Maša Skelin Klemen[1]

Akcijski potencial

Action Potential

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: membranski potencial, stopenjski potencial, akcijski potencial, napetostno odvisni kanali Na^+, napetostno odvisni kanali K^+, kanalopatije

Membranski potencial celice je odvisen od koncentracijskega gradienta ionov preko membrane in od prevodnosti membrane za ione. V mirovanju je transmembranski potencial celice negativen glede na zunanjost celične membrane. Vsak dražljaj, ki sproži tok ionov preko membrane, povzroči spremembo v membranskem potencialu. Celica, ki je dražljaj prejela, se nanj lahko odzove bodisi z nastankom stopenjskega potenciala bodisi z nastankom akcijskega potenciala. Slednji je za vzdražne celice značilna hitra in prehodna depolarizacija membrane, ki je posledica spremenjene prevodnosti membrane za ione. Nastanek akcijskega potenciala lahko sproži samo nadpražni dražljaj, to je depolariziracija membrane na bolj pozitivne vrednosti od vzdražnega praga. S tem se poveča verjetnost za odpiranje napetostno odvisnih kanalov Na^+. Zaradi vdora Na^+ v celico se membrana hitro depolarizira. Temu sledi odpiranje napetostno odvisnih kanalov K^+, ki vzporedno z inaktivacijo prevodnosti Na^+ repolarizira membrano. Oblika in velikost akcijskega potenciala nista odvisni od jakosti dražljaja, temveč sta posledica aktivacijskih in inaktivacijskih lastnosti napetostno odvisnih ionskih kanalov. Normalno delovanje napetostno odvisnih ionskih kanalov je izjemnega pomena za normalno vzdražnost celice in vsaka mutacija ionskega kanala lahko vodi do sprememb v lastnostih ionskih kanalov ter s tem do motenj v delovanju vzdražnih tkiv npr. mišic, srca in možganov.

ABSTRACT

KEY WORDS: membrane potential, graded potential, action potential, voltage dependent Na^+ channels, voltage dependent K^+ channels, channelopathies

Membrane potential depends on the concentration gradient of ions across the membrane and on the membrane permeability for these ions. The resting membrane potential of most cells has a negative value in respect to cell exterior. Any stimulus that triggers the flow of ions across the membrane results in a change of membrane potential. Cells respond to a stimulus with graded potential or a generation of action potentials. The latter is a rapid transient depolarization of membrane potential due to a change in membrane permeability for ions characteristic of excitable cells. The generation of the action potential can only be initiated with a threshold stimulus that depolarizes the membrane to the threshold value. This increases the opening probability of voltage-gated Na^+ channels and Na^+ ions influx into the cell. The result is a rapid membrane depolarization which is followed

[1] Asist. dr. Maša Skelin Klemen, dr. vet. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor; masa.skelin@um.si

by the opening of voltage-gated K^+ channels that, in conjunction with voltage-gated Na^+ current inactivation, repolarizes the membrane. The shape and the amplitude of the action potential are determined by the activation and inactivation properties of voltage-gated ion channels and not by the intensity of the stimulus. The normal function of voltage-gated ion channels is of utmost importance for normal cell excitability and mutations in ion channels can lead to their dysfunction and thereby to the malfunction of excitable tissues like muscles, heart, or brain.

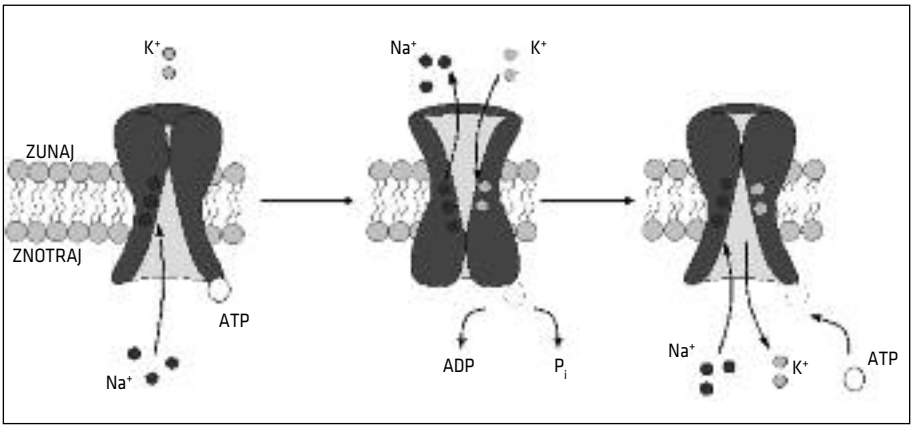
UVOD

V mirovanju plazemska membrana večine celic ustvarja razliko v električnem potencialu preko membrane (t. i. mirovni membranski potencial), pri čemer je notranjost celice za 70–80 mV bolj negativna glede na svojo zunanjost. Razlika v električnem potencialu preko membrane je posledica različnih koncentracij nabitih delcev (ionov) na obeh straneh membrane in različne prepustnosti membrane za le-te. Membranski potencial se lahko razvije z dvema mehanizmoma: z difuzijo ionov preko specializiranih prenašalcev na membrani (ionskih kanalov) ali z aktivnim transportom preko membrane (npr. črpalka Na^+/K^+, izmenjevalec Na^+/Ca^{2+}, izmenjevalec Na^+/H^+ itd.), ki vodita v neravnovesje nabojev na obeh straneh membrane. Ker je bil nastanek mirovnega membranskega potenciala natančno opisan v prispevku Nernstov potencial in ohmski model membranskega potenciala, bomo to v prispevku le na kratko povzeli.

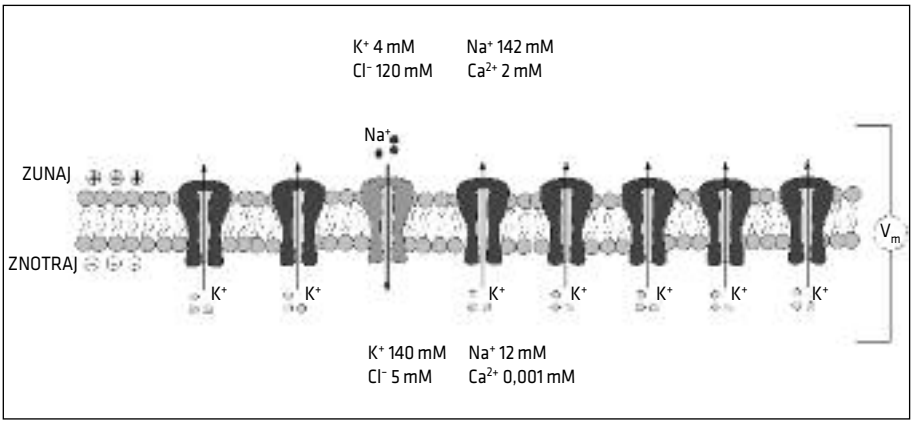
MIROVNI MEMBRANSKI POTENCIAL CELICE

Delovanje Na^+/K^+-ATPaze

Pri nastanku mirovnega membranskega potenciala sta ključna predvsem dva iona: K^+ in Na^+. Neravnovesje koncentracij teh ionov na obeh straneh membrane ustvarja črpalka Na^+/K^+ oz. Na^+/K^+-ATPaza, ki s črpanjem ionov Na^+ iz celice inionov K^+ vanjo vzdržuje koncentracijski gradient teh ionov preko membrane. Obstoj Na^+/K^+-ATPaze je leta 1957 prvi opisal Jens Christian Skou in leta 1997 za ta dosežek prejel tudi Nobelovo nagrado za kemijo. Na^+/K^+-ATPaza je kompleks dveh polipeptidnih verig (α in β) in številnih lipidnih molekul (fos-



Slika 1. Delovanje Na^+/K^+-ATPaze. Na^+/K^+-ATPaza vzdržuje koncentracijski gradient ionov Na^+ in K^+. V vsakem ciklu prečrpa tri ione Na^+ iz celice in dva iona K^+ vanjo ter pri tem porabi eno molekulo ATP.



