

Biofizički temelji ekscitabilnosti: Membranski i akcijski potencijal

Biofizičari nastoje mehanizme stanične signalizacije razjasniti u okviru fizikalne kemije i znanosti o elektricitetu i za njih su bitna pitanja kretanje iona i promjene membranske propusnosti. Biofizičke metode temelje se na osjetljivim i opsežnim električkim mjerenjima, a omogućuju i izradu jednostavnih modela neuronskih membrana ("ekvivalentnih električnih krugova").

Sve promjene membranskog potencijala su uzrokovane složenim i precizno nadziranim kretanjima specifičnih iona kroz staničnu membranu, što se mogu protumačiti Hodgkin-Huxleyevom ionskom hipotezom, koju postupno obrazložimo u ovom poglavlju.

Kretanje iona kroz membranu mijenja membranski potencijal

Odavno je poznato da ioni imaju ključnu ulogu u ekscitabilnosti mišića i živca. Izvanstanična i unutarstanična tekućina sadrže iste vrste iona, ali u različitim koncentracijama. Ioni kroz staničnu membranu mogu proći na dva načina:

- krećući se pasivno (niz elektrokemijski gradijent) kroz otvorene ionske kanale;
- aktivnim prenošenjem kroz membranu (nasuprot djelovanju elektrokemijskog gradijenta), kad stanica održava točno određenu koncentraciju svakog iona u citoplazmi, trošeći energiju.

Ioni su električki nabijeni, a koncentracije su im različite s obje strane stanične membrane. Stoga je i električni potencijal na svakoj strani membrane različit, a tu pojavu nazivamo **membranski potencijal**. Signalne funkcije neurona temelje se na promjenama membranskog potencijala. No, pritom specifične promjene membranskog potencijala imaju specifično funkcionalno značenje (Dodatni okvir 8-1). Razmotrimo prvo dva bitna problema:

- Kako nastaje i kako se održava nejednaka raspodjela kationa i aniona u citoplazmi i izvanstaničnoj tekućini?
- Kako ta nejednaka raspodjela kationa i aniona omogućuje nastanak membranskog potencijala?

Donnanovi pokusi objašnjavaju nastanak i održavanje različite raspodjele iona

Kad su dvije ionske otopine različite koncentracije razdvojene membranom, brzina difuzije ovisi o propusnosti (permeabilnosti) membrane za dotičnu vrstu iona. Difuzija postupno izjednači koncentracije svih difuzibilnih i permeabilnih iona s obje strane membrane. No, kemičar F.G. Donnan je 1924. pokazao da se permeabilni ioni raspodjeljuju nejednako s obje strane membrane, ako je s jedne strane membrane nazočan veliki nepermeabilni organski ion. Primjenjivost Donnanovog modela na žive stanice razmotrimo na jednostavnom zamišljenom primjeru (sl. 8-2).

U prvoj fazi tog zamišljenog pokusa (1 na sl. 8-2), vodenu otopinu kalijevog klorida (KCl - što disocira na K⁺ i Cl⁻)

postavimo s obje strane membrane propusne i za K⁺ i za Cl⁻. Koncentracija KCl s obje strane membrane biti će jednaka (da bi se očuvala jednakost *kemijskih potencijala* s obje strane membrane); također će koncentracije K⁺ i Cl⁻ s obje strane membrane biti jednake, da bi se očuvala *električna neutralnost* s obje strane.

U drugoj fazi pokusa (2 na sl. 8-2), na jednu stranu dodamo veću količinu organskog aniona (A⁻) za kojeg je membrana posve nepropusna. Uz anion A⁻ dodajemo jednaku količinu kationa (K⁺) - iako K⁺ čuva elektroneutralnost unutar odjeljka u koji je ubačen A⁻, kemijski potencijal s obje strane membrane više nije jednak. Stoga dolazi do difuzije i K⁺ i Cl⁻ kroz membranu - naime, K⁺ se kreće niz svoj koncentracijski gradijent, a Cl⁻ ga prati da se očuva elektroneutralnost. Donnan je pokazao da se ta difuzija nastavlja sve dok se ne dosegne ravnoteža definirana sljedećom jednadžbom:

$$\frac{[K^+]_e}{[K^+]_i} = \frac{[Cl^-]_i}{[Cl^-]_e} \quad (8.1)$$

pri čemu su uglate zgrade standardni simbol za koncentraciju, "e" označava koncentraciju iona izvan stanice (tj. u odjeljku "e" na sl. 8-2; e = *exterior*), a "i" označava koncentraciju iona unutar stanice (tj. u odjeljku "i" na sl. 8-2; i = *interior*). (Sufikse "e" i "i" stalno ćemo koristiti za označavanje svega onog što se odnosi na izvanstaničnu tekućinu odnosno na unutrašnjost stanice - citoplazmu i aksoplazmu.) Na našem primjeru (2 na sl. 8-2), ravnoteža se uspostavi kad se izvorna koncentracija KCl (3 jedinice na svakoj strani) zamijeni s 2 jedinice unutra i 4 jedinice vani. Dakle, jednadžba što definira ravnotežu promijeni se od $3/3 = 3/3$ u 1. fazi na $4/8 = 2/4$ u 2. fazi.

Time je definirana **Donnanova ravnoteža**, s elektroneutralnošću na obje strane. Međutim, sustav sad još uvijek nije u *osmotskoj* ravnoteži, zbog suviška elektrolita unutar stanice, što "privlači" vodu da bi došlo do razrijeđenja elektrolita. Takav "privučeni" suvišak vode u fizikalno-kemijskim modelima uzrokuje tlak što se može izmjeriti ili kao hidrostatski ili kao osmotski tlak; no u živoj bi stanici takav tlak doveo do prskanja i smrti stanice. Stoga živa stanica svakako mora nadomjestiti nedostatak elektrolita u svojoj okolini (da bi spriječila vlastito osmotsko bubrenje i prskanje). Ono što čini živa stanica odgovara onom što bismo mi učinili u 3. fazi našeg zamišljenog pokusa (3 na sl. 8-2) - u izvanstanični odjeljak ("e" odjeljak) dodajemo NaCl. Stanica to isto postiže na dva načina:

- njezina je membrana relativno nepropusna za Na⁺ i
- stanica troši metaboličku energiju da izbací Na⁺ iz citoplazme u izvanstaničnu tekućinu. Tijekom evolucije to je očito bila probitačna strategija za morske beskralježnjake, jer more obiluje natrijevim kloridom. No, kopneni beskralježnjaci i kralježnjaci morali su stvoriti vlastito "unutarnje more" i neprekidno troše metaboličku energiju za očuvanje ionskog sastava tog

"unutarnjeg mora" tj. izvanstanične tekućine (a također i citoplazme).

Razmotrimo sada kako razlike u raspodjeli i koncentraciji iona uzrokuju razliku električnog potencijala kroz membranu.

Nernstova jednadžba pokazuje kako kretanje iona kroz membranu stvara razliku električnog potencijala

Kad neka tvar difundira kroz otopinu, sila što pokreće molekule iz područja veće u područje manje koncentracije jest *kemijska sila*. Kažemo da ta sila pokreće molekule niz njihov *gradijent koncentracije*, upravo kao što gravitacija kotrlja kamenje niz strminu. Takvo se kretanje matematički može opisati na nekoliko načina, od kojih ističemo dva:

- s obzirom na *brzinu kretanja* otopljene tvari (jednadžba protjecanja tj. fluksa) i
- s obzirom na *količinu rada* potrebnu da se suprotstavi kretanju otopljene tvari.

Pretpostavimo da je riječ o sustavu (stanici) u kojem membrana propusna za K^+ razdvaja dvije otopine (citoplazmu i izvanstaničnu tekućinu), a u njima je koncentracija K^+ različita (veća u citoplazmi, manja u izvanstaničnoj tekućini) (sl. 8-3). To znači da će kemijska sila pokretati K^+ prema van, niz njegov gradijent koncentracije. **Rad** (W_C) potreban da se suprotstavi toj kemijskoj sili, opisuje jednadžba

$$W_C = RT \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i} \quad (8.2)$$

pri čemu

R = opća plinska konstanta

T = apsolutna temperatura

$[K^+]_e$ i $[K^+]_i$ = koncentracije K^+ izvan i unutar stanice, izražene u molima.

Zasad samo nastojimo intuitivno shvatiti odnose, pa ćemo načas zanemariti jedinice ovih veličina (vidi Dodatni okvir 8-2). Dok K^+ difundira *prema van* kroz membranu, Cl^- difundira *prema unutra*, niz svoj gradijent koncentracije. To znači da se pojavljuje tendencija razdvajanja K^+ od pratećeg aniona. No, suprotni naboji se privlače, pa nastaje električna sila što "poteže" K^+ natrag u stanicu - prema Cl^- što utječu u stanicu. Rad (W_E), potreban da se suprotstavi toj električnoj sili, opisuje jednostavna jednadžba

$$W_E = FE \quad (8.3)$$

pri čemu

F = Faradayeva konstanta (mjera električnog naboja po molu tvari),

E = razlika električnog potencijala, mjerena u voltima i nastala uslijed razdvajanja naboja kroz membranu.

Kad je sustav u ravnoteži, neće biti neto kretanja ni K^+ ni bilo koje druge otopljene tvari, a kemijska sila što K^+ tjera iz stanice bit će u ravnoteži s električnom silom suprotnog usmjerenja, što K^+ povlači natrag u stanicu. Drugim riječima, dvije sile su izjednačene, što znači da možemo izjednačiti i jednadžbe (8.2) i (8.3), kako slijedi:

$$W_E = W_C$$

$$FE = RT \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i}$$

Jednadžbu (8.4) prvi je postavio Wilhelm Nernst (1888.), pa

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i} \quad (8.4)$$

je to **Nernstova jednadžba**; E je **Nernstov potencijal ili difuzijski potencijal**. Za bilo koju vrstu iona, E je potencijal pri kojem *nema neto protjecanja iona kroz membranu* - stoga je to i **ravnotežni potencijal** dotičnog iona. Neki jednostavno govore o membranskom potencijalu. No, u sljedećim odlomcima vidjet ćemo da membranski potencijal samo ponekad odgovara ravnotežnom potencijalu jednog iona (npr. u gliji, čija je membrana u mirovanju propusna samo za K^+), a uglavnom ima nešto drugačiju, zasebnu vrijednost, zbog toga što je membrana u mirovanju propusna za nekoliko vrsta iona (K^+ , Cl^- i u manjoj mjeri Na^+).

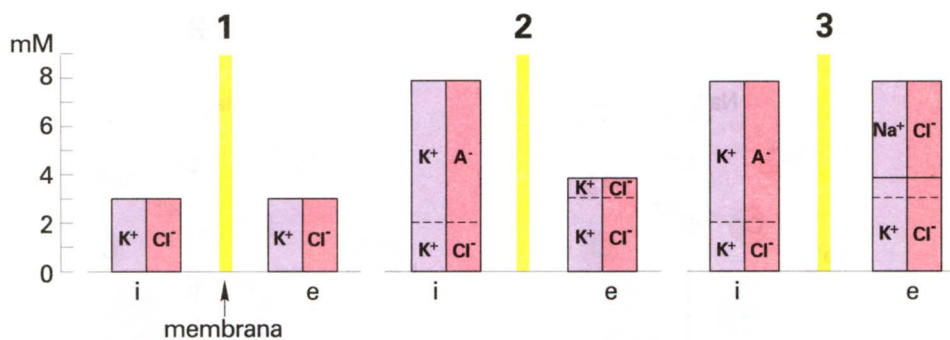
Membranski potencijal može se izravno izmjeriti na živom aksonu ili neuronu

Na temelju Nernstove jednadžbe razmotrili smo kako membranski potencijal *može* nastati. Julius Bernstein je 1902. pretpostavio da je membrana ekscitabilne stanice u mirovanju odabirno propusna samo za K^+ , a da se tijekom ekscitacije privremeno poveća njezina propusnost i za druge ione. Bernstein je pretpostavio da je potencijal mirujuće membrane jednak ravnotežnom potencijalu K^+ ($V_R = E_K = -75$ mV).

No, razlika potencijala kroz membranu žive stanice prvi put je stvarno izmjerena tek 1938/39., kad su Cole i Curtis (S.A.D.) i Hodgkin i Huxley (Velika Britanija) uspjeli u divovski akson lignja (sl. 8-4B) uzdužno ugrurati finu staklenu elektrodu i tako po prvi puta izmjeriti stvarni membranski potencijal. Štoviše, tek kad su 1946. Graham i Gerard izumili staklenu kapilarnu mikroelektrodu (s vrhom promjera manjeg od 1 μm), moglo se izmjeriti i membranski potencijal neuronske some (sl. 8-4A).

Membrana neurona propusna je za nekoliko vrsta iona

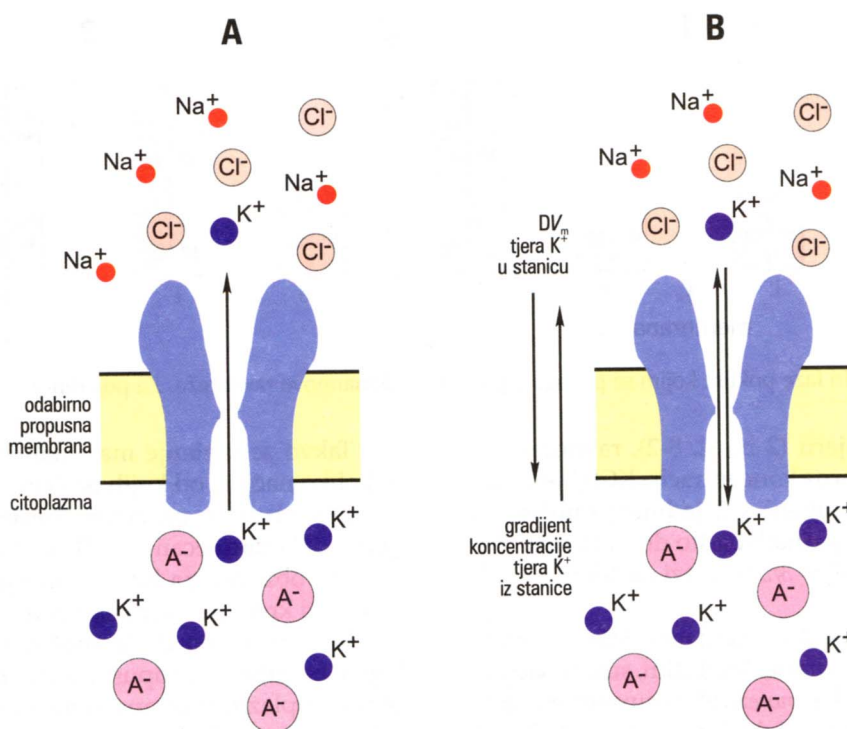
Mirujuća membrana glija stanica doista je odabirno propusna samo za K^+ , pa je membranski potencijal jednak ravnotežnom potencijalu K^+ (-75 mV) (sl. 8-5). Pritom gradijenti ostalih iona nisu bitni jednostavno zbog toga što ti ioni ne mogu proći kroz membranu. Međutim, mirujući potencijal membrane neurona različit je od E_K i obično iznosi -60 mV (sl. 8-5). Drugim riječima, ovdje membranski potencijal ovisi i o kretanju drugih iona kroz membranu (sl. 8-6). Primjenom intracelularnih mikroelektroda i mjerenjem protjecanja radioaktivno označenih iona kroz membranu, pokazano je da su to Na^+ i Cl^- .



