

Stanična biologija neurona

Neuron je signalna jedinica živčanog sustava

Svaki morfološki dio neurona ima posebnu signalnu funkciju

Svaki neuron ima četiri temeljna morfološka dijela: somu, dendrite, akson i presinaptički aksonski završetak. Tim morfološkim dijelovima odgovaraju i četiri temeljne signalne funkcije neurona (sl. 6-1), kako slijedi:

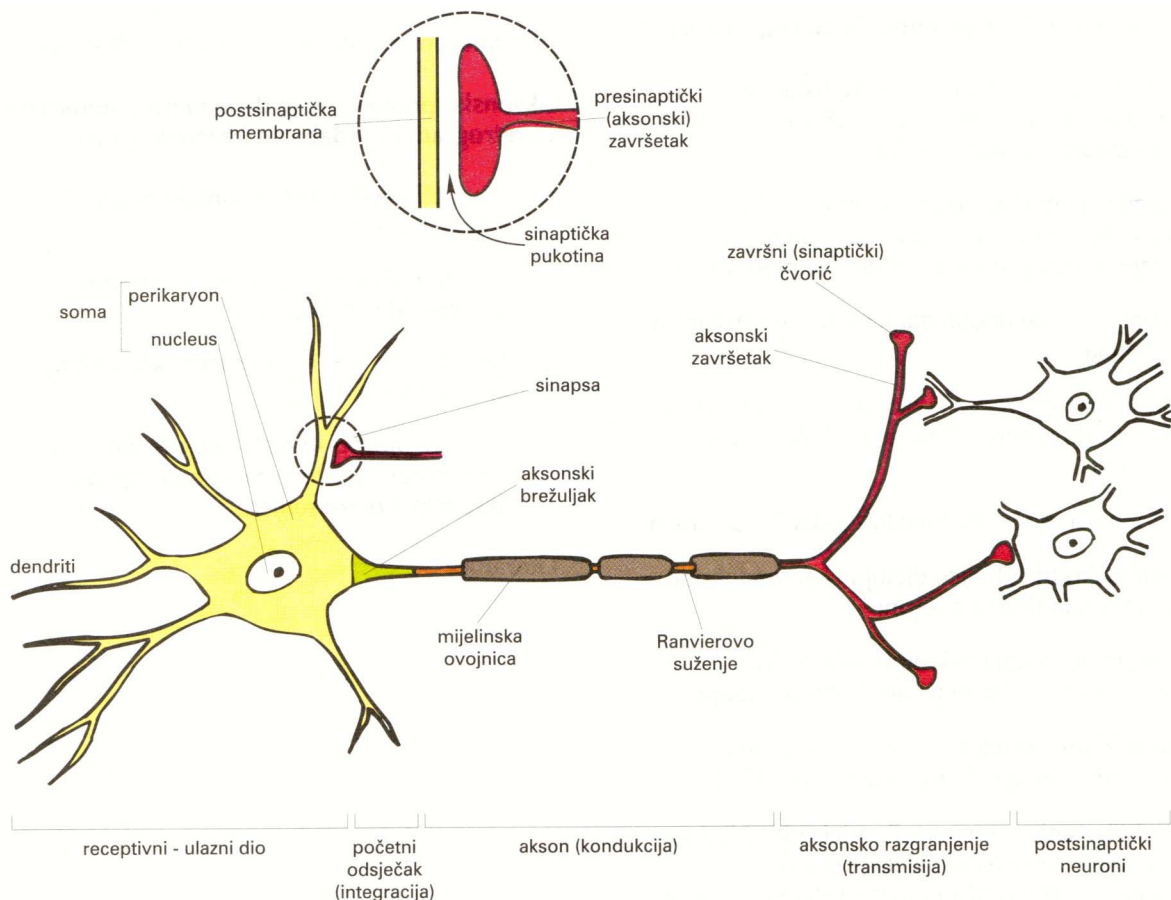
- 1) Dendriti i soma su **prijemni (receptivni)** ili **ulazni** (engl. input) dio neurona i služe prijemu živčanih impulsa i njihovom elektrotoničkom vođenju duž membrane te "prevođenju" (transdukciji) ulaznog signala u unutarstanične biokemijske signale.
- 2) Novi živčani impuls (akcijski potencijal) nastaje u području **aksonskog brežuljka i početnog odsječka** i odatle započinje putovati duž aksona. Kako je riječ o "sve-ili-ništa" pojavi, za to područje često rabimo i slikovit izraz **zona okidanja živčanog impulsa** (engl. trigger zone). Štoviše, novi akcijski potencijal nastaje zbrajanjem (integriranjem) učinaka svih primljenih ekscitacijskih i inhibicijskih signala, pa taj dio neurona

također često označujemo kao **integracijski dio neurona**, tj. **zonu integracije**.

- 3) Funkcija samog aksona je **vođenje (kondukcija) živčanog impulsa**, tj. prenošenje signala od mjesta nastanka do sinapse, tj. mjesta prijenosa na drugu, postsinaptičku stanicu. Stoga je akson **kondukcijski dio** neurona.
- 4) Izlazni dio neurona je presinaptički aksonski završetak, što oblikuje tzv. **presinaptički element** sinapse.

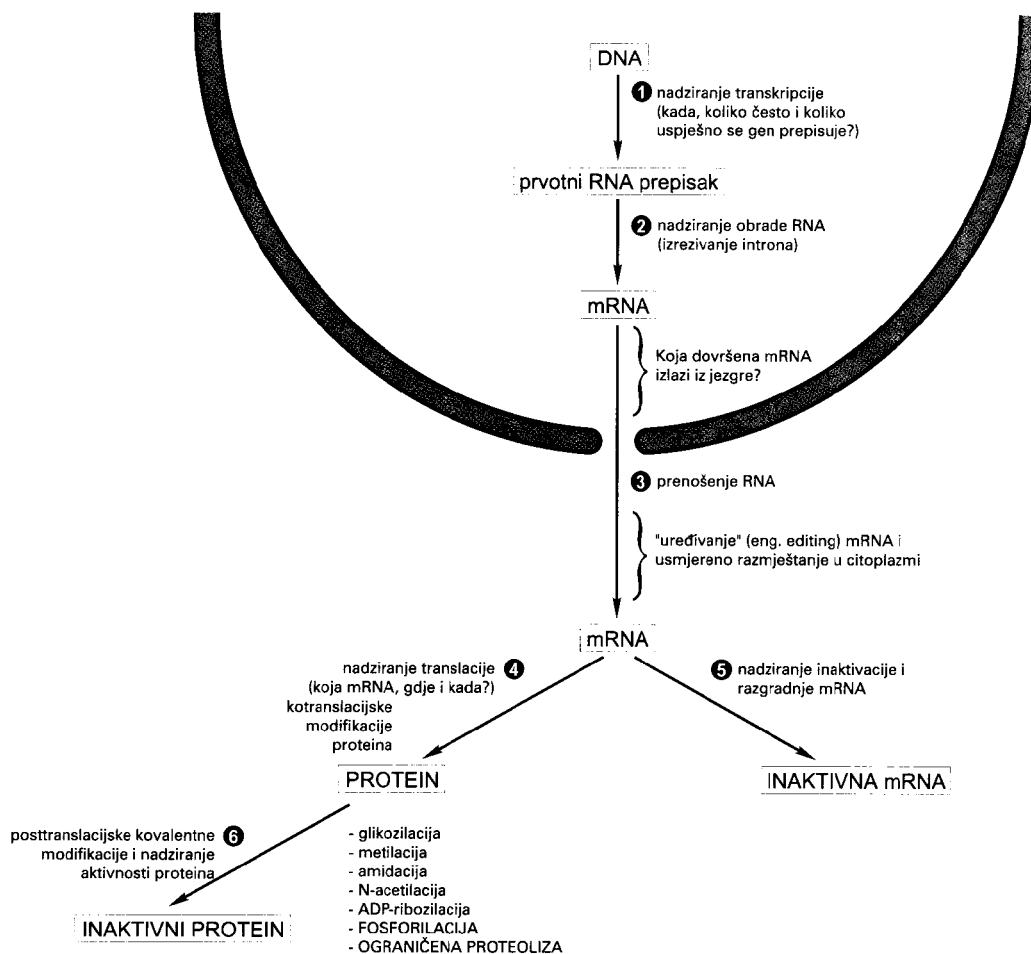
Sinapsa je posebna vrsta strukturno-funkcionalnog ("signalnog") spoja, kroz koji se signal prenosi s jednog (presinaptičkog) neurona na drugu (postsinaptičku) stanicu (drugi neuron, mišićnu ili žljezdanu stanicu). Riječ je o procesu **prijenosa kroz sinapsu (sinaptičkoj transmisiji, neurotransmisiji)**. Proces je kemijske, a ne električne naravi, jer signal od presinaptičkog na postsinaptički element sinapse prenose posebne signalne molekule, **neurotransmiteri**.

Prijenos signala (informacije) od jednog neurona na drugi je **jednosmjernan**, zbog toga što sinapse djeluju poput elektroničkog ispravljača, tj. omogućuju prijenos signala



Slika 6-1. Shema idealiziranog neurona. Svaki neuron ima četiri temeljna strukturno-funkcionalna dijela: receptivni (soma i dendriti), integracijski (aksonski brežuljak i početni odsječak), kondukcijski (akson) i transmisijski (presinaptički aksonski završetak). Sinapsa je specijalizirano mjesto dodira i kemijskog prijenosa signala između dva neurona; taj prijenos signala je jednosmjernan, pa kažemo da je sinapsa funkcionalno asimetrična ili polarizirana. Neurotransmiteri su signalne molekule što omogućuju sinaptičku transmisiju.

TRANSKRIPCIJSKI, TRANSLACIJSKI I POSTTRANSLACIJSKI NADZOR SINTEZE PROTEINA



Slika 6-2. Nadzor nad sintezom proteina može biti transkripcijski, translacijski i posttranslacijski, a odvija se na 5 razina u različitim unutarstaničnim odjeljcima neurona. U 9. i 11. poglavlju potanko ćete upoznati dva posttranslacijska mehanizma (fosforilaciju i ograničenu proteolizu) što imaju ključne uloge u signalnim funkcijama neurona.

samo u jednom smjeru (od presinaptičkog na postsinaptički neuron). Stoga kažemo da je sinapsa **funkcionalno asimetrična ili polarizirana**; to temeljno načelo signalizacije između neurona je nazvano **zakonom dinamičke polarizacije**.

Narav neurona određuju njegovi proteini

Različiti biokemijsko-metabolički procesi odvijaju se u različitim dijelovima neurona, pa je cijeli neuron podijeljen u niz posebnih strukturno-funkcionalnih odjeljaka (engl. compartments).

U navedenim procesima, središnju ulogu imaju proteini zbog toga što (kao enzimi) kataliziraju reakcije unutar odjeljaka, što (kao prenositelji, crpke ili razmjenjivači) odabirno prenose male molekule u oba smjera kroz membrane organela i staničnu membranu, te što omogućuju kretanje organela (ili njihovih proizvoda) duž specifičnih staničnih putova.

