

Molekulární podstata dráždivosti

Nervový systém

- podíl na řízení a koordinaci všech funkcí těla
- zaznamenává, vyhodnocuje a uchovává informace o vnitřním i vnějším prostředí organismu a zprostředkovává jeho reakce
- vysoká komplexita nervového systému x podrobná znalost struktury a funkce jednotlivých nervových buněk

Nervový systém tvoří dva typy buněk:

- **nervové buňky - neurony**
- **neurogliové (gliové) buňky**

Neurony:

- přenos elektrických impulsů
- tvorba synapsí
- u periferního nervového systému se výběžky neuronů skládají k sobě a tvoří nervy

Struktura typických savčích neuronů



Struktura neuronů:

tělo buňky, dendrity, axon, zakončení axonu

Tělo buňky

- obsahuje jádro, ribozomy, lysozomy, endoplazmatické retikulum
- zajišťuje proteosyntézu a sestavování proteinových komplexů

Axon

- obvykle jediný na každém neuronu
- přenáší vzruchy od těla buňky
- dosahuje značných délek (u člověka až 1 m)
- průměr axonu je přímo úměrný rychlosti vedení impulsů
- axon obalený myelinovou pochvou vede vzruchy rychleji než neobalený
- transport proteinů do odlehlých částí axonu z těla buňky zajišťují intermediární filamenty a mikrotubuly

Dendrity

- přijímají signály ze senzoričkých buněk nebo z axonů jiných neuronů a přenášejí je do těla buňky
- kratší než axony
- vybíhají z jedné buňky ve větším počtu

Zakončení axonu

- koncové rozvětvení axonu
- určeno pro přenos elektrických signálů na další buňky

Synapse - místa komunikace neuronů s jinými buňkami

- spoje, kterými se signály přenášejí z neuronů na některou z cílových buněk (neuron, svalová nebo žláznatá buňka)
- přenos signálu je jednosměrný (z buňky presynaptické na postsynaptickou)
- rozlišují se synapse elektrické a chemické

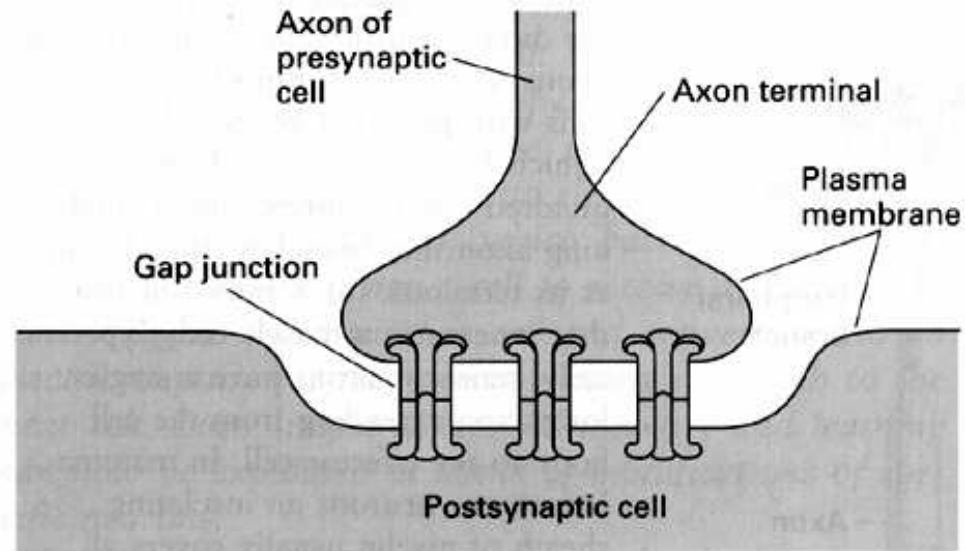
Elektrické synapse

- vodivé spojení buněk speciálními mezibuněčnými strukturami (mezerové vazby)
- přímý přenos akčního potenciálu z jedné buňky na druhou
- vysoká rychlost přenosu signálu