Slika 8-2. Tri faze pokusa kojim se prikazuje postizanje Donannove ravnoteže. Za pojedinosti vidi tekst.

Pretpostavimo načas da je mirujuća membrana propusna samo za Na^+ . Tada bi njezin potencijal bio jednak ravnotežnom potencijalu Na^+ (E_{Na}), a to je prema Nernstovoj jednadžbi +55 mV (Dodatni okvir 8-2). No, kako je stvarni membranski potencijal u mirovanju -60 mV, očigledno je Na^+ daleko od ravnoteže (razlika 115 mV!) pa stoga postoji snažna elektrokemijska sila što bi uzrokovala pravu navalu Na^+ u stanicu, *kad bi* Na^+ -kanali bili otvoreni. Pretpostavimo sada da je mirujuća membrana propusna za K^+ (kao u prethodno opisanim slučajevima) i da je uz to *samo u manjoj mjeri* propusna za Na^+ . U tom slučaju, Na^+ što prodire u stanicu smanjuju polarnost membrane i pomiču

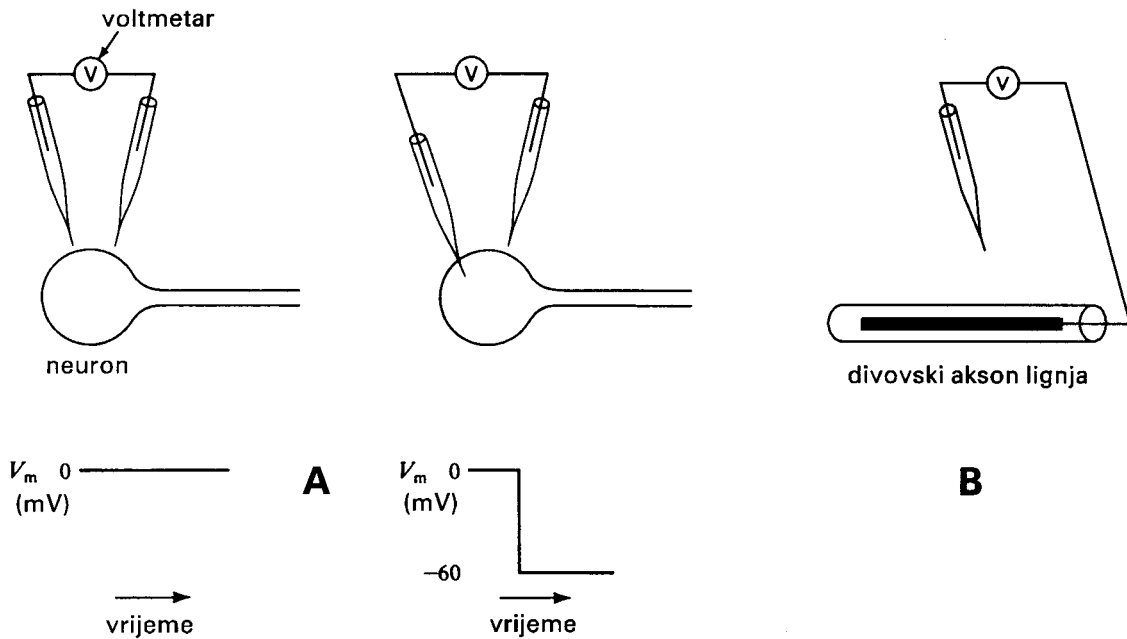
su utjecanje Na^+ i istjecanje K^+ *upravo uravnoteženi* - ta je vrijednost pozitivnija od E_K (>-75 mV) ali je još uvijek jako daleko od E_{Na} (+55 mV). Ta vrijednost je zapravo **potencijal mirujuće membrane** (V_R). Dakle, ako je mirujuća membrana samo slabo propusna za Na^+ , V_R je blago odmaknut od E_K u smjeru E_{Na} (sl. 8-6). Kako je dosegnuta baš ta točka ravnoteže? Prisjetite se da je *protok (flux) iona kroz membranu umnožak elektrokemijske sile i ionske propusnosti membrane* (sl. 8-7). Dok stanica miruje ($V_m = V_R$), otvoren je mali broj Na^+ -kanala, pa je propusnost za Na^+ vrlo mala. Zbog toga je i utjecanje Na^+ maleno, iako su velike i kemijska i električna sila što Na^+ nagone u stanicu. S



Slika 8-3. Membrana što bi u mirovanju propuštala jedino K^+ , pri čemu je koncentracija K^+ mnogo veća u stanici (A). Kemijska sila potiskuje K^+ iz stanice, ali se tome suprotstavlja električna sila suprotnog usmjerenja (B). Nacrtano, uz izmjene, prema Kandel i sur. (1991).

V_m u smjeru E_{Na} . Međutim, kako je u mirujućoj membrani otvoreno mnogo više K^+ -kanala nego Na^+ -kanala, V_m se zapravo *tek malo odmakne* od E_K i još uvijek ostaje daleko od E_{Na} . Jer, kad se jednom V_m počne odmicati od E_K , K^+ istječu iz stanice i time čine svojevrsnu protutežu utjecanju Na^+ . Što se više V_m odmiče od E_K , to veća elektrokemijska sila potiskuje K^+ van iz stanice (tj. povećava se istjecanje K^+). Napokon, V_m dosegne vrijednost (>-60 mV) pri kojoj

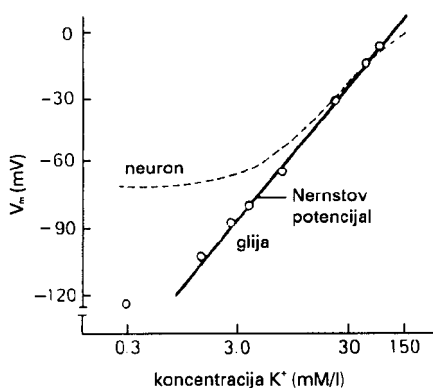
druge strane, gradijent koncentracije K^+ tek je malo veći od električne sile što djeluje u suprotnom smjeru. Ipak, zbog toga što je propusnost membrane za K^+ relativno velika, već mala neto sila prema van dovoljna je da potakne onoliko istjecanje K^+ iz stanice, koliko je dovoljno da uravnoteži opisano utjecanje Na^+ u stanicu (sl. 8-6). Naravno, kad bi opisano pasivno kretanje Na^+ i K^+ bilo jedini bitan proces, s vremenom bi se ionski gradijenti toliko



Slika 8-4. Mjerenje membranskog potencijala unutarstaničnom staklenom mikroelektrodom u neuronu (A) i uzdužno ugrađenom žičanom mikroelektrodom u divovskom aksonu lignja (B). Kad su obje mikroelektrode u izvanstaničnom prostoru, snimaju isti potencijal, pa na zaslonu katodnog oscilografa bilježimo jednu postojanu vrijednost potencijala i stoga mu pripisujemo vrijednost = 0. No, kad se jedna (mjerna) mikroelektroda ugura u somu neurona, naglo se pojavi razlika potencijala od 60 mV; kako je vrijednost unutarstaničnog potencijala manja od vrijednosti izvanstaničnog, snimljeni membranski potencijal ima negativni predznak (-60 mV).

smanjili da bi se V_R pretjerano smanjio ili čak posve izgubio. To stanica priječi neprekidno trošeći energiju (dobivenu hidrolizom ATPa) za pokretanje **elektrogene Na^+/K^+ ATPaze**, što nasuprot elektrokemijskim gradientima iz stanice izbacuje (u jednom ciklusu aktivnosti) 3 Na^+ dok istodobno u stanicu ubacuje 2 K^+ . Dosad smo zanemarivali ulogu **kloridnih iona** u stvaranju potencijala mirujuće membrane, iako je ona za te ione propusna. To je zbog toga što u mirujućoj membrani neurona nema neto protoka Cl^- kroz membranu (sl. 8-7). Naime, neuroni imaju kloridnu crpku što aktivno izbacuje Cl^- iz stanice,

trajnim nasuprotnim djelovanjem kloridne crpke. Odstupanja V_R od E_K su uglavnom uzrokovana malim "curenjem" Na^+ u stanicu, kako je ranije opisano. Ponovimo još jednom: protjecanje Na^+ i K^+ određuje vrijednost potencijala mirujuće membrane (V_R) - V_R je različit i od E_K i od E_{Na} , i negdje je između te dvije vrijednosti. Općenito je pravilo da, kad V_m određuju dvije ili više vrsta iona, utjecaj svake vrste iona određen je i njihovim koncentracijama u stanici i izvan nje i propusnošću membrane za te ione (Dodatni okvir 8-3). Taj odnos je pogodno kvantitativno izraziti GHK jednačžbom (Dodatni okvir 8-2), što uzima u obzir tri glavne vrste iona (Na^+ , K^+ i Cl^-) i njihove relativne permeabilnosti (P_{Na} , P_K , P_{Cl}), a temelji se na jednostavnoj i razumnoj pretpostavci da se električno polje (gradijent potencijala) unutar membrane ne mijenja - stoga jednačžbu često nazivamo *jednačžbom konstantnog polja*. Jednačžba vrijedi samo dok se V_m ne mijenja, a kazuje nam da je uloga dotičnog iona u određivanju membranskog potencijala to veća, što su veće njegova koncentracija i njegova membranska propusnost.



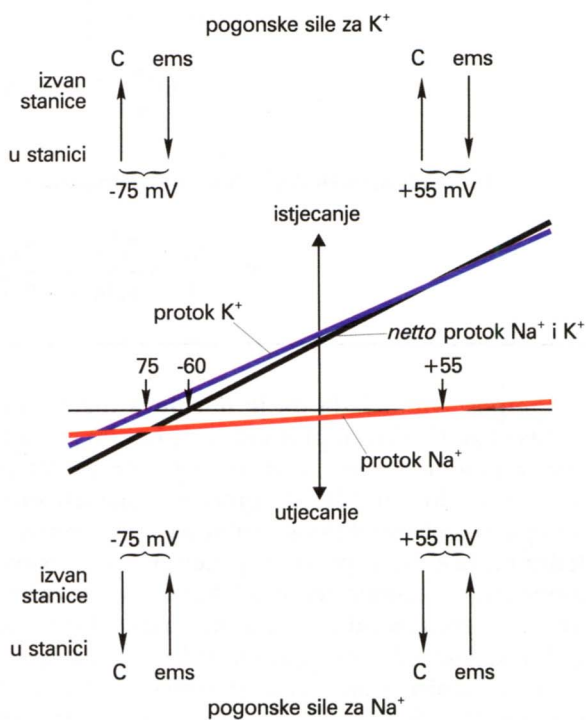
Slika 8-5. Odnos membranskog potencijala (V_m) i $[\text{K}^+]_e$ u neuronu i gliji (logaritamska ljestvica). U gliji, $V_m = E_K$, dok u neuronu V_m odstupa od E_K pri relativno malim koncentracijama K^+ u izvanstaničnoj tekućini. Prema Kandel i sur. (1991), uz dopuštenje.

tako da je omjer izvanstanične prema unutarstaničnoj koncentraciji Cl^- još veći nego što bi bio kad bi ga uzrokovala samo pasivna difuzija. Učinak tako povećanog gradijenta koncentracije Cl^- je takav da je E_{Cl} negativniji od V_R . To dovodi do stalnog "curenja" Cl^- u stanicu, što je uravnoteženo

Teorijom sržnog vodiča tumačimo pasivna električna svojstva membrane

Akson je sličan podmorskom telegrafskom kabelu

Pasivno širenje električnih signala u neuronu temelji se na pasivnim električnim svojstvima neuronske membrane. Riječ je o tzv. **kabelskim svojstvima** (jer sličje pasivnim električnim svojstvima podmorskog telegrafskog kabela). Naime, citoplazma neurona i izvanstanična tekućina su dobri vodiči (poput bakrene žice i morske vode), a lipidni dvosloj stanične membrane i mijelin služe kao izolacijska ovojnica (sl. 8-8). Baš zbog toga u analizi širenja subliminalnih električnih signala duž neurona rabimo jednačžbe i formule kojima je Lord Kelvin prvi opisao



Slika 8-6. V_R (potencijal mirujuće membrane) je potencijal pri kojem su utjecanje Na^+ u stanicu i istjecanje K^+ iz stanice *upravo uravnoteženi* (crna crta). Usmjerenost i amplituda električne (ems = elektromotorna sila, tj. električni gradijent) i kemijske sile (C = koncentracijski gradijent) shematski su prikazani za dvije različite vrijednosti V_m . Razlika u nagibu pravaca K^+ (plavo) i Na^+ (crveno) uzrokovana je činjenicom da je mirujuća membrana mnogo propusnija za K^+ nego li za Na^+ . Prema Kandel i sur. (1991), uz manje izmjene.