Geni sadrže informacije (genetski kod) potrebne za sintezu proteina, a te se informacije u svim stanicama rabe na dva temeljna načina:

1. genetske informacije tijekom stanične diobe prelaze s "roditeljske" stanice na stanice-potomke (naslijeđe) i

2. odabrani dio genetskih informacija se prepisuje u RNA (transkripcija) i prevodi (translacija) u proteine (riječ je o procesu ekspresije gena - sl. 6-2).

Odrasli, zreli neuroni nikad se više ne dijele. Za takve stanice kažemo da su **terminalno diferencirane**, a njihovi kromosomi sudjeluju samo u ekspresiji gena. To je ujedno razlog što kromosomi odraslih neurona nisu kompaktni, nego su "raspleteni", pa je jezgra neurona blijeda, mješurasta i u njoj vidimo tek jednu tamnu točku - jezgricu (*nucleolus*).

Neuroni sintetiziraju više raznolikih proteina nego bilo koje druge stanice (osim možda imunoloških). Neuroni sintetiziraju tri velike skupine proteina:

1. Proteine što se sintetiziraju u citosolu, a u njemu i ostaju. Te **citosolne proteine** dijelimo u dvije skupine: a) vlaknaste elemente što oblikuju **citoskelet** (neurofilamenti, tubulini, aktini i pridruženi im proteini) i čine oko 25% ukupne proteinske mase neurona i b) brojne **enzime**, od kojih su neki karakteristični za specifične vrste neurona - npr. enzim kolin-acetiltransferaza (ChAT) što sintetizira neurotransmiter acetilolin, pa ga imaju samo acetilolinški neuroni.
2. Proteine što se sintetiziraju u citosolu, ali potom prelaze u jezgru, mitohondrije ili peroksisome.

3. Proteine čija je sinteza tijesno vezana uz sustave staničnih membrana. Tri su glavne vrste tih proteina:
- Proteini što ostaju pričvršćeni uz membrane endoplazmine mrežice, Golgijevog kompleksa i mjehurića; ti proteini mogu se protezati kroz cijelu membranu (**transmembranski ili integralni proteini**), mogu biti kovalentnim vezama **usidreni u membranu** s jedne strane ili tek slabim proteinsko-proteinskim ili proteinsko-lipidnim vezama **povezani uz membranu**. Posljednje dvije skupine često se ranije nazivalo **perifernim proteinima**, jer ih se tijekom pokusa moglo mnogo lakše odvojiti od membrane nego transmembranske ("integralne") proteine.
 - Proteini što ostaju u šupljini (lumen) endoplazmine mrežice ili cisterni Golgijevog kompleksa, ali nisu pričvršćeni uz membranu.
 - Proteini što se sintetiziraju u sustavu membrana, ali se potom posebnim mjehurićima prenose do drugih organela ili stanične površine (ti predstavljaju sadržaj sekretnih i sinaptičkih mjehurića).

Dok je mRNA što upravlja sintezom prve dvije skupine proteina (citosolnih proteina i proteina što se prenose u jezgru, mitohondrije i peroksisome) vezana uz **slobodne poliribosome** (polisome), mRNA što upravlja sintezom treće skupine proteina vezana je uz membranu endoplazmine mrežice (to je onda **znata endoplazmina mrežica**).

Kretanje proteina kroz stanicu je usmjereno

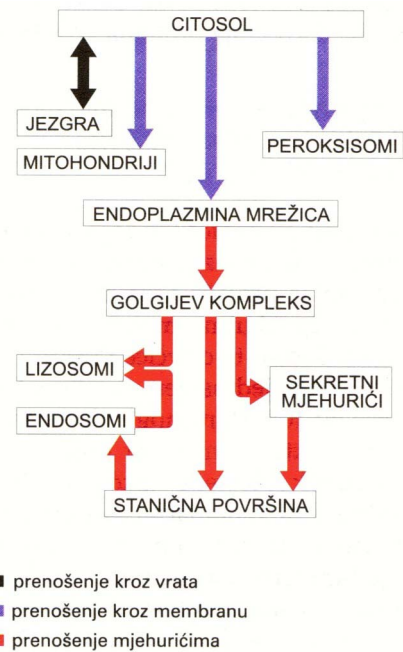
Sinteza svih proteina započinje na ribosomima u citosolu (ako zanemarimo one malobrojne što se sintetiziraju na ribosomima mitohondrija). Njihova daljnja sudbina ovisi o slijedu njihovih aminokiselina, tj. o tome sadrži li taj slijed tzv. **signal razvrstavanja** što usmjerava kretanje proteina iz citosola u neki drugi unutarstanični odjeljak. Većina proteina nema takav signal, pa ostaje u citosolu (citosolni proteini). Oni proteini što imaju specifični signal razvrstavanja, usmjereno se kreću kroz stanicu na tri glavna načina (sl. 6-4):

- Prenošenjem kroz vrata** (engl. gated transport) - to su proteini što ulaze u jezgru kroz jezgrine pore, a te pore djeluju kao odabirna vrata za samo neke makromolekule.
- Prenošenjem kroz membranu** (transmembranski transport) - te proteine posebni "premještači" (engl. protein translocators) prenose iz citosola u šupljinu neke organele (npr. endoplazmine mrežice ili mitohondrija).
- Prenošenjem mjehurićima** (vezikularni transport) - takve proteine posebni **transportni mjehurići** (mjehurići-prenositelji) prenose iz jednog staničnog odjeljka u drugi. Mjehurić svoj "teret" prima dok pupa iz membrane jednog odjeljka, a nakon što se stopi s membranom drugog odjeljka, preneseni teret isprazni u šupljinu tog odjeljka (sl. 6-5).

Usmjereno kretanje proteina kroz stanicu obuhvaća njihovo **ciljano razmještanje** (engl. protein targeting) i njihovo **prometovanje** kroz stanicu (engl. protein trafficking).

Put biosinteze, sekrecije, endocitoze i egzocitoze

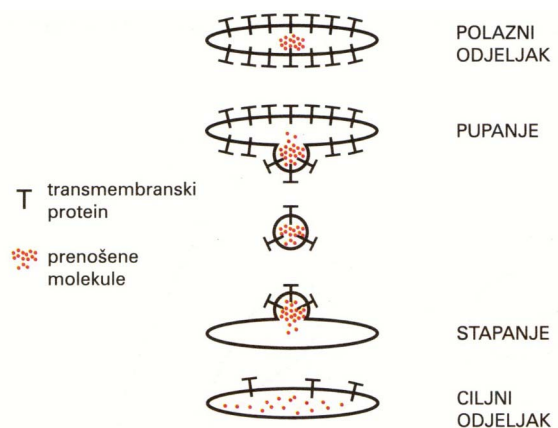
Posebnu ulogu u usmjerenom kretanju proteina i drugih čestica kroz neuron ima složeni sustav razgranatih



Slika 6-4. Proteini se kroz stanicu usmjereno kreću na tri glavna načina: kroz vrata (crno), kroz membranu (plavo) i mjehurićima (crveno).

membranskih cjevčica i mjehurića, sastavljen od sljedećih organela: endoplazmine mrežice (ER), Golgijevog aparata, lizosoma, endosoma, transportnih mjehurića te sekretnih i sinaptičkih mjehurića. Taj sustav neuronu omogućuje usmjereno premještanje novosintetiziranih proteina i ugljikohidrata kroz niz unutarstaničnih odjeljaka, uz istodobno modificiranje tih molekula pravilnim slijedom precizno nadziranih biokemijskih reakcija; potom se te molekule mogu pohraniti u posebna spremišta dok ne urebaju, ili procesom **egzocitoze** izbaciti u okolinu dotičnog neurona. Stoga se kretanje molekula kroz taj složeni sustav membranskih cjevčica i mjehurića opisuje kao **put biosinteze i sekrecije**.

No, neuron također može iz svoje okoline "upiti" određene makromolekule procesom **endocitoze** i potom te makromolekule prenijeti (preko endosoma) u lizosome.



Slika 6-5. Asimetrična usmjerenost transmembranskih proteina čuva se tijekom pupanja, vezikularnog transporta i stapanja s drugom membranom, a prenošene molekule prelaze iz lumena u lumen i tako ostaju u topološki ekvivalentnom prostoru.

Metaboliti što nastaju razgradnjom tih molekula u lizosomima nakon toga prelaze u citosol, pa se mogu iskoristiti u drugim biokemijskim procesima. Tim putem u neuron mogu dospjeti i neki neurotropni virusi i neurotoksini.

Šupljina svakog spomenutog odjeljka topološki je ekvivalentna s izvanstaničnom okolinom neurona. Nadalje, svi ti odjeljci trajno međusobno komuniciraju - izravno spojenim šupljinama ili posredstvom transportnih mjehurića što neprekidno pupaju s membrane jednog odjeljka, putuju kroz citosol i potom se stapaju s membranom drugog odjeljka, u kojeg isprazne svoj sadržaj. Taj promet je precizno ustrojen: put biosinteze i sekrecije vodi od ER preko Golgijevog kompleksa do stanične površine (jedan odvojak puta skreće prema lizosomima), dok put endocitoze vodi od stanične membrane prema unutra, preko endosoma do lizosoma, a od lizosoma natrag do Golgijevog kompleksa ili endoplazmine mrežice (sl. 6-7).

Novosintetizirani proteini iz citosola ulaze kroz membranu u šupljinu endoplazmine mrežice. Daljnje prenošenje, od ER u Golgijev kompleks i odatle prema staničnoj površini ili drugim organelama, obavljaju transportni mjehurići. Taj **temeljni smjer kretanja** (engl. default pathway), od ER preko Golgijevog kompleksa do stanične površine, slijedi svaki protein, osim kad dotični protein sadrži posebni signal razvrstavanja što ga usmjeri u druge ogranke puta: prema lizosomima ili prema sekretnim, tj. sinaptičkim mjehurićima.

