

2. 1. Biologia moleculară a excitabilității celulare

Excitabilitatea este capacitatea (condiția) unui sistem viu de a capta semnale sau mesaje, ca formă de actualizare a informației, necesare organizării lui întru existență (Zăgrean L. 2002). Din această tentativă de definiție reiese că excitabilitatea este o condiție *sine qua non* a existenței oricărui sistem viu, de la cel unicelular până la cel mai complex sistem pluricelular. Dealtfel, capacitatea de a capta și prelucra sau decodifica semnalul purtător de informație și de a răspunde printr-o reacție biologică corespunzătoare, se manifestă de la cele mai simple forme de organizare a materiei vii și se continuă, trecând prin structuri din ce în ce mai specializate, până la capacitatea de a controla și modela reacția de răspuns în raport cu parametrii determinanți și proiectați în viitor, deci cu finalitate programată (fig.2.1).

Relația indestructibilă dintre excitabilitate și existența sistemului viu este susținută de suportul comun al excitabilității, indiferent de complexitatea sistemului biologic.

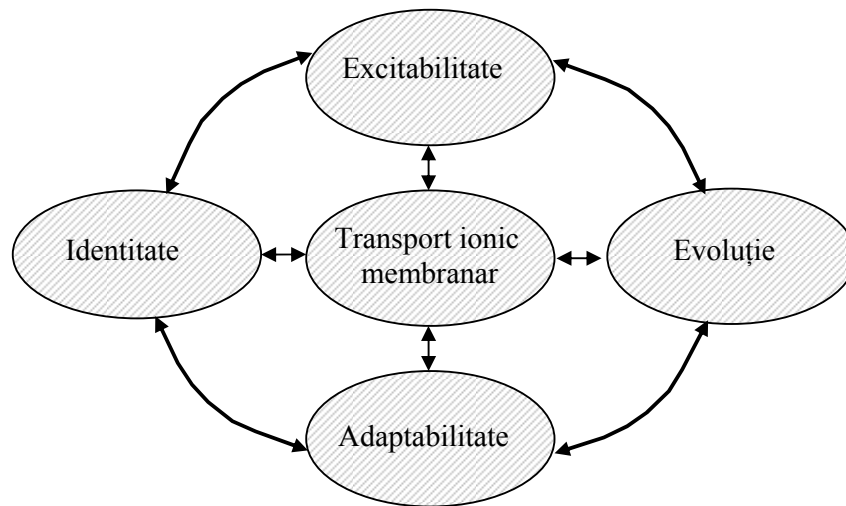


Fig. 2. 1. Interrelațiile dintre transportul ionic membranar și principalele dimensiuni ale existenței sistemelor biologice.

Acest suport este reprezentat, în general, de dinamica repartiției ionilor la nivelul membranelor celulare. La rîdul ei, dinamica repartiției ionilor rezultă din interacțiunea legilor termodinamicii, masei, și câmpului electromagnetic cu *sistemul de transport ionic membranar (STIM)* Fig.2.9.

În ciuda caracterului relativ restrictiv atât al legilor fizice, cât și al funcției STIM, repartiția ionilor de o parte și de alta a membranei celulare - interfața funcțională dintre semnal și celula excitabilă - reprezintă un sistem departe de echilibru. Ca urmare, excitabilitatea, la nivel celular, și, mai ales, la nivel de sistem megacelular, cum este creierul uman, reprezintă o dimensiune a cărei limite, sunt dificil de cuantificat. Cu toate acestea, cuantificarea limitelor/parametrilor excitabilității sistemului nervos și muscular este o necesitate fundamentală atât din perspectivă clinică cât și a cunoașterii celui mai complex sistem de prelucrare și, posibil, de generare a informației.

Răspunsul oricărei structuri vii la acțiunea unuia semnal este rezultatul interacțiunii specifice dintre *semnal*, ca suport al informației și o structură capabilă să decodifice și să-i preia mesajul informațional. Ca urmare a interacțiunii, semnalul devine *stimul* iar structura ce preia informația se definește ca *receptor*, stabilindu-se, astfel, relația de condiționare reciprocă funcțională între cele două sisteme.

Deoarece este dificil de a stabili de la ce nivel de organizare a materiei aceste tipuri de interacțiuni pot fi cuantificate printr-un răspuns reproductibil, obiectivul acestui capitol este prezentarea mecanismelor moleculare ce stau la baza excitabilității celulelor nervoase și musculare, precum și extrapolarea lor, prin cuantificare/standardizare, în vederea utilizării parametrilor rezultați în scop diagnostic și/sau terapeutic. Prezentarea mecanismelor și parametrilor excitabilității va fi în raport cu relația funcțională ce se stabilește între elementele implicate în definirea excitabilității (fig. 2.2).

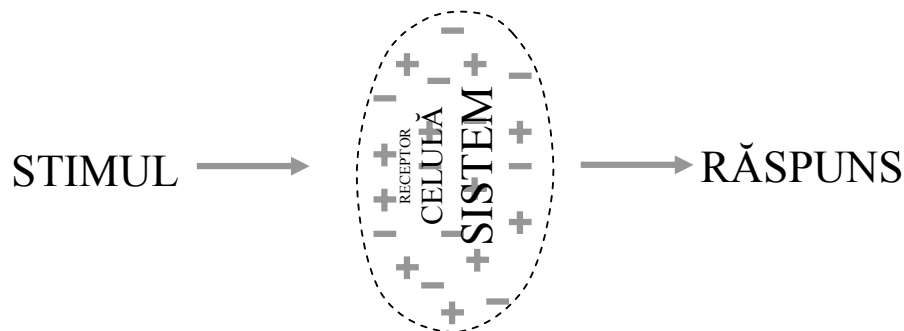


Fig. 2.2. Interrelația dintre elementele ce definesc excitabilitatea

Principiul fundamental al răspunsului unei celule la acțiunea stimulului constă în modificarea rapidă a echilibrului dinamic inițial al repartiției ionilor de o parte și de alta a membranei celulare. Modificarea repartiției ionice, realizată prin intermediul STIM, este însoțită de o modificare bruscă a potențialului electric membranar, modificare ce constituie formarea *potentialului de acțiune*.

Integrarea funcțională a ecuației stimul-răspuns din perspectiva temporală este de multe ori la fel de importantă ca și excitabilitatea însăși. În acest sens transportul ionic transmembranar, corespunzător tuturor proceselor implicate în excitarea sau activarea unei celule, se realizează prin mecanism *pasiv*, fără a necesita reacții chimice producătoare de energie necesară deplasării unui număr de ioni echivalent cu o variație de potențial membranar de cca 500 V. În realitate, transportul ionic răspunzător de excitarea celulară necesită un consum mare de energie, dar această energie se obține prin transformarea energiei potențiale acumulate în gradientul electrochimic transmembranar ionic în energie cinetică. Energia potențială a gradientului electrochimic ionic se obține din procesele metabolice celulare și se acumulează prin transportul ionic *activ*, contra gradientului de concentrație, în special a Na^+ din compartimentul intracelular în cel extracelular, și a K^+ în sens opus. Astfel, pentru transportul ionic activ se consumă, în timpul repausului, cca. 50% din energia produsă de celula nervoasă. În acest fel „se câștigă timp”, în obținerea răspunsului, cu alte cuvinte, transportul ionic corespunzător excitării celulare se realizează mult mai rapid în condițiile eliberării energiei potențiale a gradientului electrochimic.

Primul element al ecuației stimul – răspuns din fig. 2.2 este *stimulul*. Natura stimulilor ce acționează în, și asupra organismului este foarte variată. Ținând seama de natura stimulului și de principiu că excitarea / activarea unei celule respectă principiul cauză-efect, în sensul că orice răspuns, implicit, potențialul de acțiune, este efectul unei cauze (stimul), se pot descrie trei mecanisme de excitare/activare a celulelor:

1. Excitarea de către un *stimul fizic* (electromagnetic-luminos, acustic, termic, modificarea bruscă a dimensiunilor unei celule) a receptorului specific sau excitarea artificială a celulei nervoase de un stimul electric sau magnetic;

2. Excitarea de către un *stimul chimic* din mediul extern a receptorului specific (gust, olfactiv), sau excitarea de către neuromediator a unei celule nervoase;
3. Excitarea prin mecanisme celulare intrinseci – *autoexcitare*. Acest mecanism de excitare asigură desfășurarea unor funcții vitale (respirația, activitatea cardiacă ș.a) iar, în ultimul timp, sunt tot mai multe argumente care susțin implicarea lui în activitatea corticală.

Toate aceste mecanisme de excitare au un factor comun- *potențialul de acțiune* în diferite ipostaze care, fiind, relativ, ușor cuantificabil/măsurabil, reprezintă, în general, principalul „obiect de lucru” pentru *neuroelectrofiziologia clinică*. Astfel, tehnicile neuroelectrofiziologice fie, utilizează un curent electric standardizat, în raport cu obiectivul urmărit, ca stimul pentru a măsura, apoi răspunsul electric al celulei/celulelor, din perspectiva mai multor parametri (de timp, amplitudine), fie, urmăresc generarea naturală și conducerea potențialelor în sistemul nervos, sau, în fine, răspunsul efector (contractia musculară). Principiul și metodologia principalelor tehnici de investigare medicală vor fi prezentate în capitolele acestei cărți.

Pentru o bună utilizare a tehnicilor neuroelectrofiziologice și o interpretare cât mai justă a rezultatelor obținute vor fi prezentate, în continuare, mecanismele interacțiunii dintre stimul și celulă a cărei consecință este generarea potențialului de acțiune. Capacitatea celulei de a răspunde la un stimul specific depinde de polaritatea membranelor din momentul acțiunii. Pentru o bună înțelegere a fenomenului de polaritate membranară sunt necesare câteva precizări.

Termenul de polaritate electrică membranară nu se referă la o diferență de repartiție a numărului total de anioni sau cationi între compartimentul extra- și intracelular, deoarece numărul total al sarcinilor anionice este considerat egal cu cel al sarcinilor cationice, atât în fiecare din cele două sectoare, intra- și extracelular, cât și între ele (fig. 2.3).

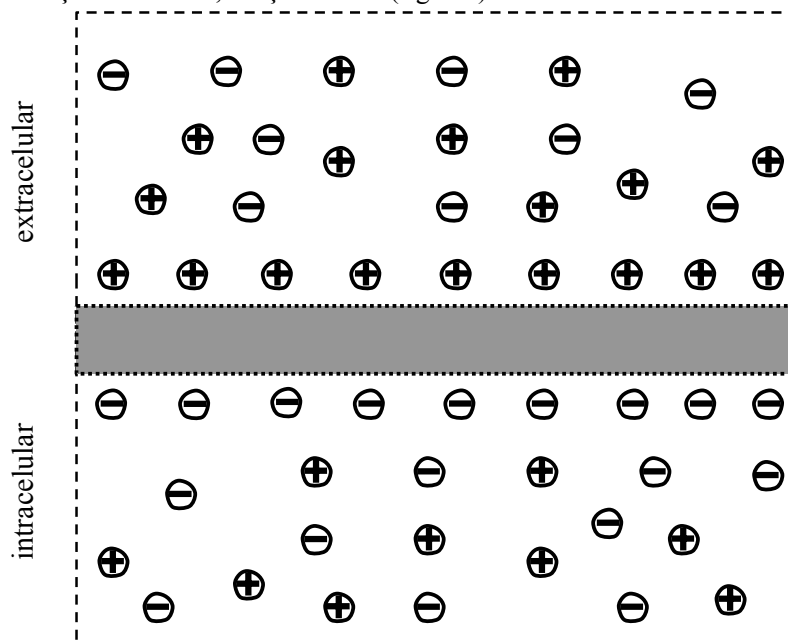


Fig. 2.3. Repartiția ionilor în sectorul intra- și extracelular. Numărul sarcinilor cationice și anionice este egal pentru fiecare compartiment și între cele două compartimente. În apropierea feței extracelulare sunt dispuși cationii iar a celei intracelulare, anionii,

Polaritatea electrică de repaus a membranei rezultă, pe de o parte, din repartiția mai bogată a sarcinilor pozitive în apropiere feței externe și a celor negative în apropiere feței citoplasmice, iar,

pe de altă parte, din repartiția inegală, de o parte și de alta a membranei celulare, a fiecăruia dintre principalii ioni implicați în polaritatea membranei celulare (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^-)

Disponerea preponderentă a cationilor și anionilor pe cele două fețe ale membranei celulare reprezintă doar o fracțiune mică din cantitatea acestora și se datorează prezenței în concentrație mai mare a unor molecule încărcate negativ (aminoacizi, proteine) în sectorul intracelular, molecule ce nu pot difuza prin membrana celulară.

Repartiția inegală a principalelor tipuri de ioni de o parte și de alta a membranei celulare -polaritatea membranelor- reprezintă condiția principală a excitabilității celulare și este rezultatul activității componentelor STIM: canale, pompe și transportori.