širenje promjene električnog potencijala duž transatlantskog telegrafskog kabela. Kelvin je otkrio da svojstva malog odsječka kabela može opisati modelom s četiri pasivne električne komponente (tri otpora i jednim kapacitetom):

- 1) malim otporom protjecanju struje kroz srž (žicu) kabela, što je dobar vodič;
- 2) malim otporom protjecanju struje kroz oceansku vodu, što je također dobar vodič;
- 3) velikim otporom protjecanju struje kroz izolacijsku ovojnicu kabela; taj otpor spojen je usporedno s
- 4) kapacitetom izolacijske ovojnice.

Ludwig Hermann je 1872. spoznao da se zbivanja u membrani aksona, izloženoj subliminalnim električnim podražajima, mogu točno opisati i oponašati istim skupom pasivnih elemenata (sl. 8-9C):

- 1) otporom membrane (R_m),
- 2) kapacitetom membrane (C_m),
- 3) otporom vanjskog medija tj. izvanstanične tekućine (r_c) i
- 4) otporom unutarnjeg medija tj. aksoplazme (r_i).

Te četiri električne komponente i reakcije membrane što se na njima temelje, nazivamo **pasivnim** jer se njihova svojstva ne mijenjaju kao funkcija primijenjenog napona, a tumačimo ih **teorijom sržnih vodiča** (engl. core conductor theory; izvorni Hermannov naziv bio je Kernleitertheorie). Za razliku od pasivnih svojstava, **aktivna** svojstva i odgovori membrane (ispravljanje - rektifikacija, akcijski potencijal i sinaptički potencijal) uvjetovana su promjenama membranskog otpora, odnosno membranske vodljivosti za ione. Poznavanje pasivnih svojstava prijeko je potrebno za

razumijevanje aktivnih. Stoga ćemo prvo upoznati odgovarajuće strukturne elemente stanične membrane i jednostavni model ekvivalentnog električnog kruga.

Pasivna električna svojstva prikazujemo modelom ekvivalentnog električnog kruga

Tri ključna elementa što ih neuron koristi u električnoj signalizaciji (ionske kanale, gradijente koncentracije iona i sposobnost membrane da pohrani naboj) možemo prikazati jednostavnim matematičkim modelom, kakav se koristi u opisu električnih krugova. Takav model nazivamo **ekvivalentnim električnim krugom**, a u njemu su sva bitna funkcionalna svojstva neurona predstavljena električnim krugom što se sastoji jedino od vodiča/otpornika, izvora elektromotorne sile (baterija) i kondenzatora (sl. 8-9B). Model nam omogućuje intuitivno razumijevanje, ali i kvantitativni opis načina na koji protjecanje struje uzrokovano kretanjem iona stvara električne signale u živčanim stanicama.

Prvo određena fizička svojstva membrane povezujemo s određenim električkim svojstvima (sl. 8-10).

Ioni prolaze kroz **ionske kanale**; stoga ionske kanale predstavljamo simbolom **otpornika, tj. vodiča** - vodljivost je obrnuto proporcionalna otporu, $G = 1/R$ (sl. 8-10, lijevo gore). No, kako ioni kroz kanal prolaze niz svoj elektrokemijski gradijent, tj. zbog djelovanja elektromotorne sile, svaki otvoreni ionski kanal pridonosi stvaranju razlike potencijala kroz membranu. Stoga ionske kanale također možemo prikazati kao **izvore elektromotorne sile, tj. baterije**. Baterija (npr. Voltin članak) je izvor elektromotorne sile, koju proizvodi na temelju razlike kemijskih potencijala svojih elemenata. Prema tome, *ionski kanal prikazujemo otpornikom što je serijski spojen s baterijom* (sl. 8-10, sredina gore). Oznaka za vodljivost *jednog* ionskog kanala je g' - npr. g'_K je vodljivost jednog K^+ -kanala, a g_K je oznaka za *ukupnu* vodljivost membrane za K^+ (zbroj vodljivosti svih K^+ -kanala prisutnih u membrani). Ta je vodljivost jednaka umnošku vodljivosti jednog kanala i ukupnog broja takvih kanala ($g_K = N \times g'_K$ - sl. 8-10, drugi red).

Kad sve tako prikazane ionske kanale spojimo usporedno, dobijemo prikaz *ukupne ionske vodljivosti* membrane ($G = g_K + g_{\text{Na}} + g_{\text{Cl}}$; sl. 8-10, treći red), odnosno **ukupne ionske struje** što prolazi kroz membranu. Nastali membranski potencijal opisujemo već spomenutom GHK jednadžbom. Nadalje, i aksoplazma (citoplazma) i izvanstanična tekućina izvrsni su vodiči struje. Stoga njihovu vodljivost prikazujemo kao *serijski spojene otpornike s vrlo malim otporom* (sl. 8-9C i 8-10, donji red, r_c i r_i).

Lipidni dvosloj stanične membrane djeluje kao **kondenzator** (vidi niže), pa je **kapacitet** (uz otpor i vodljivost) treće bitno električno svojstvo stanične membrane (sl. 8-10, donji red). Kad sva ta tri elementa spojimo na odgovarajući način, dobijemo ekvivalentni električni krug stanične membrane (sl. 8-9B i 8-10, donji red). Poznavanje tog modela olakšava nam proučavanje otpora, vodljivosti i kapaciteta membrane neurona i aksona.

Otvaranje ionskih kanala dovodi do smanjenja membranskog otpora i povećanja vodljivosti membrane

Pasivna električna svojstva pogodno prikazujemo tako da u neuron unutarstaničnom mikroelektrodom "ubacujemo"

| Pogonska sila | | netto pogonska sila \times Permeabilnost (P_i) } <i>netto</i> Protok |
|---------------|----------------------------------|---|
| Kemijska | Električna | |
| e i | Na ⁺ +++ ↓ ↓ | ↓ $\times P_{Na} =$ ↓ |
| e i | K ⁺ +++ ↑ ↓ | ↓ $\times P_K =$ ↑ |
| e i | Cl ⁻ +++ ↓ ↑ | ↔ $\times P_{Cl} =$ ↔ |

Slika 8-7. Neto protoci Na⁺, K⁺ i Cl⁻ kroz membranu određeni su elektrokemijskim gradijentima i propusnošću membrane (vodoravne strelice znače da nema neto protjecanja iona). Prema Kandel i sur. (1991), uz manje izmjene.

male količine depolarizirajuće ili hiperpolarizirajuće struje. Takve stupnjevane strujne udare (jakosti nekoliko nA ili slabije) nazivamo "pravokutnim" strujnim udarima (engl. rectangular current pulse - sl. 8-9A). Primjerice, tako možemo prikazati omjer promjene membranskog potencijala (DV_m) i jakosti struje (I) što teče kroz membranu. Taj omjer je **membranski otpor** (R_m), odnosno mjera sposobnosti membrane da se odupre protjecanju struje.

Recipročna vrijednost otpora ($1/R$) mjera je sposobnosti membrane da vodi struju, tj. **vodljivosti membrane** (G - mjerna jedinica je Siemens, S). Kako $R_m = DV_m / I$, $G = I / DV_m$.

Dakle, membrana s otporom od npr. 10^6 Ohma ima i vodljivost od 10^{-6} Siemens. *Smanjenje membranskog otpora ekvivalentno je povećanju njezine vodljivosti.*

Vjerojatno ste već shvatili da je protjecanje iona kroz otvorene ionske kanale stanične membrane ključni događaj u nastanku promjena membranskog potencijala.

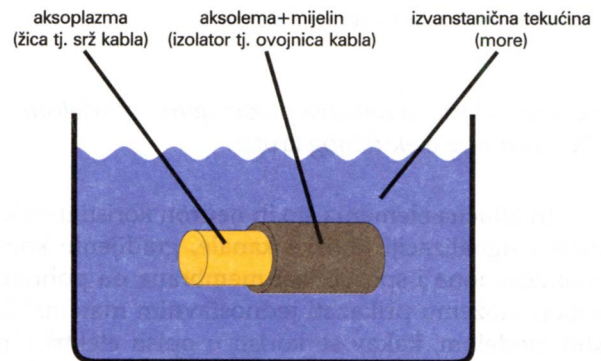
Otvaranjem kanala smanjuje se membranski otpor, a povećava se vodljivost membrane. Stoga brojnost, vrste i raspored ionskih kanala u staničnoj membrani imaju ključnu ulogu u određivanju njezinih električnih svojstava i u neuronskoj signalizaciji.

Krivulja odnosa struje i napona otkriva nam ispravljačka (rektifikacijska) svojstva stanične membrane

Kad kroz membranu propuštamo stupnjevane udare depolarizirajuće i hiperpolarizirajuće struje, možemo utvrditi **odnos struje i napona** stanice i istražiti je li zapis membranskog otpora linearan (što bi bio znak da je otpor posve pasivno svojstvo) ili se pak otpor mijenja ovisno o membranskom potencijalu (sl. 8-11). U većini neekscitabilnih stanica, ali i nekim neuronima, omjer DV_m / DI je konstantan za male, subliminalne, depolarizirajuće ili hiperpolarizirajuće "strujne korake" (sl. 8-11A). U takvim je stanicama otpor konstantan (u navedenom rasponu) i ne ovisi o membranskom potencijalu.

Međutim, u većini neurona otpor nije linearan, nego je manji za protjecanje struje u jednom smjeru, a veći za protjecanje struje u suprotnom smjeru. To asimetrično obilježje membranskog otpora je aktivni odgovor membrane - **ispravljanje (rektifikacija)**. Rektifikacija tijekom postojanog stanja općenito poprima dva oblika: 1) jedan oblik je **odgođeno ispravljanje** (engl. delayed rectification), do kojeg dolazi kad je membranski otpor depolariziran u odnosu na mirujuću razinu (sl. 8-11B) - to možemo opaziti kad membranu depolariziramo udarom konstantne struje, pa DV_m opada uslijed pada otpora što je odgođen u odnosu na početak strujnog udara. U većini neurona taj pad potencijala uzrokuju dva činitelja: pad otpora i postojanje ionske baterije za kalijeve ione (E_K) što je spojena u niz s otporom i ima vrijednost (-75 mV) negativniju od potencijala mirujuće membrane (-60 mV). Drugim riječima, ovdje membrana pruža manji otpor (depolarizirajućoj) struji prema van nego (hiperpolarizirajućoj) struji prema unutra. Što je veća depolarizacija, odgođeno ispravljanje je izraženije, a većina neurona pokazuje odgođeno ispravljanje tek pri vrijednostima što su blizu praga akcijskog potencijala (ili više od tog praga) - no neki neuroni to svojstvo iskazuju već i pri malim depolarizacijama.

2) drugi oblik je **anomalno ispravljanje** (engl. anomalous rectification - sl. 8-11C), jer se odvija u smjeru suprotnom od onog u odgođenom ispravljanju. To obično opažamo kad membranski potencijal hiperpolariziramo u odnosu na mirujuću razinu, a pojavu opažamo kao smanjen otpor (hiperpolarizirajućoj) struji prema unutra u odnosu na otpor (depolarizirajućoj) struji prema van.

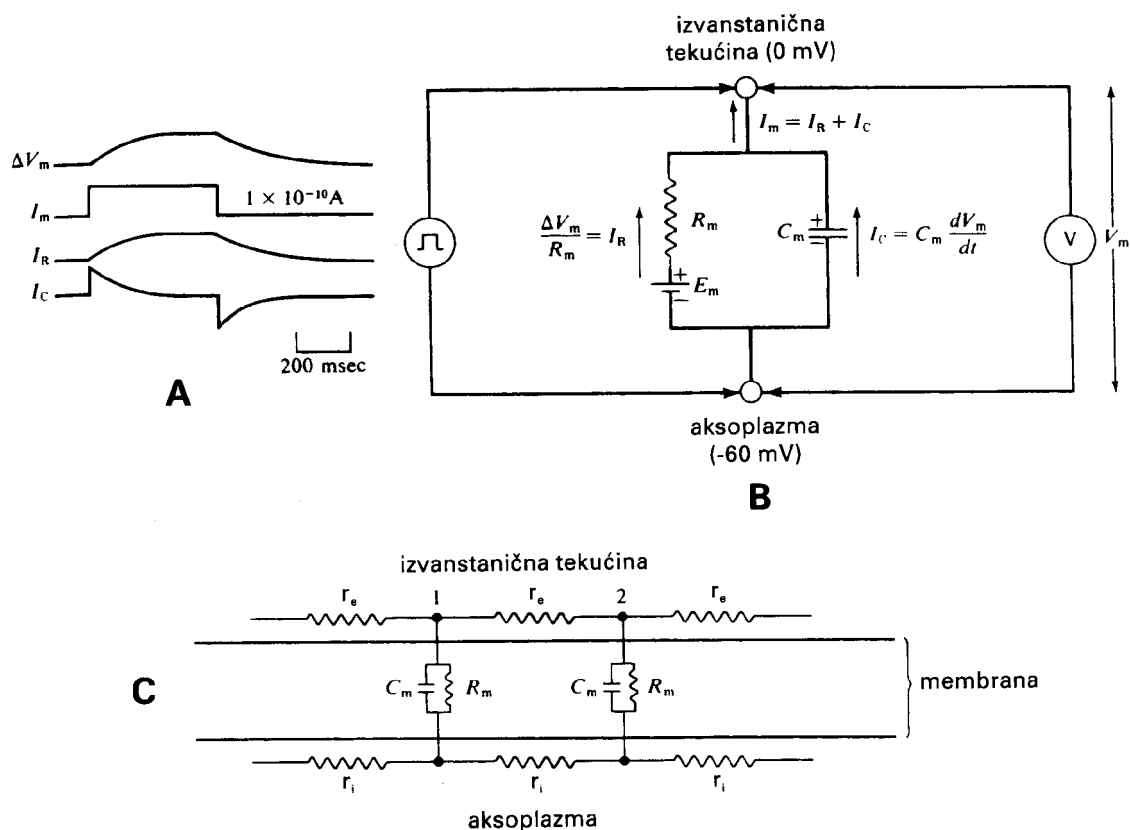


Slika 8-8. Po svojim pasivnim električnim svojstvima, akson je sličan podmorskom telegrafskom kabelu.

