

Σημειώσεις Βιοφυσικής¹

Δυναμικό κυτταρικής μεμβράνης

Η διαφορά δυναμικού που αναπτύσσεται στη μεμβράνη του κυττάρου οφείλεται στις διαφορετικές συγκεντρώσεις ιόντων που βρίσκονται εκατέρωθεν της μεμβράνης. Σε κατάσταση ισορροπίας το εσωτερικό εμφανίζεται αρνητικό και το εξωτερικό θετικό.

Τα ιόντα που διαμορφώνουν το διαμεμβρανικό δυναμικό είναι κατά κύριο λόγο τα ιόντα Na^+ , K^+ , Cl^- . Βιολογικό ρόλο έχουν και τα ιόντα Ca^{+2} , τα οποία όμως σε μια πρώτη προσέγγιση θα μπορούσαν να μη ληφθούν υπόψη, καθώς η συγκέντρωσή τους είναι σχετικά χαμηλή (βλ. πίνακα 1). Σημαντικό ρόλο παίζουν επίσης τα οργανικά ανιόντα που βρίσκονται στο εσωτερικό της μεμβράνης. Οι συγκεντρώσεις αυτές εξαρτώνται από το pH, τη θερμοκρασία και το είδος του κυττάρου. Στον πίνακα 1 έχει θεωρηθεί ότι ισχύουν οι ακόλουθες συνθήκες: θερμοκρασία 25°C, pH =7,2 (μέσα στο κύτταρο) και pH=7,4 (έξω από το κύτταρο) και το κύτταρο είναι μυϊκό. Όπως φαίνεται, στο κυτταρόπλασμα κυριαρχούν τα ιόντα καλίου. Στον εξωκυττάριο χώρο κυριαρχούν τα ιόντα νατρίου και χλωρίου.

Στο εσωτερικό υπάρχουν και οργανικά ανιόντα (και μάλιστα σε συγκέντρωση παραπλήσια με το κάλιο), τα οποία προέρχονται κυρίως από πρωτεΐνες ή άλλες ενώσεις (χοληστερίνη, φωσφατιδυλσερίνη).

Λαμβάνοντας υπόψη τα πιο πάνω, φαίνεται ότι υπάρχει μια περίσσεια θετικών ιόντων στο εξωτερικό του κυττάρου, γεγονός που δημιουργεί μια διαφορά δυναμικού, με αποτέλεσμα το εσωτερικό να εμφανίζεται αρνητικό. Οι συγκεντρώσεις αυτές των ιόντων καθορίστηκαν από διάφορους μηχανισμούς μεταφοράς με κυριότερους τους εξής:

- διάχυση λόγω διαφοράς συγκέντρωσης
- ροή λόγω διαφοράς ηλεκτρικού δυναμικού
- χημική μεταφορά λόγω αντλίας καλίου-νατρίου

Πίνακας 1. Συγκέντρωση κυριότερων ιόντων εντός και εκτός του κυττάρου (Με A- συμβολίζονται τα οργανικά ανιόντα στο εσωτερικό του κυττάρου). Οι τιμές ισχύουν για θερμοκρασία 25°C, pH =7,2 (μέσα στο κύτταρο) και pH=7,4 (έξω από το κύτταρο).

Ιόν	Συγκέντρωση στο κυτταρόπλασμα [mmol/lit H ₂ O]	Συγκέντρωση στο εξωκυττάριο υγρό [mmol/lit H ₂ O]
K^+	140	5
Na^+	10	145
Cl^-	10	110
Ca^{+2}	10^{-5} ως 10^{-4}	2.5
A ⁻	100-110	-

¹ Οι σημειώσεις αυτές προέρχονται από το κείμενο της διδακτορικής διατριβής του Απόστολου-Απόλλωνα Παρασκευόπουλου με τίτλο «Το ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο σε δίκτυα και εγκαταστάσεις ως παράγων περιβαλλοντικών επιπτώσεων», ΕΜΠ, Αθήνα 2009.

Μηχανισμοί μεταφοράς στην κυτταρική μεμβράνη

Διάχυση

Η διαφορετική συγκέντρωση μιας ουσίας σε κάποιο χώρο προκαλεί μετακίνηση από το χώρο μεγαλύτερης συγκέντρωσης προς το χώρο μικρότερης συγκέντρωσης και ισχύει ο νόμος του Fick:

$$J_{chem} = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (1)$$

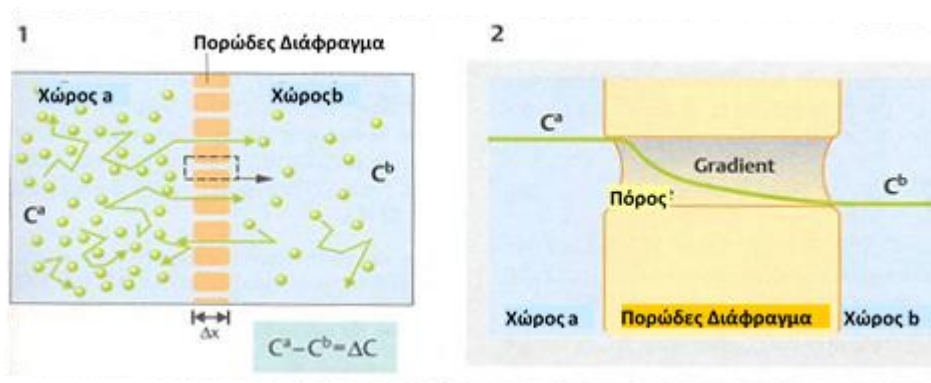
όπου J_{chem} η ροή των σωματιδίων που περνούν μέσα από μια επιφάνεια, D η σταθερά διάχυσης και C η συγκέντρωση των σωματιδίων, ενώ $\frac{\partial C}{\partial x}$ είναι η βαθμίδα (gradient) της συγκέντρωσης ως προς τη διεύθυνση x .

Η σταθερά διάχυσης D δίνεται από την σχέση του Einstein:

$$D = \frac{kT}{6\pi r\eta} \quad (2)$$

Όπου $k=1.38 \times 10^{-23} \text{J/K}$ η σταθερά Boltzmann, T η θερμοκρασία, r η ακτίνα του σωματιδίου (μορίου, ατόμου) και η το ιξώδες. Η σταθερά διάχυσης δίνεται σε $[\text{m}^2/\text{sec}]$.

Μια λοιπόν αρχική διαφορά συγκεντρώσεων θα δημιουργήσει ροή διαμέσου της μεμβράνης (σχήμα 1) από ειδικά κανάλια. Το παραπάνω φαινόμενο λαμβάνει χώρα τόσο για ιόντα όσο και για ουδέτερες ουσίες. Ειδικά σε ότι αφορά στα ιόντα, η αρχική διαφορά συγκεντρώσεων κάποια στιγμή εξισορροπείται λόγω ανάπτυξης ηλεκτρικού πεδίου, το οποίο τείνει να αναιρέσει τη διάχυση.



Σχήμα 1. (1) Διάχυση σωματιδίων από έναν χώρο a μεγάλης συγκέντρωσης, σε χώρο b μικρής συγκέντρωσης μέσα από πορώδες διάφραγμα. (2) Βαθμίδα συγκέντρωσης (gradient) $\frac{\partial C}{\partial x}$ ως προς την διεύθυνση x .

