovanja, još je važnije posredno djelovanje, jer pumpa svojom aktivnošću održava ionske koncentracijske gradijente. Prestankom njene aktivnosti membranski potencijal stanice gasi se u nulu.

Moguće je egzaktno povezati membranski potencijal stanice s unutar i vanstaničnim koncentracijama onih iona koji mogu proći kroz staničnu membranu. Potrebno je još poznavati propusnosti membrane za te ione. Ovisno o tome kako definiramo propusnost, kao vodljivost ili kao pokretljivost, postoje i dva modele: **model kabela** i **model konstantnog polja**.

### Model kabela

Ukoliko je membranski potencijal stanice jednak ravnotežnom, Nernstovom potencijalu za određeni ion, njegov neto protok kroz membranu debljine  $d$  jednak je nuli. Ako tome nije tako, razlika između membranskog potencijala stanice  $U_m$  i ravnotežnog potencijala tog iona  $U_x$ , određuje efektivno polje  $E_x = (U_m - U_x)/d$ , koje uzrokuje usmjerenu ionsku

struju u ili izvan stanice, ovisno o predznaku naboja i smjeru sile. Prema Ohmovom zakonu (mikroskopski oblik) gustoća te struje  $\mathbf{j}_x$  proporcionalna je efektivnom polju, a konstanta proporcionalnosti vodljivost je tog iona u membrani  $\lambda_x$ :

$$\mathbf{j}_x = \lambda_x (\mathbf{U}_m - \mathbf{U}_x) / \mathbf{d}$$

Uvjet elektronegativnosti povlači da je ukupna ionska struja kroz membranu nula. Pretpostavimo, radi jednostavnosti, da kroz membranu mogu prolaziti samo ioni kalija i natrija. Tada vrijedi:

$$\mathbf{j}_K + \mathbf{j}_{Na} = \mathbf{0}$$

odnosno

$$\lambda_K (\mathbf{U}_m - \mathbf{U}_K) + \lambda_{Na} (\mathbf{U}_m - \mathbf{U}_{Na}) = \mathbf{0}$$

Rješavajući po  $\mathbf{U}_m$  dobivamo tzv. **jednadžbu kabela**:

$$\mathbf{U}_m = \frac{\lambda_K}{\lambda_K + \lambda_{Na}} \mathbf{U}_K + \frac{\lambda_{Na}}{\lambda_K + \lambda_{Na}} \mathbf{U}_{Na}$$

Dakle, ravnotežni je potencijal stanice vagana sredina između ravnotežnih (Nernstovih) potencijala iona kalija i iona natrija. Težinski faktori su membranske vodljivosti iona. Kako je u svim stanicama, uključujući nepobuđene neurone, vodljivost iona kalija puno veća od vodljivosti iona natrija, to je i ravnotežni potencijal stanice puno bliži Nernstovom potencijalu za kalij (oko -90 mV) nego Nernstovom potencijalu za natrij (oko +60 mV). Taj se odnos samo kratkotrajno mijenja u pobuđenim neuronima i pridruženim osjetilnim stanicama.

Osim kalija i natrija i drugi ioni, ovisno o vrsti stanice, mogu prolaziti kroz membrane, u nastojanju da ostvare svoj ravnotežni potencijal. Utjecaj kloridnih i drugih iona možemo uvažiti jednostavnim dodavanjem odgovarajućih članova u gornjoj jednadžbi.

Kako u raznim stanicama razni ioni utječu na membranski potencijal, te još membranske vodljivosti za pojedine ione nisu jednake, membranski potencijali u našem tijelu variraju od -7 mV u eritocitu, preko -30 mV u nekim glatkim mišićima, -90 mV u srčanom mišiću, do -150 mV u osjetilnim stanicama uha.

Jednadžba kabela dobro predviđa membranske potencijale, te je jednostavna, plauzibilna i instruktivna kao polazna točka za objašnjenje neravnotežnih stanja u nastajanju akcijskog potencijala. Mana joj je što koristi ionsku vodljivost. Vodljivost iona proporcionalna je umnošku njegove pokretljivosti i koncentracije ( $\lambda = c u e$ ). Dakle, vodljivost iona, ovisi ne samo o intrinzičnim svojstvima membrane za taj ion (pokretljivost), nego i o koncentracijama iona s pojedine strane membrane. To ponekad otežava njenu primjenu, u usporedbi s jednadžbom koja koristi samo pokretljivosti iona.

## Model konstantnog polja

Pod pretpostavkom da se električno polje unutar membrane prostorno ne mijenja, za monovalentne ione, na sličan način kako smo izveli Nernstovu jednadžbu, Goldman i Katz su pokazali (radi jednostavnosti navodimo samo doprinose kalija, natrija i klorida):

$$U_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{u_K(c_K)_{in} + u_{Na}(c_{Na})_{in} + u_{Cl}(c_{Cl})_{out}}{u_K(c_K)_{out} + u_{Na}(c_{Na})_{out} + u_{Cl}(c_{Cl})_{in}}$$

Indeks **in** označava unutarstanične, a **out** izvanstanične koncentracije iona.

Goldman-Katzova jednadžba i jednadžba kabela daju slične rezultate. I ovdje je jasno da glavnu riječ vode ioni čija je pokretljivost velika.

## Zašto kažemo da je membrana nepropusna za ione

Na kraju ovog detaljnog prikaza transmembranskih transporta neutralni čestica i iona, moramo znati odgovoriti na jedno važno pitanje. Kada govorimo o raspodjeli tvari u našem tijelu, valja prvo uočiti dva odjeljka: intracelularni i ekstracelularni. Potonji se opet dijeli na intravaskularni i ekstravaskularni. Tako npr. većina krvnih stanica i, donekle, proteini ne mogu prolaziti kroz kapilarne stjenke, te su za njih potonja dva odjeljka zasebne cjeline. Nasuprot tome za vodu nema prepreka i čaša vode koju popijemo raspoređuje se jednoliko u svim tjelesnim prostorima. Elektroliti iz krvi lako (zajedno s vodom) prelaze u intersticij i obrnuto, tako da je za njih ekstracelularni prostor jedan odjeljak. Međutim, sol koju unesemo s hranom, neće na kraju završiti u našim stanicama. Kažemo da su stanice gotovo nepropusne za ione. Kako to kada smo upravo vidjeli da razni ioni mogu u stanicu ući i iz nje izići kroz transportne kanale, te da oni to i neprekidno čine, i to ne samo podjednako u oba smjera, već za ione kalija i natrija postoje stalni neto protoci (koje kompenzira Na-K pumpa)?

Odgovor je sljedeći: Neto protoke kalija i natrija kompenzira Na-K pumpa, tako da se na taj način broj tih iona unutar stanice neće mjerljivo promijeniti. Nadalje, svaki unos ili gubitak iona u ekstracelularnoj tekućini (dijeta, bubrežna eliminacija) nema za posljedicu promjenu broja iona u stanicama (broja, ne koncentracije!). Tako npr. ako osoba popije tabletu kalijevog klorida (kao nadoknadu zbog toga što uzima diuretik koji eliminira kalijev ion), povećat će se koncentracija kalijevog (i kloridnog) iona u ekstracelularnoj tekućini. To povećanje znači da koncentracija kalijevog iona ne odgovara više Goldman-Katzovoj jednadžbi (ion je još više izbačen iz ravnotežnog, Nernstovog potencijala). Kako je iona kalija više izvan stanice nego u prijašnjem, ravnotežnom stanju (na razini cijele stanice), počinje neto-ulaz iona kalija u stanicu. Međutim, kako smo već imali prilike vidjeti u primjeru polupropusne membrane, dovoljan je nemjerljivo mali ulaz iona za znatnu promjenu membranskog potencijala, koja, brzo ostvarujući novo ravnotežno stanje, sprječava daljnji neto ulaz iona. Možemo, naizgled paradoksalno, reći da ulaz iona u stanicu uzrokuje njenu nepropusnost za taj ion.