Membrana djeluje kao električni kondenzator

Ubacivanjem malih strujnih udara u stanicu, možemo postići da se strujni udar (I_m) što izaziva promjenu membranskog potencijala (DV_m) povećava i smanjuje vrlo naglo; međutim, izazvana promjena membranskog potencijala se povećava i smanjuje uočljivo sporije (sl. 8-9A). To je uzrokovano postojanjem **kapaciteta membrane** (C_m), što nastaje zbog toga što *lipidni dvostraj djeluje kao električni kondenzator* (sl. 8-12).

Električni kondenzator je naprava za pohranjivanje razdvojenih električnih naboja, sastavljena od dva vodiča razdvojena izolatorom. Membrana je poput pločastog kondenzatora (sl. 8-12, lijevo), u kojem je lipidni dvostraj izolator što razdvaja naboje, a oblak kationa s vanjske i



Slika 8-9. Ekvivalentni električni krug komadića aksoske membrane. **A.** Usporedba amplituda i vremenskog tijeka ionske (I_R) i kapacitivne (I_C) komponente četvrtastog strujnog udara (I_m) jakosti 0,1 nanoampera, što uzrokuje pojavu elektrotoničkog potencijala (ΔV_m). **B.** Ekvivalentni električni krug membranskog potencijala (V_m) sastoji se od baterije što predstavlja potencijal mirujuće membrane (E_m), serijski spojene s otporničkim elementom, tj. membranskim otporom (R_m), a paralelno spojene s kapacitivnim elementom, tj. membranskim kapacitetom (C_m). Kad kroz komadić membrane (predstavljen ovim krugom) poteče membranska struja prema van (I_m), dio te struje teče kroz otpornički element (to je ionska struja, I_R), a dio teče u »ploče« kapacitivnog elementa (to je kapacitivna struja, I_C). **C.** Ekvivalentni električni krug stanične membrane. Zbog lakšeg razumijevanja, otpor (R_m) i kapacitet (C_m) membrane predstavljeni su kao zasebni elementi (u stvarnosti, oboje su jednoliko raspodijeljeni po staničnoj površini). Slično tome, unutarnji citoplazmatski otpor (r_i) i vanjski otpor izvanstanične tekućine (r_e) predstavljeni su opet kao zasebni elementi (iako su u stvarnosti također raspodijeljeni kontinuirano kroz ta dva medija). Ti su otpori bitni za kabelska svojstva membrane. Za pojedinosti vidi tekst. Prema Kandel i sur. (1976), uz manje izmjene.

oblak aniona s unutarnje strane membrane su dva pločasta vodiča na kojima je pohranjen naboj (sl. 8-12, desno). Naravno, stanična membrana nije čisti lipidni dvosloj, nego sadrži i ionske kanale. Zbog toga membrana nije savršen kondenzator niti savršen izolator, već kroz nju struja pomalo "curi". Ipak, kako je broj ionskih kanala po jedinici površine membrane relativno malen, površina kapacitivnog dijela membrane je barem 100 puta veća od ukupne površine svih ionskih kanala. Stoga je membrana još uvijek prilično dobar izolator i kondenzator.

Struja teče u ploče kondenzatora (ili iz njih) samo kad se napon kroz kondenzator mijenja; jednom kad je kondenzator nabijen na napon "pogonskog" potencijala, nema daljnjeg protjecanja takve kapacitivne struje (I_C). Dakle, kondenzator ne priječi promjenu napona, ali *usporava početak i završetak te promjene*.

Drugim riječima, kad udar konstantne struje izaziva promjenu membranskog potencijala, razmjerna količina naboja (aniona i kationa) se nakuplja na vanjskoj i unutarnjoj površini membrane. Stoga je kapacitet membrane (C_m) jednak omjeru količine naboja (Q , u kulonima) razdvojenih membranom i promjene membranskog potencijala: $C_m = Q/\Delta V_m$. Kapacitet je izravno razmjeran površini membrane (veća površina vanjskog i unutrašnjeg tekućeg vodiča omogućuje

membrani da pohrani veću količinu naboja) a obrnuto je razmjeran debljini membrane (porast debljine smanjuje učinak što ga naboj na jednom vodiču ima na naboj na drugom vodiču - tj. smanjuje uzajamno privlačenje suprotnih naboja na dvije ploče membranskog kondenzatora). Kako su sve membrane podjednako tanašne (7,5 nm), membranski kapacitet (C_m) ovisi poglavito o površini i standardiziran je na 1 cm² membrane. Stoga $V_m = Q/C_m$. Kapacitet mjerimo u faradima; 1 F = 1 kulon (6,24 x 10¹⁸ elektrona) po voltu.

$$I_c = C_m \frac{\Delta V_m}{\Delta t}$$

Membranska struja (I_m) ima dvije komponente: kapacitivnu (I_C) i ionsku (I_R)

$$I_m = \frac{\Delta V_m}{R_m} + C_m \frac{\Delta V_m}{\Delta t}$$

Membranski kondenzator pohranjuje naboj. Stoga struja što počne protjecati kroz membranu ne može odmah

$$I_m = I_R + I_C$$

promijeniti membranski potencijal. Otpor i kapacitet membrane spojeni su usporedno, pa su i naponi kroz otpor i kapacitet jednaki - u svakom času, naboj C_m je razmjerni membranskom potencijalu.

Struja može promijeniti membranski potencijal tek nakon što promijeni naboj membranskog kondenzatora (na razinu što odgovara novom membranskom potencijalu). Stoga struja prvo teče u ploče kondenzatora (i iz njih) i time mijenja njihovu količinu naboja. S postupnim približavanjem membranskog potencijala novoj vrijednosti, sve manje struje teče kroz kapacitet, a sve više kroz otpor (tj. kroz ionske kanale što se počinju otvarati). Kad je membranski kondenzator posve nabijen, sva struja protječe kroz otpor (tj. kroz otvorene ionske kanale).

Obrnuto se zbiva kad električno podraživanje prekinemo (tj. isključimo struju): membranski potencijal opet se na početnu razinu vraća postupno - prvo se opet mora uspostaviti početni naboj membranskog kondenzatora. Kad kažemo da "struja teče kroz kondenzator", samo nastojimo istaknuti da struja mijenja količinu naboja na pločama kondenzatora - u zbilji, struja ne može teći kroz kondenzator, jer ne može proći kroz izolator što razdvaja njegove ploče.

Struja što teče "kroz kapacitet" je **kapacitivna struja** (I_C), a struja što teče kroz otpor je **rezistivna struja** (I_R). Kako u tkivu električni naboj prenose ioni (a ne elektroni), rezistivnu struju obično nazivamo **ionskom strujom** (proučite ponovno sl. 8-9A i B!). Rezistivnu struju ponekad nazivamo i **omskom**, jer je podložna Ohmovom zakonu: $I = U/R$, tj. $I_R = D V_m /$

Kapacitivna struja (I_C) razmjerna je brzini promjene količine naboja: $I_C = DQ/Dt$. Kako $Q = C_m V_m$, kapacitivnu struju prikazuje sljedeća jednadžba:

Stoga će ukupna membranska struja (I_m) biti odnosno

Vremenska i prostorna konstanta membrane ključni su pokazatelji elektrotoničkog širenja promjena membranskog potencijala

Pasivna svojstva ekvivalentnog električnog kruga (i membrane aksona) mogu se cjelovito opisati vremenskom i prostornom konstantom (sl. 8-13). Ti su parametri ključni za razumijevanje doprinosa pasivnih svojstava neurona procesu neuronske integracije. **Vremenska konstanta** odražava brzinu kojom se membranski potencijal mijenja kad se pomiče s jedne razine na drugu. **Prostorna**

konstanta opisuje način smanjivanja promjene membranskog potencijala s udaljenošću od mjesta nastanka. Naime, kad se promjena membranskog potencijala elektrotonički širi duž aksona, dolazi do njezinog **slabljenja (atenuacije)** s rastućom udaljenošću (sl. 8-13A, B).

Subliminalne promjene membranskog potencijala smanjuju se eksponencijalno, obično za 63% ($1 - 1/e$), tj. na 37% ($1/e$) od prethodne vrijednosti za svaku jedinicu duljine (npr. 1 cm - sl. 8-13B,C). Te promjene bilježimo tako što nekoliko bilježnih mikroelektroda postavimo na odgovarajuće razmake duž aksona (sl. 8-13C, sredina).

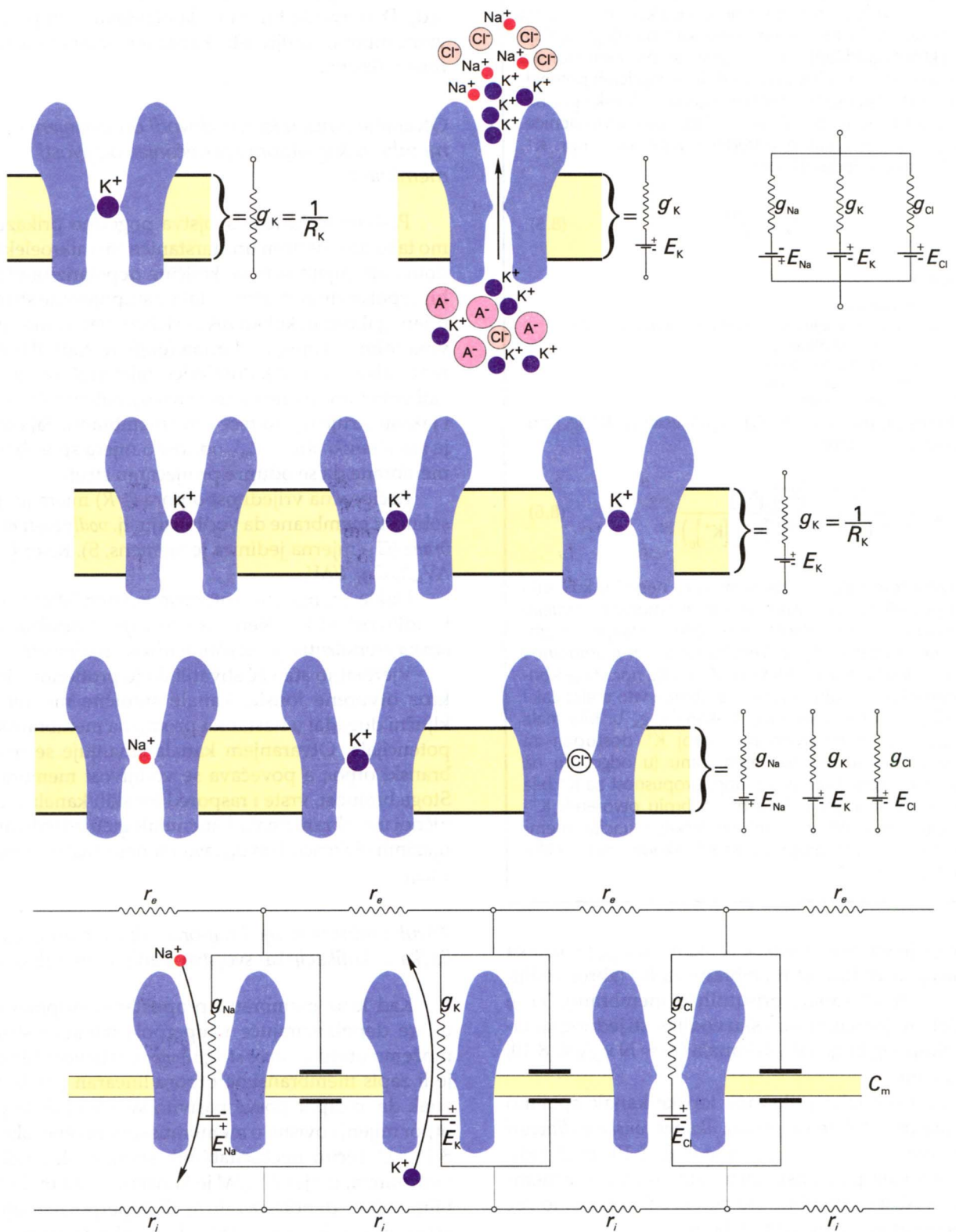
Vremenska konstanta membrane (t_m) je vrijeme potrebno da udar konstantne struje nabije membranski kapacitet (kuglaste stanice) na 63% njegove konačne vrijednosti (tj. na $1 - 1/e$ konačne vrijednosti) (sl. 8-13C,

gornji dio, $t_m = 100$ msec), odnosno vrijeme potrebno da se taj kapacitet smanji na 37% ($1/e$) početne vrijednosti.

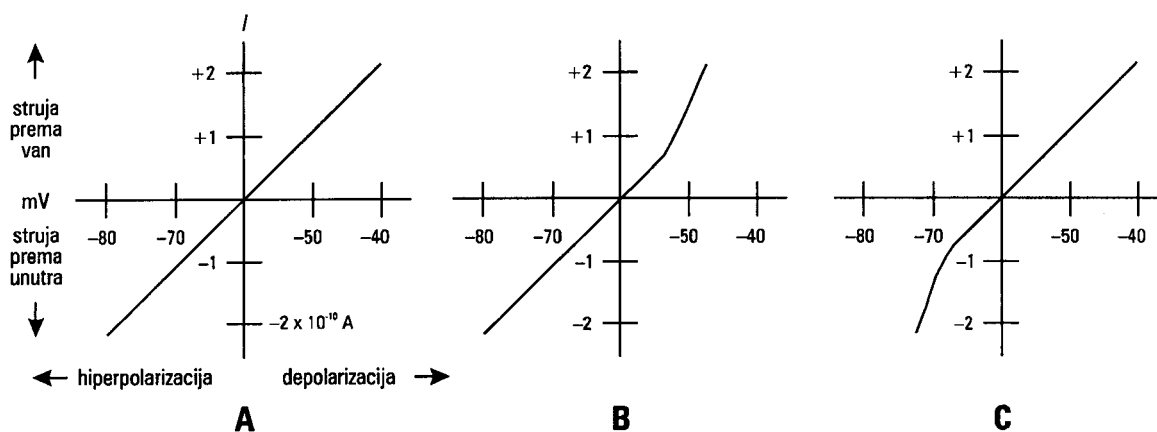
Prostorna (duljinska) konstanta membrane (λ) je udaljenost na membrani (npr. aksona) duž koje se elektrotonički vođena promjena membranskog potencijala smanji za 63% ($1 - 1/e$) od svoje početne vrijednosti, tj. na 37% ($1/e$) (sl. 8-13C, donji dio, odnosno udaljenost od X1 do X3 na sl. 8-13B).