Ροή ιόντων

Η διαφορετική συγκέντρωση φορτίων σε ένα χώρο δημιουργεί διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού και ηλεκτρικό πεδίο με διεύθυνση από τα θετικά στα αρνητικά.

Η ροή των φορτίων δίνεται από το νόμο του Ohm:

$$J_{elec} = \sigma E \quad (3)$$

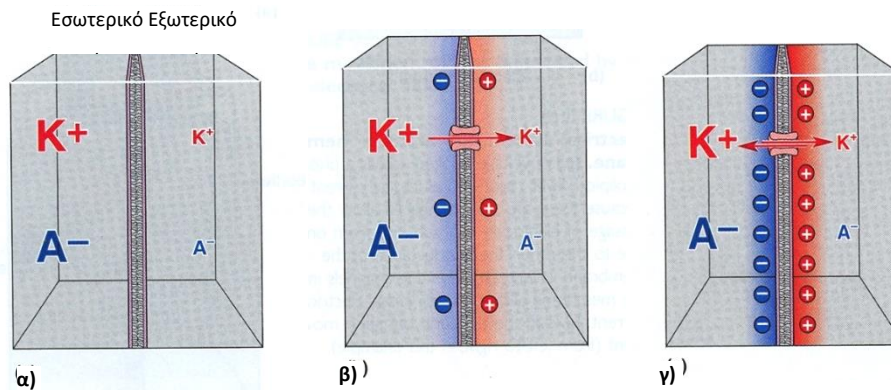
όπου J_{elec} η πυκνότητα ρεύματος, σ η ειδική αγωγιμότητα του μέσου και E το ηλεκτρικό πεδίο. Επειδή, εξ' ορισμού,

$$E = -\frac{\partial U}{\partial x} \quad (4)$$

όπου U το ηλεκτρικό (βαθμωτό)δυναμικό, θα είναι

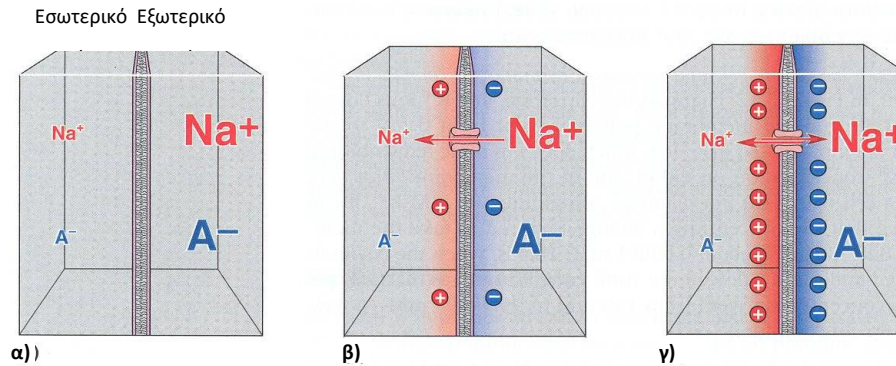
$$J_{elec} = -\sigma \frac{\partial U}{\partial x} \quad (5)$$

Η εξίσωση 5 έχει παρόμοια μορφή με τον νόμο του Fick (εξίσωση 1). Θεωρώντας ότι η μεμβράνη είναι διαπερατή μόνο σε ένα είδος ιόντος, π.χ. σε K^+ , επειδή στο εσωτερικό υπάρχει περίσσεια σε κάλιο (πίνακας 1), θα δημιουργηθεί ροή ιόντων προς τα έξω. Στη συνέχεια θα δημιουργηθεί ηλεκτρικό πεδίο με φορά προς τα μέσα που τείνει να αναιρέσει τη ροή καλίου προς τα έξω. Κάποια στιγμή αποκαθίσταται ισορροπία και όσα ιόντα εξέρχονται, άλλα τόσα εισέρχονται. (σχήμα 2).

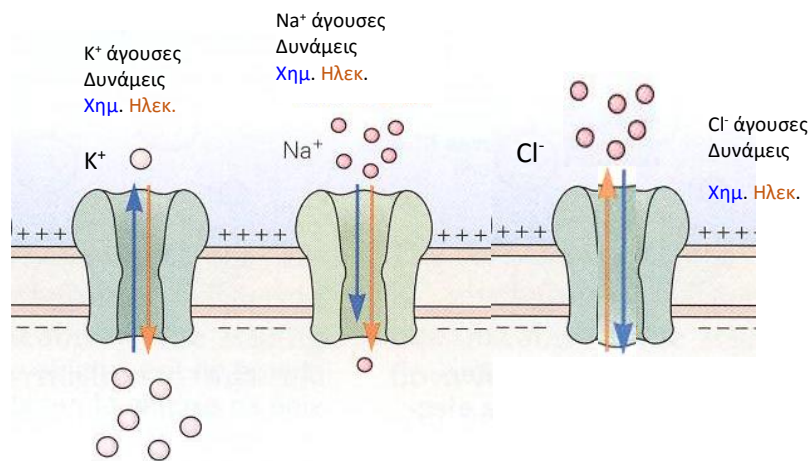


Σχήμα 2. Αποκατάσταση ισορροπίας σε μεμβράνη με κανάλια K^+ . (α) Η μεμβράνη δεν έχει κανάλια και έχει στο εσωτερικό περίσσεια K^+ . (β) Ανοίγει κανάλι και τα ιόντα εξέρχονται, λόγω της διαφορετικής συγκέντρωσης και παράλληλα δημιουργείται ηλεκτρικό πεδίο με φορά από έξω προς τα μέσα. (γ) Κάποια στιγμή το ηλεκτρικό πεδίο μεγαλώνει τόσο, ώστε όσα ιόντα εξέρχονται άλλα τόσα εισέρχονται (κατάσταση ισορροπίας).

Λαμβάνοντας υπόψη τώρα τα ιόντα Na^+ , κάποια στιγμή θα αποκατασταθεί η ισορροπία που φαίνεται στο σχήμα 3.



Σχήμα 3. Αποκατάσταση ισορροπίας σε μεμβράνη με κανάλια Na^+ .



Σχήμα 4. Χημικές (Χημ.) και Ηλεκτρικές (Ηλεκ.) δυνάμεις που οδηγούν τα ιόντα καλίου, νατρίου και χλωρίου. Το ηλεκτρικό δυναμικό έχει σχεδιαστεί όπως είναι στην πραγματικότητα (αρνητικό στο εσωτερικό). Για τα ιόντα καλίου αλλά και για τα ιόντα χλωρίου οι δύο δυνάμεις αλληλοεξουδετερώνονται. Για τα ιόντα νατρίου και οι δύο δυνάμεις είναι προς το εσωτερικό του κυττάρου.

