

Lokális membránpotenciál változások, Az érzékelés folyamatának általános törvényszerűségei

gyógyszerészhallgatóknak

Dr. Bozó Tamás

egyetemi adjunktus
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet
2023. május 4.



Tematika

Témák

- Nyugalmi membránpotenciál (emlékeztető)
- Membránpotenciál változása
 - Elektrotonusos potenciál
 - Sejtmembrán elektromos modellje
 - Potenciál terjedése a membránban
 - Akciós potenciál
 - Szakaszai, ionáramok
 - Terjedése
 - Voltage clamp, patch clamp
- Érzékelés folyamata
 - Receptorok
 - Érzédeg
 - Pszichofizikai törvények

Kapcsolódó gyakorlatok

- Diffúzió
- EKG
- Szenzor
- Audiometria

Tankönyv fejezetei:

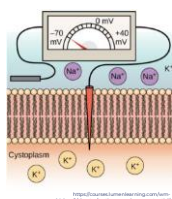
- III/4.3. Membránpotenciál-változások az ingerküszöb alatt
- IV/1. Az érzékelés folyamatának általános törvényszerűségei



Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

2

Membránpotenciál



Transzmembrán potenciál / Membránfeszültség / „Nyugalmi membránpotenciál”

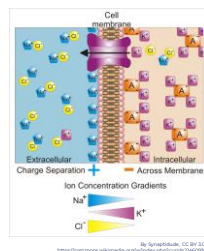
- Elektromos potenciálkülönbség a sejtmembrán belső és külső felzíné között
- Minden élő sejtben
- Sejttípusfüggő (-30 mV – -90 mV)
- Negatív előjel: a citoszól negatív az extracelluláris áramnyhoz képest
- Szerepe:
 - Energiaátvitelt biztosít számos membránba ágyazott molekuláris gépezet működéséhez („a sejt mint elem”)
 - Elektromosan ingerelhető sejtekben, illetve sejtek között (pl. neuronok, izomszövetek) jeletovábbításra használható



Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

3

Membránpotenciál



- A membrán két oldalán eltér az ionösszetétel

Sejttípus	Intracelluláris koncentráció [mM]			Extracelluláris koncentráció [mM]		
	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Óriás tintahal axon	72	345	61	455	10	540
Béka izom	20	139	3,8	120	2,5	120
Patkány izom	12	180	3,8	150	4,5	110

- Belső nagy fehérje és foszfát anionok – p – 0
- Hidratált ionmért: K⁺ < Cl⁻ < Na⁺
- Ionok permeabilitása különböző
- Kémiai és elektromos potenciálkülönbség a két oldal között



Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

4

Membránpotenciál kialakulása I.

Korábbi modell – iononkénti egyensúlyok

- Feltételezések:
 - Zárt termodinamikai rendszer
 - Membrán permeabilis az ionokra
 - Belső és külső térrész termodinamikai egyensúlyban van – IONONKÉNT
 - Nincs nettó iontranszport
 - Termodinamikai erő 0
 - Nincs elektrokémiai potenciálkülönbség

$$\mu_{\text{ext}}^{\text{int}} - \mu_{\text{ext}}^{\text{ext}} = 0$$

$$\mu_0 + RT \ln c_{\text{ext}}^{\text{int}} + zF\phi_{\text{ext}}^{\text{int}} = \mu_0 + RT \ln c_{\text{ext}}^{\text{ext}} + zF\phi_{\text{ext}}^{\text{ext}}$$

$$\phi_{\text{ext}}^{\text{int}} - \phi_{\text{ext}}^{\text{ext}} = U_0 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_{\text{ext}}^{\text{int}}}{c_{\text{ext}}^{\text{ext}}} \quad \text{Nerst egyenlet}$$

i-dik ion elektromos potenciálja egyensúlyban = egyensúlyi potenciál
= az i-dik ion koncentrációs elemének elektromotoros ereje

Alkalmazás: Iononként figyelembe véve a membrán két oldalán különböző koncentrációkat:

	óriás tintahal axon	béka izom
U_{Na^+}	-62 mV	-92 mV
U_{K^+}	47 mV	46 mV
U_{Cl^-}	-91 mV	-103 mV
$U_{\text{Ca}^{2+}}$	-56 mV	-88 mV

Eredmény: A modell nem pontos.



Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

5

Membránpotenciál kialakulása III.

Goldman-Hodgkin-Katz egyenlet

- Passzív iondiffúzió
- Különböző permeabilitások
- Egyedi ionfluxus ≠ 0
- Nyugalmi membránpotenciál konstans
- Eredő elektromos áram-sűrűség = 0
- Z=1 → átlag anyagáram-sűrűség = 0
- Ionok fluxusa NEM független egymástól

K-dik részecske fluxusa

$$J_k = -u_k k \frac{\Delta c_k}{\Delta x} + c_k \frac{z_k F}{RT} \frac{\Delta \phi}{\Delta x}$$

elektromos potenciálkülönbség

elektrokémiai potenciálgradiens

$\Sigma J_k = 0$

Steady state elektrodifúzió:

- Állandó elektrokémiai potenciálgradiens
- konstans ionáramok → kompenzálják egymást → nincs eredő töltésváltozás
- Na⁺/K⁺ pumpa → koncentrációgradiens

$$U = \Delta \phi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{\text{K}^+} [\text{K}^+]_{\text{ext}} + P_{\text{Na}^+} [\text{Na}^+]_{\text{ext}} + P_{\text{Cl}^-} [\text{Cl}^-]_{\text{int}}}{P_{\text{K}^+} [\text{K}^+]_{\text{int}} + P_{\text{Na}^+} [\text{Na}^+]_{\text{int}} + P_{\text{Cl}^-} [\text{Cl}^-]_{\text{ext}}}$$

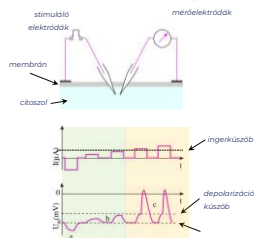
	óriás tintahal axon	béka izom
$U_{\text{mért}}$	-62 mV	-92 mV
U_{calc}	-61,3 mV	-89,2 mV



Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

6

Membránpotenciál megváltozása



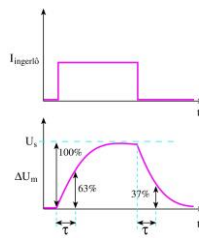
Kísérlet

- Áramot vezetünk a sejtbe
- Négyzetjeli impulzusok
- Irányuk és nagyságuk kontrollált

Eredmény:

- **Elektrotónusos potenciál:** stimulációs küszöbérték alatt
 - Iránya: hiperpolarizáció / depolarizáció
 - Nagysága: grádient – arányos a stimulussal
 - Analóg
 - Lokalizált
- **Akciós potenciál:** stimulációs küszöbérték felett
 - Ugrásszerű, uniformis változások
 - Alak, nagyság független a stimulustól

Elektrotónusos potenciál – I.



Ingerlés (pozitív áram) során:

- Késleltetett,
- Lekerekített,
- Telítésbe hajló (1-exponenciális)
- Depolarizáció

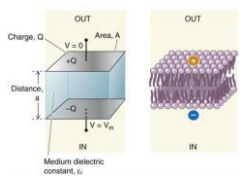
Ingerlés megszűntével

- Lecsengés (exponenciális)

Konklúzió:

- A sejtmembrán ingerlése az RC kör feltöltéséhez és kisüléséhez hasonló potenciálváltozásokat mutat.

Sejtmembrán, mint RC kör I.

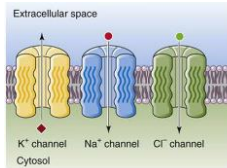


$$E = \frac{U}{d} = \frac{70 \text{ mV}}{5 \text{ nm}} = 1,4 \cdot 10^7 \frac{\text{V}}{\text{m}}$$

Lipid kettősréteg, mint kondenzátor

- Hidrofób mag: jó szigetelő
- Felületi töltésfelhalmazódás mindkét oldalon
- Fajlagos kapacitás
 - Időben állandó
- Emlős neuronra:
 - $C_m = 10 \text{ nF/mm}^2$
 - $C_m = \frac{C}{A} = \frac{Q}{UA}$
 - $A_{\text{neuron}} = 0,01\text{--}0,1 \text{ mm}^2$
 - $C_{\text{neuron}} = 0,1\text{--}1 \text{ nF}$
 - $Q = -4 \cdot 10^3 \text{ C/cm}^2$

Sejtmembrán, mint RC kör II.

