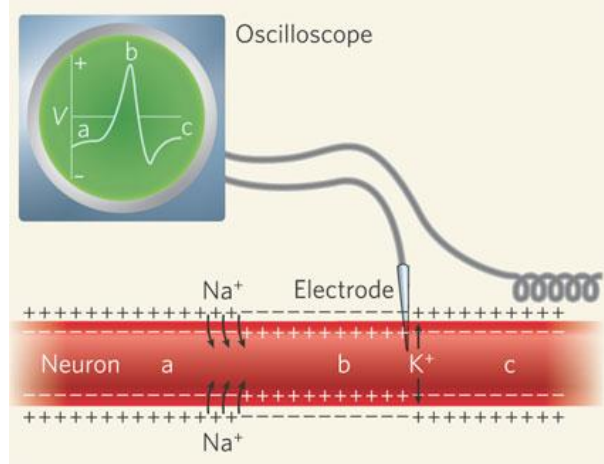
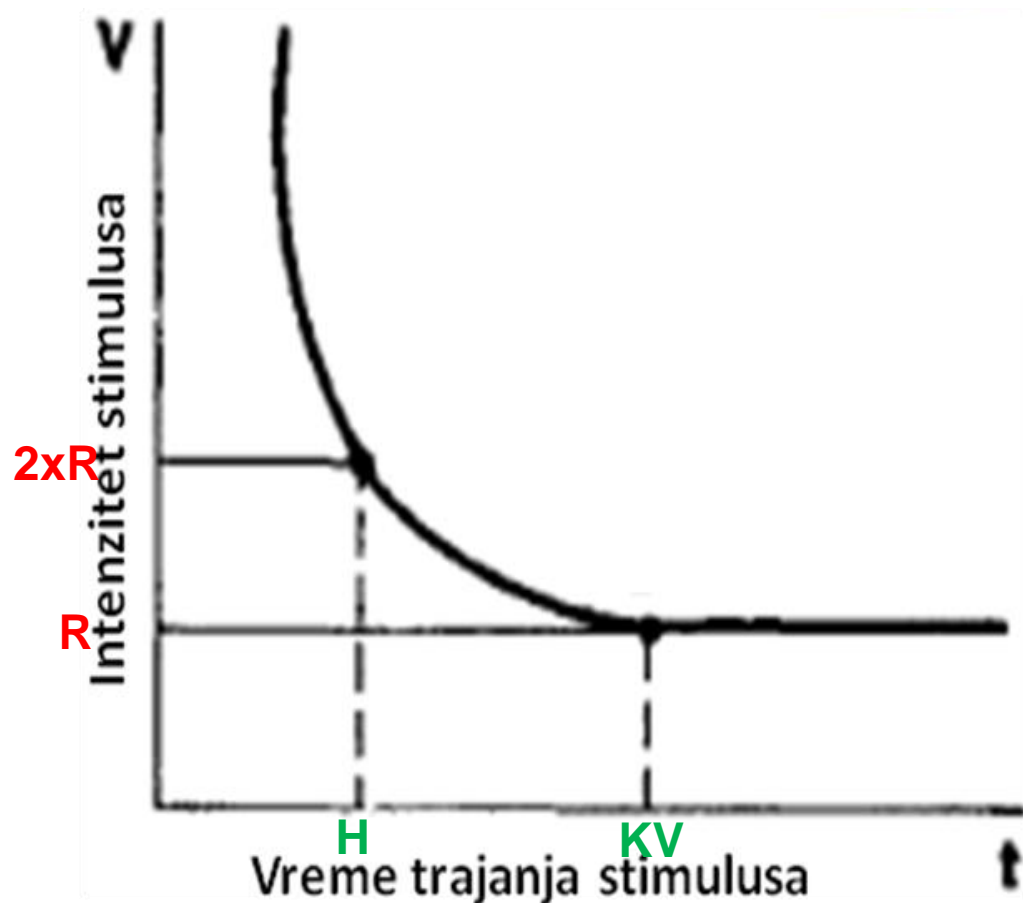


# AKCIONI POTENCIJAL - AP



## KRIVA NADRAŽLJIVOSTI



STIMULUS - NADRAŽAJ  
(podpragovni, pragovni,  
nadpragovni)

KRIVA NADRAŽLJIVOSTI –  
odnos intenziteta stimulusa i  
vremena trajanja stimulusa.

Reobaza - Korisno vreme  
 $2x$ Reobaza - Hronaksija



Visokofrekventne struje (Tesline struje) – bez obzira na visok napon, ne mogu biti efikasni stimulusi jer suviše kratko traju.

## NADRAŽLJIVOST (EKSCITABILNOST)

Nadražljivost je opšte svojstvo svih ćelija, ali za razliku od drugih ćelija, gde je reakcija često prostorno ograničena, kod neurona se ekscitacija maksimalno brzo i efikasno prostire na sve njegove delove. Reč je o prostirućem fenomenu koji se javlja kao reakcija na promene sredine – **nervni impuls**.

Specijalna aktivnost nervnih ćelija je provođenje nervnih impulsa, koji su nosioci informacije, a koji se dostavljaju od elementa do elementa receptorno-efektornog sistema.

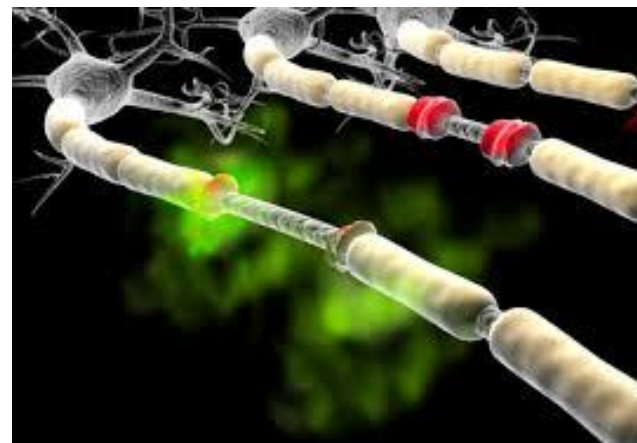


Prostiranje nervnih impulsa praćeno je nizom složenih biofizičkih, biohemijskih i bioelektričnih promena.

Bioelektrične promene se javjaju u vidu prostirućeg električnog fenomena koji se može registrovati i meriti.

Bioelektrični izraz nervnog impulsa naziva se **AKCIONI POTENCIJAL (AP)**.

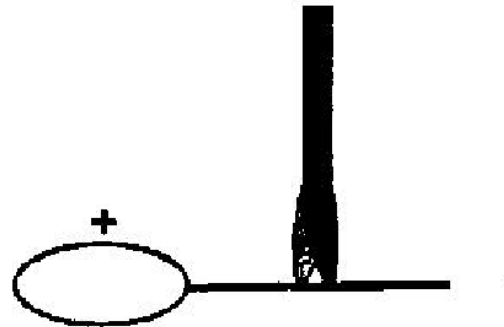
Fiziološka disciplina koja se bavi izučavanjem bioelektričnih fenomena uopšte naziva se **elektrofiziologija**.



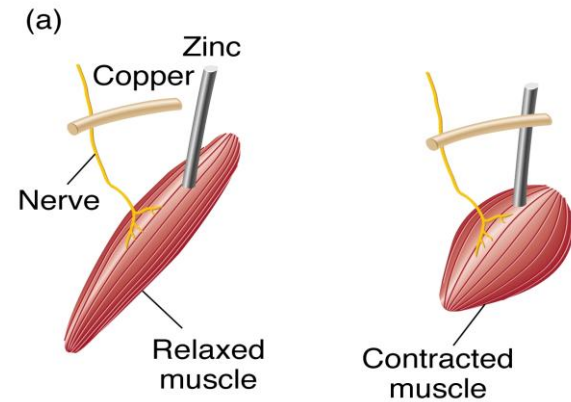
# ISTORIJAT ELEKTROFIZIOLOŠKIH ISTRAŽIVANJA



Luigi Galvani  
(1737-1798)



Prvi Galvanijev ogled

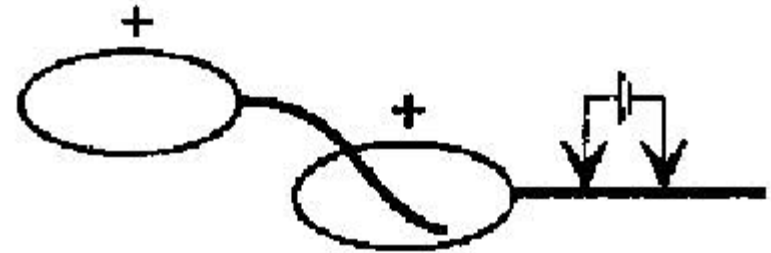


Carlo Matteucci  
(1811-1868)

Drugi  
Galvanijev ogled



Matteucci-jev  
ogled



---

## ELEKTROSTIMULACIJA

U prirodnim uslovima, u organizmu, nervni impulsi se generišu u receptorima. Pored toga, aktivacija neurona se postiže promenama u sinapsama.

U eksperimentalnim uslovima, moguće je postići aktivaciju neurona primenom veštačkih stimulusa, najčešće električnih.

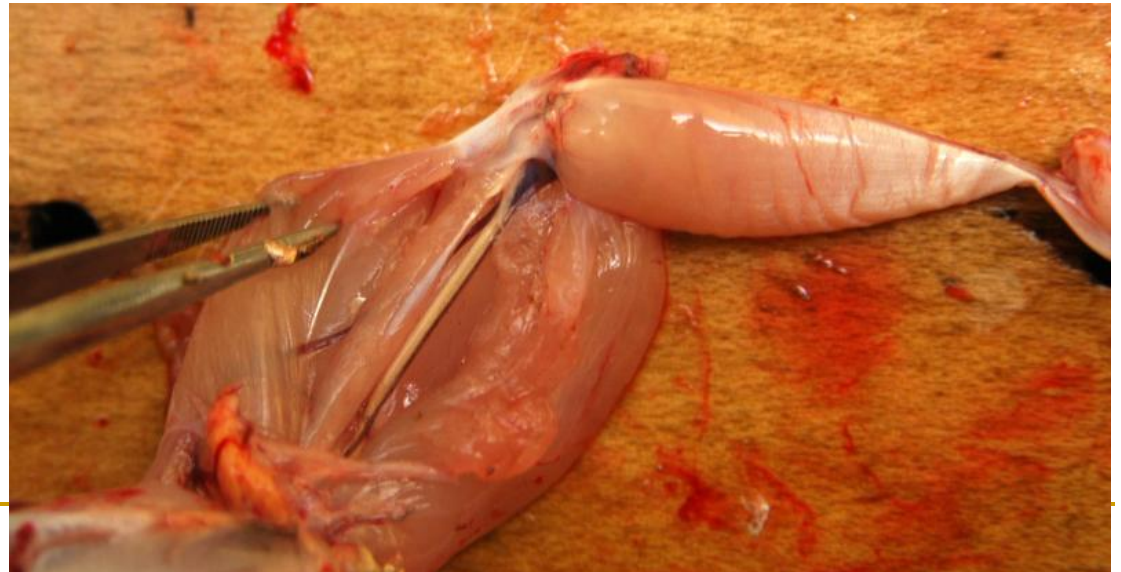
### Prednosti elektrostimulacije:

- ne dolazi do ireverzibilnih promena na eksperimentalnom preparatu ukoliko se stimulusi doziraju u odgovarajućim granicama;
- lako dolazi do ekscitacije pa upotrebljena energija može biti mala;
- jednostavno merenje karakteristika stimulusa.

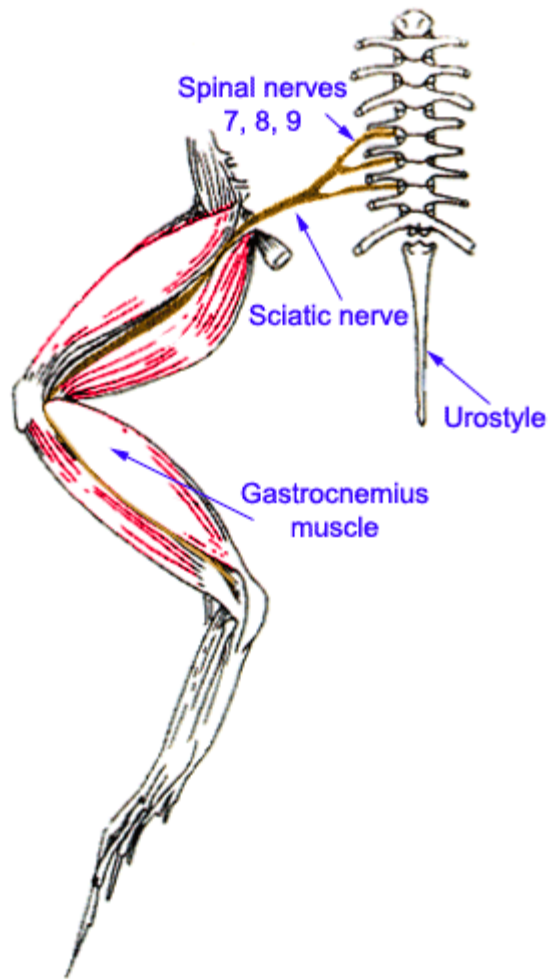
Električni stimulatori: izvori konstantne ili indukovane struje.

---

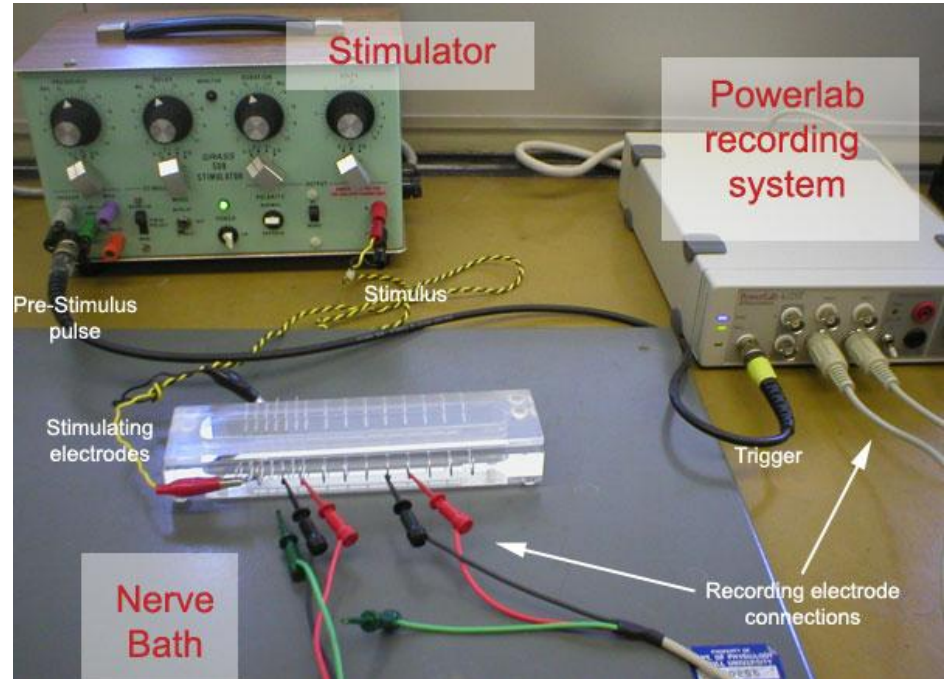
## NERVNO-MIŠIČNI PREPARAT ŽABE



# NERVNO-MIŠIČNI PREPARAT ŽABE

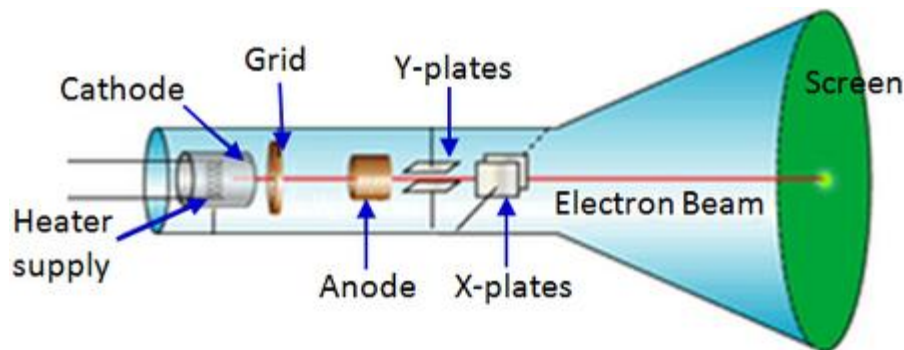






## KATODNI OSCIOSKOP

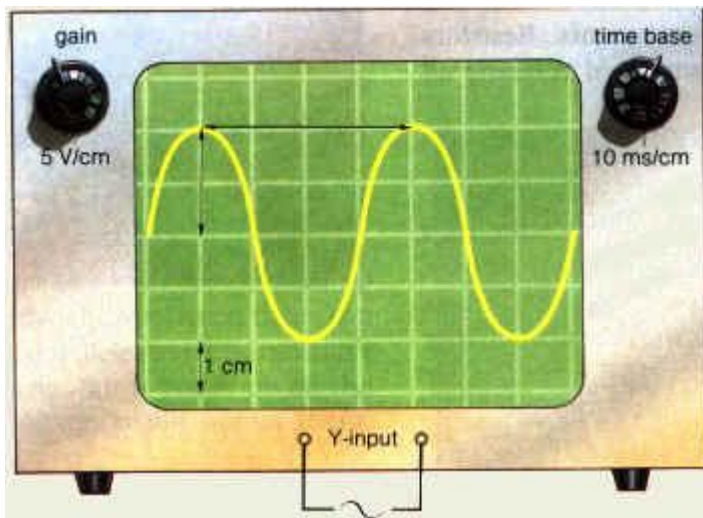
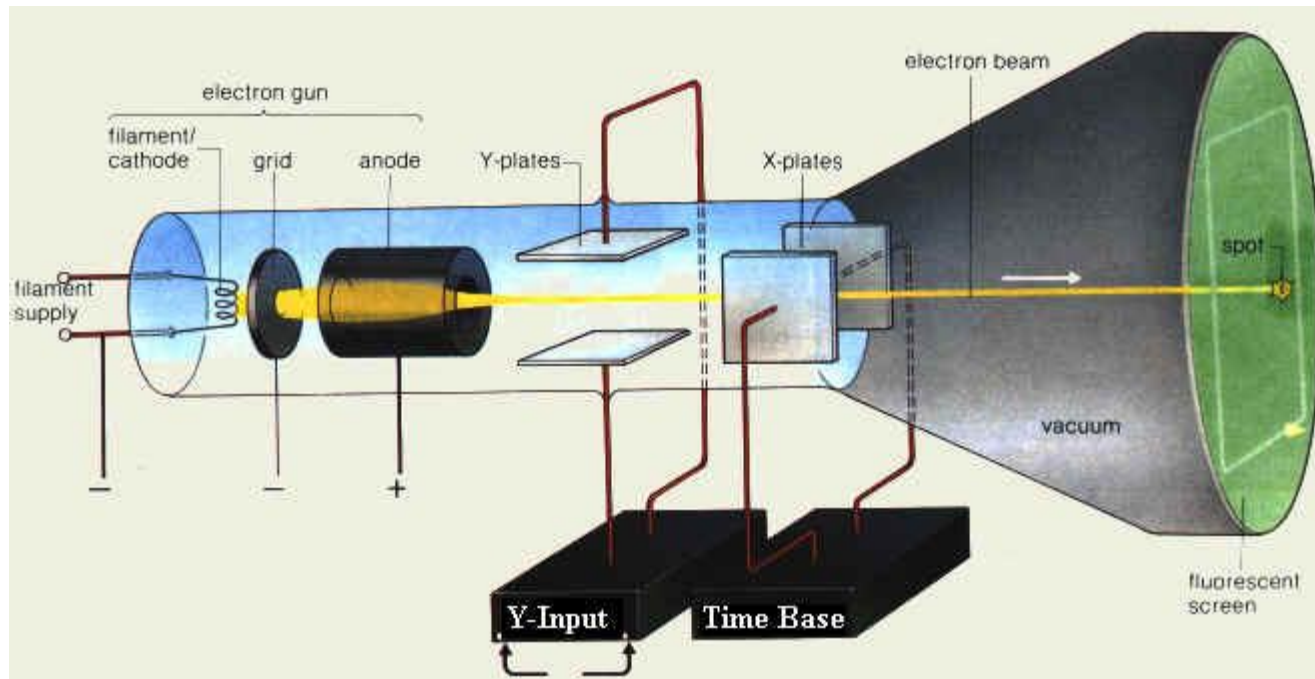
Registrowanje i merenje bioelektričnih potencijala.