Endoplazmina mrežica ima središnju ulogu u biosintezi lipida i proteina i služi kao unutarstanično skladište Ca^{2+}

Endoplazmina mrežica (endoplazmin retikulum - ER) je mrežasti splet razgranatih cjevčica i sploštenih vrećica, što se proteže kroz cijeli citosol i tvori otprilike polovicu ukupne

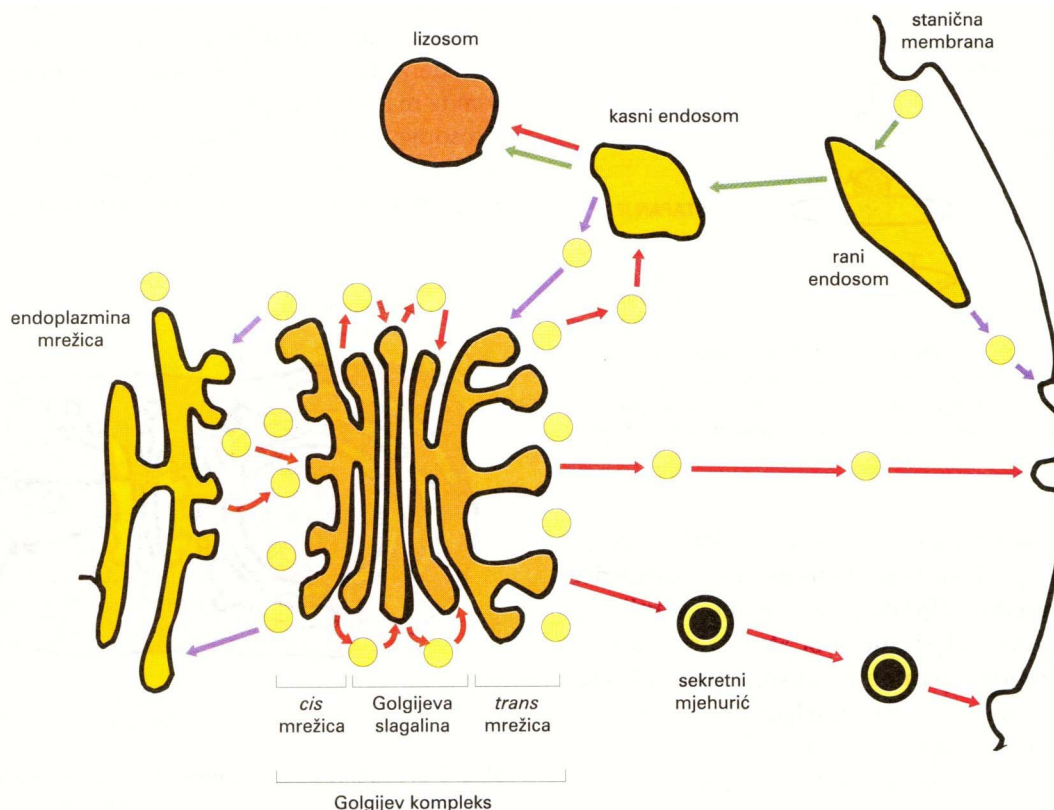
membranske mase prosječne stanice. Sve su te cjevčice i vrećice uzajamno povezane i oblikuju jedinstvenu šupljinu (lumen) što zauzima više od 10% staničnog volumena.

Ponekad se u rubnom (ektoplazminom) pojasu citoplazme vidi poseban oblik sploštene i jako perforirane cisterne (fenestrirana ili retikularna cisterna) smještene oko 60 nm ispod stanične membrane i usporedno s njom - to je **hipolemalna cisterna**, posebno uočljiva u Purkinjeovim stanicama kore malog mozga, ali je vjerojatno imaju sve vrste neurona. Uz staničnu membranu mogu se opaziti i manje sploštene, tzv. **potpovršinske cisterne** (engl. subsurface cisternae), što su poseban oblik hipolemalnih cisterni. Kad se takva cisterna nađe ispod sinaptičke membrane, riječ je o **subsintaptičkoj cisterni**.

ER ima središnju ulogu u biosintezi lipida i proteina.

Membrana ER je sjedište sinteze svih transmembranskih proteina i većine lipida za membrane ostalih organela i za samu staničnu membranu. Pored toga, svi proteini, što naposljetku procesom egzocitoze napuštaju stanicu (ili pak dopijevaju u lumen Golgijevog kompleksa ili lizosoma), isprva ulaze u šupljinu endoplazmine mrežice. ER također služi kao unutarstanično skladište Ca^{2+} . U mnogim stanicama, a posebice u neuronima, takva su skladišta specijalizirani dijelovi ER - **kalciosomi**.

Unošenje proteina u ER započinje prije završetka sinteze polipeptidnog lanca (to je tzv. **ko-translacijski proces**; naime, unošenje proteina u jezgru, mitohondrije i peroksisome započinje tek nakon završetka sinteze, tj. translacije polipeptidnog lanca, a tada je riječ o **posttranslacijskom procesu**). Zbog toga se protein ne otpušta u citosol, nego ga posebni "premjestač" unosi u šupljinu ER. To također znači da i ribosom na kojem se dotični protein sintetizira ostaje pričvršćen uz membranu ER, pa je stoga taj dio ER označen kao **zrnata ili**



Slika 6-7. Put biosinteze, sekrecije i endocitoze. Za pojedinosti vidi tekst. Nacrtno, uz izmjene, prema Alberts i sur. (1994).

"hrapava" endoplazmina mrežica. Glatka

endoplazmina mrežica je onaj dio ER uz koji nisu pričvršćeni ribosomi. Dakle, u citosolu su dvije zasebne populacije ribosoma - slobodni ribosomi i ribosomi vezani uz membranu. Zapravo, uz jednu molekulu mRNA vežu se brojni ribosomi, pa je bolje govoriti o slobodnim i vezanim poliribosomima.

U šupljini ER se nastavlja intenzivna **posttranslacijska obrada proteina**; tu se proteini počinju savijati u odgovarajuću konformaciju, nastaju oligomeri i disulfidne veze i započinje **glikozilacija**, tj. dodavanje **N-vezanih oligosaharida** na protein. Kovalentno dodavanje šećera na proteine jedna je od glavnih biosintetskih funkcija ER (za razliku od toga, tek malobrojni citosolni proteini su glikozilirani). Pritom se unaprijed oblikovani oligosaharid (sastavljen od *N*-acetilglukozamina, manoze i glukoze) prenosi kao cjelina na protein i to na NH₂ skupinu pobočnog lanca asparagina. Stoga kažemo da je taj oligosaharid **N-vezan** (engl. N-linked ili asparagine-linked). Takav oligosaharid inače je uz membranu ER vezan posebnom lipidnom molekulom, **doliholom**, a na protein ga u jednom enzimskom koraku prenosi **oligosaharil transferaza**, enzim što je također vezan uz membranu ER. Sva raznolikost N-vezanih oligosaharidnih struktura na zrelih glikoproteinima posljedica je kasnijih prilagodbi ove izvorne strukture-preteče. Još dok su glikoproteini unutar ER, s većine njih se brzo odstranjuju tri glukoza i jedan manozni ostatak. To "sjeckanje" glikoproteina nastavlja se u Golgijevom aparatu. Glikoproteini najčešće sadrže N-vezane oligosaharide. No, ponekad se oligosaharidi vežu za hidroksilnu skupinu bočnog lanca serina, treonina ili hidroksilizina. Ti se procesi odvijaju u Golgijevom aparatu, i tada je riječ o **O-vezanim oligosaharidima**.

Još jedan proces, važan za način na koji se proteini napokon mogu usidriti u staničnu membranu, odvija se unutar zrnate ER. Naime, u lumenu ER određeni enzimi karboksilni kraj nekih membranskih proteina kovalentno vezuju uz šećerni ostatak glikolipida, pa time protein dobiva tzv.

glikozilfosfatidilinozitolno (GPI) sidro što sadrži dvije masne kiseline. Istodobno se otcijepi transmembranski odsječak proteina. Takvi proteini na kraju budu pričvršćeni uz vanjsku stranu stanične membrane jedino preko navedenog GPI-sidra, a često imaju važnu ulogu u staničnom prepoznavanju tijekom razvoja središnjeg živčanog sustava.

Nadalje, način na koji se novosintetizirani protein ugrađuje u membranu ER određuje orijentaciju tog proteina i u svim drugim membranama; naime, ta orijentacija ostaje očuvana kroz sva pupanja i stapanja prijenosnih mjehurića na putu prenošenog proteina do konačnog cilja (sl. 6-5). Drugim riječima, asimetrija rasporeda i usmjerenosti proteina u staničnim membranama izravna je posljedica načina njihove obrade u endoplazminoj mrežici. Sličnim su mehanizmom određeni asimetrični razmještaj i usmjerenost fosfolipida u staničnoj membrani.

Golgijev kompleks je glavno mjesto sinteze ugljikohidrata te razvrstavanja i daljnjeg usmjerenja proizvoda endoplazmine mrežice

Golgijev kompleks je glavno mjesto sinteze ugljikohidrata i mjesto u kojem se proizvodi ER razvrstavaju te dalje otpremaju prema specifičnim organelama i područjima stanice. Sastoji se od sklopa širokih i sploštenih cisterni oko

kojih je "roj" malih mjehurića. Taj sklop obično je smješten u središnjem dijelu perikariona (blizu središta stanice, tj. **centrosoma**), negdje na pola puta između jezgrine i stanične membrane. Riječ je o jedinstvenoj organeli složene građe, što poput šupljikavog kaveza sa svih strana okružuje jezgru. Na tankim elektronsko-mikroskopskim rezovima kroz stanicu, cisterne Golgijevog kompleksa obično su naizgled razdvojene u zasebne nizove zakrivljenih cisterni poredanih jedna iznad druge - svaki takav zasebni sklop cisterni je **Golgijeva slagalina** (engl. Golgi stack), a ima ulaznu, tj. oblikujuću (*cis*) stranu (okrenutu prema jezgri) i izlaznu, tj. zoričnu (*trans*) stranu (okrenutu prema staničnoj membrani). Svaka je strana povezana sa zasebnom mrežom cjevčica i cisterni: ***cis*-Golgijevom mrežicom** (*cis* Golgi network - CGN) i ***trans*-Golgijevom mrežicom** (*trans* Golgi network - TGN). Cisterne na *cis* strani su mnogo jače prošupljene (fenestrirane), pa ih stoga neki nazivaju "prošupljenim pločama" (engl. porous plates). Zapravo, pločama su nalik jedino cisterne u sredini kompleksa, jer su vrlo sploštene i samo su im rubovi trbušasto prošireni. Cijeli kompleks je okružen rojem mjehurića, a tu su i drugi tubularni i nepravilno raspoređeni elementi glatke endoplazmine mrežice; stoga neki istraživači cijelo to područje opisuju kao **GERL sustav** (od engl. Golgi apparatus, smooth Endoplasmic Reticulum, and Lysosomes).

Transportni mjehurići proteine i lipide iz ER unose u Golgijev kompleks kroz *cis*-Golgijevu mrežicu. Potom te molekule prelaze u srednji odjeljak Golgijevog kompleksa, a iz njega izlaze (opet kao pupajući *trans*-portni mjehurići) kroz *trans*-Golgijevu mrežicu. Obje mrežice imaju važnu ulogu u razvrstavanju proteina: proteini što ulaze u CGN ili se dalje kreću kroz Golgijev aparat ili se vraćaju u ER; proteini što izlaze kroz TGN razvrstavaju se prema svojem odredištu: za lizosome, za sekretne i sinaptičke mjehuriće ili za staničnu površinu (sl. 6-7).

U Golgijevom kompleksu nastavlja se obrada glikoproteina, a konačna posljedica te obrade je činjenica da na glikoproteinima možemo naći dvije velike skupine N-vezanih oligosaharida:

a) **Kompleksne oligosaharide**, što sadrže više od dvije početne molekule *N*-acetilglukozamina (dobivene u ER) te raznolik broj ostataka galaktoze i sijalinske kiseline (a ponekad i fukoze). Posebno je važna **sijalinska kiselina**, jer je to jedini šećer glikoproteina što nosi neto negativni električni naboj.

b) **Oligosaharide s visokim sadržajem manoze**, što sadrže tek dvije izvorne molekule *N*-acetilglukozamina i brojne ostatke manoze.

