

Odabirna propusnost stanične membrane i ionski kanali

Lipidni dvosloj i uklopljeni proteini određuju bioelektrična svojstva membrane

Dva temeljna biološka procesa što bitno utječu na signalne funkcije neurona su **nadzirana egzocitoza i usmjereno kretanje proteina**. Procesom nadzirane egzocitoze signalne molekule dopijaju u sinaptičku pukotinu, a *sinaptički prijenos je glavni mehanizam međustanične signalizacije u središnjem živčanom sustavu*. Usmjereno kretanje proteina kroz neuronomogućuje razmještanje različitih proteina u različitim dijelovima membrane neurona - neki od tih proteina su **neurotransmiterski receptori i ionski kanali**, što imaju ključnu ulogu u prijemu signala i promjenama membranske ekscitabilnosti. Promjene ekscitabilnosti su *bioelektrične pojave*, uzrokovane precizno nadziranom prolazom kationa i aniona kroz staničnu membranu (unutarstanična i izvanstanična tekućina su elektrolitne otopine, a ioni su pokretljivi nosači električnog naboja). *Dva glavna električna svojstva stanične membrane neurona su kapacitet i otpor i ta svojstva omogućuju električnu vodljivost membrane. Izolacijski lipidni dvosloj membrani omogućuje da djeluje kao električni kondenzator, a u njega uklopljeni proteinski ionski kanali membrani omogućuju da djeluje kao električni vodič, tj. otpornik.*

Glavna poruka ovog poglavlja je sljedeća: posebna skupina membranskih proteina (nosači i crpke) omogućuje neuronu da uspostavi i održava različite koncentracije iona u citosolu i izvanstaničnoj tekućini (sa ili bez utroška metaboličke energije), a odabirna propusnost membrane za različite ione temelji se na precizno nadziranom otvaranju i zatvaranju različitih ionskih kanala.

Lipidni dvosloj sadrži fosfolipide, glikolipide i kolesterol

Sve molekule lipida u lipidnom dvosloju su *amfipilne* (amfipatne), što znači da imaju hidrofilni (polarni) i hidrofobni (nepolarni) dio. Pritom je bitno da su neki membranski proteini aktivni jedino uz nazočnost specifičnih polarnih skupina lipidnih molekula. Najbrojniji membranski lipidi su *fosfolipidi*, s hidrofilnom glavom i dva hidrofobna repa. Četiri glavna fosfolipida su fosfatidilkolin, sfingomijelin, fosfatidilserin i fosfatidiletanolamin; jedino fosfatidilserin ima neto negativni električni naboj, a ostala tri fosfolipida su (pri fiziološkoj pH vrijednosti) električki neutralni. Nadalje, raspodjela lipida u lipidnom dvosloju je *asimetrična*: fosfatidilkolin i sfingomijelin obično su smješteni u vanjskom dijelu dvosloja, a fosfatidiletanolamin i fosfatidilserin u unutarnjem (citosolnom) dijelu dvosloja; štoviše, glikolipidi su smješteni jedino u vanjskom, a inozitolni fosfolipidi jedino u unutarnjem dijelu lipidnog dvosloja. Ta asimetrija ima nekoliko funkcionalno značajnih posljedica:

- Negativno nabijeni *fosfatidilserin* pridonosi nakupljanju negativnog naboja na citosolnoj strani membrane, a uz to je prijeko potreban za aktivnost protein kinaze C.
- Inozitolni fosfolipidi* (fosfoinozitidi) smješteni su jedino u citosolnom dijelu lipidnog dvosloja, a njihovim

cijepanjem nastaju dvije važne unutarstanične signalne molekule, inozitoltrifosfat (IP₃) i diacilglicerol (DAG).

- Glikolipidi* su smješteni jedino u vanjskom dijelu lipidnog dvosloja, a njihove ugljikohidratne skupine uvijek su izložene na vanjskoj strani stanične membrane (u izvanstaničnom prostoru).

Različiti proteini uklopljeni su u staničnu membranu na različite načine

Membrana sadrži brojne vrste proteina, što su uz nju vezani na različite načine. **Transmembranski (integralni) proteini** pružaju se kroz cijeli lipidni dvosloj i također su amfifilni (hidrofobni dio je smješten unutar dvosloja, a dva hidrofilna kraja strše s vanjske ili unutarnje strane membrane). **Periferni membranski proteini** usidreni su u lipidni dvosloj samo s izvanstanične ili unutarstanične strane, ili su pak nekovalentnim vezama vezani uz druge transmembranske proteine.

Način na koji je protein vezan uz lipidni dvosloj obično odražava funkciju dotičnog proteina. Jedino transmembranski proteini mogu djelovati na obje strane membrane ili kroz nju prenositi druge molekule. Primjerice, neki receptori na staničnoj površini zapravo su transmembranski proteini; signalne molekule vežu se na posebna vezna mjesta izvanstaničnih odsječaka takvih proteina, a potom unutarstanični odsječci proteina sudjeluju u stvaranju različitih unutarstaničnih signala.

Transmembranski protein uvijek je kroz membranu usmjeren na poseban način, što odražava različite funkcije njegovih hidrofobnih i hidrofilnih odsječaka. Hidrofobne alfa-zavojnice prolaze kroz lipidni dvosloj jedan ili više puta, pa govorimo o jednoj ili više **transmembranskih domena**.

Kad je takvih transmembranskih domena više, one su međusobno povezane **unutarstaničnim ili izvanstaničnim hidrofilnim petljama**. Te petlje najčešće sadrže djelatna vezna mjesta proteina. Citosolne petlje vrlo često imaju sulfhidrilne skupine i mjesta fosforilacije; sulfhidrilne skupine izvanstaničnih petlji gotovo redovito oblikuju disulfidne veze i time bitno utječu na konformaciju izvanstaničnog odsječka proteina (npr. na konformaciju veznog mjesta receptora). Većina transmembranskih proteina su glikozilirani, a oligosaharidni lanci vežu se isključivo na izvanstanične petlje.

Nasuprot tome, proteini usidreni samo uz jednu stranu membrane uglavnom i djeluju samo s te strane membrane. Na primjer, proteini usidreni uz izvanstaničnu stranu membrane sudjeluju u procesima staničnog prepoznavanja (posebice tijekom razvoja mozga), a proteini usidreni s citosolne strane membrane sudjeluju u procesima unutarstanične signalizacije.

Glycocalyx i izvanstanični matriks dobro su razvijeni u živčanom sustavu

Glikoproteini i glikolipidi sadrže kovalentno vezane oligosaharidne lance, a proteoglikani sadrže vrlo duge polisaharidne lance. Stoga vanjsku površinu stanične membrane zapravo oblaže svojevrсни "šećerni ogrtač" ili **glycocalyx**. Njega ne izgrađuju samo membranski glikolipidi i glikoproteini, nego i proteoglikani što ih stanice izluče u izvanstanični prostor, a potom se adsorbiraju uz stanične površine. Mnoge od tih molekula ujedno su i sastojine **izvanstaničnog matriksa**, pa je teško reći gdje točno završava stanična membrana, a gdje počinje matriks.

Raspored i vrste šećernih ostataka bočnih oligosaharidnih lanaca glikoproteina i glikolipida silno su raznoliki. Iako te molekule obično sadrže manje od 15 šećernih ostataka, često su razgranate, a oligosaharidi su uz proteine vezani različitim kovalentnim vezama; štoviše, samo 3 šećerna ostatka mogu se uzajamno povezati u trisaharide na stotine različitih načina! Stoga je lako razumjeti da upravo glikoproteini, proteoglikani i glikolipidi (posebice ganglioziđi) imaju iznimno važnu ulogu u procesima staničnog prepoznavanja tijekom razvoja središnjeg živčanog sustava, kao i u procesima adhezije neurona uz druge neurone i glija stanice ili uz izvanstanični matriks (tijekom migracije neurona, oblikovanja citoarhitektonskih cjelina, glijalnih pregrada i "granica" i specifičnih neuronskih veza).