2.1.1. Sistemul de transport ionic membranar (STIM).

STIM este constituit din structuri proteice transmembranare a căror funcție principală este transportul ionilor prin membranare celulare(Fig.2.9). Această funcție a STIM completează funcția membranei celulare de a asigura identitatea celulară din punct de vedere a compoziției chimice citoplasmatică în raport cu mediul extracelular și , în același timp de a permite schimbul informațional cu mediul extracelular. Urmare funcției de transport a STIM se îndeplinesc atât condiția de menținere a identității celulare - nici o specie ionică nu se află în aceeași concentrație, de o parte și alta a membranei celulare - cât și cea de schimb informațional, via excitabilitate, transport ionic transmembranar controlat. Moleculele proteice ce constituie STIM reprezintă o proporție importantă din totalitatea proteinelor membranare, controlul sintezei lor necesitând până la 20 % din genele unei celule, deși majoritatea acestor proteine au o lungă existență filogenetică. Un exemplu în acest sens, *calmodulina*, o proteină reglatoare a transportului celular de Ca^{++} , se pare a fi apărut odată cu celulele eucariote, păstrându-se în regnul vegetal și animal. STIM

Diversificarea și creșterea numărului de structuri cu funcție de transport ionic constituie aspectul cel mai important al specializării celulelor nervoase și musculare ca celule excitabile. Mai mult, pentru asigurarea parametrilor funcționali ai excitabilității neuronale, celulele gliale intervin printr-un STIM mai puțin complex, comparativ cu cel neuronal, în menținerea compoziției electrolitice a lichidului interstițial în limite care să favorizeze transportul ionic în neuronii învecinați.

În raport cu mecanismul de transport ionic structurile proteice ce constituie STIM sunt denumite *canale, pompe și transportori*.

2.1.1.1. Canalele ionice

Din punct de vedere chimic, canalele ionice sunt formate din glicoproteine cu masă moleculară cuprinsă între 25 și 250 kDa. Acestea sunt organizate în două sau mai multe subunități identice sau diferite ce delimitează un canal central al cărui lungime este egală cu grosimea membranei celulare (Fig. 2. 7 , 2.8).

Deși au fost intuite din punct de vedere al funcției lor, încă de la sfârșitul sec XIX, studiul lor a început odată cu dezvoltarea tehnicii de patch-clamp de către Erwin Neher și Bert Sakmann din anul 1976. Tehnica de patch-clamp constă în fixarea, prin suucțiune, pe vârful unei micropipete din sticlă, cu diametrul de 1μ , a unei suprafețe corespunzătoare din membrana unei celule. Prin înregistrarea curenților de membrană cu ajutorul unui microelectrod plasat în interiorul pipetei, se poate selecta o zonă din membrană conținând un singur canal ionic(Fig.2.4).

În ultimul deceniu, abordarea din perspectiva genetică a cercetării canalelor ionice a deschis un nou domeniu al patologiei – *canalopatii*. Patologia legată de alterarea funcțiilor celulelor nervoase și musculare ca urmare a alterării controlului genetic al sintezei proteinelor din structura STIM este

deosebit de complexă și are un impact deosebit ținând seama de implicarea transportului ionic în desfășurarea diverselor funcții ale sistemului nervos și muscular. Pentru o clasificare a canalopatiilor neurologice vezi Graves D.T.2005, iar pentru implicarea canalelor ionice în diferite forme ale sindromului de epilepsie idiopatică vezi Mulley C.J. 2003.

Numărul tipurilor de canale ionice cunoscute până în prezent este peste 100, dar ținând seama de faptul că prima descriere a structurii secundare a unei proteine ce formează un canal a fost realizată relativ recent, (Huang, 1982), este de așteptat o creștere semnificativă a acestei valori.

Mecanismul de funcționare al acestui sistem de transport reprezintă unul din criteriile de clasificare a canalelor ionice și va fi prezentat pentru fiecare din tipurile mai bine cunoscute, dar prezentarea câtorva principii generale de funcționare, este utilă în vederea formării unei imagini de ansamblu asupra transportului ionic prin canalele membranare.

În celula nervoasă și musculară canalele ionice permit un flux de cca. 100 000 000 ioni, calculat pentru fiecare secundă de excitație/canal. Această deplasare rapidă a ionilor este *pasivă* numai aparent pentru că, în realitate, ea este determinată de o forță ce rezultă din gradientul electrochimic, pentru care s-a consumat energie în timpul cât celula era în stare de repaus.

Dacă analizăm și mai atent acest proces constatăm că la menținerea concentrației ionice a lichidului interstițial dintr-o anumită zonă participă toate celulele din zona respectivă iar probabilitatea ca toate aceste celule să fie excitate simultan este foarte mică. Ca urmare, deși fiecare excitație celulară necesită un influx mare de ioni de sodiu și este condiționată de un eflux de K^+ , iar capacitatea de transport a pompelor $Na^+ - K^+$, deci de restabilire a concentrațiilor, raportată la unitatea de timp este de aproximativ 1000 de ori mai redusă decât cea a canalelor ionice, este puțin probabil ca prin excitația repetată, fiziologică, a unei celule să se producă o scădere a concentrației extracelulare a Na^+ sau o scădere a concentrației intracelulare a K^+ , până la limita perturbării excitabilității.

Un alt principiu de funcționare a canalelor ionice este capacitatea lor de a selecta, într-un grad mai mare sau mai redus transportul ionic. Majoritatea canalelor permit trecerea unui singur element ionic, dar există și canale ionice permeabile pentru mai multe tipuri de ioni.

Primul sau cel mai general grad de selecție este cel în raport de tipul de sarcină, pozitivă sau negativă. Astfel există canale selective cationice, permissive pentru ionii din lichidul extracelular: Na^+ , Ca^{2+} și Mg^{2+} , dar cu o distribuție și funcție mai puțin cunoscută. Toate canalele anionice sunt permeabile la Cl^- .

Dacă mecanismul de selecție a cationilor și anionilor este relativ simplu fiind dependent de sarcina electrică a aminoacizilor din structura canalelor, mecanismul selectării unui singur tip de ion din categoria cationilor, este mai puțin cunoscut. Unul din criteriile implicate în procesul de selectare ionică este diametrul canalului și al ionului. Referitor la acest criteriu sunt necesare câteva precizări. În primul rând, diametrul ionilor aflați în lichidele organismului este mai mare decât cel al atomului fizic deoarece moleculele de apă sunt atrase electrostatic de către cationi, prin intermediul atomului de oxigen, și de către anioni prin intermediul hidrogenului, formând un strat mai gros de molecule de apă,

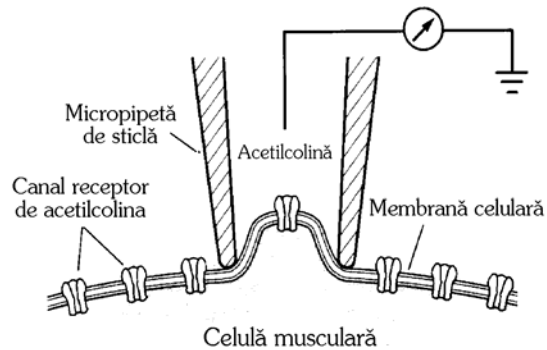


Fig. 2.4 Fixarea micropipetei pe membrana celulară cu izolarea unui canal ionic controlat de acetilcolină, pentru înregistrarea curenților prin metoda patch – clamp. (Modificat după Kandel.E. 2000)

pentru ionii cu diametrul mai mic. Astfel diametrul ionilor de sodiu poate deveni mai mare decât cel al ionilor de potasiu. În al doilea rând, conform rezultatelor cercetărilor realizate de către George Eisenman și Bertil Hille, canalele ionice prezintă o zonă mai îngustă ce acționează ca un filtru de selectare a ionilor.

Procesul de selectare la acest nivel nu se face numai în funcție de diametrul inițial al ionilor hidratați deoarece aceștia pierd o parte din moleculele de apă datorită unor interacțiuni chimice ce se realizează între ei și aminoacizii din peretele canalului.

Pierderea moleculelor de apă este proporțională cu interacțiunea electrostatică dintre ioni și aminoacizii din structura canalului. Dacă această forță electrostatică este mai mică decât cea dintre ioni și moleculele de apă aceștia nu vor putea străbate filtrul iar, dacă este mai mare, legătura chimică formată va avea o durată mai mică de 1μs. După acest “timp de recunoaștere” ionul este eliberat, putând astfel, să-și recapeteze moleculele de apă.

În general, sensul de deplasare a ionilor este unic, în acest caz, canalele comportându-se ca un rezistor în care fluxul de curent (ioni) variază liniar cu gradientul electrochimic. Există un număr mai mic de tipuri de canale prin care fluxul nu variază liniar cu forța gradientului electrochimic, comportându-se ca un rectificator sau redresor. Aceste canale intervin în restabilirea potențialului de membrană.

Dacă deplasarea ionilor prin canalele membranare este, în primul rând, asigurată de către forța generată de gradientul electrochimic, deschiderea și închiderea canalelor este un proces complex controlat de mai mulți factori.

Trecerea dintr-o stare în alta a canalelor se realizează prin modificări conformaționale ale proteinelor ce le compun, induse de factorul de control al deschiderii sau închiderii canalului respectiv.

Studii genice și electrofiziologice au stabilit că, în ciuda diversității mari a tipurilor de canale, se cunosc doar trei familii principale de gene ce controlează sinteza proteinelor din structura lor, și, mai mult toate canalele aparținând unei familii genice au același mecanism funcțional de control.

Una dintre aceste familii este răspunzătoare de formarea canalelor ionice controlate de valoarea potențialului electric al membranei neuronale. Acest tip de canale denumite canale controlate de voltaj sau canale voltaj-dependente include pe cele selective pentru Ca^{2+} , Na^+ , și K^+ .

Canalele ionice controlate de către transmițători sunt codificate de o altă familie de gene și cuprind canalele ce prezintă receptori pentru acetilcolină(Ach), acid γ -aminobutiric (GABA), glicină etc.

A treia familie de gene controlează sinteza proteinelor ce formează canalele ionice din structura sinapselor electrice.

În general, după modul lor de funcționare canalele sunt de două categorii principale:

- canale fără poartă (nongated ion channels) care sunt deschise permanent, deci permit transportul ionic în funcție doar de gradientul electrochimic;
- canale cu poartă (gated ion channels) a căror deschidere și închidere este controlată prin mai multe mecanisme.

Canalele ionice fără poartă

Cunoscute și sub numele de canale de scurgere (din engl. *leakage channels*), permit deplasarea pasivă a ionilor de K^+ , Na^+ , Cl^- și Ca^{2+} în timpul cât membrana plasmatică prezintă potențial de repaus. Identitatea canalelor de acest tip nu este pe deplin elucidată dar permeabilitatea lor este mult mai mică în comparație cu a celor controlate de voltaj sau de neurotransmițător. Dealtfel, între transportul ionic prin aceste canale și cel realizat prin intermediul pompelor există o interdependență al cărui rezultat este stabilirea unei stări de echilibru între cele două sisteme de transport.

Canalele fără poartă pentru sodiu permit influxul pasiv al acestui cation în timpul repausului fiind în echilibru cu efluxul lui realizat de către pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$.

O importanță deosebită au canalele fără poartă, în special, cele de Na^+ pentru celulele nervoase ce prezintă capacitatea de a genera spontan, potențiale de acțiune,

Canalele fără poartă pentru clor au o repartiție celulară asemănătoare celor pentru Na^+ , dar rata lor de transport este, probabil, mult mai mică datorită concentrației mari a anionilor intracelulari.

Din cele prezentate, rezultă că transportul ionic prin aceste canale ionice se realizează conform gradientului electrochimic dar fără a se ajunge niciodată la egalizarea concentrațiilor dintre cele două sectoare separate de membrana celulară. Explicația constă în faptul că deși canalele fără poartă nu prezintă un sistem propriu de control, fluxul ionic prin intermediul lor este modulată, pe de o parte, de capacitatea mai mică de transport față de canalele controlate iar, pe de altă parte, concentrația intracelulară mare a anionilor organici fixează electrostatic K^+ . În acest fel, în ciuda gradientului de concentrație și a unui număr mare de canale fără poartă, efluxul de K^+ , semnificativ din punct de vedere cantitativ, nu poate avea loc decât în urma unui influx corespunzător de sarcini pozitive. Această condiție se realizează în timpul depolarizării, când, pentru majoritatea celulelor influxul de sarcini pozitive este produs de Na^+ . Dar în aceste condiții efluxul de K^+ va avea loc prin canalele controlate, a căror rată de transport este mult mai mare decât a celor fără poartă.

O altă funcție importantă a canalelor de acest tip, dar, în general, mai puțin prezentată, este menținerea homeostaziei presiunii osmotice și, implicit, a volumului și formei celulare. Această funcție este îndeplinită prin faptul că pe lângă permeabilitatea față de ioni, canalele permit difuzia moleculelor de apă.

Canale ionice cu poartă

Dacă potențialul de repaus este echilibrul dintre transportul prin intermediul canalelor fără poartă și a pompelor ionice, potențialul de acțiune este rezultatul transportului ionic controlat prin intermediul canalelor cu poartă.

După mecanismul de control al transportului ionic canalele cu poartă pot fi:

1. canale voltaj-dependente - controlate de potențialul electric de membrană;
2. canale controlate de liganți;
3. canale controlate de stimuli mecanici;
4. canale controlate de concentrația altui ion decât al celui care este transportat.

În general, un canal este controlat de un singur factor dar există canale prin care transportul este dependent de doi factori dintre care unul este principal; ex. canalele de K^+ dependente de concentrația Ca^{2+} și de potențialul de membrană.