No, tu se odvijaju i druge modifikacije proteina - npr. O-vezana glikozilacija, a najjače se glikoziliraju **proteini što čine okosnicu proteoglikana** (engl. proteoglycan core proteins), što se tako pretvaraju u **proteoglikane** (važnu komponentu **izvanstaničnog matriksa**, uključenu u stanično prepoznavanje i srodne procese).

Lizosomi služe unutarstaničnom "probavljanju" molekula

Jedan dio proteina iz Golgijevog kompleksa transportni mjehurići prenose do lizosoma. **Lizosomi** služe unutarstaničnom "probavljanju" makromolekula i sadrže oko 40 vrsta hidrolitičkih enzima (npr. proteaze, nukleaze, glikozidaze, lipaze, fosfolipaze, fosfataze, sulfataze) iz skupine **kiselih hidrolaza** (sl. 6-9). Nutrina lizosoma je

kisela (pH oko 5), a to je preduvjet za optimalnu aktivnost kiselih hidrolaza. To omogućuje H⁺ crpka smještena u membrani lizosoma, što energiju dobivenu hidrolizom ATP troši da bi H⁺ prebacivala iz citosola u lizosom. Valja naglasiti da su lizosomi vrlo heterogena skupina organela, raznolikih oblika, veličina i enzimskog sastava. Makromolekule do lizosoma dospijevaju (osim iz Golgijevog kompleksa) na tri načina: a) preko autofagosoma (npr. u jetrenim stanicama), b) preko fagosoma (npr. u makrofagima) i c) preko endosoma. Kako je naša pozornost usmjerena na živčane stanice, zanimaju nas prije svega endosomi, preko kojih se do lizosoma prenose makromolekule iz izvanstaničnog prostora, upijene procesom **endocitoze**.

Endocitoza je proces kojim stanica iz okoline u svoju nutritivnu unosi makromolekule i druge čestice

Endocitoza je proces kojim stanica iz izvanstaničnog prostora u svoju nutritivnu unosi makromolekule, čestice ili čak cijele druge stanice. Te čestice obuhvati djelić stanične membrane, što se udubi (invaginira) i zatim odvoji kao posebni mjehurić, u kojem je smještena unesena čestica. S obzirom na veličinu tako nastalih mjehurića, razlikujemo dvije glavne vrste endocitoze:

- a) **Pinocitozu** ("stanično pijenje"), kojom se unose tekućina i otopljene tvari posredstvom manjih mjehurića (promjera do 150 nm) i
- b) **Fagocitozu** ("stanično jedenje"), kojom se unose velike čestice (mikroorganizmi, stanični debris) posredstvom krupnih fagosoma (promjera općenito većeg od 250 nm).

Neuroni, naravno, rabe samo pinocitozu. Pinocitotski (endocitotski) mjehurići nastaju od **obloženih jamica** na staničnoj membrani. Te su jamice obložene molekulama **klatrina**, pa je točniji naziv za njih **jamice obložene klatrinom**. Od njih onda nastaju **mjehurići obloženi klatrinom**, što odmah potom odbace klatrinski ogrtač i stapaju se s novom vrstom mjehurića - **ranim endosomima**. Tijekom invaginacije obloženih jamica, u nastajući mjehurić dospijeva dio izvanstanične tekućine zajedno s otopljenim tvarima. Stoga je riječ o procesu **endocitoze tekuće faze**, tj. **pinocitoze**.

Međutim, za neurone je još važnija **endocitoza posredstvom receptora**, kojom se u stanicu unose specifične makromolekule iz izvanstanične tekućine (sl. 6-10). Te se makromolekule vežu za specifične receptore (transmembranske proteine) smještene u području obloženih jamica, a potom u stanicu ulaze kao **kompleksi receptor-makromolekula**, smješteni u klatrinom obloženim mjehurićima. Takva je endocitoza i do 1000 puta učinkovitija od obične endocitoze tekuće faze (tj. pinocitoze). Tako unesene makromolekule također se prenose prvo u rane endosome, potom u tzv. **kasne endosome** i napokon do lizosoma, gdje se razgrađuju. Kao što je *trans*-Golgijeva mrežica glavno mjesto razvrstavanja različitih proteina u putu biosinteze i sekrecije, tako rani endosomi služe razvrstavanju različitih proteina u putu endocitoze. Dio molekula odlazi do lizosoma, ali dio tako unesenih molekula ostaje vezan uz svoje receptore i onda dijeli njihovu sudbinu na jedan od tri načina (sl. 6-11):

- a) Većina se receptora vraća u isto područje stanične membrane iz kojeg su u rane endosome i dospjeli (proces nazivamo **recikliranje**). Tako se primjerice u

fetalne neurone unosi transferin (protein što u krvi prenosi ione željeza). Receptori na površini fetalnog neurona vežu transferin, što potom dospijeva u endosom; kako je pH u endosomu nizak, ioni željeza se odvoje od transferina, a oslobođeni transferin (apotransferin) ostaje vezan za svoj receptor i potom se vraća natrag u staničnu membranu kao receptor-apotransferinski kompleks. U neutralnom pH izvanstanične tekućine, apotransferin se odvoji od receptora što ostaje u membrani, spreman da veže novu molekulu transferina, a neuron tim procesom dobiva ione željeza potrebne za rast i razvoj.

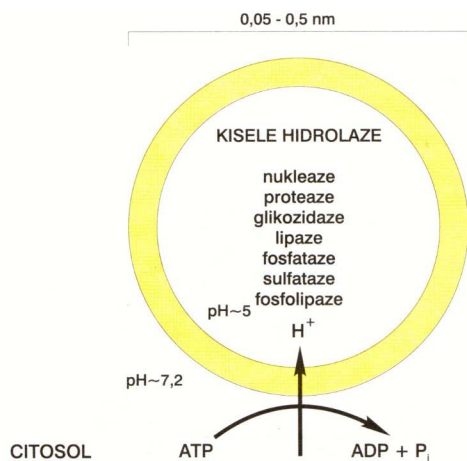
- b) Neki receptori odlaze do lizosoma i tamo se razgrađuju. Primjerice, epidermalni činitelj rasta (epidermal growth factor - EGF) mali je protein što potiče diobu stanica epidermisa, ali i nekih fetalnih neurona. Receptori za EGF se nakupljaju u obloženim jamicama tek nakon što na sebe vežu molekule EGF. Taj EGF onda preko endosoma prelazi u lizosome i tamo se razgrađuje. Očigledno, vezanje EGF tako smanjuje koncentraciju EGF receptora na staničnoj površini - riječ je o procesu **"prigušivanja receptora"** (engl. receptor down-regulation). Drugim riječima, koncentracija signalne molekule u izvanstaničnoj tekućini djeluje kao signal za regulaciju broja odgovarajućih receptora na staničnoj površini; takvi su procesi osobito značajni tijekom razvoja mozga i drugih tkiva.
- c) Neki receptori odlaze do novog područja stanične membrane i tamo posreduju u procesu **transcitoze**. Endocitozom posredstvom receptora u središnji živčani sustav mogu prodrijeti i neki neurotropni virusi i neurotoksini.

Egzocitoza može biti konstitucijska ili nadzirana

Transportni mjehurići, čije je odredište stanična membrana, trajno pupaju iz *trans*-Golgijeve mrežice i putuju prema staničnoj membrani. Membranski proteini i lipidi tih mjehurića služe obnavljanju same stanične membrane, dok se topljivi proteini iz njih izlučuju u okolinu stanice procesom **egzocitoze**. Tako, primjerice, stanice proizvode i izlučuju većinu proteoglikana i glikoproteina što izgrađuju izvanstanični matriks. Kako se taj proces odvija sporo, ali neprekidno, a rabe ga sve stanice, riječ je o **konstitucijskom sekrecijskom putu** i procesu **konstitucijske egzocitoze**. Međutim, specijalizirane stanice, kao što su neuroni (ili npr. endokrine stanice), rabe i dodatni mehanizam egzocitoze - riječ je o **nadziranom sekrecijskom putu** i procesu **nadzirane egzocitoze**. Naime, u tom slučaju, proteini i druge molekule prvo se pohranjuju u **sekretinim i sinaptičkim mjehurićima**, a iz njih se egzocitozom otpuštaju tek nakon djelovanja specifičnog signala (sl. 6-12).

Neurosekretne stanice djeluju i kao endokrine stanice i kao tipični neuroni

Neke stanice su specijalizirane za sekreciju posebnih signalnih molekula, što ih koncentriraju i pohranjuju u **sekretinim mjehurićima**. Te mjehuriće često nazivamo **sekretinim zrcima** ili **velikim mjehurićima guste srži** (engl. large dense core vesicles, LDVs) zbog njihova elektronsko-mikroskopskog izgleda. Sekretini mjehurići nastaju pupanjem klatrinom obloženih dijelova membrane



Slika 6-9. Unutrašnjost lizosoma je kisela (pH oko 5) zbog djelovanja H^+ -ATPaze u membrani lizosoma; lizosomi sadrže enzime iz skupine kiselih hidrolaza.

trans-Golgijsve mrežice, a svoj sadržaj egzocitozom isprazne u izvanstanični prostor u odgovoru na specifični izvanstanični signal. Proizvod sekrecije može biti mala molekula (npr. histamin) ili protein (npr. hormon ili probavni enzim).

Važno je naglasiti da takve proteine i mjehuriće ne sadržavaju samo endokrine i slične specijalizirane stanice, nego i neuroni središnjeg živčanog sustava. Na primjer, neki neuroni hipotalamusa na taj način stvaraju i izlučuju oksitocin i vazopresin (= antidiuretski hormon, ADH). Ako se oksitocin i vazopresin izluče u krvotok stražnjeg režnja hipofize, krvotokom dopijevaju do ciljnih organa (npr. bubreg, maternica) - dakle, djeluju poput tipičnih hormona. No, ako se oksitocin i vazopresin otpuste iz aksonskih završetaka hipotalamičnih neurona unutar središnjeg živčanog sustava, djeluju kao tipične sinaptičke signalne molekule, tj. peptidni neurotransmiteri.

Prema tome, ista stanica djeluje i kao endokrina stanica i kao tipični neuron, a iste molekule mogu djelovati i kao hormoni i kao neurotransmiteri. Ta pojava je **neurosekrecija**, takvi neuroni su **neurosekretne stanice**, a mjehurići su **neurosekretna zrnca ili mjehurići**.

Nakon što nezreli sekretni mjehurići ispupaju iz *trans*-Golgijsve mrežice, oni odbace klatriński ogrtač, a njihov sadržaj se jako zgušnjava i postaje i do 200 puta koncentriraniji nego što je bio u šupljini *trans*-Golgijsve mrežice. Ta se kondenzacija odvija naglo, vjerojatno uslijed zakiseljavanja nutrine mjehurića uzrokovanog ubacivanjem H^+ (to izvodi posebna H^+ -ATPaza smještena u membrani mjehurića). Funkcionalno značenje tog procesa je u tome što tijekom nadzirane egzocitoze takav mjehurić može odjednom otpustiti veliku količinu odgovarajuće tvari.