Stanična membrana je odabirno propusna pregrada između stanice i njezine okoline

Odabirna propusnost (selektivna permeabilnost) stanične membrane omogućuje neuronu održavanje konstantne unutarnje okoline (to vrijedi i za membrane unutarstaničnih organela). Makromolekule kroz membranu prolaze endocitozom i egzocitozom, a hidrofobne molekule (npr. O_2 , CO_2) i male električki neutralne polarne molekule (npr. H_2O) slobodno difundiraju kroz membranu. Međutim, veće hidrofилne molekule (npr. glukoza, aminokiseline, ATP) i anorganski ioni mogu kroz hidrofobni lipidni dvosloj proći samo posredovanjem dvaju skupina transmembranskih proteina: **nosača** (engl. carrier proteins, transporters, permeases) i **kanala** (engl. channel proteins, channels). **Nosači** na sebe vežu specifičnu otoplјenu molekulu i potom podliježu slijedu konformacijskih promjena što omogućuju prenošenje dotične molekule kroz membranu (sl. 7-3C). Svaka vrsta nosača ima jedno ili više specifičnih veznih mjesta za odgovarajuću otoplјenu tvar (supstrat) i djeluje poput specijaliziranog membranskog enzima. Naime, proces prenošenja otoplјene molekule kroz lipidni dvosloj nalikuje reakciji enzima i supstrata. Kad supstrat zauzme sva vezna mjesta nosača, prenošenje se odvija najvećom brzinom (V_{max}) karakterističnom za dotični nosač (sl. 7-2C). Nadalje, svaki nosač ima karakterističnu konstantu vezanja supstrata (K_M), što je jednaka koncentraciji otoplјene tvari kad je brzina prenošenja upola manja od najveće. Kao i u slučaju enzima, vezanje supstrata možemo specifično blokirati kompeticijskim inhibitorima (što se vežu za isto vezno mjesto kao i supstrat, a nosač ih kroz membranu potom prenosi ili ne prenosi) ili nekompeticijskim inhibitorima (što se vežu za posebno vezno mjesto i uzrokuju specifične promjene konformacije nosača -

alosterička modulacija). No, za razliku od uobičajenih reakcija enzima i supstrata, prenošena otoplјena tvar obično nije kovalentno vezana uz nosač.

Kanali oblikuju hidrofилne pore što se protežu kroz cijelu membranu; kad su te pore otvorene, anorganski ioni odgovarajuće veličine i naboja slobodno difundiraju kroz njih (smjer kretanja iona određuju elektrokemijski gradijenti). Stoga je prenošenje kroz kanale mnogo brže od prenošenja nosačima.

Dva izvora energije omogućuju aktivno prenošenje kroz membranu

Kad se za prenošenje molekula kroz membranu ne troši metabolička energija stanice, riječ je o **pasivnom prenošenju** (pasivnom transportu). Takvi su procesi jednostavna i olakšana difuzija (sl. 7-3A). Međutim, kad stanica troši metaboličku energiju da bi ione (ili druge molekule) prenosila kroz membranu nasuprot njihovom elektrokemijskom gradijentu, riječ je o **aktivnom prenošenju** (aktivnom transportu) (sl. 7-3A,B). Takvo prenošenje uvijek obavljaju proteinski nosači (što ih često nazivamo crpkama ili izmjenjivačima iona), što energiju crpu iz dva moguća izvora:

- u prvom slučaju, nosač energiju dobiva **hidrolizom ATP**, tj. djeluje kao ATPaza (tipični su primjeri: Na^+K^+ ATPaza i Ca^{2+} ATPaza);
- u drugom slučaju, prenošenje jedne vrste iona (ili molekule) nasuprot elektrokemijskom gradijentu združeno je s prenošenjem druge vrste iona (ili molekule) niz elektrokemijski gradijent. Riječ je o procesu **združenog prenošenja** (engl. coupled transport) i pritom (ovisno o smjeru kretanja molekula) govorimo o **suprenošenju** (engl. symport) ili **nasuprotnom prenošenju** (engl. antiport) iona ili molekula (slika 7-3B). Takvi sustavi rabe energiju oslobođenu tijekom kretanja nekog anorganskog iona niz njegov elektrokemijski gradijent. Taj ion najčešće je Na^+ , kojeg potom iz stanice opet mora izbaciti Na^+K^+ ATPaza. U biti, Na^+K^+ ATPaza neizravno omogućuje takvo prenošenje, jer održava elektrokemijski gradijent Na^+ kroz membranu. Stoga je aktivno prenošenje izravno pokretano hidrolizom ATP *primarno aktivno prenošenje*, a ono pokretano ionskim gradijentom je *sekundarno aktivno prenošenje*.

Membrane organela (lizosoma, sinaptičkih i neurosekretnih mjehurića) umjesto Na^+K^+ ATPaze imaju H^+ ATPazu - stoga njihovi nosači uglavnom koriste gradijent H^+ .

Na^+K^+ ATPaza stvara i održava elektrokemijske gradijente natrijevih i kalijevih iona

Koncentracija K^+ oko 20 puta je veća u stanici nego izvan nje, dok je obrnuto u slučaju Na^+ . Te razlike koncentracije održava posebna vrsta nasuprotnog prenositelja (antiporta): **Na^+K^+ ATPaza** ("natrij-kalijeva crpka"), što izbacuje Na^+ iz stanice nasuprot snažnom elektrokemijskom gradijentu, a istodobno u stanicu ubacuje K^+ (sl. 7-4). U električki aktivnim neuronima, za to se potroši skoro dvije trećine ukupne energije stanice! Osim toga, tako nastali elektrokemijski gradijent Na^+ (preko svojih osmotskih učinaka) ima važnu ulogu u regulaciji staničnog volumena, a stanica ga također koristi za unošenje ugljikohidrata i aminokiselina kroz membranu.

Brojnim je pokusima dokazano da:

- prenošenje Na^+ i K^+ tijesno je vezano uz hidrolizu ATP i te se dvije pojave javljaju samo zajedno;
- do prenošenja iona i hidrolize ATP dolazi samo kad su Na^+ i ATP u stanici, a K^+ izvan stanice;
- uabain inhibira Na^+-K^+ ATPazu samo kad se nalazi u izvanstaničnoj tekućini, što znači da se uabain natječe s K^+ za isto vezno mjesto;
- za svaku hidroliziranu molekulu ATP, tri se Na^+ izbace iz stanice, a dva K^+ ubace u nju (inače, jedna molekula ATPaze svake sekunde može hidrolizirati 100 molekula ATP).