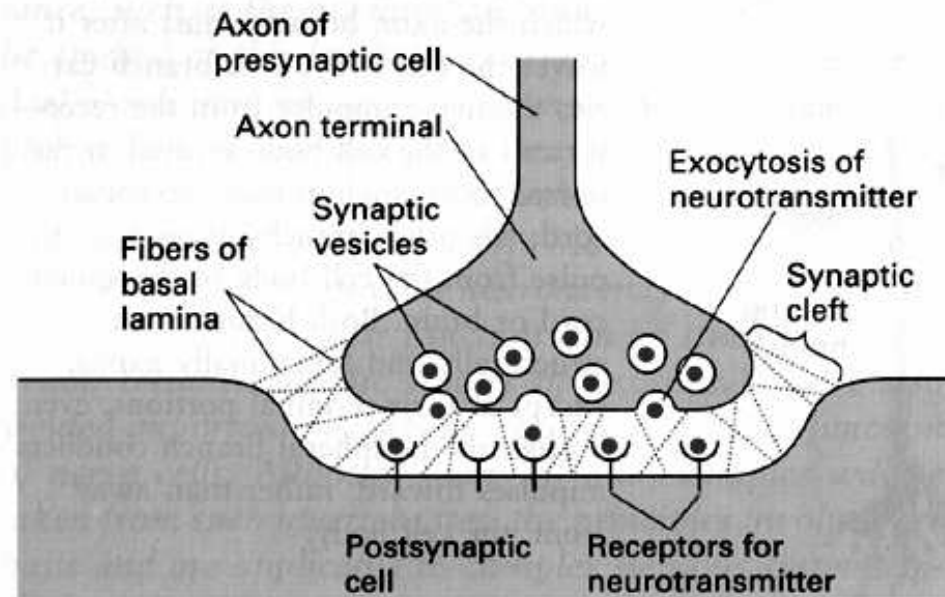
Chemické synapse

- nejčastější typ synapse
- spojení buněk zajištěno speciálními chemickými signály (přenašeč - "neurotransmitter")
- přenašeč se po stimulaci presynaptické buňky uvolňuje ze zakončení axonu do synaptické štěrbině - váže se na receptory v membráně postsynaptické buňky – vyvolá změnu její permeability
- většinou povaha **excitační** - indukce depolarizace membrány a tvorbu akčních potenciálů u postsynaptické buňky
- vzácně povaha **inhibiční** - zabránění tvorbě akčních potenciálů v postsynaptické buňce

(a) Electric synapse



(b) Chemical synapse



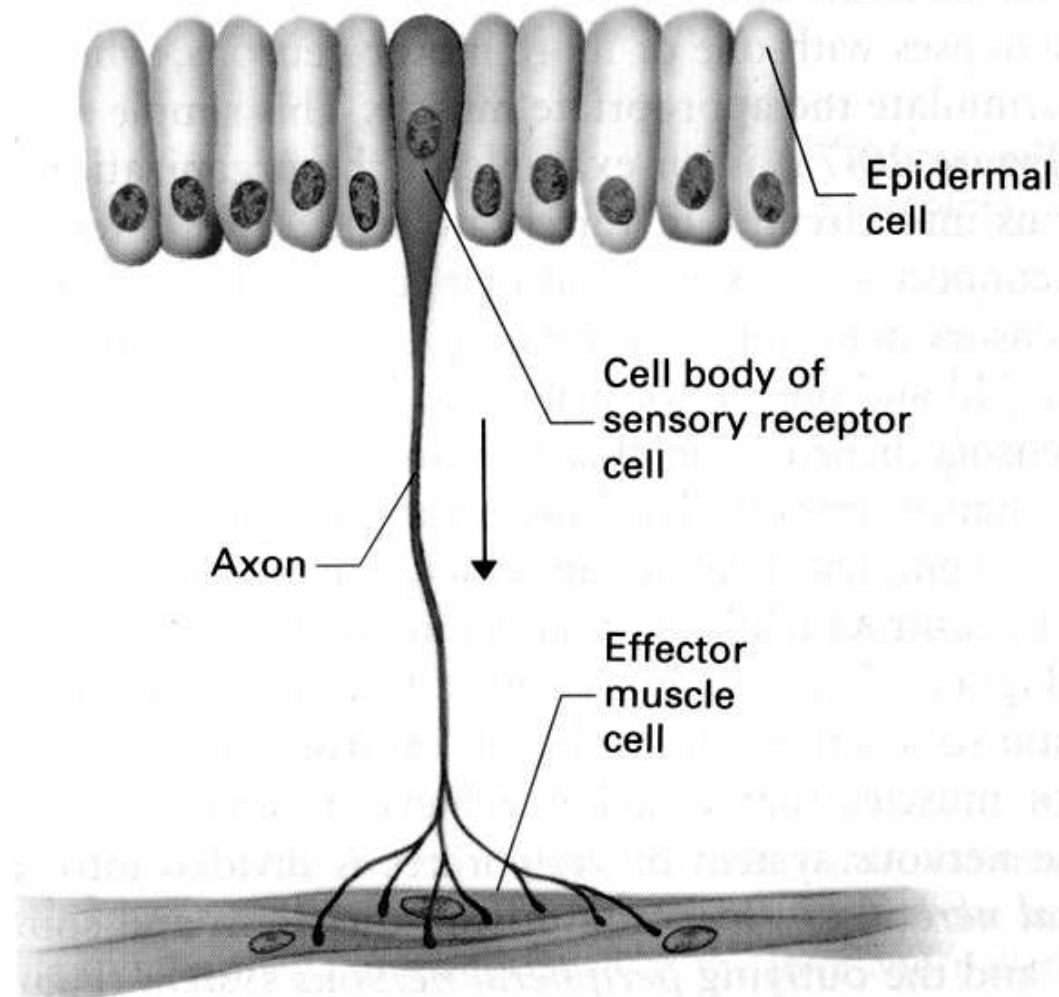
Vznik akčního potenciálu je výsledkem sumarizace změn membránového potenciálu

- jeden neuron může být ovlivněn mnoha excitačními a inhibičními signály z jiných neuronů
- vznik akčního potenciálu závisí na rozsahu porušení rovnováhy protichůdně působících signálů
- akční potenciál vznikne tehdy, překročí-li membránový potenciál prahovou hodnotu

Různé stupně organizace neuronových sítí

- u primitivních mnohobuněčných organismů plní svalové buňky funkci senzoricou
- u složitějších organismů jsou svalové buňky odděleny od povrchu těla - spojení tělního povrchu se svaly je zajištěno senzoricými nervovými buňkami