Tijekom putovanja sekretnih mjehurića, prenošeni proteini se proteolitički obrađuju

Daljnja značajna pojava u mjehurićima tijekom njihovog putovanja do odredišta i "iščekivanja" egzocitoze jest **opsežna proteolitička obrada prenošenih proteina**. Naime, većina polipeptidnih hormona i neuropeptida, te brojni hidrolitički enzimi, sintetiziraju se prvo kao **neaktivni proteini preteče** (prekursori) iz kojih se aktivne molekule naknadno "izrezuju" procesom proteolize. Drugim riječima, naknadno dolazi do cijepanja velikog

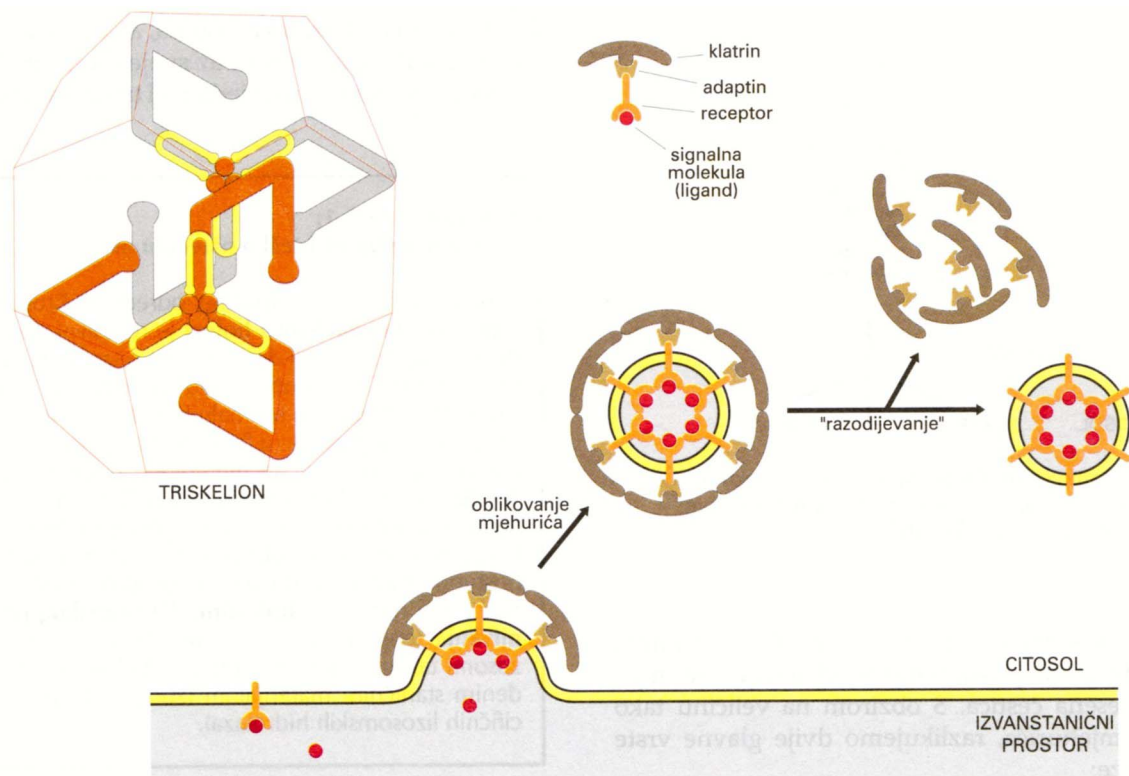
neaktivnog proteina u više manjih ali biološki aktivnih peptida. Smatra se da to cijepanje započinje u *trans*-Golgijsvoj mrežici, a nastavlja se u sekretnim mjehurićima (a ponekad čak i u izvanstaničnoj tekućini nakon egzocitoze). Na primjer, sekretni polipeptidi često na amino-kraju imaju tzv. **pro-odsječak** što se odcijepi malo prije egzocitoze, pa tako nastane zreli protein. Drugim riječima, takvi proteini sintetiziraju se kao **pre-pro-proteini**, što znači da je **pre-odsječak** otcijepljen još ranije, u zrnatoj endoplazminoj mrežici.

Druga je mogućnost da prvo nastanu poliproteini što sadrže višestruke preslike istog aminokiselinskog slijeda, što se onda razdvajaju kasnijim proteolitičkim cijepanjem. U još složenijem slučaju, raznoliki peptidi što djeluju kao signalne molekule sintetiziraju se kao dijelovi jednog poliproteina-preteče za raznovrsne završne peptide, što se pojedinačno otcjepljuju od izvornog polipeptidnog lanca (sl. 6-13). Tako nastaju brojni neurosekrecijski peptidi u neuronima hipotalamusa, kao i važna skupina peptidnih neurotransmitera, **endogeni opioidni peptidi** (endorfini i encefalini). Tijekom tog procesa isti poliprotein može biti proteolitički cijepan na različite načine, pri čemu (ovisno o načinu cijepanja i vrsti stanica) iz istog preteče nastaju različite kombinacije aktivnih molekula.

Kretanje mjehurića kroz neuron je dvosmjerno, a sekretni i sinaptički mjehurići su različiti

Sekretni mjehurići i sekretni proteini nastaju isključivo u perikarionu neurona (gdje su smješteni ribosomi, ER i Golgijev kompleks), a potom putuju do mjesta oslobađanja i tamo se "usidre i čekaju" - čekaju da se pojavi specifični izvanstanični signal što pokreće proces egzocitoze. Nakon toga, ispražnjeni mjehurići putuju natrag do perikariona, gdje se iznova pune i obnavljaju, a potom opet putuju prema konačnom odredištu. U neuronu, njihovo tipično odredište je presinaptički aksonski završetak, što ga s "tvornicom" u perikarionu povezuje samo akson (ponekad dulji od 1 m!); stoga je putovanje sekretnih mjehurića i dugotrajno i složeno. Opisano dvosmjerno kretanje sekretnih mjehurića u neuronu odvija se posebnim procesom **aksonskog prenošenja** (aksonskog transporta). Po tome se ujedno sekretni mjehurići bitno razlikuju od **sinaptičkih mjehurića**, u kojima su pohranjene molekule tzv. "malih" neurotransmitera (npr. acetilkolin, monoamini, GABA, glutamat). Doduše, sinaptički mjehurići isprva također nastaju u perikarionu i potom putuju do sinaptičkog završetka; no, sinteza malih transmitterskih molekula i kružni ciklus egzocitoze, obnavljanja i ponovnog punjenja sinaptičkih mjehurića uspješno se odvijaju i **lokalno, u samom presinaptičkom aksonskom završetku**.

Prethodnim opisom još jednom smo naglasili da je **neuron izrazito polarizirana stanica**. Stanična membrana njegovih aksonskih završetaka specijalizirana je za prijenos signala na druge stanice, dok je stanična membrana njegovih dendrita i some specijalizirana za primanje signala od drugih živčanih stanica. Obje membrane su ne samo različite po funkciji, nego i po sastavu svojih proteina. Upoznavanjem procesa usmjerenog prenošenja proteina i transportnih mjehurića u neuronu također uviđamo da je stanična membrana dendrita i some neurona zapravo ekvivalentna bazolateralnoj membrani isto tako polariziranih epitelnih stanica, dok je presinaptička membrana neurona ekvivalentna apikalnoj membrani epitelnih stanica. To i nije osobito neobično (iako



Slika 6-10. Jamice i mjehurići ogrnuti klatrinom sudjeluju u procesu endocitoze posredstvom receptora. Za pojedinosti vidi tekst. Nacrtno, uz izmjene, prema Alberts i sur. (1994).

je tek nedavno spoznato) s obzirom na zajedničko (ektodermalno) podrijetlo neurona i epitelnih stanica.

Za oblikovanje transportnih mjehurića bitni su stvaranje i odbacivanje klatrinskog ili koatomernog ogrtača i uloga proteina što vežu GTP

Narav staničnog odjeljka pretežito je uvjetovana proteinima njegove membrane, što omogućuju usmjereno kretanje mjehurića i njihovo stapanje samo s odgovarajućim drugim odjeljcima, pa tako određuju obrazac usmjerenog kretanja kroz stanicu.

Bitan korak u oblikovanju transportnog mjehurića je stvaranje posebnog **obloga, omotača ili ogrtača** na citosolnoj strani pupajuće membrane. Naime, većina transportnih mjehurića nastaje pupanjem iz posebnih, **obloženih područja** membrane, pa su onda i ti mjehurići isprva **obloženi ili ogrnuti**. No, prije stapanja s ciljnom membranom, mjehurić taj ogrtač mora odbaciti, tako da dvije membrane mogu stupiti u izravni dodir (sl. 6-10). Stoga je važno znati kako taj ogrtač nastaje i od čega je sastavljen.

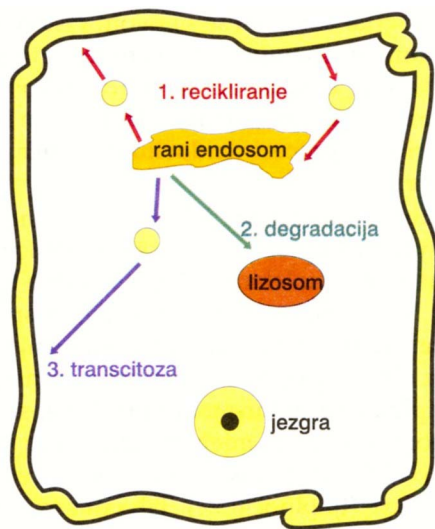
Prema vrsti ogrtača, razlikujemo dvije vrste ogrnutih mjehurića: a) **mjehuriće ogrnute klatrinom**, što su uključeni u odabirno prenošenje transmembranskih receptora (iz *trans*-Golgijske mrežice ili iz stanične membrane) i b) **mjehuriće ogrnute koatomerima**, što posreduju neselektivno prenošenje između ER i Golgijskog kompleksa. Koatomer je veliki proteinski kompleks sastavljen od sedam podjedinica.

Glavni sastojak klatrinskog ogrtača je sam **klatrin**. To je proteinski kompleks sastavljen od tri velika i tri mala polipeptidna lanca, što zajedno oblikuju trokaku "košaricu" ili **triskelion**. Niz takvih triskeliona se udružuje u košarastu mrežu peterokutnih ili šesterokutnih okana, što poput

ogrtača prekrije jamice ili mjehuriće (sl. 6-10). Stvaranje klatrinskih ogrtača oko mjehurića ima dvije funkcije: pruža mehaničku silu potrebnu da se membrana "izvuče" u pupoljak i potom otrgne kao mjehurić te pomaže da se endocitozom upijeni kompleks receptor-ligand zadrži u izdvojenom odjeljku. U obje funkcije uključen je i drugi glavni protein ogrtača - **adaptin**. Adaptin klatrinski ogrtač poveže s membranom mjehurića, a ujedno i privremeno imobilizira receptor-ligandni kompleks (sl. 6-10). Mjehurići se ogrtača oslobode uz utrošak energije, a to obavlja posebna "**razodijevajuća**" **ATPaza** (engl. uncoating ATPaza). Prenosanje mjehurićima pod nadzorom je posebne skupine **proteina što vežu GTP**, a te proteine dijelimo u dvije skupine:

- monomerni GTP-aze**, sastavljene od jednog polipeptidnog lanca i
- trimerne G-proteine**, sastavljene od tri različite podjedinice.