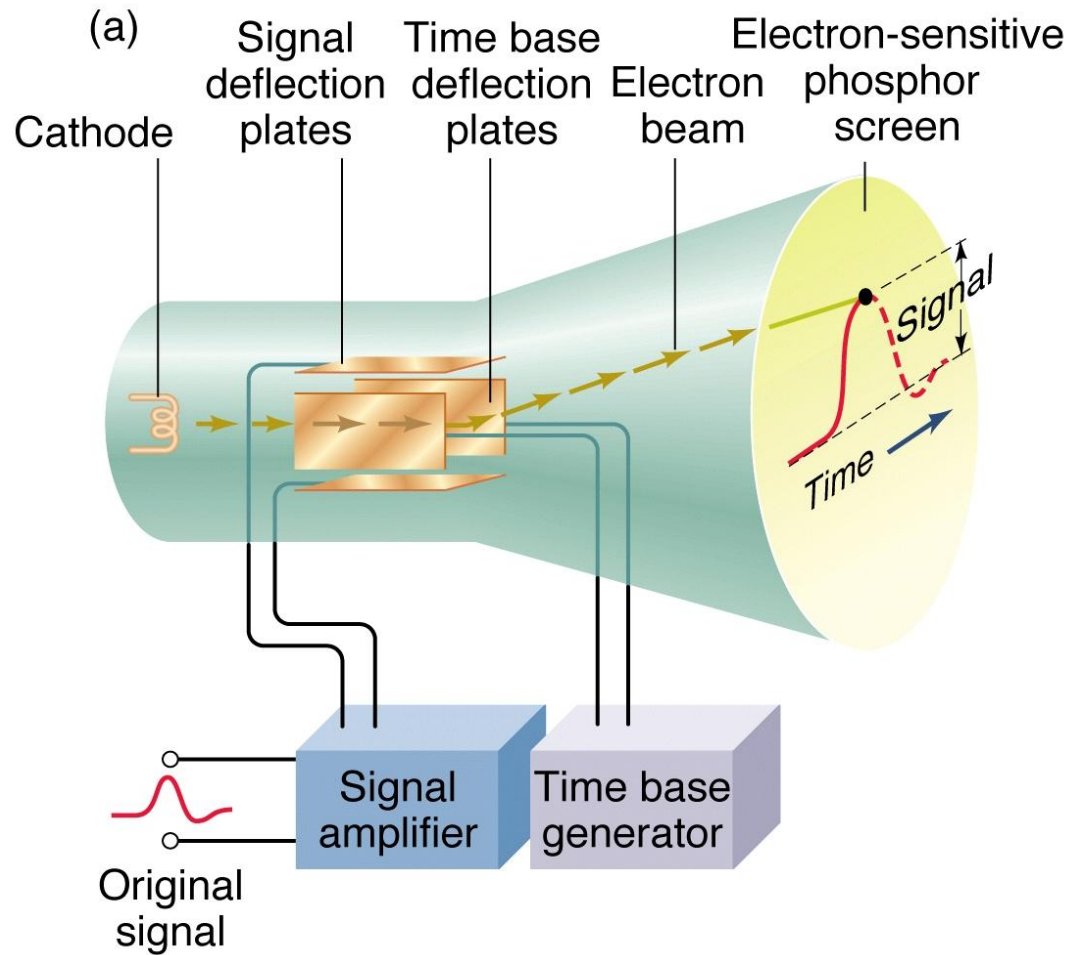
U katodnoj cevi katoda i anoda, u vakuumu. Zagrevanjem katode dolazi do emisije elektrona, oni se usmeravaju u uskom snopu ka anodi i prolaze kroz njen otvor. Snop elektrona nastavlja put ka ekranu staklene cevi, koji je presvučen nekom od fluorescentnih supstanci. Pri sudaru elektrona sa ekranom dolazi do odašiljanja svetlosnih talasa, na osnovu kojih se formira slika.

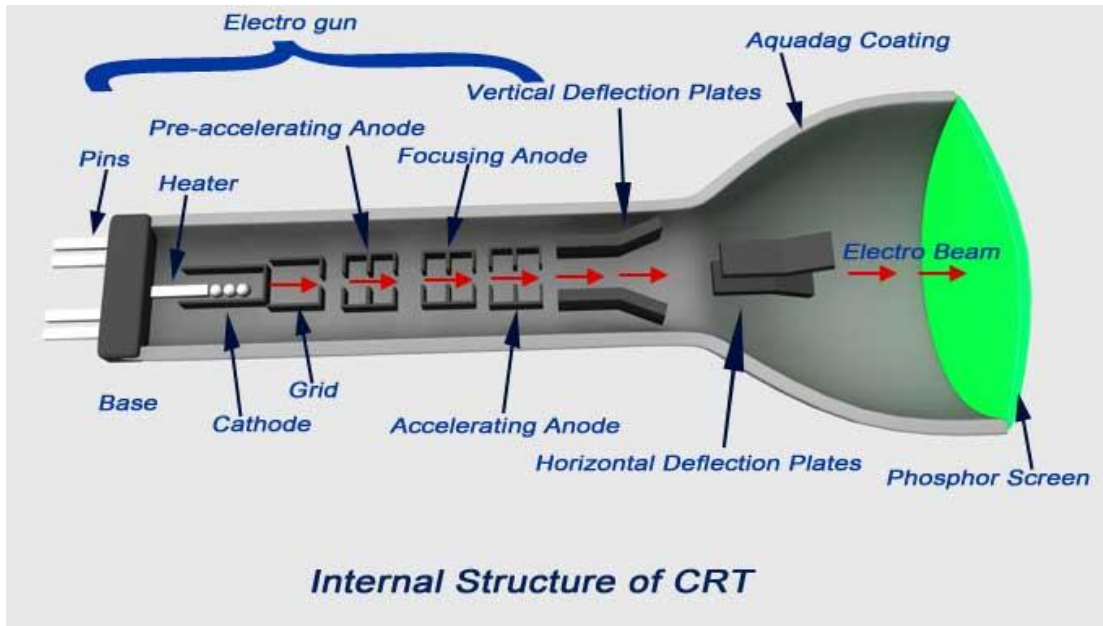
Sa svake strane elektronskog snopa postavljena je po jedna ploča vertikalno u odnosu na snop (X-ploče). Ako se ove ploče povežu sa izvorom struje, pozitivna ploča će privlačiti a negativna odbijati elektrone. Promena napona na ovim pločama uzrokuje da elektronski snop putuje horizontalno po ekranu; brzina kojom putuje proporcionalna je brzini kojom se pojačava primenjeni napon.

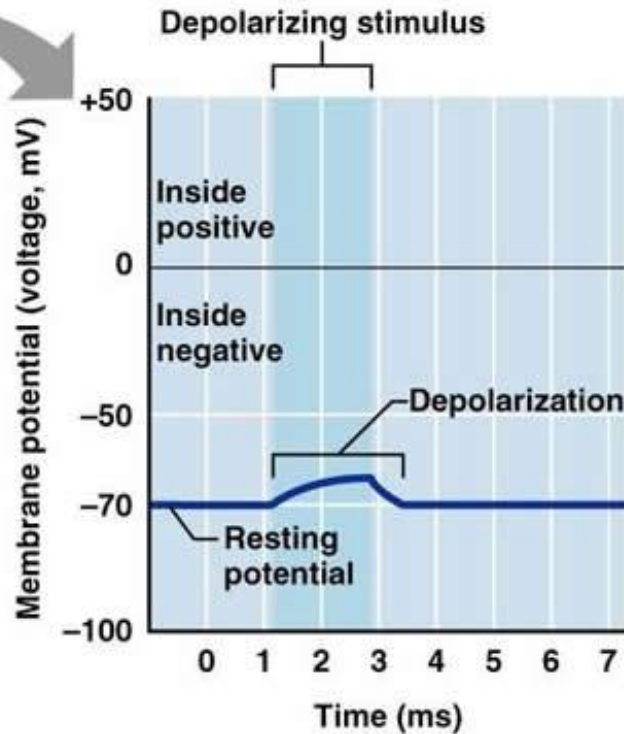
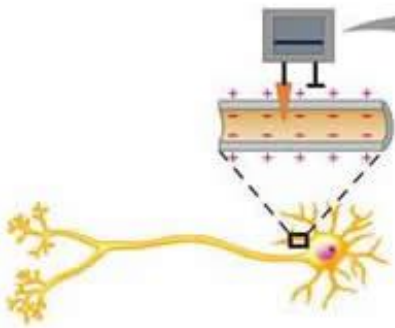
Pored ovog para ploča, tu je i još jedan par, tzv. Y-ploče, smeštene vodoravno u odnosu na snop. Par ploča je takođe pod naponom, što uzrokuje pomeranje snopa elektroda gore-dole; veličina vertikalnog otklona proporcionalna je razlici u potencijalu između horizontalnih ploča.



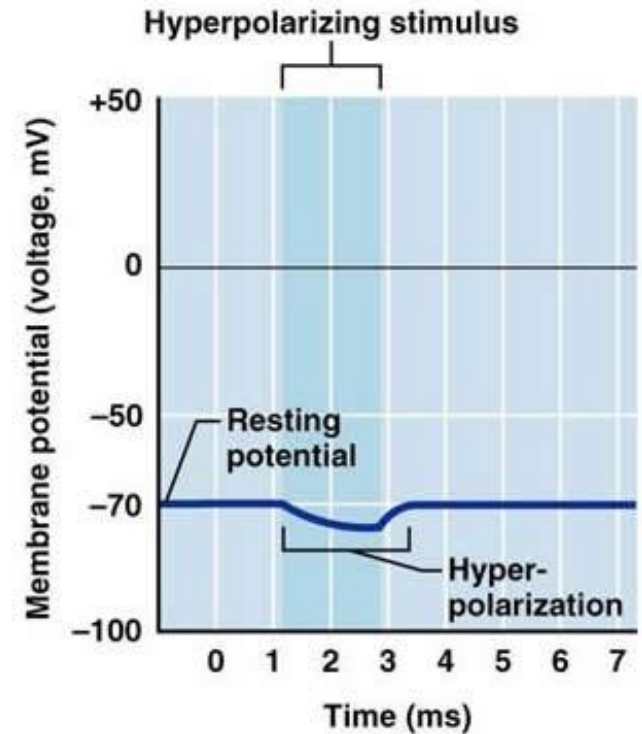
Promene potencijala se registruju kao vertikalni otkloni, a horizontalno skretanje daje vremensku bazu osciloskopa.







**(a)**



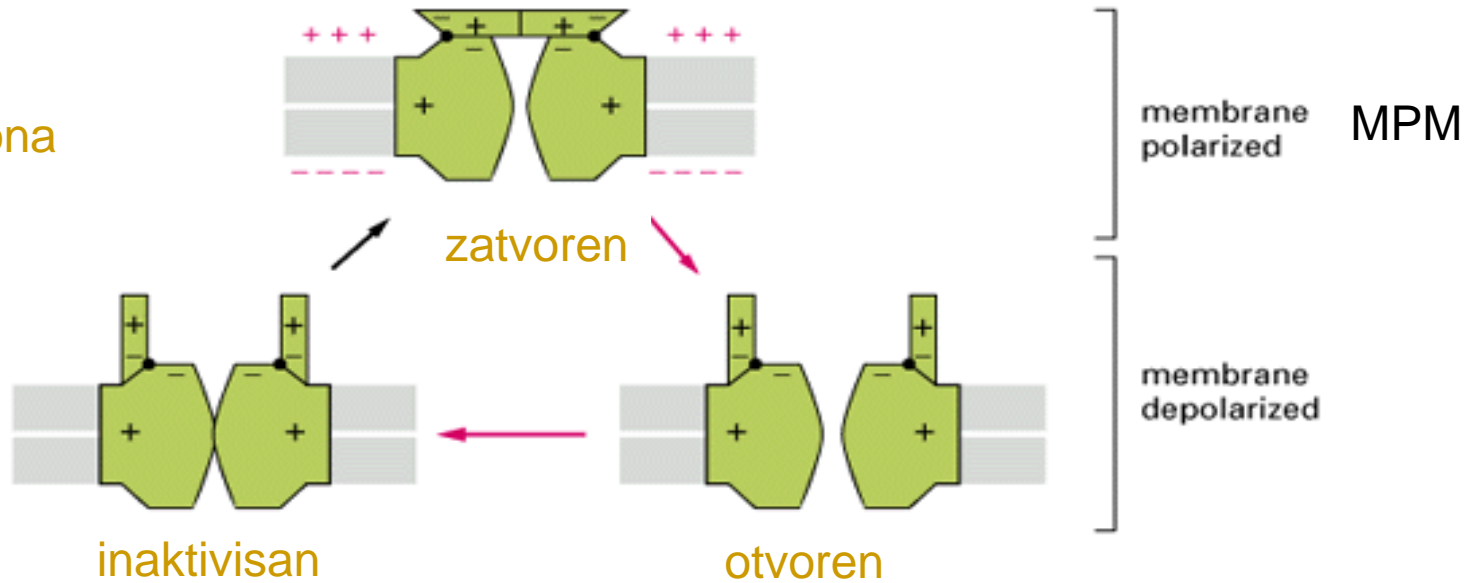
**(b)**

**DEPOLARIZACIJA** – smanjenje membranskog potencijala  
 (ako je MPM -70mV, primer depolarisane membrane je -60mV, -50mV...)

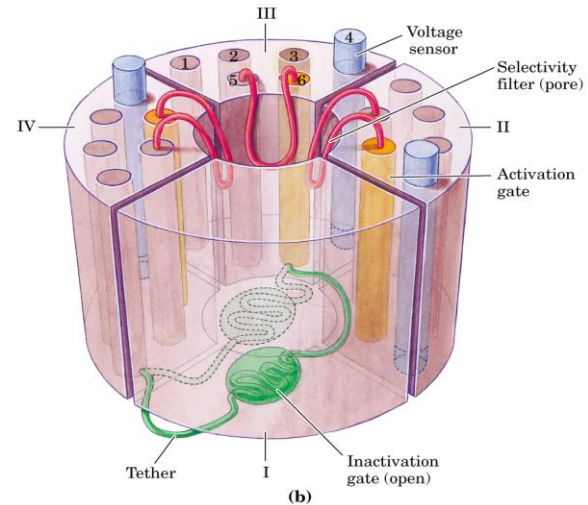
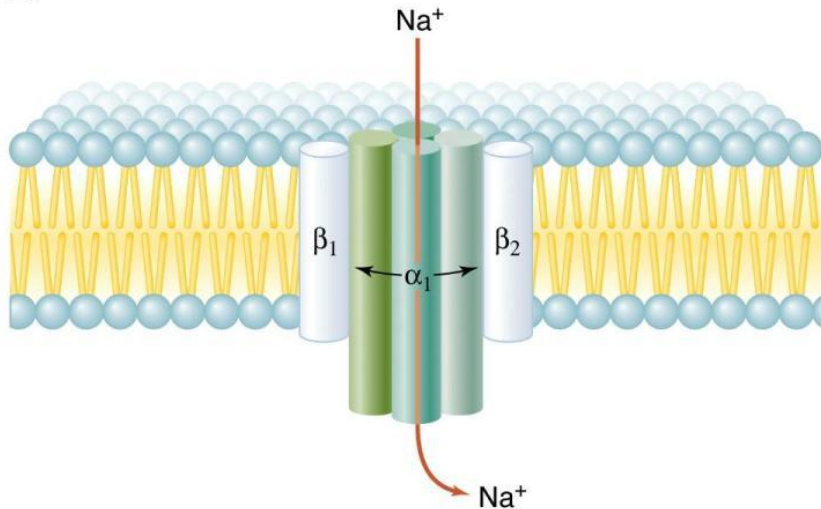
**HIPERPOLARIZACIJA** – povećanje membranskog potencijala  
 (ako je MPM -70mV, primer depolarisane membrane je -80mV, -90mV...)

# Voltažno zavisan Na<sup>+</sup> kanal

Tri konformaciona stanja

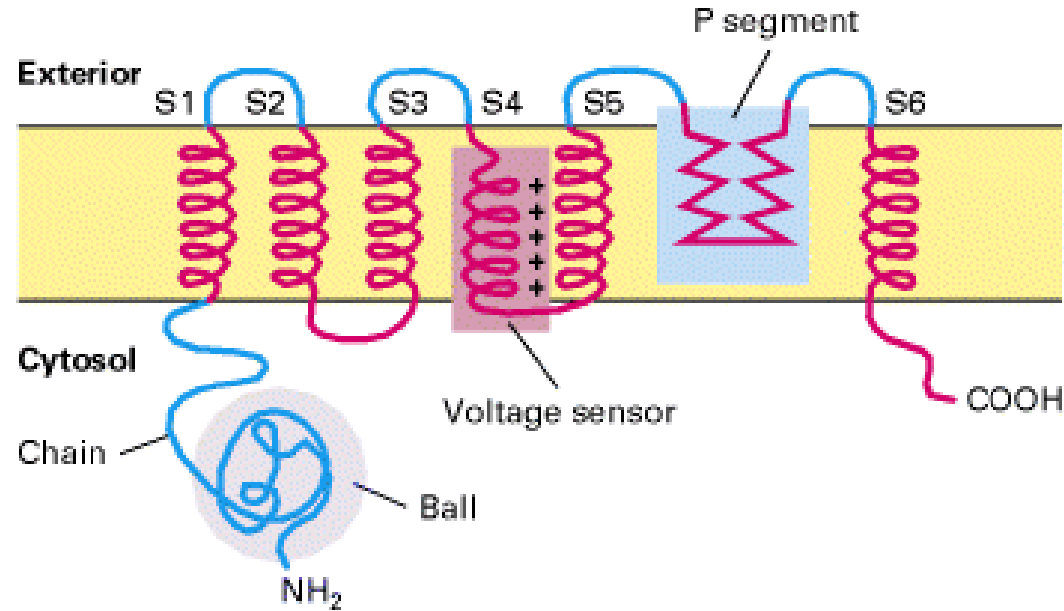


(b)

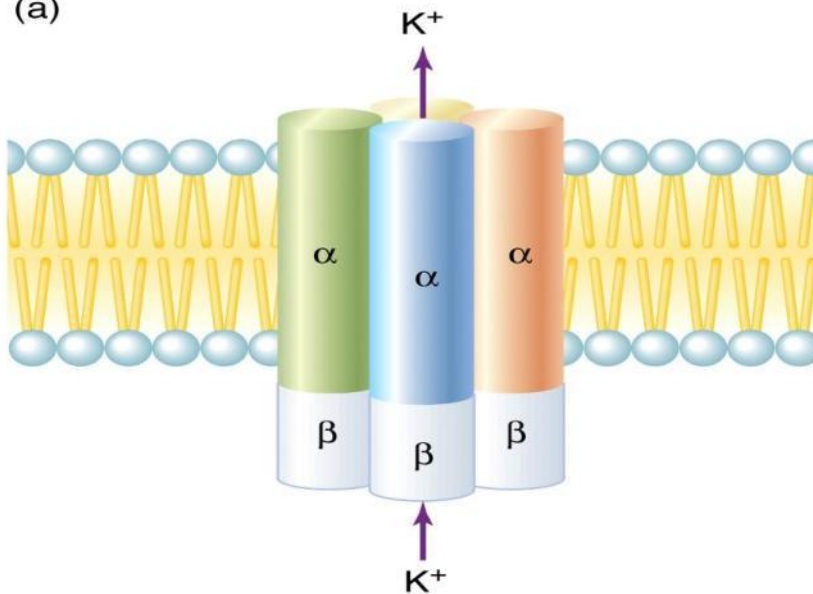


# Voltažno zavisan K<sup>+</sup> kanal

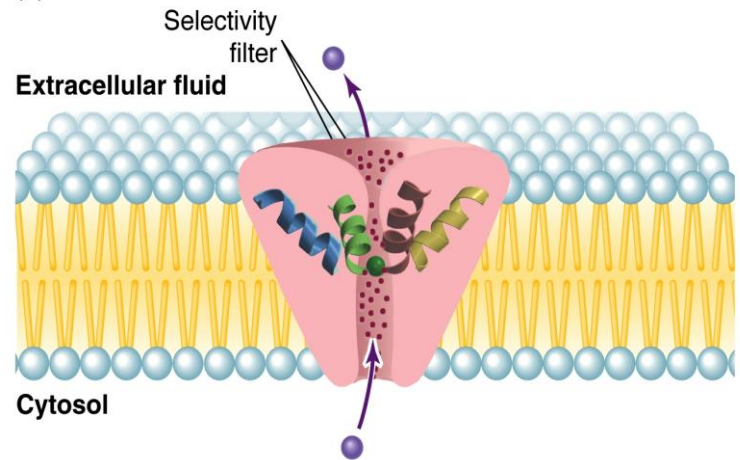
Dva konformaciona stanja:  
zatvoren i otvoren