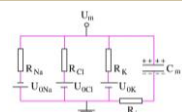
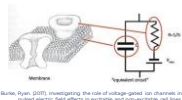


Ionszűrő, mint ellenállások

- Ionszelektív permeabilitás
- Vezetőképességnek megfelelő ionáramok – szivárgó áram
- Vezetőképesség
 - Nyugalmi állapotban állandó
 - $C_{\text{K}} / C_{\text{Na}} / C_{\text{Cl}} = 1 / 0,04 / 0,45$ (agyri idegsejtek)
 - Depolarizáció hatására megváltozik
 - Kísérletesen meghatározható (clamp-technikák)

$$R_i = \frac{1}{G_i} \quad \frac{1}{R_{\text{össz}}} = \sum_{i=1}^n \frac{1}{R_i}$$

Sejtmembrán elektromos modellje



Párhuzamos RC-kör

- Minden releváns ionfajtára:
 - permeabilitás → vezetőképesség → ellenállás
 - egyensúlyi potenciál → elektromotoros erő (U_{ion})

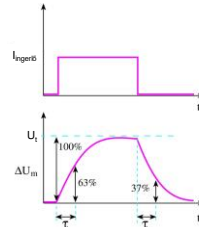
$$U_{\text{ion}} = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i^{\text{ext}}}{c_i^{\text{int}}} \quad \text{Nernst egyenlet}$$

$$I_i = \frac{U_m - U_{\text{ion}}}{R_i} \quad \text{kondenzátor kapacitásdrama} \quad I_C = \frac{\Delta Q}{\Delta t} = C_m \frac{\Delta U_m}{\Delta t}$$

$$\text{GHK: teljes áram} = 0$$

$$\Sigma I = I_C + \Sigma I_j - I_{\text{ingerő}} = 0$$

Elektrotónusos potenciál – II.



Grádient depolarizáció stimuláció hatására („feltöltés”)

- (1-exponenciális) időfüggés („feltöltődés”):

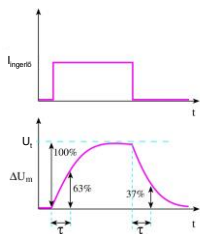
$$U_m(t) = U_k \left[1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \right]$$

U_k : telítési MP
 R_m : membrán ellenállás
 C_m : membrán kapacitás
 τ : feltöltési idő

- Depolarizáció mértéke (ΔU_m) arányos az ingerítő áram amplitudójával
- **Membrán időállandója:** ahhoz szükséges idő, hogy a membránpotenciál-változás elérje a telítési érték 63%-át $(1 - (1/e))$ -ed részét.

$$\tau = R_m C_m$$

Elektrotónusos potenciál – III.



Potenciálváltozás az ingerlés megszűnte után

- Exponenciális lecsengés („kiszülés”):

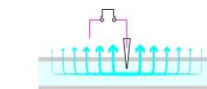
$$U_m(t) = U_1 \cdot e^{-\frac{t}{R_m C_m}}$$

U_1 : telítési MP
 R_m : membrán ellenállás
 C_m : membrán kapacitás
 t : eltelt idő

- Membrán időállandója:** A telítési potenciál 37%-nak (U_1/e) eléréséhez szükséges idő. $\tau = R_m C_m$

- A folyamat során a pillanatnyi potenciált meghatározza:
 - Időállandó (R_m ; C_m)
 - Stimuláció nagysága és időtartama.