Ti proteini reguliraju niz staničnih procesa, a naizmjenično prolaze kroz dva stanja: aktivno (u kojem na sebe vežu GTP) i neaktivno (u kojem vežu GDP). Stoga G proteini i monomerni GTPaze djeluju u ciklusima što tipično ovise o dvije pomoćne komponente: a) **proteinu što oslobađa gvanin-nukleotid** (guanine-nucleotide-releasing protein - **GNRP**), tj. katalizira izmjenu GDP za GTP i b) **proteinu što aktivira GTPazu** (GTPase-activating protein - **GAP**) što započinje hidrolizu vezanog GTP. Mnogi G proteini imaju kovalentno pridodanu lipidnu skupinu kojom se usidre uz membrane, pa su tako uključeni u niz raznolikih biokemijskih procesa vezanih uz membrane.



Slika 6-11. Tri sudbine transmembranskih receptora unesenih u stanicu endocitozom. Nacrtno, uz izmjene, prema Alberts i sur. (1994).

"Fuzijski stroj" čine četiri skupine proteina (SNARE, Rab, NSF i SNAP) što sudjeluju u odabirnom sidrenju mjehurića i stapanju membrana

Dvije skupine proteina, SNARE i Rab, imaju ključnu ulogu u odabirnom sidrenju mjehurića i u međusobnom odabirnom prepoznavanju dvaju membrana što se trebaju stopiti (fuzionirati). **SNARE proteini** postoje kao dva komplementarna skupa: v-SNARE proteini su na membrani mjehurića (v je oznaka za vesiculae), a t-SNARE proteini su na ciljnoj membrani (t je oznaka za target membrane). Ti SNARE proteini upravo su najbolje proučeni u živčanim stanicama, gdje posreduju sidrenje sinaptičkih mjehurića uz presinaptičku membranu aksonskih završetaka (sl. 6-15). Interakcija v-SNARE i t-SNARE omogućuje mjehuriću usidrenje, ali dvije membrane time još nisu dovoljno približene, pa još ne dolazi do njihovog stapanja (fuzije). Za to su potrebni dodatni proteini, **NSF i SNAP**, pa onda cijeli taj proteinski sklop slikovito nazivamo "**fuzijski stroj**" (sl. 6-15).

Citoskelet neurona je dinamična struktura s nizom bitnih funkcija

Citoskelet (*cytoskeleton*) je složena mreža proteinskih filamenata, što se proteže kroz cijelu citoplazmu. Nasuprot svom "statičnom" imenu, to je zapravo vrlo dinamična struktura što se trajno preustrojava dok stanica mijenja svoj oblik, dijeli se ili odgovara na različite signale iz okoline. Neki stoga citoskelet slikovito nazivaju "citomuskulaturom", jer je on izravno uključen u kretanje stanica po nekoj podlozi (npr. migraciju fetalnih neurona moždane kore duž radijalnog glijalnog vodiča), u mišićnu kontrakciju, u razvoj polarosti tj. konačnog oblika neurona, te usmjereno kretanje organela iz jednog dijela stanice u drugi. Ovo posljednje nas i najviše zanima, jer citoskelet nadzire prostorni razmještaj proteina, proteinskih kompleksa i organela u stanici, a također izgrađuje "ceste" duž kojih organele putuju ili komuniciraju. Te su "ceste" zapravo vrlo dugi proteinski filamenti, što nastaju polimerizacijom tisuća identičnih molekula. Citoskelet je sastavljen od tri skupine

proteinskih filamenata, izgrađenih od različitih proteinskih podjedinica (sl. 6-16):

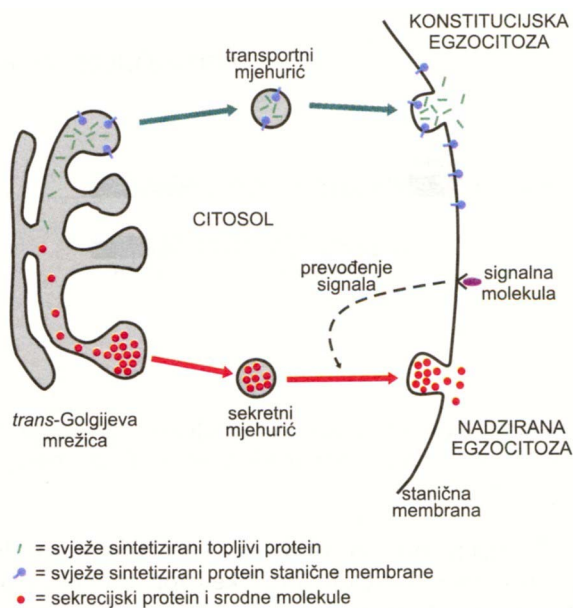
- aktinskih filamenata ili mikrofilamenata** (izgrađenih od aktina), ključnih za pokretanje stanice;
- mikrotubula** (izgrađenih od tubulina), što čine okosnicu ustrojstva citoskeleta - mikrotubuli neurona su neurotubuli;
- intermedijarnih filamenata** (izgrađenih od npr. vimentina ili lamina), građenih poput užadi, što daju stanici mehaničku otpornost - intermedijarni filamenti neurona su neurofilamenti.

Te tri skupine citoskeletnih filamenata su međusobno povezane i usklađeno funkcioniraju. No, valja naglasiti da citoskeletni proteini sami po sebi nisu dovoljni za ispunjenje navedenih funkcija; njihove funkcije ovise o velikom broju **pomoćnih proteina**, što citoskeletne filamente povezuju jedne s drugima ili s organelama. Ti pomoćni proteini (npr. kinezin i dinein) također služe kao "motori" kojima se organele pokreću duž citoskeletnih filamenata.

Neurotubuli su mikrotubuli neurona

Mikrotubuli su duge i krute cjevčice, što nastaju polimerizacijom molekula tubulina (to je heterodimer dva tijesno povezana kuglasta polipeptida - alfa-tubulina i beta-tubulina). Zapravo, ti heteromeri se polimeriziraju u duge linearne protofilamente, a onda se 13 takvih protofilamenata udruži i oblikuje stijenu šuplje cjevčice, tj. mikrotubula (sl. 6-16). Mikrotubuli neurona su **neurotubuli**. Polimerizaciju i depolimerizaciju molekula tubulina nadzire GTP. Svaki monomer veže dvije molekule GTP, ili jednu molekulu GTP i jednu GDP. Sporiji proces kojim se započinje stvarati neurotubul je **jezgrenje (nukleacija)**, a mnogo brži proces njegovog uvećavanja dodavanjem novih heterodimera je **produljivanje (elongacija)**. Neurotubuli su polarne građe - dok je jedan kraj sposoban naglo rasti (tzv. **plus kraj**), drugi kraj (tzv. **minus kraj**) lako gubi podjedinice ukoliko nije stabiliziran. Stabilizacija se obično postiže tako što se minus kraj neurotubula usidri u **centrosomu**, odakle se onda neurotubuli zrakasto šire po stanici i (prema potrebi) produljuju se ili skraćuju na svojim plus krajevima. Stoga neki centrosom nazivaju **ustrojnim središtem mikrotubula** (engl. microtubule-organizing center - MTOC). Centrosom je u interfazi (odrasli, zreli neuron cijelog svog vijeka ostaje u interfazi!) tipično smješten s jedne strane jezgre, uz njezinu vanjsku membranu. Centrosom je sastavljen od para centriola okruženih **pericentriolarnom tvari, tj. matriksom centrosoma**. Upravo u ovom matriksu centrosoma započinje polimerizacija neurotubula i stabilizira se njihov minus-kraj.

Vijek trajanja pojedinačnog neurotubula je oko 10 minuta, a molekule tubulina preko 20 sati. To znači da svaka molekula tubulina sudjeluje u izgradnji i razgradnji niza neurotubula. Nadalje, pojedinačni neurotubul prvo se neko vrijeme produljuje prema periferiji stanice, a potom se naglo "povuče" natrag prema centrosomu. Takav "povučeni" neurotubul ili onda opet ponovno počne rasti, ili se odbaci i zamijeni novim neurotubulom. Tu značajnu pojavu (uzrokovanu polimerizacijom i depolimerizacijom desetina tisuća molekula tubulina duž puta dugog više mikrometara) nazivamo **dinamička nestabilnost**; ta je pojava bitna za smještanje neurotubula unutar neurona, a ovisi o hidrolizi GTP. Naime, GTP se veže za beta-tubulinsku podjedinicu



Slika 6-12. Konstitucijska i nadzirana egzocitoza. Nacrtno, uz izmjene, prema Alberts i sur. (1994).

heterodimera, pa kad se takav heterodimerni tubulin doda na plus kraj neurotubula, GTP se hidrolizira u GDP (oslobođena se energija rabi za destabilizaciju tj. depolimerizaciju neurotubula). Drugim riječima, *hidroliza GTP omogućuje depolimerizaciju tj. razgradnju neurotubula*. Kako onda nastaje neurotubul i kako objašnjavamo pojavu dinamičke nestabilnosti? Kad neurotubul brzo raste, molekule tubulina dodaju se na plus kraj polimera mnogo brže no što se odvija hidroliza GTP - tako na plus kraju nastaje **kapa GTP**, a to dalje olakšava rast neurotubula (jer se molekule tubulina što nose GTP međusobno vežu mnogo većim afinitetom nego one što nose GDP). No, kad neurotubul tu kapu izgubi (kad se polimerizacija uspori), hidroliza GTP prevlada i neurotubul se počne "skvrčavati" tj. depolimerizirati.