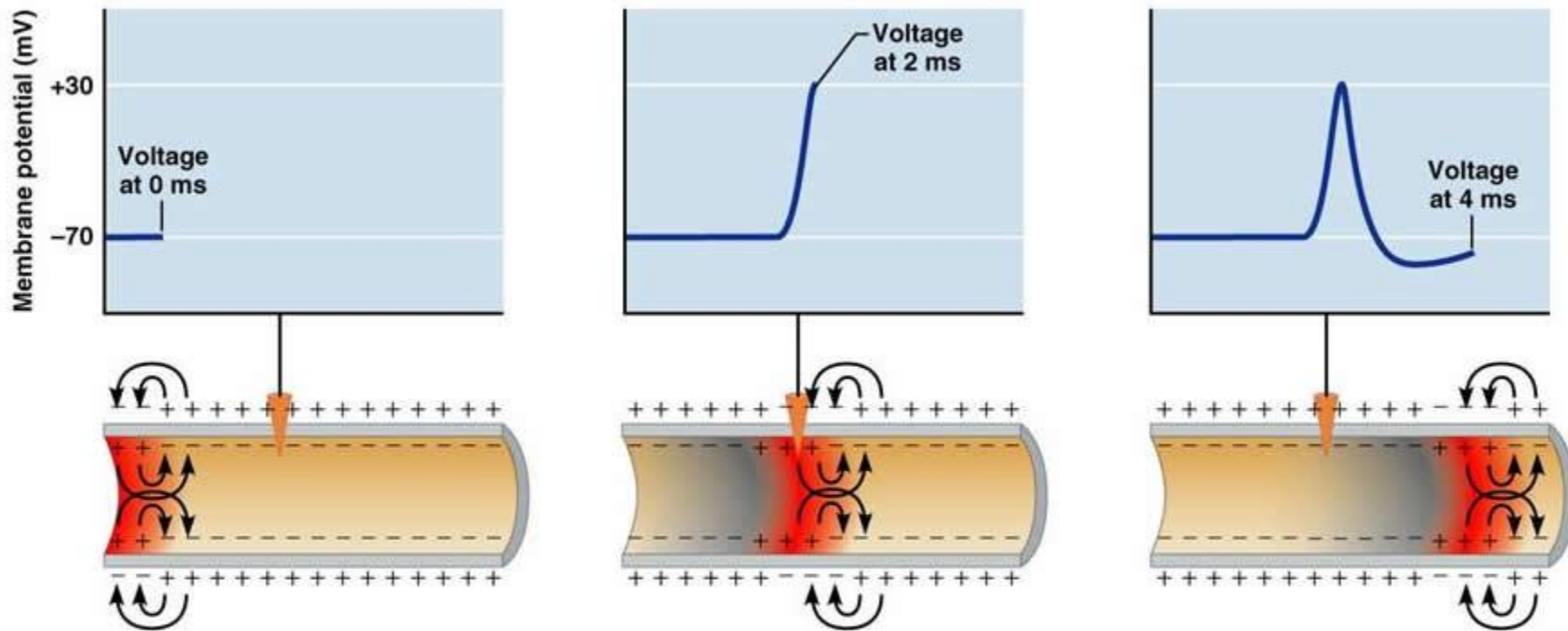
(a)



(d)







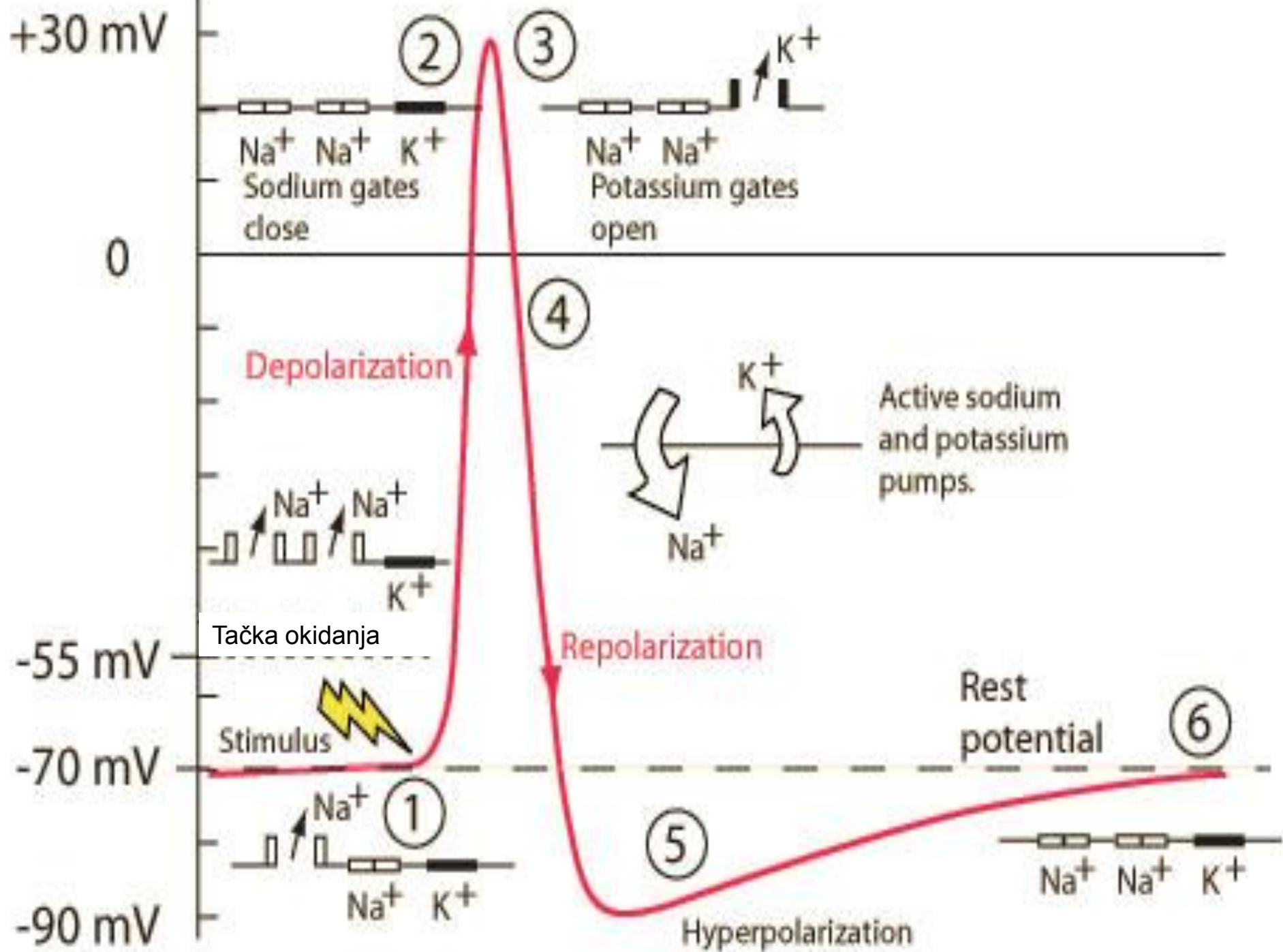
**(a) Time = 0 ms**

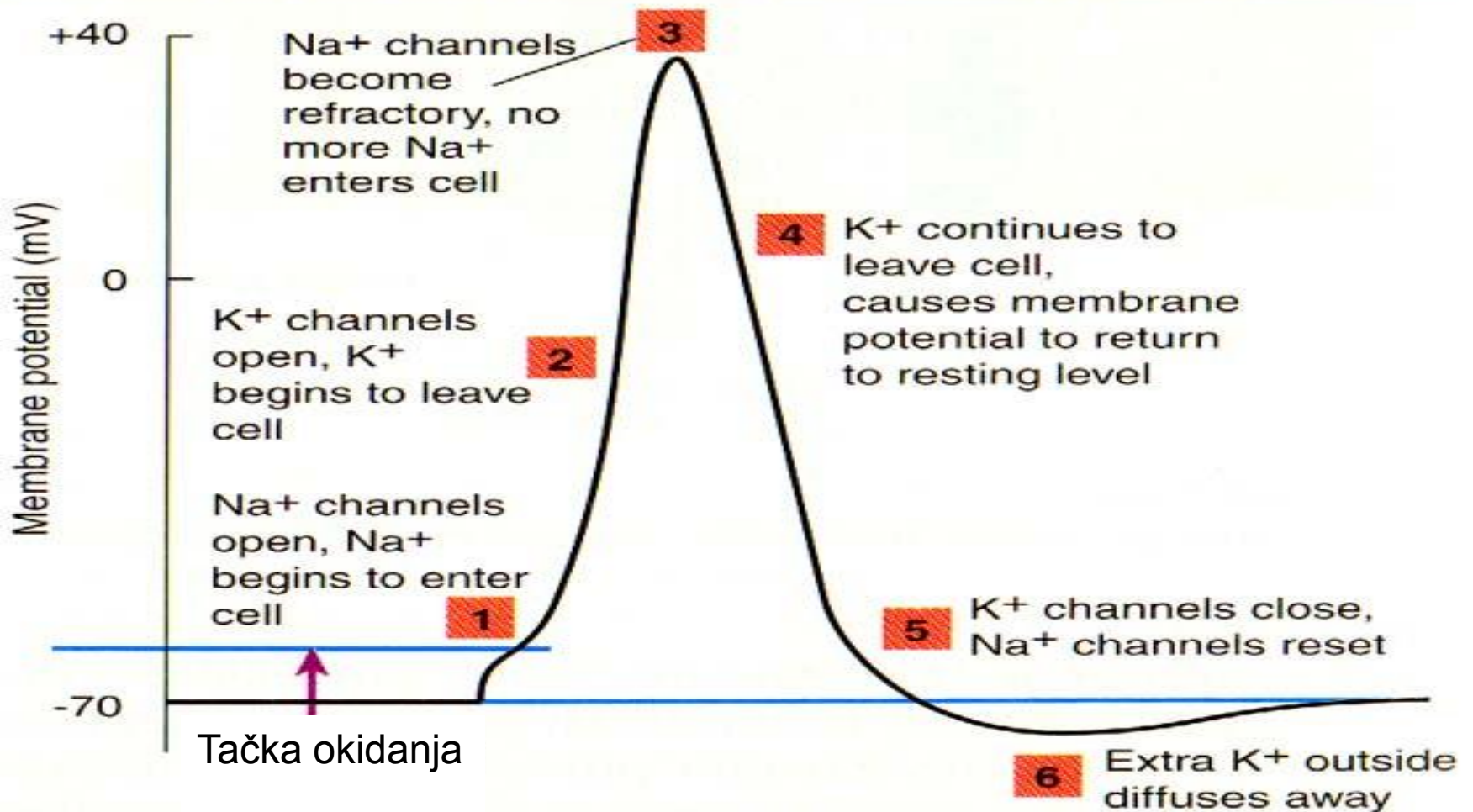
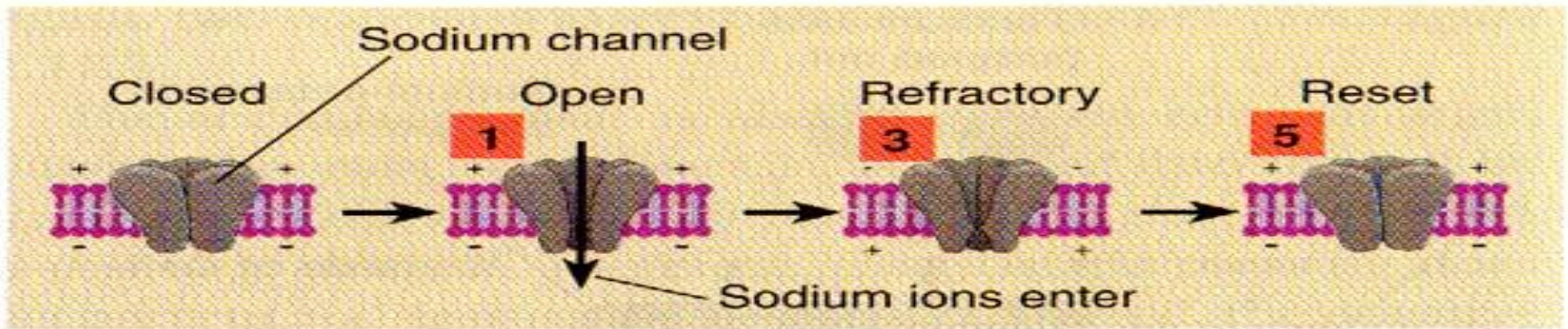
**(b) Time = 2 ms**

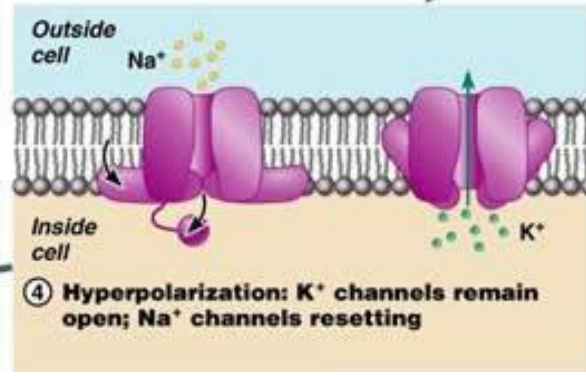
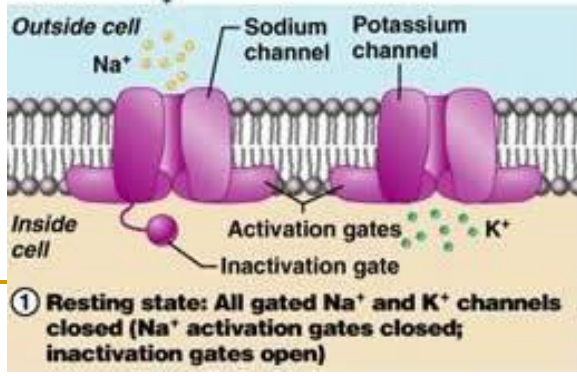
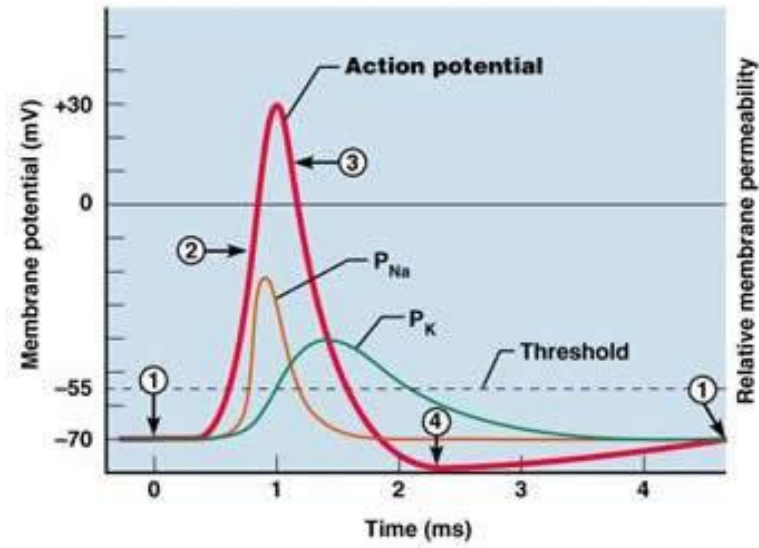
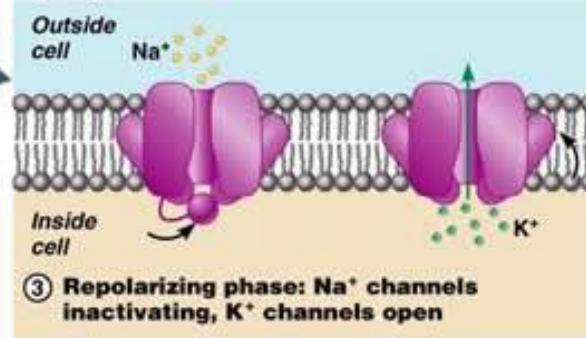
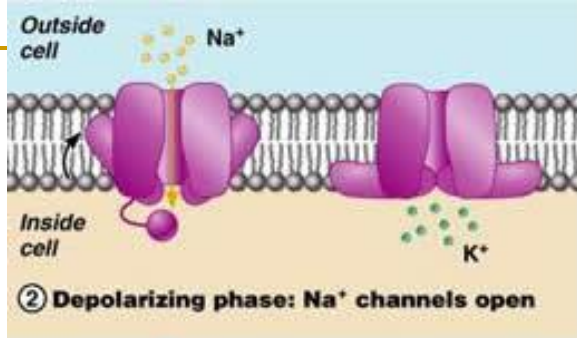
**(c) Time = 4 ms**

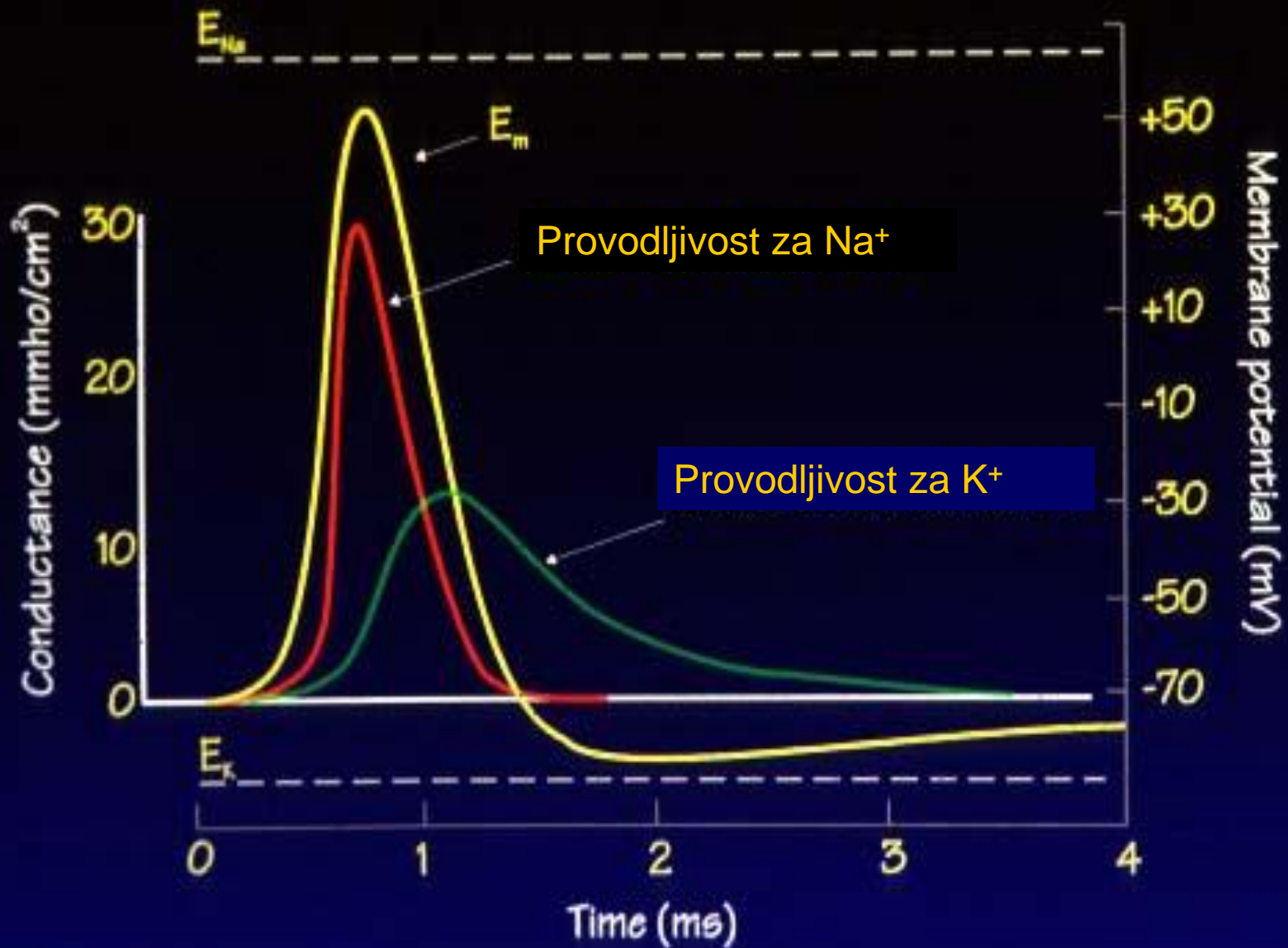
- Resting potential
- Peak of action potential
- Hyperpolarization

**AKCIONI POTENCIJAL** – prostirući fenomen koji se javlja na membrani nervne ili mišićne ćelije kao odgovor na primenu efikasnog stimulusa (u eksperimentalnim uslovima) ili kao odgovor na odgovarajuću aktivnost presinaptičkog neurona (u organizmu).