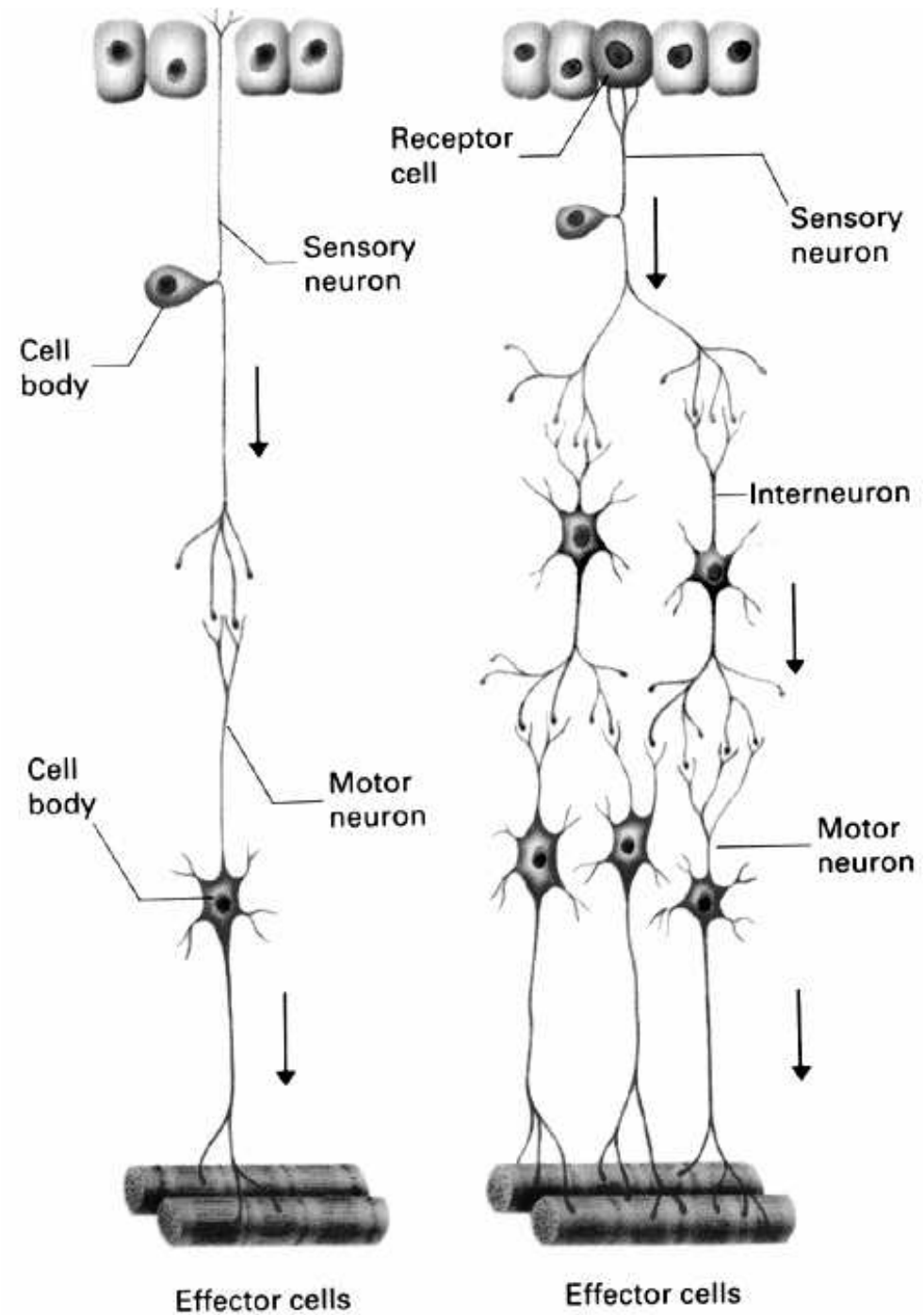
Jednoduchý systém spojení receptoru s efektoem u mořské sasanky



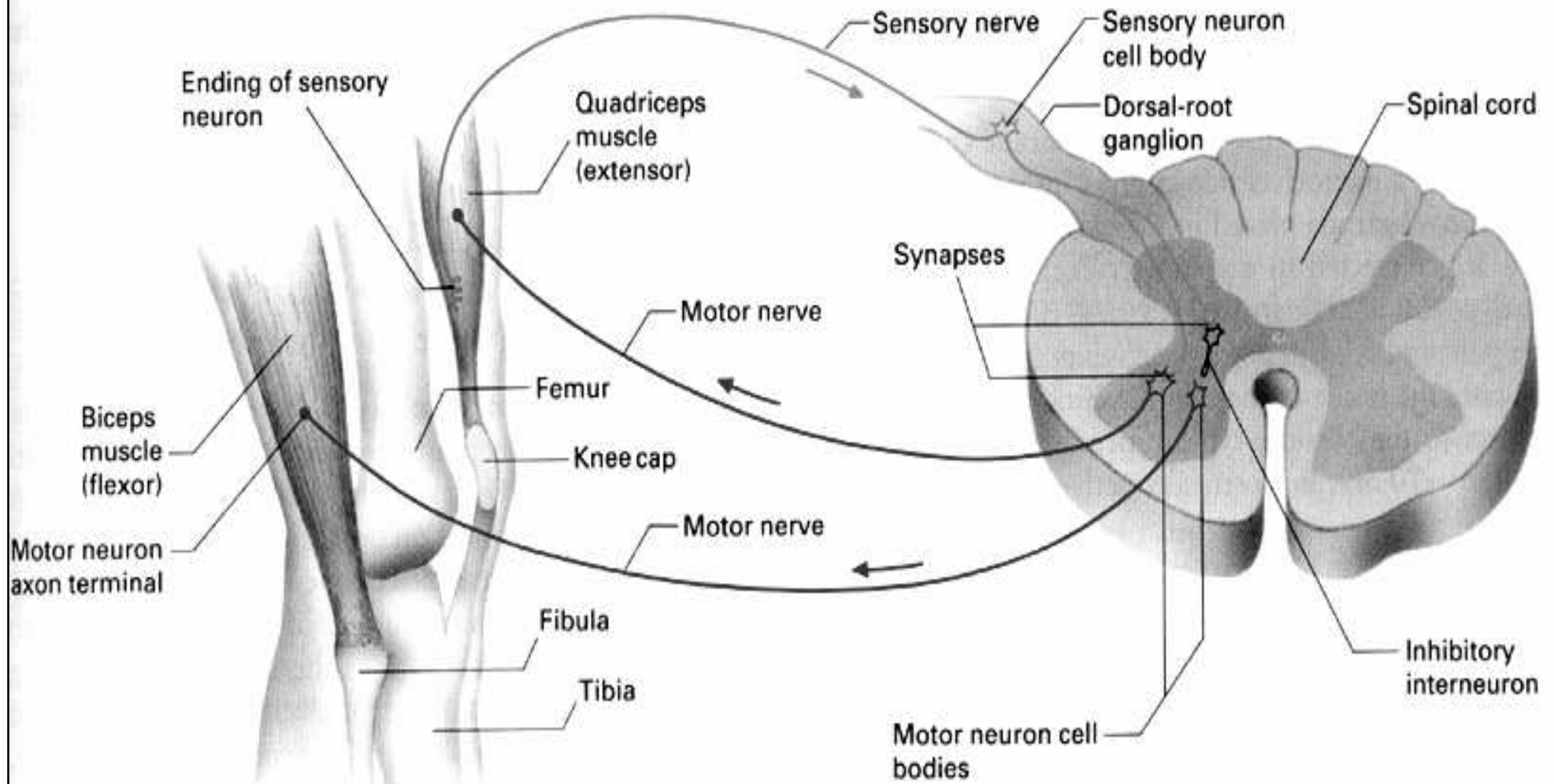
Neurony jsou u vyšších organismů organizovány do okruhů