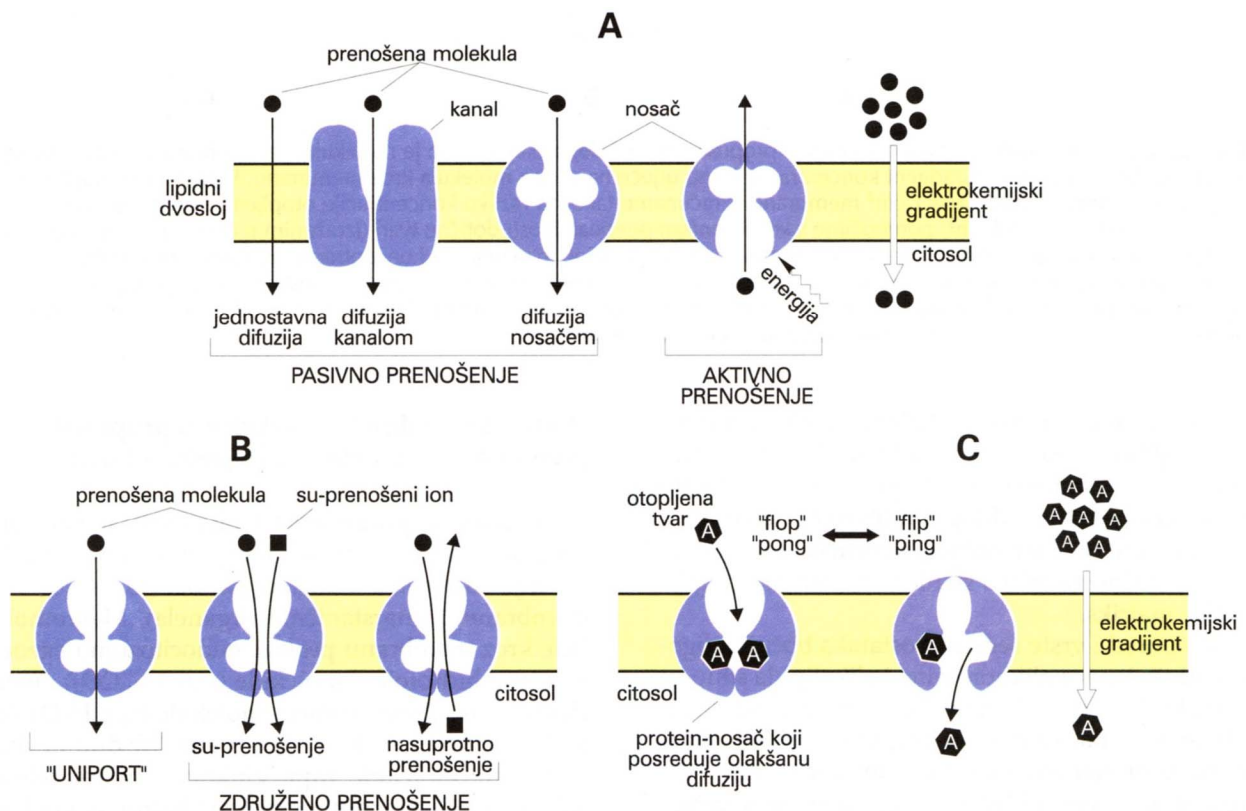
Na^+-K^+ ATPaza ima veliku katalitičku podjedinicu s više transmembranskih domena, te pridruženu manju glikoziliranu podjedinicu s jednom transmembranskom domenom. Katalitička podjedinica na citosolnoj strani membrane ima vezna mjesta za Na^+ i ATP, a na vanjskoj strani membrane vezno mjesto za K^+ ; tijekom ciklusa izmjene iona, ta podjedinica podliježe reverzibilnoj fosforilaciji i defosforilaciji. O ulozi glikoproteina malo se zna.

Za svaka dva kationa što ih ubaci u stanicu, Na^+-K^+ ATPaza iz stanice izbaci tri kationa. Stoga kažemo da je Na^+-K^+ ATPaza **elektrogena**, što znači da uzrokuje neto protjecanje ionske struje kroz membranu. Tako nastaje

električni potencijal mirujuće membrane, pri kojem je membrana s unutarnje strane negativna, a s vanjske pozitivna. No, valja naglasiti da aktivnost ove ATPaze ukupnom membranskom potencijalu rijetko pridonosi više od 10%, a preostalih 90% ovisi o njoj tek neizravno.

Na^+-K^+ ATPaza održava osmotsku ravnotežu i stabilizira stanični volumen

Na^+-K^+ ATPaza izravno sudjeluje u regulaciji staničnog volumena - nadzirući koncentraciju elektrolita u citoplazmi, ona utječe na osmotske sile što mogu dovesti do bubrenja ili skvrčavanja neurona. Neuron sadrži veću količinu fiksnih aniona (negativno nabijenih organskih makromolekula) i uz njih vezanu odgovarajuću količinu kationa (zbog očuvanja električne neutralnosti citosola). Zbog toga nastaje veliki osmotski gradijent što vodu "navlači" u stanicu. Tom se učinku (što bi mogao dovesti do prskanja stanice) suprotstavlja nasuprotni osmotski gradijent izazvan velikom koncentracijom anorganskih iona (uglavnom Na^+ i Cl^-) u izvanstaničnoj tekućini. Na^+-K^+ ATPaza održava osmotsku ravnotežu izbacujući Na^+ iz stanice; koncentracija Cl^- se održava na odgovarajućoj razini djelovanjem membranskog potencijala (pozitivan izvana). Na bitnu ulogu Na^+-K^+



Slika 7-3. Usporedba aktivnog (nasuprot elektrokemijskom gradijentu) i pasivnog (niz elektrokemijski gradijent) prenošenja molekula kroz membranu. **A.** Pasivno prenošenje (jednostavna i olakšana difuzija; olakšana difuzija = difuzija kanalom i/ili difuzija nosačem) odvijaju se spontano, a za aktivno prenošenje stanica mora utrošiti metaboličku energiju. Olakšanu difuziju posreduju i proteinski kanali i nosači, dok aktivno prenošenje obavljaju jedino proteinski nosači (crpke ili razmjenjivači iona). **B.** Nosači posreduju tri vrste prenošenja: Prenošenje *jedne molekule u jednom smjeru* (uniport); *zdručeno prenošenje dviju različitih molekula u istom smjeru*, tj. *su-prenošenje* (simport); *zdručeno prenošenje dviju različitih molekula u suprotnim smjerovima*, tj. *nasuprotno prenošenje* (antiport). **C.** Proteinski nosač djeluje poput sklopke što nasumično i reverzibilno prolazi kroz dva konformacijska stanja (slikovito nazvana »ping i pong« ili »flip i flop«); pritom se vezno mjesto za prenošenu molekulu naizmjenice izlaže izvanstaničnoj ili unutarstaničnoj tekućini. Vjerojatnost da se molekula veže za vezno mjesto stoga je veća s one strane membrane s koje je veća i koncentracija te molekule, pa se *neto* prenošenje molekule odvija niz elektrokemijski gradijent. Nacrtano, uz izmjene, prema Alberts i sur. (1994).

ATPaze u nadzoru nad staničnim volumenom jasno ukazuje opažanje da mnoge životinjske stanice bubre, a ponekad i prsnu, ako ih otrujemo uabainom (što inhibira rad ATPaze).

Ca²⁺ ATPaza nadzire koncentraciju Ca²⁺ u citoplazmi neurona

Koncentracija Ca²⁺ u citoplazmi neurona je mala (10⁻⁷ M), a u izvanstaničnoj tekućini velika (10⁻³ M). Stoga na kretanje Ca²⁺ kroz membranu djeluje snažni gradijent koncentracije. Već mala količina Ca²⁺ što kroz membranu prodre u neuron, bitno poveća koncentraciju slobodnih Ca²⁺ u citosolu. Važan način brzog prijenosa izvanstaničnog signala kroz membranu upravo je utjecanje Ca²⁺ u neuron. Stoga je održavanje snažnog gradijenta koncentracije Ca²⁺ od ključnog značenja za signalne funkcije neurona. U to su uključene barem dvije Ca²⁺ crpke u staničnoj membrani: **Ca²⁺ ATPaza i Ca²⁺- Na⁺ razmjenjivač.**

Razmjenjivači iona nadziru pH vrijednost u citosolu neurona i njihovoj okolini

Većina proteina najbolje funkcionira uz neku specifičnu pH vrijednost. Primjerice, lizosomni enzimi najbolje funkcioniraju u kiseloj sredini (pH oko 5) dok citosolni enzimi najbolje funkcioniraju uz gotovo neutralnu, fiziološku pH vrijednost (pH oko 7,2). Stoga je precizno nadziranje pH u unutarstaničnim odjeljcima od ključnog značenja za stanicu. U neuronu, pH citosola na vrijednosti od otprilike 7,2 održavaju dvije vrste nosača što energiju crpu iz elektrokemijskog gradijenta Na⁺ iona:

- Na⁺- H⁺ razmjenjivač**, što H⁺ izravno izbacuje iz stanice,
- natrijevim gradijentom pokretani **Cl⁻/HCO₃⁻ razmjenjivač**, što združuje utjecanje Na⁺ i HCO₃⁻ s istjecanjem Cl⁻ i H⁺ (tako da NaHCO₃ ulazi u neuron, a HCl iz njega izlazi).