Do opisanog slabljenja elektrotonički vođenih signala dolazi zbog sljedećeg:

- 1) s rastućom udaljenošću od mjesta nastanka promjene membranskog potencijala, otpor aksoplazme (r_i) postaje značajan čimbenik što otežava protjecanje struje kroz neuron;
- 2) nešto struje "pobjegne" kroz membranu u izvanstaničnu tekućinu (čiji je otpor malen!) dok elektrotonički signal putuje duž membrane (jer membrana nije savršen izolator).



Slika 8-10. Sastavljanje ekvivalentnog električnog kruga stanične membrane neurona i aksona. Za pojediniosti vidi tekst.



Slika 8-11. Krivulja odnosa struje i napona otkriva nam rektifikacijska svojstva stanične membrane. **A.** *Linearni odnos struje i napona:* stupnjevita povećanja jačine struje prema van i struje prema unutra uzrokuju proporcionalna i simetrična povećanja elektrotoničkih potencijala. **B.** *Odgodeno ispravljanje:* stupnjevita povećanja jačine struje prema unutra dovode do proporcionalnih povećanja hiperpolarizirajućih elektrotoničkih potencijala; no, struja prema van dovodi do depolarizacije što opada na novu razinu potencijala nakon kratke odgode. To je posljedica odgođenog povećanja vodljivosti u odgovoru na depolarizirajuću struju (odgođena rektifikacija), pa krivulja odnosa struje i napona karakteristično zavija prema gore (u području depolarizirajućih vrijednosti membranskog potencijala). **C.** *Anomalno ispravljanje:* stupnjevana povećanja jačine struje prema van dovode do proporcionalnih povećanja depolarizirajućih elektrotoničkih potencijala. Međutim, struja prema unutra uzrokuje progresivno manje hiperpolarizirajuće promjene potencijala. To je odraz povećanja vodljivosti u odgovoru na hiperpolarizirajuću struju (anomalno ispravljanje), pa krivulja odnosa struje i napona karakteristično zavija prema dolje (u području hiperpolarizirajućih vrijednosti membranskog potencijala). Prema Kandel (1976), uz dopuštenje.

Ponovimo sada temeljnu poruku dosadašnjeg dijela ovog poglavlja: pasivna svojstva neuronske membrane nalik su takvim svojstvima podmorskog telegrafskog kabela. Zbog slabljenja signala duž kabela, sam kabel nije naprava pogodna za signalizaciju na veću udaljenost. U telegrafiji se taj problem rješava ugrađivanjem pojačala na određenim razmacima. U aksonu tome služi (cijelom duljinom membrane!) posebni samoobnavljajući proces - akcijski potencijal.

Nastanak i vođenje akcijskog potencijala

Akcijnski potencijal je kratkotrajni val depolarizacije, konstantne amplitude, što duž aksona putuje konstantnom brzinom

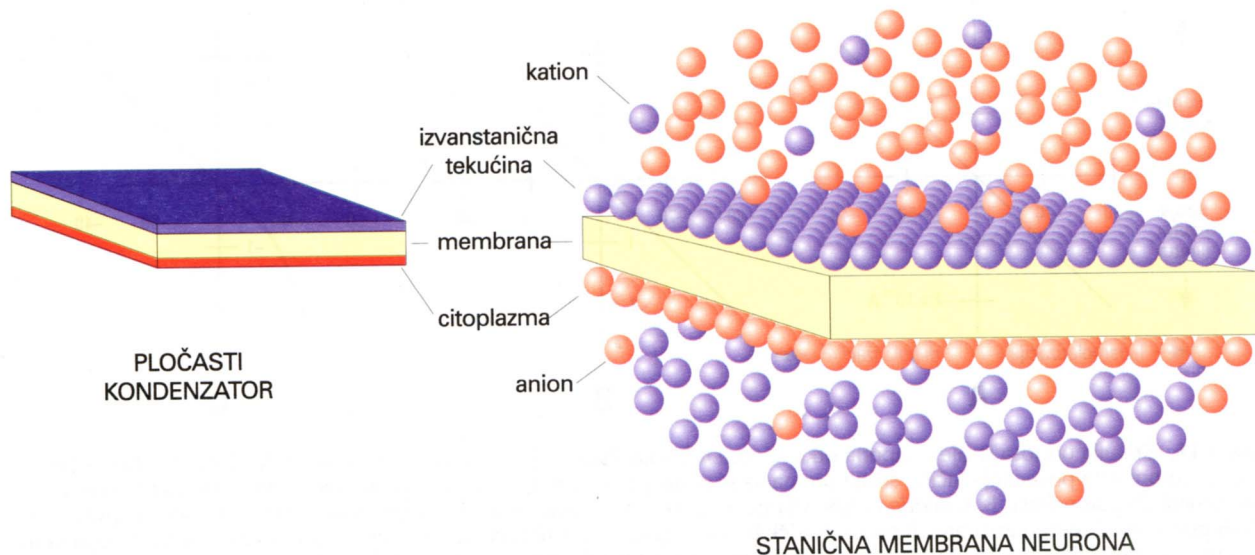
Već početkom XIX. stoljeća, znanstvenici su jasno spoznali da je živčani impuls električna pojava. Pri-mjericice, između 1827. i 1843. Nobili, Matteucci i Du Bois-Reymond su jednostavnim pokusima, prislonivši jednu elektrodu na zdravi a drugu na ozlijeđeni dio živca, pokazali da se između zdravog i ozlijeđenog dijela živca uspostavi strujni krug (poteče tzv. "struja ozljede" ili "struja razgraničenja" - njem. Verletzungsstrom, Demarkationsstrom; engl. injury current, demarcation current) i da je *unutrašnost živca električki negativna u odnosu na izvanstaničnu tekućinu*. Hermann Helmholtz je 1850. prilično točno izmjerio brzinu živčanog impulsa (20-40 m/sec u živcima žabe i čovjeka) i time dokazao da je ta brzina konačna i mnogo manja od brzine širenja električne struje kroz metalnu žicu. Time je Helmholtz dokazao da je živčani impuls zasebna, **elektrokemijska pojava**. Štoviše, već su ti istraživači uočili da kratkotrajna, slaba i lokalna katodna stimulacija živca uzrokuje nastanak malog vala depolarizacije što brzo opada s udaljenošću - tu je pojavu Emil Du Bois-Reymond nazvao **elektrotonus**. Drugim riječima, spoznalo se da je elektrotoničko vođenje jedno od temeljnih pasivnih električnih svojstava živčanog tkiva.

S druge strane, činilo se da je živčani impuls uzrokovan nekim posebnim svojstvom živčanog tkiva, vezanim uz

njegovu spontanu aktivnost. Stoga je to svojstvo nazvano **aktivnim svojstvom**, struje što ga izazivaju nazvane su **akcijske struje** (njem. Tätigkeitsströme, Aktionströme; engl. action currents), a električni zapis živčanog impulsa je nazvan **akcijski potencijal** (njem. Tätigkeitspotential, Aktionpotential; engl. action potential).

Alan Hodgkin je 1937. pothlađivanjem (na -1°C) malog odsječka živca (*n. ischiadicus* žabe) blokirao vođenje akcijskog potencijala i dokazao da akcijski potencijal što doputuje do bloka (i tu se prekine!) može povećati ekscitabilnost odsječka aksona smještenog tik iza bloka. Promjenu membranskog potencijala, nastalu iza bloka Hodgkin je nazvao "izvanjski potencijal" i pokazao je da je to zapravo elektrotonički vođen potencijal što se eksponencijalno smanjuje na $1/e$ (37%) tj. za $1 - 1/e$ (63%) svoje početne vrijednosti duž udaljenosti λ (prostorna konstanta membrane). Time je dokazano da se živčani impulsi mogu prenositi elektrotoničkim strujama, odnosno da lokalni električni strujni krugovi što nastaju u aktivnom dijelu membrane ekscitiraju sljedeći (još mirujući) dio membrane aksona. *Živčani impuls je val depolarizacije što nastaje u aksonskom brežuljku i duž aksona putuje konstantnom brzinom i amplitudom (bez opadanja - nedekrementno vođenje) sve do presinaptičkih završetaka aksona.*

Da bismo shvatili kako elektrotonički učinak blokiranog akcijskog potencijala povećava ekscitabilnost (tj. snižuje prag podražaja) odsječka membrane iza bloka, razmotrimo još jednom učinak subliminalnog podražaja na ekscitabilnost. Ekscitabilnost je obrnuto razmjerna pragu - što je prag niži, ekscitabilnost je veća i obrnuto. Ako primijenimo subliminalni strujni podražaj, pa ga prekinemo, depolarizacija traje još neko vrijeme nakon prestanka protjecanja struje. Tijekom tog razdoblja, *prag je snižen a ekscitabilnost povećana*. Da bismo izmjerili opseg te promjene tj. tijekom promjena ekscitabilnosti izazvanih prvim primijenjenim podražajem, prijeke je potrebno pratiti učinak drugog podražaja, primijenjenog u različitim vremenskim razmacima nakon prvog. Riječ je o tehnici uvjetovanja-provjeravanja (engl. conditioning-testing



Slika 8-12. Stanična membrana ima svojstva pločastog kondenzatora (za pojedinosti vidi tekst).

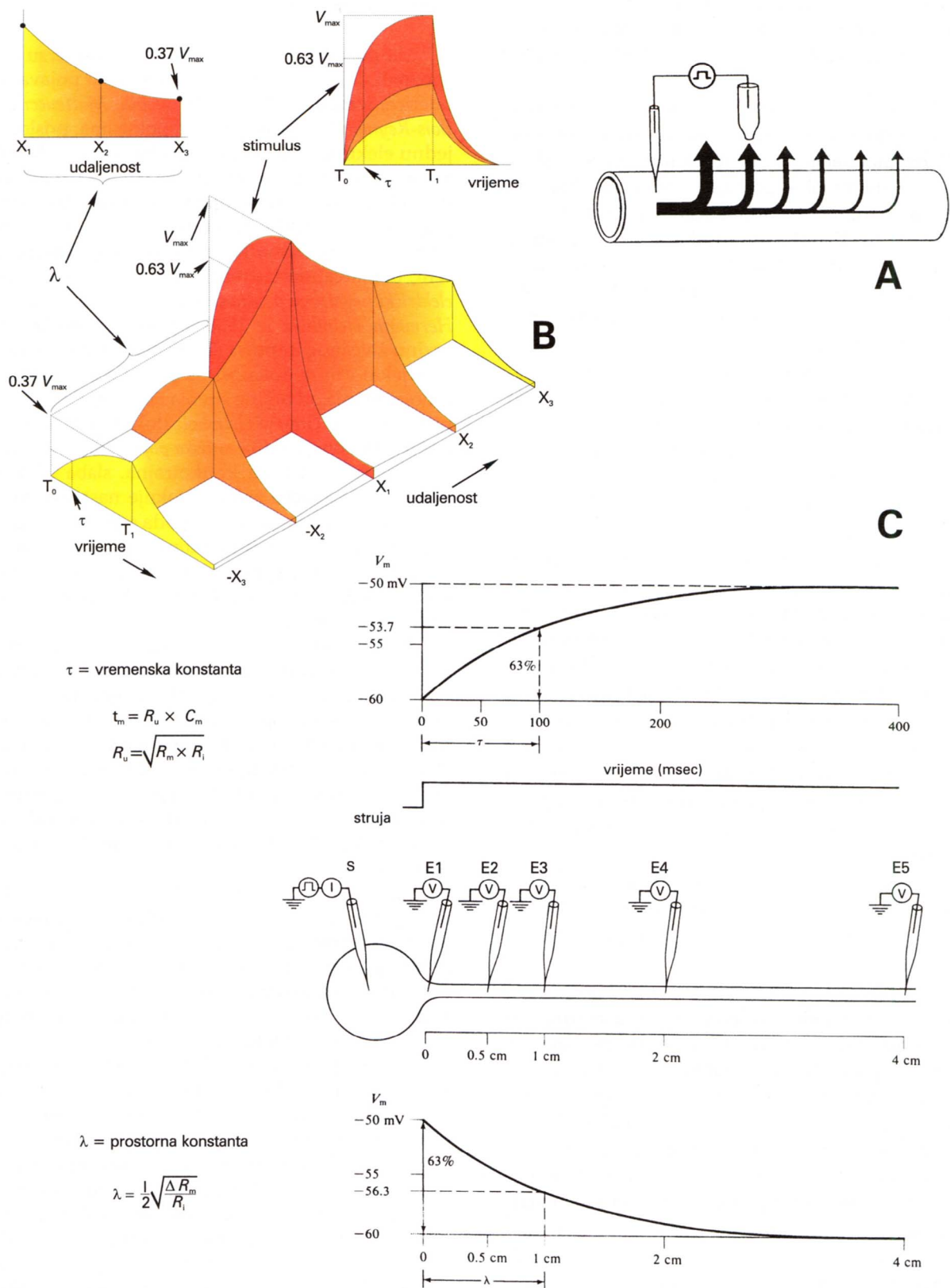
technique). Prvi podražaj je uvjetujući podražaj (engl. conditioning shock), a drugi podražaj je podražaj provjere (engl. test shock). Drugi podražaj (ako uslijedi dovoljno brzo nakon prvog!) može izazvati akcijski potencijal zbog toga što se *zbraja s depolarizacijom zgoštalom od prvog podražaja*. Istim postupkom mogu se pratiti i učinci produljene subliminalne stimulacije. U takvom slučaju, ispod stimulacijske katode ekscitabilnost se poveća na početku protjecanja struje, no potom se smanjuje na postojanju intermedijalnu vrijednost (iako struja ostaje konstantna). To smanjivanje ekscitabilnosti tijekom konstantnog protjecanja struje je **akomodacija**. Kad struja prestane teći, ekscitabilnost ispod katode smanji se na razinu nižu od one u mirovanju. Riječ je o pojavi **postkatodne depresije**. Mehanizmi tih promjena nisu u potpunosti razjašnjeni. Međutim, ključne spoznaje o naravi akcijskog potencijala stekli smo tek oko 1939., kad je uvođenjem tanašne unutarstanične mikroelektrode u divovski akson lignja (promjera do 1 mm!) prvi put postalo moguće izravno bilježiti promjene potencijala s obje strane membrane aksona, uzrokovane električnim podražajima stupnjevanog intenziteta.