- u bezobratlých: senzorický neuron - motorický neuron - efektor
- u obratlovců: receptor (nikoliv neuron) - senzorický neuron - interneurony - motorický neuron - efektor

Organizace nervových drah



Příklad reflexního oblouku u člověka



Organizace nervového systému obratlovců

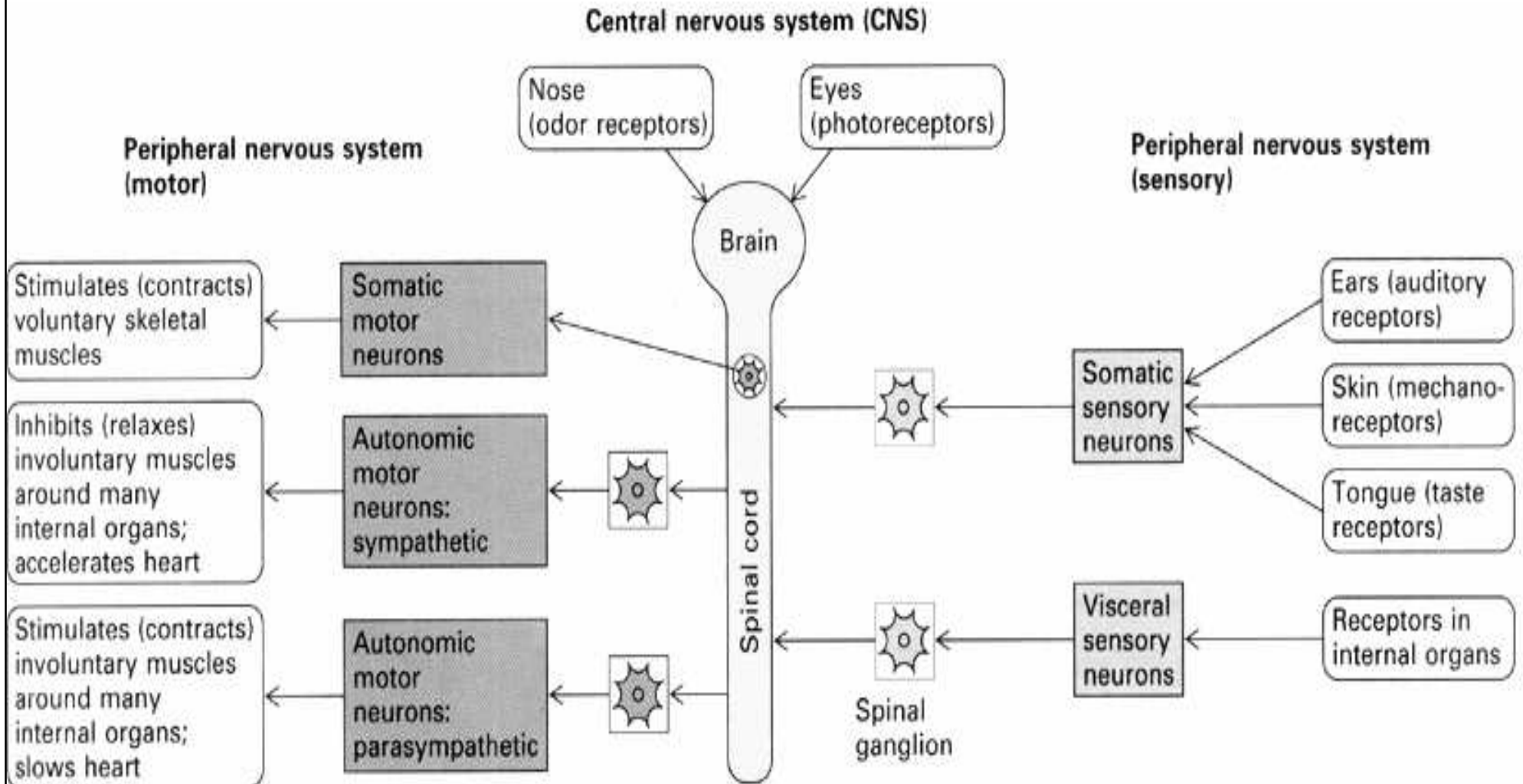
Centrální nervový systém (CNS)