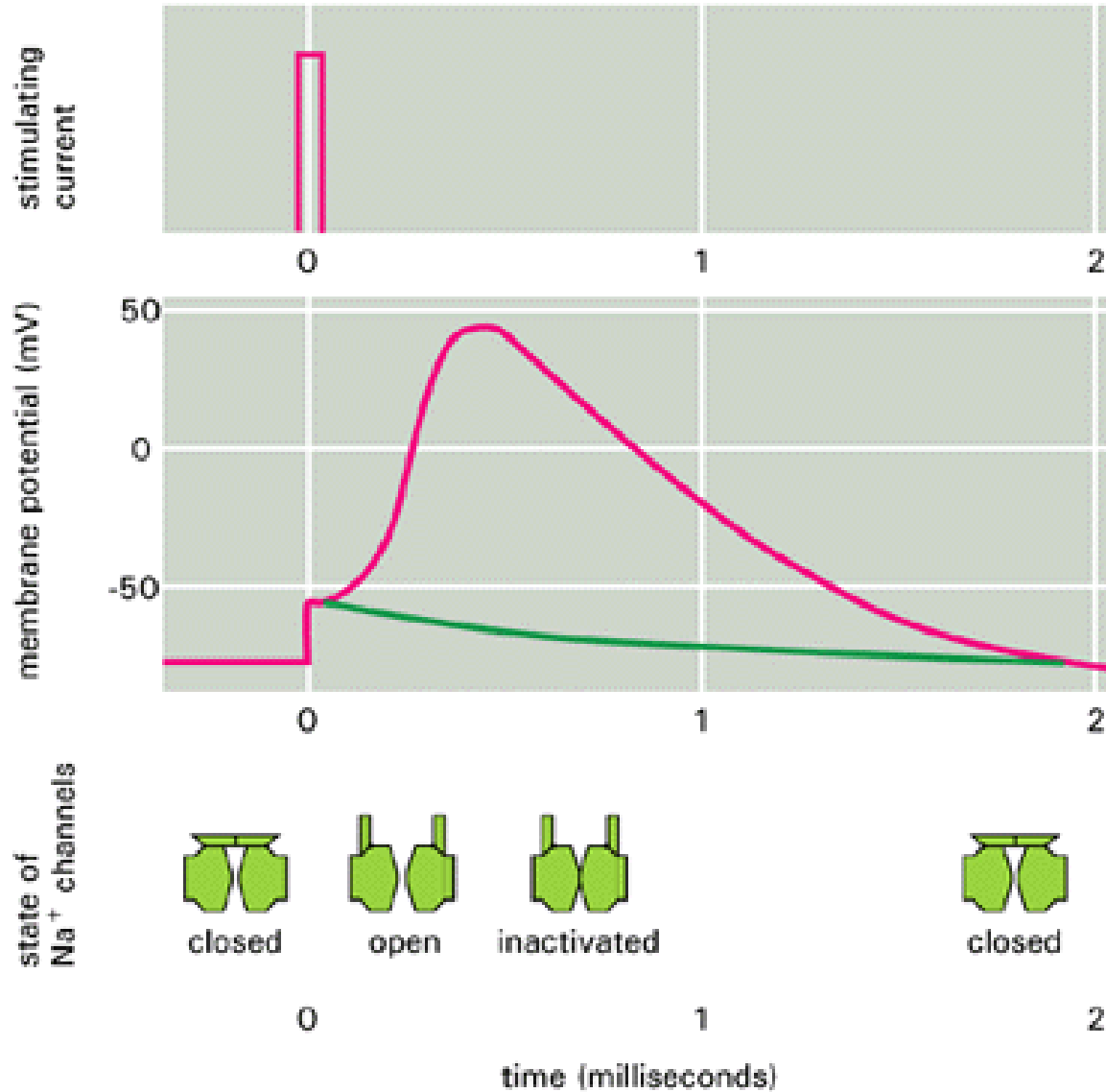


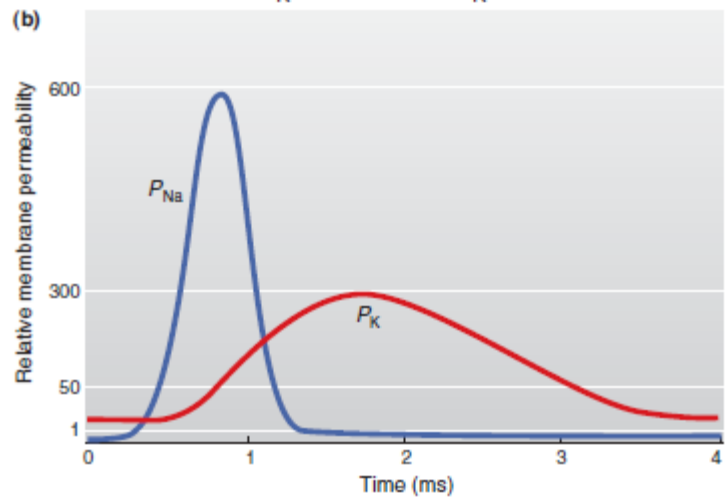
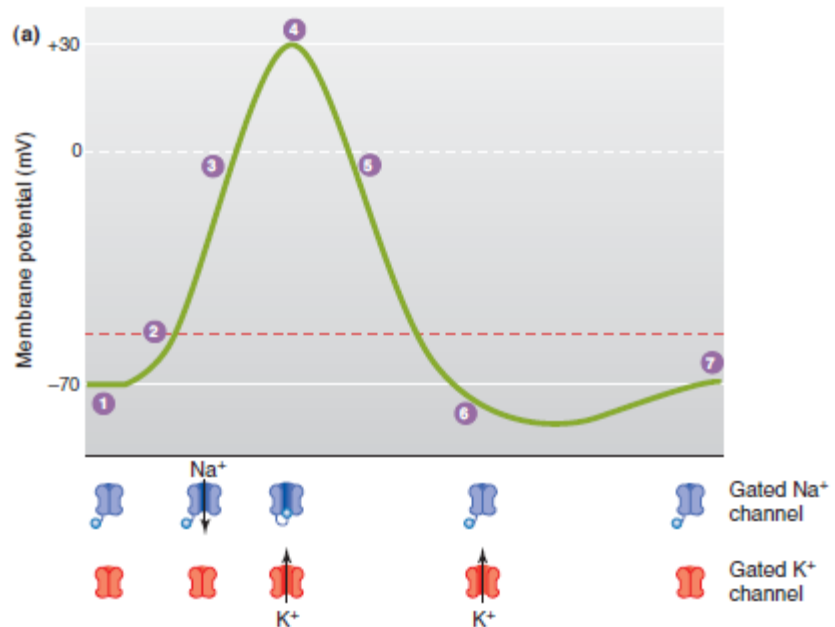


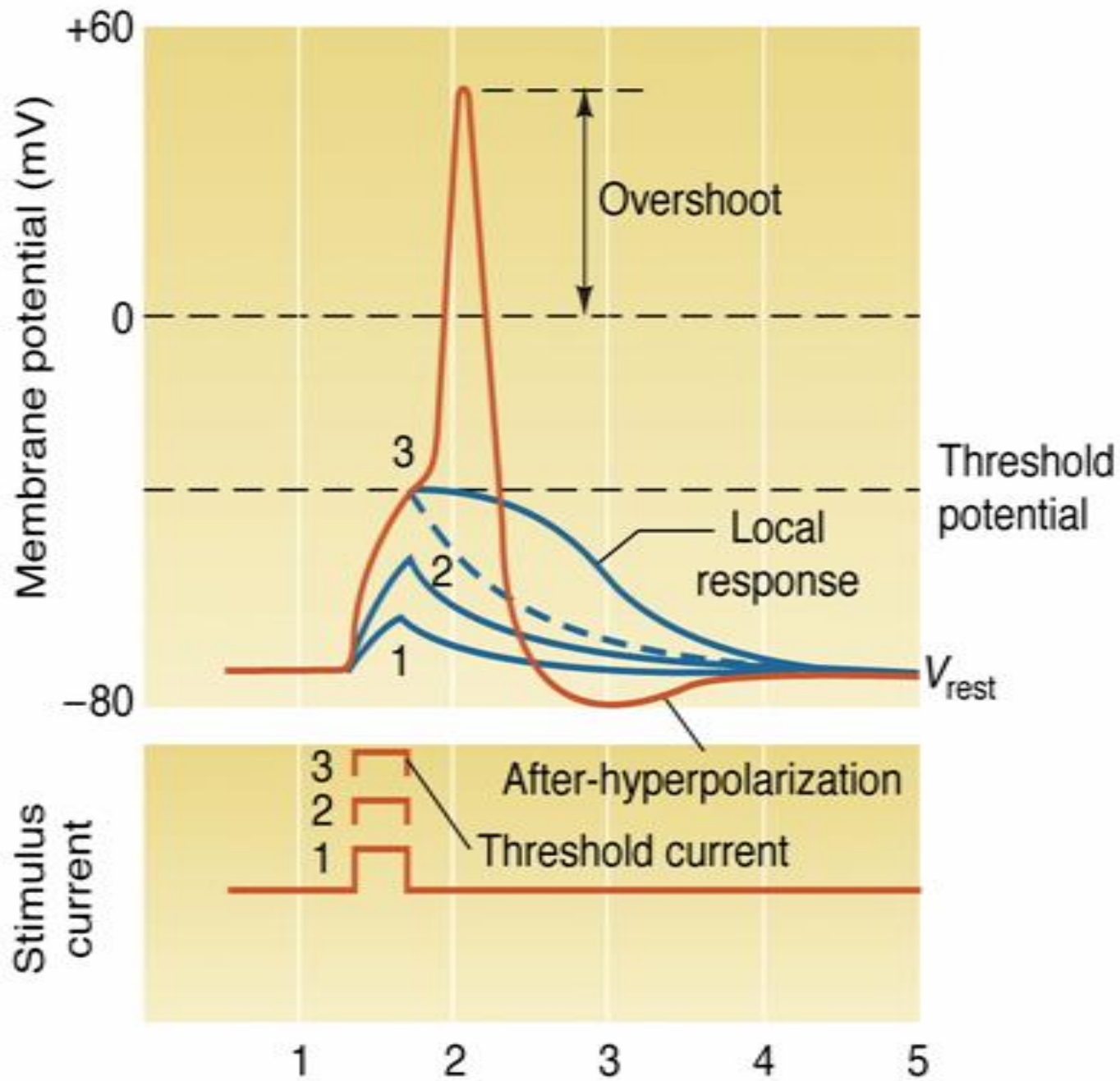




# Stanje voltažno-zavisnih Na<sup>+</sup> kanala tokom AP

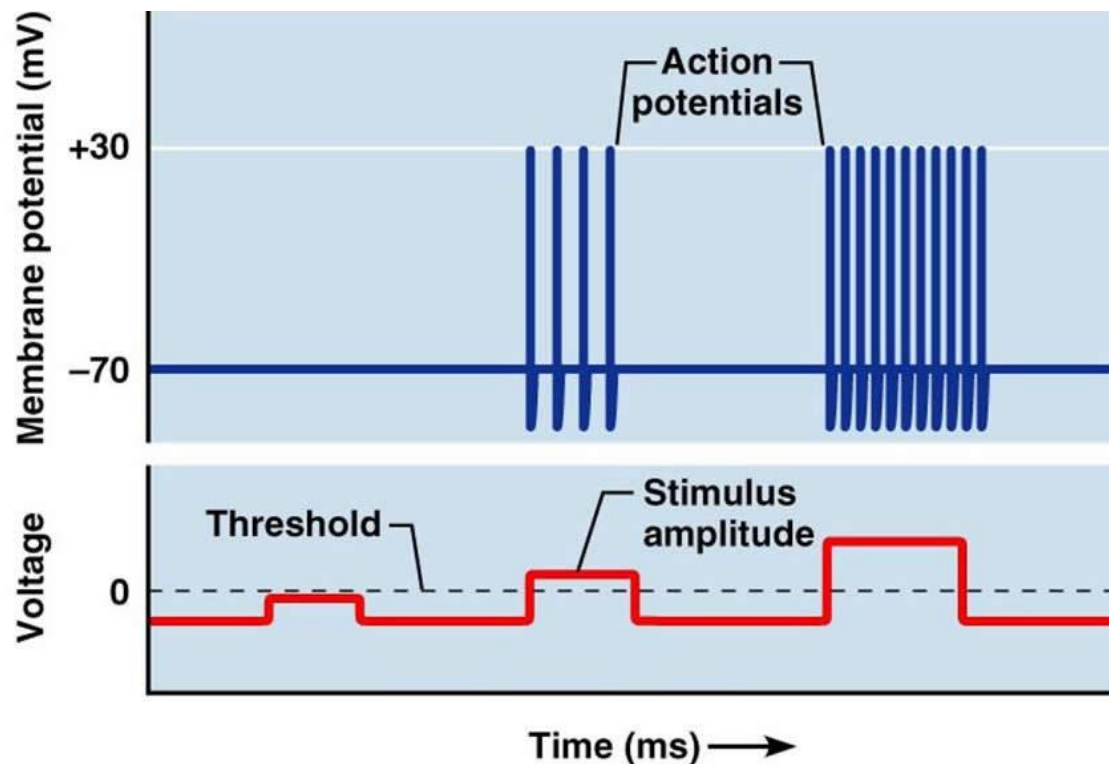








## AP I ZAKON “SVE ILI NIŠTA”



Prostiranje AP bez dekrementa je važna funkcionalna karakteristika nervne ćelije, jer se tako obezbeđuje prenošenje informacije bez izobličenja na relativno velike distance. Amplituda AP zavisi od fiziološkog stanja nervnog vlakna. Ako je identično celom dužinom amplituda je svuda ista. Promenjeno stanje nervnog vlakna – promena amplitude AP isključivo na fragmentu gde se promena dogodila, ne i u drugim delovima aksona.

# Promena provodljivosti membrane za jone $\text{Na}^+$ i $\text{K}^+$ pri različitim vrednostima nametnute depolarizacije

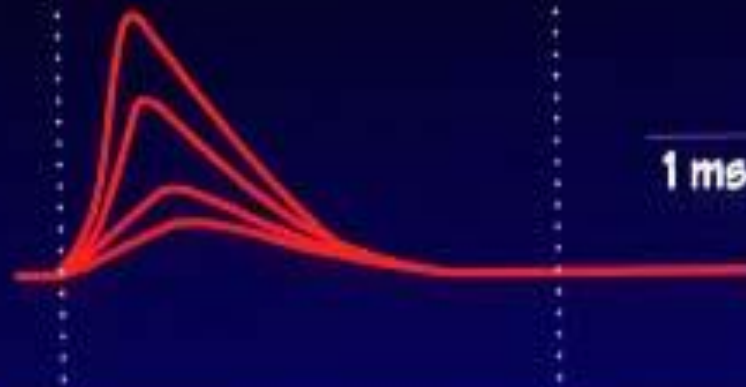
Stimulus protocol



Provodljivost za  $\text{K}^+$

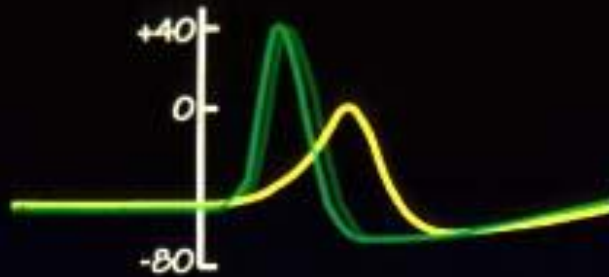


Provodljivost za  $\text{Na}^+$

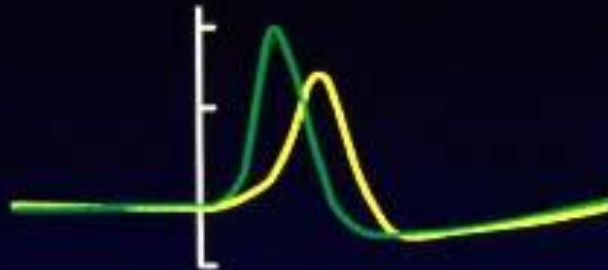


# Promena amplitude i brzine generisanja AP pri različitim ekstracelularnim koncentracijama jona $\text{Na}^+$

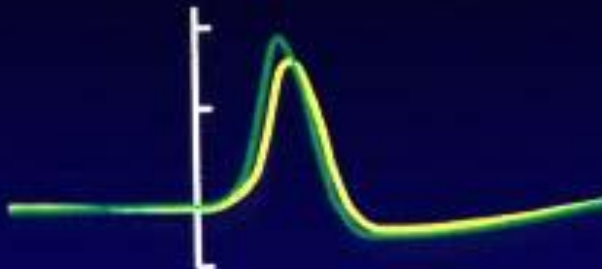
Hodgkin and Katz, 1949



Zamenjeno 67%  $\text{Na}^+$

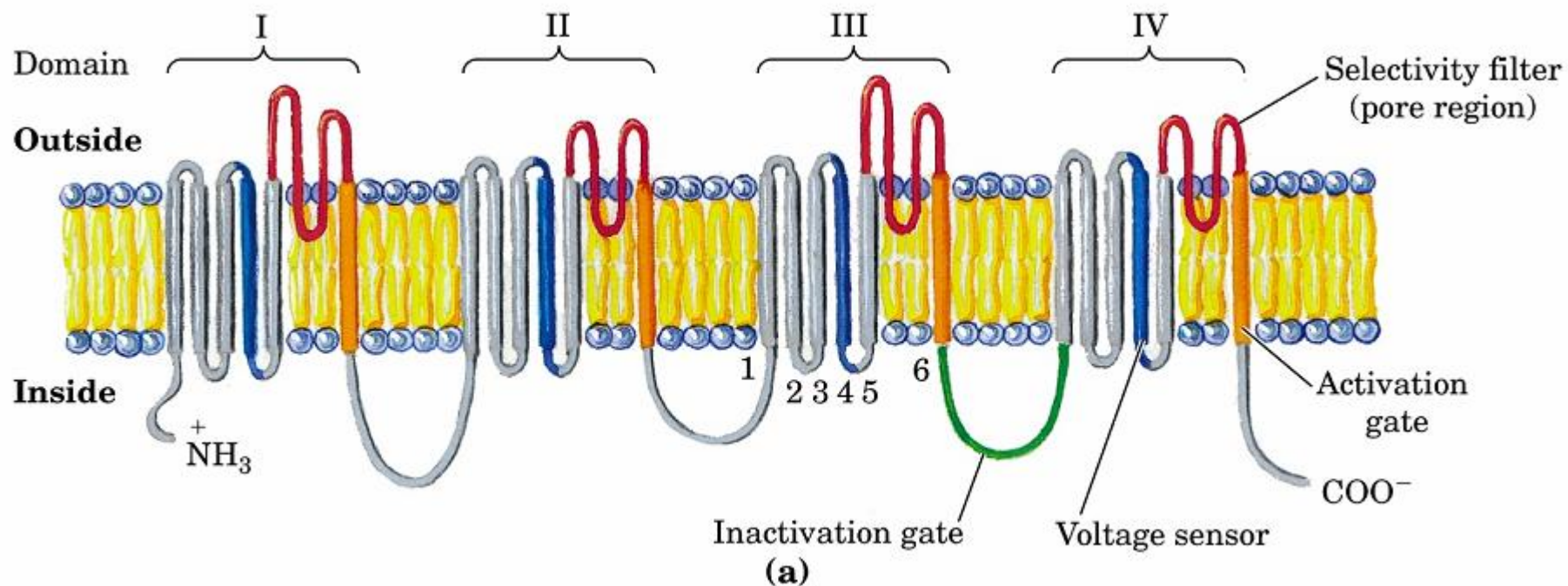


Zamenjeno 50%  $\text{Na}^+$



Zamenjeno 29%  $\text{Na}^+$

Voltažno-zavisni Na kanali: TTX senzitivni i TTX ne-senzitivni.  
Sisari ekspresuju 9 gena za  $\alpha$ -subjedinicu.



TTX senzitivnan Na kanal se sastoji iz  $\alpha$ -subjedinice povezane sa  $\beta$ 1 i  $\beta$ 2 subjedinicama.  $\alpha$ -subjedinica ima 4 ponovljena domena. Svaki domen ima 6 transmembranskih segmenata (TM) - S4 je naponski senzor, a deo između S5 i S6 učestvuje u formiranju pore.

## Da li ste za fugu?



TTX u jetri, gonadama, meso delikates u Japanu.



TTX – nije osetljiv na kuvanje.  
Ne prolazi krvno-moždanu barijeru, pa žrtve trovanja ostaju svesne dok postepeno dolazi do paralize mišića.



Riba “pufferfish” ili “fugu” ima TTX ne-senzitivne kanale.