Razmotrimo rezultate takvog pokusa na jednostavnom primjeru unutarstaničnog električnog podraživanja (sl. 8-14). Osim vanjske i unutarstanične elektrode za snimanje promjena električnog potencijala, u neuron usadimo još jednu, stimulacijsku elektrodu, preko koje neuron stupnjevito podražujemo malim strujnim udarima (npr. jakosti 2, 4, 6, 8 ili 10×10^{-10} A). Strujne udare (podražaje) proizvodi generator struje (stimulator) povezan sa stimulacijskom elektrodom, pa će struja teći između te elektrode i izvanstanične elektrode. Kako struja po definiciji teče od pozitivnog prema negativnom polu (u smjeru neto kretanja pozitivnog naboja), ako unutarstaničnu elektrodu načinimo pozitivnom, a izvanstaničnu elektrodu negativnom, struja će poteći kroz membranu *prema van iz stanice*. Zbog toga će se smanjiti polarnost membrane (depolarizacija - na sl. 8-14 "struja prema van"). I obrnuto, možemo unutarstaničnu elektrodu načiniti negativnom, a izvanstaničnu elektrodu pozitivnom, pa će tada struja poteći kroz membranu *u stanicu* (hiperpolarizacija - "struja prema unutra" na sl. 8-14). Uočite da sad govorimo o ukupnom smjeru kretanja električne struje kroz membranu

(uzrokovanom promjenama polarnosti elektroda), a ne o smjeru kretanja kationa kroz samu membranu!

Dakle, slabi udari (hiperpolarizirajuće) struje prema unutra proizvode malu hiperpolarizaciju, što se smanjuje s udaljenošću (duž aksona) od mjesta podraživanja. Slabi udari (depolarizirajuće) struje prema van proizvode malu depolarizaciju, što se također smanjuje s udaljenošću. Te male lokalne promjene membranskog potencijala su **elektrotonički potencijali**, a njihovo kretanje duž membrane je **elektrotoničko vođenje**. Takvo je vođenje izraz pasivnih električnih svojstava neurona, jer se amplituda signala postojano smanjuje s udaljenošću (sl. 8-13).

Međutim, ako primijenimo snažnije udare (depolarizirajućom) strujom prema van i time dosegamo kritični **prag depolarizacije**, pojavi se iznenadni ("eksplozivni"), veliki, kratkotrajni (1-10 msec) i aktivni odgovor membrane - **akcijski potencijal ili šiljak** (engl. spike, njem. Spitzenpotential) (sl. 8-14). **Prag** (lat. limes, engl. threshold, njem. Schwelle) je vrijednost membranskog potencijala pri kojoj opisana pojava nastaje. Akcijski potencijal nastaje "sve-ili-ništa" načinom (Dodatni okvir 8-4): supraliminalni podražaji ne uzrokuju povećanje amplitude akcijskog potencijala niti promjene njegovog oblika (sl. 8-14). Slika 8-14 prikazuje još dva bitna svojstva akcijskog potencijala: on u svom *uzlaznom kraku* ili "fazi uzdizanja" (engl. ascending limb, rising phase) ne samo da dokida potencijal mirujuće membrane (smanjivši ga od -60 mV na 0 mV) nego ga zakratko i obrne (na +55 mV). Taj **obrat potencijala** od 0 do



Slika 8-13. Tijekom širenja elektrotoničkih potencijala dolazi do njihovog eksponencijalnog slabljenja, a vremenska i prostorna konstanta membrane ključni su parametri tog procesa. Za pojedinosti vidi tekst. Nacrtno, uz izmjene, prema Kandel (1976). i Williams i Grossman (1977).

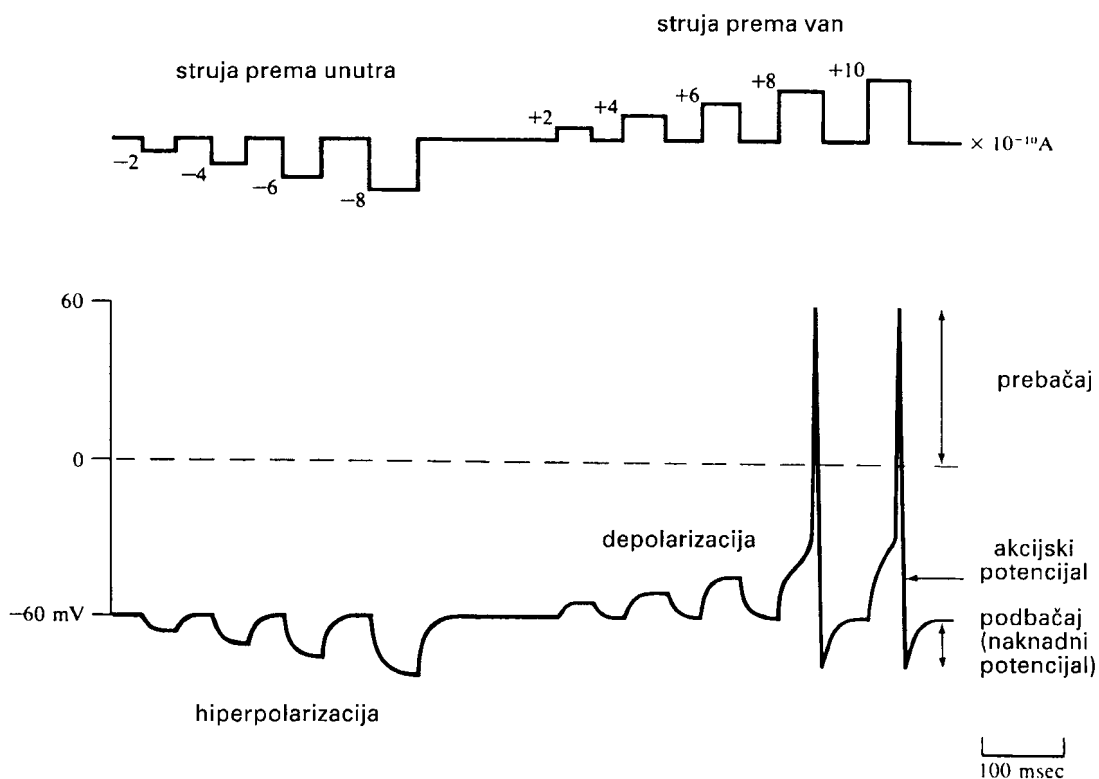
+55 mV je **prebačaj** (engl. overshoot). Štoviše, kad potencijal dosegne *vrhunac* (engl. peak), u svom *silaznom kraku* ili "fazi opadanja" (engl. descending limb, falling phase) on se opet ne vrati jednostavno na početnu vrijednost od -60 mV, nego se zakratko smanji na -65 ili čak -70 mV. To je **podbačaj** (engl. undershoot) ili **hiperpolarizirajući naknadni potencijal** (engl. hyperpolarizing afterpotential).

Ukratko, šest bitnih obilježja akcijskog potencijala su: *postojanje praga, sve-ili-ništa reakcija, prebačaj, podbačaj, konstantna brzina i konstantni intenzitet (amplituda)*. Na temelju opisanih svojstava, vođenje akcijskog potencijala se često uspoređuje s gorenjem štapina - jednom kad se dosegne kritična temperatura na jednom kraju štapina, zapali se i sljedeći odsječak štapina, pa sljedeći itd. Amplituda akcijskog potencijala je konstantna, jer energija potrebna za njegovo vođenje ne potječe od podražaja, nego se oslobađa cijelom duljinom aksona. Dakle, amplituda akcijskog potencijala ne ovisi o amplitudi početnog podražaja: kad podražaj dosegne vrijednost praga, akcijski potencijal odmah dosegne maksimalnu jakost i brzinu - snažniji podražaj neće uzrokovati veći ili brži akcijski potencijal. No, nemojte sada zaključiti da akcijski potencijal uvijek ima jednaku amplitudu - mnogi činitelji mogu promijeniti energetske stanje aksona (metabolički poremećaji, hipoksija, pothlađivanje itd.) pa time i amplitudu akcijskog potencijala. Samo smo htjeli naglasiti da, u danim okolnostima, akson uvijek na podražaj prazne jakosti odgovara akcijskim potencijalom što je u tim okolnostima maksimalne vrijednosti - nakon podražaja, nastaje ili maksimalni akcijski potencijal ili nikakav. U skladu s navedenim, sve podražaje (na temelju njihovog

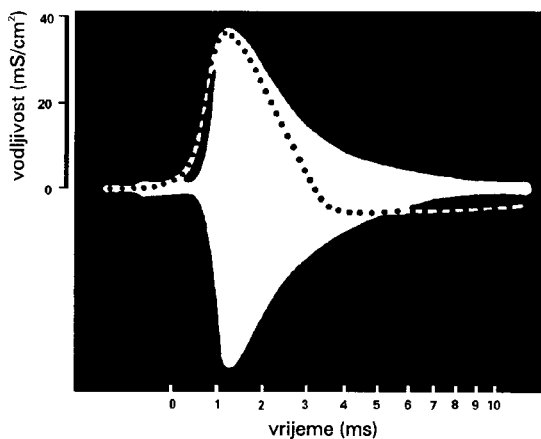
intenziteta i odnosa prema pragu) dijelimo u **subliminalne** (ispod razine praga), primjerene (adekvatne tj. **liminalne** - upravo na razini praga, prazne) i **supraliminalne** (iznad razine praga).

Aksijski potencijal praćen je prolaznim padom membranskog otpora

Cole i Curtis su 1939. uspjeli izmjeriti otpor i kapacitet mirujuće membrane divovskog aksona lignja - membrana ima kapacitet od 1 mF/cm², a otpor od otprilike 1.000 Ohm/cm². Potom su odlučili istražiti dolazi li do promjena kapaciteta i impedancije membrane tijekom akcijskog potencijala. Divovski akson lignja su postavili u uski žlijeb ispunjen morskom vodom i širok upravo toliko da u njega stane akson, a zatim su na suprotne strane žlijeba postavili par elektroda spojenih s Wheatstoneovim mostom. Cole i Curtis su električnim podraživanjem aksona izazvali akcijski potencijal i utvrdili da se (tijekom prolazanja akcijskog potencijala kraj bilježnih elektroda) membranski otpor naglo (ali privremeno!) smanji čak 40 puta (s vrijednosti od 1.000 W/cm² na vrijednost od svega 25 W/cm²), a potom se postupno vraća na početnu vrijednost. No, kapacitet membrane se tijekom akcijskog potencijala nije bitno promijenio (točnije, nakratko se smanjio za samo 2%). Štoviše, naglo smanjivanje otpora započinje na mjestu ugiba (infleksije) uzlaznog kraka akcijskog potencijala (sl. 8-15), to jest u času kad se membrana počinje spontano depolarizirati (javlja se struja prema unutra). Naime, prije toga membranski se potencijal smanjivao pod utjecajem stimulacijske struje (struja prema van) što je zapravo kapacitivna struja (I_c), a tek u toj točki (kad se počne javljati



Slika 8-14. Intracelularnom stimulacijom možemo prikazati nastanak akcijskog potencijala. Mali udari struje prema unutra (-) hiperpolariziraju i time inhibiraju neuron; mali udari struje prema van (+) depolariziraju i time ekscitiraju stanicu. Ako su udari depolarizirajuće struje dovoljno veliki (+8 do +10 $\times 10^{-10}$ A), dosegne se vrijednost praga i započinje akcijski potencijal. Akcijski potencijal je sve-ili-ništa pojava: njegova amplituda neće porasti pri supraliminalnom podražaju (usporedite šiljke u odgovoru na +8 i +10 $\times 10^{-10}$ A). Prema Kandel (1976), uz manje izmjene. Za dodatni opis vidi tekst.



Slika 8-15. Ova klasična slika prvi je izravn dokaz povećanja ionske propusnosti membrane tijekom akcijskog potencijala. Tijek povećanja membranske vodljivosti mjeri se *širinom bijele zone* fotografirane sa zaslona osciloskopa tijekom akcijskog potencijala (označenog točkastom crtom). Tijekom akcijskog potencijala, jako se smanji membranski otpor (i povećava se membranska vodljivost), a naglo smanjivanje otpora započinje na mjestu ugiba (infleksije) uzlaznog kraka akcijskog potencijala, tj. u času kad se membrana počne spontano depolarizirati (tj. javlja se struja prema unutra). Prema Cole i Curtis 1939., uz dopuštenje.

struja prema unutra) počinje prevladavati ionska struja (I_R). Drugim riječima, dok početni, eksponencijalno rastući, dio akcijskog potencijala (engl. foot - "podnožje šiljka") predstavlja očekivano električno izbijanje membranskog kondenzatora lokalnim strujnim krugovima iz susjednog područja membrane, točka ugiba (infleksije) pokazuje da sama membrana iznenadno generira vlastitu neto struju prema unutra. U toj točki elektromotorna sila membrane se počne mijenjati, a otpor se smanjuje (tj. vodljivost povećava) usporedno s tom promjenom. Time je zapravo potvrđena Bernsteinova pretpostavka o privremenom povećanju ionske propusnosti membrane tijekom akcijskog potencijala. No, tu "difuzijsku hipotezu" ne možemo provjeriti dok ne poznamo apsolutnu vrijednost akcijskog potencijala. Stoga je postalo prijeko potrebno razviti metode za izravno mjerenje akcijskog potencijala.