Taj razmjenjivač iona je dva puta učinkovitiji od Na⁺- H⁺ razmjenjivača, jer za svaki Na⁺ što ga ubaci u stanicu, izbacuje jedan H⁺ i neutralizira još jedan H⁺. Ako je dostupan HCO₃⁻ (a obično jest), to je najvažniji mehanizam nadzora nad citosolnim pH. Kad god se pH citosola smanji, aktivnost tih razmjenjivača iona odmah se pojača. Membrane glija stanica središnjeg živčanog sustava imaju i

treću vrstu razmjenjivača iona, za suprenošenje Na⁺ i HCO₃⁻. Djelovanjem tog nosača, uz jedan Na⁺ u glija stanicu ulaze dva (ili više) HCO₃⁻. Prema tome, taj je nosač elektrogen (za razliku od dva prethodno opisana) i omogućuje neto povećanje količine negativnog naboja u glija stanici. No, usporedno s povećanjem negativnosti, slabi aktivnost nosača - to znači da je pH u stanicama što posjeduju takve nosače osjetljiv na promjene membranskog potencijala. Ta osjetljivost omogućuje glija stanicama da lakše reguliraju lokalni izvanstanični pH u mozgu i tako isprave odstupanja nastala uslijed električne aktivnosti neurona.

Brojnost, vrste i raspored ionskih kanala određuju električnu vodljivost membrane neurona

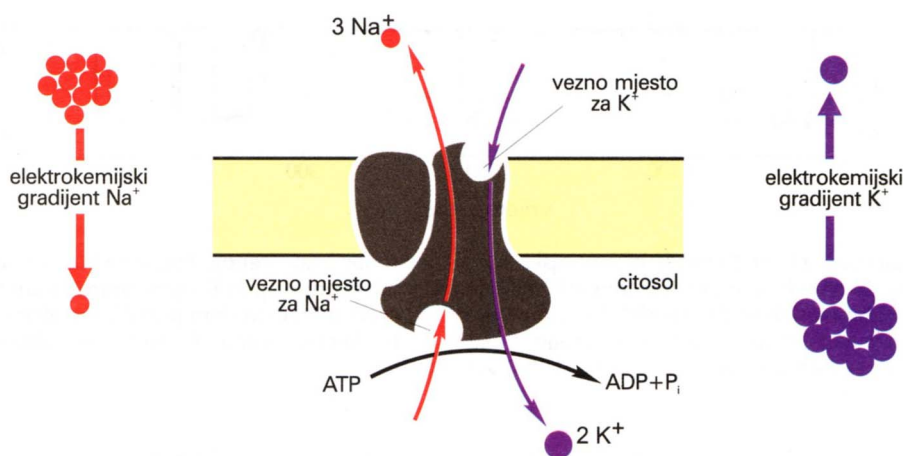
Ionski kanali omogućuju pasivnu difuziju anorganskih iona kroz membranu

Ionski kanali su hidrofilne proteinske pore što se protežu kroz cijelu staničnu membranu i tako povezuju citosol s izvanstaničnom tekućinom, omogućujući prolazanje anorganskih iona (uglavnom Na⁺, K⁺, Ca²⁺ i Cl⁻) kroz membranu u skladu s odgovarajućim elektrokemijskim gradijentom. Stoga je riječ isključivo o pasivnom prenošenju iona kroz membranu, što je vrlo slično slobodnoj difuziji - u jednoj sekundi, kroz otvoreni ionski kanal može proteći i do sto milijuna iona, pa kanali očigledno djeluju 1000 puta brže od najbržeg nosača. Pored toga, ioni su električki nabijeni, pa naglo protjecanje velike količine iona kroz membranu stvara znatnu bioelektričnu struju i time mijenja membransku ekscitabilnost.

Dva bitna svojstva ionskih kanala su ionska selektivnost i postojanje "vrata"

Za razliku od običnih vodenastih pora, ionski kanali imaju dva bitna svojstva:

- Ionsku selektivnost**, što znači da kroz kanal prolazi samo određena vrsta iona, odgovarajuće veličine i naboja. Vjeruje se da je kanal toliko uzak da kroz njegovo "usko grlo" ioni mogu proći jedino jedan za drugim (a ne dva ili više usporedno) te da prije toga moraju odbaciti najveći dio



Slika 7-4. Na⁺-K⁺ ATPaza prenosi Na⁺ i K⁺ kroz staničnu membranu nasuprot njihovim elektrokemijskim gradijentima. Hidrolizom jedne molekule ATP, crpka dobije energiju za izbacivanje 3 Na⁺ iz stanice uz istodobno ubacivanje 2 K⁺ u stanicu. Uabain blokira rad crpke tako što se veže na vezno mjesto za K⁺. Nacrtano, uz manje izmjene, prema Alberts i sur. (1994).

svojem hidratacijskog ovoja. Stoga, kad se povećava koncentracija iona s jedne strane membrane, isprva se razmjerno povećava i njegovo protjecanje kroz kanal, ali samo do određene najveće vrijednosti - drugim riječima, kanal ima svojstvo zasićenja (saturacije).

b) **Ionski kanal ima "vrata"** - kanal nije poput obične pore stalno otvoren, nego se zakratko otvori i zatim opet zatvori. Na engleskom jeziku, vrata su "gate" pa se onda jedinstvena riječ, "gating" rabi za opis i otvaranja i zatvaranja tih vrata, tj. kanala. Mi, nažalost, nemamo primjerene riječi (sviđa li vam se "vratarenje?") pa govorimo o otvaranju i zatvaranju kanala ili jednostavnije o "regulaciji ili kontroli" kanala - to se odražava u nazivlju vrsta ionskih kanala.

Specifični podražaji otvaraju i zatvaraju "vrata" različitih ionskih kanala

"Vrata" se najčešće otvore samo u odgovoru na specifični podražaj, a glavne su vrste takvih podražaja promjene napona tj. membranskog potencijala, mehaničke sile, vezanje izvanstaničnog liganda tj. signalne molekule, te vezanje unutarstanične glasnike molekule (npr. iona ili nukleotida). Stoga ionske kanale, ovisno o mehanizmu što nadzire njihovo otvaranje ili zatvaranje, dijelimo u sljedeće skupine:

1. **Naponski kanali**, tj. kanali regulirani naponom (engl. voltage-gated channels).
2. **Kanali-receptori**, tj. kanali regulirani ligandom (engl. ligand-gated channels) - ligand je signalna molekula što se veže na zasebno vezno mjesto izvanstaničnog ili unutarstaničnog dijela receptora, tj. kanala; stoga na temelju vrste i mjesta djelovanja liganda razlikujemo sljedeće podvrste kanala-receptora:
 - a) **Kanali regulirani neurotransmiterom** (engl. transmitter-gated channels) - to su zapravo neurotransmiterski receptori smješteni na vanjskoj strani neuronske membrane, a ionski kanal je integralni dio takvog receptora (vezanje neurotransmitera za receptor izravno uzrokuje otvaranje ili zatvaranje ionskog kanala),
 - b) **Kanali regulirani unutarstaničnim ionom** (engl. ion-gated channels);
 - c) **Kanali regulirani unutarstaničnim nukleotidom** (engl. nucleotide-gated channels).
3. **Kanali regulirani mehaničkim naprezanjem** (engl. mechanically gated channels).

Pored toga, aktivnost mnogih ionskih kanala dodatno reguliraju procesi fosforilacije i defosforilacije njihovih proteina, posredstvom specifičnih enzima; na kanale mogu izravno djelovati i trimerni G-proteini.

Otvaranje i zatvaranje kanala zapravo su promjene konformacije kanalnog proteina

Svi poznati ionski kanali zapravo su alosterički proteini. Oni imaju dva (ili više) relativno stabilna konformacijska stanja, pri čemu svako konformacijsko stanje odgovara različitom funkcionalnom stanju. Prelaženje kanalnog proteina iz jednog u drugo konformacijsko stanje slikovito se opisuje kao otvaranje ili zatvaranje kanala (engl. gating); te su promjene uzrokovane gore opisanim specifičnim signalima, što djeluju kao alosterički modulatori. Tri glavna konformacijska, tj. funkcionalna stanja kanala su:

- a) **otvoreno (aktivirano)** - ioni prolaze kroz otvoreni kanal;
- b) **zatvoreno ili mirujuće (deaktivirano)** - kanal je zatvoren, ali se lako može otvoriti djelovanjem alosteričkog modulatora, tj. signalne molekule;
- c) **refrakterno (inaktivirano)** - kanal je zatvoren (nakon prethodne aktivacije) i neko se vrijeme ne može otvoriti djelovanjem alosteričkog modulatora.