- mozek
- mícha

Periferní nervový systém

- senzorické neurony (přenos signálů z receptorů do CNS)
- somatické motorické neurony (inervace kosterního svalstva)
- autonomní motorické neurony (inervace srdce a hladkého svalstva)

Nervový systém obratlovců

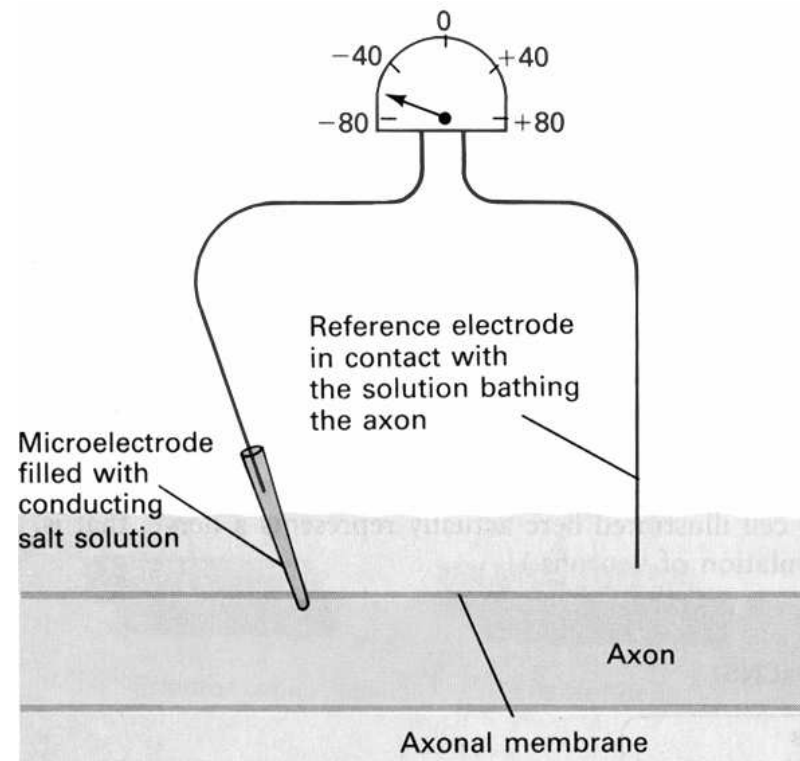


Akční potenciál

- elektrický impuls, který vzniká na rozhraní axonu a těla buňky, postupuje axonem do jeho zakončení a je předán další buňce
- elektrický potenciál existuje na rozhraní všech buněk - u většiny je neměnný (**buňky elektricky inaktivní**)
- u svalových a nervových buněk dochází k řízeným změnám membránového potenciálu (**buňky elektricky aktivní**)
- vznik a vedení akčního potenciálu spočívá v postupné změně permeability plazmatické membrány pro ionty Na^+ a K^+ , která postupuje podél plazmatické membrány

Membránový potenciál lze měřit mikroelektrodami

- vnitřní povrch membrány má negativní náboj vzhledem k povrchu vnějšímu
- klidový potenciál nervových a svalových buněk je kolem -60 mV