Dintre cele patru tipuri prezentate canalele voltaj dependente și canalele mediate de transmițători sunt cele mai răspândite și studiate. Între aceste două tipuri de canale există o relație de interdependență funcțională, ordinea intrării în activitate fiind diferită în funcție de segmentul celular; în segmentul presinaptic activarea canalelor voltaj – dependente determină eliberarea sinaptică a neurotransmițătorului care ajuns la segmentul postsinaptic induce prin intermediul canalelor controlate chimic, modificări ale potențialului de membrană care vor activa canalele voltaj-dependente care, la rândul lor, vor produce fie un potențial postsinaptic excitator (PPSE) fie un potențial postsinaptic inhibitor (PPSI).

1. Canalele voltaj – dependente sunt canalele ionice a căror poartă este controlată de valoarea potențialului de membrană și reprezintă cel mai important tip de canale implicat în generarea și transmiterea potențialului de acțiune. Canalele din această categorie se deschid

atunci când potențialul de membrană atinge valoarea proprie fiecărui tip de canal. După o perioadă scurtă de timp, specifică fiecărui tip de canal, în care rămâne deschis permițând deplasarea ionilor, conform gradientului de concentrație, canalul se închide. În această categorie sunt descrise canale pentru Na^+ , K^+ , Ca^{2+} și Cl^- .

Canalele de sodiu controlate de voltaj sunt formate dintr-un lanț polipeptidic conținând cca. 2000 de aminoacizi, organizat în 4 domenii identice, care, la rândul lor conțin, fiecare, 6 segmente transmembranare. Această structură reprezintă subunitatea α și este comună tuturor tipurilor de canale de sodiu voltaj-dependente. Unul dintre segmente, din fiecare unitate, conține un număr mare de resturi de aminoacizi de arginină și lizină – cei mai electropozitivi aminoacizi – și îndeplinește funcția de *senzor* de voltaj.

Pe lângă subunitatea α canalele de sodiu voltaj-dependente mai conțin încă una sau două subunități β , în funcție de specie și țesut, anexate la subunitatea α . Aceste subunități controlează stabilitatea și sensibilitatea subunității α (C.Hammond. 2001).

Variația potențialului de membrană induce modificări de conformație spațială a proteinelor din senzor și poartă determinând deschiderea sau activarea a canalului.(Fig. 2.5).

Cercetarea mecanismului deschiderii și închiderii canalelor voltaj dependente începută cu o jumătate de secol în urmă de către Hodgkin și Huxley, continuă să prezinte încă necunoscute. Din cercetările, realizate de către cei doi pioneri ai neuroelectrofiziologiei, rezultă că transportul prin canalele ionice voltaj-dependente implică modificări conformaționale reversibile a proteinelor din structura lor, induse de variația potențialului de membrană. Dealtfel Hodgkin și Huxley au prevăzut sistemul de poartă ca fiind o moleculă cu sarcină electrică pozitivă (*gating charge*) care, atunci când

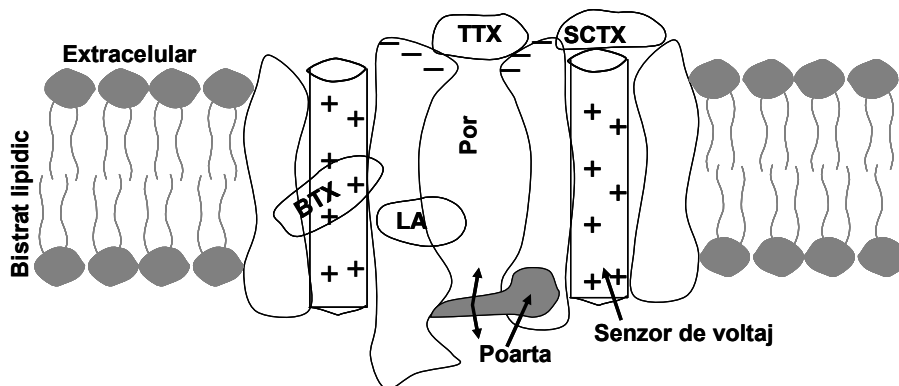


Fig. 2.5. Diagrama imaginată a unităților funcționale ale unui canal și locurile de legare propuse pentru mai multe toxine care afectează canalele de Na^+ . Receptori: TTX- tetrodotoxină și saxitonină; ScTx- toxina scorpionică și anemonică; BTX, batrachotoxina, aconitina, veratridina și grayanotoxina; LA, loc de acțiune a anestezicelor locale; sarcinile electropozitive de la capătul extracelular al porului constituie filtru de selectivitate al canalului ionic. (modificat după SIEGEL, G., J. et al.).

membrana este depolarizată s-ar putea deplasa realizând deschiderea canalului. Conform ipotezei lor, această deplasare ar trebui să fie însoțită de un curent de poartă (*gating current*). Din motive tehnice acest curent nu a putut fi măsurat decât aproape trei decenii mai târziu de către Clay Armstrong care, a sugerat un model de funcționare a canalelor voltaj-dependente conform căruia mișcarea ionilor prin canal, care este blocată în timpul potențialului de repaus, apare când membrana celulară este depolarizată până la o valoare denumită *potențial prag*.

Odată atinsă valoarea potențialului prag, poarta se deschide și influxul de sodiu continuă până când este activată *componenta de inactivare* a canalului, care va opri fluxul ionic.

Distribuția canalelor de Na^+ voltaj-dependente a fost cercetată prin marcarea unor substanțe care se leagă specific de structura proteică a canalului. Deoarece substanțele cu această proprietate, produc blocarea canalelor ionice și, implicit pierderea funcției de excitabilitate, sunt denumite neurotoxine (tetrodoxina (TTX), batrachotoxina).

Din studii electrofiziologice efectuate în paralel cu curba de legare a TTX rezultă că viteza de conducere a impulsului prin axoni crește proporțional cu densitatea canalelor; axonii nemielinizați prezintă un număr relativ mic de canale din această categorie, densitatea fiind cuprinsă, în funcție de celulă, între 35 și 500 de canale/ μm^2 . În cazul densității de 500 de canale/ μm^2 suprafața din membrana celulară ocupată de către acestea nu depășește 1/10 din suprafața totală celulară.

Variația de potențial înregistrată prin patch-clamp în timpul influxului prin canalele de Na^+ voltaj-dependente corespunde ratei de transport ionic calculată la o valoare mai mare de 10^7 ioni/sec.

Cunoașterea mecanismului de acțiune a substanțelor care interacționează cu canalele de Na^+ voltaj-dependente este necesară pentru trecerea de la aspectele teoretice la utilizarea blocanților acestor canale în scop terapeutic. Blocarea canalelor de Na^+ voltaj-dependente se poate realiza fie prin blocarea componentei de activare fie prin întârzierea sau blocarea componentei de inactivare. Tetrodoxina și Saxitoxina sunt molecule hidrosolubile și competiționează pentru același situs extracelular producând blocarea componentei de activare.

Sensibilitatea canalelor față de TTX variază în limite destul de mari; în timp ce majoritatea sunt blocate la concentrații nanomolare, canalele din miocard și din mușchiul scheletic denervat necesită concentrații de ordinul micromolar. Veninul scorpionului nord-african întârzie procesul de inactivare a canalului crescând astfel volumul și durata influxului ionic. Ca rezultat apar furnicături, senzație de arsuri dureroase, aritmii cardiace și chiar paralizii excitatorii. Batrachotoxina și unele substanțe neurotoxice, extrase din plante, cum sunt veratridina și aconitidina, fiind liposolubile se leagă de un situs intramembranar al structurii proteice ce constituie canalul. Efectul acestei categorii de neurotoxice este întârzierea procesului de inactivare.

Anestezicele locale, procaina și lidocaina fac parte din grupa blocanților canalelor de Na^+ voltaj-dependente și sunt folosite în practica medicală pentru blocarea reversibilă a conducerii potențialului de acțiune în fibrele nervoase senzitive și motorii.

Canalele de Ca^{2+} voltaj-dependente au fost descrise pentru prima dată de către Fatt, P. și Ginsborg, B. L. în 1958, în fibra musculară de crab. Cercetări ulterioare, au demonstrat prezența acestor canale în toate celulele excitabile (Hagiwara, 1983). Pentru multe tipuri de celule canalele de Ca^{2+} reprezintă principala componentă a generării potențialului de acțiune, cum este în cazul fibrei musculare la organisme nevertebrate, a fibrei mușchiului neted și a majorității celulelor glandulare, la vertebrate.

De o importanță deosebită pentru reglarea contractibilității fibrei miocardice sunt canalele de Ca^{2+} de la nivelul sarcolemei și a reticulului sarcoplasmic din aceste celule.

Distribuția canalelor de Ca^{2+} voltaj-dependente la nivelul celulelor nervoase este mult mai redusă, în comparație cu canale de Na^+ ; în medie, densitatea canalelor de calciu nu depășește valoarea de $100/\mu\text{m}^2$, fiind de aproape cinci ori mai mică decât cea a canalelor de sodiu. În aceeași termeni de comparație, o deosebire și mai mare este între fluxul ionic per canal – 180000 de ioni de Ca^{2+} / sec. – deși gradientul lui de concentrație este cu trei ordine de mărime mai mare decât al sodiului. Din parametrii prezentați se poate deduce că variația curenților generați de influxul de Ca^{2+} este mai lentă decât în cazul influxului de Na^+ . Dealtfel, canalele de Ca^{2+} voltaj-dependente sunt mai puțin implicate în transmiterea axonică, la distanțe mari, a potențialului de acțiune. Funcția lor este mai importantă în

determinarea modelului de generare a potențialului de acțiune în dendrite și corpul celular, prin controlul sintezei și, mai ales, al eliberării neurotransmițătorului la nivelul segmentului presinaptic

După criteriile electrofiziologice și farmacologice canalele de Ca^{2+} voltaj-dependente sunt clasificate în două tipuri distincte (Shepherd, 1994) :

- Canalele de Ca^{2+} de tip **T** se caracterizează prin activarea lor produsă de către o depolarizare de valoare redusă (-65 mV). Activarea simultană a mai multor canale dintr-o celulă determină o variație de potențial de scurtă durată sau tranzitorie, de unde derivă și numele. Canalele din acest tip sunt mai bine reprezentate în membrana plasmatică a dendritelor și a corpului neuronal. La acest nivel, prin activarea simultană a mai multor canale determinată de prezența unui număr mare de sinapse, se generează un potențial de acțiune care este rezultatul funcției de integrare spațio-temporală îndeplinită de celula nervoasă. Funcția de integrare prin intermediul acestui tip de canale ionice este de o importanță deosebită datorită capacității acestora de a integra multitudinea de semnalele sinaptice de intensitate atât de mică încât pentru alte tipuri de canale voltaj-dependente este de valoare subliminară.

Prin aceste particularități de excitabilitate canalele de tip T determină descărcările rapide ritmice, în special, de la nivelul S.N.C. Prezența semnificativă a tipului T de canale voltaj-dependente în miocard a favorizat cercetarea lor electrofiziologică la nivelul acestor celule, datorită facilităților tehnice de laborator.

- Canale de Ca^{2+} de tip **L**, identificate în neuron de către Richard Tsien și colab. (Nowycky, 1985), se caracterizează prin faptul că activarea lor este determinată de un prag mai înalt de depolarizare (-20 mV) iar variația curentului indus de influxul de Ca^{2+} este de durată mai lungă, comparativ cu tipul T, de unde rezultă și denumirea de canale cu activitate de lungă durată (*long lasting channel*). Aceste canale determină, în special, în terminațiile dendritice, potențiale de Ca^{2+} implicate în transmiterea sinaptică.

Canalele de potasiu voltaj-dependente reprezintă, de departe, cea mai mare diversitate de canale ionice controlate de valoarea potențialului de membrană. Deși acest tip de canale nu intervine, în mod direct, pentru realizarea funcției mesagerului chimic pentru celule, participarea lui la desfășurarea activității celulei nervoase este indispensabilă. Semnificația funcțională deosebită a canalelor de potasiu rezultă din faptul că ionii de potasiu sunt responsabili de controlul celui mai important factor al excitabilității celulelor, și mai ales al celulelor nervoase – potențialul membranar de repaus. Astfel, ionii de K^{+} controlează majoritatea proceselor ionice membranare, responsabile de activitatea electrică a celulei nervoase:

- menținerea potențialului membranar de repaus;
- scăderea excitabilității celulare prin hiperpolarizarea membranei;
- controlul duratei potențialului de acțiune prin rapiditatea realizării repolarizării;
- controlul influxului de Ca^{2+} etc.

Canalele de K^{+} prezintă în structura lor una din cele patru unități ce alcătuiesc canalele de Na^{+} și Ca^{2+} (vezi fig. 2.6).

Ținând seama numai de funcțiile enumerate ale ionilor de K^{+} și de faptul că fiecare dintre ele este realizată prin intermediul unor canale ionice distincte, rezultă complexitatea acestui sistem de transport. Deoarece este dificilă realizarea unei clasificări care se respecte toate criteriile electrofiziologice și funcționale, există mai multe clasificări din care mai cunoscută este cea propusă de către Shepherd, G. M. 1994. după care canalele de K^{+} voltaj-dependente sunt împărțite în următoarele categorii:

- Canale de rectificare întârziată (*delayed rectifier*), prezente, la majoritatea celulelor excitabile, sunt activate la un interval scurt după o depolarizare puternică, iar inactivarea lor se desfășoară relativ

lent. Durata celor două procese variază de la o celulă la alta atât de semnificativ încât nu se poate exclude posibilitatea existenței mai multor tipuri structurale incluse în această categorie.