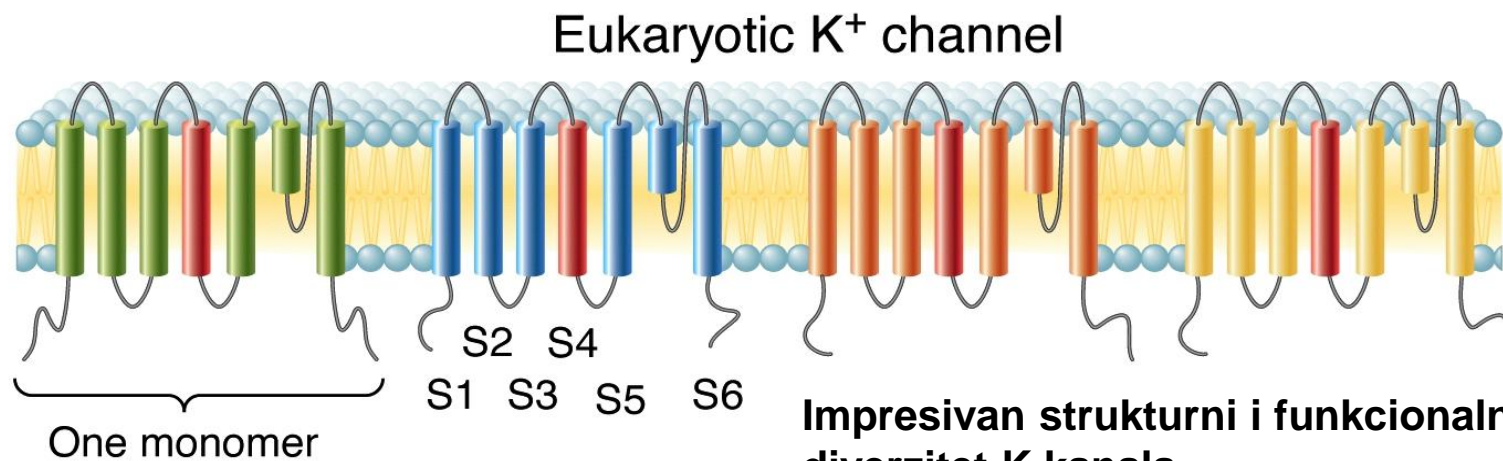
Stroga pravila u pripremi jela!  
Potrebno je da kuvari koji pripremaju i prodaju fugu specijalitete imaju specijalnu dozvolu za koju je potrebno imati 2-3 godine “šegrtovanja” i položiti određene testove i praktične zadatke u pripremi jela.  
Prolaznost je svega oko 35%.



Riba ne može da se nađe u slobodnoj prodaji.

# K - kanali (voltažno zavisni; Ca-zavisni; G protein zavisni).

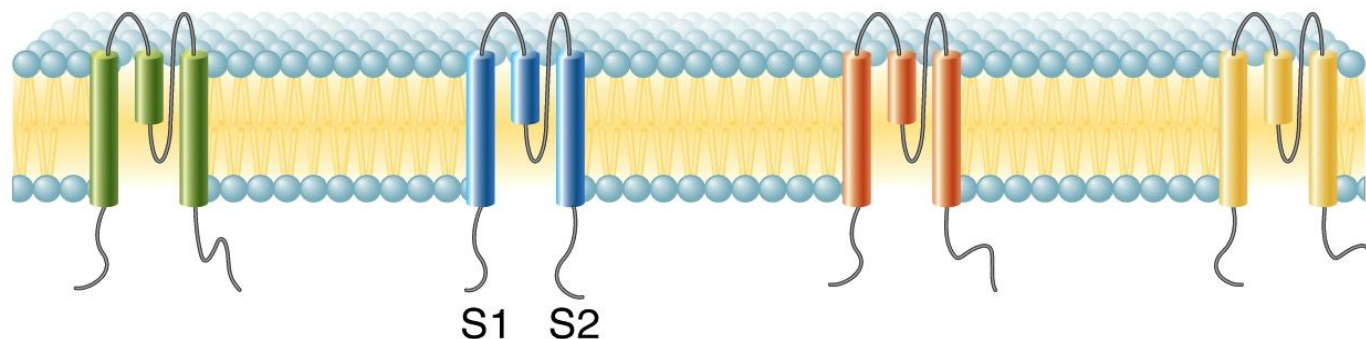
tzv. Kir kanal



Impresivan strukturalni i funkcionalni diverzitet K kanala.

Izlazna struja definiše oblik i trajanje AP.

## Bacterial K<sup>+</sup> channel



Prisustvo određenih tipova K kanala u membrani doprinosi specifičnim karakteristikama AP. Struktura - homo (hetero) tetrameri (4 $\alpha$ ) +  $\beta$  subjedinice;  $\alpha$ -subjedinice sa 6TM ili 2TM.

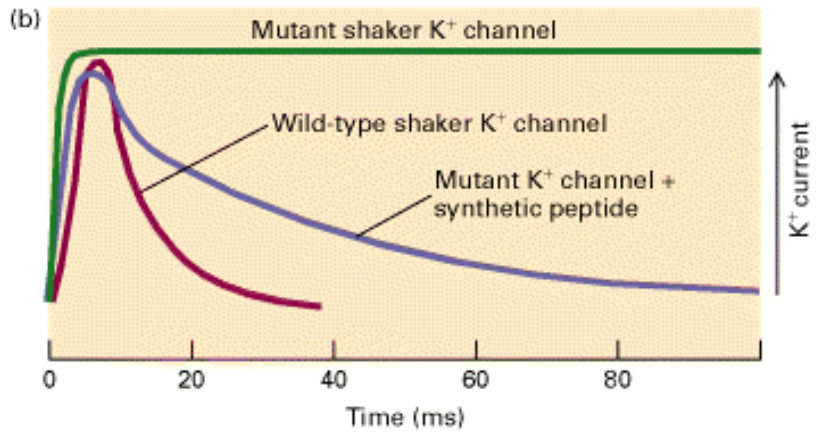
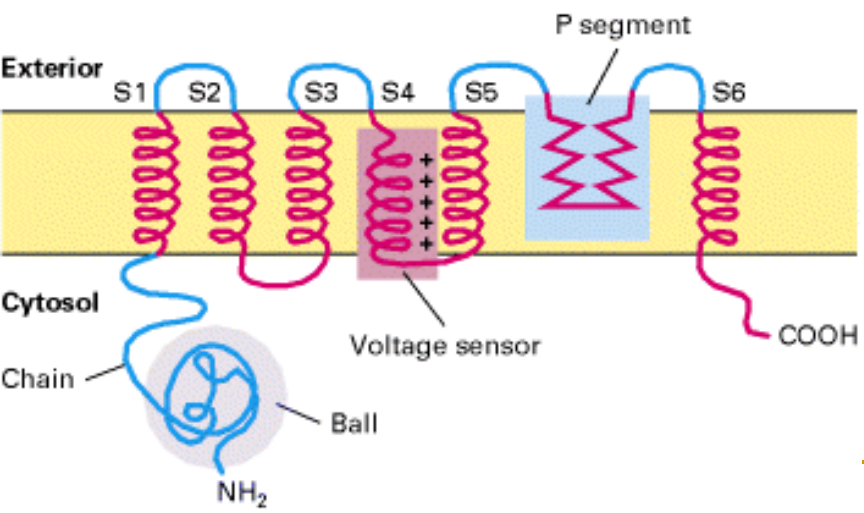
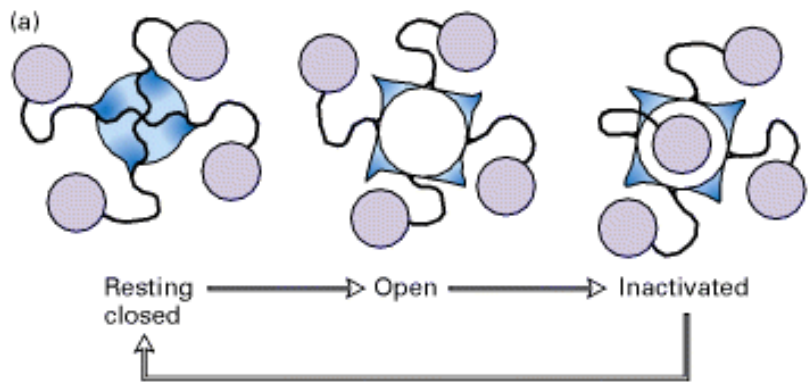
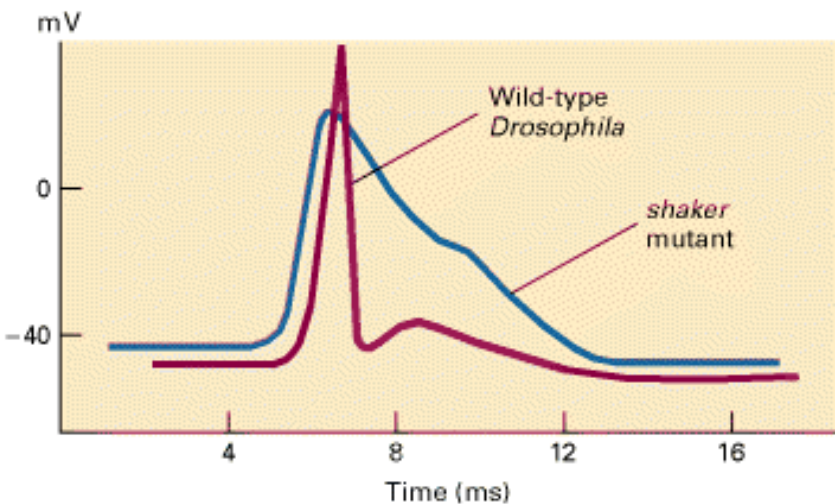
---

## Četiri glavna podtipa voltažno-zavisnih K<sup>+</sup> kanala

koji se razlikuju u kinetici aktivacije, veličini potrebne depolarizacije za aktivaciju, i osetljivosti na različite ligande:

- (a) sporo aktivirajući K<sup>+</sup> kanali opisani od strane Hočkina i Hakslija (na engleskom delayed rectifier K<sup>+</sup> channel; spori rektifikatori);
  - (b) Ca<sup>2+</sup>-aktivirajući K<sup>+</sup> kanali aktiviraju se u uslovima povećane intracelularne koncentracije kalcijumovih jona, a osetljivost na ove jone značajno se povećava u uslovima depolarizacije membrane;
  - (c) A-tip K<sup>+</sup> kanala koji se vrlo brzo aktiviraju kada se ćelija depolariše nakon produžene hiperpolarizacije membrane, ali se brzo i inaktiviraju ukoliko depolarizacija traje;
  - (d) obrnuti rektifikatori (engleski inward rectifier K<sup>+</sup> channel, K<sub>ir</sub>) su K<sup>+</sup> kanali koji se aktiviraju hiperpolarizacijom. Termin obrnuti rektifikatori znači da im je provodljivost veća pri ulaznoj no pri izlaznoj struji. Međutim, u fiziološkim uslovima, membranski potencijal nije veći od ravnotežnog za K<sup>+</sup> jone, pa ne dolazi do pojave ulazne K<sup>+</sup> struje, a izlazna struja stabilizuje membranski potencijal mirovanja. Ovi kanali pri većoj depolarizaciji membrane i inverziji polarizovanosti ne propuštaju jone.
-

Primer brzog A-tip K<sup>+</sup> kanala koji je proučavan kod vinske mušice, u slučaju mutacije ovog kanala pod uticajem etarske anestezije dolazi do snažnog tremora ekstremiteta kod mušice (shaker). Ovaj kanal se karakteriše brзом aktivacijom pri maloj depolarizaciji, ali i bržom inaktivacijom i verovatno sprečava genezu AP pri subliminalnoj stimulaciji. Inaktivaciju mogu da izvrše bilo koja od četiri lopte na N-kraju subjedinica.





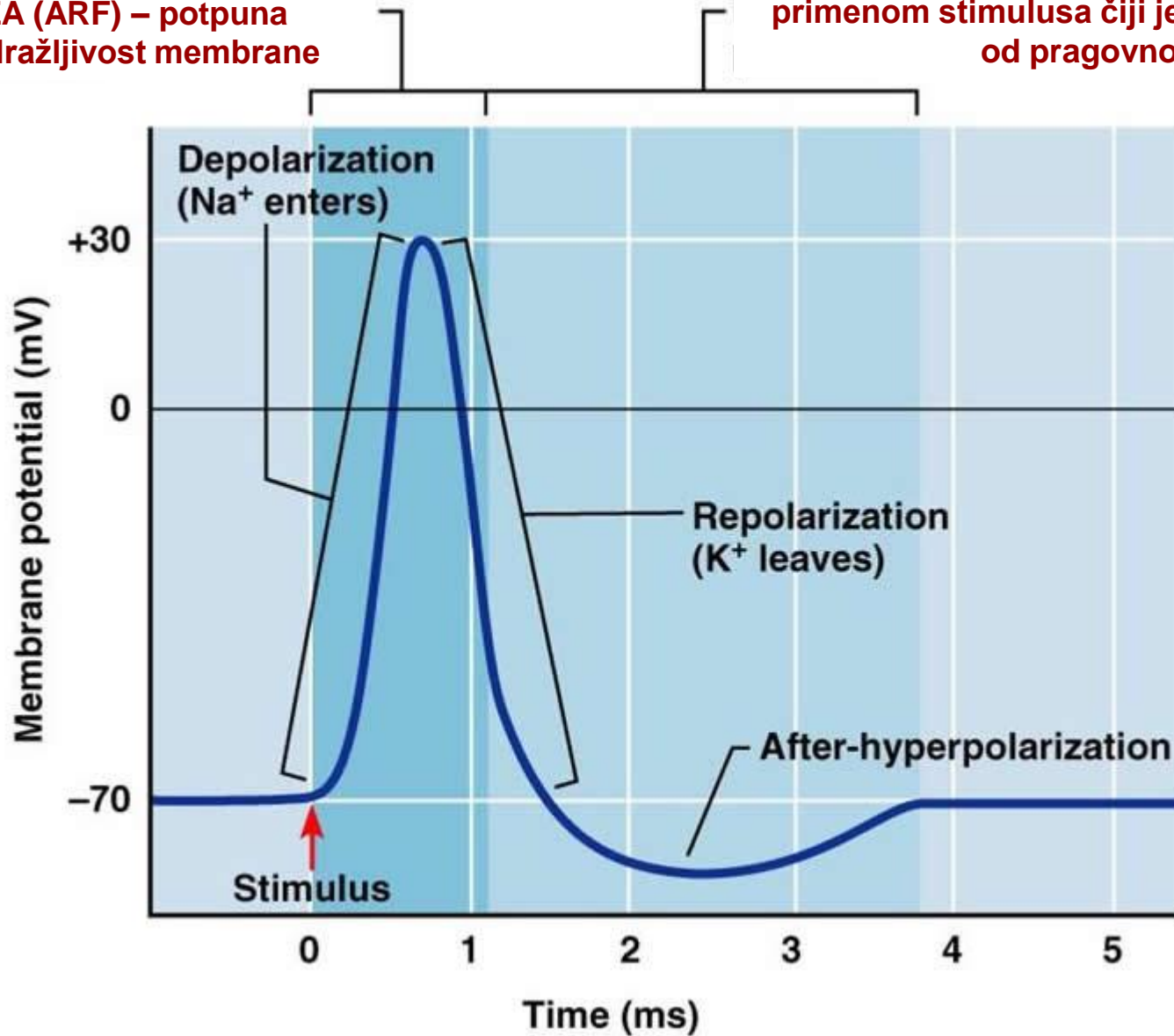
## Voltažno-zavisni Ca<sup>2+</sup> kanali

mogu da se klasifikuju u dve grupe u odnosu na stepen depolarizacije koji ih aktivira

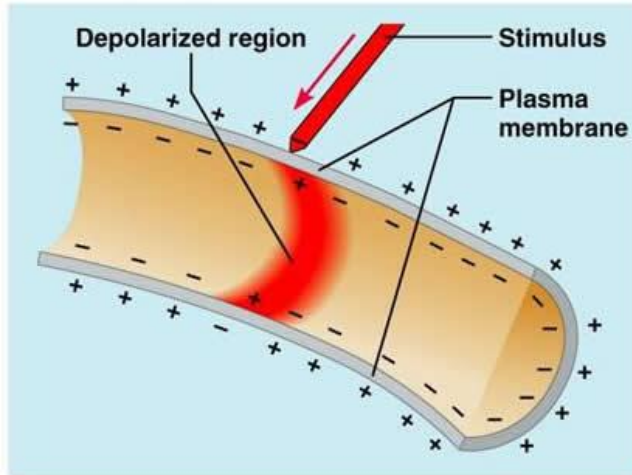
- T-Ca<sup>2+</sup> kanali (T od transient) aktiviraju se malom depolarizacijom membrane, aktivacija praćena brзом i kompletnom inaktivacijom. Da bi iz inaktivnog prešli u zatvoreno stanje potrebna je hiperpolarizacija. Prisutni u nodalnom tkivu srca.
- L-Ca<sup>2+</sup> kanali (L od long lasting) su osetljivi na dihidropiridin i zahtevaju veću depolarizaciju membrane (oko -30 mV), karakterišu se sporom inaktivacijom. Sreću se između ostalih tkiva i u skeletnoj i srčanoj muskulaturi, sastoje se od 5 subjedinica, velike  $\alpha$ -subjedinice i četiri manje subjedinice:  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ . Kao i kod Na<sup>+</sup> kanala,  $\alpha$ -subjedinica ima 4 ponovljena domena i svaki se sastoji od 6 TM segmenata. Svaki domen sadrži naponski senzor (S4), P-segment koji formira selekcionni filter. Postoji i odgovarajuća sekvenca odgovorna za inaktivaciju kanala. Postoje i drugi kanali u ovoj grupi.

**APSOLUTNA REFRAKTORNA FAZA (ARF) – potpuna nenadražljivost membrane**

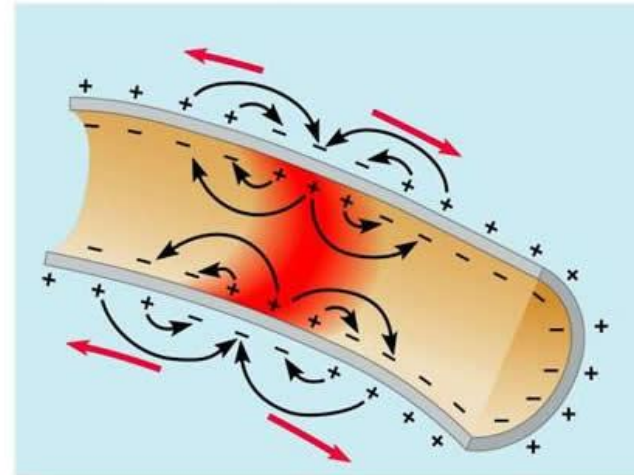
**RELATIVNA REFRAKTORNA FAZA (RRF) – novi AP moguće je izazvati samo primenom stimulusa čiji je intenzitet veći od pragovnog**



# MEHANIZAM PROSTIRANJA AKCIONOG POTENCIJALA



**(a) Depolarization**

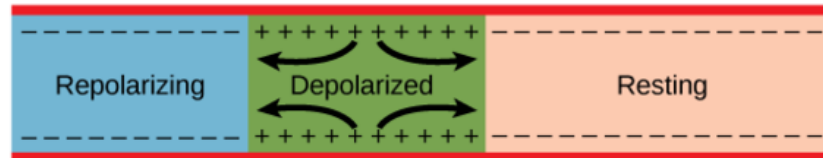


**(b) Spread of depolarization**

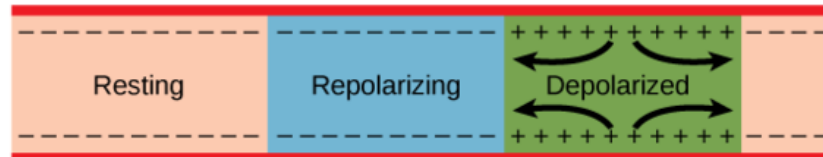
a. In response to a signal, the soma end of the axon becomes depolarized.



b. The depolarization spreads down the axon. Meanwhile, the first part of the membrane repolarizes. Because  $\text{Na}^+$  channels are inactivated and additional  $\text{K}^+$  channels have opened, the membrane cannot depolarize again.