Slika 2. Prevodnost membrane v mirovanju. Na plazemski membrani se nahaja veliko število t. i. puščajočih ionskih kanalov, ki so v mirovanju odprti in omogočajo tok ionov preko plazemske membrane. Večina teh kanalov je prevodnih za K^+, nekaj jih je prevodnih za Na^+. Zaradi različne ionske sestave zunajcelične in znotrajcelične raztopine in zaradi večje prevodnosti membrane za K^+ kot za Na^+ je mirovni membranski potencial celice negativen.

folipidi in holesterol), vključenih v fosfolipidni dvosloj, ki za svoje delovanje potrebuje energijsko bogato molekulo ATP *(1)*.

Ob vezavi ATP se na Na^+/K^+-ATPazo vežejo trije ioni Na^+ (slika 1). Hidroliza ATP vodi v fosforilacijo Na^+/K^+-ATPaze in sproščanje ADP. Posledica fosforilacije je konformacijska sprememba Na^+/K^+-ATPaze, kar povzroči izpostavitev ionov Na^+ zunajcelični raztopini. Ker ima fosforilirana oblika Na^+/K^+-ATPaze nizko afiniteto za vezavo ionov Na^+, se ti sprostijo v zunajcelični prostor. Na drugi strani pa je afiniteta fosforilirane Na^+/K^+-ATPaze za vezavo ionov K^+ velika, zato se na zunajcelični strani nanjo vežeta dva iona K^+. Ta vezava vodi v defosforilacijo Na^+/K^+-ATPaze in v povrnitev konformacijskega stanja. Iona K^+ se tako preneseta v znotrajcelični prostor, kjer se zaradi velike afinitete neforsforilirane oblike črpalke Na^+/K^+ za ione Na^+ nanjo ponovno vežejo trije ioni Na^+, medtem ko se dva iona K^+ sprostita v znotrajcelični prostor. Na^+/K^+-ATPaza tako ob vsakem ciklu prečrpa tri ione Na^+ iz celice in dva iona K^+ v celico. Njeno delovanje inhibira visoka koncentracija K^+ v celici in Na^+ zunajcelice.

Nernstov potencial za posamezen ion

Znotrajcelična koncentracija ionov K^+ je približno 30-krat višja od zunajcelične, medtem ko je ionov Na^+ zunajcelice približno 10-krat več kot znotraj nje (slika 2). Na membranije v mirovanju odprtih največ t. i. prepustnih kanalov K^+, ki omogočajo pasivno (z difuzijo) prehajanje ionov K^+ preko membrane. Prevodnost membrane je za ione K^+, ko je celica v mirovanju, velika in najbolj prispeva k nastanku mirovnega membranskega potenciala. Zaradi odprtih kanalov K^+ ioni K^+ prehajajo v smeri iz višje proti nižji koncentraciji, torej iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor. Vsak pozitivno nabit ion K^+, ki zapusti celico, pusti v notranjosti prebitek enega negativnega iona. Notranjost celice postaja tako bolj negativna od zunanjosti. Električni potencial znotraj celice pada (prevladujejo negativni ioni) in zunaj nje narašča (prevladujejo pozitivni ioni). Nastane razlika v električnem potencialu preko membrane, ki nasprotuje difuzijski sili na račun različnih koncentracij. Difuzija ionov K^+ iz celice je tako samoomejujoča. Ko električna sila naraste do te mere, da je po velikosti enaka difuzijski, se neto pre-

hajanje ionov K^+ iz celice zaustavi. Omenjeni proces se zgodi pri potencialu, ki ga imenujemo ravnotežni oz. Nernstov potencial. Nernstov potencial za ion x (N_x) izračunamo po enačbi:

$$N_x = \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \cdot ln \frac{c_i}{c_o} \qquad (1),$$

pri čemer je *R* splošna plinska konstanta, *T* temperatura (v stopinjah Kelvina), *z* valenca iona (pove nam število enojnih kemijskih vezi, ki jih lahko tvori atom danega elementa), *F* Faradayeva konstanta (podaja jakost električnega naboja enega mola elektronov) ter C_i in C_o koncentraciji iona x v znotraj- in zunajcelični raztopini. Ob upoštevanju splošne plinske in Faradayeve konstante, telesne temperature (37 °C oz. 310 K) in konstante za prehod iz naravnega na desetiški logaritem lahko enačbo poenostavimo:

$$N_x = -\frac{61{,}5\,mV}{z} \cdot log \frac{c_i}{c_o} \qquad (2).$$

Če bi bila v mirovanju membrana prevodna izključno za ione K^+, bi ti prehajali iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor tako dolgo, dokler potencial preko membrane ne bi dosegel Nernstovega potenciala za K^+, ki ob koncentraciji ionov, navedenih na sliki 2, znaša –95 mV. Izračun je naslednji:

$$N_x = -\frac{61{,}5\,mV}{z} \cdot log \frac{c_i}{c_o} = -\frac{61{,}5}{+1} mV \cdot \cdot log \frac{140\,mM}{4\,mM} = -95\,mV \qquad (3).$$

Vloga koncentracijskega gradienta ionov in prevodnosti membrane pri nastanku mirovnega membranskega potenciala

Meritve mirovnega membranskega potenciala s pomočjo znotrajceličnih elektrod so pokazale, da celična membrana v mirovanju ni prevodna izključno za ione K^+, temveč v manjši meri tudi za ione Na^+ (in v določenih tipih celic tudi za ione Cl^-) *(2)*. Ker je koncentracija ionov Na^+ višja zunaj celice, je njihova tendenca, da prav tako kot ioni K^+ difundirajo v smeri koncentracijskega gradienta, torej v celico. Ker je na membrani le malo t. i. puščajočih kanalov Na^+ (slika 2), tok ionov Na^+ preko membrane zelo malo prispeva k nastanku mirovnega membranskega potenciala. Potencial celice v mirovanju je zato negativen, blizu ravnotežnega potenciala za ione K^+. Če poznamo koncentracije ionov na obeh straneh membrane in prevodnosti membrane za posamezne ione, lahko mirovni membranski potencial tudi izračunamo. Ob predpostavki, da so koncentracije ionov takšne kot na sliki 2 in da je membrana v mirovanju 40-krat bolj prevodna za ione K^+ kot za ione Na^+, znaša mirovni membranski potencial celice –77 mV. Omenjeno vrednost smo izračunali po ohmski enačbi:

$$MMP = -61\,mV\,log \frac{p_{Na} \cdot C_{Na_i} + p_K \cdot C_{K_i}}{p_{Na} \cdot C_{Na_o} + p_K \cdot C_{K_o}} \qquad (4)$$

in

$$MMP = -61\,mV\,log \frac{x \cdot 12\,mM + 40\,x \cdot 140\,mM}{x \cdot 142\,mM + 40\,x \cdot 4\,mM} = = -61\,mV\,log \frac{5612\,x\,mM}{302\,x\,mM} = -77\,mV \qquad (5),$$

kjer sta p_{Na} in p_K prevodnosti membrane za ione Na^+ in K^+, C_{Na_i} in C_{K_i} koncentraciji ionov Na^+ in K^+ v celici ter C_{Na_o} in C_{K_o} koncentraciji ionov Na^+ in K^+ v zunajcelični raztopini.

Če želimo natančno izračunati vrednost mirovnega membranskega potenciala celice, je treba poleg toka ionov Na^+ in K^+ preko membrane, upoštevati še prispevek črpalke Na^+/K^+, ki zaradi svojega stehiometrijskega razmerja črpa manj ionov v celico kot iz nje in tako ustvarja razliko v potencialu preko membrane. Več o prispevku črpalke Na^+/K^+ in mirovnem membranskem potencialu najdete v članku Nernstov potencial in ohmski model za membranski potencial

v poglavju Prispevek Na^+/K^+-ATPaze k membranskemu potencialu.