Brzina prelaženja iz jednog u drugo konformacijsko stanje ovisi o naravi alosteričkog signala. Na primjer, naponski kanali se gotovo trenutno otvore, ostaju otvoreni nekoliko milisekundi, potom se zatvore i u tom stanju ostaju nekoliko milisekundi, pa se opet otvore. Neke ionske kanale mogu blokirati drugi ioni. Međutim, različiti egzogeni ligandi (npr. lijekovi, droge, toksini) mogu alosterički modulirati kanal i bitno promijeniti trajanje pojedinih konformacijskih stanja. Neki od tih spojeva održavaju kanale otvorenima, no većina djeluje tako da kanale održavaju zatvorenima. Ti egzogeni ligandi mogu djelovati kao kompeticijski ili nekompeticijski (alosterički) inhibitori. **Kompeticijski inhibitori** vežu se na isto mjesto na koje i prirodni (endogeni) ligand i to ili reverzibilno (tako npr. otrov kurare blokira nikotinski kanal-receptor u neuromišićnoj sinapsi) ili ireverzibilno (tako npr. zmijski otrov alfa-bungarotoksin blokira nikotinski kanal-receptor u neuromišićnoj sinapsi). **Nekompeticijski (alosterički) inhibitori** vežu se na zasebno vezno mjesto i promijene konformaciju kanala, što znači da na otvaranje i zatvaranje kanala djeluju neizravno; takvi inhibitori mogu djelovati ne samo na kanale-receptore, nego i na naponske ili mehanički nadzirane kanale.

Različiti dijelovi neuronske membrane imaju različite ionske kanale

Ionski kanali čine podlogu električne ekscitabilnosti mišićnih i živčanih stanica i posreduju većinu oblika električne signalizaciju u živčanom sustavu. Membrana tipičnog neurona sadrži 10 ili više različitih vrsta ionskih kanala, što su različito raspodijeljeni u različitim morfološkim dijelovima neurona (dendritima, tijelu neurona, početnom segmentu aksona, aksonu, sinaptičkoj zoni itd.). Drugim riječima, dijelovi neurona što imaju različite signalne funkcije, razlikuju se po vrstama, brojnosti i gustoći rasporeda ionskih kanala.

Da zaključimo: ionski kanali imaju ključnu ulogu u međustaničnoj signalizaciji u živčanom sustavu. Aktivnost ionskih kanala može se promijeniti pod utjecajem metaboličkih reakcija (npr. fosforilacije kanalnog proteina), drugih iona što djeluju kao blokatori kanala, te toksina, otrova, droga i lijekova. Štoviše, ionski kanali mogu biti selektivno pogođeni različitim bolestima. Na primjer, neke autoimune bolesti (myasthenia gravis, Lambert-Eatonov sindrom) selektivno oštećuju nikotinske kanale-receptore za neurotransmiter acetilkolin u neuromišićnoj sinapsi. Upoznavanjem mehanizma regulacije različitih ionskih kanala te razlika u raspodjeli ionskih kanala u različitim područjima središnjeg živčanog sustava (ili u aksonima, dendritima i somi pojedinačnih neurona!) pruža nam se mogućnost razvijanja selektivnih i moćnih lijekova za različite neurološke i psihijatrijske bolesti.

Dodatak:

Pregled glavnih vrsta ionskih kanala reguliranih naponom
Ionski kanali regulirani naponom imaju slična strukturno-funkcionalna svojstva

Naponski ionski kanali omogućuju stvaranje vođenih električnih signala u neuronima i drugim ekscitabilnim stanicama. Povećanje ionske propusnosti tih kanala (tijekom depolarizacije i/ili repolarizacije) odvija se u dvije faze:

a) Propusnost za Na⁺, Ca²⁺ i K⁺ isprva se naglo poveća i takva ostaje tijekom razdoblja što (ovisno o vrsti neurona i kanala) može trajati od 0,5 do nekoliko stotina milisekundi - riječ je o aktivaciji kanala;

b) propusnost kanala za ione potom se vraća na bazalnu razinu, tijekom razdoblja što može trajati od 2 milisekunde do nekoliko sekundi - riječ je o inaktivaciji kanala.

Kad su kanali otvoreni (aktivirani), ioni kroz sve njih prolaze brzinom što je gotovo jednaka brzini kretanja tih iona u slobodnoj otopini. No, ionska selektivnost kanala je različita - primjerice, Na-kanali su 12 puta selektivniji za Na⁺ nego za bilo koji drugi ion, dok su Ca-kanali 1.000 puta selektivniji za Ca²⁺ nego za druge ione.

Sve tri vrste naponskih kanala (za Na⁺, K⁺ i Ca²⁺) imaju sličnu temeljnu strukturu glavnih (a) podjedinica: a-podjedinice sastoje se od 4 homologne transmembranske domene što okružuju središnju poru kanala, a svaka domena ima 6 transmembranskih a-zavojnica (S1-S6).

Međutim, kod K-kanala svaka je domena proizvod zasebnog gena i funkcionalni je kanal homo- ili heterotetramer, dok su kod Na-kanala i Ca-kanala sve četiri domene dio jedne jedine funkcionalne a-podjedinice, pa ta ima čak 24 transmembranske zavojnice i sadrži više od 2.000 aminokiselinskih ostataka (sl. 7-11). Iako svaki kanal ima i pridružene regulacijske podjedinice, glavne a-podjedinice sadrže sve strukturne elemente prijeko potrebne za funkciju kanala (tj. oblikuju stijenke pore i sadrže "senzora napona" te veznja mjesta za alosteričke modulatore).

Promjena membranskog potencijala aktivira kanal tako što promijeni konformaciju njegovih podjedinica i otvori transmembransku poru u središtu kanala. U tom procesu, ključnu ulogu ima tzv. "senzora napona" (na kojeg djeluje električna sila), a to je u svim kanalima S4 (četvrta transmembranska a-zavojnica svake domene). elektrofiziološkim pokusima, kretanje na-boja povezano s promjenom konformacije kanalnih proteina može se zabilježiti kao slaba i vrlo kratkotrajna početna struja (tzv. "struja otvaranja kanala" - engl. gating current), iza koje slijedi mnogo veća struja što je izraz stvarnog protjecanja iona kroz kanal (tzv. struja pojedinačnog ionskog kanala ili "jedinica struja" - engl. unitary current). Snimanje struje pojedinačnog ionskog kanala moguće je samo posebnom metodom priljubljene elektrode (engl. patch-clamp) - upravo je ta metoda omogućila suvremenu klasifikaciju naponskih ionskih kanala, što je ovdje sažeto prikazano. Prije toga, metodom "prikovanog" napona (engl. voltage-clamp) bilo je moguće zabilježiti tek skupnu struju svih aktiviranih istovrsnih ionskih kanala cijele stanice (tzv. makroskopske struje, integralne transmembranske struje ili "struje cijele stanice" - engl. whole-cell current). U metodi priljubljene elektrode, vatrom ispolirani vrh staklene mikroelektrode pažljivo i nježno pritisnemo uz staničnu membranu. Vrh elektrode se tako tijesno priljubi uz membranu da taj djelić membrane postane električki izoliran od okoline; takav djelić membrane obično sadrži jedan (ili nekoliko) funkcionalnih ionskih kanala što se otvaraju ili zatvaraju sukladno promjenama membranskog potencijala. Napon najčešće "prikujemo" uz neku odabranu vrijednost i tako održavamo konstantnim - tu vrijednost membranskog

potencijala obično nazivamo "pridržanim potencijalom" (engl. holding potential).