Rolul cel mai important al acestor canale este limitarea duratei desfășurării potențialelor de acțiune. Majoritatea axonilor prezintă numai acest tip de canale de K^+ voltaj-dependente, deși unele zone sunt sărace sau lipsite de aceste canale, cum este axolema nodurilor Ranvier.

- Canalele de potasiu Ca-dependente sunt activate în prezența creșterii concentrației citoplasmatică a calciului ionic. La o concentrație a Ca^{2+} normală, de repaus, canalele de K^+ rămân închise. Dacă valoarea concentrației citosolice crește la $10\mu M$, ca urmare a influxului de Ca^{2+} prin canalele voltaj-dependente, canalele de potasiu dependente de calciu, se activează funcționând asemănător celor de rectificare întârziată. Ca urmare ionii de potasiu părăsesc celula determinând o hiperpolarizare lentă. Acest balans ionic are ca rezultat păstrarea în limite normale a excitabilității celulare, opunându-se depolarizării precoce care ar urma unui influx de Ca^{2+} . Unele celule pot prezenta mai multe tipuri de canale de K^+ dependente de Ca^{2+} deosebindu-se între ele prin conductanța determinată prin tehnica de patch clamp și prin sensibilitatea față de diferite substanțe blocante.

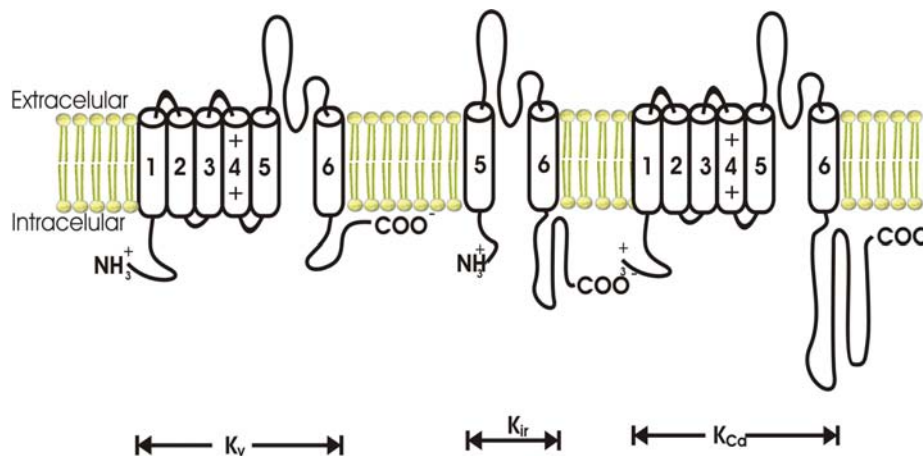


Fig. 2.6 Structura transmembranară a canalelor ionice Kv - canale de K^+ voltaj-dependente; Kir - canale de K^+ de rectificare Kca - canale de K^+ activate de Ca^{2+} .

Curentul de posthiperpolarizare, produs de activarea acestui tip de canale prin depolarizare, este lent, și crește în timpul descărcărilor repetitive de potențiale, reflectând sensibilitatea lui față de creșterea concentrației de Ca^{2+} . Funcția acestui curent este de a determina încetinirea treptată a descărcărilor de potențiale ceea ce permite neuronului să întrerupă descărcarea de impulsuri declanșate de către un stimul, pentru a putea răspunde la altul.

- Canalele de potasiu de tip M sunt activate prin depolarizare, dar spre deosebire de alte canale ionice acestea nu prezintă un mecanism propriu, specializat de inactivare. Aceste canale sunt cuplate cu receptori din membrana celulară. Dintre receptorii implicați în acest proces, un receptor colinergic, muscarinic (ce conferă denumirea “M” tipului de canale) și un receptor pentru peptidul asemănător gonadolibereinii (GnRH-like peptide), sunt mai bine cunoscuți ca modulatori ai neuronilor conținând canale de K^+ de tip M.

Un aspect funcțional interesant al acestor canale este dependența de timp. Mai mult, s-a constatat că activitatea unor canale din acest tip este stimulată de către substanțele adrenergice prin intermediul β -receptorilor și de către somatostatina, având ca mesager secund AMPc.

Deoarece aproape în fiecare an este descris câte un canal, câteva tipuri de canale permeabile pentru acest cation și a căror identitate structurală și funcțională nu este încă suficient stabilită, sunt incluse de către Steve Watson și Debbie Girdlestone în categoria "alte canale". Din această categorie fac parte canale dependente doar parțial de valoarea potențialului de membrană.

Canalele de K^+ dependente de ATP sunt controlate de raportul ATP/ADP intracelular. Unele din canalele din acest tip sunt dependente și de valoarea pH -lui extracelular. Dintre blocanții și inhibitorii canalelor din acest tip fac parte tolbutamidul, fentolamina, lidocaina, tetraetilamoniu (TEA), 4-aminopiridină (4 AP), ș.a.

Canalele de K^+ dependente de Na^+ sunt deschise când concentrația intracelulară a sodiului depășește valoarea de 20 mM. Conductanța acestor canale este mult mai mare (~ 220 pS), comparativ cu celelalte canale permeabile pentru K^+ ; 1 siemen (S) = 1/ohm. Canalele din acest tip sunt blocate de către TEA și 4 AP.

Canalele de K^+ senzitive la creșterea de volum a celulei se deschid atunci când volumul celulei crește peste valoarea normală. Activarea acestor canale este produsă, în general, când creșterea volumului celular este rezultatul unui dezechilibru osmotic între compartimentul intra- și extracelular, urmat de pătrunderea osmotică intracelulară a apei. Mecanismul de activare al acestui tip de canale poate fi interpretat ca o reflectare a relației dintre concentrația mediului în care se află celula și excitabilitatea ei. Lidocaina și qinidina sunt blocante ale canalelor de K^+ dependente volumul celular.

Canalele de clor voltaj-dependente sunt mai puțin cunoscute și, probabil, mai puțin răspândite la nivelul celulelor nervoase. Funcția lor este atestată pentru celule miocardice, fibrele musculare striate și pentru o varietate mare de celule epiteliale.

După descrierea principalelor canale ionice voltaj-dependente, se poate constata, cu ușurință, că în ciuda diversității lor mari și a variațiilor relativ restrânse a valorii potențialului de membrană, procesele de activare și inactivare a canalelor se realizează cu o mare precizie integrată la nivel celular și supracelular, dificil de imaginat, și, mai ales, de descris, în dinamica desfășurării lor.

Participarea celor două categorii principale de canale ionice - fără poartă și controlate de voltaj - la menținerea potențialului de repaus, respectiv, la generarea potențialului de acțiune necesită intervenția celei de a treia categorii de canale ionice, a căror funcție este controlată de neurotransmițător sau neuromediator în vederea transmiterii semnalului de la o celulă la alta.

Potențialul de acțiune, odată generat într-un segment al celulei nervoase, este transmis prin fibrele nervoase până la capătul lor terminal unde, în urma unor procese declanșate prin intermediul canalelor ionice voltaj-dependente, determină eliberarea transmițătorului în spațiul sau fanta sinaptică.

Transmiterea informației mediată de transmițătorul eliberat de segmentul presinaptic, la segmentul postsinaptic se realizează prin intermediul canalelor ionice care vor fi activate specific de către acesta prin cuplarea lui cu receptorii care, de cele mai multe ori, sunt incluși în structura canalelor pe care le activează.

2. Canalele ionice controlate de liganți sunt canale controlate de substanțe chimice sintetizate fie de alte celule decât cea în structura căreia se află, fie de celula din care face parte.

Canalele controlate de substanțe (liganți) provenind de la alte celule reprezintă tipul cel mai bine cunoscut definind, în general, canalele controlate, direct, de neurotransmițător și implicate în transmiterea sinaptică rapidă.

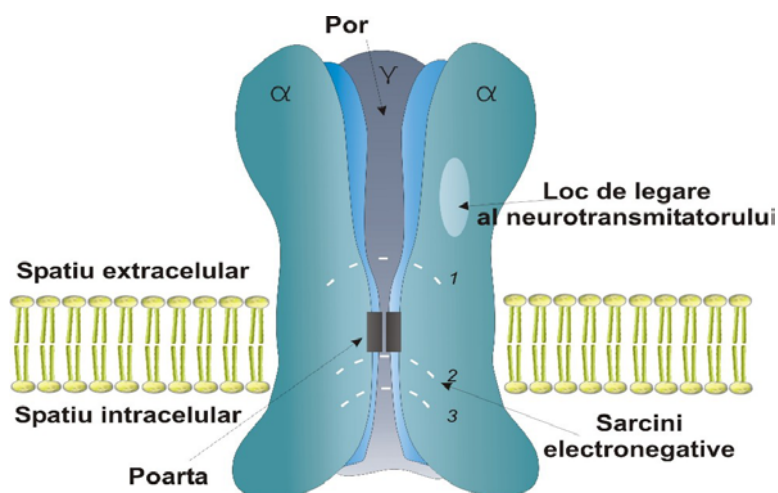


Fig. 2.7. Schema generală a receptorului - canal mediat de ACh. 1,2,3- pozițiile aminoacizilor din structura filtrului de selecție. Poarta reprezintă zona cea mai îngustă a porului. În partea extracelulară a moleculei proteice reprezentând receptorul-canal se află locul de legare a transmițătorului. (modificat după Zigmond M.I. et al. 1999).

Canalele din această categorie, localizate în segmentul postsinaptic al sinapselor cu transmitere rapidă, excitatorie sau inhibitoare, sunt adesea descriși ca *receptorii ionotropici*. Din această categorie fac parte, în general, receptorii pentru neurotransmițătorii nonpeptidergici, precum acetilcolină, glutamat, glicină, ac.γ -aminobutiric, ș.a.

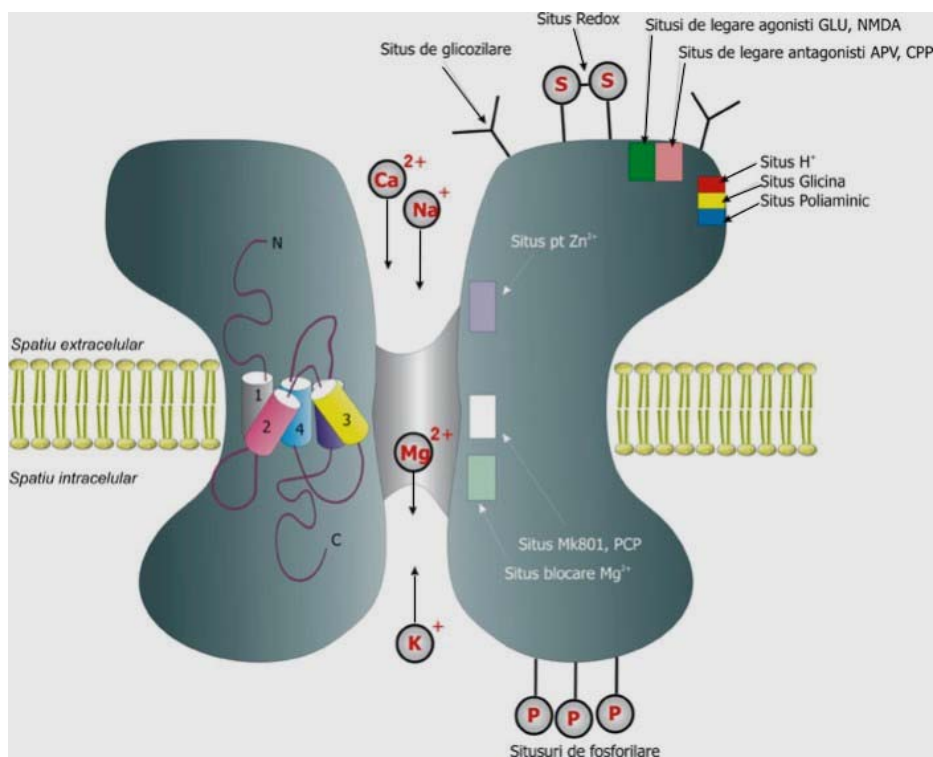


Fig. 2.8. Schema generală a canalului-receptor pentru NMDA. Sunt prezentate, aproximativ, situsurile de legare ale agonștilor și antagonștilor. NMDA - N-metil-D-aspartat; GLU- glutamat; PCP- fenciclidina; MK-801- dizocilpină, APV- D-2-amino-5-phosphonopentanoic acid, 3-(2-Carboxypiperazin-4-yl)propanephosphonic acid. (modificat după Zigmond M.I. et al., 1999).

Deoarece receptorii din această categorie sunt canale ionice ce conțin în structura lor unul sau mai multe locusuri de legare a neurotransmițătorului, în prezent este mai frecvent folosit termenul de receptor – canal.

Din varietatea mare de receptori de această categorie, mai bine cunoscut este receptorul-canal colinergic nicotinic (Fig. 2.7.). Acesta este format din cinci subunități: două α , și câte una γ , β și δ . Fiecare subunitate este compusă din patru domenii transmembranare. Unul din domeniul fiecărei unități conține aminoacizii încărcăți negativ orientați spre interiorul canalului și dispuși în trei inele în jurul canalului porului. Aceste inele constituie filtrul de selecție a cationilor.

Receptorul-canal pentru glutamat are o structură mai complexă și participă la transportul de Ca^{2+} în celula nervoasă..

Deoarece Ca^{2+} pe lângă rolurile multiple pe care le îndeplinește, poate deveni neurotoxic la concentrații intracelulare crescute, controlul acestui canal este dependent de mai multe substanțe (Fig. 2.8).