Η πραγματικότητα βρίσκεται πιο κοντά στο σχήμα 2 παρά στο σχήμα 3, αφού όπως δείχνουν πειραματικές μετρήσεις, στο δυναμικό ισορροπίας το εσωτερικό του κυττάρου (κυτταρόπλασμα) είναι ηλεκτραρνητικό ως προς το εξωτερικό του (εξωκυττάριο υγρό). Ωστόσο, αν ίσχυε αυτό, τα ιόντα νατρίου θα οδηγούνταν μέσα στο κύτταρο, όχι μόνο λόγω διαφοράς στη συγκέντρωση αλλά και λόγω ηλεκτρικού πεδίου. Η αθρόα ροή ιόντων νατρίου στο εσωτερικό του κυττάρου θα άλλαζε την περίσσεια αρνητικού φορτίου σε αυτό. Παρόλα αυτά, κάτι τέτοιο δεν συμβαίνει. Αν ληφθεί υπόψη η κίνηση των ιόντων χλωρίου (μεμονωμένα) κι επειδή υπάρχει περίσσεια ιόντων έξω από το κύτταρο (πίνακας 1), θα υπάρξει ροή ιόντων προς τα μέσα, η οποία με τη σειρά της θα ενισχύσει το ήδη υπάρχον ηλεκτρικό πεδίο, το οποίο αντιτίθεται στην είσοδο αρνητικών ιόντων. Έτσι θα επέλθει και για τα ιόντα χλωρίου ισορροπία όμοια με αυτή των ιόντων καλίου.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, και σε συνδυασμό με το σχήμα 4, μόνο τα ιόντα νατρίου μπορούν να διαμορφώσουν το δυναμικό της μεμβράνης, αφού στα ιόντα καλίου και

χλωρίου επέρχεται ισορροπία και οι συγκεντρώσεις τους δεν αλλάζουν. Αν όμως τα ιόντα νατρίου είναι αυτά που καθορίζουν το δυναμικό, τότε θα γινόταν αθρόα εισροή ιόντων νατρίου κάτι που όπως θα ανέτρεπε την ισορροπία, θα άλλαζε το ηλεκτρικό δυναμικό και τις συγκεντρώσεις. Αυτό δε συμβαίνει, γιατί υπάρχει ένας ακόμη μηχανισμός μεταφοράς ιόντων, η επονομαζόμενη «αντλία νατρίου-καλίου» ή «αντλία καλίου-νατρίου».

Αντλία Na-K

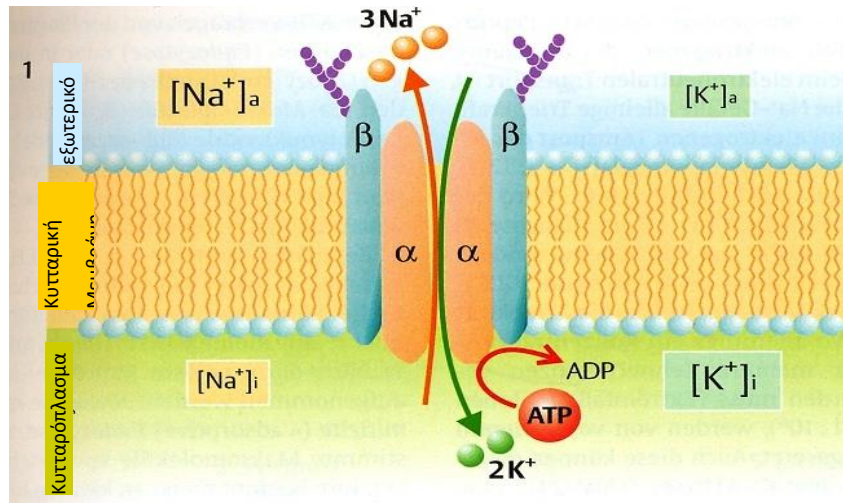
Η αντλία Na-K είναι στην ουσία μια πρωτεϊνική δομή (ένζυμο), η οποία έχει αποστολή να μεταφέρει ιόντα Na⁺ έξω από το κύτταρο και να φέρνει ιόντα K⁺ μέσα στο κύτταρο. Όπως φαίνεται από το σχήμα 5, η αντλία Na-K είναι ένα κανάλι διπλής κατεύθυνσης αλλά επιτρέπει την έξοδο μόνο σε ιόντα Na και την είσοδο μόνο σε ιόντα K. Την ενέργεια για τη λειτουργία αυτή, την εξασφαλίζει από την υδρόλυση της ATP (τριφωσφορικής αδενοσίνης ή τριφωσφαταδενοσίνης):



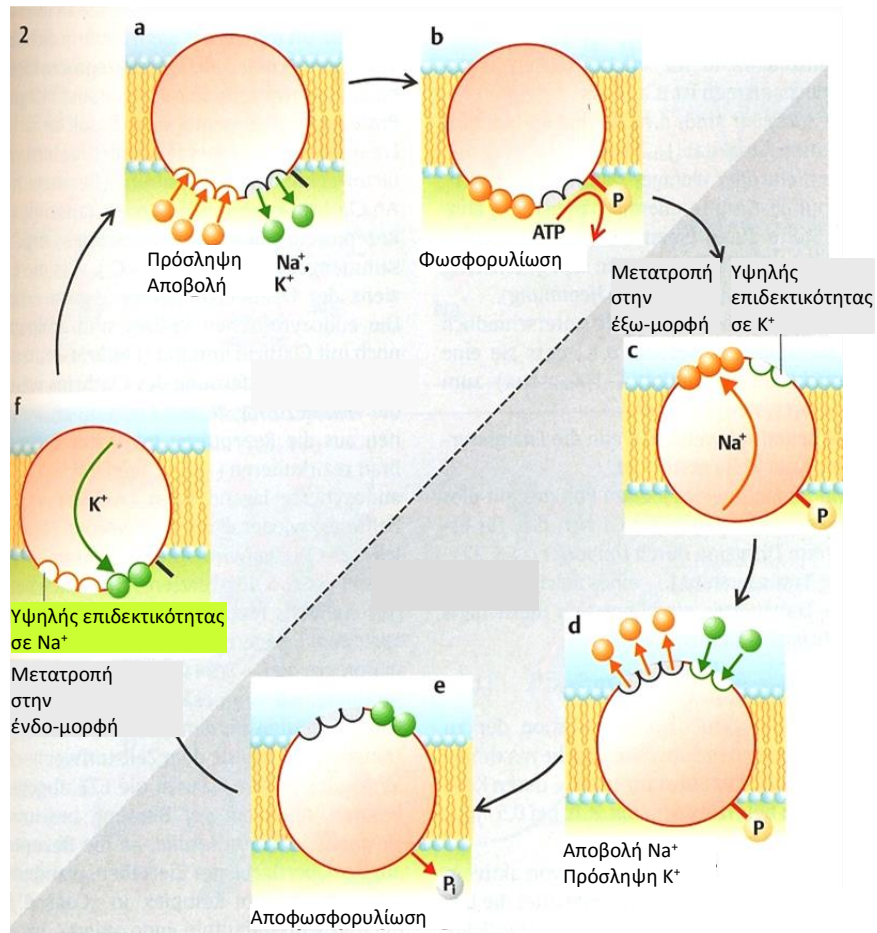
Έτσι προκύπτει η ADP, ενώ απελευθερώνεται ενέργεια: $\Delta\text{G} = 30,5 \text{ kJ/mol}$.