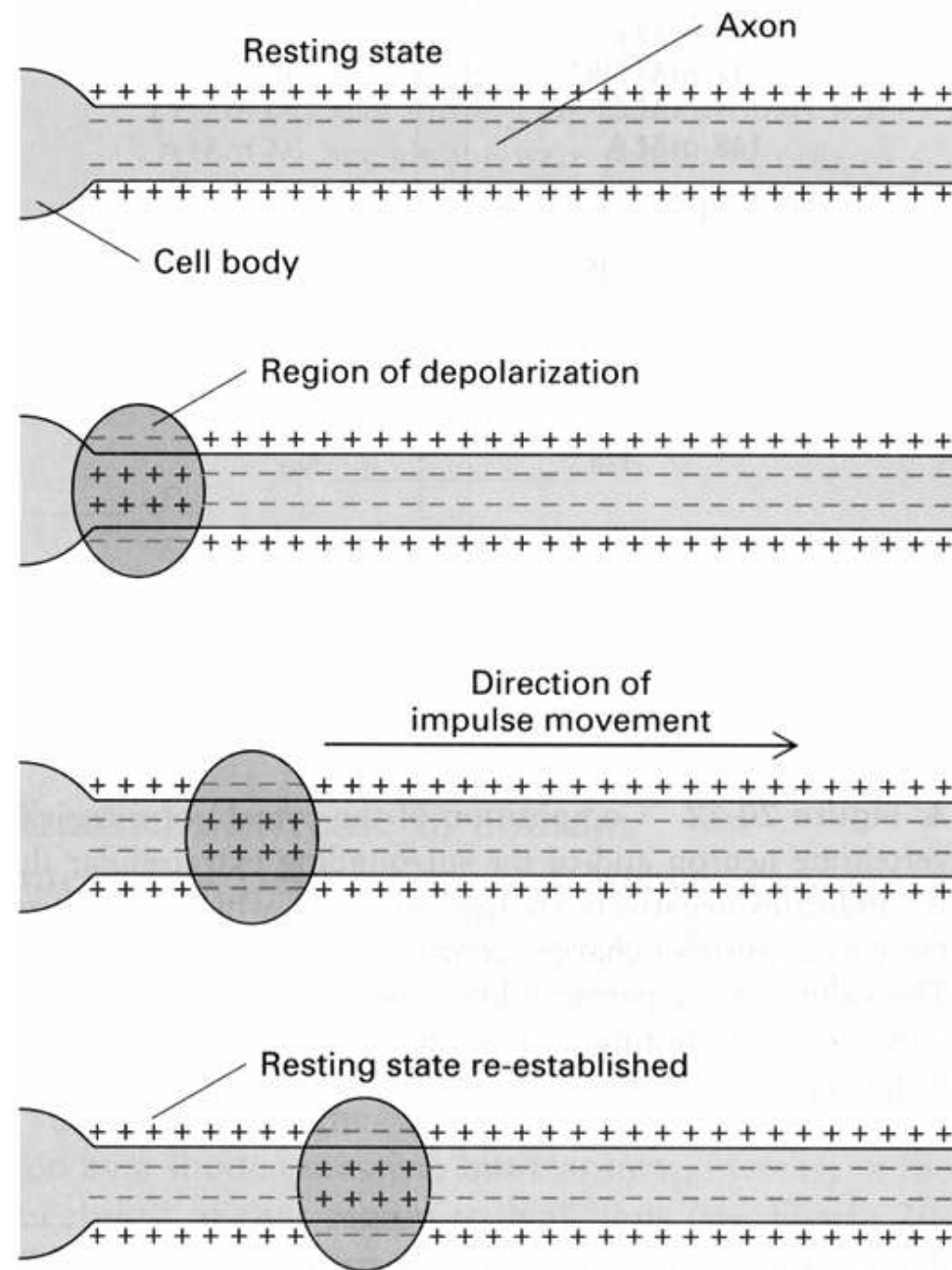


**Akční potenciál odráží postupnou depolarizaci
a repolarizaci určité oblasti membrány
nervové buňky**

- průchod elektrického impulsu neuronem se jeví jako pohyb negativního náboje podél vnějšího povrchu neuronu
- podstatou akčního potenciálu je cyklus depolarizace, hyperpolarizace membrány a návratu membránového potenciálu do klidového stavu

Pohyb iontů podél membrány axonu

(b) Current movement



Změny polarizace membrány doprovázející průchod akčního potenciálu

1. Klidový stav:

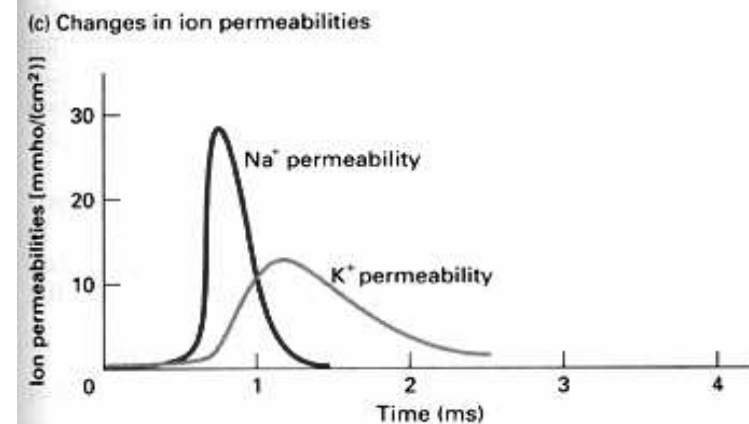
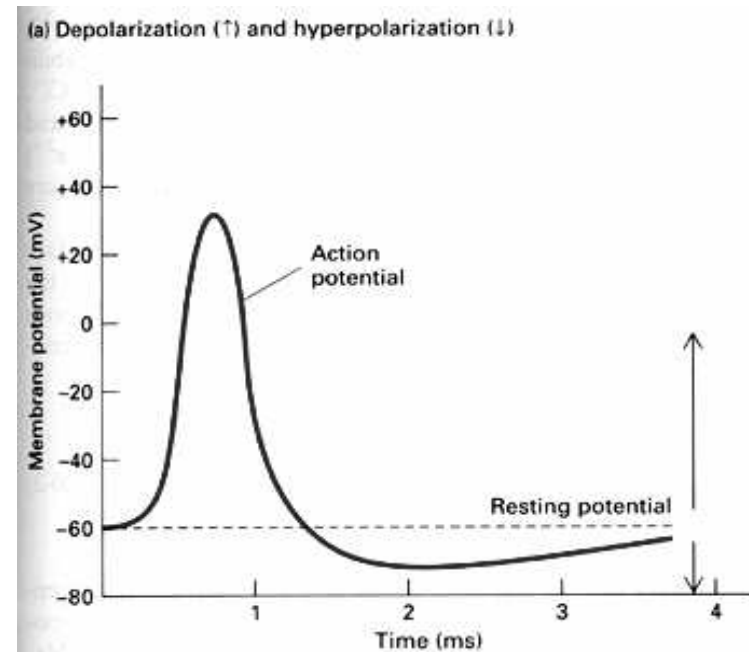
- membránový potenciál -60 mV
- membrána polarizována