Prebačaj otkriva presudnu ulogu Na^+ u nastanku akcijskog potencijala

Hodgkin i Huxley su 1939. prvi puta uspjeli tanku elektrodu ugraditi uzdužno (oko 6 mm, tj. dok se snimani potencijal ne prestane mijenjati) u divovski akson lignja (promjera 0,5-1 mm!) i tako izravno izmjeriti akcijski potencijal (sl. 8-4). U skladu s Bernsteinovom hipotezom i prethodno opisanim pokusima, očekivali su da se V_m prolazno smanji na vrijednost od 0 mV, kad bi membrana postala prolazno propusna za sve ione. Međutim, posve neočekivano, promjena V_m s početnih -60 mV ne samo da je dosegla vrijednost od 0 mV, nego se nastavila s obrnutim predznakom sve do vrijednosti od otprilike +55 mV! Rat je, nažalost, prekinuo ta istraživanja, pa su Hodgkin i Huxley tek 1946. shvatili da membrana po svemu sudeći tijekom akcijskog potencijala postaje odabirno propusna za Na^+ - naime, +55 mV je (prema Nernstovoj jednadžbi) upravo E_{Na} . Eksperimentalna potvrda te hipoteze izravno je dovela do modernog shvaćanja da je **akcijski potencijal posljedica ciklusa individualnih promjena membranske propusnosti za Na^+ i K^+** . Naime, Hodgkin i

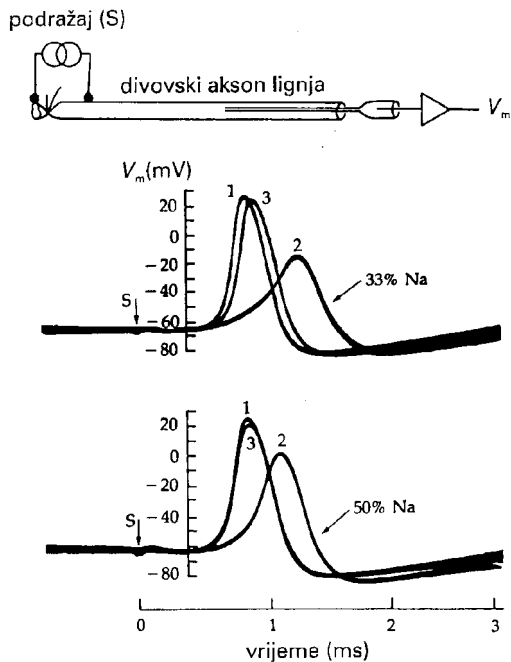
Katz prisjetili su se starog Overtonovog pokusa iz 1902., kojim je pokazano da preparat žabljeg mišića postaje nepodražljiv kad se koncentracija Na^+ u izvanstaničnoj otopini smanji na manje od 10% od svoje normalne vrijednosti u fiziološkoj Ringerovoj otopini. To znači da je za pojavu akcijskog potencijala prijeko potrebna relativno velika koncentracija Na^+ u izvanstaničnoj otopini. Koncentracija Na^+ u aksoplazmi je mala, a aksoplazma je u odnosu na izvanstaničnu tekućinu električni negativna. Stoga postoji moćan elektrokemijski gradijent što bi Na^+ nagonio u stanicu i V_m mijenjao prema vrijednosti od +55 mV (E_{Na}) *kad bi membrana bila propusna samo za Na^+* . Drugim riječima, privremeno veliko povećanje propusnosti za Na^+ (bez znatnog povećanja propusnosti za druge ione) bilo bi više nego dovoljno za objašnjenje opažene veličine obrata V_m . Tu svoju "natrijsku hipotezu" Hodgkin i Katz 1949. dokazali su sljedećim pokusom (sl. 8-16). Morsku vodu (a to je zapravo otopina NaCl što u pokusnoj posudici opluhuje akson) zamjenjivali su otopinama kolin-klorida, glukoze ili saharoze različitih koncentracija. I odista, što se više smanjivala koncentracija Na^+ u izvanstaničnoj tekućini, to je akcijski potencijal rastao manje strmo, širio se sporije i prebačaj je bivao sve manji. Primjerice, kad se koncentracija Na^+ smanji na manje od 20% od normalne vrijednosti, vođenje akcijskog potencijala se prekine. Dodatnim pokusima potvrđeno je da su za opažene promjene doista odgovorne jedino promjene koncentracije Na^+ , a ne i drugih iona.

Ako je membrana na vrhuncu aktivnosti toliko propusna za Na^+ , da je propusnost za druge ione zanemariva, potencijal bi se trebao mijenjati kao logaritamska funkcija $[Na^+]_e$, tj. smanjiti se za 58 mV pri svakom deseterostrukom smanjenju $[Na^+]_e$ (tako predviđamo Nernstovom jednadžbom). Hodgkin i Katz su to i dokazali, rabeći GHK jednadžbu. Pretpostavili su da su permeabilnosti iona na vrhuncu aktivnosti u odnosu $P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 20 : 0,45$ te da su u mirujućoj membrani u odnosu $P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45$. Dakle, pretpostavili su da se P_{Na} povećava oko 500 puta u aktivnoj membrani (barem tijekom uzlazne faze akcijskog potencijala), a da se pritom P_K i P_{Cl} bitno ne mijenjaju. I odista, uz različite vrijednosti $[Na^+]_e$, vrijednosti membranskog potencijala izračunate GHK jednadžbom i vrijednosti izmjerene na stvarnom preparatu slagale su se unutar 5 mV kroz raspon od 200 do 700 mM (sl. 8-17). Napokon, nešto kasnije su drugi istraživači primjenom radioaktivnih izotopa (Na^{24}) izravno pokazali da Na^+ utječu u akson tijekom akcijskog potencijala, u količini od $3,5 \times 10^{-12}$ mol/cm² membrane po jednom akcijskom potencijalu.

Metoda "prikovanog" napona omogućuje mjerenje membranske struje (I_m) i praćenje promjena ionske permeabilnosti

Natrijska hipoteza predstavljala je velik napredak u razumijevanju akcijskog potencijala, ali je mnogo pitanja još uvijek ostalo neriješeno. Primjerice, kako se odvija povratak na stanje mirovanja? Kakva je uloga iona K^+ i Cl^- ? Kako natrijska i kalijaska struja ovise o vremenu i naponu? Kako različiti doprinos kapacitivne i ionske struje? Zbog čega je uopće bitno izmjeriti struju kroz membranu i kako to učiniti?

Ekscitabilnost neurona se temelji na promjenama ionske permeabilnosti stanične membrane. Te promjene uzrokuju protjecanje iona, tj. ionske struje kroz membranu. Membransku struju (I_m) možemo izmjeriti, a izmjerene

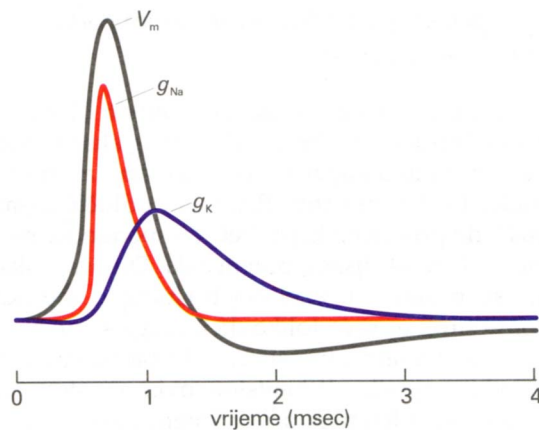


Slika 8-16. Rezultati prvog pokusa kojim je dokazano da su Na^+ u izvanstaničnoj tekućini prijeko potrebni za nastanak i širenje akcijskog potencijala. Uzdužno ugranom mikroelektrodom snimamo unutarstanični potencijal divovskog aksona lignja. Akcijski potencijal je manji i pojavljuje se sporije, kad je manja koncentracija Na^+ u otopini što oplahuje akson. Krivulje 1 i 3 odnose se na akson u normalnoj morskoj vodi; krivulja 2 odnosi se na akson u otopini s malom konc. Na^+ - 1:2 ili 1:1 smjese morske vode i izotonične otopine glukoze). Prema Hodgkin i Katz (1949), uz manje izmjene.

vrijednosti rabiti kao izraz promjena ionske permeabilnosti, tj. promjena vodljivosti membrane. Stoga nije teško shvatiti zbog čega je bitno mjeriti membransku struju; no, mnogo je teže smisliti način na koji to možemo uspješno izvesti. Naime, temeljni problem svih pokusa načinjenih do 1949. sastojao se u tome da nije bilo moguće utvrditi odnos struje i napona za djelić membrane što bi bio toliko malen da je stanje u svim njegovim točkama jednako. Izmjerene vrijednosti uvijek su bile tek prosječni rezultat zbivanja u mnogo različitih dijelova membrane, od kojih je svaki u času mjerenja imao različit stupanj depolarizacije ili repolarizacije. Drugim riječima, elementarna svojstva membrane uvijek su ostajala prikrivena bilo učincima eksponencijalnog smanjivanja elektrotoničkog potencijala s udaljenošću (tzv. "učinci kablinskih svojstava") bilo učincima tekućeg akcijskog potencijala (tzv. "učinci praga, tj. sve-ili-ništa pojave").

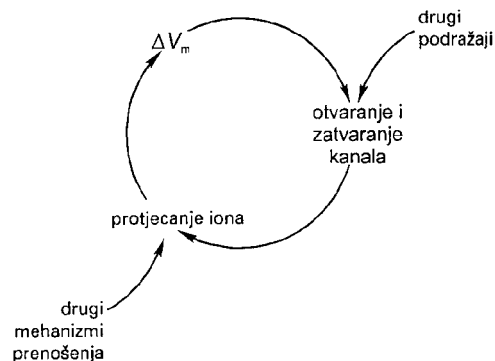
Mehanizmi ekscitabilnosti što uzrokuju protjecanje struje kroz membranu izravno ovise o membranskom potencijalu i na tom se svojstvu temelji **Hodgkinov ciklus pozitivne povratne sprege** (eksplozivnog i samoobnavljajućeg nastanka akcijskog potencijala nakon dosezanja praga depolarizacije): smanjenje membranskog potencijala (depolarizacija) uzrokuje povećanje permeabilnosti i utjecanje struje u stanicu. To uzrokuje daljnju depolarizaciju i daljnje povećanje propusnosti s još većim utjecanjem struje u stanicu itd. (sl. 8-18).

Prema tome, za proučavanje kinetike ionskih struja prijeko je potrebno *prekinuti* Hodgkinov ciklus, tj. prekinuti ovisnost promjena ionske permeabilnosti o promjenama membranskog potencijala - membranski potencijal potrebno je nekako održavati na konstantnoj vrijednosti. To se postiže **metodom "prikovanog" napona** (engl. voltage-

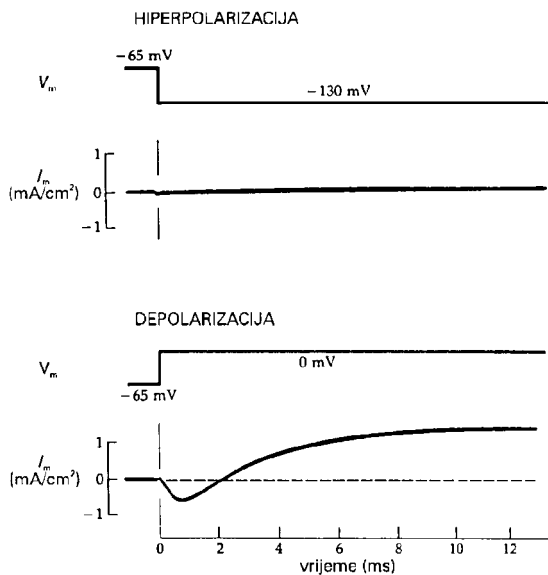


Slika 8-17. Oblik akcijskog potencijala može se izračunati iz promjena g_{Na} (crvena crta) i g_{K} (plava crta), a do tih promjena dolazi zbog otvaranja i zatvaranja naponskih Na^+ -kanala i K^+ -kanala. Izračunani zapis akcijskog potencijala (crna crta - V_m) gotovo je isti kao onaj zabilježen na stvarnom aksonu u pokusu.

clamp, dosl. "zakovica" napona). "Zakovica napona" je izvor struje (elektronički uređaj) što djeluje kao sustav negativne povratne sprege, a povezan je s dvije elektrode, jednom usađenom u stanicu, a drugom izvan nje. Uređaj mjeri struju što teče kroz staničnu membranu (strujna elektroda izvan stanice) i istodobno održava napon membrane na unaprijed proizvoljno određenoj, konstantnoj vrijednosti (strujna elektroda unutar stanice) - tu vrijednost nazivamo "komandnim naponom". To se postiže odgovarajućim "ubacivanjem" struje kroz staničnu membranu (preko vanjske strujne elektrode). Inače, u većini elektrofizioloških pokusa, struju primjenjujemo kao podražaj, a mjerimo nastale promjene membranskog potencijala. U tipičnom slučaju, primijenjena struja teče lokalno kroz membranu i kao ionska i kao kapacitivna struja, a također se širi bočno do udaljenih odsječaka membrane. Metoda prikovanog napona taj proces obrne: istraživač primjenjuje napon, a mjeri struju. Nadalje, uvjeti pokusa omogućuju bitno smanjenje kapacitivne struje i ograniče širenje struja lokalnih krugova, tako da zabilježenu struju rabimo kao izravnu mjeru kretanja iona



Slika 8-18. Klasični ciklus električne ekscitacije (tzv. *Hodgkinov ciklus pozitivne povratne sprege*). Sva ionska zbivanja kulminiraju promjenama membranskog potencijala. Prema *Hodgkin-Huxleyevom modelu*, promjene potencijala djeluju na natrijske i kalijске kanale; time se promijeni protjecanje Na^+ i K^+ kroz membranu, što dovodi do novih promjena membranskog potencijala.



Slika 8-19. Metodom prikovanog napona možemo izmjeriti ionske struje divovskog aksona lignja. Membranski potencijal se s vrijednosti -65 mV u jednom koraku hiperpolarizira (gore) na -130 mV ili depolarizira (dolje) na 0 mV (i potom održava na tim vrijednostima). Struja prema van prikazana je kao otklon nagore. Vidi se da su mehanizmi ionske propusnosti jasno asimetrični: hiperpolarizacija uzrokuje tek malu struju prema unutra, dok depolarizacija uzrokuje veću i dvofaznu struju. Prema *Hille* (1984), uz dopuštenje.