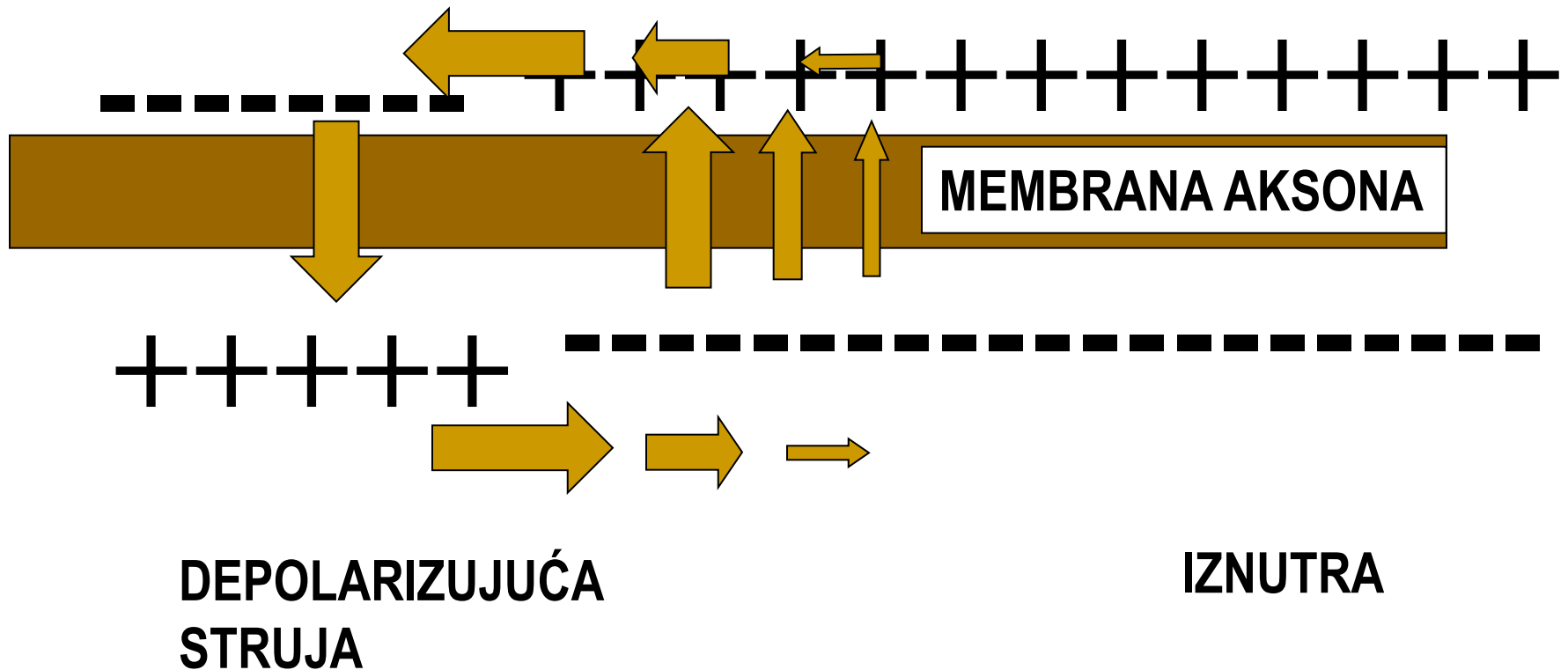
c. The action potential continues to travel down the axon.



# MEHANIZAM PROSTIRANJA AKCIONOG POTENCIJALA

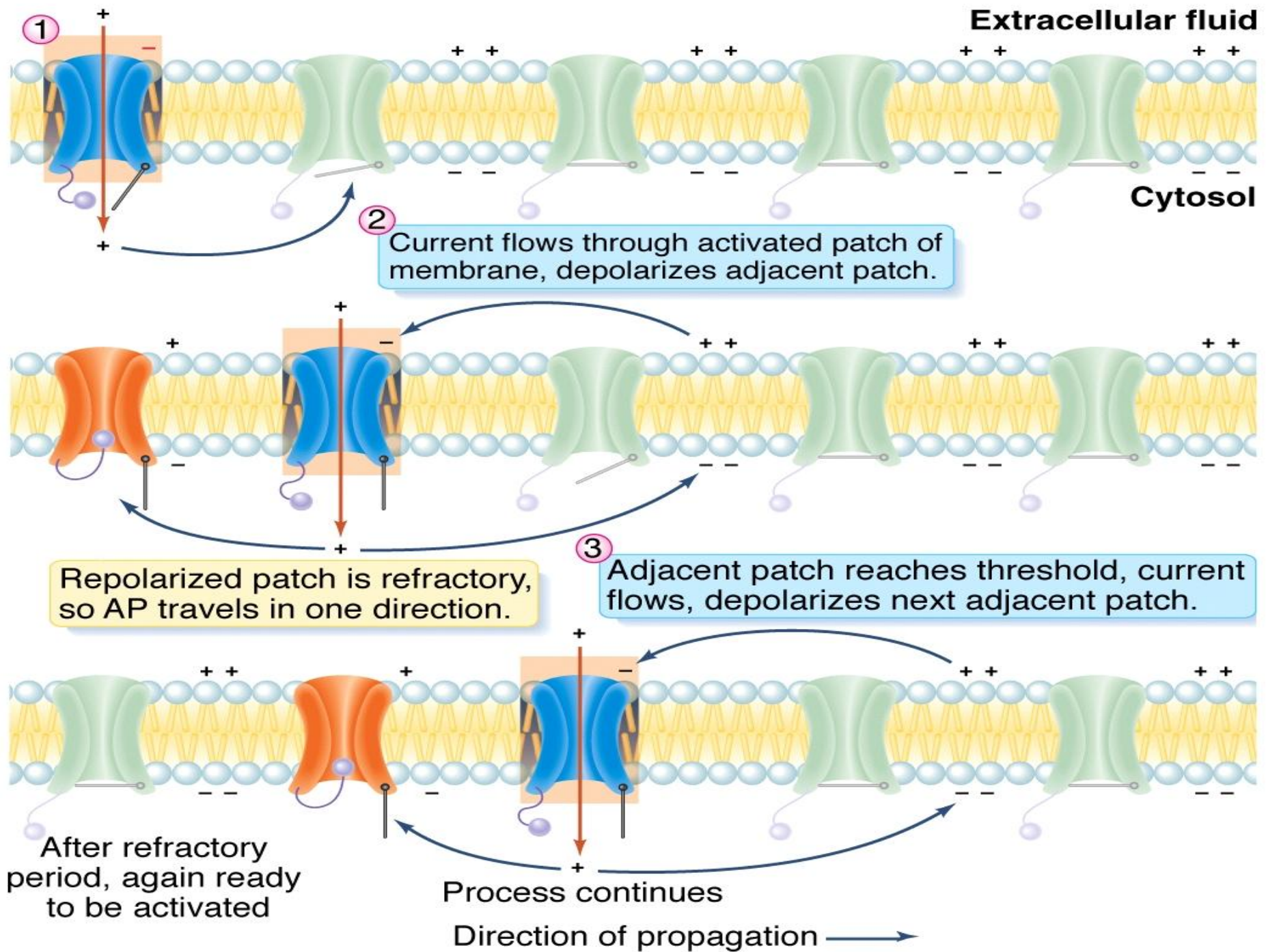
SPOLJA

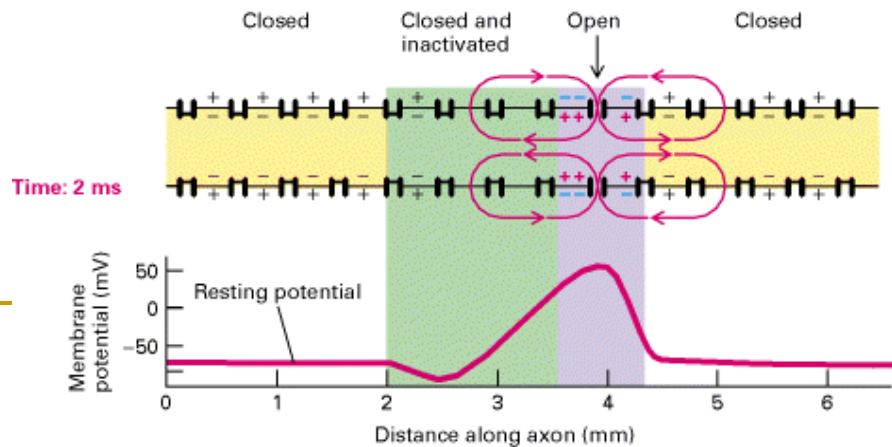
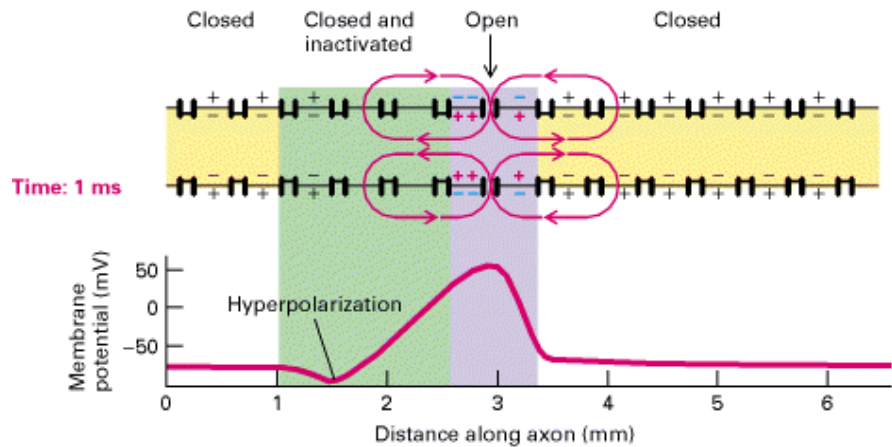
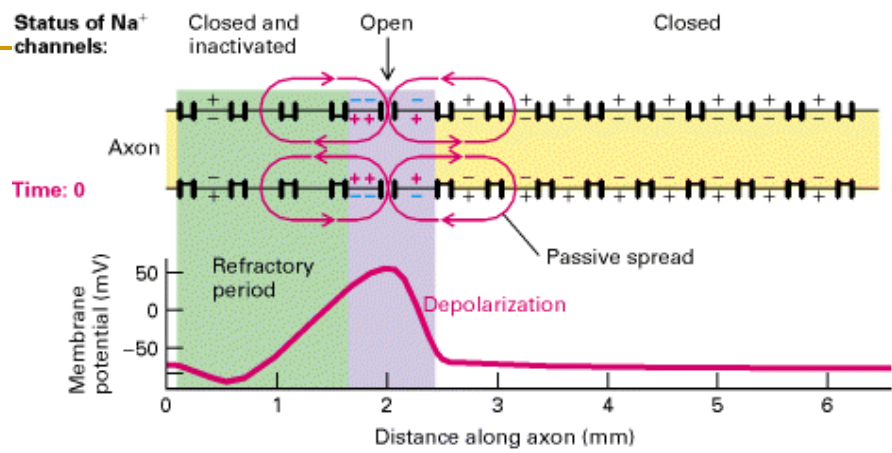
AKCIONI POTENCIJAL



DEPOLARIZUJUĆA  
STRUJA

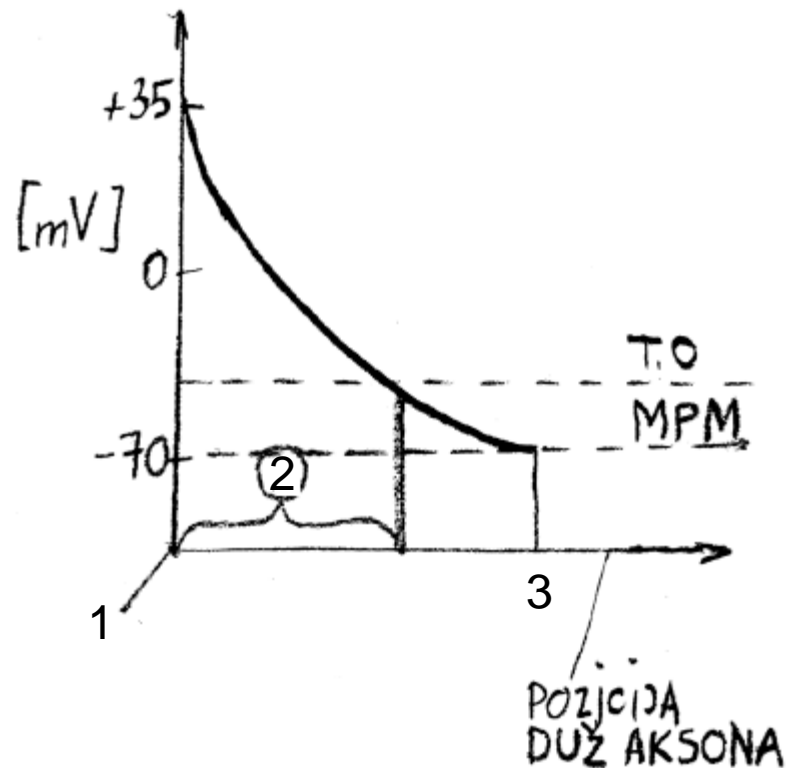
IZNUTRA





## Prostiranje AP i stanje Na kanala

## Samanjenje amplitude depolarizacije sa udaljenošću od pika AP

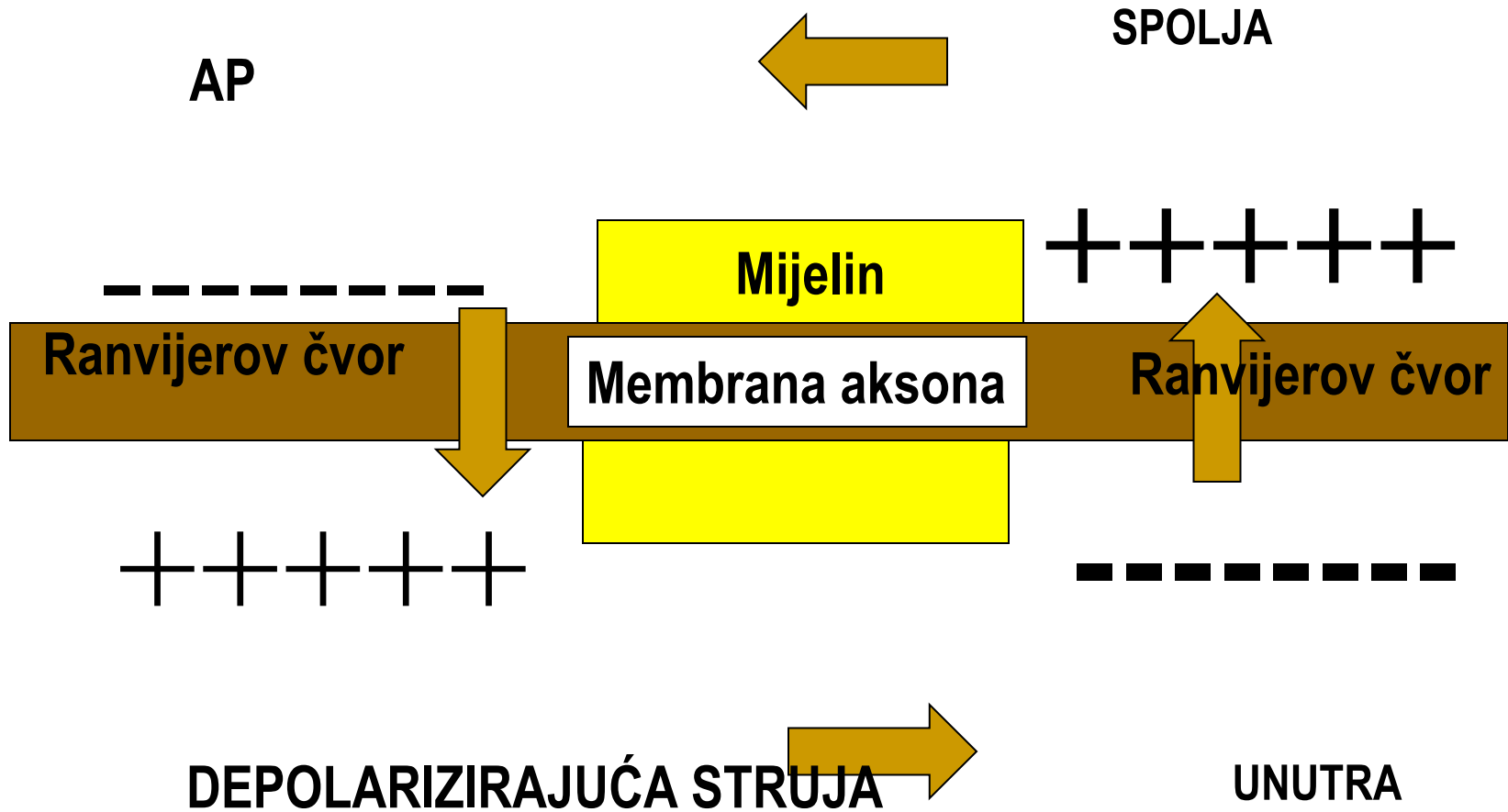


1 – pozicija na membrani na kojoj je amplituda depolarizacije najveća (AP)

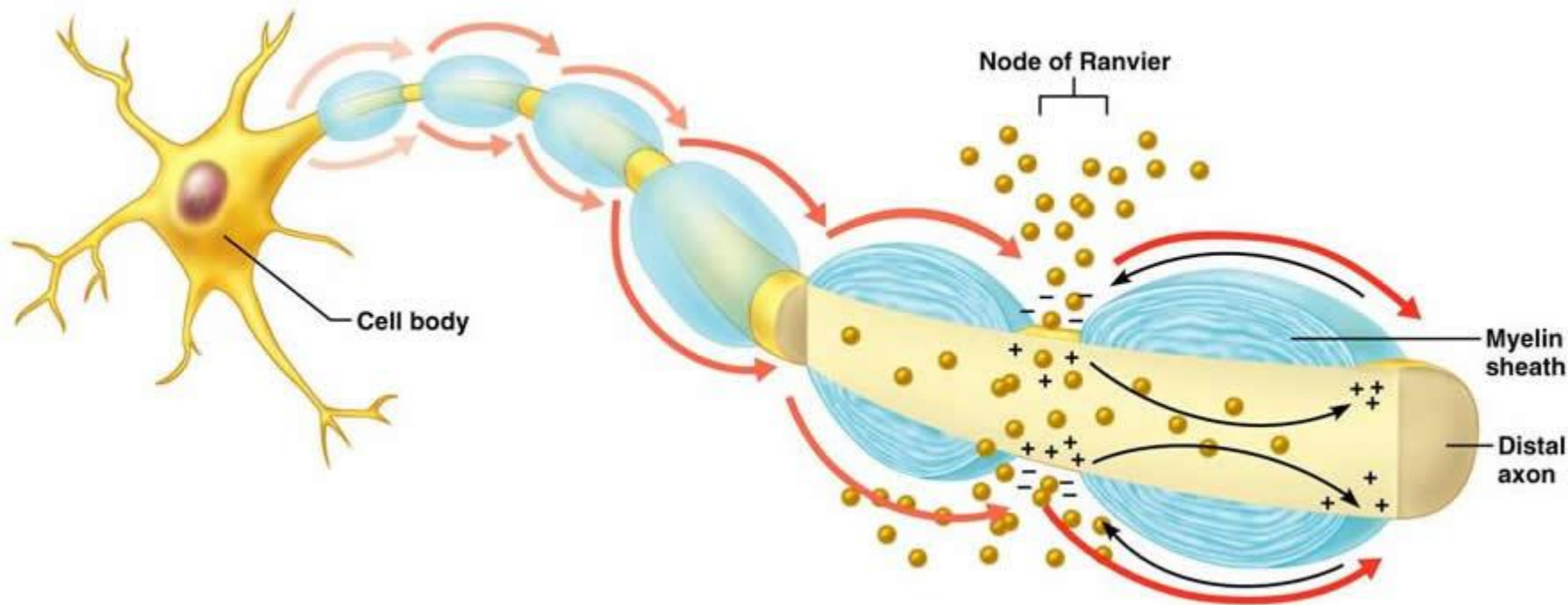
2 – region membrane gde je depolarizacija iznad tačke okidanja

3 – rastojanje na kome je membranski potencijal jednak vrednosti u mirovanju, odnosno membrana nije zahvaćena elektrotoničkom depolarizacijom

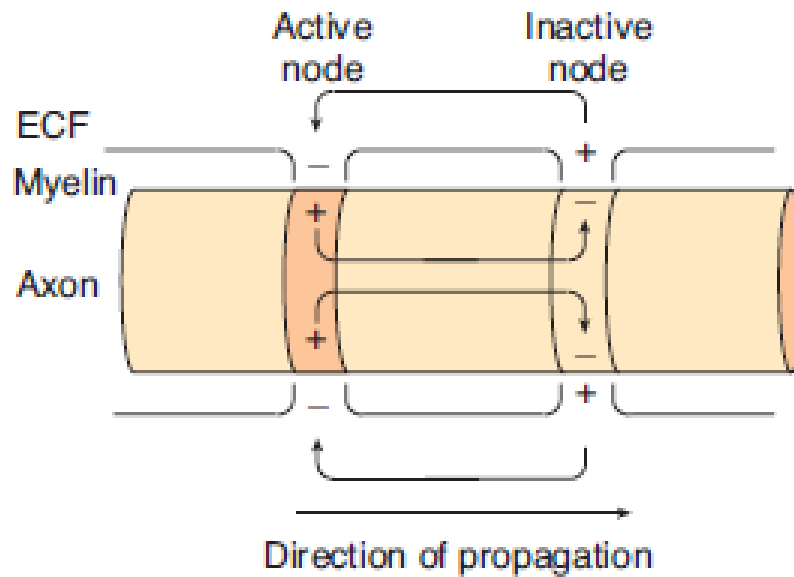
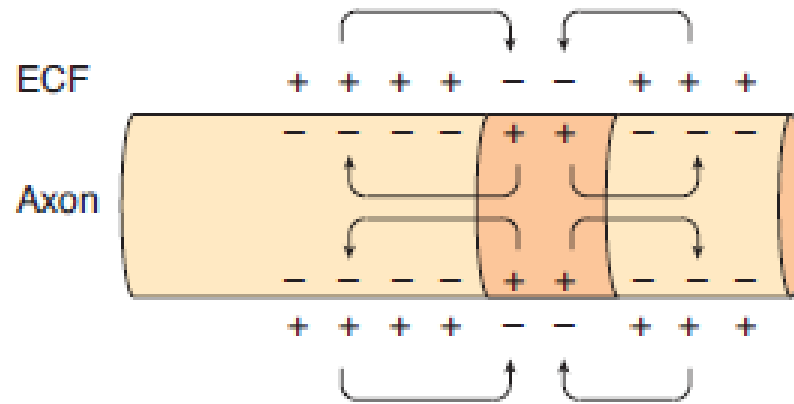
# SALTATORNA KONDUKCIJA