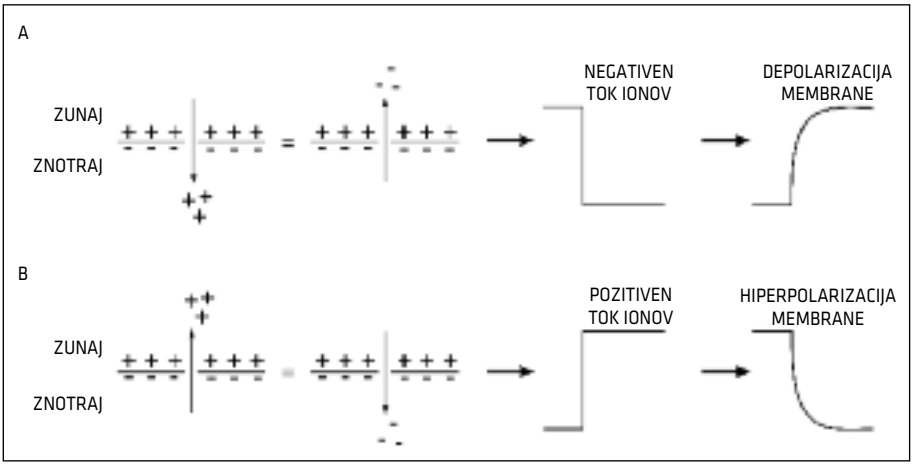
ODGOVOR ORGANIZMA NA DRAŽLJAJ

Stopenjski potencial

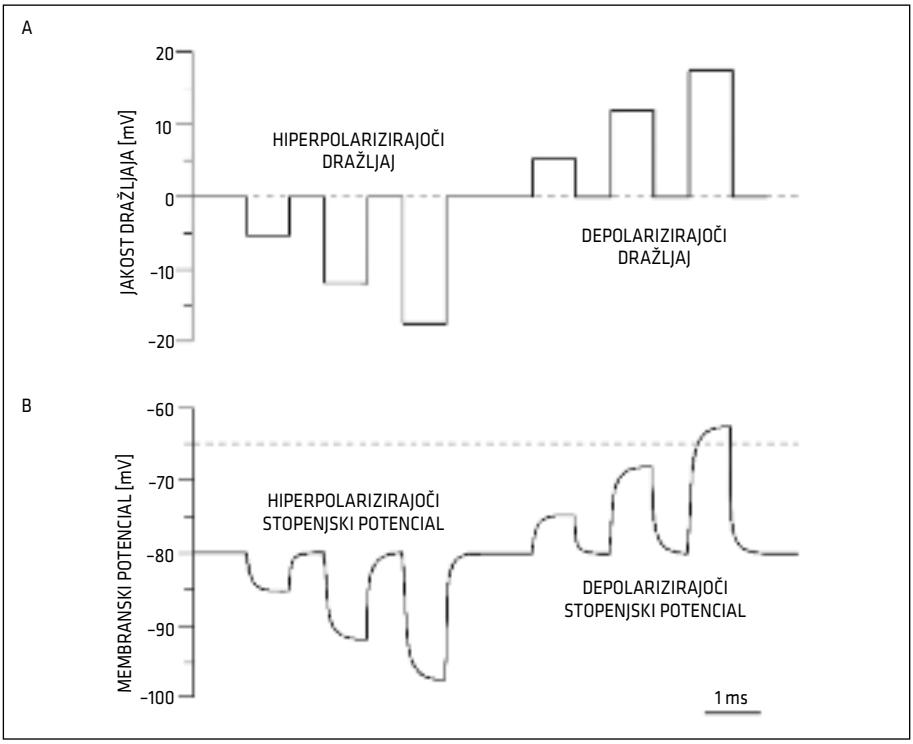
Dražljaji različne modalitete (mehanični, električni, kemični, svetlobni itd.) sprožijo povečanje (v nekaterih primerih tudi zmanjšanje) ionske prevodnosti plazmaleme, kar spremeni membranski potencial. V senzoričnih živčnih končičih zunanji dražljaj povzroči spremembo v potencialu, ki jo imenujemo receptorski potencial. Spremembo membranskega potenciala na postsinaptični membrani, ki se zgodi zaradi delovanja živčnega prenašalca, imenujemo postsinaptični potencial (PSP).

Stopenjski potencial je lahko depolarizirajoč ali hiperpolarizirajoč, odvisno od smeri toka ionov preko membrane. Če bodo v celico neto prehajali pozitivni ioni ali iz nje izhajali negativni ioni, bo notranjost celice postala manj negativna. Kadar se torej razlika v potencialu med notranjostjo in zunanjostjo zmanjša, pravimo, da se membrana depolarizira (slika 3A). Po dogovoru takšen tok označimo z negativnim predznakom. Pri neto iztoku pozitivnih ionov ali vtoku negativnih ionov v celico bo notranjost celice še bolj negativna v primerjavi z zunanjostjo. V tem primeru gre za hiperpolarizacijo celične membrane (slika 3B). Takšen tok po dogovoru označimo kot pozitiven tok.

Kadar živčni prenašalec povzroči depolarizacijo postsinaptične membrane, govorimo o ekscitatornem postsinaptičnem potencialu (EPSP). Če povzroči hiperpolarizacijo, govorimo o inhibitornem postsinaptičnem potencialu (IPSP). Tudi receptorski potencial je lahko depolarizirajoč ali hiperpolarizirajoč. Primer hiperpolarizirajočega receptorskega potenciala je npr. fotoreceptorska celica v mrežnici, kjer osvetlitev sproži hiperpolarizacijo membrane. Tako receptorski kot postsinaptični potencial sta po svoji naravi stopenjska potenciala, kar pomeni, da je sprememba potenciala sorazmerna z jakostjo dražljaja oz. z velikostjo toka ionov preko membrane (slika 4). Večji kot je torej tok ionov preko membrane, večja je sprememba v membranskem potencialu in obratno. Fiziološki odgovor na stopenjsko spremembo potenciala je tako odvisen od jakosti dražljaja.



Slika 3. Stopenjski potencial. A) Neto vtok pozitivnih ionov v celico oz. iztok negativnih ionov iz celice povzroči depolarizacijo membrane. B) Neto vtok negativnih ionov v celico oz. iztok pozitivnih ionov iz celice povzroči hiperpolarizacijo celične membrane.

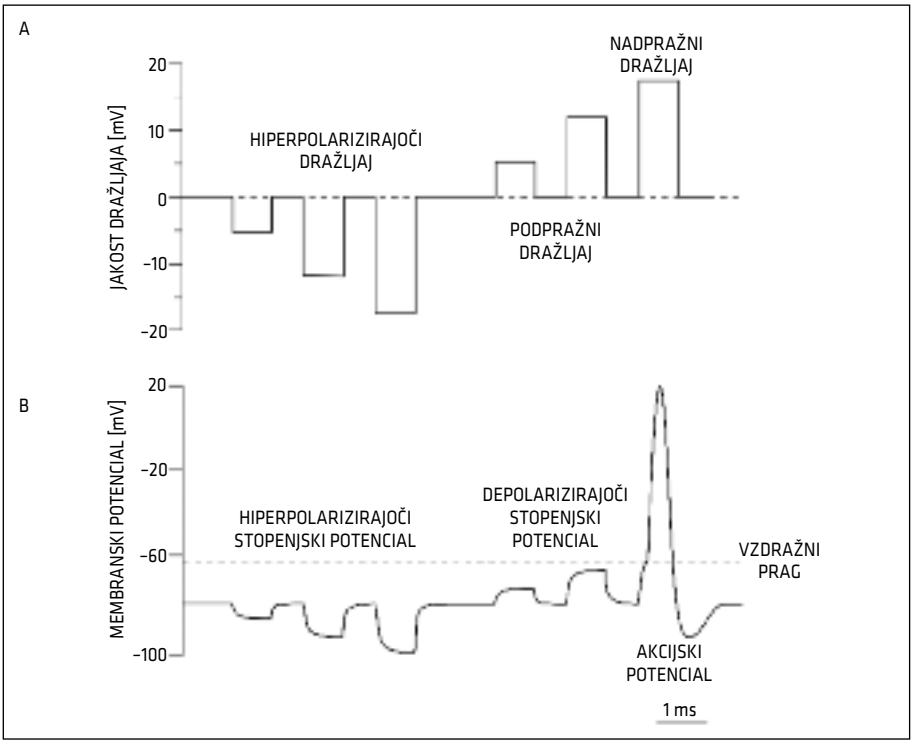


Slika 4. Stopenjski potencial. Pri stopenjskem potencialu je sprememba potenciala (B) sorazmerna z jakostjo dražljaja oz. z velikostjo toka ionov preko celične membrane (A).