Για κάθε μόριο ATP που υδρολύεται, αντλούνται 3 Na⁺ προς τα έξω και 2 K⁺ προς τα μέσα. Το ένζυμο που συγκροτεί την αντλία ονομάζεται K-Na-ATPάση. Ουσιαστικά η K-Na-ATPάση και η αντλία ταυτίζονται. Η ταχύτητα λειτουργίας της αντλίας περιλαμβάνει περίπου 2000 κύκλους άντλησης/sec και μεταφορά 10.000 ιόντα/sec.

Όπως δείχνει το σχήμα 5, η αντλία αποτελείται από δύο πρωτεΐνες α και β. Το ένζυμο μπορεί να θεωρηθεί ότι παρουσιάζεται με δύο μορφές: *ένδο-μορφή και έξω-μορφή*. Η λειτουργία της αντλίας μπορεί να αναλυθεί σε 6 στάδια όπως δείχνει το σχήμα 6. Αρχικά το ένζυμο έχει την ένδο-μορφή, προσλαμβάνει Na⁺ και αποβάλλει K⁺. Στη συνέχεια το ένζυμο υφίσταται φωσφορυλίωση, το ATP μετατρέπεται σε ADP και το ένζυμο προσαρτά φωσφορική ρίζα. Η φωσφορυλιωμένη είναι η έξω-μορφή, η οποία είναι υψηλής επιδεκτικότητας σε K⁺. Με αυτή τη μορφή, προσλαμβάνονται K⁺ και αποβάλλονται τα Na⁺ που είχαν προσληφθεί από την ένδο-μορφή. Στη συνέχεια η αποβολή της φωσφορικής ρίζας οδηγεί στην αποφωσφορυλίωση και στην ένδο-μορφή. Η ένδο-μορφή είναι υψηλής επιδεκτικότητας σε Na⁺. Έτσι ο κύκλος των διαδοχικών σταδίων ξεκινά και πάλι και η λειτουργία της αντλίας συνεχίζεται.



Σχήμα 5. Δομή της αντλίας Na-K (ένζυμο Na-K-ATPάση) αποτελούμενη από δύο πρωτεΐνες α και β.



Σχήμα 6. Τρόπος λειτουργίας της αντλίας: α)Ενδο-μορφή, σύνδεση με Na, αποβολή K. β)Φωσφορυλίωση. γ)Μετατροπή στην έξω-μορφή, υψηλής επιδεκτικότητας σε K. δ) Πρόσληψη K, αποβολή Na. ε) Αποφωσφορυλίωση (αποβολή φωσφορικής ρίζας). ς) Μετατροπή στην ενδο-μορφή, υψηλής επιδεκτικότητας σε Na.

Οι ποσοτικές σχέσεις που καθορίζουν το ηλεκτρικό δυναμικό κυτταρικής μεμβράνης είναι οι εξισώσεις του Nernst και του Goldman.

Εξισώσεις δυναμικού

Εξίσωση του Nernst

Η εξίσωση Nernst προσδιορίζει τη διαφορά δυναμικού εκατέρωθεν της μεμβράνης, για την οποία υπάρχει ηλεκτροχημική ισορροπία:

$$\Delta U = \frac{RT}{zF} \ln\left(\frac{C_o}{C_i}\right) \quad (6)$$

$$\Delta U = \frac{kT}{zq} \ln\left(\frac{C_o}{C_i}\right)$$

όπου ΔU είναι η διαφορά δυναμικού εκατέρωθεν της μεμβράνης και συγκεκριμένα $\Delta U = U_i - U_o$, με τους δείκτες i και o να σημαίνουν το εσωτερικό και εξωτερικό αντίστοιχα, $R = 8,314\text{J}/(\text{mol K})$ η παγκόσμια σταθερά των ιδανικών αερίων, $F = 96500\text{Cb}/\text{gr-ion}$ η σταθερά του Faraday, $q = 1,6 \times 10^{-19}\text{Cb}$ το στοιχειώδες ηλεκτρικό φορτίο, z το σθένος του ιόντος και C η συγκέντρωση αυτού.

Για θερμοκρασία περιβάλλοντος 25°C (298K), $\frac{RT}{F} = \frac{kT}{q} = 25\text{mV}$ (η λεγόμενη θερμική τάση). Για θερμοκρασία σώματος 37°C (310K) η τάση αυτή γίνεται 26mV.

Η εξίσωση Nernst δίνει το δυναμικό ισορροπίας (ηρεμίας) σε δύο διαλύματα με διαφορετική συγκέντρωση ιόντων και έχει θεμελιώδη σημασία στην ηλεκτροχημεία γενικά. Ειδικά σε ό,τι αφορά στο κύτταρο, τα δύο διαλύματα είναι ο ενδοκυττάριος και ο εξωκυττάριος χώρος. Στην εξίσωση Nernst λαμβάνεται υπόψη μόνο ένα είδος ιόντος. Με βάση τα δεδομένα του πίνακα 1, υπολογίζονται τα δυναμικά ισορροπίας σε μια κυτταρική μεμβράνη, λαμβάνοντας υπόψη κάθε φορά ένα είδος ιόντος.

Πίνακας 2. Δυναμικά ισορροπίας με βάση τις συγκεντρώσεις του πίνακα 1. Τα δεδομένα της 2ης στήλης είναι για 37°C που μπορεί να θεωρηθεί η φυσιολογική θερμοκρασία του ανθρώπινου οργανισμού. Δεν έχουν υπολογιστεί με βάση τον πίνακα 1, αφού η αύξηση θερμοκρασίας δεν αλλάζει μόνο τη θερμική τάση αλλά και τις συγκεντρώσεις.

Ιόν	Δυναμικό Ισορροπίας (mV) σε 25°C (298K)	Δυναμικό Ισορροπίας (mV) σε 37°C (310K)
K^+	-83	-95
Na^+	+67	+80
Cl^-	-60	-80
Ca^{+2}	+125 έως +155	έως +310

Η πραγματική τιμή του δυναμικού ισορροπίας στο κύτταρο είναι από -70 ως -90mV. Αυτό δείχνει ότι δεν έχουν όλα τα ιόντα την ίδια συμμετοχή στην διαμόρφωση αυτού του δυναμικού. Φαίνεται να υπάρχει αυξημένη διαπερατότητα σε ιόντα K^+ αφού το δυναμικό Nernst για το κάλιο είναι περισσότερο κοντά στην πραγματική τιμή. Συνεπώς η εξίσωση Nernst για να καλύψει θεωρητικά το φαινόμενο πρέπει να συμπεριλάβει και τα υπόλοιπα ιόντα καθώς και τις διαπερατότητες της μεμβράνης. Αυτό γίνεται με χρήση της εξίσωσης Goldman.