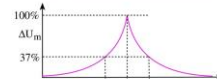
Membránpotenciál-változás terjedése



$$U_m(x) = U_m(x_0) \cdot e^{-\frac{x}{\lambda}}$$

térkonstans

$$\lambda \propto \sqrt{\frac{R_m}{R_i}}$$

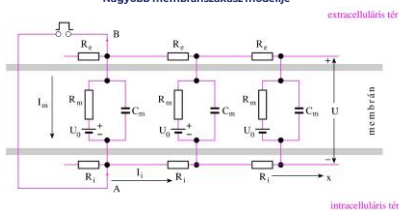


Az ingerlés helyétől távolodva exponenciális csökkenés

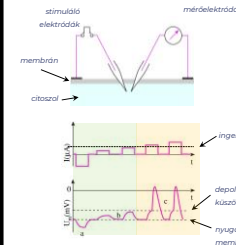
Membrán térkonstansa: Az a távolság amelyen az ingerléssel kiváltott maximális potenciálváltozás az e-ad részére (37%-ra) csökken.

Membránpotenciál-változás terjedése

Nagyobb membránszakasz modellje

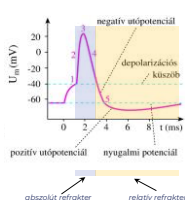


Akciós potenciál



- A nyugalmi MP hirtelen, gyors, átmeneti és tovaterjedő megváltozása.
- Csak ingerelhető sejtekben: neuronok, izomszövetek
- Kiváltója: depolarizációs küszöbértéket meghaladó MP változás
- Digitális - „mindent vagy semmit” válasz
- Állandó amplitúdó
- 3elvezetes, mindig azonos lefutású jelalak – nem függ a stimulus nagyságától vagy időtartamától
- Néhány ms időtartam, kb. 100 mV amplitúdó
- Egy irányba terjed a sejt mentén.

Akciós potenciál



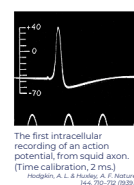
Stages:

- #1 **hyperpolarizáció** (elektrotónusos, lassú)
- #2 **depolarizáció** (gyors)
- #3 **csúcspotenciál**
- #4 **repolarizáció** (gyors)
- #5 **hyperpolarizáció**

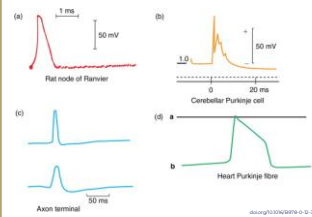
- Alak és csúcspotenciál sejttípus-függő
- Depolarizációs küszöb: sejtállapot-függő, AP alatt is változik

- Abszolút refraktív szakasz:** ~ küszöb
- Relative refractive period:** magasabb küszöb – folyamatosan normalizálódik

Akciós potenciál - példák

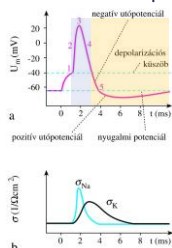


The first intracellular recording of an action potential, from squid axon. (Time calibration, 2 ms.) Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. Nature 144, 710-712 (1952).



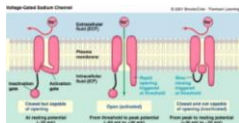
doi:10.1038/00000-0-0-00000-0

Akciós potenciál – ionáramok I.

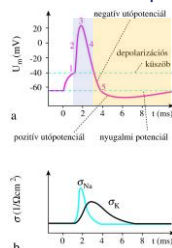


Feszültségvezérelt Na⁺-csatornák állapota

- **Nyugalmi:** zárt, nyugalmi potenciál
- **Aktív:** depolarizációs küszöb felett → csatorna nyitás → Na⁺ beáramlás → depolarizáció → még több Na⁺-csatorna nyílik → további depolarizáció (= feedback, Hodgkin ciklus)
- **Inaktív:** aktiválást követi csatorna zár → abszolút refrakter szakasz

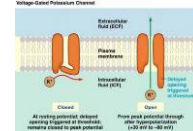


Akciós potenciál – ionáramok II.

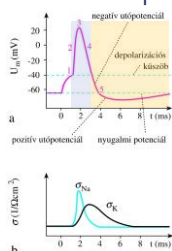


Feszültségvezérelt K⁺-csatornák állapota

- **Zárt:** nyugalmi potenciál
- **Nyitott:** depolarizációs küszöböt elérve → K⁺-csatornák késleltetve nyílnak → K⁺ kiáramlás → repolarizáció, hiperpolarizáció
- Lassan vált a két konformáció között



Akciós potenciál – ionáramok III.