Pri širjenju stopenjskega potenciala gre za pasivno elektrotonično širjenje potenciala vzdolž membrane. Tok ionov preko membrane, ki se zgodi zaradi dražljaja, povzroči spremembo v potencialu preko membrane. Sprememba potenciala se zgodi tudi na sosednjih delih membrane zaradi lokalnega toka ionov, vendar z oddaljevanjem od mesta nastanka dražljaja sprememba v potencialu pada. Takšnemu širjenju pravimo pasivno oz. elektrotonično širjenje potenciala in zagotavlja prenos informacije samo na kratke razdalje. Ker je, predvsem pri nevronih, informacije treba prenesti na daljše razdalje (tudi več kot meter), se ta v vzdražnih celicah prenaša v obliki akcijskega potenciala, ki se po membrani širi veliko hitreje in z nezmanjšano amplitudo tudi razmeroma daleč vzdolž aksonov.

Napetostno odvisni ionski kanali in nastanek akcijskega potenciala

Širjenje spremembe membranskega potenciala je torej nujno za prenos električnega signala tako na ravni posamezne celice kot po celotnem organizmu. Če bi se informacija po aksonu nevrona prenašala zgolj elektrotonično, lahko z veliko gotovostjo trdimo, da električni signal ne bi dosegel konca aksona, ampak bi prej zamrl. Da električni impulz prepotuje celotno dolžino dolgega aksona, je tako potrebno potovanje potenciala z nezmanjšano jakostjo. Takšne lastnosti celicam omogočajo napetostno odvisni kanali. Poleg že v začetku poglavja omenjenih prepustnih ionskih kanalov K^+ in Na^+, ki so odprti v mirovanju in so odgovorni za nastanek mirovnega membranskega potenciala, se na membrani nahaja še cela vrsta drugih ionskih kanalov. Eni teh so napetost-



Slika 5. Nadpražni dražljaj sproži nastanek akcijskega potenciala. Dražljaji različne jakosti, ki povzročijo hiperpolarizacijo membrane, in podpražni dražljaji ne povzročijo nastanka akcijskega potenciala, temveč sprožijo nastanek stopenjskega potenciala. Samo dražljaj dovolj velike jakosti (pražni dražljaj), ki sproži depolarizacijo membrane do vzdražnega praga, sproži nastanek akcijskega potenciala.

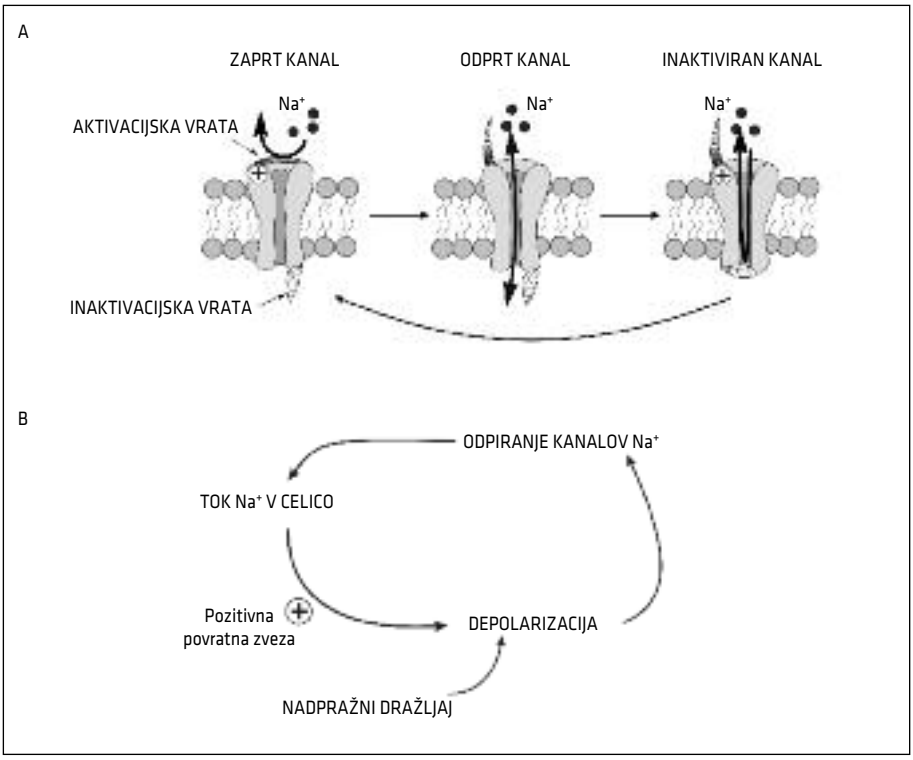
no odvisni ionski kanali. Ti se lahko nahajajo v več stanjih: zaprtem, odprtem oz. aktiviranem ter nekateri tudi v inaktiviranem. Verjetnost, da bo ionski kanal odprt, je odvisna od napetosti preko membrane. Napetostno odvisni ionski kanali so odgovorni za nastanek akcijskega potenciala, ki nam omogoča zanesljiv prenos informacije na daljše razdalje.

Akcijski potencial je zelo hitra (nekaj ms) in prehodna sprememba membranskega potenciala, ki je značilna za vzdražne celice, med katere prištevamo živčne in mišične celice. Z akcijskim potencialom se vzdražne celice odzovejo na dražljaj in informacijo o tem posredujejo naprej. Vendar pa vsak dražljaj ne sproži nastanka akcijskega potenciala. Dražljaj, ki povzroči dovolj veliko spremembo v potencialu preko membrane in povzroči, da se membrana depolarizira do vrednosti, pri kateri se začnejo odpirati napetostno odvisni kanali Na^+, imenujemo pražni dražljaj (slika 5). Napetost, pri kateri se to zgodi, pa prag vzdražnosti za napetostno odvisne kanale Na^+. Pražno vrednost lahko torej definiramo kot vrednost membranskega potenciala, pri kateri obstaja več kot 50 % verjetnost, da bo nastal akcijski potencial.

Pri nastanku akcijskega potenciala sodelujejo napetostno odvisni ionski kanali Na^+ in K^+. Njihove lastnosti bomo opisali v nadaljevanju.

Napetostno odvisni kanali Na^+

Napetostno odvisni kanali Na^+ so bili prvič opisani v petdesetih letih prejšnjega stoletja, ko sta Hodgkin in Huxley z uporabo metode



Slika 6. Napetostno odvisni kanali Na^+. A) Stanja napetostno odvisnih kanalov Na^+. B) Odpiranje napetostno odvisnih kanalov Na^+ omogoči vdor Na^+ v celico, kar vodi v še večjo depolarizacijo membrane in posledično v odpiranje dodatnih napetostno odvisnih kanalov Na^+. Sistem tvori pozitivno povratno zvezo.