Εξίσωση Goldman

Η εξίσωση Goldman–Hodgkin–Katz (GHK) προσδιορίζει τη διαφορά δυναμικού εκατέρωθεν της μεμβράνης, για την οποία υπάρχει ηλεκτροχημική ισορροπία παρουσία όλων των τύπων ιόντων, για τα οποία η μεμβράνη μπορεί να είναι διαπερατή:

$$\Delta U = \frac{RT}{zF} \ln \frac{P_1[C_1]_{o1} + P_2[C_2]_{o2} + \dots}{P_1[C_1]_{i1} + P_2[C_2]_{i2} + \dots} = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{\sum_{k=1}^n P_k [C_k]_{ok}}{\sum_{k=1}^n P_k [C_k]_{ik}} \right) \quad (7)$$

όπου P_k είναι η διαπερατότητα του k ιόντος και C_k η αντίστοιχη συγκέντρωσή στο εσωτερικό και το εξωτερικό του κυττάρου (ανάλογα με τον δείκτη i και o). Αν συνυπάρχουν θετικά και αρνητικά ιόντα, τα αρνητικά ιόντα πρέπει να έχουν στον αριθμητή τις εσωτερικές συγκεντρώσεις και στον παρονομαστή τις εξωτερικές, οπότε για μονοσθενή ιόντα ($z=1$) θα είναι

$$\Delta U = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{\sum_{k=1}^n P_k^+ [C_k^+]_{ok} + \sum_{k=1}^n P_k^- [C_k^-]_{ik}}{\sum_{k=1}^n P_k^+ [C_k^+]_{ik} + \sum_{k=1}^n P_k^- [C_k^-]_{ok}} \right) \quad (8)$$

Λαμβάνοντας υπόψη ότι στα κύτταρα τα κυριότερα ιόντα είναι το κάλιο, το νάτριο και το χλώριο τότε η σχέση (8) γίνεται

$$\Delta U = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_o} \quad (8a)$$

Τα ιόντα ασβεστίου έχουν $z=1$, όμως δεν επηρεάζουν τόσο το δυναμικό και μπορούν να μην ληφθούν υπόψη, λόγω της χαμηλής συγκέντρωσής τους σε σχέση με τα υπόλοιπα ιόντα. Στην εξίσωση 8a θα πρέπει να είναι γνωστές οι διαπερατότητες των αντίστοιχων ιόντων. Είναι αναμενόμενο το κάλιο να εμφανίζει την μεγαλύτερη διαπερατότητα αφού το δυναμικό Nernst για τις τυπικές συγκεντρώσεις του σε ένα κύτταρο, είναι κοντά στο πραγματικό δυναμικό. Η διαπερατότητα εκφράζει πόσο εύκολα περνά ένα ιόν τη μεμβράνη και συνήθως μετριέται σε $\mu\text{m}/\text{sec}$. Εξαρτάται από τον συντελεστή διάχυσης D , έναν συντελεστή διαλυτότητας κ , ενώ είναι αντιστρόφως ανάλογη από το πάχος Δx της μεμβράνης:

$$P = \frac{\kappa D}{\Delta x} \quad (9)$$

Δυναμικό δράσης

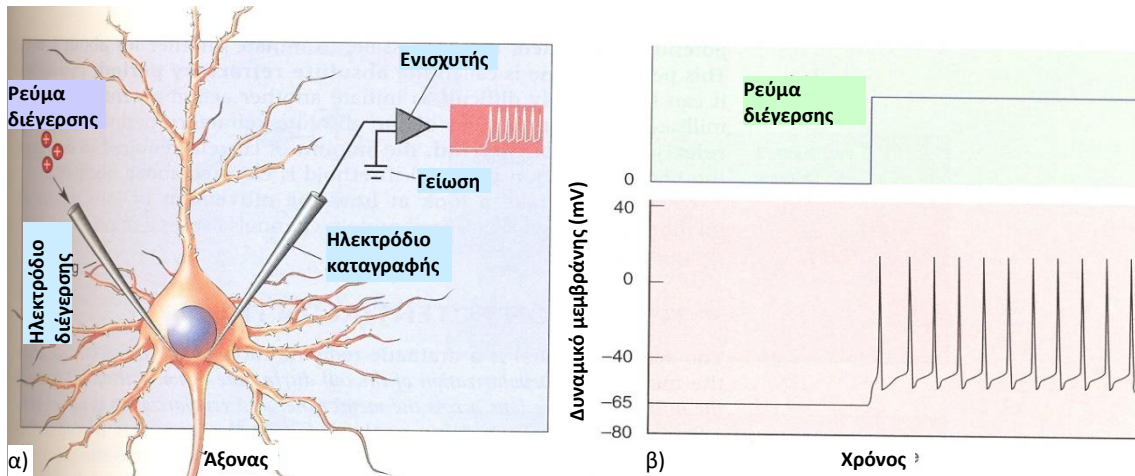
Όλα τα παραπάνω αφορούσαν το λεγόμενο δυναμικό ισορροπίας κατά το οποίο το κύτταρο αδρανεί. Φεύγοντας από το δυναμικό ισορροπίας τα πρωτεϊνικά κανάλια και η αντλία ATP διαμορφώνουν νέες συγκεντρώσεις και το ηλεκτρικό δυναμικό αλλάζει. Αυτή η αλλαγή ηλεκτρικού δυναμικού συνιστά ένα σήμα το οποίο μπορεί να μεταδοθεί από κύτταρο σε κύτταρο και να οδηγήσει τελικά σε μια συγκεκριμένη λειτουργία, π.χ. την σύσπαση ενός μυός, την εντολή για πολλαπλασιασμό κάποιων κυττάρων, την έκφραση ενός συναισθήματος και γενικά ζωτικών λειτουργιών. Τα ηλεκτρικά σήματα που δημιουργούνται χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες:

- Βαθμωτά δυναμικά
- Δυναμικά ενέργειας ή Δυναμικά δράσης (ΔΔ)

Τα βαθμωτά δυναμικά περιορίζονται σε μικρές αποστάσεις ενώ εξασθενούν σημαντικά μετά από μερικά mm από την εστία τους γι' αυτό και δεν έχουν μεγάλη σημασία. Τα δυναμικά δράσης (ΔΔ) παράγονται μόνο από τα νευρικά, τα μυϊκά και ορισμένα κύτταρα αδένων. Διαδίδονται σε μεγάλες αποστάσεις, όπως τα οδεύοντα ηλεκτρομαγνητικά κύματα, χωρίς εξασθένιση και έχουν μεγάλη σημασία για την μελέτη των κυττάρων. Παρά τις διαφορές τους το βαθμωτό δυναμικό και το δυναμικό δράσης έχουν κάποιες ομοιότητες όπως:

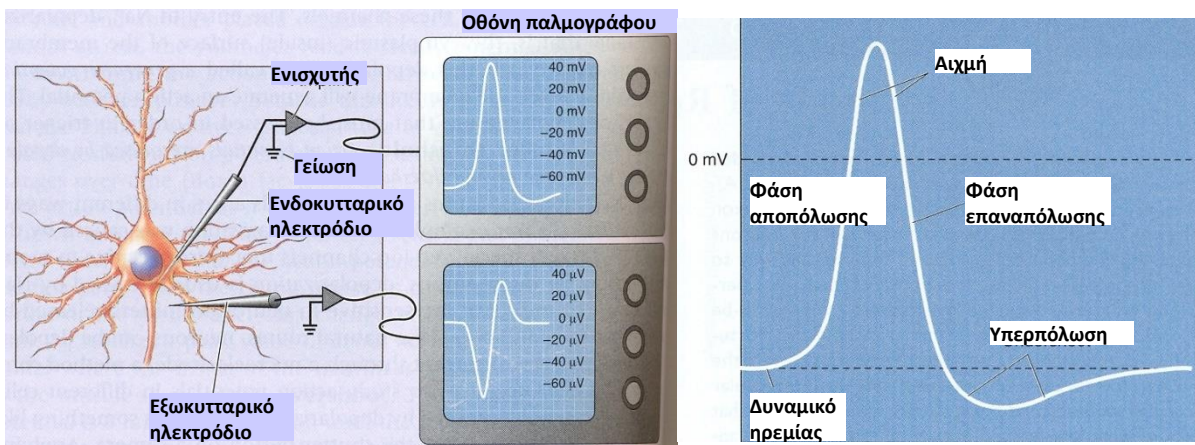
- Αποκτούν γρήγορα μια μέγιστη τιμή και κατόπιν επανέρχονται στην κατάσταση ισορροπίας, έχουν δηλ. έναν χαρακτήρα «κρουστικό».
- Έχουν παρόμοιες κυματομορφές με μία φάση πόλωσης, απόκτηση αιχμής, αποπόλωσης και επιστροφής στην ισορροπία.
- Δημιουργούνται εξαιτίας των ιόντων και των αντίστοιχων καναλιών τους στην κυτταρική μεμβράνη.

Το ΔΔ δημιουργείται από ένα ηλεκτρικό ερέθισμα, π.χ. έναν τετραγωνικό παλμό, όπως δείχνει το σχήμα 7. Το ηλεκτρικό ερέθισμα μπορεί να προέρχεται από άλλο κύτταρο, να είναι αποτέλεσμα ροής ιόντων που με τη σειρά της προκλήθηκε από την επίδραση κάποιων χημικών ουσιών (κάποιες πρωτεΐνες) ή μπορεί να είναι ένας τεχνητός εργαστηριακός παλμός.

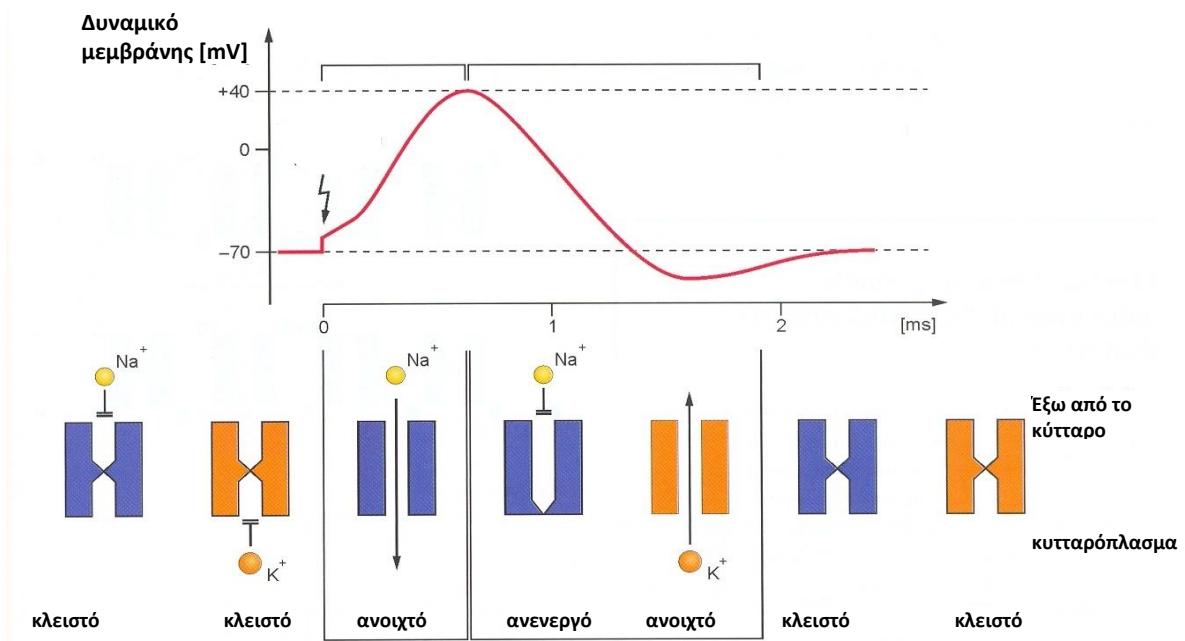


Σχήμα 7. (α) Δημιουργία ερεθίσματος σε νευρώνα και πρόκληση δυναμικού δράσης (ΔΔ). (β) Ρεύμα διέγερσης (βηματικός παλμός) και καταγραφή παλμών δυναμικού δράσης (ΔΔ).

Οι παλμοί του ΔΔ ξεκινούν από το δυναμικό ηρεμίας (αρνητικό -60 ή -90mV) και αυξάνουν. Αποκτούν μια μέγιστη τιμή (περί τα $+20\text{mV}$), στη συνέχεια πέφτουν πάλι και αφού υπάρξει μια μικρή επαναπόλωση επανέρχονται στην ηρεμία. Η συνολική τιμή διακύμανσης του ΔΔ από την ηρεμία μέχρι την αιχμή είναι περί τα $100\text{-}120\text{mV}$ (από -60 ως $+40$ ή από -90 ως $+30$). Αν μετρηθεί το δυναμικό έξω από τη μεμβράνη (σχήμα 8, κάτω παλμογράφημα) προκύπτει μια αντίθετη κυματομορφή η οποία όμως είναι της τάξης των μV . Πρόκειται για μια ένδειξη ότι σε κάποια, έστω μικρή, απόσταση από το κύτταρο το δυναμικό στον εξωκυττάριο χώρο μεταβάλλεται και δημιουργούνται κάποια μικρορεύματα ιόντων. Η συνολική διάρκεια του παλμού ΔΔ είναι περίπου 2msec .

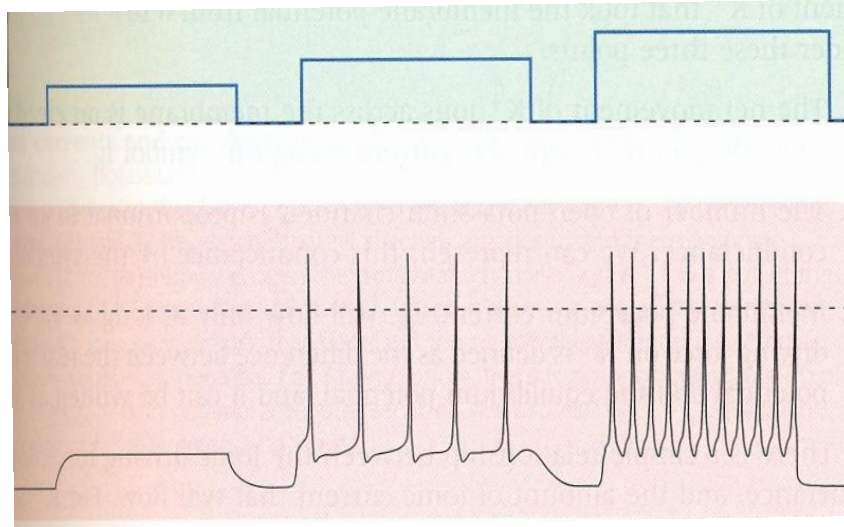


Σχήμα 8. Καταγραφή στον παλμογράφο των δυναμικών δράσης (ΔΔ): Πάνω μέτρηση μέσα στο κύτταρο, κάτω μέτρηση έξω από το κύτταρο. Δεξιά το παλμογράφημα σε μεγέθυνση, όπου διακρίνονται οι διάφορες φάσεις του δυναμικού δράσης.