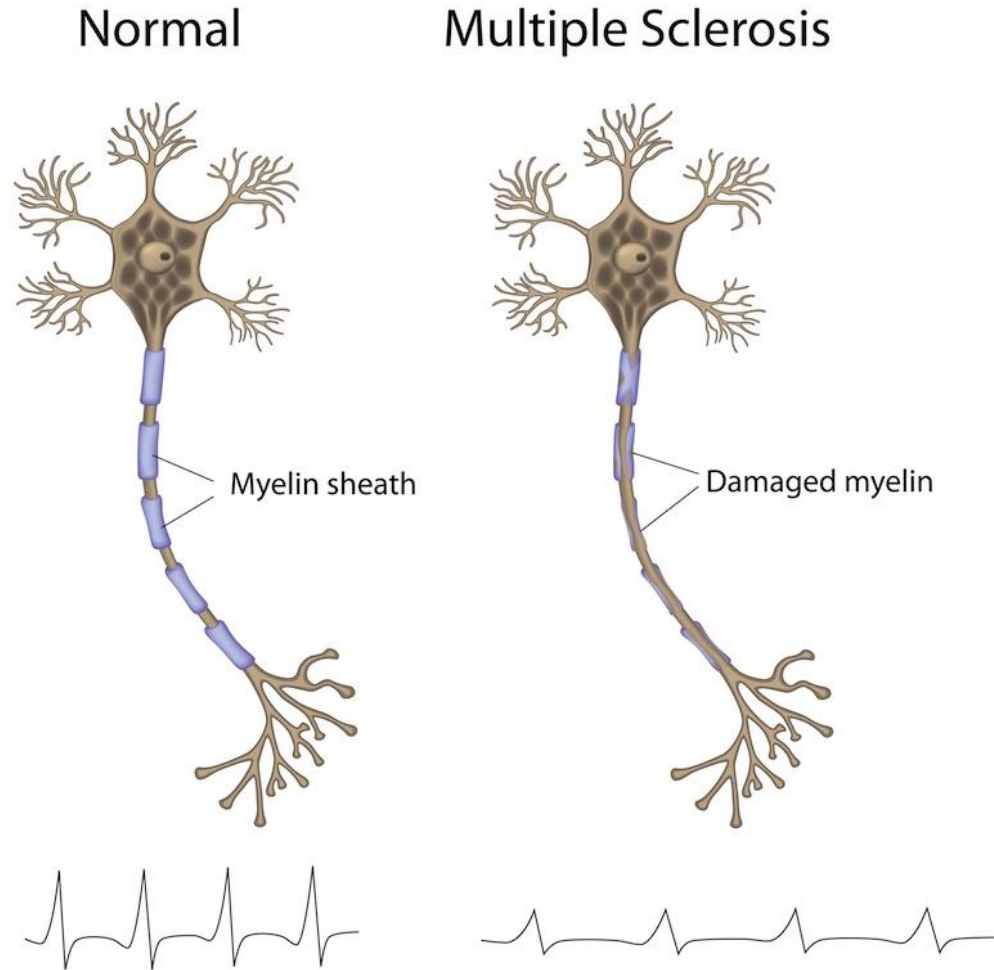
Ako se dva susedna Ranvijerova suženja blokiraju to neće uticati na prostiranje AP. Kružne struje koje teku do drugog tj. trećeg nodusa još uvek su dovoljno velike da izazivaju AP.



## Multipla skleroza...

Mestimično dolazi do razgradnje mijelina u CNS → gubitak normalnog sprovođenja AP u demijelinizovanim aksonima.

Raspad mijelinske opne izaziva kašnjenje u provođenju električnog impulsa kroz akson neurona. Kod zdrave osobe pojedinačna brzina provođenja aksona je 100-120 m/sec dok kod pojedinih bolesnika od multiple skleroze brzina pada i do 5 m/s.





---

## BRZINA PROSTIRANJA AP

Brzina prostiranja AP – zavisi od vremena potrebnog da lokalne kružne struje AP depolarišu membranu susednog fragmenta do tačke okidanja → svaki faktor koji skraćuje ovo vreme povećava brzinu prostiranja AP i obrnuto.

Veoma varira i zavisi od karakteristika vlakna; ne zavisi od intenziteta stimulusa ni mesta nastajanja AP.

AP se duž nervnog vlakna prostire istom brzinom, što pokazuje da se prostiranje vrši uz učešće i energiju svakog fragmenta nervnog vlakna, a ne na osnovu energije stimulusa.

Nervna vlakna: 0.1 m/s; motoneuron: 120 m/s.

---

## FAKTORI KOJI UTIČU NA BRZINU PROSTIRANJA AP

↑ kapacitet i otpor membrane → sporije prostiranje AP

↑ otpora spoljašnje ( $R_s$ ) i unutrašnje ( $R_u$ ) sredine → sporije prostiranje AP

*(što je veći otpor aksoplazme, to će jačina lokalnih kružnih struja biti manja, trebaće više vremena da se izvrši smanjenje polarizovanosti susednog dela membrane)*

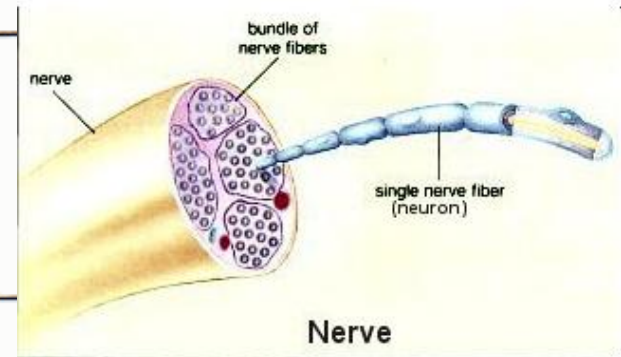
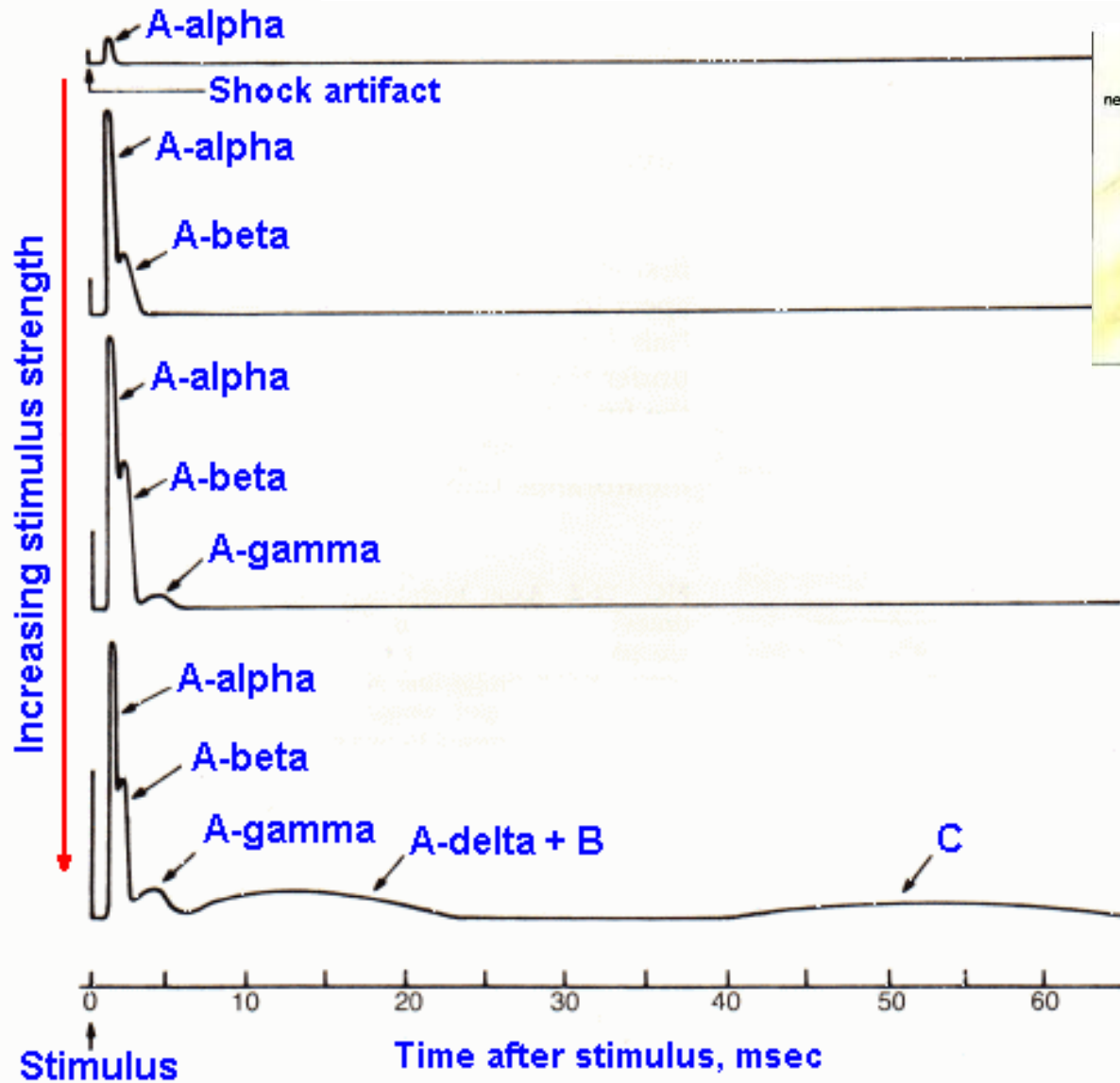
↑ prečnik aksona → brže prostiranje AP

mijelinizacija → brže prostiranje AP (zbog saltatorne kondukcije)

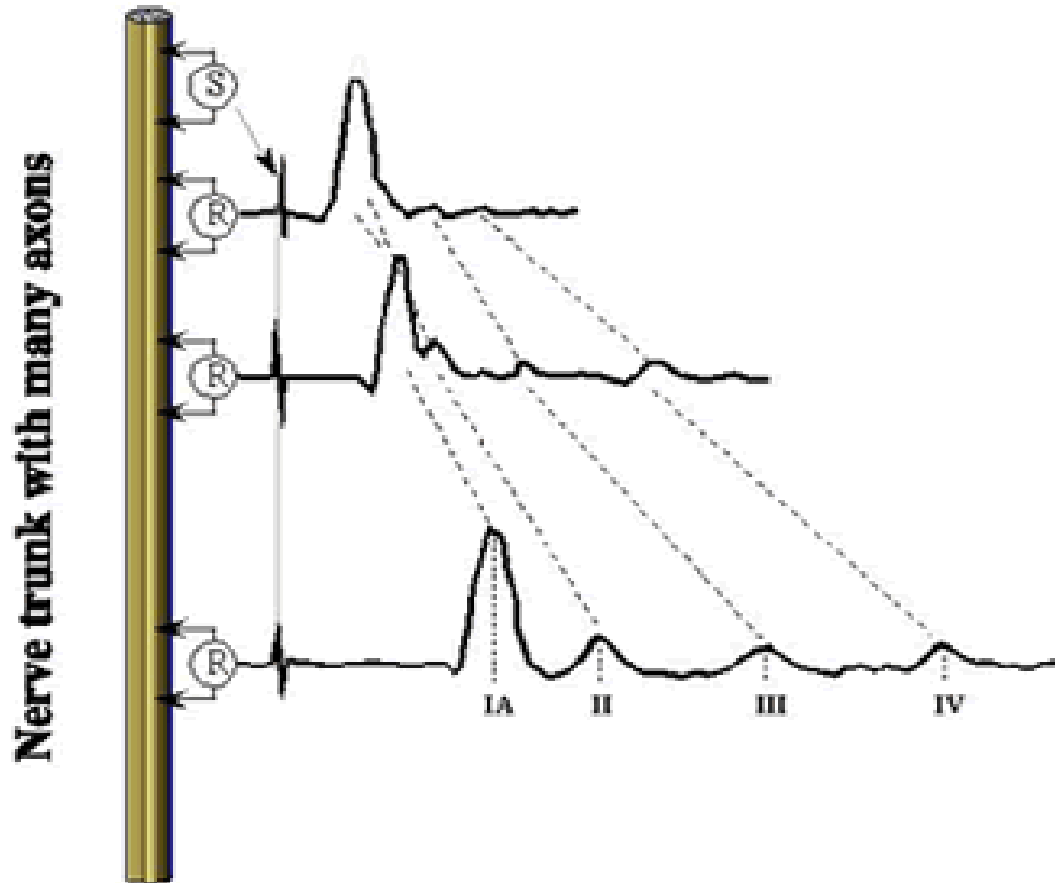
↓  $Na^+_{ECT}$  → sporije prostiranje AP (zbog sporije geneze)

↓ temperatura → sporije prostiranje AP

# SLOŽENI AKCIONI POTENCIJAL NERVA



# SLOŽENI AKCIONI POTENCIJAL NERVA





# Dva sistema klasifikacije aksona u perifernom nervnom sistemu na osnovu prečnika vlakna

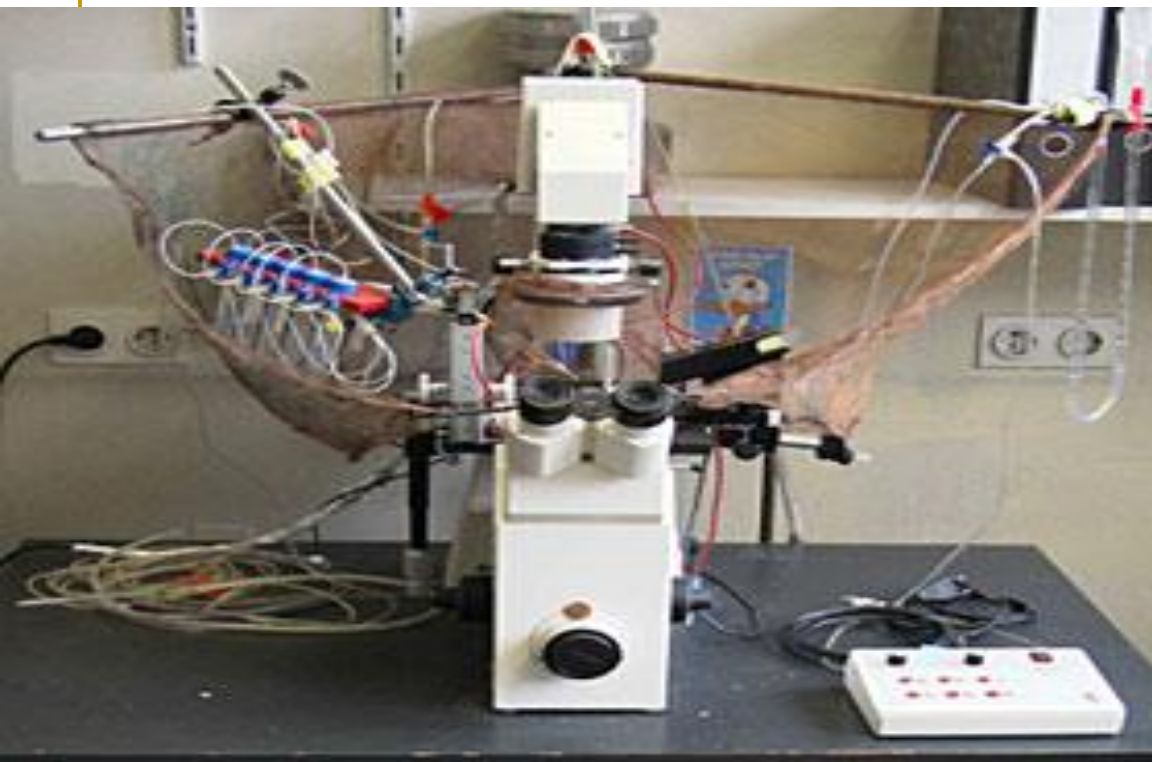
## 1. Slovima

Vrsta vlakna	Prečnik $\mu\text{m}$	Brzina m/sec	Funkcije
<b>A-<math>\alpha</math></b>	13-22	70-120	$\alpha$ -motoneuron, primarni završeci u mišićnom vretenu, Goldžijev tetivni organ, za dodir
<b>A-<math>\beta</math></b>	8-13	40-70	dodir, sekundarni završeci u mišićnom vretenu
<b>A-<math>\gamma</math></b>	4-8	15-40	dodir, pritisak, $\gamma$ -motoneuron
<b>A-<math>\delta</math></b>	1-4	5-15	bol, grub dodir, pritisak, temperatura
<b>B</b>	1-3	3-14	preganglijska vlakna
<b>C</b>	0.1-1	0.2-2	bol, dodir, pritisak, temperatura, postganglijska vlakna

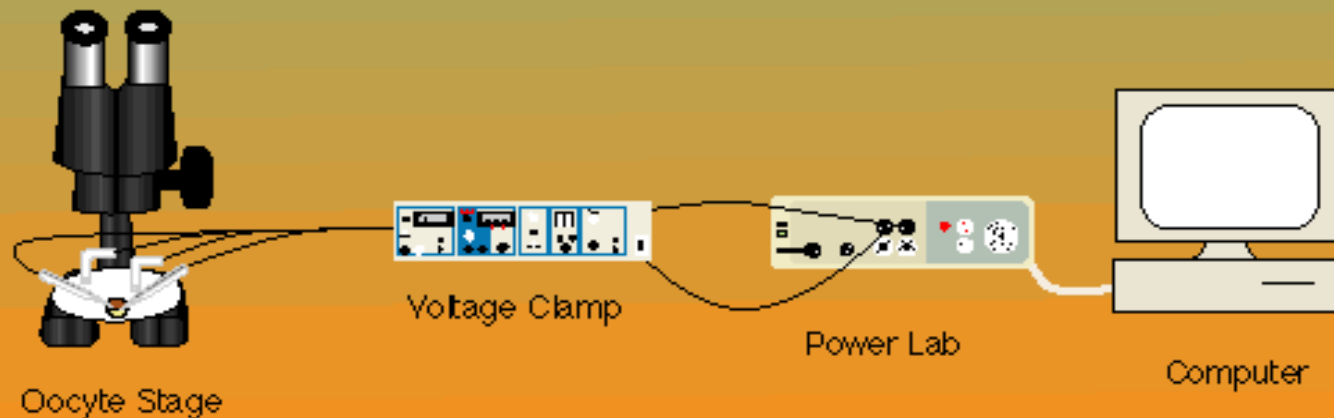
## 2. Rimskim brojevima

Vrsta vlakna	Prečnik $\mu\text{m}$	Brzina m/sec	Funkcije
<b>Ia</b>	12-20	70-120	Primarni završeci u m- vretenu
<b>Ib</b>	11-19	66-114	Godžijev tetivni organ
<b>II</b>	5-12	20-50	Dodir, sekundarni završeci u m. vretenu
<b>III</b>	1-5	4-20	Bol, grub dodir, pritisak, temperatura
<b>IV</b>	0.1-2	0.2-3	Bol, dodir, pritisak, temperatura