Rečeno naravno ne znači da znatne promjene koncentracije elektrolita u intersticijskoj tekućini nemaju posljedica na stanične funkcije. Dapače, u slučaju kalija, upravo je promjena membranskog potencijala (smanjenje polarnosti, ili depolarizacija, u slučaju hiperkalijemije, i, obrnuto, hiperpolarizacija zbog hipokalijemije) pojava koja, kompromitirajući provođenje živčanog signala, može imati teške, pa i fatalne posljedice. Ion natrija teže prolazi kroz staničnu membranu od iona kalija, a i teže je znatnije promijeniti njegovu oko 35 puta veću ekstracelularnu koncentraciju. Stoga se poremećaj u njegovoj ekstracelularnoj koncentraciji prvenstveno očituje osmotski.

**PRIMJER.** Neka su u ljudskoj stanici ioni kalija u ravnoteži, te im je citoplazmatska koncentracija 140 mmol/L a plazmatska 4 mmol/L. Nakon što se, pretjeranim uzimanjem tableta kalijevog klorida, plazmatska koncentracija iona kalija povisi na 6 mmol/L, što će se dogoditi s membranskim potencijalom stanice?

Primjenom Nernstove jednadžbe za kalijске ione dobivamo za ravnotežni potencijal stanice prije uzimanja tableta:

$$U_{m1} \text{ (mV)} = - 61 \times \log \frac{c_{in}}{c_{out}} = - 61 \times \log \frac{140}{4} = -94 \text{ mV}$$

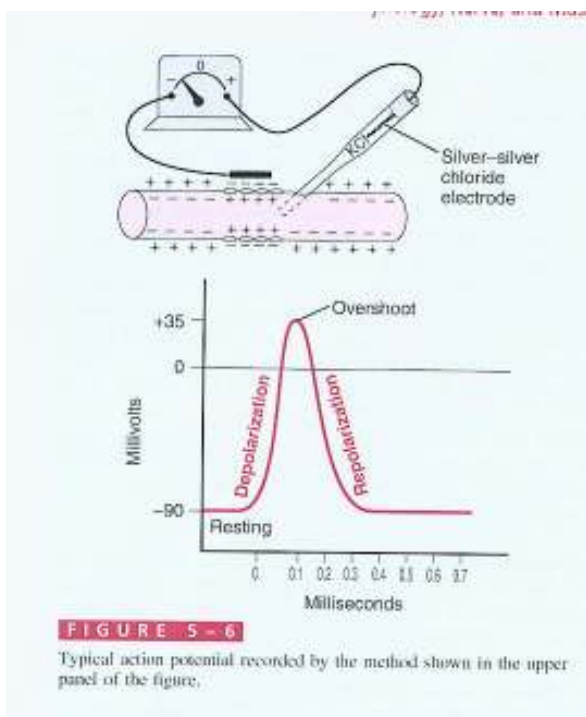
Bitno je uočiti da se novi membranski potencijal, nakon povišenja kalija u plazmi,  $U_{m2}$ , dobiva tako da se u Nernstovu jednadžbu uvrsti samo nova plazmatska koncentracija  $c_{out}$ , jer znamo da se citoplazmatska koncentracija  $c_{in}$  neće promijeniti. Dakle:

$$U_{m2} \text{ (mV)} = - 61 \times \log \frac{c_{in}}{c_{out}} = - 61 \times \log \frac{140}{6} = -83 \text{ mV}$$

Zaključak je da hiperkalijemija depolarizira stanicu i da upravo ta promjena membranskog potencijala sprječava da mjerljiva količina viška iona iz ekstracelularne tekućine uđe u stanicu. Međutim, posljedica depolarizacije stanice, ako se radi o neuronu, može biti kompromitacija njegove funkcije, tj. stvaranja i prenošenja akcijskog potencijala. Naime, depolarizacijom se neuron približava svom pragu prekidanja. Posljedica je prenadražljivost, što u slučaju srčanog mišića izaziva poremećaj ritma. Slično će se dogoditi u slučaju smanjenja koncentracije kalija izvan stanice, samo što će se tada stanica hiperpolarizirati. I to kompromitira neuronsku funkciju, a time i funkciju mišićnih stanica koje neuron podražuje.

## AKCIJSKI POTENCIJAL

Gotovo su sve stanice polarne, tj. imaju membranski potencijal. Međutim, samo neki neuroni imaju sposobnost da im se polarnost na mjestu pobude brzo, ali reverzibilno promijeni. Taj se događaj od mjesta pobude širi, samoobnavljajuće, bez gubitaka, duž cijelog živčanog vlakna, aksona. To je **živčani signal** ili **akcijski potencijal**.



Podsjetimo se da u nepobuđenom, ravnotežnom stanju ioni kalija i natrija prolaze kroz neuronsku membranu (kalij neto prema vani, natrij unutra) kroz propusne kanale (*leak channels*) zato što nijedni nisu u elektrokemijskoj ravnoteži (te promjene balansira Na-K pumpa, tako da se dugoročno koncentracije oba iona ne mijenjaju). Pri tome ioni natrija imaju jaku sklonost ulaza u stanicu, jer ih tjera i difuzijski gradijent i električno polje. Međutim, propusnost kanala je puno manja za ione natrija, tako da su trans-membranski prometi oba iona podjednaki.

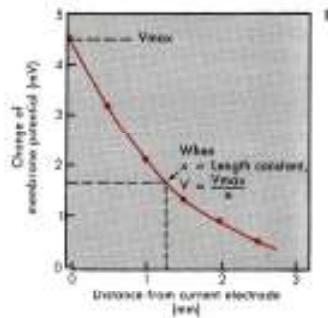
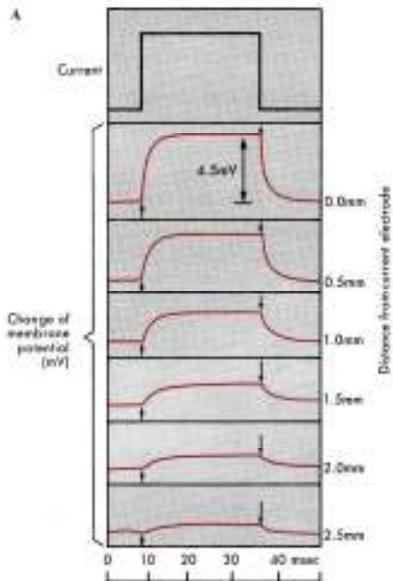


Fig. 6.3 A, Responses of an axon of a shore crab to rectangular pulse of current recorded extracellularly by a electrode located different distances from the current-passing electrode. As the recording electrode is moved farther from the point of stimulation, the response of the membrane potential from A is plotted versus distance from the point of current passage. The distance over which the response falls to 1/2 (37%) of the maximal response is called the length constant (Part A is redrawn from Hodgkin AL, Rushlow WAH Proc J Soc B153:97, 1946.)

**Lokalni podražaj** (podražaj ispod praga, akutni ili subliminalni podražaj) nastaje kada na jednom dijelu membrane vanjski podražaj (fizička deformacija membrane, propuštanje struje, vezivanja liganada na post-sinaptičkim neuronima), promijeni membranski potencijal samo za nekoliko mV.

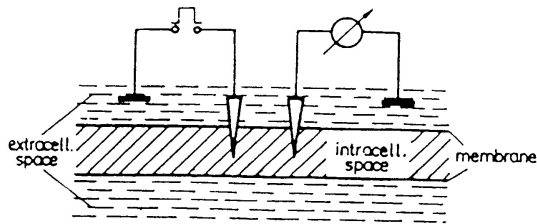


Fig. 6.3. Diagram relating to the change of the resting potential. On the left the exciting electrode pair; on the right the recording electrode pair. The distance between the two electrode pairs is of the order of a tenth of a mm.

Ta promjena može biti **hiperpolarizacija** (povećanje negativnosti unutar-staničnog potencijala) ili **depolarizacija** (smanjenje negativnosti unutar-staničnog potencijala) i njome uzrokovan lokalni podražaj širi se, s opadajućim intenzitetom, do par milimetara od mjesta pobude. Što je veća pobuda, veći je i lokalni podražaj.