Niz različitih neurotoksina, lijekova i anorganskih kationa mogu se vezati za različita vezna mjesta kanalnih proteina i time bitno promijeniti funkciju naponskih ionskih kanala. Neki od tih spojeva blokiraju vanjsko (izvanstanično), a neki unutarnje (citosolno) ušće kanala.

Napokon, između S5 i S6 u svakoj transmembranskoj domeni, svi kanali imaju izvanstaničnu petlju što se "uvrne" u nutrinu kanalne pore, pa tako nastanu dva mala "intramembranska" odsječka (SS1 i SS2 - kratki valjci na sl. 7-11 i 7-12). Ti su odsječci ključni za ionsku vodljivost i selektivnost dotičnog kanala, jer su dio stijenke transmembranske pore i u izravnom su dodiru s ionima što prolaze kroz kanal. Na njihovu ključnu ulogu jasno ukazuju točkaste mutacije kanalnih proteina u području SS1 i SS2: primjerice, mutacija lizina na položaju 1422 i alanina 1714 (na mjesto pozitivno nabijenih ostataka lizina i alanina doprije negativno nabijeni glutamat) u Na-kanalu dovoljna je da temeljito promijeni ionsku selektivnost kanala - umjesto za Na⁺, kanal odjednom postane odabirno propusan za Ca²⁺!

Naponski Na-kanali

Naponski Na-kanali su transmembranski proteini sastavljeni od tri glavne podjedinice: a (260 kDa), b1 (36 kDa) i b2 (33 kDa). U mozgu, Na-kanal ima sve tri podjedinice, dok Na-kanal skeletnog mišića nema b2 podjedinice, a Na-kanal električnog organa električne jegulje sastoji se samo od a-podjedinice. Sve tri podjedinice su obilno glikozilirane (ugljikohidrati čine oko 25% ukupne mase), što znači da imaju dobro razvijene izvanstanične domene. Alfa-podjedinica je polipeptid dug 1832 aminokiseline, sastavljen od 4 homologne ponovljene domene (sl. 7-11). S biofizičkog gledišta, naponski Na-kanali neurona imaju jednu glavnu funkciju - stvaranje akcijskog potencijala. Te kanale imaju samo višestanične životinje, pa se stoga smatra da su oni evolucijska specijalizacija za brzu signalizaciju na veću udaljenost u organizmu. Sličnosti funkcija Na-kanala aksona, soma i dendrita su veće od njihovih razlika. Svi se brzo aktiviraju i inaktiviraju, a općenito vrijedi da se gotovo potpuno inaktiviraju kad depolarizacija membrane dosegne vrijednost od 0 mV ili veću.

Obilježja aktivacije: Na-kanali zatvoreni su pri potencijalu mirujuće membrane, ali se otvaraju (aktiviraju) unutar prve milisekunde nakon depolarizacije membrane, ostaju potom otvoreni najdulje nekoliko milisekundi (čak i ako se depolarizacija dulje održava!) i brzo se zatvore tj. inaktiviraju. Kad se membranski potencijal potom vrati na vrijednost u mirovanju, Na-kanali spremni su za ponovni ciklus aktivacije. Vodljivost jednog Na-kanala je mala i iznosi 10-20 pS.

Farmakološka svojstva: Mnogi prirodni toksini blokiraju ili na drugi način mijenjaju funkciju Na-kanala. Moćni blokatori kanala su tetrodotoksin (TTX) i saksitoksin (STX), a često ih rabimo u fiziološkim pokusima (za blokiranje kanala, za brojenje kanala u tkivu nakon što toksin označimo radioaktivnim izotopom, za identifikaciju kanalnih proteina tijekom kemijskog pročišćavanja tih proteina). TTX i STX blokiraju vođenje akcijskog potencijala (selektivni blok INa) u živcu i mišiću već u nanomolarnim koncentracijama.

TTX je paralizirajući otrov nekih riba iz reda Tetraodontiformes, a privukao je pozornost japanskih liječnika stoga što su neke od tih riba tamo prava poslastica, pa slasni objed ponekad završi smrću gurmana. STX je također paralizirajući toksin što ga sintetiziraju neki morski bičaši (Dysoflagellata, rod Gonyaulax). Ponekad se na tihooceanskim obalama Amerike ti bičaši toliko namnože da more "procvjeta" i postane crvenkasto obojeno (tzv. "crvene plime"). [koljke se prežderu tih bičaša toliko da postanu zagađene njihovim otrovom, a kako kuhanje ne razara toksin, čovjek može umrijeti već ako pojede jednu takvu školjku. Naziv "saksitoksin" i potječe od latinskog imena roda školjaka (Saxidomus - engl. Alaskan butter clam) - drugi proširen naziv je "paralizirajući otrov školjaka". Različiti neurotoksini na Na-kanal djeluju na pet različitih mjesta:

- 1) toksini 1. mjesta: djeluju na citoplazmatskom ušću kanala i inhibiraju njegovo otvaranje tj. aktivaciju (ITX, STX, m-konotoksini),
- 2) toksini 2. mjesta: djeluju na hidrofobnu srž kanala unutar membrane i sprječavaju zatvaranje (inaktivaciju) kanala (veratridin, grajanotoksin, batrahotoksin),
- 3) toksini 3. mjesta: inhibiraju inaktivaciju kanala (a-toksini sjevernoafričkih škorpiona, neki toksini morskih meduza),
- 4) toksini 4. mjesta: mijenjaju ovisnost aktivacije o membranskom potencijalu (npr. b-toksini američkih škorpiona),
- 5) toksini 5. mjesta: uzrokuju trajnu aktivaciju Na-kanala i uzastopno odašiljanje akcijskih potencijala (npr. ciguatoksini).

Kako ste vjerojatno već uočili, prirodni neurotoksini ne samo da mogu blokirati Na-kanale, nego također mogu promijeniti kinetiku njihovog otvaranja i zatvaranja - tako primjerice djeluju toksini nekih škorpiona, otrovnih tropskih žaba ili insekticidne tvari mnogih biljaka. Takvi toksini mogu npr. povećati vjerojatnost da će se Na-kanali otvoriti ili da će ostati otvoreni. Uz- rokuju bol i smrt tako što potiču ponavljano okidanje živčanih impulsa ili trajnu depolarizaciju živca i mišića ili pak dovode do srčanih aritmija.

Toksini škorpiona i meduza (morskih anemona) su polipeptidi (jedan lanac od 27-70 aminokiselinskih ostataka), što kompeticijski i reverzibilno djeluju na Na-kanale. Klasični učinak toksina na živac je izraženo produljenje akcijskih potencijala zbog vrlo usporene inaktivacije Na-kanala; time toksini pojačavaju ekscitaciju neurona. To je glavni učinak ovakvih toksina, ali otrovi nekih škorpiona imaju još dva dodatna učinka: a) blokiranje K-kanala što su "odgođeni ispravljači" (vidi niže) i b) promjena aktivacije Na-kanala pri kojoj Na-kanal ostaje otvoren stotinama milisekundi i pri potencijalu mirujuće membrane. Takav toksin onda uzrokuje okidanje dugih nizova ponavljanih akcijskih potencijala.

Alkaloidi biljaka rodova Aconitum i Veratrum (akonitin i veratridin) vrlo su otrovni i uzrokuju srčani zastoj, odašiljanje naknadnih potencijala i ponavljanih akcijskih potencijala u živcu. Primjerice, urođenici Himalaja rabe gomolj biljke Aconitum ferox za pripremu otrova kojim premažu strelice za ubijanje lovine. U tu skupinu toksina ubrajamo i batrahotoksin (BTX) tj. otrov kolumbijske otrovne žabe (kojeg urođenici također rabe za premazivanje strelica), potom piretrine (insekticidni spojevi krizantema), grajanotoksine (insekticidni spojevi iz rododendrona i srodnih biljaka). Svi ti otrovi otvaraju Na-kanale već pri

mirujućem potencijalu, a taj je učinak najbolje proučen u slučaju akonitina i batrahotoksina. Naime, Na-kanali smješteni u Ranvierovom suženju aksona otvore se kad se membrana depolarizira na potencijal pozitivniji od -50 mV. Međutim, nakon primjene akonitina, Na-kanali otvaraju se čak i pri membranskom potencijalu od -90 mV. Dakle, akonitin "pomakne" ovisnost aktivacije Na-kanala o membranskom potencijalu u smjeru negativnijih potencijala (od -50 mV na -90 mV).