# Aparatura za ispitivanje jonskih kanala (manuelno)

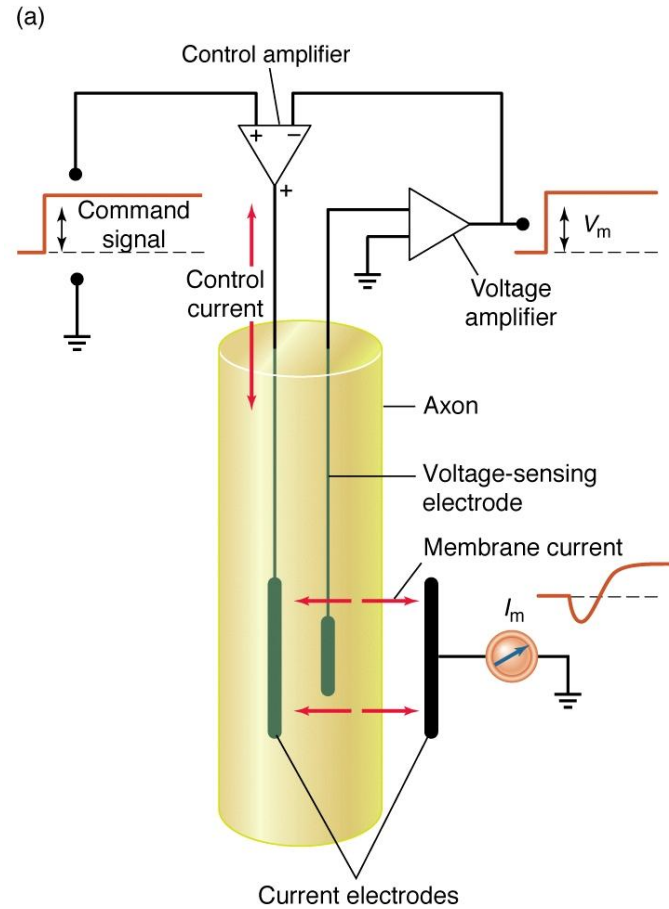
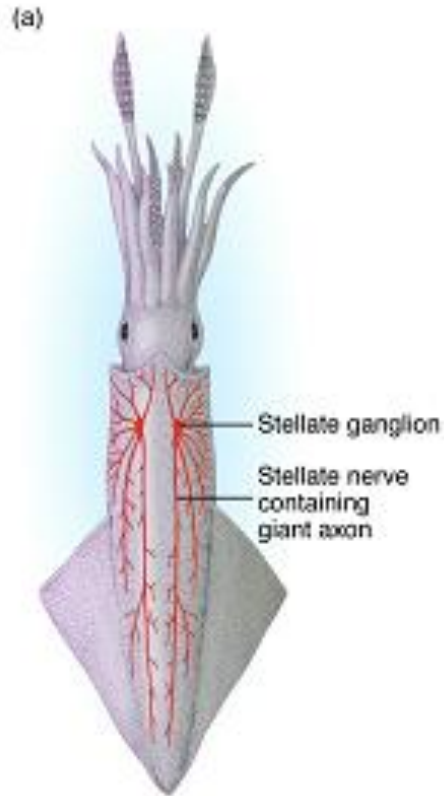


Hočkin i Haksli



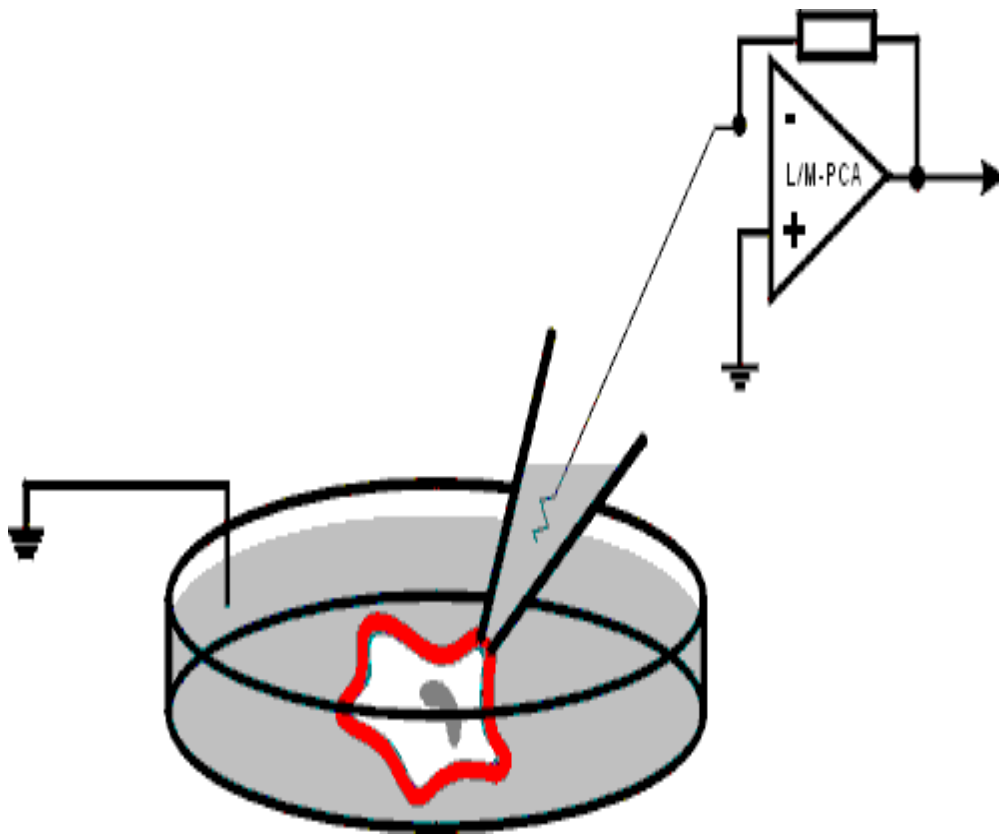
# Aparatura za ispitivanje jonskih kanala (automatizovana)

# Hodgkin-Huxley-evi ogleđi

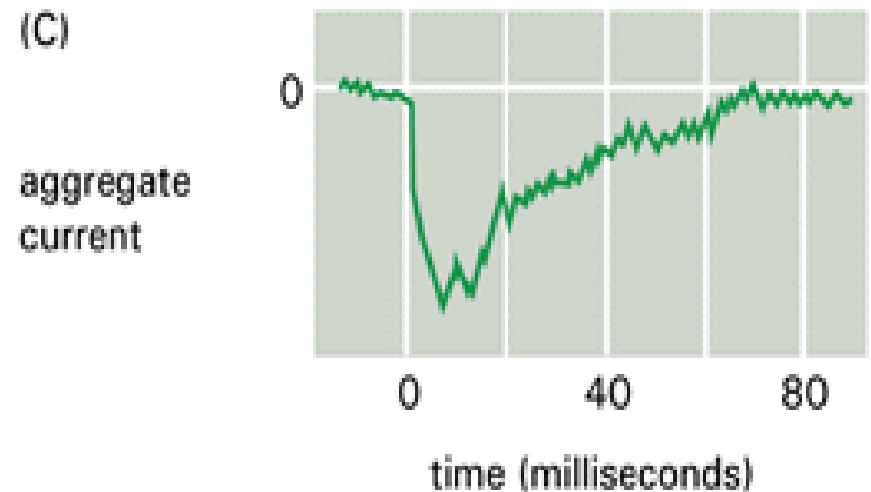
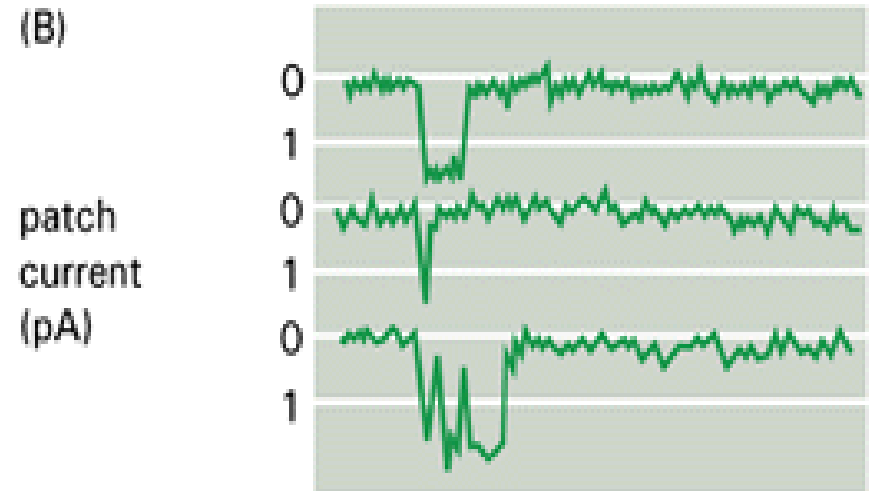
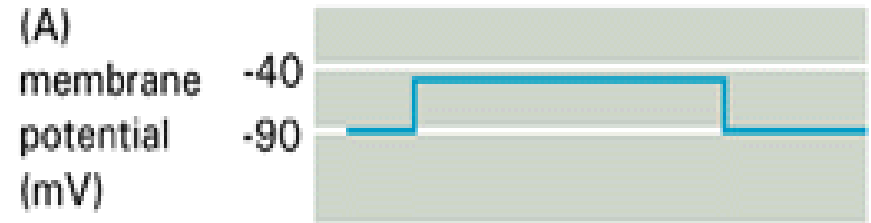
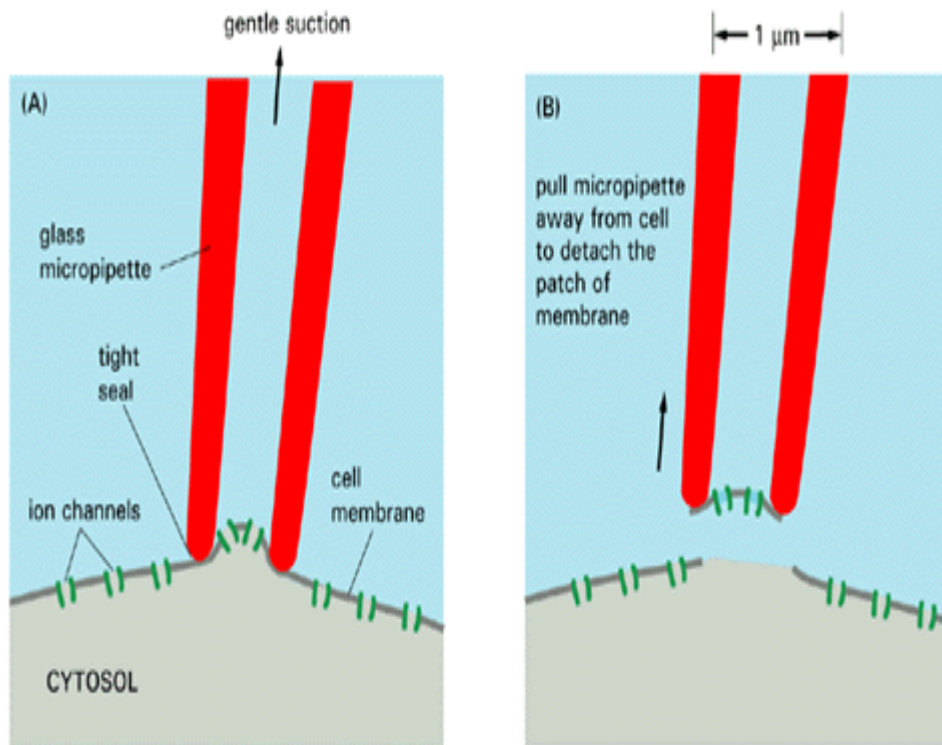


# METODA NAMETNUTE VOLTAŽE (*engl. PATCH CLAMP*)

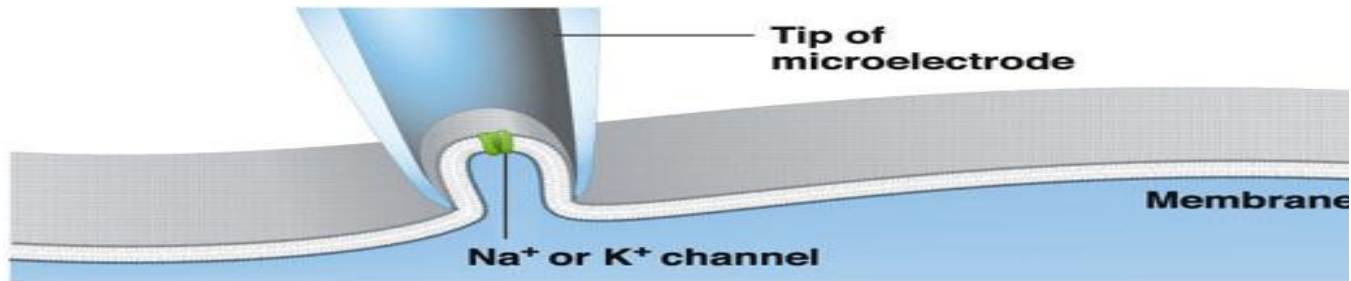
Nobelova nagrada 1991 (Nehr i Sakmann)



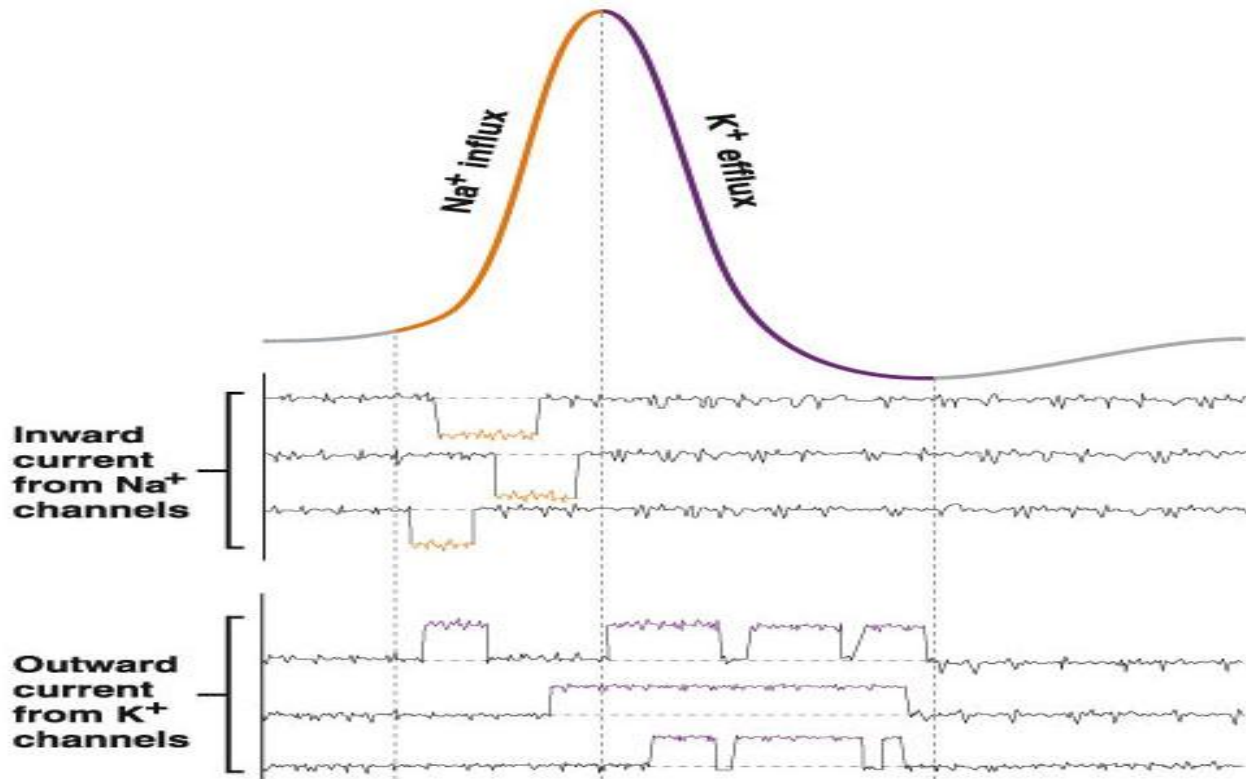
# METODA NAMETNUTE VOLTAŽE NA DELIČ MEMBRANE



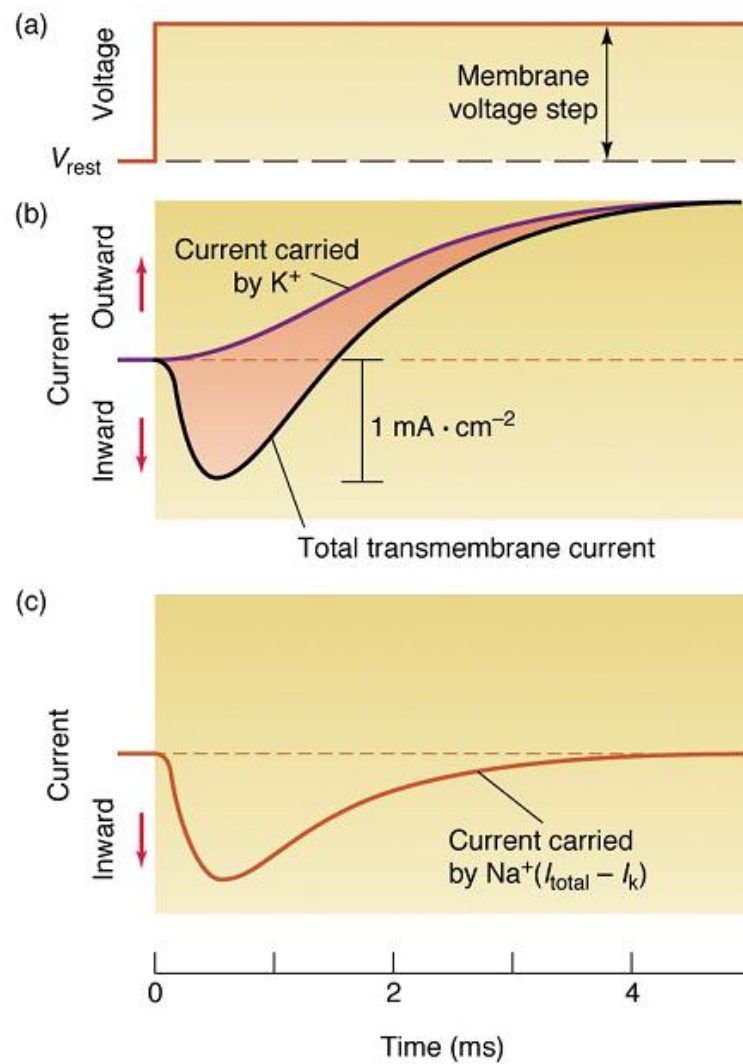
**Patch clamping isolates ion channels.**



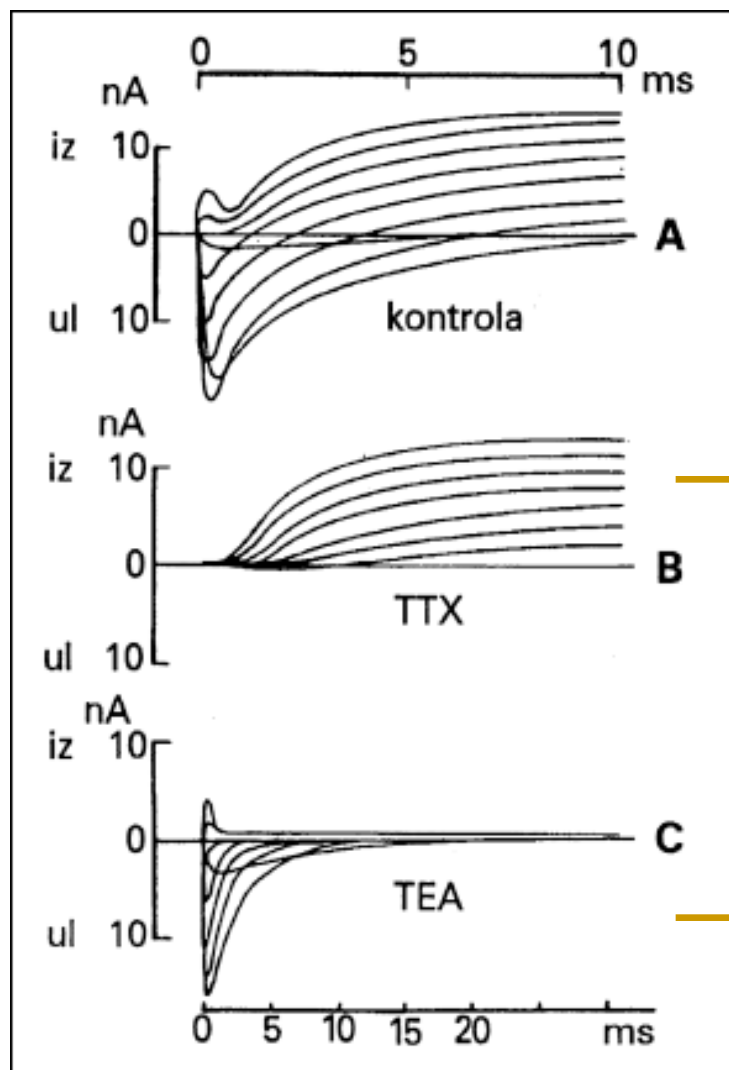
**The current of isolated channels can be measured.**



# Jonske struje kao rezultat nametnute voltaže







Razdvajanje jonskih kanala za  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  pomoću farmakoloških supstanci tetrodotoksina (TTX) i tetraetil amonijuma (TEA) koji se dodaju u ekstracelularni medijum.

Registruje se samo izlazna struja posle dodavanja TTX (blokira  $\text{Na}^+$  struju)

Registruje se samo ulazna struja posle dodavanja TEA (blokira  $\text{K}^+$  struju)

---

## **The Schwann Cell and Action Potential**

[http://www.youtube.com/watch?v=DJe3\\_3XsBOg](http://www.youtube.com/watch?v=DJe3_3XsBOg)

## **Action Potential**

<http://sumanasinc.com/webcontent/animations/content/actionpotential.html>

---