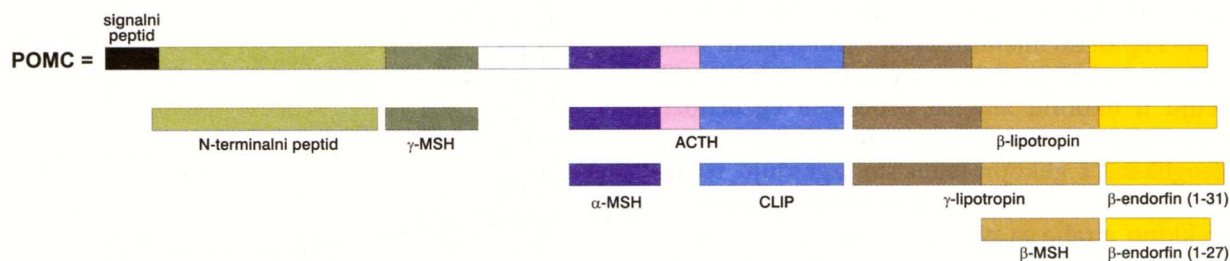
Tu smo pojavu pobliže opisali zbog toga što *stanica uspijeva proces dinamičke nestabilnosti prilagoditi svojim specifičnim ciljevima*. Primjerice, tijekom svake M-faze staničnog ciklusa, ubrzani proces izgradnje i razgradnje mikrotubula omogućuje brzo oblikovanje mitotskog vretena. Osim pri diobi neuroblasta, taj je proces posebice važan tijekom izrastanja aksona. Kad se aksonski čunjić rasta postojano izduljuje u "ispravnom" smjeru, postojano rastu i njegovi neurotubuli. No, kad čunjić rasta susretne prepreku ili "raskrižje", zastane i naglo

u različitim smjerovima ispruža filopodije i lamelipodije, pa ih ponovno uvlači, sve dok ne pronađe ispravni smjer u kojem dalje nastavlja rasti. Pri tom dolazi do "katastrofičnog" razlaganja neurotubula (uvlačenja filopodija) i ponovnog naglog i postojanog izrastanja neurotubula (ispružanje filopodija u novom smjeru). Inače, u tim procesima vrlo bitnu ulogu imaju i aktinski filamenti. Obrnuto, kada je stanica terminalno diferencirana (zrela) i kad je poprimila konačni morfološki fenotip (a upravo je tako s neuronima, što se nikad više ne dijele), posebni proteini što se vežu na neurotubule potiskuju proces dinamičke nestabilnosti i zaštićuju neurotubule od depolimerizacije. Smatra se da su ti procesi ključni za razvoj neurona kao morfološki i funkcionalno polarizirane stanice. Najvažniju ulogu pritom imaju **MAP-proteini** (engl. microtubule-associated proteins - MAPs), što stabiliziraju neurotubule kad se na njih vežu, a uz to su posrednici u interakcijama neurotubula i drugih staničnih tvorbi. Posebno je važno što diferencijalna raspodjela MAP proteina u fetalnim neuronima ima ključnu ulogu u diferenciranju isprva jedinstvenih nastavaka neuroblasta ("neurita") u dvije različite skupine staničnih nastavaka: dendrite i akson. Stoga je i sastav MAP proteina u odraslim dendritima i aksonu različit: protein MAP-1 je nazočan samo u aksonima, a MAP-2 samo u dendritima i somi. Kako se to odražava na različitu funkciju aksona i dendrita? Primjerice, sekretni mjehurići kreću se prema plus-kraju neurotubula, pa stoga putuju duž aksona do presinaptičkih aksonskih završetaka. S druge strane, mRNA i ribosomi kreću se prema minus-kraju neurotubula, pa stoga ne ulaze u akson, nego ostaju u somi i početnom dijelu dendrita.

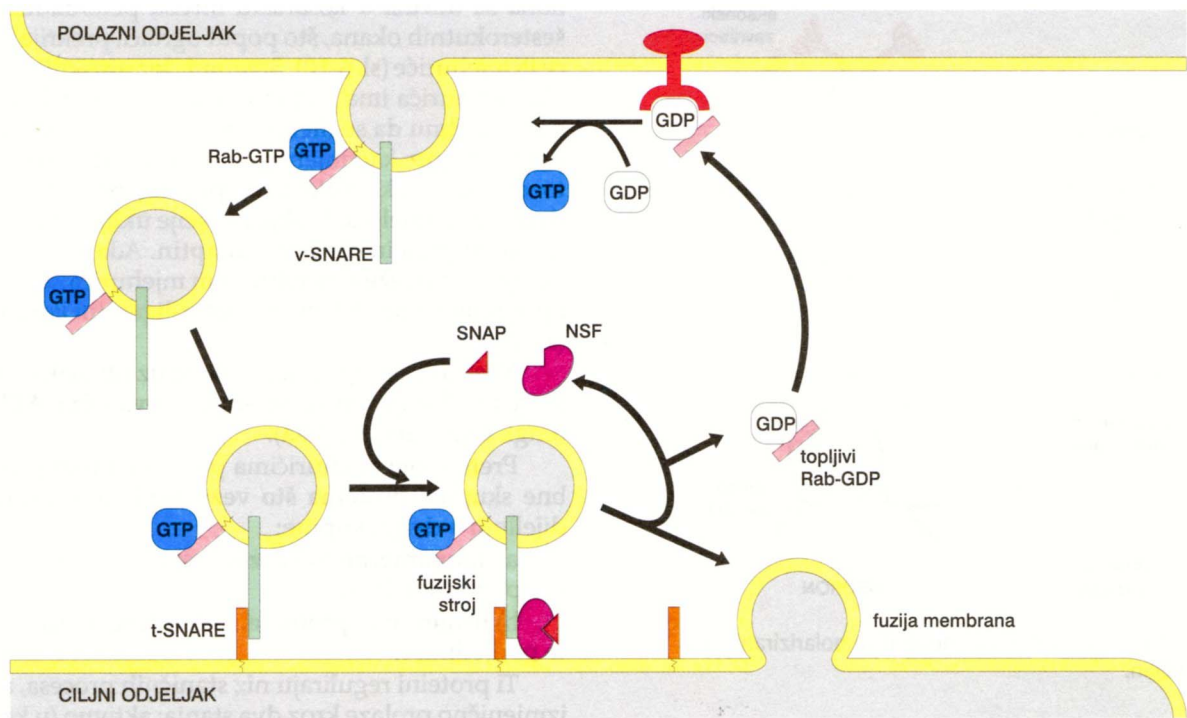
Kinezin i dinein usmjeravaju kretanje organela duž neurotubula

Kretanje organela omogućuju posebni "**motorički**" proteini, što se jednim svojim krajem vežu ili za neurotubul (**kinezini i citoplazmatski dineini** - naime, u trepetljikama i bičevima tj. u cilijama i flagelama postoje posebni **cilijarni dineini**) ili za aktinski filament, a potom putuju duž neurotubula, povlačeći za sobom organelu (za koju su pričvršćeni drugim svojim krajem). Energija potrebna za takvo kretanje dobiva se ponavljanim ciklusima hidrolize ATP. I kinezin i dinein sastavljeni su od po dva teška i nekoliko lakih lanaca; svaki teški lanac sadrži kuglastu glavu na koju se veže ATP, pa te glave djeluju kao ATPazni "motori", dok se repovi specifično vežu uz prenošeni "teret" i time ujedno određuju njegovu narav (sl. 6-17). Kinezini se općenito kreću prema plus kraju neurotubula

OBITELJ LJUDSKIH PROOPIOMELANOKORTINA (POMC)



Slika 6-13. Tijekom putovanja sekretnih mjehurića, različitim proteolitičkim cijepanjem proopiomelanokortina (POMC) u različitim neuronima ili neuroendokrinim stanicama nastaju različiti manji biološki aktivni peptidi. Za pojedinosti vidi tekst.



Slika 6-15. Četiri skupine proteina oblikuju »fuzijski stroj«. v-SNARE (na membrani mjehurića) i t-SNARE (na ciljnoj membrani) omogućuju odabirno sidrenje mjehurića, dok NSF i SNAP proteini omogućuju započinjanje fuzije dvaju membrana. U procesu važnu ulogu imaju i monomerne GTPaze (Rab proteini). Za pojedinosti vidi tekst. Nacrtno, uz izmjene i dopune, prema Alberts i sur. (1994).

(što znači da prenose tvari od some prema aksonskom završetku - anterogradno), dok se dineini općenito kreću prema minus kraju neurotubula, tj. prema centrosomu (što znači da prenose tvari od aksonskog završetka prema somi - retrogradno).

Aktinski filamenti su mikrofilamenti

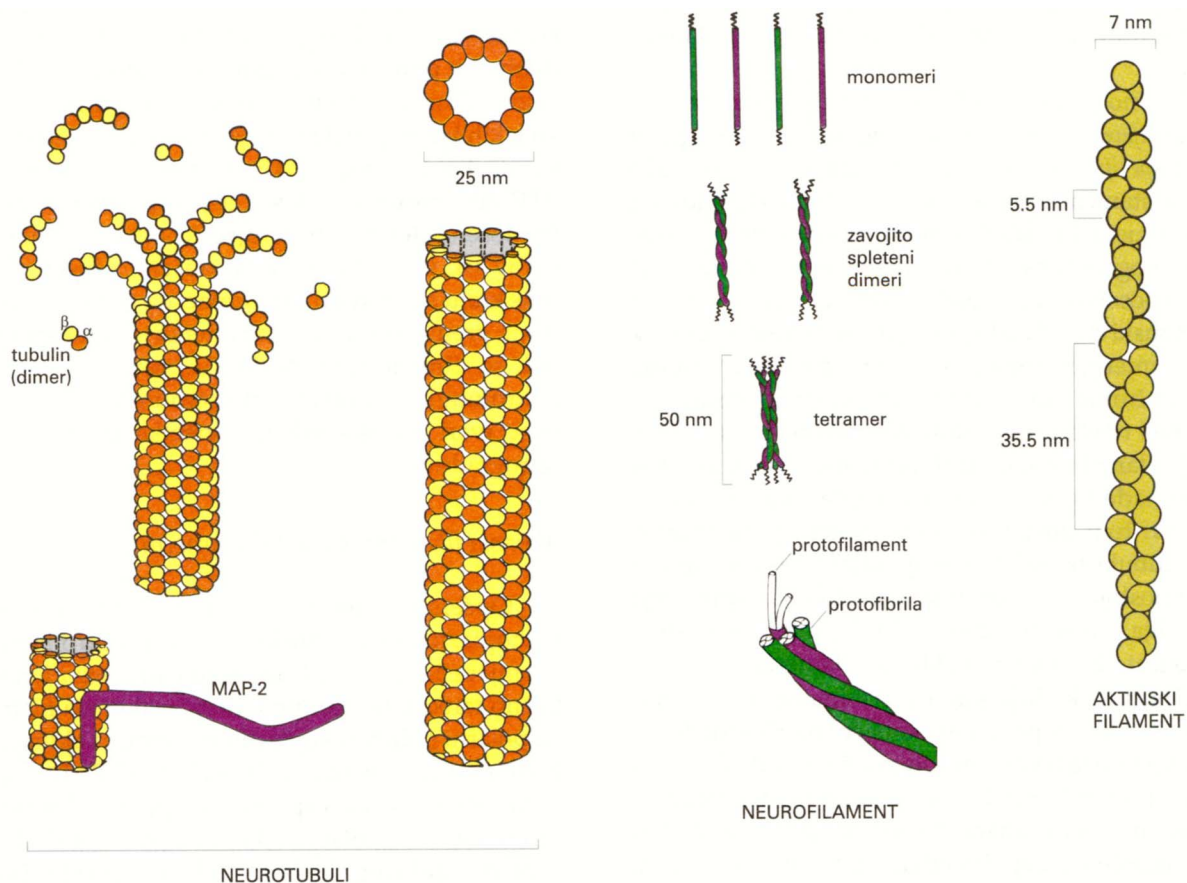
Općenito, neurotubuli funkcioniraju kao jedinke u citoplazmi, dok aktinski filamenti (mikrofilamenti, promjera 3-5 nm) funkcioniraju kao mreže ili snopovi. Slično tankim filamentima mišića, aktinski filamenti su polarni polimeri kuglastih monomera aktina (svaki monomer veže molekulu ATP ili ADP). Dva takva polimera se spleću u spiralnu zavojnicu. Razgranata mreža aktinskih filamenata i uz njih vezanih drugih proteina (**ankirin, spektrin, fodrin = moždani spektrin, vinkulin, talin**) ispod stanične membrane često oblikuje "**staničnu koru**". Najveći dio aktina u neuronima je također vezan uz staničnu membranu, a u dendritima je osobito koncentriran ispod dendritičkih trnova (spina). Izvanstanični signal, što djeluje na određeni dio stanične membrane, može uzrokovati lokalnu pregradnju te aktinske kore; obrnuto, ta kora može bitno utjecati na ponašanje dijela stanične membrane ispod kojeg je smještena - to najbolje vidimo na primjeru lamelipodija i filopodija aksonskih čunjića rasta, tijekom izrastanja aksona u fetalnom mozgu, kao i na primjeru migracije fetalnih neurona i razvitka polarosti neurona. Nadalje, posebni transmembranski proteini, **integrini**, omogućuju interakciju aktinskih filamenata i molekula izvanstaničnog matriksa (npr. laminina i fibronektina).