Canalele controlate de liganți sintetizați de celula din care fac parte pot fi:

- canale controlate de proteine G sau de mesageri secunzi (Ca^{2+} , IP_3 etc.), descrise și ca *receptori metabotropici*, și care participă la transmiterea sinaptică lentă sau la modularea transmiterii sinaptice;
- canale controlate de neurotransmițător dar localizate pe segmentul presinaptic, având rolul de a controla eliberarea și concentrația acestuia în spațiul sinaptic (*autoreceptori*)

De menționat că de multe ori același neurotransmițător poate acționa pe ambele tipuri de receptori determinând răspuns rapid sau mai lent.

Cuplarea neurotransmițătorului cu canalul ionic poate avea două efecte:

- a. Influxul de Na^+ în segmentul postsinaptic, urmat de depolarizare și generarea *potențialului postsinaptic excitator (PPSE)* care se va propaga în celulă.
- b. Efluxul de K^+ sau influxul de Cl^- în segmentul postsinaptic, urmat de hiperpolarizare și generarea *potențialului postsinaptic inhibitor (PPSI)* care se va inhiba celula, în sensul, de a diminua excitabilitatea celulei, făcând-o mult mai greu depolarizabilă.

Între cele două tipuri de sinapse există un echilibru ce conferă starea de funcționalitate a creierului.

3. Canalele ionice controlate de stimuli mecanici denumite *canale mecanosenzitive* au o răspândire largă în organism atât în teritoriul somatic cât și în cel vegetativ. Poarta canalelor de acest tip este ancorată prin intermediul unor proteine fibrilare de un situs de ancorare plasat la o distanță corespunzătoare dimensiunilor celulare, în membrana plasmatică a aceleiași celule sau a celulei învecinate (Fig. 2.9.). Modificarea distanței dintre poartă și situs-ul de ancorare ca urmare a modificării dimensiunilor celulei, respectiv, a distanței dintre cele două celule, determină deschiderea canalelor și un transport ionic corespunzător, care induce diferite procese în funcție de tipul de celulă.

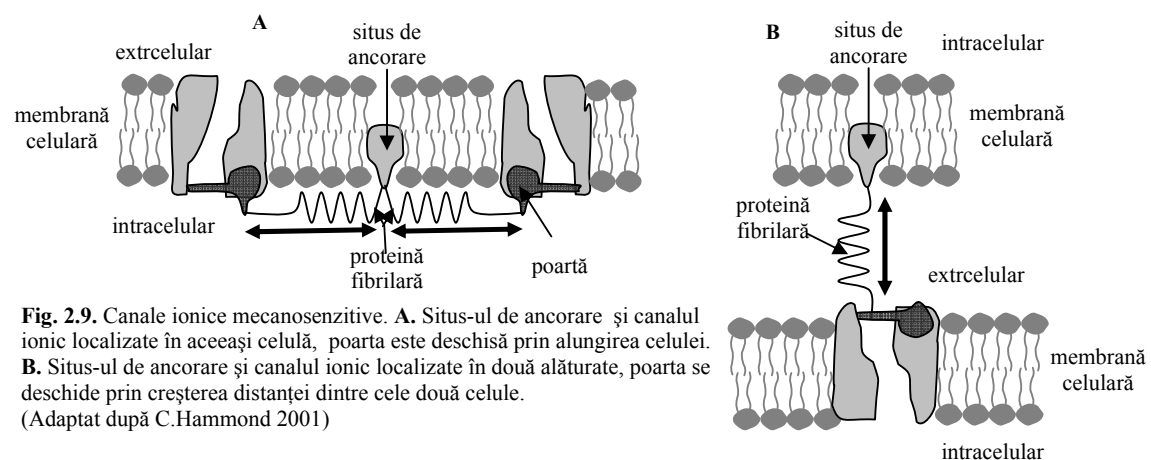


Fig. 2.9. Canale ionice mecanosenzitive. **A.** Situs-ul de ancorare și canalul ionic localizate în aceeași celulă, poarta este deschisă prin alungirea celulei. **B.** Situs-ul de ancorare și canalul ionic localizate în două alăturate, poarta se deschide prin creșterea distanței dintre cele două celule. (Adaptat după C.Hammond 2001)

Transformarea unui semnal mecanic în semnal electric definește fenomenul de *mecanotransducție* și caracterizează o varietate mare de mecanoreceptori care îndeplinesc diverse funcții în organism. În receptorii tactili, auditivi, vestibulari, proprioreceptori, receptori vegetativi ca baroreceptori și voloreceptori din aparatul cardiovascular deschiderea acestui tip de canale declanșează un potențial de receptor care este transmis la centrul reflexului corespunzător iar în celule musculare cardiace sau vasculare, influxul ionic favorizează fenomenul contractil.

4. Canalele ionice controlate de concentrația altor ioni decât a celui transportat reprezintă un tip mai restrâns de canale implicate în interrelația K^+ , Ca^{2+} , H^+ , avînd un rol, în general, de modulare și integrare a excitabilității.

Din prezentarea principalelor tipuri de canale ionice se pot desprinde câteva concluzii despre relația dintre structura și rolul lor în asigurarea funcției celulei excitabile.

Canalele fără poartă permit transportul ionic transmembranar controlat de gradientul electrochimic menținînd valoarea potențialului membranelor de repaus.

Canalele voltaj-dependente de Na^+ și K^+ asigură realizarea fazelor de depolarizare și repolarizare a potențialului de acțiune precum și deplasarea lui pe distanțe mari. Canalele de Ca^{2+} voltaj-dependente au rol, în special, în eliberarea neuromediatorului din veziculele sinaptice.

Canalele controlate de neurotransmițător sunt responsabile, în primul rînd de transmiterea semnalului de la o celulă la alta

2.1.1.2. Pompele ionice

Pompele ionice din celulele nervoase sunt considerate ca cel mai activ sistem de transport ionic deoarece activitatea lor este aproape continuă fiind puțin dependentă de starea de activitate a celulei și reprezintă cel mai mare consumator de energie rezultată din activitatea metabolică celulară. Se apreciază că peste 50% din energia consumată de celula nervoasă este folosită pentru activitatea pompelor ionice.

Din punct de vedere chimic pompele ionice sunt proteine complexe din structura membranelor celulare, incluse într-o familie de proteine denumită ATP-aze de tip P deoarece mecanismul de transport implică fosforilarea unui reziduu aspartil din structura lor.

Prin activitatea lor pompele asigură gradientul de concentrație ionică la nivelul membranei celulare, a reticulului endoplasmic și a mitocondriilor.

Din punct de vedere funcțional transportul prin intermediul pompelor ionice contracarează transportul prin toate tipurile de canale ionice.

Pentru celula nervoasă este mai importantă activitatea pompelor care asigură repartizarea inegală a Na^+ , K^+ , Ca^{2+} și Cl^- , condiție obligatorie a excitabilității.

Pompa de sodiu-potasiu Este o proteină dispusă integral în grosimea membranei, tuturor celulelor avînd ca funcție expulzarea Na^+ din celulă și introducerea K^+ . Identificată ca enzimă a cărei activitate de hidroliză a ATP era dependentă de concentrația Na^+ -și K^+ , a fost denumită, inițial, ATP-ază Na^+-K^+ dependentă.

Prin studii ulterioare, s-a dovedit că pompa Na^+-K^+ este un complex format din două subunități diferite.

Subunitatea α este o moleculă proteică politopă conținând cca 1000 de aminoacizi care formează 10 segmente transmembranare. Se poate prezenta sub forma a trei izomeri identificați în sistemul nervos. Această subunitate are activitate catalitică, prezintă pe suprafața intracelulară un situs de legare pentru Na^+ și unul pentru ATP, iar pe suprafața extracelulară un situs pentru K^+ și unul pentru ouabaină, o substanță glicozidică extrasă din semințele unor liane din pădurile ecuatoriale, cu

structură asemănătoare strofantinei și digitalicelor. Toate aceste substanțe blochează, în proporție diferită pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ și sunt utilizate în scop terapeutic.

Subunitatea β este de natură glicoproteică, are rol de reglare a activității de transport și de fixare a pompei în structura membranei celulare. Pentru această subunitate au fost identificate trei forme izomere, dintre care β_1 este mai răspândită. Izomerul β_2 este identificat în creierul embrionar ca moleculă de adeziune pe celulele gliale. Pe măsură ce creierul devine matur, izomerul β_2 este mai bine exprimat pe astrocit și mai redus în neuron.

Din cercetările mecanismului de acțiune al acestui sistem de transport ionic rezultă că:

- efluxul de Na^+ și influxul de K^+ sunt strâns dependente de hidroliza ATP;
- transportul ionic nu se poate realiza decât atunci când Na^+ și ATP se află în interiorul celulei iar K^+ în exteriorul ei;
- ouabaina este inhibitoare numai când se află în exteriorul membranei, unde se leagă competitiv cu K^+ pe același situs;
- pentru fiecare moleculă de ATP hidrolizată, trei ioni de sodiu sunt transportați în exterior și doi ioni de K^+ introduși în celulă.

Activitatea de transport a pompei poate să fie dedusă din capacitatea ei de a hidroliza aproximativ 100 de molecule de ATP pe fiecare secundă.

Între activitatea pompei și potențialul de membrană există o relație de interdependență care este, de fapt, un mecanism de reglare a fluxului ionic membranal. Prin intensificarea efluxului de Na^+ se produce hiperpolarizarea membranei, ceea ce are ca rezultat scăderea excitabilității și încetinirea disocierii sodiului din subunitatea catalitică.

Când celula este în repaus se realizează un echilibru între cantitatea de ioni care se deplasează pasiv, prin difuzie, și cantitatea de ioni transportați activ prin intermediul pompei. Această stare de echilibru (*steady state*) reprezintă un echilibru între cele două forme de transport ionic, cu păstrarea permanentă a unui gradient electrochimic care determină potențialul de membrană.

Pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ este cel mai important sistem de transport membranal al tuturor celulelor animale. Pentru o celulă nervoasă la care fiecare impuls nervos generat și transmis determină un influx pasiv de Na^+ și un eflux pasiv de K^+ , energia necesară transportului acestor ioni în sens opus gradientului electrochimic poate reprezenta până la două treimi din consumul total energetic.

Pompele de calciu. Diferența mare de concentrație intra-extracelulară precum și diversitatea de funcții a Ca^{2+} la nivel celular pretind un sistem de control foarte precis al transportului și homeostaziei acestui ion. Pompele de Ca^{2+} sunt localizate în membrana celulară și în peretele reticulului endoplasmic care reprezintă un adevărat depozit de Ca^{2+} . Prin activitatea pompelor este scăzută concentrația Ca^{2+} citosolic. Prin intermediul canalelor de Ca^{2+} , care au aceeași localizare ca și pompele, se produce creșterea concentrației lui citoplasmice.

Din cercetări recente reiese că structura și mecanismul pompei de Ca^{2+} , în special în ceea ce privește cooperarea cu molecula de ATP, sunt foarte asemănătoare cu pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$. După unii autori, asemănările sunt atât de mari încât se poate considera că cele două pompe derivă dintr-o moleculă ancestrală comună (Shepherd, 1994). Un argument în susținerea acestei idei este faptul că aceste sisteme de transport se află în membrana celulară a unor bacterii actuale.

Componenta funcțională interesantă a pompei este capătul carboxiterminal care prin interacțiunea cu segmentul ATP-azic și situsul de legare al calciului, exercită un efect inhibitor asupra activității pompei. Rezultatul acestei interacțiuni este menținerea concentrației citosolice de Ca^{2+} la o valoare necesară desfășurării proceselor celulare. Creșterea concentrației citosolice a calciului peste valoarea normală, determină intervenția unei alte molecule proteice complexe, probabil de o vârstă

comparabilă cu cea a pompei. Ca^{2+} , în exces, legându-se de calmodulină, îi blochează efectul inhibitor asupra activității pompei iar rezultatul acestei interacțiuni este creșterea activității pompei de a scoate Ca^{2+} din celulă.

Pompa de calciu din peretele reticulului endoplasmatic, mai bine studiată în celula miocardică, îndeplinește funcția de a transporta acest cation de la concentrația mică din citosol înspre concentrația mai mare din lumenul reticulului endoplasmatic.

Mecanismul de transport al acestei pompe este controlat tot de o moleculă proteică cunoscută sub numele de *fosfolamban* a cărei funcție constă în reglarea activității pompei de calciu din reticulul sarcoplasmic; când nu este fosforilat are efect inhibitor, iar în starea fosforilată, acest efect este blocat. Fosforilarea este dependentă de AMPc și de o proteinkinază activată de Ca^{2+} .

Importanța acestui sistem de reglare a concentrației citosolice de calciu reiese și din faptul că fosfolambanul este identificat în celula miocardică, fibra musculară netedă și mușchiul striat lent, lipsind din cel rapid și din celula nervoasă (Katz, 1992).

Pompa de clor. Deși concentrația și distribuția ionilor de clor și sodiu sunt apropiate, mecanismul și sistemul de transport activ transmembranar pentru Cl^- sunt mult mai puțin cunoscute. Participarea ionilor de clor la activitatea neuronală este foarte importantă mai ales la nivelul sinapselor inhibitorii din SNC. Prezența canalelor de Cl^- dintre care, probabil, majoritatea nu sunt prevăzute cu sistem propriu de control (non-gated channels), impune cel puțin următoarea întrebare: dacă concentrația extracelulară a Cl^- este de cel puțin zece ori mai mare decât concentrația intracelulară, iar majoritatea canalelor membranare pentru Cl^- nu sunt controlate nici de neurotransmițător nici de gradientul electric membranar, de ce nu se realizează influxul pasiv de Cl^- prin difuzie?