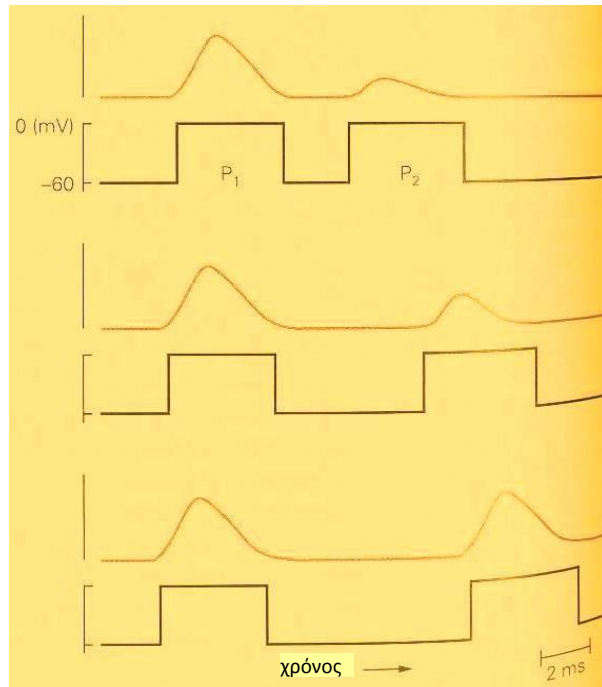
Σχήμα 9. Ανάλυση σε διαδοχικά στάδια του δυναμικού δράσης (ΔΔ) σε αντιστοιχία με τη λειτουργία των καναλιών νατρίου και καλίου.

Το ΔΔ μπορεί να χωριστεί σε ξεχωριστές φάσεις οι οποίες συνδέονται με την αγωγιμότητα των καναλιών νατρίου και καλίου. Καταρχήν θεωρείται ότι το κύτταρο βρίσκεται σε ισορροπία. Επικρατούν συγκεκριμένες συγκεντρώσεις ιόντων εκατέρωθεν της μεμβράνης και στο εσωτερικό το δυναμικό είναι αρνητικό, ενώ τα κανάλια είναι όλα κλειστά. Εφαρμόζεται ένα ηλεκτρικό ερέθισμα στη μεμβράνη, γεγονός που δραστηριοποιεί τα κανάλια νατρίου. Πραγματοποιείται αθρόα εισαγωγή ιόντων νατρίου στο κυτταρόπλασμα, γεγονός που αποπολώνει το κύτταρο και το δυναμικό από αρνητικό γίνεται θετικό (εξαιτίας της περίσσειας σε Na^+). Η διάρκεια της φάσης αυτής είναι κάτι λιγότερο από περίπου 1msec. Στη συνέχεια σταματά η είσοδος νατρίου και δραστηριοποιούνται τα κανάλια καλίου που εκβάλλουν ιόντα προς τα έξω. Έτσι το κύτταρο περνά στην φάση επαναπόλωσης μέχρι που επανέρχεται στη φάση ισορροπίας, όπου και τα δύο κανάλια είναι και πάλι κλειστά. Η συνολική διάρκεια είναι περίπου 2msec. Αυτές οι φάσεις των καναλιών ιόντων φαίνονται στο σχήμα 9.



Σχήμα 10. Ερέθισμα και δυναμικό δράσης (ΔΔ): Στον 1ο παλμό, το ερέθισμα είναι μικρότερο από το κατώφλι και δεν υπάρχει ΔΔ. Στον 2ο παλμό το ερέθισμα είναι πάνω από το κατώφλι και εμφανίζονται κατά τη διάρκεια του παλμού ΔΔ. Στον 3ο παλμό το ερέθισμα είναι αρκετά μεγαλύτερο από τον προηγούμενο παλμό, όμως τα ΔΔ δεν έχουν μεγαλύτερο πλάτος αλλά αυξάνονται σε συχνότητα.

Στην πραγματικότητα, κατά την ισορροπία δεν είναι όλα τα κανάλια κλειστά. Κυριαρχούν τα κανάλια καλίου τα οποία όμως επιτρέπουν την αμφίδρομη ροή ιόντων μέσα και έξω από το κύτταρο. Θα έλεγε κανείς ότι, αφού εισήλθαν ιόντα νατρίου και εξήλθαν ιόντα καλίου κατά τη δημιουργία του δυναμικού δράσης (ΔΔ), μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας οι συγκεντρώσεις δεν θα είναι ίδιες με την αρχική ισορροπία. Κάτι τέτοιο όμως δεν συμβαίνει χάρις στην αντλία Na-K, με την οποία εισέρχονται ξανά K^+ και εξέρχονται Na^+ με αναλογία 2:3. Θα μπορούσε εδώ να σημειωθεί ότι το ΔΔ δεν εμφανίζεται για οποιαδήποτε εισερχόμενο ρεύμα διέγερσης. Υπάρχει δηλ. μια τιμή κατωφλίου μετά την οποία εμφανίζεται το ΔΔ. Αυτό το κατώφλι είναι περίπου 15mV δηλ. αν το δυναμικό ηρεμίας είναι -70mV, θα πρέπει να υπάρξει ερέθισμα τουλάχιστον -55mV, ώστε να ανοίξουν τα κανάλια νατρίου και να δημιουργηθεί ΔΔ. Αν η διέγερση είναι μικρότερη από το κατώφλι, η προς τα έξω κίνηση ιόντων καλίου, υπερκαλύπτει την είσοδο ιόντων νατρίου και δεν δημιουργείται ΔΔ. Αναπτύσσεται μια διαφορά δυναμικού, η οποία διαρκεί όσο διαρκεί το ερέθισμα, οφείλεται στην αγωγιμότητα της μεμβράνης και δεν συνιστά ΔΔ. Στην περίπτωση αυτή, μόλις το ερέθισμα παύσει η μεμβράνη θα επιστρέψει στην κατάσταση ηρεμίας. Αν το ερέθισμα είναι ικανό να δημιουργήσει ΔΔ και έχει μεγαλύτερη διάρκεια από αυτή του ΔΔ, τότε θα προκληθούν πολλά ΔΔ, όσο διαρκεί το ερέθισμα. Σε περίπτωση που το ερέθισμα είναι πολύ μεγαλύτερο από το κατώφλι, η μέγιστη τιμή του ΔΔ δεν αλλάζει (σχήμα 10). Εκείνο που μπορεί να αλλάξει είναι η συχνότητα των ΔΔ, η οποία όμως έχει και αυτή ένα όριο. Ανάλογα με το είδος του κυττάρου η ανάπαυλα μεταξύ δύο διαδοχικών ΔΔ είναι μερικά msec. Όσο πιο σύντομα είναι δύο ερεθίσματα, τόσο το μέγιστο των ΔΔ μικραίνει και όσο πιο αραιά είναι χρονικά, τόσο το μέγιστο των ΔΔ αποκτά την φυσιολογική του τιμή (σχήμα 11).