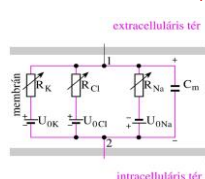


Na⁺ / K⁺ ATP-áz

- Helyreállítja a kationok koncentrációját a citoszólban
- 3 Na⁺ ki / 2 K⁺ be – 1 ATP hidrolízise

Akciós potenciál modellezése

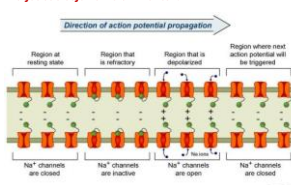
Módosított elektromos membránmodell (Hodgkin)



- Az ionok permeabilitása (C) **nem állandó**
- A csatornák ellenállása MP-függő
- Vezetőképességek voltage-clamp módszerrel mérhetők
- G(U), függvények meghatározhatók
- A modellbe helyettesítve az AP függvény kiszámolható
- Jó egyezés a kísérleti adatokkal

Akciós potenciál – terjedése I.

Terjedés a sejtmembrán mentén:



- A csúcspotenciál exponenciálisan csökken a távolsággal – **térkonstans** szerint.
- A csúcsközi területeken is küszöb feletti a depolarizáció → AP keletkezik.
- A korábban aktivált területek Na⁺-csatornái inaktívvá válnak.
- Mire az abszolút refrakter szakasz elmúlik, a depolarizációs hullám eltávolodik → nincs reaktiváció
- **Egyirányú terjedés**
- v ≈ 30 m/s (emlős neuronokban)

Akciós potenciál – terjedése II.

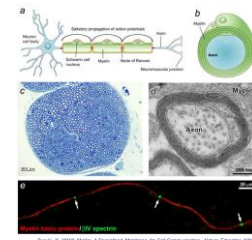
$$U_m(x) = U_m(x_0) \cdot e^{-\frac{x}{\lambda}}$$

← térkonstans

$$\lambda \propto \sqrt{\frac{R_m}{R_i}}$$

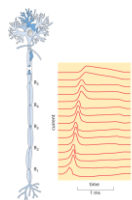
Hogyan növelhető a terjedés sebessége?

- R_m növelésével **mielinizáció**
- R_i csökkentésével: a sejt/axon átmérő növelésével – metabolikusan korlátos

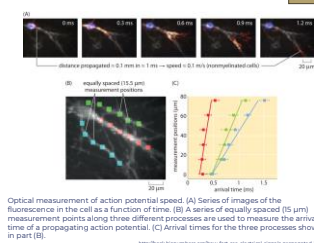


Snatzke, K. (2015) Neuron: A Specialized Membrane for Cell Communication. Nature Education 5(2)159

Akciós potenciál – terjedése III.



Measurement of the propagation of a nervous impulse. (Adapted from A. F. Huxley and R. Stampfli, J. Physiol. 108:315, 1944)

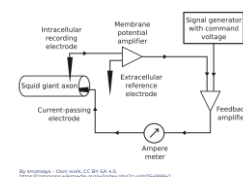


Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

25

Voltage clamp

Kísérleti elrendezés



Alapelve

- Intracelluláris elektród #1: MP-t méri
- Intracelluláris elektród #2:
 - Áramot vezet a sejtbe, hogy a MP-t a kívánt értékre állítsa → **MP rögzített**
 - Mért áramerősség** egyenlő a transzmembrán ionárammal
- Csatornák szelektíven blokkolhatók (Na⁺: tetradotoxin; K⁺: terta-eti ammónium) → specifikus ionáramok
- Ionok MP-függő vezetőképessége meghatározható

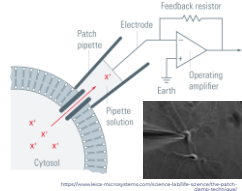
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