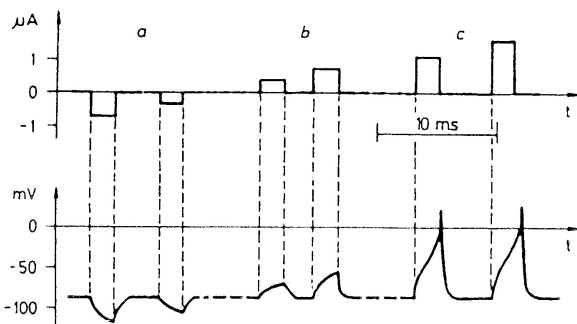
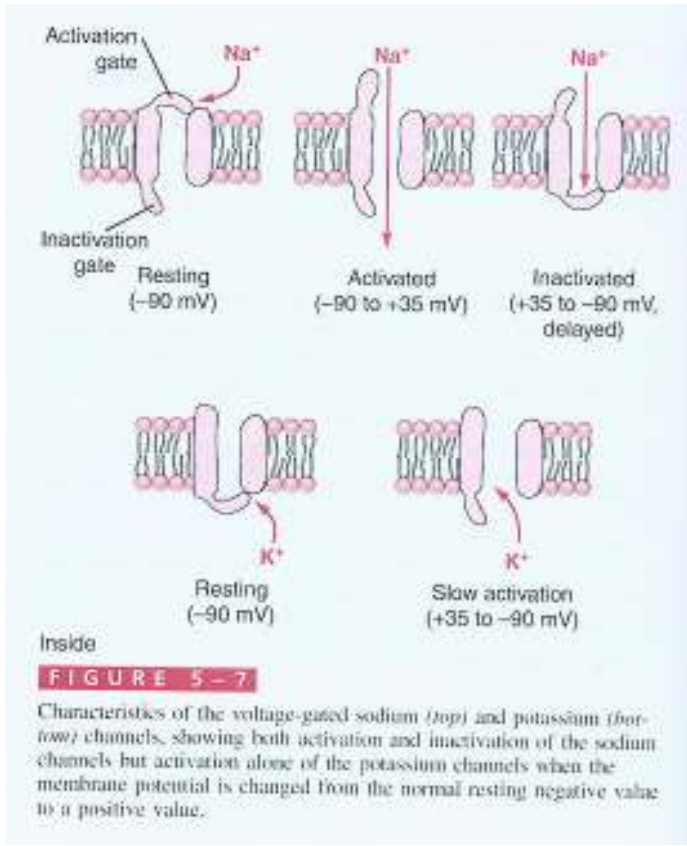


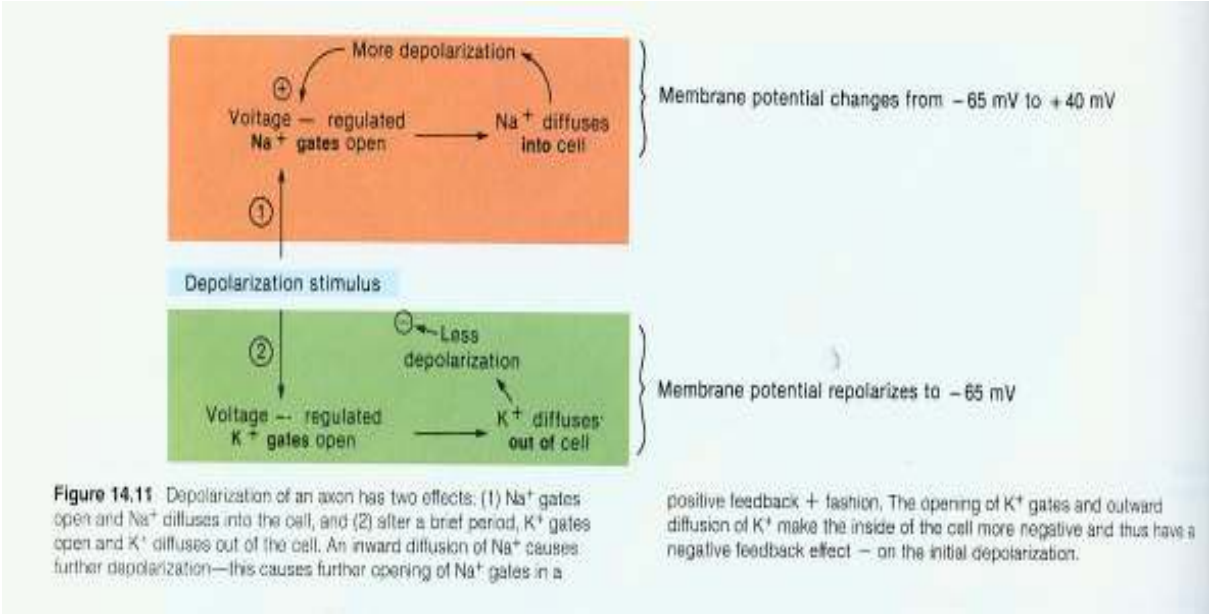
Fig. 6.4. The effect of square-wave current pulses (upper diagram) on the membrane potential (lower diagram). The upper ordinate shows the amplitude of the current pulses, and the lower one the membrane potential. The abscissae give the time.

Kada je početna promjena **dovoljno velika depolarizacija** (recimo 20 mV) lokalno inducirana naponska promjena poprima karakteristični oblik, **neovisan o daljnjem pojačavanju podražaja** i počinje se širiti **bez gubitaka** duž aksona, tj. nastaje akcijski potencijal. Membranski potencijal pri kojem neuron okida akcijski potencijal naziva se **prag okidanja** ili **prag podražaja**.