2. Průchod akčního potenciálu:

- membránový potenciál $+35\text{ mV}$
- membrána depolarizována

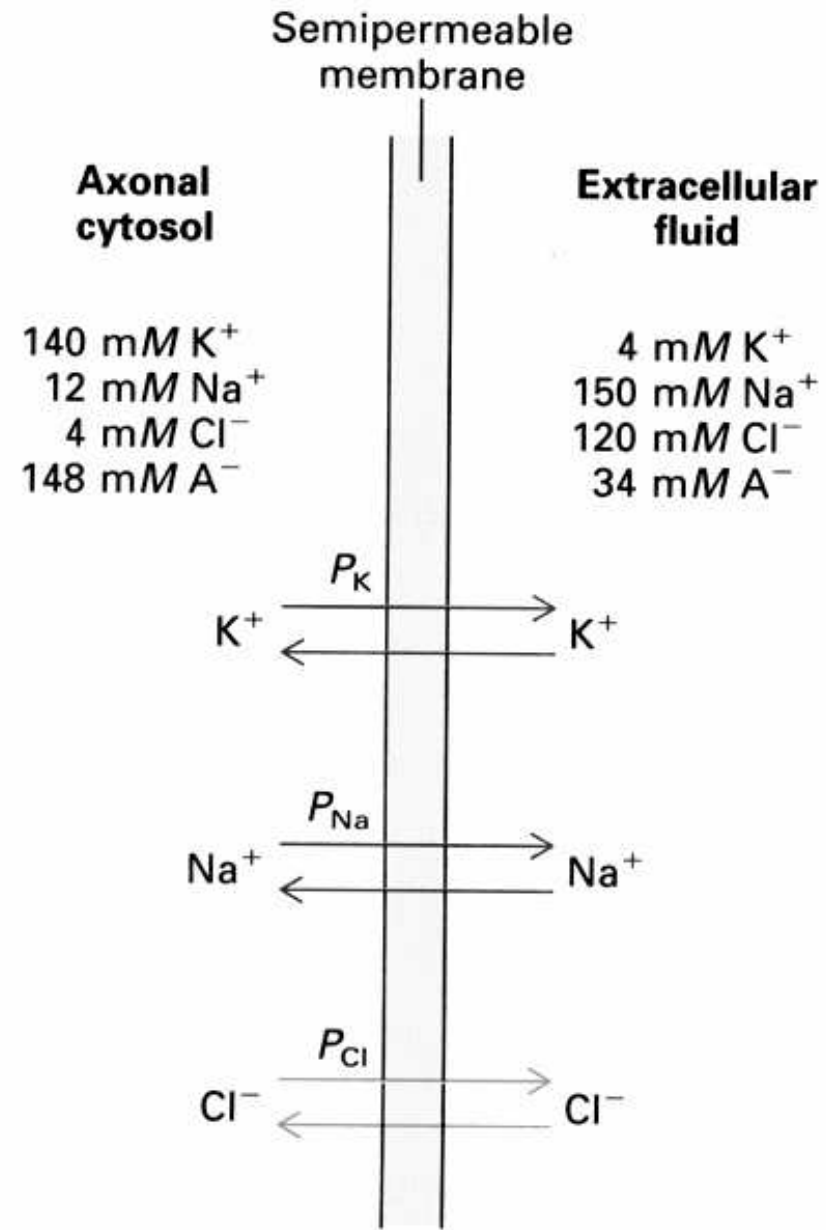
3. Návrat do klidového stavu

- membránový potenciál -75 mV
- membrána hyperpolarizována



Změny iontové permeability membrány způsobují specifické změny membránového potenciálu

- koncentrace iontů K^+ uvnitř buněk je vyšší než vně
- koncentrace iontů Na^+ je vyšší vně než uvnitř buňky
- **koncentrační gradienty** se udržují Na^+/K^+ ATPázami za spotřeby energie
- plazmatická membrána je **selektivně permeabilní** pro různé kationty a anionty (Na, K, Cl)
- selektivní permeabilita membrány a iontové koncentrační gradienty zajišťují **elektrický potenciál** mezi vnitřkem a vnějškem buňky