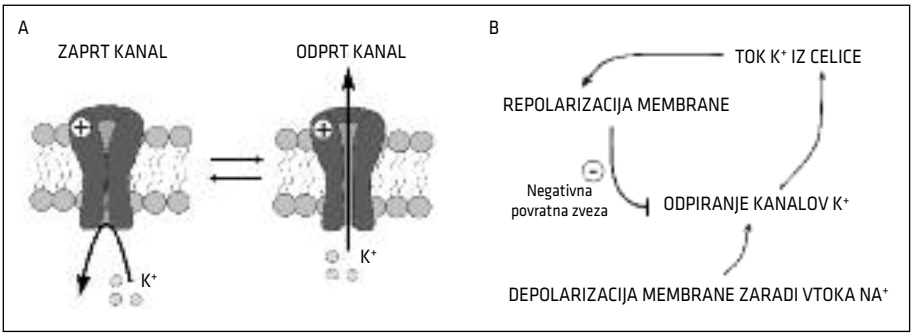
vpete krpice membrane (angl. *patch-clamp*) pokazala, da te kanale aktivira sprememba v napetosti preko celične membrane, da je zanje značilna hitra inaktivacija in da so selektivno prepustni za ione Na^+ *(3)*. Osrednji del kanala Na^+ predstavlja velika transmembranska podenota α, sestavljena iz štirih homolognih domen, ki tvorijo poro ionskega kanala. Podenota α je povezana z eno ali več regulatornimi podenotami β *(4, 5)*. Hodgkin in Huxley sta predlagala model, po katerem ima vsak napetostno odvisni kanal Na^+ tri identična hitra aktivacijska vrata (imenovana tudi vrata *m*) in ena počasnejša, inaktivacijska vrata (imenovana tudi vrata *h*). Verjetnost, da se odprejo aktivacijska vrata napetostno odvisnega kanala Na^+, narašča z depolarizacijo, medtem ko se verjetnost, da bodo odprta inaktivacijska vrata, z depolarizacijo membrane manjša. V mirovanju so aktivacijska vrata zaprta, inaktivacijska pa odprta (slika 6A). Tok ionov preko takšnih ionskih kanalov ni mogoč. Ko se membrana depolarizira za 20–30 mV (dražljaj pražne vrednosti povzroči, da potencial preko membrane postane manj negativen in doseže vrednosti okrog –60 do –50 mV), se hitro odprejo aktivacijska vrata. Ob aktivaciji napetostno odvisnih kanalov Na^+, pozitivno nabiti ioni Na^+ vdrejo v celico in membrana se še bolj depolarizira (notranjost ni več tako negativna v primerjavi z zunanjostjo). V mislih imejmo, da posamezni kanali nimajo enakega vzdražnega praga. Že nekaj ionov Na^+, ki preidejo v celico preko zgolj nekaj odprtih napetostno odvisnih kanalov Na^+, je dovolj, da povzročijo še večjo depolarizacijo mem-

brane, pri kateri se odprejo novi napetostno odvisni kanali Na^+ (slika 6B). Tako se prej kot v ms odpro vsi napetostno odvisni kanali Na^+. Zaradi velikega toka ionov Na^+ v celico lahko v določenem trenutku pride do pozitivne polarizacije (v notranjosti prevladajo pozitivni ioni) in potencial preko membrane doseže vrednosti okrog + 20 mV. Premik ionov Na^+ v notranjost tako potisne potencial preko membrane proti ravnotežnemu potencialu za Na^+, ki znaša po naših izračunih približno + 60 mV. Ta faza akcijskega potenciala je zelo kratka in potencial preko membrane nikdar ne doseže vrednosti Nernstovega potenciala za Na^+, saj se z depolarizacijo zmanjša verjetnost, da bodo inaktivacijska vrata napetostno odvisnih kanalov Na^+ odprta, in kanali se hitro inaktivirajo (slika 6A). Tok čez inaktivirane kanale ni mogoč. Inaktivacija napetostno odvisnih kanalov Na^+ ima za posledico zmanjšano prevodnost membrane za Na^+. Napetostno odvisni kanali Na^+ na ta način regulirajo električno vzdražnost celic in so primarno odgovorni za depolarizacijsko fazo akcijskega potenciala.

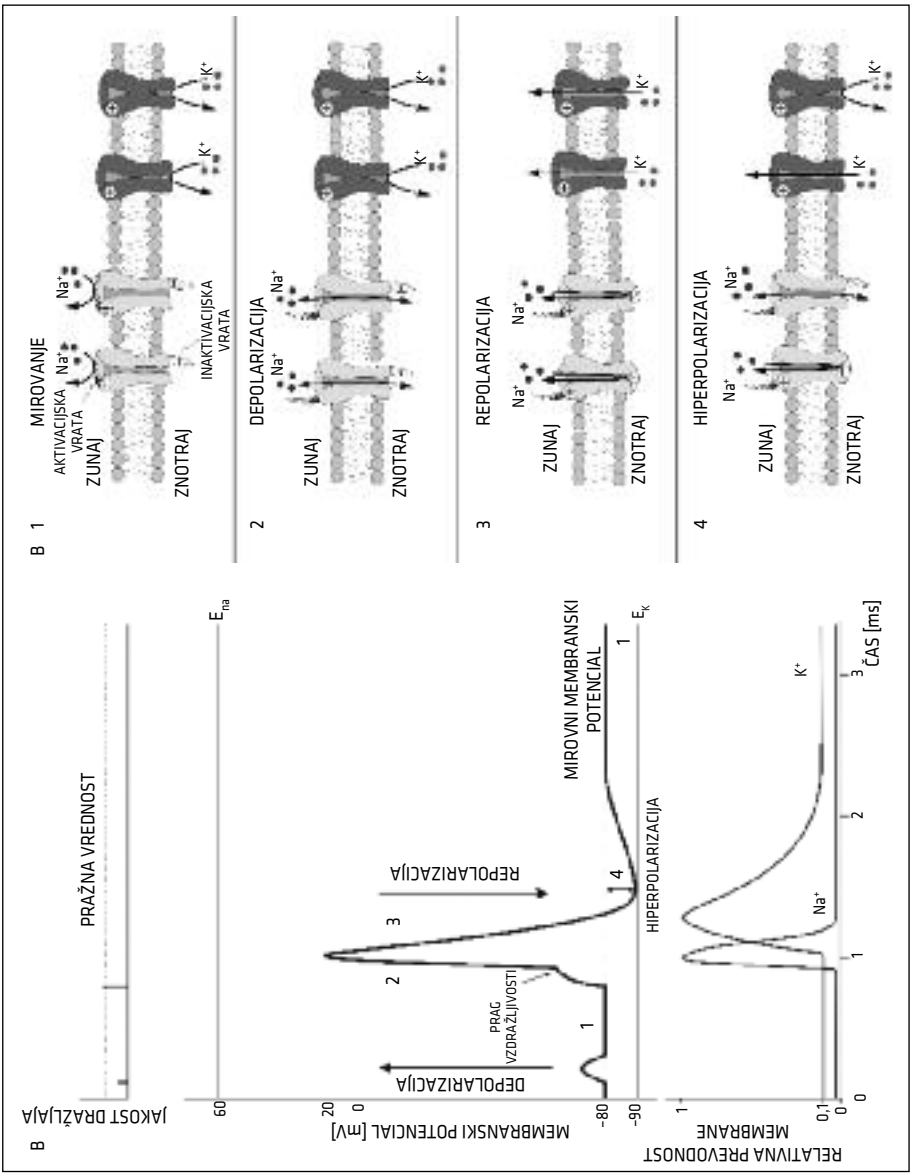
Napetostno odvisni kanali K^+

Ob depolarizaciji membrane se poveča tudi verjetnost odpiranja napetostno odvisnih kanalov K^+, vendar je njihovo odpiranje počasnejše kot pri napetostno odvisnih kanalih Na^+ in se začne šele pri vrednosti membranskega potenciala okrog 0 mV. Ob tem se prevodnost membrane za ione K^+ poveča. Iztok ionov K^+ iz celice povzroči padec membranskega potenciala proti Nernstovemu potencialu za K^+ (ki znaša po naših izračunih –95 mV) in membrana se tako repolarizira. Repolarizacija membrane zmanjša verjetnost odpiranja napetostno odvisnih kanalov K^+, zato pravimo, da gre tukaj za negativno povratno zvezo (slika 7).