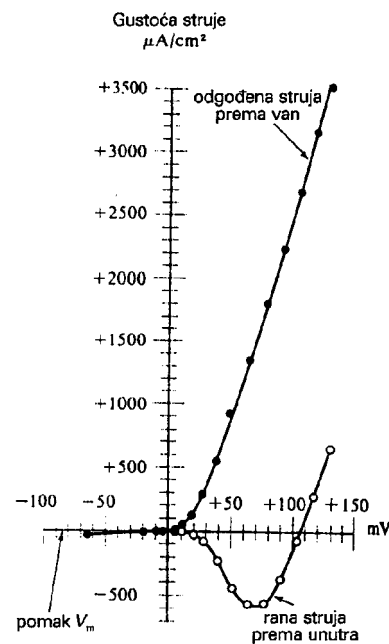
kroz poznato područje membrane pri poznatom i jednolikom membranskom potencijalu. Kad je membranski potencijal takvom elektroničkom napravom "prikovan" uz jednu konstantnu vrijednost (slikovito značenje je kao u izrazu "bolesnik je bolešću prikovan uz postelju"), prva dva koraka Hodgkinovog ciklusa nisu izravno pogođena: depolarizacija i dalje otvara Na^+ kanale i nastaje pojačana Na^+ struja prema unutra; međutim, metodom je spriječen *trvi korak ciklusa*, tj. daljnja depolarizacija membrane uzrokovana utjecanjem Na^+ .

Ionska struja (I_R) ima dvije glavne komponente: I_{Na} i I_K

Prema konvenciji, struja što kroz membranu teče prema van smatra se pozitivnom i prikazuje kao otklon nagore na osciloscopskom zapisu, a struja što teče prema unutra smatra se negativnom i prikazuje kao otklon nadolje na oscilografskom zapisu. Slika 8-19 pokazuje da su mehanizmi membranske permeabilnosti asimetrični: hiperpolarizacija (od -60 na -130 mV) uzrokuje tek malu struju prema unutra (-30 mA/cm², što odgovara maloj vodljivosti mirujuće membrane od $0,46$ mS/cm²). No, depolarizacija (na 0 mV) uzrokuje veću i *dvofaznu* struju: *privremenu (ranu) struju prema unutra i trajniju (odgođenu) struju prema van*. Te dvije komponente prvi su, metodom "prikovanog" napona razdvojili i opisali Hodgkin i Huxley, koji su utvrdili da su obje struje dovoljno velike da se njima u potpunosti objasni akcijski potencijal te da ranu struju prema unutra nose ioni Na^+ , a odgođenu struju prema van ioni K^+ (sl. 8-20). Prema tome, dvije glavne komponente membranske struje I_m su I_{Na} i I_K . Tijekom depolarizacije, propusnost membrane za Na^+ prvo se naglo povećava, a potom se opet smanjuje. Hodgkin i Huxley kazali su da dolazi do **aktivacije** i potom **inaktivacije** g_{Na} ; no, danas kažemo da dolazi do **aktivacije (otvaranja)** i **potom inaktivacije (zatvaranja) naponskih Na^+ -kanala**. Aktivacija je nagli

proces što Na^+ -kanale otvara tijekom početne depolarizacije, a inaktivacija je sporiji proces što Na^+ -kanale *zatvara tijekom daljnje depolarizacije*. Stoga inaktivacijom Na^+ -kanala (uz istodobnu aktivaciju K^+ -kanala) započinje proces repolarizacije membrane. U kasnoj fazi repolarizacije otvoreni su još samo K^+ -kanali, a struja teče kroz membranu prema van.

Ukratko, otvaranje Na^+ -kanala dovodi do depolarizacije i nastanka i širenja akcijskog potencijala. Potom se Na^+ -kanali brzo zatvaraju, a otvaraju se K^+ -kanali. Ta dva procesa (inaktivacija Na^+ -kanala i aktivacija K^+ -kanala) omogućuju repolarizaciju membrane, tj. povratak membranskog potencijala na vrijednost u mirovanju. Prije dovršetka tih procesa, u membrani ne može nastati novi akcijski potencijal. Slika 8-21 sažeto prikazuje vremenski odnos opisanih pojava.



Slika 8-20. Metodom prikovanog napona otkrivamo odnos I_m i V_m . Na abscisi su označeni pomaci V_m od mirujuće vrijednosti. Na ordinati su označeni intenziteti I_m $0,63$ msec nakon nagle promjene napona (rana struja prema unutra) i tijekom postojanog stanja (odgođena struja prema van). Nulta vrijednost na abscisi odgovara potencijalu mirujuće membrane (V_R), hiperpolarizirajuće promjene V_m ovdje su prikazane kao negativne vrijednosti, a depolarizirajuće promjene V_m kao pozitivne vrijednosti. Nacrtano, uz manje izmjene, prema *Hodgkin i sur.* (1952).

Naknadne potencijale omogućuju otvoreni K^+ -kanali, a razdoblja refrakternosti ograničuju učestalost akcijskih potencijala

U većini neurona, nakon akcijskog potencijala pojavi se **hiperpolarizirajući naknadni potencijal** (engl. hyperpolarizing afterpotential), zbog toga što su K^+ kanali otvoreni tijekom kasne faze akcijskog potencijala, a zatvore se tek nakon što se V_m vrati na početnu vrijednost. Potrebno je nekoliko milisekundi da se zatvore svi K^+ kanali, pa je tijekom tog razdoblja istjecanje K^+ iz stanice nešto veće nego u mirovanju, a membrana je privremeno hiperpolarizirana.

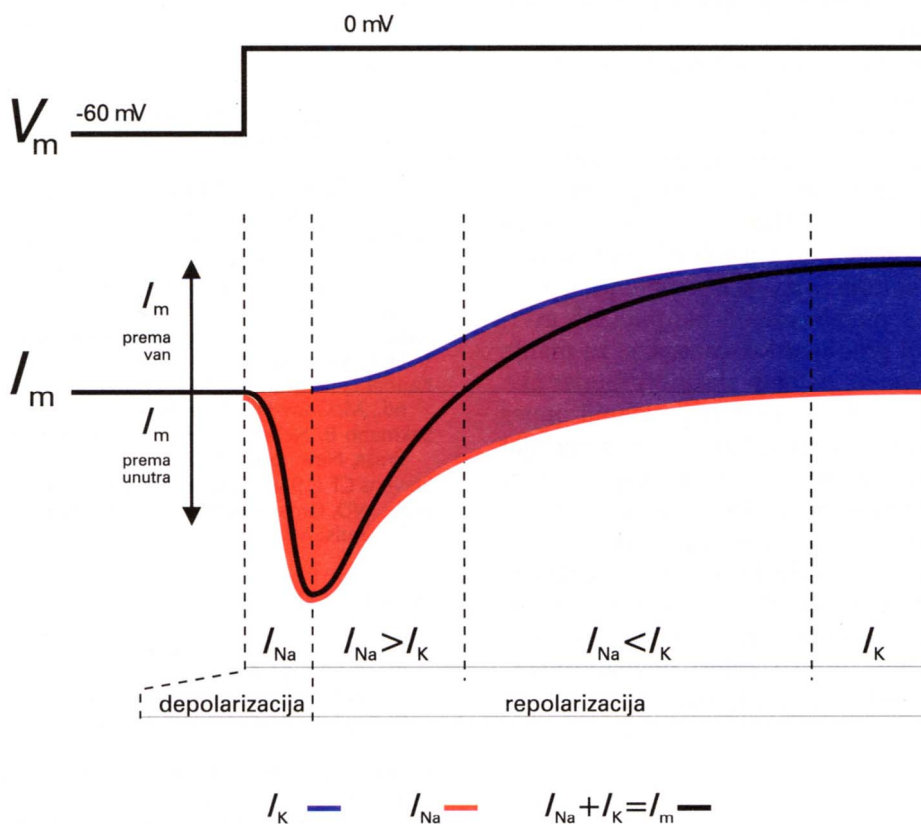
Već opisanom tehnikom uvjetovanja-provjeravanja možemo proučiti i promjene ekscitabilnosti do kojih dolazi nakon nastanka akcijskog potencijala. U tom slučaju,

uvjetujući podražaj je supraliminalan, a u različitim razdobljima nakon njega mjerimo intenzitet podražaja provjere. U kratkom razdoblju nakon akcijskog potencijala, niti najjači podražaj provjere ne može izazvati drugi akcijski potencijal. Stoga je to **razdoblje apsolutne refrakternosti**. Malo potom, drugi akcijski potencijal moguće je izazvati, ali samo ako je podražaj provjere supraliminalne jakosti. Još kasnije, ekscitabilnost se vraća na vrijednost u mirovanju, pa akcijski potencijal opet možemo izazvati podražajem prazne jakosti. **Razdoblje relativne refrakternosti** je, prema tome, razdoblje između razdoblja apsolutne refrakternosti i potpunog oporavka na stanje mirujuće membrane. Razdoblja refrakternosti uzrokovana su rezidualnom inaktivacijom Na^+ kanala i otvaranjem K^+ kanala. Osobina refrakternosti ograničuje učestalost akcijskih potencijala. Primjerice, akson s razdobljem apsolutne refrakternosti od 0,5 msec može odaslati najviše 1.000 impulsa u jednoj sekundi (učestalost 1.000 Hz), a za to su prijeko potrebni supraliminalni podražaji - drugim riječima, *najmanji mogući razmak između dva uzastopna akcijska potencijala u uvjetima visokofrekventne stimulacije traje dvostruko dulje od razdoblja apsolutne refrakternosti*. Takva velika učestalost akcijskih potencijala je rijetka pojava što se može uočiti kod nekih neurona moždane kore pod određenim uvjetima. U normalnim fiziološkim okolnostima, obično bilježimo akcijske potencijale mnogo manje učestalosti. Primjerice, aksoni motoneurona što akcijske potencijale vode učestalošću od 50 Hz već izazivaju maksimalnu mišićnu kontrakciju. Isto tako, aksoni slušnog živca ne mogu zvuk

frekvencije 10.000 Hz kodirati učestalošću akcijskih potencijala od 10.000 Hz, nego u tom slučaju živčani sustav rabi drugi mehanizam kodiranja signala.

Skokovito vođenje akcijskog potencijala uzrokovano je postojanjem mijelinske ovojnice i različitim raspodjelom ionskih kanala duž aksona

Kontinuirano vođenje akcijskog potencijala svojstvo je nemijeliniziranih aksona. Međutim, mijelinska ovojnica mijeliniziranih aksona djeluje kao izolator sa znatnim električnim otporom i bitno ometa protjecanje iona, što lako prolaze jedino kroz aksolemu Ranvierovih suženja. Stoga svako Ranvierovo suženje služi kao mjesto samoobnavljanja živčanog impulsa, a lokalne bioelektrične struje nastale na jednom Ranvierovom suženju sežu kroz aksoplazmu i izvanstaničnu tekućinu do drugog suženja. Struja se elektrotonički širi s aktivnog na neaktivno Ranvierovo suženje, a akcijski potencijal pritom "skače" od suženja do suženja. Stoga takvo vođenje akcijskog potencijala nazivamo **skokovitim** (saltatorna kondukcija). Štoviše, naponski ionski kanali također su nejednoliko raspoređeni u membrani mijeliniziranih aksona: K^+ -kanali smješteni su samo u membrani što leži ispod mijelinske ovojnice (membrana internodalnog odsječka), dok su Na^+ -kanali smješteni u membrani Ranvierovog suženja. Po tom su mijelinizirana vlakna također slična prekooceanskom podmorskom kabelu: Ranvierova suženja služe kao stanice pojačavanja oslabljenog električnog



Slika 8-21. Sažeti prikaz vremenskih odnosa promjena ionskih struja i procesa depolarizacije i repolarizacije membrane aksona tijekom akcijskog potencijala. Ionska struja (I_m , crna crta) ima dvije glavne komponente: I_{Na} (crvena crta) i I_{K} (plava crta). U početnoj fazi depolarizacije (crveno) otvoreni su samo Na^+ -kanali i struja kroz membranu teče samo prema unutra (I_{Na}). Potom se sve veći broj Na^+ -kanala zatvara, a sve veći broj K^+ -kanala otvara (ljubičasta boja); struja prema unutra slabi, a javlja se struja prema van i time započinje proces repolarizacije. U posljednjoj fazi otvoreni su samo K^+ -kanali (plava boja), a sva struja sad teče kroz membranu prema van (I_{K}).

impulsa. Odsječak aksona između dva suženja, ovijen mijelinom, dug je 200 nm do 1 mm (ovisno o vrsti aksona). Što je akson deblji, to je taj odsječak duži, pa akcijski potencijal treba manje puta "skočiti" da bi prešao istu udaljenost u jedinici vremena; drugim riječima, što je udaljenost između dva Ranvierova suženja (tzv.

internodalna udaljenost) veća, brže je vođenje impulsa - mijelinska ovojnica povećava signalizacijsku učinkovitost aksona. Ako oko toga još dvojite, prisjetite se da spontani oporavak nakon depolarizacije (kao i trajno održavanje potencijala u mirovanju!) u konačnici ovisi o radu Na^+ / K^+ ATPaze. U nemijeliniziranom aksonu depolarizira se cijela membrana, a u mijeliniziranom tek oni dijelci membrane što su smješteni u području Ranvierovih suženja. Prema tome, u mijeliniziranom aksonu Na^+ / K^+ ATPaza troši mnogo manje energije, a pritom impuls putuje mnogo brže nego u nemijeliniziranom aksonu.

Tijekom električne signalizacije ukupna veličina potrebnog protoka iona ovisi o ukupnoj površini membrane (aksona ili neurona), dok učinak tog ukupnog protoka iona na ukupnu unutarstaničnu koncentraciju iona ovisi o ukupnom volumenu stanice tj. aksona. Naprimjer, u divovskom aksonu lignja (promjera do 1 mm!) vrlo je povoljan omjer površina : volumen, pa akcijski potencijal (promjena potencijala membrane od ukupno 115 mV!) promijeni početni gradijent koncentracije za manje od 1%. S druge strane, najtanji aksoni (promjer oko 0,1 mm) imaju deset tisuća puta nepovoljniji omjer površine i volumena, pa već jedan akcijski potencijal može pomaknuti oko 10% od svih dostupnih iona. Mijelinizirani aksoni kralježnjaka su tanki, ali mijelin smanjuje aktivnu površinu na tek djelić ukupne površine membrane. Iz navedenih primjera je očigledno da ukupni rad što ga Na^+ / K^+ ATPaza mora utrošiti na spontani oporavak membrane nakon jednog akcijskog potencijala bitno ovisi o omjeru površine membrane i volumena aksona, tj. neurona.