Σχήμα 11.

Συσχέτιση δυναμικού δράσης (ΔΔ) και περιοδικότητας παλμών διέγερσης. Στο 1ο γράφημα μεσολαβεί ένα ελάχιστο χρονικό διάστημα μεταξύ των δύο τετραγωνικών παλμών διέγερσης. Αναπτύσσεται ΔΔ, αλλά πολύ μικρό. Στο 2ο γράφημα το διάστημα που μεσολαβεί είναι μεγαλύτερο και το ΔΔ που αναπτύσσεται έχει μεγαλύτερο πλάτος σε σχέση με το 1ο γράφημα αλλά παραμένει μικρότερο από το αρχικό φυσιολογικό ΔΔ. Στο 3ο γράφημα μεσολαβούν περίπου 10msec και το ΔΔ είναι ίδιο με το αρχικό φυσιολογικό ΔΔ.

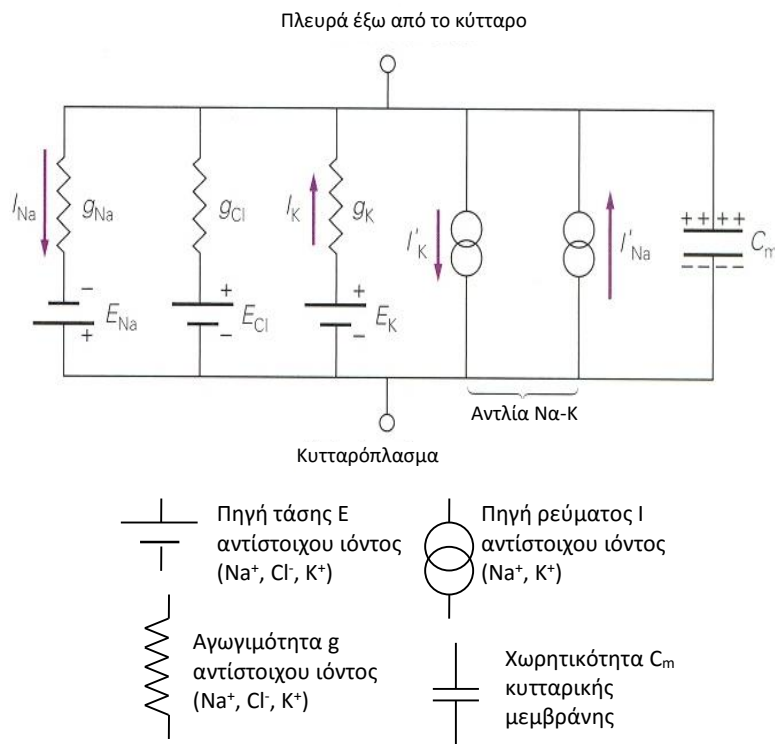
Η μέτρηση, καταγραφή και μελέτη του δυναμικού δράσης (ΔΔ) γίνεται με τη μέθοδο *voltage clamp* (καθήλωσης της τάσης) κατά Hodgkin & Huxley. Η αντίστοιχη μέθοδος για την καταγραφή του ρεύματος που ρέει από κάθε ένα από τα κανάλια ιόντων ονομάζεται *patch-clamp* (καθήλωση εμβολώματος) και επινοήθηκε από τους Neher & Sakmann. Με τη μέθοδο patch-clamp γίνεται μέτρηση πολύ μικρών ρευμάτων της τάξης των pA. Βέβαια δεν θα πρέπει να παραγνωρίζεται το γεγονός ότι ένα ρεύμα 4pA συνεπάγεται την κίνηση ενός μεγάλου πλήθους ιόντων ανά sec και συγκεκριμένα $2,5 \times 10^7$ ιόντων ανά sec, δηλ. 25.000 ιόντων ανά msec.

Οι πειραματικές μετρήσεις έδειξαν ότι τα κανάλια λειτουργούν με μια ψηφιακή λογική, «όλα ή τίποτα». Σύνθεση 300 μεμονωμένων καταγραφών καναλιών, συγκρινόμενη με παλμογραφήματα *voltage clamp* ΔΔ, δείχνουν ότι το δυναμικό δράσης θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα αυτής της σύνθεσης καναλιών.

Από τις κυματομορφές των ΔΔ και των ρευμάτων των καναλιών προέκυψαν ισοδύναμα κυκλώματα και το κύτταρο μπορεί να μελετηθεί «μακροσκοπικά» με τη χρήση ισοδύναμου κυκλώματος.

Ισοδύναμο κύκλωμα κυτταρικής μεμβράνης

Το κάθε κανάλι κίνησης ενός είδους ιόντος μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι ένας αγωγός με αγωγιμότητα, έστω γ , όπου η ολική αγωγιμότητα n καναλιών είναι $g = n\gamma$. Οι μετρήσεις έχουν δείξει συνήθως μια γραμμική σχέση μεταξύ του ρεύματος ενός καναλιού και του διαμεμβρανικού δυναμικού, συνεπώς μπορεί η g να θεωρηθεί ωμική. Επιπλέον όμως από την εξίσωση Nernst είναι γνωστό ότι υπάρχει μια διαμεμβρανική διαφορά δυναμικού σε κάθε κανάλι που σημαίνει ότι το κανάλι ακόμη και κλειστό εμφανίζει μια διαφορά δυναμικού παρόμοια με αυτή που εμφανίζεται σε μια μη πολωμένη δίοδο. Συνεπώς το κάθε κανάλι ισοδυναμεί με συνδυασμό μιας αγωγιμότητας γ και μιας πηγής (ΗΕΔ) E . Για να είναι σωστό το κύκλωμα θα πρέπει να ληφθούν και τα τρία είδη ιοντικών καναλιών, δηλ. νατρίου, καλίου και χλωρίου, το καθένα με την αγωγιμότητά του και την πηγή E_{Nernst} που έχει λόγω διαφορετικών συγκεντρώσεων. Επιπλέον πρέπει να ληφθεί υπόψη η αντλία Na-K η οποία είναι στην ουσία μια πηγή ρεύματος. Τέλος θα πρέπει να συμπεριληφθεί και η χωρητικότητα της μεμβράνης C_m η οποία είναι μια επιφάνεια που στα άκρα της σωρεύονται φορτία, ενώ ενδιάμεσα στην εσωτερική λιπαστοιβάδα δεν υπάρχουν φορτία. Ένα ισοδύναμο κύκλωμα που περιλαμβάνει όλα τα παραπάνω φαίνεται στο σχήμα 12.



Σχήμα 12.

Το ισοδύναμο κύκλωμα της μεμβράνης που περιλαμβάνει τα κανάλια νατρίου, χλωρίου και καλίου, την αντλία Na-K και την χωρητικότητα της μεμβράνης.