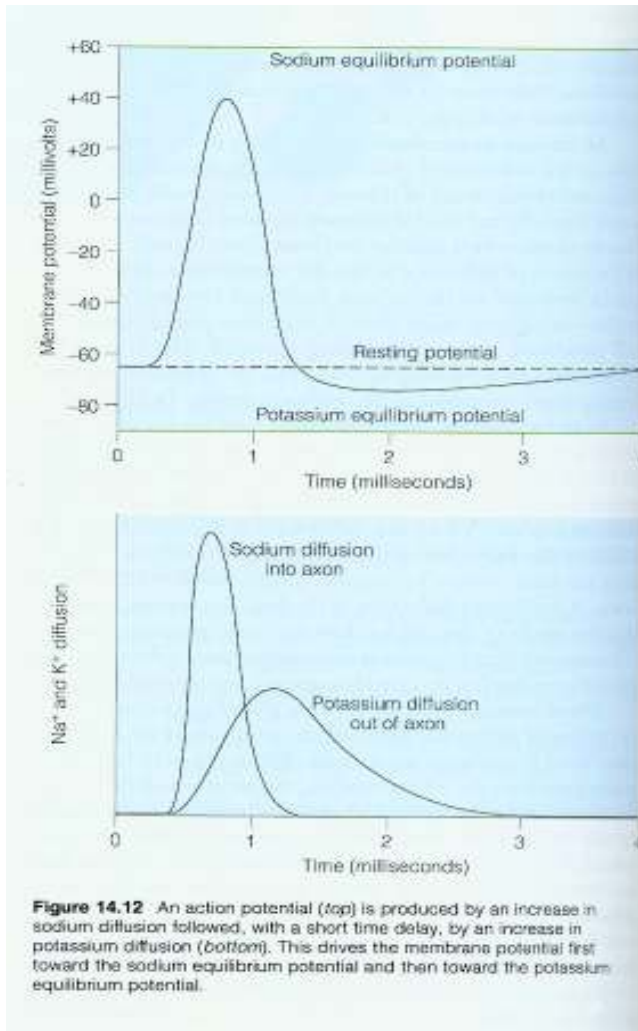




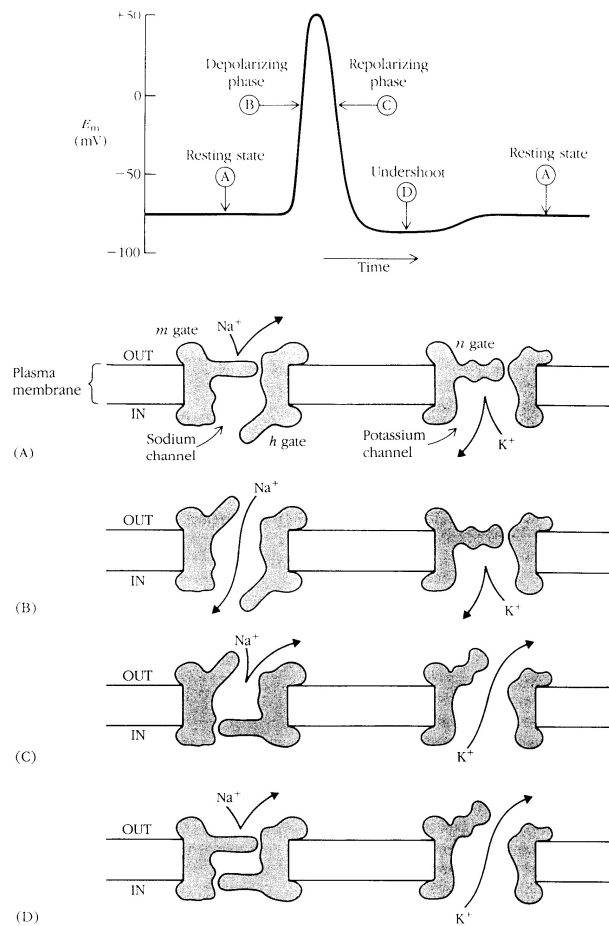
Početak je mirno stanje, kada je stanica polarizirana (negativnija nutra). Ioni natrija nastoje ući u stanicu, ali teško prolaze kroz propusne kanale. Povećanje permeabilnosti za ione natrija uzrokuje brzu depolarizaciju jer ioni natrija (pozitivni ioni) nahrupе u stanicu nakon otvaranja svojih do tada zatvorenih kanala i tako smanje unutar-staničnu negativnost potencijala. Nakon toga, prije nego što natrij dosegne svoj ravnotežni potencijal, poveća se permeabilnost za kalij, koji izlazi iz stanice i tako se stanica **repolarizira**. Pri svemu se u vremenu od nekoliko milisekundi membranski potencijal promijeni za stotinjak mV (npr. od -70 do +30 mV i ponovo na -70 mV).



Uzrok povećanju propusnosti membrane za ione: sam početak depolarizacije (odmah, prije dosizanja praga okidanja!) otvara vrata prvo natrijskih, potom kalijjskih kanala, mijenjajući konformaciju proteina. To su **voltažno ovisni** kanali. Ioni natrija počinju ulaziti u stanicu odmah nakon što im se otvore vrata. Međutim, eksplozivni ulaz iona natrija moguć je tek nakon dosizanja praga okidanja. Prije toga ulaz iona natrija i posljedična depolarizacija tjeraju ione kalija izvan stanice (dijelom i kroz uvijek otvorene propusne kanale). Posljedično se cijeli proces brzo guši, bez većeg širenja izvan mjesta pobude.



Međutim, ukoliko je prag dosegnut, eksplozivni ulaz natrija više se ne može zaustaviti i oblik naponske promjene više ne ovisi o veličini početne depolarizacije (jedna šibica zapalit će jednaku vatru kao dvije ili tri). To objašnjavamo **pozitivnom povratnom spregom** ulaza iona natrija u citoplazmu. Naime, ulaz natrija, kao pozitivnog iona, povećava početnu depolarizaciju, čime se povećava otvaranje natrijskih vrata, jer se ona upravo i otvaraju na depolarizacijski podražaj. To opet dalje pospješuje ulaz novih natrijskih iona i tako dalje, sve dok se sva natrijska vrata ne otvore. Taj se proces događa neovisno o početnoj pobudi, sve dok je ona iznad praga podražaja. Dakle, prag je podražaja ona iskra koja je dovoljna da zapali vatru, koja zatim sama sebe razgara do kraja.

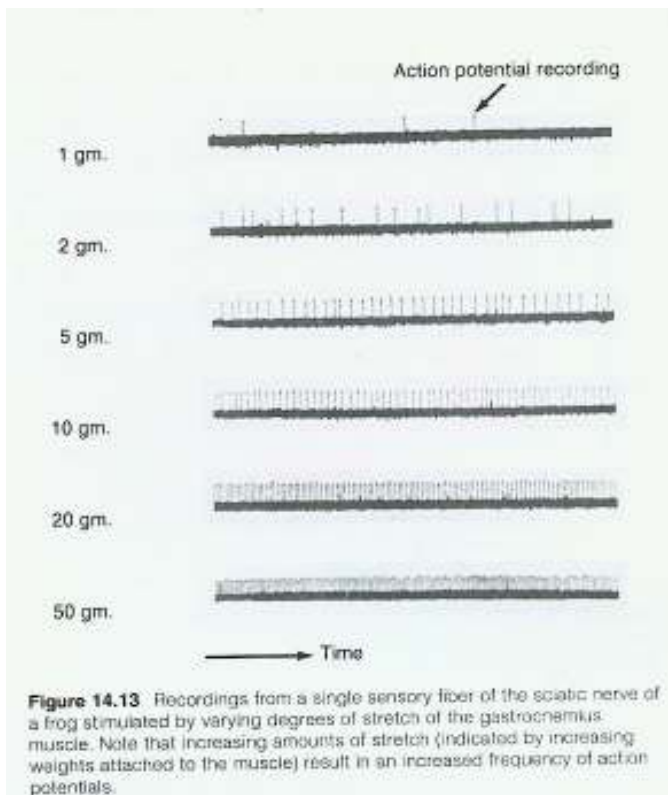
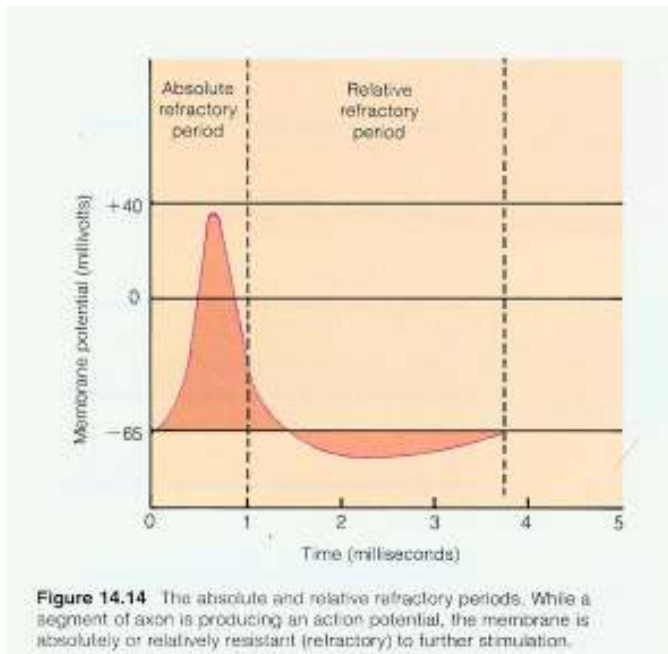


Specifičnosti pojedinih kanala: natrijski ima dvojna vrata: *aktivacijska* i *inaktivacijska*. Prva se depolarizacijom otvaraju, a druga, sa zakašnjenjem zatvaraju. Dakle, depolarizacija samo kratkotrajno otvara natrijski kanal (dok ne reagiraju izlazna vrata). Zato, kao i zbog otvaranja kalijevih vrata, natrij ne stigne doseći svoj ravnotežni potencijal od npr. +60 mV, već je amplituda krivulje akcijskog potencijala manja, recimo +40 mV (te su vrijednosti specifične za pojedine neurone). Kalijev kanal ima samo jedna vrata, koja se na depolarizacijsku pobudu otvaraju u vremenu kada se natrijski kanali počinju zatvarati. Različiti su i mehanizmi prolaza kroz kanale: ioni natrija se moraju dehidratizirati, ioni kalija ne. Detalji mehanizma kako depolarizacijska pobuda mijenja konformaciju natrijskih i kalijevih kanala nisu poznati. U početku se mislilo da je posrednik vezivanje neke molekule, liganda, ali je ta teorija odbačena.