Răspunsul ar putea consta din faptul că în interiorul celulei se află numeroase săruri ale acizilor glutamic, aspartic și fosforic precum și o cantitate de proteine mult mai mare decât extracelular. Datorită valorii pH-lui intracelular toate aceste substanțe se manifestă ca purtătoare de sarcini negative. Spre deosebire de majoritatea celorlalte substanțe purtătoare de sarcini electrice, deci implicate în generarea gradientului electric transmembranar, anionii intracelulari având molecula mai mare nu pot străbate membrana plasmatică. Ca urmare, ionii de clor, deși prezintă un gradient de concentrație favorabil influxului, nu pătrund în celulă datorită excesului de sarcini negative greu mobilizabile din celulă. Dealtfel aceste sarcini negative intracelulare se opun și efluxului de K^+ , contracarând forța ce rezultă din gradientul lui de concentrație. Aceste două aspecte determinate de mobilitatea mult mai redusă a anionilor intracelulari prin membrana plasmatică datorită moleculei lor mai mari, pe de o parte și lipsei unui sistem de transport corespunzător, pe de altă parte, contribuie într-un mod substanțial la menținerea și dinamica potențialului electric de membrană.

În ciuda implicării Cl^- în transmiterea sinaptică GABA-ergică, până în prezent nu au fost aduse dovezi clare despre existența unei ATP-aze care să transporte activ Cl^- din celulă. Probabil cel mai important sistem de transport al Cl^- din celula nervoasă este simporterul K^+, Cl^- .

2.1.1.3. Transportori ionici

Transportorii ionici sunt molecule proteice transmembranare care leagă ionul sau alte particule dintr-o parte a membranei, le transportă prin membrană și le eliberează de partea opusă a membranei celulare (Somjen G. 2004). Acest sistem de transport este repartizat în toate celulele și îndeplinește o mare diversitate de funcții, în raport cu tipul și activitatea celulară, dobândind, astfel statutul de element celular funcțional indispensabil (Fig.2.10). Din perspectiva excitabilității celulare, sistemul de

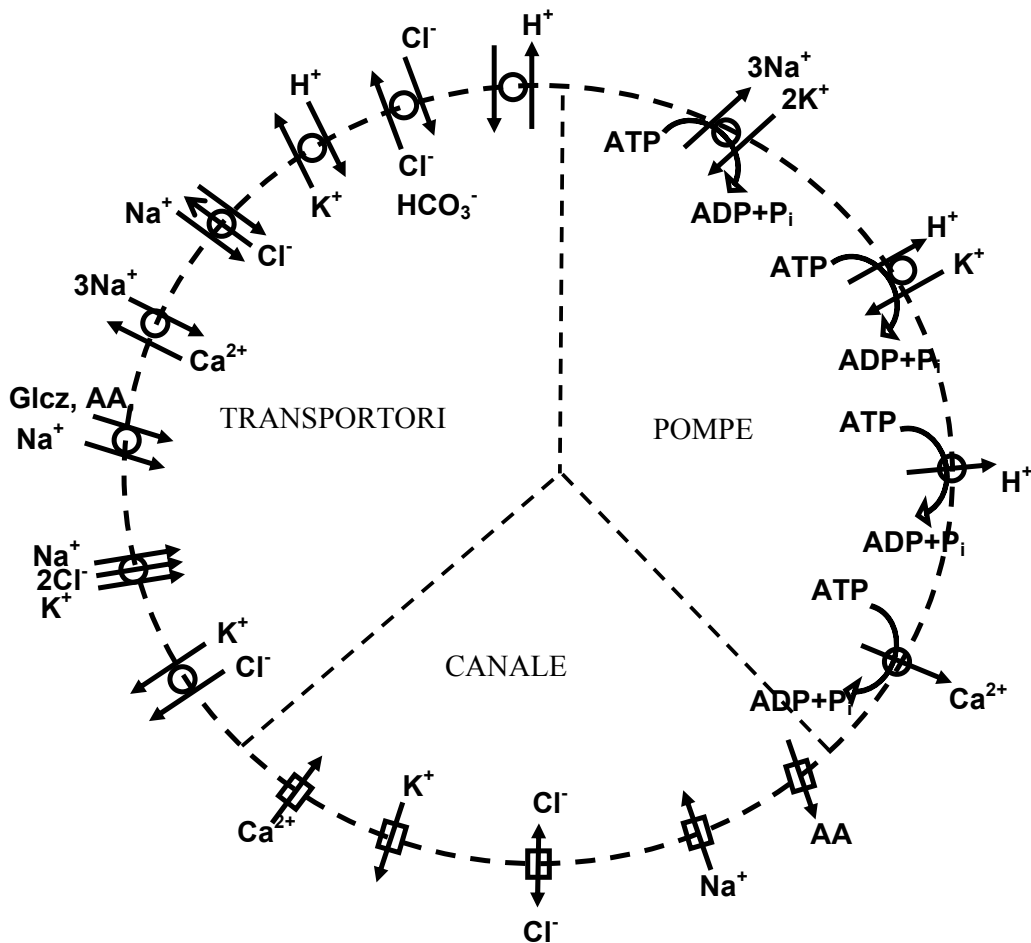


Fig. 2. 10. Componentele sistemului de transport ionic membranar.

transportori membranari poate fi prezentat ca un sistem care integrează excitabilitatea fiecărei celule în raport cu statusul metabolic propriu și al organismului. Această integrare se realizează prin funcția transportorilor membranari de conectare a transportului ionic cu metabolismul celular, echilibrul osmotic și, mai ales, cu echilibrul acido-bazic al celulei și al mediului extracelular.

Conectarea funcțională dintre STIM și principalii parametri ai homeostazei celulare se răsfrânge și asupra relației dintre aceștia și excitabilitate. Această relație se manifestă în cazul modificărilor de excitabilitate induse de perturbările metabolice și ale echilibrului acido-bazic din diverse stări patologice. La rândul ei, creșterea excitabilității peste limita normală, urmată de o activitate nervoasă și, mai ales, musculară corespunzătoare, poate determina modificări ale echilibrului acido-bazic.

La sfârșitul acestui capitol se pot desprinde câteva concluzii:

- ✓ sistemul de transport ionic membranar (STIM), în repaus, controlează distribuția ionilor de o parte și alta a membranei celulare, menținând starea departe de echilibru, iar, sub acțiunea unui stimul specific, permite apropierea de echilibru a sistemului;
- ✓ dacă în repaus, starea departe de echilibru a distribuției ionilor se menține prin consum de energie și acumularea energiei potențiale a sistemului, apropierea de echilibru se realizează printr-un flux ionic incomparabil mai mare, consumându-se doar energia potențială.

2.2. Potențiale de membrană

Potențialul de membrană, în general, definește o diferență de potențial electric între compartimentul intra- și extracelular și este rezultatul distribuției ionilor de o parte și alta a membranei celulare. Din capitolul 2.1. reiese că distribuția ionică în cele două compartimente separate de membrana celulară este controlată de STIM și integrată continuu în raport de starea de excitare și activitatea metabolică celulară. Valorile concentrațiilor principalilor ioni care contribuie la valoarea potențialului electric prezintă o variație permanentă, menținându-se într-o stare mai apropiată sau mai îndepărtată de echilibru. Din acest motiv valoarea concentrației fiecărui ion, acceptată ca bază de discuție (vezi fig 2.11.) , este o valoare medie care variază, uneori semnificativ, în funcție de specie, organism, celulă și timp.

Potențialul electric membranal corespunzător acestui echilibru, în condiții de repaus, este definit ca *potențial de repaus*. Valoarea potențialului de repaus al celulei nervoase, cuprinsă între -50 și -80mV, este determinată în cea mai mare măsură de echilibrul ionilor de potasiu.

Când valoarea potențialului de membrană devine mai puțin negativă decât potențialul de repaus, fenomenul este denumit *depolarizare* iar când devine mai negativă, *hiperpolarizare*; revenirea din ambele stări spre valoarea de repaus a potențialului definește procesul de *repolarizare* (Fig. 2.12)

Aceste procese au loc în mod continuu în celula excitabilă în diferite grade, în funcție de mai mulți factori, intra- și extracelulari și sunt însoțite de variații mici ale potențialului electric, locale sau care se deplasează pe distanțe mici, constituind *potențialul electrotonic*.

Când procesul de depolarizare atinge un prag critic al potențialului de membrană se declanșează deschiderea canalelor controlate de voltaj și, ca urmare a unui influx cationic mult amplificat față de cel din repaus, are loc o modificare, de scurtă durată a polarității membranei, ceea ce constituie suportul pentru *potențialul de acțiune*.

Din cele prezentate, mai sus, rezultă că potențialul de membrană are ca suport distribuția ionilor de o parte și de alta a membranei celulare, distribuție care, la rândul ei, este rezultatul acțiunii integrate a unei multitudini de factori aparținând fiecărei celule sau domeniului extracelular. Din acțiunea acestui concert de factori reiese dimensiunea dinamică a valorii potențialului de membrană și necesitatea descrierii diferitelor stări ale acestuia în relație cu celula sau tipul de celule deoarece, spre exemplu, o variație de potențial de 15 mV în sensul depolarizării poate sau nu să inducă o depolarizare generatoare de potențial de acțiune, în funcție de valoarea potențialului de repaus, a potențialului prag și mai ales, de rapiditatea de producere a variației de potențial.

Între cele trei forme de manifestare ale potențialului electric de membrană există o interdependență funcțională având ca element comun concentrația ionică reală și care este modulată de factorul temporal și de organizarea spațială sinaptică.

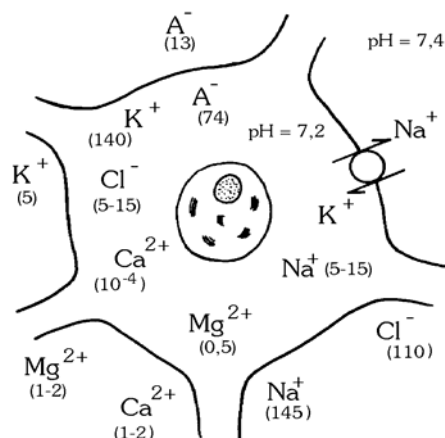


Fig. 2.11. Valorile concentrațiilor (mM) intra- și extracelulare a principalilor ioni din celula nervoasă. A- anionii anorganici.

2.2.1. Potențialul de repaus

Repartiția inegală de o parte și de alta a membranei celulare a principalilor ioni este rezultatul activității sistemului de transport ionic membranar (STIM) și reprezintă o condiție obligatorie pentru menținerea excitabilității celulare. Transportul ionic la nivel celular este un proces continuu indiferent de starea de activitate a celulei, dar valoarea parametrilor de transport variază în funcție de activitatea celulei.

Din această perspectivă se poate descrie transportul ionic și valoarea potențialului de membrană a celulei excitabile în condiții de repaus și de activare sau excitare.

Starea de repaus a unei celule excitabile se caracterizează prin stabilirea unui echilibru dinamic între fluxul ionic prin mecanisme pasive și active pentru fiecare dintre ionii principali participanți la realizarea potențialului de membrană. Realizarea acestui echilibru este susținută de menținerea concentrației ionice și a potențialului de membrană la valori aproape constante. În această stare diferența de concentrație de o parte și de alta a membranei celulare pentru fiecare ion este maximă și corespunde valorii maxime a gradientului de concentrație.

Potențialul de repaus, definește diferența de potențial transmembranar ce permite celulei excitabile să răspundă acțiunii unui stimul, prin modificarea rapidă a repartiției ionice și, implicit, a valorii potențialului de membrană generând potențialul de acțiune. În repaus, distribuția ionilor de o parte și de alta a membranei plasmatică este rezultatul interrelației dintre permeabilitatea selectivă a membranei și cuplarea transportului ionic cu procesele metabolice energogenetice.

Permeabilitatea membranei celulare față de o anumită substanță se definește prin proprietatea membranei respective de a permite transportul pasiv, conform legilor fizice. Suportul permeabilității selective a membranei față de transportul ionic este reprezentat de canalele ionice din structura ei și asigură potențialul de membrană și participă la homeostazia hidroelectrolitică celulară.

Din punct de vedere funcțional sunt descrise canale ionice cu poartă și canale ionice fără poartă pentru principalii ioni implicați în menținerea potențialului de membrană: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} și Cl^- care permit transportul selectiv, controlat diferit în funcție de tipul de canal.

Pentru ambele tipuri de canale, cu sau fără poartă, în general, forța motrice principală care determină transportul ionic este gradientul electrochimic. Transportul prin canalele fără poartă este, practic, continuu și în echilibru cu transportul activ prin pompele ionice și prin transportori. Fluxul ionic prin aceste două sisteme antagonice de transport este mult mai redus comparativ cu fluxul prin canalele cu poartă și deține funcția principală în menținerea potențialului de repaus.