Ker je zapiranje napetostno odvisnih kanalov K^+ zelo počasno, membranski potencial doseže tudi vrednosti, ki so še bolj negativne od mirovnega membranskega potenciala. Tej fazi pravimo hiperpolarizacijska faza akcijskega potenciala. Membrana ostane hiperpolarizirana tako dolgo, dokler je prevodnost za K^+ povečana. Čas trajanja hiperpolarizacije je odvisen od vrste živčne celice (oz. od vrste kanalov, ki so v živčni celici prisotni) in lahko traja tudi 100 ms, medtem ko je depolarizacija membrane zaradi odpiranja kanalov Na^+ zelo hitra (trajanje 1–2 ms ali manj). Ko se torej zaprejo vsi napetostno odvisni kanali K^+ in se iztok ionov K^+ iz celice zmanjša, se ponovno vzpostavi ravnovesno stanje in potencial preko membrane se vrne nazaj na vrednost mirovnega membranskega potenciala (slika 8).



Slika 7. Napetostno odvisni kanali K^+. A) Stanja napetostno odvisnih kanalov K^+. B) Odpiranje napetostno odvisnih kanalov K^+ omogoči iztok K^+ iz celice, kar vodi v repolarizacijo membrane in posledično počasno zapiranje napetostno odvisnih kanalov K^+.



Slika 8. Napetostno odvisni ionski kanali sprožijo nastanek akcijskega potenciala. A) Pražni dražljaj (zgoraj) povzroči depolarizacijo membrane do pražne vrednosti (v sredini), pri kateri pride do odpiranja napetostno odvisnih kanalov Na^+, in vdor Na^+ v celico sproži hitro depolarizacijo. Polariteta membrane se obrne. V fazi depolarizacije je prevodnost membrane za ione Na^+ povečana (spodaj). Ker se napetostno odvisni kanali Na^+ hitro inaktivirajo, se prevodnost membrane za ione Na^+ kmalu po aktivaciji zniža. Depolarizacija membrane povzroči tudi odprtje napetostno odvisnih kanalov K^+, kar povzroči repolarizacijsko fazo akcijskega potenciala. Prevodnost membrane za ione K^+ se poveča. Zaradi počasnega zapiranja napetostno odvisnih kanalov K^+ postane v določenem trenutku membranski potencial bolj negativen od mirovnega membranskega potenciala, kar imenujemo hiperpolarizacija membrane. Ko se zaprejo vsi napetostno odvisni kanali K^+, se prevodnost membrane zniža nazaj na raven pred nastankom akcijskega potenciala in membranski potencial je ponovno v kvazistacionarnem stanju. Številke na sivi podlagi označujejo fazo mirovnega membranskega potenciala (1) in faze akcijskega potenciala (2–4). Stanja napetostno odvisnih ionskih kanalov v posamezni fazi so prikazana pod B). Zaradi boljše preglednosti slike puščajoči kanali niso prikazani.

Akcijski potencial živčne in srčnomišične celice

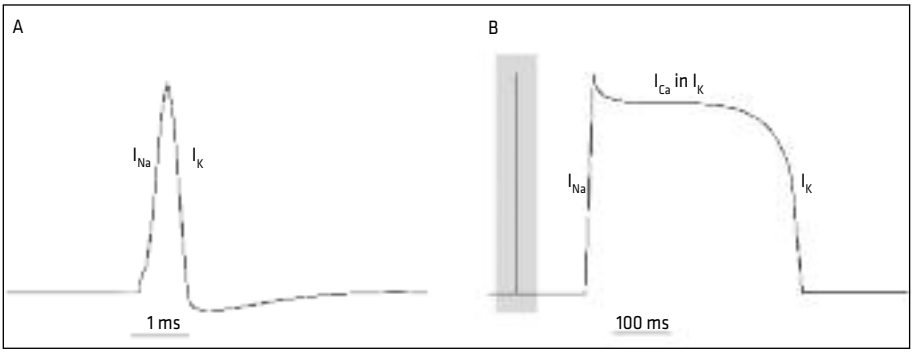
V živčnih celicah (nevronih) se ob dražljaju, ki doseže vzdražni prag, odprejo zgolj napetostno odvisni kanali Na^+, zato je za nevrone značilen hiter akcijski potencial, ki traja samo nekaj ms. V srčnomišičnih celicah (kardiomiocitih) depolarizacijsko fazo akcijskega potenciala določa tako tok ionov Na^+ kot tudi tok ionov Ca^{2+} preko membrane, zato je akcijski potencial kardiomiocitov daljši in traja okrog 300 ms (slika 9).

Med akcijskim potencialom se torej tipično poveča prevodnost membrane za ione Na^+ ali Ca^{2+}. Ker sta vrednosti Nernstovih potencialov za ta dva iona pozitivni (ob upoštevanju koncentracij ionov na sliki 2 znašata + 65 mV za Na^+ oz. + 131 mV za Ca^{2+}), doseže membranski potencial pozitivne vrednosti. Med repolarizacijo se prevodnost membrane za Na^+ in Ca^{2+} zmanjša. Med depolarizacijo obstaja tako neto tok ionov Na^+ ali Ca^{2+} v celico in med repolarizacijo neto tok K^+ iz nje. To pomeni, da so nosilci električnih nabojev med depolarizacijo vedno ioni Na^+ ali Ca^{2+} in med repolarizacijo ioni K^+. Tako bi se koncentraciji ionov Na^+ in Ca^{2+} v zunajceličnem prostoru sčasoma začeli zniževati in znotraj celic zviševati in obratno za ione K^+. Do tega ne pride in koncentracije ionov na eni in drugi strani membrane na dolgi rok ostajajo praktično nespremenjene, saj črpalke, ki smo jih omenili že v začetku tega poglavja, med akcijskim potencialom in po njem prehodno povečajo svojo aktivnost in tako poskrbijo, da niti številni akcijski potenciali na dolgi rok ne spremenijo koncentracij ionov v zunaj- in znotrajceličnem prostoru.