Repolarizacijska faza, prije vraćanja u prvobitno stanje, sadrži fazu **hiperpolarizacije**, tijekom koje je stanica negativnija, više polarizirana nego u nepobuđenom stanju. Uzrok je nastavak izlaza iona kalija i nakon što je ostvaren ravnotežni potencijal nepobuđenog stanja, sve dok se sva kalijeva vrata sasvim ne zatvore, tj. membranska propusnost za ione kalija ne vrati na nepobuđeno stanje, kada su zadovoljeni uvjeti jednadžbe kabela i Goldman-Katzove jednadžbe.

Jedan akcijski potencijal nastat će nakon samo jedne, dovoljno jake, ali kratkotrajne pobude. Više uzastopnih pobuda, ili jedna neprekidna pobuda dovoljnog intenziteta uzrokovat će **seriju akcijskih potencijala**. Međutim, drugi akcijski potencijal ne može nastati sve dok su natrijska vrata otvorena (ne možete zapaliti novu vatru u vatri koja još gori). To se razdoblje naziva **apsolutna refrakternost**. Tijekom tog vremena živčano je vlakno apsolutno nepodražljivo glede nastajanja novog akcijskog potencijala. I nakon tog vremena, pošto se natrijska vrata zatvore, novi će impuls teško nastati, sve dok se i kalijeva vrata ne zatvore, tj. dok se ne ostvari ravnotežno stanje. Razlog tome je što ulaz iona natrija, slijedom nove pobude, mora biti toliko jak da nadvlada konkurentni

izlaz iona kalija. To se razdoblje naziva **relativna refrakternost**. Tijekom tog vremena živčano vlakno je podražljivo samo za dovoljno jake podražaje.



riječima, kratkotrajne pauze u pobudi nemaju učinka.

Vrlo je važno uočiti da će sve jači, stalni podražaji sve ranije okidati nove akcijske potencijale, sve do vremena određenog gornjom granicom apsolutne refrakternosti.

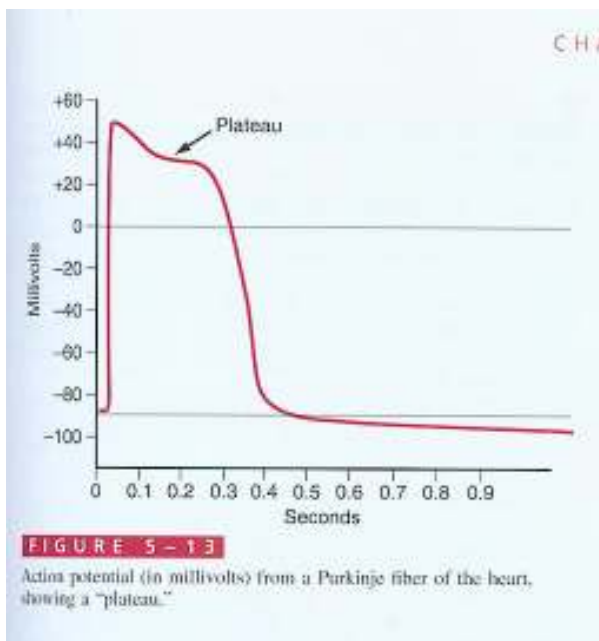
Na taj se način omogućava kodiranje intenziteta podražaja učestalošću akcijskih potencijala.

Naime, osnovna funkcija živčanog impulsa je prijenos informacije (od osjetilne stanice do mozga, ili od središnjeg živčanog sustava do izvršnog organa) koja šifrira 1. mjesto pobude i 2. intenzitet pobude. Amplituda akcijskog potencijala u određenom živčanom vlaknu ne može se mijenjati. Dana je gustoćom natrijskih i kalijevih kanala i karakteristična je za to živčano vlakno. Svaki podražaj iznad praga uzrokuje akcijski potencijal iste amplitude, neovisno o svom intenzitetu. Dakle, intenzitet podražaja (stupanj depolarizacije) neuron ne može kodirati amplitudom akcijskog potencijala. Međutim, sve jači podražaji, u vremenu svog trajanja, generirat će seriju akcijskih potencijala sa sve kraćim razmacima između pojedinih impulsa, tj. sa sve većom učestalošću (frekvencijom). Dakle, **intenzitet podražaja neuron kodira učestalošću (frekvencijom) serije akcijskih potencijala** koja traje dok traje pobuda. Pri tome neuron ne može razlikovati trajnu pobudu od niza sljedbenih pulsova u razmacima puno kraćim od trajanja jednog akcijskog potencijala. Drugim

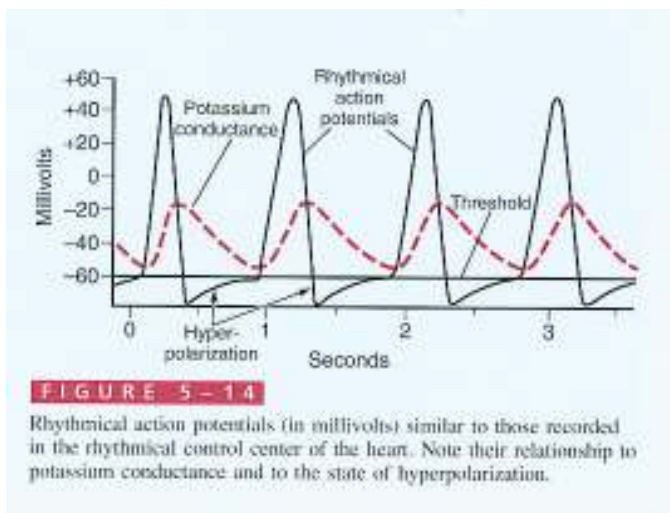
## ČETIRI ZNAČAJKE AKCIJSKOG POTENCIJALA

1. **postojanje praga**: ako je depolarizacija nedostatna, ulaz iona natrija kroz voltažno ovisne kanale kompenzira izlaz iona kalija (kroz propusne kanale i voltažno ovisne kalijске kanale koji se prvi počnu otvarati)
2. **konstantnost amplitude** akcijskog potencijala, tj. njenu neovisnost o veličini depolarizacije iznad praga, objašnjavamo pozitivnom povratnom spregom, tj. samopojačavajućim učinkom ulaza natrija u stanicu
1. i 2. znače da je akcijski potencijal “**sve ili ništa**” događaj (*all or none event*)
3. **širenje bez smanjenja amplitude** (samo-obnavljanje)
4. postojanje **neosjetljivosti na naknadni podražaj** sve dok se “stvari ne vrate na svoje mjesto”.

Promet iona natrija i kalija tijekom jednog akcijskog potencijala znatno mijenja membranski potencijal neurona, dok je promjena ukupne količine kalija i natrija u stanici neznatna. Ipak, nakon puno akcijskih potencijala, Na-K pumpa “vraća stvari na svoje mjesto”.



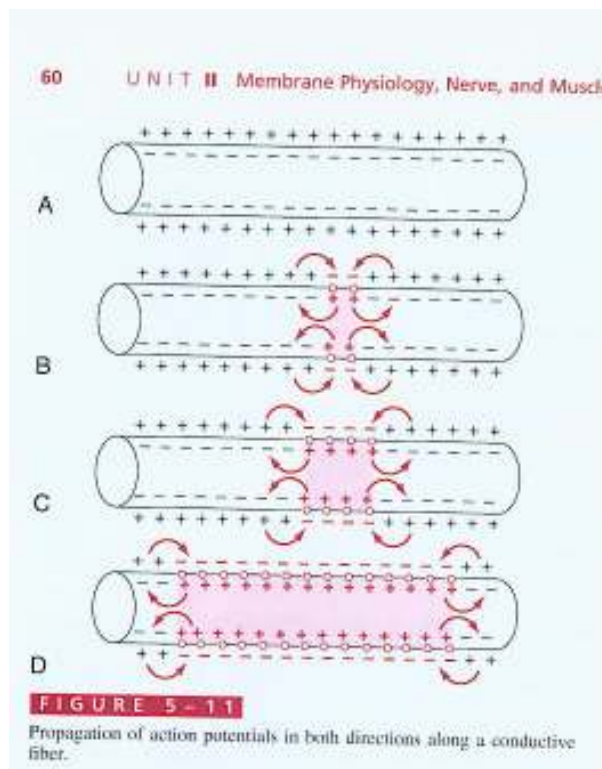
Postojanje platoa u nekim neuronima (srčani mišić) objašnjavamo postojanjem sporih kalcijskih kanala (kroz koje mogu ući i ioni natrija) i većim kašnjenjem otvaranja kalijskih kanala.