Un aspect funcțional important ce caracterizează permeabilitatea membranelor selective este dependența de factorul temporal. Conform acestui parametru se poate afirma că membrana celulelor excitabile este permeabilă la toți ionii anorganici din lichidul intra- și extracelular. Dar această permeabilitate nu este continuă pentru toți ionii și pentru toate tipurile de canale ci se manifestă alternativ, în funcție de starea funcțională a celulei. Mai mult, activarea și inactivarea canalelor cu poartă este dependentă de factorul temporal în sensul că fiecare tip de canal prezintă o perioadă proprie de latență și o durată a stării “deschis”. Astfel, pe lângă diversitatea canalelor rezultând din existența mecanismelor de activare, diversitatea canalelor este amplificată prin implicarea factorului temporal.

Valoarea potențialului de repaus (-50 și -80 mV) pentru majoritatea neuronilor este stabilită prin măsurarea diferenței de potențial cu ajutorul a doi microelectrozi dintre care unul este plasat intracelular iar celălalt, extracelular. Cei doi electrozi sunt conectați la un amplificator de voltaj, care la rândul lui este cuplat cu un osciloscop ce permite cuantificarea amplitudinii potențialului transmembranar (V_m).

$$V_m = V_{in} - V_{ext.}$$

unde V_{in} este potențialul intracelular iar V_{ext} , cel extracelular. Deoarece, conform convenției, electrodul extracelular este zero, potențialul membranar de repaus (V_R) este egal cu potențialul intracelular (V_{in}).

Potențialul de repaus poate fi calculat în funcție de valoarea concentrației intra- extracelulare a ionilor care participă la determinarea potențialului de membrană. Ținând seama de faptul că pentru toate celulele excitabile canalele de K^+ fără poartă au răspândirea și ponderea cea mai importantă în menținerea potențialului de repaus se poate afirma că potențialul de repaus reprezintă potențialul de echilibru al potasiului.

Valoarea potențialului de echilibru al potasiului se poate calcula conform ecuației lui Nerst:

$$E_K = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[K^+]_{ext}}{[K^+]_{int}}$$

unde E_K este valoarea potențialului de echilibru al potasiului, când concentrațiile lui, intra- și extracelulară sunt în echilibru; R – constanta gazelor; T – temperatura, în grade Kelvin; z – valența potasiului; F – constanta Faraday; $[K^+]_{ext}$ și $[K^+]_{int}$ – concentrația extra- și intracelulară a K^+ . Înlocuind în formula de mai sus valorile $z = 1$, RT/zF la $25^\circ C = 26$ mV și constanta de transformare a logaritmului natural în logaritm în baza 10, care este 2,3 se obține valoarea potențialului de echilibru al potasiului care variază în funcție de concentrația acestuia în raport cu diferite celule. În tabelul 2.1 se poate urmări valoarea de potențialului de echilibru a ionilor principali corespunzătoare concentrațiilor dintr-un neuron cerebral de la șobolan și din axonul gigant.

Tabel 2.1. Valoarea potențialului de echilibru în raport cu concentrația principalilor ioni

	Ion	concentrație intracelulară (mM)	concentrație extracelulară (mM)	potențial de echilibru (mV)
Neuron cerebral	K^+	140	3	-97
	Na^+	7	140	+75
	Cl^-	7	140	-75
Axon gigant	K^+	400	20	-75
	Na^+	50	440	+55
	Cl^-	52	560	-60

Valoarea potențialului de repaus determinată prin înregistrări electrofiziologice este, în general mai mică decât valoarea calculată conform ecuației lui Nerst. Această diferență se explică prin faptul că valoarea potențialului de membrană obținută conform ecuației lui Nerst cuprinde în calcul numai concentrația potasiului, în timp ce valoarea determinată electrofiziologic, este rezultatul participării mai multor ioni, cu pondere diferită, în funcție de tipul de celulă, și, mai ales, de tipul și distribuția canalelor.

Pentru celula glială valoarea potențialului de repaus determinată electrofiziologic este cea mai apropiată de valoarea potențialului de echilibru al potasiului, deoarece permeabilitatea membranei celulare față de potasiu este incomparabil mai mare față de permeabilitatea pentru sodiu sau clor.

Neuronii centrali având mai multe canale ionice fără poartă pentru Na și Cl, comparativ cu celula glială, potențialul lor de repaus este cel mai departe de potențialul de echilibru al potasiului.

Sarcolema celulei musculare scheletice conține, comparabil cu alte celule excitabile, un număr mai mare de canale fără poartă pentru clor, conferindu-i astfel o participare aproape egală cu potasiul la menținerea potențialului de repaus.

Pentru calcularea potențialului de repaus în funcție de concentrația mai multor ioni se poate utiliza ecuația Goldman-Hodkin-Katz:

$$E_M = \ln \frac{RT}{F} \frac{P_K [K^+]_{ext} + P_{Na} [Na^+]_{ext} + P_{Cl} [Cl^-]_{int}}{P_K [K^+]_{int} + P_{Na} [Na^+]_{int} + P_{Cl} [Cl^-]_{ext}}$$

Din cele prezentate reiese că valoarea potențialului de repaus este rezultatul participării tuturor sistemelor membranare de transport dintre care, ponderea cea mai mare, o dețin canalele de K^+ fără poartă. Importanța acestor canale rezultă din cercetările efectuate pe celulele gliale a căror membrană plasmatică prezintă canale fără poartă, permeabile aproape în exclusivitate pentru K^+ . Ținând seama că gradientul de concentrație transmembranar al acestui cation are, aproximativ, aceeași valoare ca și la nivelul celorlalte celule excitabile, este nevoie să analizăm mecanismul lui de menținere, în ciuda numeroaselor canale deschise permanent față de K^+ . Factorul principal care se opune efluxului de K^+ este forța electrostatică datorată concentrației mari a anionilor organici intracelulari pentru care membrana celulară nu este permeabilă (Fig. 2.11). Pe de altă parte, concentrația mare a ionilor de Na^+ din mediul extracelular, se opune efluxului de K^+ , care ar rezulta din gradientul lui de concentrație. Ca urmare a acțiunii celor două forțe electrostatice ce se opun efluxului ionilor de K^+ , se menține valoarea mare a gradientului de concentrație al acestui cation în celule excitabile, în repaus.

Ecuția factorilor ce asigură echilibrul de menținere a potențialului de membrană cuprinde, pe lângă forțele gradientului electrochimic, și activitatea de transport activ a pompelor ionice, în special a pompelor de Na-K și Ca. Activitatea acestora depinde de cel puțin doi factori principali. Metabolismul energetic al celulei asigură funcționarea continuă a acestora iar concentrația ionică modelează rata lor de transport.

Un aspect deosebit al potențialului de repaus este relația dintre acesta și generarea potențialului de acțiune din celule cu activitate electrică spontană, răspunzătoare de desfășurarea unor funcții vitale precum activitatea neuronilor din centrul respirator, pace-maker-ul cardiac etc. Din perspectiva potențialului de repaus, în general, aceste celule apar ca „lipsite” de capacitatea de a menține potențialul de repaus, permițând o depolarizare fără stimuli din exteriorul celulei.

În final, despre potențialul de repaus, se pot desprinde câteva concluzii:

- ✓ potențialul de repaus este o măsură a repartiției ionice de o parte și de alta a membranei celulare;
- ✓ repartiția ionică este un parametru integrativ al structurii și funcției sistemului de transport ionic membranar (STIM) corelat cu activitatea metabolică a celulei;
- ✓ potențialul de repaus este o premisă/condiție a excitabilității celulare, în sensul că în funcție de valoarea potențialului de repaus în momentul când intervine stimulul se va genera răspunsul celulei prin modificarea potențialului de membrană ce constituie potențialul de acțiune.

2.2.2.Potențialul electrotonic

Modificările de potențial electric membranar, de amplitudine inferioară celei generatoare de potențial de acțiune și care se produc într-o anumită zonă a celei nervoase ca urmare a acțiunii unor stimuli, neuromediatorilor, neuromodulatorilor sau a altor substanțe care interacționează cu transportul ionic transmembranar, constituie potențialul electrotonic. Pentru o mai bună înțelegere a acestei noțiuni să urmărim modificările de potențial de membrană induse de transmiterea sinaptică axodendritică și de acțiunea unui stimul mecanic asupra receptorilor de întindere din fusul neuromuscular.

Transmiterea potențialului de acțiune de la un neuron la altul se face, în general, prin multiple sinapse (în medie 1000) între terminațiile axonice și dendritice ale celor doi neuroni. Localizarea sinapselor în compartimentul dendritic este destul de neomogenă, distanța de la fiecare sinapsă până la segmentul inițial al axonului, locul unde se generează potențialul de acțiune, fiind foarte variabilă. Eliberarea neurotransmițătorului va induce la nivelul fiecărei sinapse, prin cuplarea cu canalele receptor, potențialul postsinaptic excitator care se va transmite ca o variație de potențial de membrană spre corpul celular și spre vârful dendritei. Această variație de potențial ce pleacă de la fiecare sinapsă constituie *potențialul electrotonic*.

În cazul alungirii bruște a fibrelor musculare intrafuzale (ex. lovirea tendonului sau modificarea bruscă a poziției corpului sau al unui segment urmare acțiunii unei forțe exterioare organismului-inerția) se vor produce și modificări de tensiune a terminațiilor nervoase senzitive cu care fibrele musculare sunt în contact. Modificările de tensiune vor induce deschiderea canalelor ionice din mecanoreceptorii terminațiilor nervoase, urmată de modificări ale potențialului de membrană care se vor deplasa sub formă de *potențial electrotonic* până la primul nod Ranvier al axonului senzitiv unde va genera potențialul de receptor, transmis, apoi la măduva spinării.

În ambele exemple potențialul electrotonic va genera sau nu, în funcție procesului de sumație, un potențial ce se va deplasa, neschimbat, pe distanțe mai mari, ca potențial de acțiune, respectiv potențial de receptor.

Potențialul electrotonic și procesul de sumație spațiotemporală sunt elementele esențiale ale funcției de procesare și integrare a semnalului la nivelul fiecărei celule și, implicit, la nivelul sistemului nervos.

2.2.3.Potențialul de acțiune

Sistemul nervos este cel mai complex și performant sistem biologic de captare, procesare, stocare a semnalului ca suport al informației și, probabil, de generare a informației. Dacă, până în prezent, capacitatea creierului de a genera informație a rămas doar la nivelul unor tentative discrete filosofice sau artistice, funcțiile de captare, procesare și stocare a informației au beneficiat de un interes mai mare din partea cercetării științifice. Prin aceste procese sistemul nervos îndeplinește funcția fundamentală de integrare, pe de o parte, a funcțiilor componentelor organismului în vederea funcționării lui ca sistem, iar, pe de altă parte, de integrare a acestuia în mediu de viață.

Printre cele mai vechi referințe scrise care fac legătura între lezarea creierului și simptomele induse, sunt cele consemnate într-un papyrus egiptean din sec. XVII î.c. și care cuprinde transcrierea unor documente scrise cu cca. cinci milenii în urmă. Papyrusul a fost descoperit la Teba, în 1862, de Edwin Smith (Voiculescu Vlad, Mircea Steriade. 1963) și descifrat de către James Breasted în anul 1930, (Kandel, 2003)

Primele referiri la natura suportului de transmitere a semnalului în sistemul nervos și între acesta și celelalte componente ale organismului provin din medicina sacerdotală, au fost preluate de către grecii antici care considerau că creierul secretă un fluid sau "spirit" care este transmis prin nervi la mușchi. Această concepție despre excitabilitatea creierului și natura suportului de comunicare dintre creier și componentele organismului și interrelația lui cu mediul de viață se identifică în două idei, care elaborate din perioada lui Aristotel (384-322 î.c.), au devenit dogme dăinuind mai bine de două milenii. Una se referă la inexcitabilitatea creierului și a fost detronată de doi fiziologi Fritsch și Hitzig, în 1870, care au înlocuit stimulul mecanic aristotelian cu stimulul electric. Cealaltă idee-dogmă susține localizarea funcțiilor psihice și ale sensibilității în inimă, și, în ciuda unor argumente de observație clinică sau experimentală, a fost susținută până la apariția lucrării lui William Harvey „De motu cordis et sanguinis in animalibus”. 1628.

Primele date experimentale despre natura electrică a semnalului ce determină contracția musculară aparțin lui Luigi Galvani care în 1791 a demonstrat contracția a unui mușchi de broască după stimularea lui electrică. După numai cincizeci de ani, Carlo Matteucci, a obținut primele rezultate despre natura electrică a impulsului nervos. Dubois Reymond realizează în 1851 prima detectare electromiografică prin măsurarea curenților emiși de un mușchi de iepure, în timpul contracției. După 1900 prin utilizarea galvanometrului cu coardă se reușește descrierea curenților musculari în diferite tipuri de contracție. Din această perioadă datează și primele cercetări românești în domeniul electromiografiei (Athanasiu, I. și Marinescu, Gh. 1929). Primele cercetări experimentale asupra curenților electrici cerebrali au fost realizate de către Caton în 1875 iar prima înregistrare experimentală de tip electroencefalografic, aparține lui Pravdici-Neminski (1913). Hans Berger (1924), propune termenul de electroencefalogramă pentru înregistrarea activității electrice corticale) odată cu primele înregistrări efectuate la om. În prezent, un număr mare de tehnici de cercetare și investigare clinică se bazează pe înregistrarea și analiza curenților electrici ce însoțesc activitatea celulelor excitabile.