26

Patch clamp

Kísérleti elrendezés



Alapelve

- Üveg mikropipettát ($d_{\text{tip}} = 0.5-1 \mu\text{m}$) nyomunk a sejtbe – benne mérőelektrod elektrolit-oldatban
- Nagy elektromos és mechanikai ellenállású kapcsolat alakul ki („giga-seal”)
- Sejtfelszín izolált folt (Cell Attached Patch; CAP)
- A folt 1-néhány ioncsatornát tartalmaz
- Voltage-clamp elrendezés → áramerősséget (pA) mérünk
- Egyedi csatornanyitás-egységnyi áramnövekmény
- 10^4-10^7 ion / néhány ms; vezetőképesség: ~pS
- Alkalmazások:**
 - Ioncsatorna-vizsgálatok (pl. gyógyszerkötődés hatása)

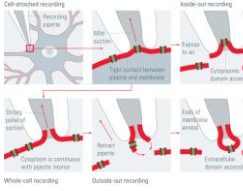
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

27

Patch clamp

Mérési elrendezések



Egyedi K⁺ csatorna áramok (humán limfocita, CAP)

1 pA

10 pA

100 pA

1 nA

10 nA

100 nA

1 μA

10 μA

100 μA

1 mA

10 mA

100 mA

1 A

10 A

100 A

1 kA

10 kA

100 kA

1 MA

10 MA

100 MA

1 GA

10 GA

100 GA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

100 IGA

1 OGA

10 OGA

100 OGA

1 TGA

10 TGA

100 TGA

1 PGA

10 PGA

100 PGA

1 EGA

10 EGA

100 EGA

1 IGA

10 IGA

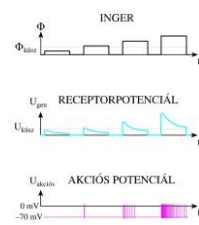
Receptorok

Osztályozás	Receptorsejt/csoport	Mit érzékel?	Példa
Inger szerint	Fotoreceptor	Fény (D,λ)	Retina
	Kemoreceptor	Kémiai anyagok (c)	Izlelőbimbók (nyelv); szegérezékek (orr)
	Termoreceptor	Δt	Bőr hőérőreceptorok
	Mechanoreceptor	p (tapintás)	Bőr, szőr
	Baroreceptor	p	Érfal (arteria carotis)
Hely szerint	Exteroreceptor	External conditions	Szem, fül, orr, nyelv, bőr
	Interoceptor	Internal conditions	Érfal baroreceptor, izomfeszülés, fájdalomérző
	Proprioceptor	Position of body parts	Izomrész, ízület
Összetettség szerint	Általános érzékszervek	Egyedi vagy csoportos receptorsejtek	Hő, tapintás
	Speciális érzékszervek	Összetett érzékszervek (nagy számú receptorsejt)	Szem, fül, orr, nyelv

Érzőideg

Idegsejt

- Receptorhoz kapcsolódik
- Érzékeli a receptorpotenciált
- Depolarizációs küszöböt meghaladva: akciós potenciál-sorozat keletkezik
- AP gyorsan terjed az idegrost mentén
- Érzőkéregbe jut
- **Frekvenciakódolás:** AP frekvenciája a receptorpotenciál nagyságától függ



Pszichofizikai törvények – I.

Weber-Fechner törvény

$$\psi = a \cdot \log_b \frac{\Phi}{\Phi_0}$$

ψ : érzet erőssége
 a és b : állandók
 Φ : absz. ingererősség
 Φ_0 : absz. küszöbinger

- Az érzet a relatív ingererősség logaritmusával arányos
- Korlátozott érvényesség

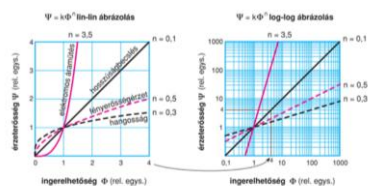
Stevens törvény

$$\psi = a \cdot \left(\frac{\Phi}{\Phi_0} \right)^n$$

a és n : állandók

- Az érzet a relatív ingererősség hatványával arányos
- Széleskörű érvényesség
- $n < 1 \rightarrow$ kompresszív függvény (pl. hangosság: $n = 0,3$)
- $n > 1 \rightarrow$ expanzív függvény (pl. áramütés: $n = 3,5$)

Pszichofizikai törvények – II.



A Stevens-törvény ábrázolása lin-lin, ill. log-log koordináta-rendszerekben

Köszönöm a figyelmet!

Dr. Bozó Tamás