Ritmično samo-okidanje živčanih signala u nekim tkivima objašnjavamo relativno malom polarizacijom neurona, upravo na granici otvaranja natrijskih kanala.

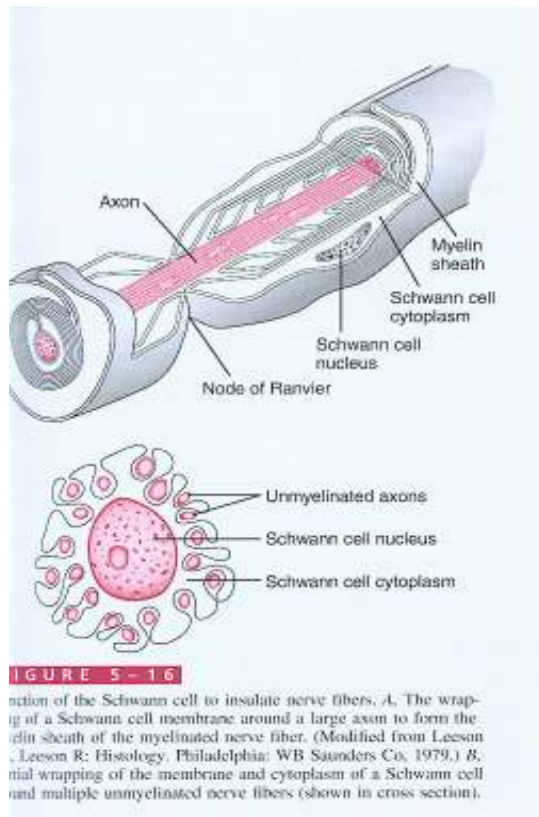
## VOĐENJE AKCIJSKOG POTENCIJALA

Promet iona koji se lokalno dogodi na mjestu nastajanja akcijskog potencijala dovoljan je da izazove depolarizacijsku pobudu u svom okolišu. Na taj se način jednom stvoreni obrazac naponske promjene širi, bez gubitaka, duž cijelog aksona u oba smjera od mjesta pobude. Promjene se šire kao val, tj. akcijski potencijal ne putuje, već se stalno na putu obnavlja. U stvari se, širenjem depolarizacijske pobude, šire promjene propusnosti membrane za ione natrija i kalija. Pri tome ioni putuju u petljama duž aksona s vanjske strane, kroz membranu i s njene unutrašnje strane. Brzina širenja živčanog signala ovisi o vrsti neurona i debljini živčanog vlakna.



Morfološki i funkcijski razlikujemo dva tipa živčanih vlakana. **Mijelinizirana živčana vlakna** obavijena su s više slojeva stanica koje imaju funkciju izolatora. Radi se o Schwanovim stanicama u perifernom i oligodendrocitima u središnjem živčanom sustavu. **Nemijelinizirana živčana vlakna** takvu ovojnicu nemaju. U tijelu pretežu mijelinizirana vlakna, nemijelinizirana su tanka ( $<3 \mu\text{m}$ ), npr. postganglijska autonomna. Mijelinizirana vlakna brzo vode živčani signal, ali zauzimaju više prostora. Zato pojedini živci našem tijelu često sadrže obje vrste vlakana (čak su ponekad pojedina vlakna miješana, odnosno samo dijelom mijelinizirana). To je osobito važno kod vidnog i slušnog živca, tako da informacija bude i brza (putem mijeliniziranih vlakana), ali i prostorno dobro definirana (putem tankih nemijeliniziranih vlakana).

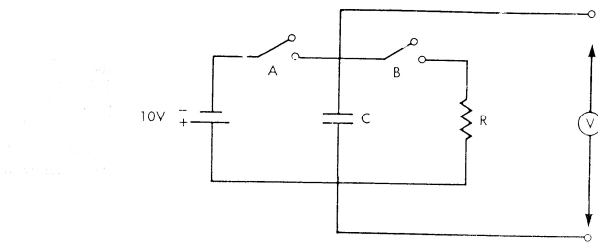
Akcijski potencijal se u nemijeliniziranim vlaknima širi **samoregenerirajuće, kontinuirano** duž vlakna. Nasuprot tome, provođenje je signala u mijeliniziranim vlaknima **skokovito (saltatorno)**, gdje se signal regenerira se samo na malim, neizoliranim dijelovima aksona, tzv. **Ranvierovim čvorovima**. Takav način osigurava puno veću (50-tak puta) brzinu širenja, do 120 m/s.



### Brzina širenja akcijskog potencijala u nemijeliniziranom vlaknu (aksonu)

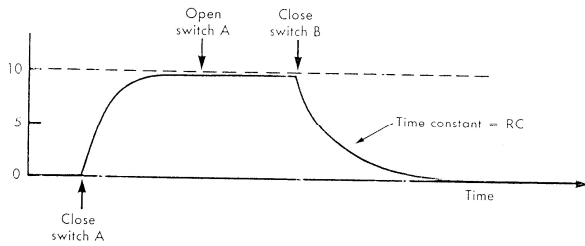
Uočimo prvo da aksonska membrana djeluje kao kondenzator, odnosno kao dvije međusobno izolirane plohe na kojima su pohranjeni suprotni naboji. Međutim, ioni ipak mogu prelaziti s jedne plohe na drugu kroz ionske kanale. Dakle, pojedini ion može biti ili zaustavljen na membrani, ili proći kroz ionski kanal. To modeliramo **paralelnim spojem** kondenzatora i otpornika. Nadalje postojanje membranskog potencijala modeliramo spajanjem kondenzatora na vanjski naponski izvor, kako prikazuje slika.

Zanima nas što se događa kad nabijeni kondenzator kapaciteta **C** pustimo da se izbije preko otpornika **R**. To će nam reći kako se brzo mijenja membranski potencijal na jednom mjestu neurona u ovisnosti o kapacitetu membrane i otporima koji ioni svladavaju na svom putu. Obzirom da je kapacitet kondenzatora količina naboja koja se može pohraniti za jediničnu promjenu napona, očekujemo da će se napon to brže smanjivati što su kapacitet i otpor manji, tj. što se manje naboja treba transportirati i što se tom transportu pruža manji otpor.



Matematičkom analizom dobivamo da se napon kondenzatora u paralelnom spoju s otpornikom u vremenu smanjuje s početne vrijednosti  $U$  po relaciji:

$$U(t) = U \exp(-t/RC)$$



Umnožak  $RC$  naziva se **vremenska konstanta**. Što je ona manja, kondenzatoru, koji se izbija preko otpornika, brže pada napon. Nakon vremena  $RC$  amplituda napona pada za faktor  $1/e$ .