Din perspectiva funcției de sistem informațional, suportul cel mai important de transmitere și prelucrare a semnalului în sistemul nervos este potențialul de acțiune. Din punct de vedere al transportului ionic membranar, potențialul de acțiune este rezultatul unei „perturbări” bruște a echilibrului dinamic al repartiției ionilor corespunzătoare potențialului de repaus. Cauza și mecanismul care generează această modificare diferă în funcție de tipul de celulă. Generarea potențialului de acțiune este un proces complex care se declanșează, în general, într-o zonă specializată a celulelor excitabile. În această zonă de declanșare (trigger zone) ajung și se integrează variațiile de potențial membranar induse prin trei mecanisme principale: 1) de acțiunea unui stimul specific asupra terminațiilor senzitive; 2) acțiunea unui neurotransmițător asupra receptorilor postsinaptici; 3) depolarizarea spontană a unor celule excitabile, precum celulele miocardice, neuroni din centrii nervoși prevăzuți cu automatism.

În cazul neuronilor senzitivi, variația potențialului de membrană indusă de acțiunea unui stimul asupra terminațiilor axonice se va transmite ca *potențial de receptor* până la zona de integrare sau declanșare, reprezentată de primul nod Ranvier. Dacă potențialul de receptor este suficient de puternic se va declanșa *potențialul de acțiune* care va fi transmis spre segmentul nervos central.

Pentru neuronii care primesc semnale de la alți neuroni prin intermediul sinapselor, zona de declanșare a potențialului de acțiune este reprezentată de segmentul inițial al axonului unde ajung variațiile de potențial generate la nivelul sinapselor localizate în compartimentul dendritic sau somatic al neuronului respectiv. După integrarea potențialelor sinaptice, potențialul de acțiune generat se va

deplasa spre capătul distal al axonului, unde va determina eliberarea neurotransmițătorului în sinapsele derivate din axonul respectiv.

Dacă în urma integrării variațiilor de potențial reprezentând potențialele de receptor sau potențialele sinaptice rezultă, la nivelul zonei de declanșare, o variație de potențial echivalentă valorii prag a neuronului respectiv, se deschid canalele ionice voltaj dependente care vor declanșa *potențialul de acțiune*.

Într-o prima fază se deschid canalele voltaj dependente care vor permite un influx rapid de cationi care va determina scăderea diferenței de potențial – *faza de depolarizare* – urmată de deschiderea canalelor de potasiu voltaj dependente prin care efluxul ionic va readuce potențialul de membrană la valoarea potențialului de repaus – *faza de repolarizare*. Pentru majoritatea celulelor efluxul de potasiu continuă după revenirea potențialului la valoarea potențialului de repaus, rezultând, astfel, o *posthiperpolarizare* denumită și *hiperpolarizare postpotențial* (Fig.2.12).

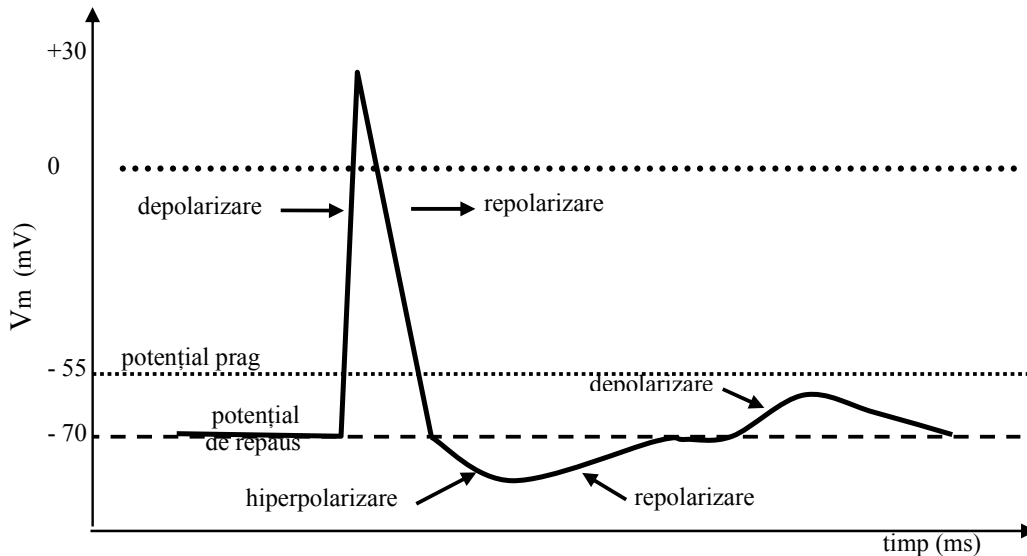


Fig. 2.12. Variația potențialului de membrană (Vm) în raport cu activitatea celulei nervoase

Faza de depolarizare, pentru majoritatea celulelor excitabile din organismul uman, este determinată de deschiderea canalelor de Na voltaj dependente. La valoarea prag al potențialului de membrană se deschid un număr limitat de canale care vor induce, apoi, activarea în cascadă, prin mecanism de feed-back pozitiv, a canalelor, însoțită de o creștere corespunzătoare a conductanței și o variație de potențial de cca.100 mV.(Fig.2.13). Durata fazei de depolarizare este mai mică de 1ms rezultând din timpul în care un canal rămâne în starea deschis- cca. 0,43 ms pentru neuronii cerebrali și 0,7 ms pentru fibra musculară scheletică (Hammond C. 2001). Deoarece canalele de Na voltaj dependente dintr-o celulă nu se deschid simultan, durata depolarizării depășește puțin durata cât un canal rămâne deschis.

Faza de repolarizare a potențialului de acțiune este determinată de deschiderea canalelor voltaj dependente pentru potasiu. Pe baza proprietăților fiziologice se descriu două categorii de canale de K controlate de potențialul de membrană: 1) canale de rectificare întârziată care se activează și se deschid după o perioadă de cca. 4 ms după depolarizare și se inactivează mult mai lent decât canalele

de sodiu; 2) canale de tip A care activează și se inactivează rapid. Parametrii de funcționare a canalelor din prima categorie prezintă o mare variabilitate din perspectiva timpului și asigură repolarizarea membranei(Fig.2.13).

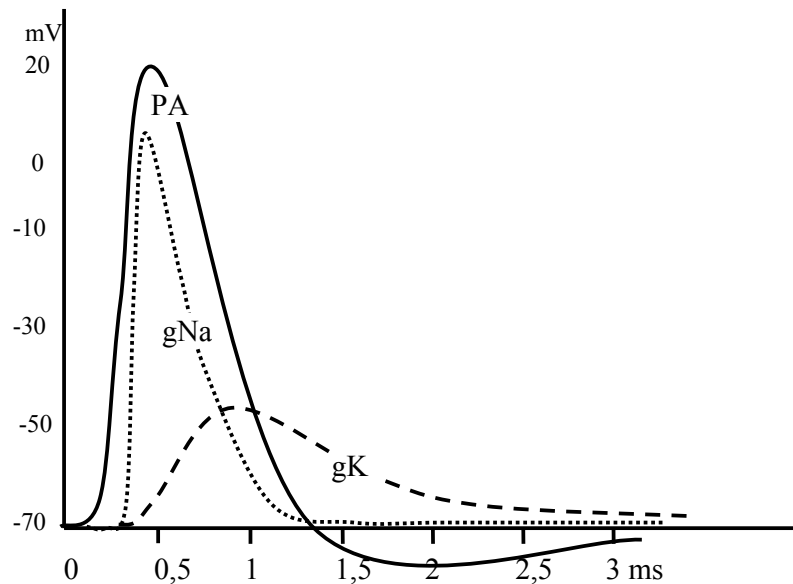


Fig. 2.13. Variația conductanței pentru Na (gNa) și K (gK) în timpul potențialului de acțiune (PA)

Pentru un număr mult mai redus de tipuri de celule excitabile potențialul de acțiune nu este dependent numai de canale voltaj dependente pentru sodiu ci și de alți cationi. Astfel, potențialele de acțiune din celulele Purkinje din cerebel, din terminațiile axonice din neurohipofiză și din celulele (fibrelor) Purkinje din miocard, sunt dependente, într-o măsură mai mare sau mai mică, de calciu.

După ce un canal a fost deschis urmează starea de inactivare în care fluxul ionic este oprit dar canalul nu poate fi activat decât după închiderea porții și revenirea potențialului de membrană la valoarea de repaus. Această secvență a stărilor funcționale ale canalelor ionice determină și controlează perioada refractară și, implicit, asigură deplasarea unidirecțională a potențialului de acțiune, în condiții fiziologice.

Perioada refractară reprezintă timpul de la debutul unui potențial de acțiune până la momentul recuperării posibilității generării unui nou potențial. În această perioadă aplicarea unui stimul, indiferent de intensitate, nu poate induce modificări ale potențialului de membrană deoarece canalele voltaj dependente pentru Na sunt sau deschise sau în starea de inactivare. Ținând seama că deschiderea canalelor nu se face simultan iar perioada în care sunt deschise și cea de inactivare sunt constante rezultă că primele canale care se deschid vor fi primele care vor deveni disponibile pentru un nou stimul. Astfel, în perioada refractară absolută nici un canal nu poate fi activat de un nou stimul iar în perioada refractară relativă se poate obține un răspuns, mai ales la un stimul supraliminar, prin implicarea unui număr mai mic de canale ionice.

Potențialul de acțiune, odată declanșat se transmite diferit prin axonii mielinizați și nemielinizați (vezi cap. 3)

BIBLIOGRAFIE

1. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J. D. (1994). *Molecular Biology of The Cell*. New York
2. Anatoli N. Lopatin, Colin G. Nichols (2001) *Ion Channel Localiyation Methods and Protocols*, Humana Press
3. Catterall, W. A. (1988). Structure and function of voltage-sensitive ion channels. *Science*. 242: 50-61.
4. Chiesi, M., Voherr, T., Schwaller, R., Carafoli, E. (1990). Cardiac phospholamban is related to the inhibitory domain of the plasma membrane Ca-pump. *Circulation*. 82 (Suppl. III) : III-349.
5. Dubois Reymond *Précis d'électromyographie*, (1959), Maloine (Lbr.) S.A., Paris Citat in ref. 170.
6. Eccles, J. C., Eccles, R. M., Lundberg, A. (1958). The action potentials of alpha motoneurons supplying fast and slow muscles. *J. Physiol. (Lond.)* 142:257.
7. Fatt, P., Ginsborg, B. L. (1958). The ionic requirements for production of action potentials in crustacean muscle fibres. *J. Physiol. (Lond.)*, 142:516-543.
8. Graves D.T., Hanna G.M.(2005). Neurological channelopathies. *Postgrad. Med. J.* 81:20-32
9. Gupta S.K., (2001) *Pharmacology and Therapeutics in the New Milenium*, Narosa Publishing House
10. Hagiwara, S. (1983). *Membrane Potential-Dependent Ion Channels in Cell Membrane: Phylogenetic and Developmental Approaches*. New York: Raven Press.
11. Hammond C. (2001). *Cellular and Molecular Neurobiology*. Academic Press
12. Hill, R. R., Robins, N. (1991). Plasticity of presynaptic and postsynaptic elements of neuromuscular junction repeatedly observed in living adult mice. *J. Neurocytol.* 20:165.
13. Hille, B. (1989). Voltage gated channels and electrical excitability, In *Textbook of Physiology*. (Patton, H. D. Ed.), Vol. I.
14. Hodgkin, A. L., Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol. (Lond.)*, 117: 500-544.
15. Kandel, E. R., Schwartz, J. H. Jessell, T. M. Eds. *Principles of Neural Science*. (2000), Fourth edition, Mc Graw-Hill.
16. Katz, A. M. (1992). *Physiology of the heart*. Raven Press, New-York.
17. Mulley C. J., Scheffer E. I., Petrou S., Berkovic F. S. (2003). Channelopathies as a genetic cause of epilepsy. *Curr. Opin. Neuro.* 16:171-176
18. Nowycky, M. C., Fox, A. P. and Tsien, R. W. (1985). Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity. *Nature.*, 310: 440-443.
19. Payne, J. A., Stevenson, T. J., and Donaldson, L. F. Molecular characterization of a putative K-Cl cotransporter in rat brain. A neuronal-specific isoform. (1996) *J. Biol. Chem.* 271:16245-16252,.
20. Shepherd, G. M. (1994). *Neurobiology*. Oxford University Press.
21. Siegel G. J., Agranoff R. W. , Albers R. W. Fisher S. K(1998) *Basic Neurochemistry Molecular, Cellular and Medical Aspects*, Sixth Edition, Lippincott+Raven Publishers
22. Smith, K. J., Blakemore, W. F., Murray, J. A., Patterson, R. C. (1982). Internodal myelin volume and axon surface area. A relationship determinig myelin thickness. *J. Neurol. Sci.*, 55:231.
23. Stamatoiu, I., Aşgian, B., Vasilescu, C. (1981). *Electromiografie Clinică*. (Ed. Medicală). Bucureşti.
24. Squire L., Bloom F., McConnell S. K., Roberts J., Spitzer N.C., Zigmond M. J. (2003) *Fundamental of Neuroscience* , Academic Pres.
25. Voiculescu V., Steriade M. din *Istoria Cunoaşterii Creierului*(1963) Editura Stiinţifică.Bucureşti
26. Zăgrean Leon (1996) *Elemente de Neurobiologie*, edit. Univ. "Carol Davila". Bucureşti
27. Zăgrean Leon (2002) *Neuroştiinţe-principii fundamentale*, edit. Univ. "Carol Davila". Bucureşti