U liječenju epilepsije, antikonvulzivni učinak može se ostvariti na dva temeljna načina: a) pospješivanjem inhibicijskog sinaptičkog učinka neurotransmitera GABA ili b) blokiranjem Na-kanala odgovornih za nastanak akcijskih potencijala. Prvi učinak imaju npr. barbiturati i benzodiazepini, što djeluju na GABA-A receptore. Međutim, dva značajna lijeka za liječenje epilepsije, 5,5-difenilhidantoin (DPH, fenitoin) i karbamazepin (CBZ) djeluju upravo na naponske Na-kanale. Na-kanali mogu biti u tri stanja: otvorenom, zatvorenom i inaktiviranom. DPH i CBZ vežu se za Na-kanale kad su oni u inaktiviranom stanju i to stanje stabiliziraju; tako se kanal ne može vratiti u zatvoreno stanje i potom otvoriti pri sljedećoj depolarizaciji. Naime, prijelaz kanala u aktivirano tj. otvoreno stanje moguć je iz zatvorenog, ali ne i iz inaktiviranog stanja; ciklus kinetike kanala je ovakav: otvoren u prvoj fazi depolarizacije - inaktiviran tijekom daljnje depolarizacije - zatvoren tijekom repolarizacije - otvoren tijekom ponovne depolarizacije.

Naponski K-kanali

Membrana aksona ima samo jednu vrstu naponskih K-kanala (tzv. "odgođeni ispravljač" - vidi niže), no druge ekscitabilne membrane posjeduju niz različitih vrsta K-kanala. Otvoreni K-kanali stabiliziraju membranski potencijal, što znači da ga primiču ravnotežnom potencijalu K⁺ (EK) i odmiču ga od praga okidanja živčanog impulsa. Uloge svih vrsta K-kanala povezuje su s tom stabilizacijom. Različiti K-kanali podešavaju potencijal u mirovanju, održavaju brze akcijske potencijale kratkotrajnima, dovršavaju razdoblja intenzivne aktivnosti, usporavaju brzinu uzastopnog okidanja živčanih impulsa, te općenito smanjuju ekscitabilnost neurona kad su otvoreni. Primjerice, jedan piramidni neuron u CA1 području hipokampusa može imati šest različitih K-kanala u svojoj membrani, a svi oni skupno utječu na ekscitabilnost tog neurona!

Kako je koncentracijski gradijent za K⁺ usmjeren suprotno od onog za Na⁺ i Ca²⁺, kad depolarizacija membrane otvori K-kanale dolazi do istjecanja K⁺ iz stanice. Kako ćete vidjeti u 8. poglavlju, to istjecanje K⁺ u aksonu ima ključnu ulogu u povratku membran-skog potencijala na mirujuću vrijednost nakon vođenja živčanog impulsa. Ne samo u aksonu, nego u cijelom neuronu (i somi i dendritima) K-kanali imaju ključnu ulogu u povratku membranskog potencijala na mirujuću vrijednost nakon razdoblja pojačane aktivnosti - kad ne bi bilo tih K-kanala, utjecanje Na⁺ i Ca²⁺ tijekom aktivacije neurona dovelo bi do prekomjerne električne aktivnosti i trajnih epileptičkih napada. [toviše, nagomilavanje Ca²⁺ bilo bi posebno štetno zbog ključne i precizno regulirane uloge Ca²⁺ u brojnim unutarstaničnim procesima (vidi 9. poglavlje). Stoga je razumljivo da neuroni posjeduju mehanizme za "uključivanje" K-kanala nakon utjecanja Ca²⁺ u citoplazmu

(primjer: kalcijem regulirani K-kanali). Međutim, u slučajevima kad su za signalizaciju potrebni produljeni impulsi, neuron također posjeduje mehanizme za "isključivanje" K-kanala (naime, aktivirani K-kanali onemogućuju produljenu depolarizaciju). U sljedećim odlomcima opisujemo nekoliko glavnih vrsta naponskih K-kanala, razvrstanih na temelju elektrofizioloških i farmakoloških svojstava. U zagradama iza imena kanala navedena je oznaka za odgovarajuću struju kalijevih iona u elektrofiziološkom zapisu (npr. ionsku struju što teče kroz otvorene KA-kanale označavamo s IK(A)). KA -IK(A), A-kanali: ti su kanali zatvoreni pri membranskom potencijalu mirujućeg neurona, a tijekom depolarizacije kroz njih nakratko protječe ionska struja IK(A) što se naglo inaktivira (prolazna struja prema van). Drugim riječima, A-kanali se aktiviraju tijekom depolarizacije nakon razdoblja hiperpolarizacije i potom se naglo inaktiviraju (za manje od 100 ms); inaktivacija je potpuna pri potencijalima pozitivnijim od -50 mV. Stoga IK(A) struje imaju bitnu ulogu u neuronima što u odgovoru na trajniju depolarizaciju odašilju uzastopne živčane impulse, a bitne su i u nadzoru nad ekscitabilnošću aksonskog završetka. U nekim neuronima, raznoliki metabotropni receptori aktiviraju IK(A) struju, pa time hiperpolariziraju membranu i inhibiraju prijenos impulsa. Inhibitori A-kanala su 4-aminopiridin (4-AP) i dendrotoksini (DTx) iz zmijaških otrova (a-, b-, g- i d-DTx iz otrova istočne zelene mambe, Dendroaspis angusticeps, te DTxI iz otrova crne mambe, Dendroaspis polyepis). KV - IK(V) "odgođeni ispravljači" (IK, IDR): to su klasični K-kanali opisani na divovskom aksonu lignja; njih depolarizacija aktivira nakon kratke odgode (stoga engl. nazivi delayed rectifiers, delayed outward K⁺ current), a potom se sporo inaktiviraju. Vodljivost jednog kanala je oko 10 pS. Glavna uloga ovih kanala je dovršavanje (prekidanje) akcijskih potencijala (vidi 8. poglavlje). No, valja naglasiti da tih K-kanala nema u membrani Ranvierovih suženja aksona - na tim mjesti- ma do repolarizacije membrane dolazi uslijed inakti-vacije Na-kanala (vidi 8. poglavlje). Te kanale selektivno blokiraju: ion tetracilamonija (TEA), 4AP, fenciklidin, faloidin. KIR - IK(IR) "Ispravljači prema unutra" (engl. inward rectifiers) tj. "anomalni ispravljači" (engl. anomalous rectifiers) (IAR, u srcu IK1): Bernard Katz je 1949. na preparatu skeletnog mišića otkrio da se vodljivost membrane za K⁺ povećava tijekom hiperpolarizacije, a smanji tijekom depolarizacije. To je upravo obrnuto od promjena vodljivosti membrane za K⁺ tijekom repolarizacijske faze akcijskih potencijala, a također nije očekivano s obzirom na činjenicu da je koncentracija K⁺ veća u stanici nego izvan nje. Kad membrana struju propušta u jednom smjeru lakše nego u drugom, kažemo da djeluje poput električnog ispravljača, a pojavu nazivamo ispravljanje (rektifikacija). Stoga je i Katz tu neobičnu pojavu nazvao anomalna rektifikacija (= rektifikacija prema unutra - engl. inward rectification). Ti su kanali "anomalni" stoga što se zatvaraju s depolarizacijom, a otvaraju jedino kad je membrana hiperpolarizirana iznad razine mirujućeg potencijala - tada K-struja teče prema unutra (i time potencijal membrane pomiče prema EK), pa odatle i naziv "ispravljač prema unutra". Uočite da se svi prethodno opisani K-kanali otvaraju tijekom depolarizacije, a ovdje je obrnuto - no, u oba slučaja, aktivnost kanala pomiče membranski potencijal prema ravnotežnom potencijalu kalijevih iona (EK).