Da bi se približili realnosti uočimo da, u petljama koje ioni prolaze, svladavaju ekstracelularni omski otpor  $R_e$ , intracelularni omski otpor  $R_i$  i membranski otpor  $R_m$ . To se prikazuje modelom kao na slici (ekvivalentni strujni model elektrotoničkog vođenja)

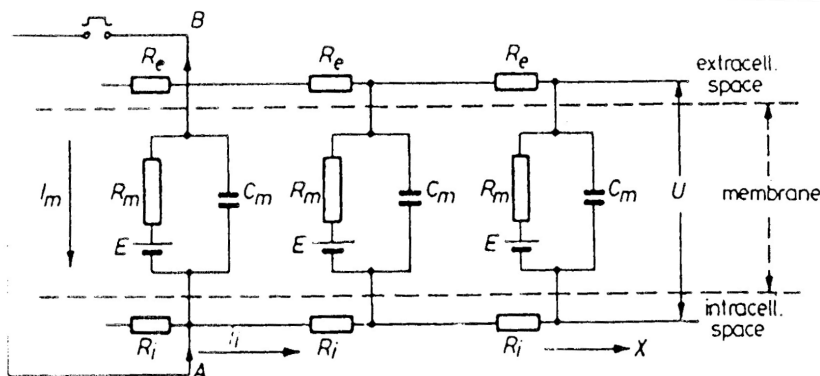


Fig. 6.5. Schematic circuit of the electric model of the cell for the interpretation of the effect of a pulse on the membrane

*A and B: exciting electrodes*



U usporedbi s prolazom iona kroz citoplazmu, gdje je više makromolekula, ekstracelularni je otpor zanemariv. Analizom ekvivalentnog strujnog modela živčanog vlakna dobivamo da je ukupni (efektivni) omski otpor geometrijska sredina  $\mathbf{R}_m$  i  $\mathbf{R}_i$ :

$$\mathbf{R} = \sqrt{\mathbf{R}_m \mathbf{R}_i}$$

Dakle, vremenska konstanta vlakna je  $C\sqrt{\mathbf{R}_m \mathbf{R}_i}$ . Ona je mjera brzine kojom membrana odgovara na podražaj. Što je manja, membrana se brže depolarizira, te akcijski potencijal brže nastaje duž aksona, tj. brzina širenja je veća.

Osim vremenske konstante, još je jedan parameter odrednica brzine širenja akcijskog potencijala. **Prostorna konstanta** opisuje gubitke iona prilikom širenja duž aksona. Akcijski potencijal će se brže širiti što se manje iona gubi transmembranski, a to će biti što je veći omjer membranskog i citoplazmatskog otpora  $\mathbf{R}_m/\mathbf{R}_i$ . Prostorna je konstanta aksona  $\sqrt{\mathbf{R}_m/\mathbf{R}_i}$ . Iz električnog modela slijedi da je to je put nakon kojeg se početna amplituda podražaja smanji za faktor  $1/e$ . Ako je prostorna konstanta velika, podražaj nastao na jednom mjestu aksona širi se daleko od njega. Zbog toga će se udaljeno područje aksona brže dovesti do pobude iznad praga, tj. akcijski će se potencijal širiti brže.

*Dakle, neuron će tim brže voditi akcijski potencijal što mu je vremenska konstanta manja, a prostorna konstanta veća.*

Deblji nemijelinizirani neuroni vode akcijski potencijal brže od tanjih. To je stoga što im je vremenska konstanta manja, a prostorna veća. Vremenska im je konstanta manja, pored toga što im je kapacitet veći (raste s debljinom aksona,  $\mathbf{D}$ ), jer preteže proporcionalno veće smanjenje efektivnog otpora struji iona (opada s  $\mathbf{D}^{3/2}$ ). Sveukupno, pod pretpostavkom da je brzina vođenja ( $\mathbf{v}$ ) obrnuto proporcionalna vremenskoj konstanti aksona, izlazi da je:

$$\mathbf{v} \sim \sqrt{\mathbf{D}}$$

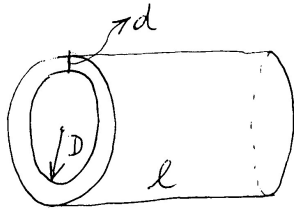
Skica izvoda je u prilogu.

• Deblji akson ima manju  $RC$  i veću  $R_m/R_i$

IZVOD:

Fizikalna pozadina

- Ohmov zakon ( $R = \rho \frac{l}{S}$ )
- $C = \text{diel. konst. } (\epsilon) \cdot \frac{\text{površina } (S)}{\text{udaljenost ploča } (d)}$
- ekvivalentni strujni model elektrotoničkog vođenja }  $R = \sqrt{R_m \cdot R_i}$
- }  $R \cdot C_m - \text{vremen. konst}$
- }  $R_m/R_i - \text{prost. k.}$



$$d \ll D$$

$$R_m = \rho_m \frac{d}{2\pi D \cdot l}$$

$$R_i = \rho_p \frac{l}{D^2 \pi}$$

$$C_m = \epsilon \frac{2\pi D \cdot l}{d}$$

$$\Rightarrow R = \frac{1}{\pi \sqrt{2}} \sqrt{\rho_m \rho_p \cdot d} \cdot \frac{1}{D^{3/2}} \Rightarrow R \cdot C_m \sim \frac{1}{\sqrt{D}}$$

$v \sim \frac{1}{R \cdot C_m} \sim \sqrt{D} \equiv$  u nemijeliniziranom ž.v. brzina vođenja a.p. raste s korijenom debljine aksona (usprkos povećanju  $C_m$  jer nadvladava relativno veće smanjenje  $R$  !!!)

brzina vođenja akcijskog potencijala

Duž aksona, na nekoj udaljenosti od mjesta pobude akcijski potencijal okida u trenutku kada promjena površinske gustoće naboja izazove depolarizaciju iznad praga. To znači da, osim o vremenskoj i prostornoj konstanti, brzina vođenja živčanog signala ovisi i o pragu okidanja, te o tome koliko je brza i intenzivna faza depolarizacije. Naime susjedno će se područje tim prije pobuditi, što se više iona, što prije pokrene.

Sumarno, brzina širenja nemijeliniziranim vlaknom tim je veća što je:

- prag okidanja niži (veća gustoća  $\text{Na}^+$  kanala)
- manji kapacitet membrane (manja promjena naboja za jediničnu promjenu napona)
- manji otpori struji iona
- veći omjer trans-membranskog otpora prema otporima struji iona uzduž membrane (manje se iona gubi kroz membranu)
- akcijski potencijal lokalno kraće traje, te
- ako mu je veća amplituda (više iona starta odjednom).

### **Brzina vođenja u mijeliniziranom živčanom vlaknu**

Svaki dio mijeliniziranog aksona možemo smatrati sastavljenim od  $2n$  kondenzatora kapaciteta  $C$  spojenih u seriju, gdje je  $n$  broj namotaja (svaki namotaj doprinosi 2 membrane), spojenih na napon  $U$ , s kojima je paralelno spojen otpornik  $2n$  puta veći od pojedinačnog membranskog otpora. Napon na pojedinom kondenzatoru je  $U/2n$ , a ukupni je kapacitet  $C/2n$ .

Duž "izoliranog" dijela mijeliniziranog aksona akcijski potencijal ne okida zbog toga što se depolarizacija dijeli na  $2n$  malih depolarizacija, nedostatnih za dosezanje praga, a osim toga je gustoća kanala velika samo na Ranvierom čvorovima. To znači da gotovo cijelom dužinom mijeliniziranog aksona ioni putuju kao elektroni u kabelu električnog vodiča. Iako su transmembranski gubici smanjeni višestrukim povećanjem membranskog otpora, ipak se na taj način signal ne može voditi bez obnavljanje duže od nekoliko milimetara. Zato se signal obnavlja na gusto raspoređenim, vrlo kratkim prekidima, gdje je akson bez mijelinske ovojnice. Izgleda kao da signal preskače s jednog čvora na drugi.

Saltatorno vođenje je puno brže najviše zbog toga što nije potrebna kritična količina naboja za okidanje duž izoliranog (gotovo cijelog) aksona. Druga dva razloga su: smanjenje vremenske i povećanje prostorne konstante aksona.

U mijeliniziranom vlaknu brzina širenja živčanog signala raste linearno s povećanjem debljine aksona. Empirička formula je:

$$\text{brzina (m/s)} = 6 \times \text{debljina } (\mu\text{m})$$

Formula vrijedi za  $D > 3 \mu\text{m}$ . Za vrlo tanke aksone ( $D < 1 \mu\text{m}$ ) mijelinizacija ne bi povećala brzinu širenja impulsa, jer se tada jako povećava citoplazmatski otpor struji iona. Zato takva vlakna nisu mijelinizirana.