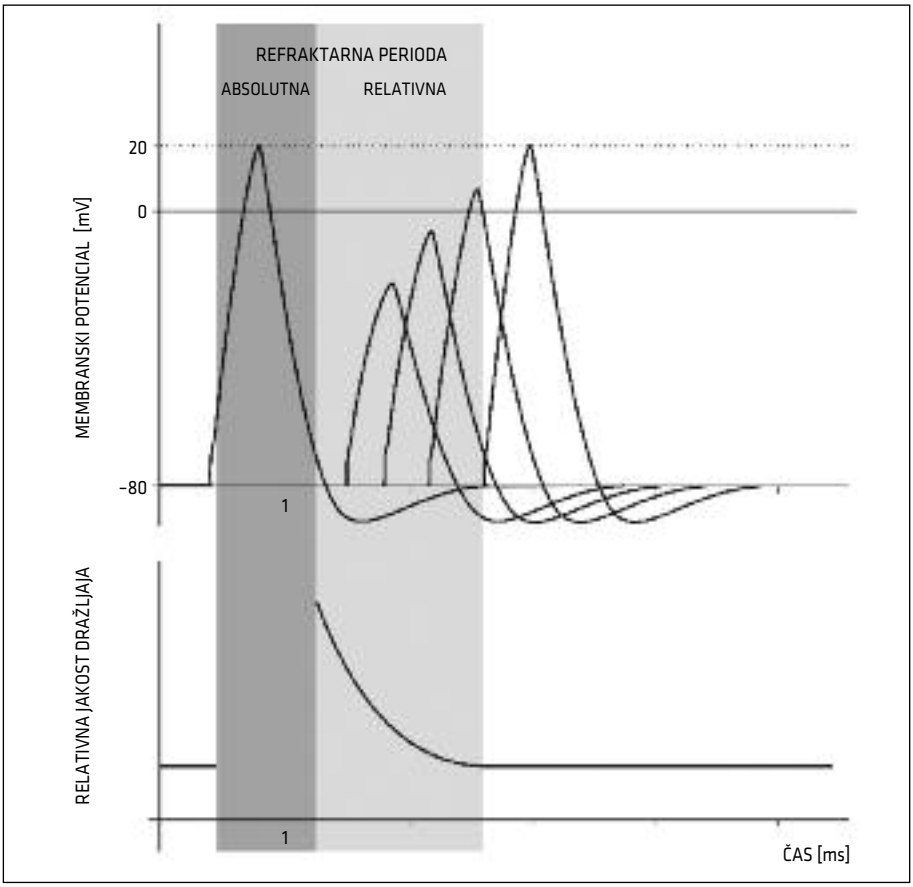
Refraktarna perioda

Tudi omejeno proženje akcijskih potencialov v celici dodatno prepreči porušenje koncentracijskega gradienta ionov preko membrane. V času, ko je celica refraktarna, namreč ni sposobna proženja akcijskih potencialov. Refraktarnost celice je posledica počasnega odstranjevanja inaktivacije napetostno odvisnih kanalov Na^+. Inaktivacija zapre napetostno odvisne kanale Na^+ in prepreči njihovo ponovno aktivacijo, dokler ne preteče dovolj časa in se inaktivacija ne odstrani.

Hitrost inaktivacije se znotraj družine napetostno odvisnih kanalov Na^+ razlikuje. Poznamo počasno in hitro inaktivacijo. Podatki o tem, kaj se zgodi pri počasni inaktivaciji ionskega kanala, se v literaturi razlikujejo. Po eni teoriji je počasna inaktivacija posledica konformacijske spremembe pore



Slika 9. Akcijski potencial nevrona in kardiomiocita. A) Akcijski potencial nevrona je izjemno kratek in traja nekaj ms ali celo manj. Med depolarizacijsko fazo akcijskega potenciala imamo tok Na^+ v celico, med repolarizacijsko fazo pa tok K^+ iz celice. B) Akcijski potencial kardiomiocita (desno) je v primerjavi z akcijskim potencialom nevrona (levo) mnogo daljši in traja približno 300 ms. V kardiomiocitu med depolarizacijo membrane vtekajo v celico ioni Na^+ in Ca^+, medtem ko je repolarizacija posledica toka ionov K^+iz celice.



Slika 10. Refraktarna perioda *(9)*. Absolutna refraktarna perioda je obdobje, ko novi akcijski potencial ne more nastati. V času relativne refraktarne periode je za nastanek akcijskega potenciala potreben dražljaj večje jakosti.

ionskega kanala, skozi katero prehajajo ioni, drugi navajajo, da do konformacijskih sprememb ne pride in da pora ionskega kanala v času počasne inaktivacije ostane odprta *(6, 7)*. Hitra inaktivacija lahko poteka na konvencionalen način, pri katerem določen segment ionskega kanala blokira ionsko poro kanala, ali pa je lahko tudi posledica blokade ionske pore z delcem, ki ni sestavni del ionskega kanala (npr. z nekim določenim delcem iz znotrajcelične raztopine). Sam proces inaktivacije je še kompleksnejši zaradi dejstva, da sta tako počasna kot hitra inaktivacija modulirani z različnimi faktorji (npr. celičnim tipom) *(8)*.

Ob depolarizaciji membrane se napetostno odvisni kanali Na^+ torej najprej aktivirajo, nato pa v nekaj ms tudi inaktivirajo. Da je celica sposobna sprožiti nov akcijski potencial, se mora inaktivacija napetostno odvisnih kanalov Na^+ odstraniti. Tako kot aktivacija napetostno odvisnih kanalov Na^+ poteka postopoma, poteka postopoma tudi odstranjevanje inaktivacije. Pri nekaterih napetostno odvisnih kanalih Na^+ se inaktivacija odstrani prej (že v fazi repolarizacje), pri drugih kasneje (šele ko je membrana hiperpolarizirana).

Dokler inaktivacija napetostno odvisnih kanalov Na^+ ni odstranjena pri dovolj

velikem deležu kanalov, nov akcijski potencial kljub velikemu dražljaju ne more nastati (slika 10). Tej fazi pravimo absolutna refraktarna perioda. Z repolarizacijo membrane proti vrednosti mirovnega membranskega potenciala postopoma odstranjujemo inaktivacijo pri vse večjem številu napetostno odvisnih kanalov Na^+, dokler v nekem trenutku nimamo na voljo dovolj velikega števila napetostno odvisnih kanalov Na^+, ki so ob dovolj močnem dražljaju ponovno sposobni aktivacije in s tem sprožitve novega akcijskega potenciala. Temu obdobju pravimo relativna refraktarna perioda. Ta traja, vse dokler je prevodnost membrane za K^+ povišana, torej dokler potencial preko membrane ponovno ne doseže mirovnega membranskega potenciala. Ker v fazi relativne refraktarne periode za aktivacijo še zmeraj nimamo na voljo vseh napetostno odvisnih kanalov Na^+, je tok Na^+ preko membrane manjši, s tem pa je manjša tudi dosežena amplituda akcijskega potenciala.

OKVARE NAPETOSTNO ODVISNIH IONSKIH KANALOV – KANALOPATIJE

Normalno delovanje napetostno odvisnih ionskih kanalov je izjemnega pomena za normalno vzdražnost celice, zato lahko vsaka mutacija vodi do sprememb v lastnostih ionskih kanalov in s tem do motenj v delovanju vzdražnih tkiv. Mutacije ionskih kanalov lahko spremenijo aktivacijske lastnosti, spremenijo ionsko selektivnost ali vplivajo na inaktivacijske lastnosti ionskega kanala. Mutacije napetostno odvisnih kanalov Na^+ in K^+ se zato klinično kažejo na ravni okvar različnih organov. Pri mutacijah ionskih kanalov je treba razumeti dva pomembna koncepta, to sta fenotipska in genetska heterogenost *(10)*. Fenotipska heterogenost pomeni, da lahko različne mutacije istega gena povzročijo različne bolezni. Tako lahko mutacija določene vrste napetostno odvisnega kanala Na^+ v skeletni mišici povzroči pojav hiperkaliemične periodične paralize, hipokaliemične periodične paralize, kongenitalne paramiotonije itd. Na drugi strani pa se lahko zaradi genetske heterogenosti mutacije različnih ionskih kanalov odražajo v enakem fenotipu (npr. hiperkaliemična periodična paraliza mišic se lahko pojavi kot posledica mutacije različnih napetostno odvisnih kanalov Na^+ in tudi zaradi mutacije napetostno odvisnih kanalov Ca^{2+}).

V nadaljevanju bomo izpostavili zgolj nekaj bolezni, ki so posledica mutacij napetostno odvisnih kanalov Na^+ ter se kažejo v okvarjeni sposobnosti skeletnih mišic za krčenje in sproščanje, motenem srčnem ritmu in v motnjah delovanja centralnega živčnega sistema.