Dakle, danas znamo da anomalnu rektifikaciju omo-gućuju posebni K-kanali, što se "isključuje" tijekom de-polarizacije, a "uključuje" tijekom hiperpolarizacije. To organizam vrlo svrhovito koristi u nizu fiziološki zna-čajnih procesa: a) u srčanom mišiću ti K-kanali pridonose stvaranju akcijskih potencijala s vrlo dugim platoima, b) u skeletnom mišiću to pomaže unutarnjem širenju ekscitacije kroz sustav poprečnih tubula i pridonosi smanjenju hiperpolarizacije tubularne membrane (koju stvara elektrogena Na⁺ crpka), c) u glija stanicama to pridonosi puferiranju K⁺ oslobođenih tijekom neuronske aktivnosti, d) u neuronima, taj porast membranskog otpora što prati depolarizaciju, pridonosi zbrajanju i oblikovanju ekscitacijskih postsinaptičkih potencijala i tako pospješuje facilitaciju.

Kako se vidi, u anomalnoj rektifikaciji vodljivost za K⁺ velika je kad je membranski potencijal negativniji od ravnotežnog potencijala za K⁺ (dakle, tijekom hiperpolarizacije). Ta se pojava barem dijelom temelji na činjenici da su Mg²⁺ smješteni u unutarnjem (citoplazmi) ušću ovog K-kanala i tako ga blokiraju, a iz ušća "iskoče" tek tijekom hiperpolarizacije (pa se kanal otvori). Uz opisane naponske K-kanale, valja još spomenuti K-kanale aktivirane ionima kalcija tj. BK- i SK-kanale; na temelju vodljivosti i osjetljivosti na neurotoksine, razlikujemo dvije vrste takvih kanala. BKCa - IBK(Ca), BK-kanali: ti kanali imaju veliku vodljivost (100-250 pS - stoga BK od engl. Big conductance K-channels), inhibira ih karibdotoksin (iz otrova škorpiona Leirus quinquestriatus), a aktiviraju ih depolarizacija i/ili povećanje koncentracije Ca²⁺ u citoplazmi. SKCa - ISK(Ca), SK-kanali: ti kanali imaju malu vodljivost (6-14 pS - stoga SK od engl. Small conductance K-channels), inhibira ih apamin iz pčelinjeg otrova, a aktivira ih povećanje koncentracije Ca²⁺ u citoplazmi. SK-kanali su odgovorni za "naknadnu hiperpolarizaciju" neurona, do koje dolazi nakon niza akcijskih potencijala.

Naponski Ca-kanali

Naponski Ca-kanali uključeni su u niz ključnih funk-cija, od kojih zasad ističemo dvije: združivanje mem-branske ekscitabilnosti s unutarstaničnim procesima (vidi 9. poglavlje) i nadzor nad egzocitozom neurotransmitera iz presinaptičkog aksonskog završetka (10. poglavlje). I naponske Ca-kanale razvrstavamo prema biofizičkim svojstvima i farmakološkoj osjetljivosti, prema sljedećim kriterijima:

- prag aktivacije: Ca-kanali niskog praga aktiviraju se već pri maloj depolarizaciji (pri membranskom po-tencijalu vrijednosti -60 do -40 mV). Opće oznake za te kanale su stoga LT (engl. Low-Threshold) ili LVA (engl. Low-Voltage Activated) kanali. Ca-kanali visokog praga aktiviraju se tek pri jačoj depolarizaciji, a opće oznake za njih su stoga HT (engl. High-Threshold) ili HVA (engl. High-Voltage Activated).
- postojanje inaktivacije: neki Ca-kanali se inaktiviraju, a neki se ne inaktiviraju (stoga ti posljednji mogu uzrokovati produljeno utjecanje Ca²⁺ u neuron). Nadalje, metoda priljubljene elektrode (na temelju veličine struje pojedinačnog kanala i kinetike aktiva-cije/inaktivacije) omogućila je podjelu naponskih Ca-kanala na tri glavna tipa: T, N i L kanale. Pritom, T je oznaka za malu struju (engl.

Tiny current) i prolaznu (engl. Transient) aktivaciju - ti kanali imaju niski prag, malu vodljivost i brzu inaktivaciju; L je oznaka za veliku (engl. Large) i dugotrajnu (engl. Long-lasting) struju - ti kanali imaju visok prag, veliku vodljivost, a nemaju inaktivaciju; N je oznaka za kanale koji nisu ni T ni L (engl. Neither T nor L) a jesu neuronski (engl. Neuronal) - ti kanali imaju visok prag i srednju vodljivost. Kasnije su otkriveni i P-kanali (vidi niže i tablicu 7-1).

T-kanali: T-kanali se aktiviraju već pri maloj depolarizaciji, imaju malu vodljivost (8 pS), a brzo se inaktiviraju. Za te kanale nemamo specifičnih antagonista tj. blokatora. Imaju ih i ekscitabilne i ne-ekscitabilne stanice

L-kanali: Odavno je poznato da jedna vrsta Ca-kanala služi otpuštanju Ca^{2+} iz sarkoplazmine mrežice skeletnog mišića i da je osjetljiva na sintetske organske spojeve 1,4-dihidropiridine (DHP). Stoga je taj Ca-kanal nazvan DHP-receptorom. Danas znamo da je to za- pravo Ca-kanal L-tipa. Ti L-kanali su od ključnog značenja za združivanje ekscitacije i kontrakcije u skeletnom, srčanom i glatkom mišiću (stoga se antagonisti DHP tj. blokatori L-kanala rabe u liječenju hipertenzije). No, L-kanala ima ne samo u skeletnom i srčanom mišiću (gdje su najbrojniji) nego i u mozgu. Imaju veliku vodljivost (25 pS) i vrlo sporu, praktički nikakvu inaktivaciju. L-kanali neurona smješteni su u membrani some i početnog dijela dendrita, ali ih nema na pre- sinaptičkim aksonskim završecima. Najbolje je poznata struktura skeletnog L-kanala (sl. 7-12). Njegova α_1 -podjedinica veže i DHP i fenilalkilamine, a fosforilira je razne kinaze - ona je DHP-receptor. DHP mogu inhibirati (nifedipin, nitrendipin) ili aktivirati (Bay-K 8644) L-kanal. Fenilalkilamini (npr. verapamil) blokiraju centralnu poru kanala s citosolne strane (djeluju na S6 IV. domene). U neuronima, kalcineurin (fosfataza ovisna o kalciju) vjerojatno inaktivira L-kanale: povećanje koncentracije Ca^{2+} u citoplazmi aktivira kalcineurin, taj defosforilira kanal i time ga inaktivira (primjer regulacije Ca-kanala samim kalcijevim ionima).

N-kanali: Vodljivost N-kanala je oko 13 pS, a za njih je karakterističan dugi niz uzastopnih aktivacija, nakon čega slijedi nepotpuna inaktivacija. Prag aktivacije N-kanala je visok (potrebna je jaka depolarizacija do vrijednosti od barem -20 mV), a selektivno ih blokira omega-CTX GVIA. To je toksin iz otrova morskog puža (*Conus geographus*) što lovi ribice paralizirajući ih tim otrovom (inače, omega-toksini su toksini što djeluju na aksonske završetke).

P-kanali: Ca-kanali što su otporni i na DHP i na omega-CTX GVIA dosta su česti, posebice u membrani some neurona; to su P-kanali, jer su prvo otkriveni na Purkinjeovim stanicama malog mozga, a selektivno ih blokira omega-Aga IVA, otrov pauka *Agalenopsis aperta*. Nedavno je opisan novi, R-tip Ca-kanala, otporan na sve dosad poznate toksine Ca-kanala (stoga "R" za rezistentan), a imaju ga razne vrste neurona.

U središnjem živčanom sustavu sisavaca, u egzocitozu neurotransmitera iz presinaptičkih aksonskih završetaka nisu uključeni L-kanali, nego jedino N- i P-kanali (zajedno, ali u različitim omjerima, ovisno o moždanom području i vrsti neurotransmitera tj. aksonskog završetka).