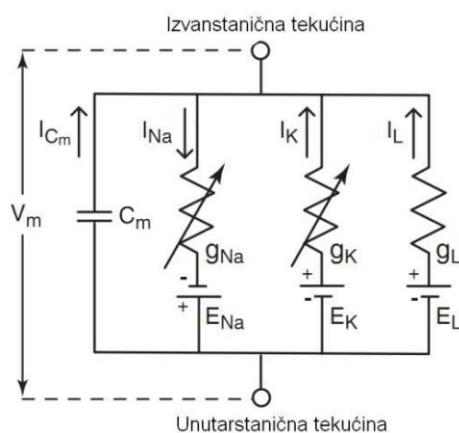
Jedna od kroničnih komplikacija **dijabetesa** je neuropatija. Nastaje zbog hiperosmotski posredovanog oštećenja Schwannovih ovojnica perifernih živaca. U **multiplej sklerozi** oštećene su glia stanice središnjeg živčanog sustava.

## VJEŽBA

### Živčani signal – Hodgkin-Huxleyev model širenja akcijskog potencijala

Hodgkin i Huxley su 1952. godine objavili znanstveni rad koji precizno opisuje valni oblik akcijskog potencijala u ovisnosti o ionskim vodljivostima membranskih kanala živčanih stanica. Njihov doprinos razumijevanju širenja živčanih signala je nagrađen Nobelovom nagradom iz fiziologije i medicine 1964. godine.

Hodgkin-Huxleyev (HH) model se temelji na jednostavnom modelu ekvivalentnog strujnog kruga za dio živčane stanice:



Ukratko, membrana je modelirana pomoću strujnog kruga koji se sastoji od kondenzatora ( $C_m$ ) paralelno spojenog s tri serijska spoja baterije i ionske vodljivosti ( $E$ ,  $g$ ). Baterija je u stvari Nernstov potencijal za pojedini ion, a dinamika ionskih kanala u membrani je određena pomoću njihove vodljivosti ( $g$ ). Kako su doprinosi natrijevih i kalijevih iona u stvaranju živčanog signala najveći, HH model na prethodnoj slici se pojednostavljuje na komponentu ionske struje natrija ( $I_{Na}$ ), kalija ( $I_K$ ), te tzv. struju gubitaka (*leakage* –  $I_L$ ). Na taj način, ukupna struja koja je zbroj kapacitivne struje koja nabija membranski kondenzator, te ionskih struja kroz serijske spojeve, tj.

$$I_m = I_{Cm} + I_{ionska} = C_m \frac{dV_m}{dt} + I_{ionska}$$

pri čemu je  $dV_m/dt$  promjena membranskog potencijala u vremenu.

Genijalnim trikom pritezanja napona (tzv. *voltage clamp*), Hodgkin i Huxley su uspjeli u aksonu lignja (koji je prilično velik i stoga relativno jednostavan za eksperimente), odvojiti ionsku struju od kapacitivne i na taj način odrediti doprinose ionskih struja. U sljedećem

koraku, pomoću naponskog i strujnog pritezanja (*voltage i current clamp*) HH su razdvojili doprinose pojedinačnih iona, te utvrdili da ionske struje natrija i kalija slijede Ohmov zakon ( $I = V/R$ ). Dakle, ionska struja pojedinog kanala je proporcionalna njegovoj vodljivosti (tj. obrnuto proporcionalno otporu) i razlici potencijala za taj ionski kanal:

$$I_{ion}(V_m, t) = g_{ion}(V_m, t)(V_m - E_{ion})$$

Kako je ukupna membranska struja zbroj pojedinačnih ionskih struja (natrij i kalij), te struja gubitaka (leakage), tj.

$$I_{ionska} = I_{Na} + I_K + I_l$$

Dobivamo da je

$$I_m = C_m \frac{dV_m}{dt} + g_{Na}(V_m, t)(V_m - E_{Na}) + g_K(V_m, t)(V_m - E_K) + g_l(V_m - E_l)$$

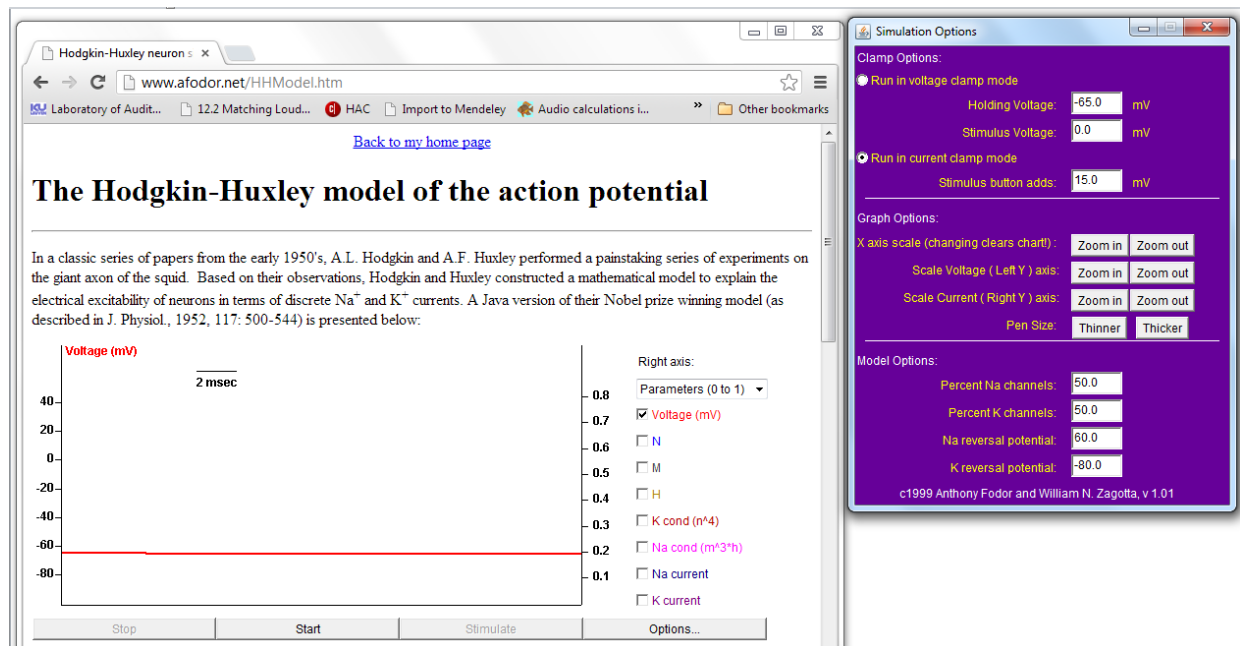
## Pitanja za vježbu: Stvaranje akcijskog potencijala u ovisnosti o vodljivosti ionskih kanala

Program za simulaciju akcijskog potencijala se nalazi na

<http://www.afodor.net/HHModel.htm>

(uključite Java aplikaciju).

Pripremite radnu površinu na računalu kako slijedi:



### **Zadaci:**

- a) Odrediti membranski potencijal mirovanja cijele stanice X koja ima ravnotežni potencijal natrijevih iona u iznosu od  $75 \text{ mV}$ , a kalijevih iona u iznosu od  $-90 \text{ mV}$  („Reversal potential“ u „Model Options“).
- b) Odrediti prag okidanja akcijskog potencijala za gornji slučaj stanice X. Okidanje nastaje kada ulazna (natrijska) struja nadjača izlaznu (kalijsku) struju.
- c) Odrediti refrakcijski period stanice X. Kod apsolutne refraktornosti, radi se o vremenu zatvaranja natrijskih kanala kada vodljivost natrijskih kanala padne u nulu.
- d) Što se desi s akcijskim potencijalom ako za upola smanjimo gustoću natrijevih kanala?
- e) Opišite sličnosti i razlike akcijskog potencijala kada istovremeno:
  - a. dvostruko povećamo gustoću Na kanala, a za upola smanjimo gustoću K kanala.
  - b. Upola smanjimo gustoću Na kanala, a dvostruko povećamo gustoću K kanala.
  - c. Dvostruko povećamo gustoću i Na i K kanala
  - d. Upola smanjimo gustoću i Na i K kanala