Primeri okvar napetostno odvisnih kanalov Na^+

V mišicah okvare napetostno odvisnih kanalov Na^+ $Na_v1.4$ povzročijo cel spekter fenotipov –že omenjeno kongenitalno paramiotonijo, s kalijem poslabšano miotonijo, hiperkaliemično in hipokaliemično periodično paralizo *(11, 12)*. Zaradi okvare napetostnega senzorja se lahko upočasni proces inaktivacije ali proces odstranjevanja inaktivacije. S tem se podaljša trajanje akcijskega potenciala in posledično tudi trajanje kontrakcije mišičnega vlakna. Relaksacija mišičnega vlakna je zakasnjena in rezultat je nastanek miotonije. Na drugi strani pa lahko okvara napetostnega senzorja vodi tudi v nepopolno inaktivacijo napetostno odvisnih kanalov Na^+. Posledica je trajajoč tok Na^+, ki zviša mirovni membranski potencial celice. Slednji vodi v inaktivacijo glavnine napetostno odvisnih kanalov Na^+ (inaktivacija se zaradi depolarizacije tudi ne more odstraniti) in v zmanjšano vzdražnost membrane. Tudi pri hiperkaliemiji (npr. zaradi ledvične odpovedi) je zaradi višjega mirovnega membranskega potenciala normalno odstranjevanje inaktivacije napetostno odvisnih kanalov Na^+ onemogočeno. Posledica je zmanjšana vzdražnost celične membrane. Dražljaj, ki pride do mišičnega vlakna,

zato ne more sprožiti akcijskega potenciala. Rezultat je periodična paraliza mišic *(12)*.

V srcu se mutacije napetostno odvisnih kanalov Na^+ izrazijo v motnjah srčnega ritma. Najpogostejši posledici takšnih mutacij sta sindrom dolgega intervala QT in sindrom Brugada. Za kardiomiocite je tako kot za druge vzdražne celice značilno, da se ob depolarizaciji napetostno odvisni kanali Na^+ odpro za kratek čas (približno za 1 ms), nato pa kanal preide v stanje inaktivacije. Ena od mutacij podenote α napetostno odvisnega kanala Na^+ Na_v 1.5 povzroči nezmožnost kanala, da se hitro inaktivira *(13)*. Takšna mutacija torej povzroči povečano aktivnost ionskega kanala. Že nekaj mutiranih napetostno odvisnih kanalov Na^+ v celici je dovolj, da je tok Na^+ v celico povečan, zaradi česar so kardiomiociti dalje časa vzdraženi in repolarizacija ventriklov upočasnjena. To na zapisu EKG vidimo kot podaljšan interval QT, od tod tudi ime sindrom dolgega intervala QT. Trajanje intervala QT približno ustreza trajanju akcijskega potenciala kardiomiocita. Ker je izražanje mutiranih ionskih kanalov med celicami heterogeno, se amplituda toka Na^+ med kardiomiociti razlikuje, s tem pa se razlikujeta tudi hitrost repolarizacije in trajanje akcijskega potenciala.

Pri sindromu Brugada pride prav tako do mutacije podenote α napetostno odvisnih kanalov Na^+ $Na_v1.5$, vendar ta mutacija povzroči prehitro inaktivacijo napetostno odvisnih kanalov Na^+ *(13)*. Repolarizacija kardiomiocitov je zato hitrejša. Ker je tudi v tem primeru izražanje mutiranih napetostno odvisnih kanalov Na^+ med kardiomiociti heterogeno, se trajanje akcijskega potenciala med kardiomiociti razlikuje.

Normalno se v miokardu depolarizacija in repolarizacija širita po točno določeni poti. Če se trajanje akcijskega potenciala kardiomiocitov spremeni, kot se to zgodi pri sindromu dolgega intervala QT ali pri sindromu Brugada, se vala depolarizacije in repolarizacije ne širita več po ustaljeni poti. Zaradi nepravilnosti v električni prevodnosti srca je pri takšnih bolnikih večja verjetnost pojava aritmij, izgube zavesti ali celo nenadne smrti zaradi ventrikularne fibrilacije.

Poleg omenjenih aritmij se lahko mutacije napetostno odvisnih kanalov Na^+ izrazijo tudi kot motnje v prevajanju impulzov po prevodnem sistemu srca (upočasnjeno prevajanje po Hisovem snopu in Purkinjevih vlaknih) *(12)*.

Okvare napetostno odvisnih kanalov Na^+ v centralnem živčnem sistemu se kažejo kot migrene in različne oblike epilepsije *(14)*. Mutacija gena SCN1 oz. napetostno odvisnega kanala Na^+ $Na_v1.1$ je bila najprej odkrita pri družinah, v katerih se pojavlja oblika epilepsije, za katero so v času otroštva značilni febrilni napadi, ki nato z leti napredujejo v generalizirano obliko epilepsije *(15)*. Vse do danes je bilo opisanih že več kot 700 različnih mutacij tega istega napetostno odvisnega kanala Na^+ $Na_v1.1$ pri ljudeh z Dravetovim sindromom. Poleg omenjenega gena so z epileptičnimi napadi povezane tudi mutacije napetostno odvisnih kanalov Na^+ $Na_v1.2$ (gen SCN2A), $Na_v1.3$ (gen SCN3A) in $Na_v1.7$ (gen SCN9A) *(10, 14)*.

ZAKLJUČEK

Kot odgovor na dražljaj dovolj velike jakosti v vzdražnih celicah nastane akcijski potencial. S širjenjem akcijskega potenciala lahko celice bodisi prenesejo informacijo o dražljaju do sosednje celice bodisi z nastankom akcijskega potenciala pride do aktivacij pomembnih celičnih funkcij. Pri nastanku akcijskega potenciala imajo najpomembnejšo vlogo napetostno odvisni ionski kanali. Razumevanje njihovega delovanja je ključno tako za razumevanje akcijskega potenciala samega kot tudi za razumevanje posledic, ki jih imajo okvare ionskih kanalov v različnih tkivih.

LITERATURA

1. Skou J, Esmann M. The Na,K-ATPase. J Bioenerg Biomembr. 1992. 24 (3): 249–61.
2. Ren D. Sodium leak channels in neuronal excitability and rhythmic behaviors. Neuron. 2011. 72 (6): 899–911.
3. Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J Physiol. 1952. 117 (4): 500–44.
4. Catterall WA. From Ionic Currents to Molecular Mechanisms: The structure and function of voltage-gated sodium channels. Neuron. 2000. 26 (1): 13–25.
5. Wood JN, Baker M. Voltage-gated sodium channels. Curr Opin Pharmacol. 2001. 1 (1): 17–21.
6. Ong BH, Tomaselli GF, Balser JR. A structural rearrangement in the sodium channel pore linked to slow inactivation and use dependence. J Gen Physiol. 2000. 116 (5): 653–62.
7. Struyk AF, Cannon SC. Slow inactivation does not block the aqueous accessibility to the outer pore of voltage-gated Na channels. J Gen Physiol. 2002. 120 (4): 509–16.
8. Goldin AL. Mechanisms of sodium channel inactivation. Curr Opin Neurobiol. 2003. 13 (3): 284–90.
9. Stožer A, Križančić Bombek L, Dolenšek J, et al. Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje. Maribor: Medicinska fakulteta; 2012.
10. Bernard G, Shevell MI. Channelopathies: a review. Pediatr Neurol. 2008. 38 (2): 73–85.
11. Cherian A, Baheti NN, Kuruvilla A. Muscle channelopathies and electrophysiological approach. Ann Indian Acad Neurol. 2008. 11 (1): 20–7.
12. George AL Jr. Inherited disorders of voltage-gated sodium channels. J Clin Invest. 2005. 115 (8): 1990–9.
13. Balser JR. Inherited sodium channelopathies: models for acquired arrhythmias? Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002. 282 (4): H1175–80.
14. Meisler MH, O'Brien JE, Sharkey LM. Sodium channel gene family: epilepsy mutations, gene interactions and modifier effects. J Physiol. 2010. 588 (11): 1841–8.
15. Meisler MH, Kearney JA. Sodium channel mutations in epilepsy and other neurological disorders. J Clin Invest. 2005. 115 (8): 2010–7.

Prispelo 22. 11. 2013