Neurofilamenti su intermedijarni filamenti

Za razliku od aktina i tubulina, što su globularni proteini, proteinski monomeri što izgrađuju različite intermedijarne filamente su vrlo izdužene vlaknaste molekule s glavom (amino-krajem), repom (karboksi-krajem) i središnjom štapičastom domenom što povezuje glavu i rep (sl. 6-16). Takva dva monomera se međusobno spiralno isprepleću, pa nastaje **zavojito spleteni dimer**; potom se dva nasuprotno usmjerena (antiparalelna) dimera spoje u **tetramernu podjedinicu** - to znači da intermedijarni filamenti (za razliku od aktinskih filamenata i neurotubula) nisu polarne strukture. Tetrameri se povezuju u čvrsta, užasta proteinska vlakna različite duljine - **intermedijarne filamente** (sl. 6-16). Tako ih nazivamo zbog njihova promjera na elektronsko-mikroskopskim snimkama (8-10 nm), što je veći od promjera aktinskih filamenata, tj. mikrofilamenata, ali manji od promjera debelih miozinskih filamenata i neurotubula. U većini stanica, gotovo sve molekule intermedijalnih filamenata su u posve polimeriziranom stanju (ima vrlo malo slobodnih tetramera).

Ako načas zaboravimo jezgrine lamine, intermedijarne filamente stanica sisavaca dijelimo u tri velike skupine:

- 1) **Keratinske filamente** (podjedinice su keratini = citokeratini), nazočne poglavito u epitelnim stanicama, kosi i noktima.
- 2) **Vimentinske filamente** (podjedinice su npr. **vimentin**, desmin, **kiseli vlaknasti protein glije - GFAP**) - vimentina ima u raznolikim stanicama, dezmina uglavnom u mišićnim stanicama, a GFAP oblikuje glijalna vlakna astrocita i Schwannovih stanica; stoga anti-GFAP protutijela rabimo kao specifične markere tih vrsta neuroglije.



Slika 6-16. Citoskelet neurona sastavljen je od tri skupine proteinskih filamenata: neurotubula, neurofilamenata i aktinskih filamenata. Za pojedinosti vidi tekst. Nacrtno, uz izmjene, prema Kandel i sur. (1991) i Alberts i sur. (1994).

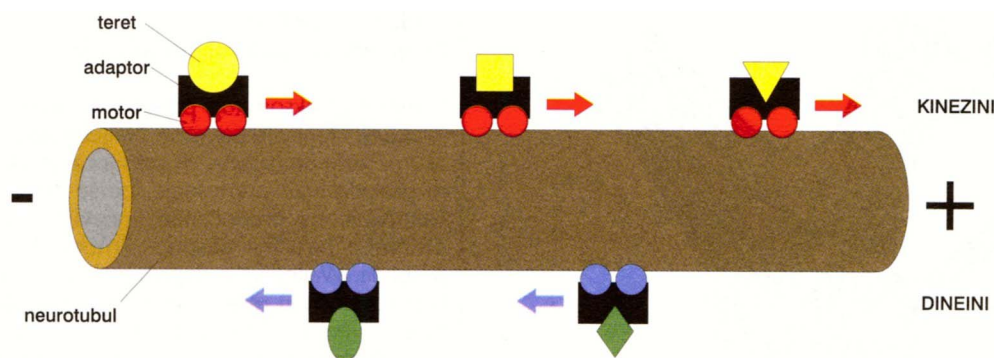
3) **Neurofilamente** (podjedinice su NF-L, NF-M i NF-H, što znači NeuroFilamenti niske - Low, srednje - Medium i visoke - High molekularne težine) su karakteristični za neurone, a različite vrste neurona tijekom različitih razvojnih stadija sadrže različite vrste neurofilamenata. NF-M i NF-H su poglavito nazočni u aksonima. Ti su neurofilamenti bočno povezani odsječcima svojih karboksiterminalnih domena i oblikuju neprekinuto "uže" što može biti dulje od 1 metra!

Snopovi neurofilamenata vežu na sebe srebrne soli, pa su ih metodama srebrne impregnacije prikazivali već utemeljitelji neurohistologije i nazvali **neurofibrile** (sl. 6-18). Nadalje, u

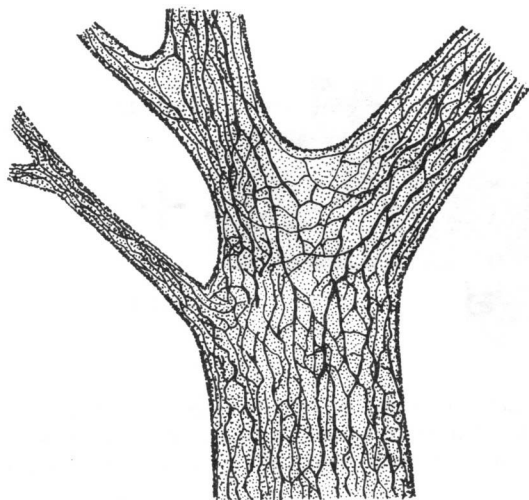
Alzheimerovoj bolesti i nekim drugim neurodegenerativnim bolestima, ti su proteini posebno promijenjeni, pa oblikuju karakteristične lezije što neuropatolozima omogućuju dijagnosticiranje tih bolesti.

Aksonsko prenošenje je dvosmjerno (anterogradno ili retrogradno), odabirno i brzo ili sporo

Proteini i organele se duž aksona mogu kretati u oba smjera i pritom razlikujemo više kinetičkih komponenti. Stoga cijelu pojavu nazivamo **aksonsko prenošenje (aksonski transport)**, što se prema brzini kretanja čestica dijeli u brzo i sporo, a prema smjeru njihovog kretanja u anterogradno ili



Slika 6-17. Kinezini i dineini pokreću organele duž neurotubula u suprotnim smjerovima. Kinezini se kreću prema plus-kraju neurotubula i prenose tvari od some prema presinaptičkog aksonskom završetku (anterogradno), a dineini se kreću prema minus-kraju neurotubula i prenose tvari od presinaptičkog aksonskog završetka prema somi (retrogradno). Nacrtno, uz izmjene, prema Alberts i sur. (1994).



Slika 6-18. Neurofibrile u dijelu dendritičkog razgranjenja apikalnog dendrita piramidnog neurona moždane kore, prikazane klasičnom neurohistološkom metodom. Nacrtao prema Cajal (1911).

ortogradno (od some prema presinaptičkom aksonskom završetku) i retrogradno (od presinaptičkog aksonskog završetka prema somi) aksonsko prenošenje. Točnije rečeno, prema brzini kretanja razlikujemo ukupno 5 vrsta anterogradnog i 1 vrstu retrogradnog aksonskog prenošenja.

Brzim anterogradnim prenošenjem (I. i II. vrste) putuju: novosintetizirani membranski materijal endoplazmine mrežice i stanične membrane, sinaptičke komponente i sinaptički mjehurići; jedni polipeptidi putuju brzinom od 100-400 mm/dan (I. vrsta), a drugi brzinom od oko 20-70 mm/dan (II. vrsta). Neki polipeptidi putuju brzinom od oko 3-20 mm/dan, pa govorimo o III. vrsti brzog anterogradnog prenošenja.

Sporim anterogradnim prenošenjem (IV. i V. vrste, tj. engl. slow component a - SCa, slow component b - SCb), brzinom od oko 0,1-4 mm/dan, kreću se komponente citoskeleta i pridruženih proteina, te citosolni enzimi intermedijarnog metabolizma. Sporim prenošenjem nadomještaju se istrošeni strukturni proteini, a tijekom rasta aksona se proteini tako dostavljaju u rastući vrh aksona. Sporijom komponentom sporog prenošenja (0,2-2,5 mm/dan) kreću se podjedinice neurofilamenata i neurotubula (one čine oko 75% od ukupne količine proteina što se kreću tom brzinom) - vjerojatno stoga što se kreću kao mreža polimeriziranih podjedinica. Bržom komponentom sporog anterogradnog prenošenja (3-4 mm/dan) kreću se neke komponente citoskeleta i pridruženih molekula (aktin, neuralni miozin, klatrin, spektrin, tj. fodrin, MAP-1A) te neki enzimi (npr. kalmodulin).

Retrogradno prenošenje odvija se brzinom što iznosi 50-75% brzine brzog anterogradnog prenošenja (do 300 mm/dan), a prema somi prenosi materijal za razgradnju u lizosomima ili za ponovnu metaboličku uporabu. Tako od sinaptičkog završetka prema somi putuju transportni mjehurići (npr. endosomi), što često sadrže makromolekule unesene u presinaptički završetak procesom endocitoze posredstvom receptora. Primjerice, tim putem u tijelo neurona dospjeje neurotrofni činitelj rasta, NGF (peptid što ga sintetizira inervirana ciljna stanica, a potiče rast neurona), ili pak enzim HRP (engl. horseradish peroxidase - peroksidaza hrena) što se rabi za retrogradno praćenje

neuronskih veza. Međutim, tim putem u središnji živčani sustav prodiru i neki neurotrofni virusi (herpes simplex, rabies, polio virus) i neurotoksini.

Ključnu ulogu u anterogradnom i retrogradnom brzom prenošenju imaju neurotubuli i uz njih vezana tri "motorička" proteina: kinezin, citoplazmin dinein i dinamamin. Kinezin je "motor" brzog anterogradnog, a dinein brzog "retrogradnog" prenošenja; dinamamin je vjerojatno uključen u sporo anterogradno prenošenje. Nedavno je (pomoću video kamere spojene na mikroskop) izravnim mikroskopskim promatranjem živih aksona *in vitro* pokazano da se organele duž aksona u oba smjera ne kreću kontinuirano, nego skokovito (saltatorno, kreni-stani načinom).