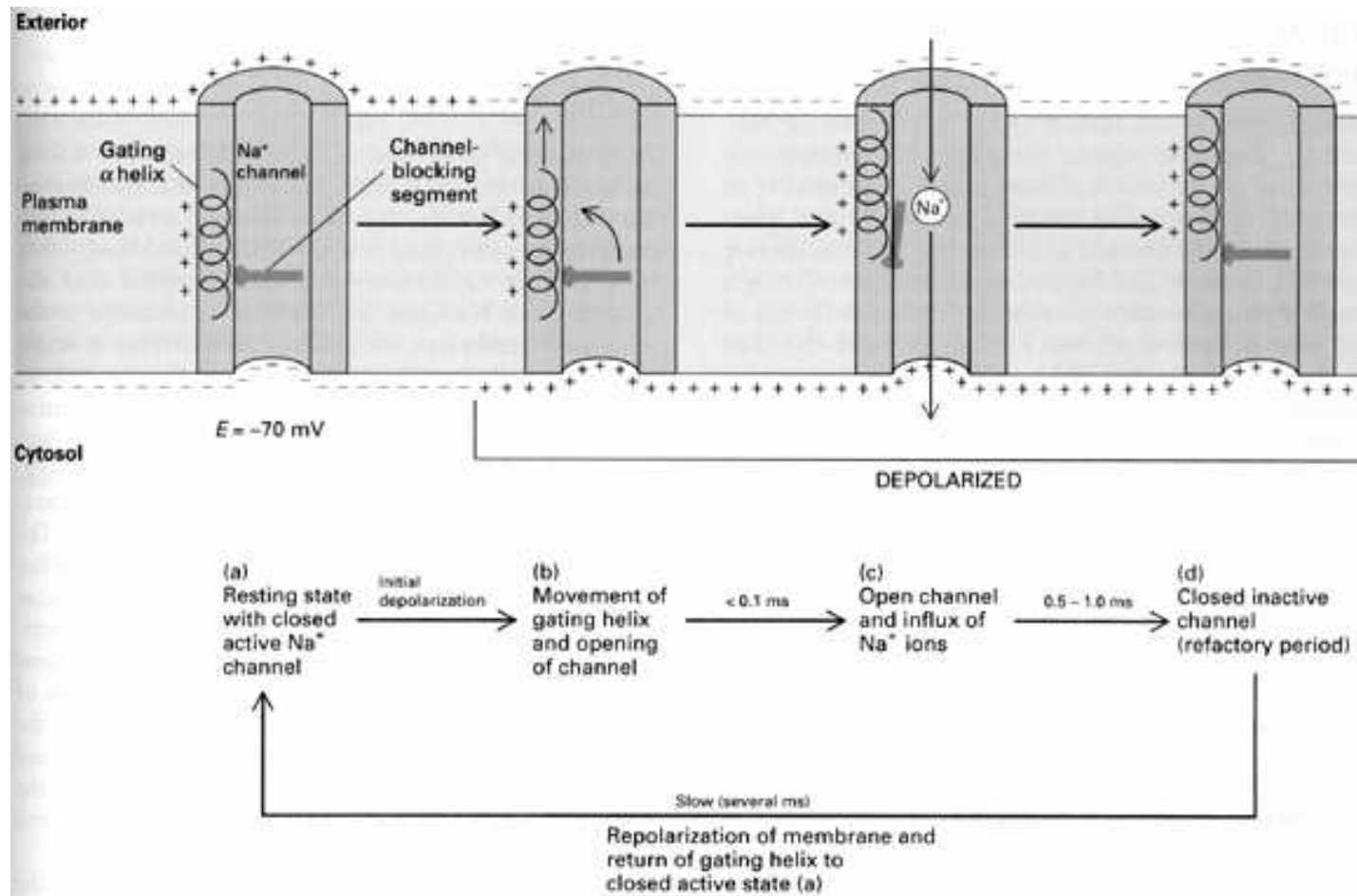
Akční potenciál a depolarizace membrány

- depolarizace membrány: chvilková propustnost pro ionty Na^+ , které intenzivně pronikají do cytoplazmy
- zvýšenou propustnost membrány pro ionty Na^+ způsobují proteiny pro transport iontů Na^+ , které jsou závislé na napětí - tzv. **sodíkové kanálky**, které se při depolarizaci membrány přechodně otevírají
- **sodné ionty pronikají dovnitř buňky kombinací dvou sil: koncentračního gradientu a membránového potenciálu**
- sodné ionty pronikající dovnitř buňky přinášejí pozitivní náboje na vnitřní stranu membrány - membrána se dále depolarizuje - otevírají se další Na^+ kanálky
- po dosažení určité hodnoty potenciálu se přísun iontů Na^+ do buňky zastavuje (koncentrační gradient se vyrovná s membránovým potenciálem)

Sodíkové kanálky závislé na napětí

- tvořeny proteiny, jejichž konformace určuje stupeň propustnosti pro ionty Na^+
- u nestimulovaných buněk jsou sodíkové kanálky uzavřeny
- čím větší je stupeň depolarizace, tím větší je pravděpodobnost otevření kanálků
- kanálky se otevírají na 1 ms a pak se spontánně uzavírají
- 1 kanálek umožňuje průchod cca 6000 iontů Na^+
- bezprostředně po svém uzavření (několik ms) kanálky nemohou být znovu otevřeny

Funkce sodíkového kanálku závislého na napětí

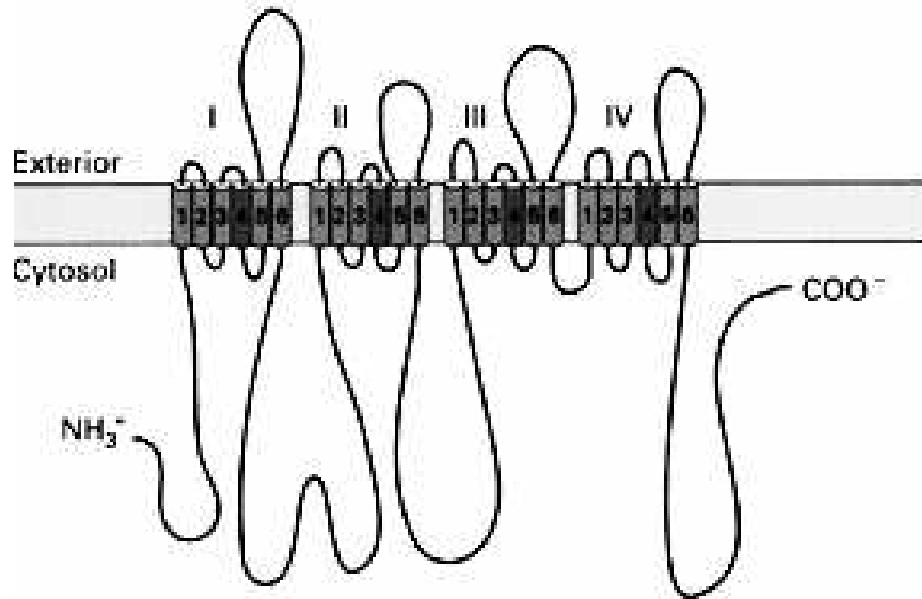


Struktura proteinů tvořících sodíkové kanálky

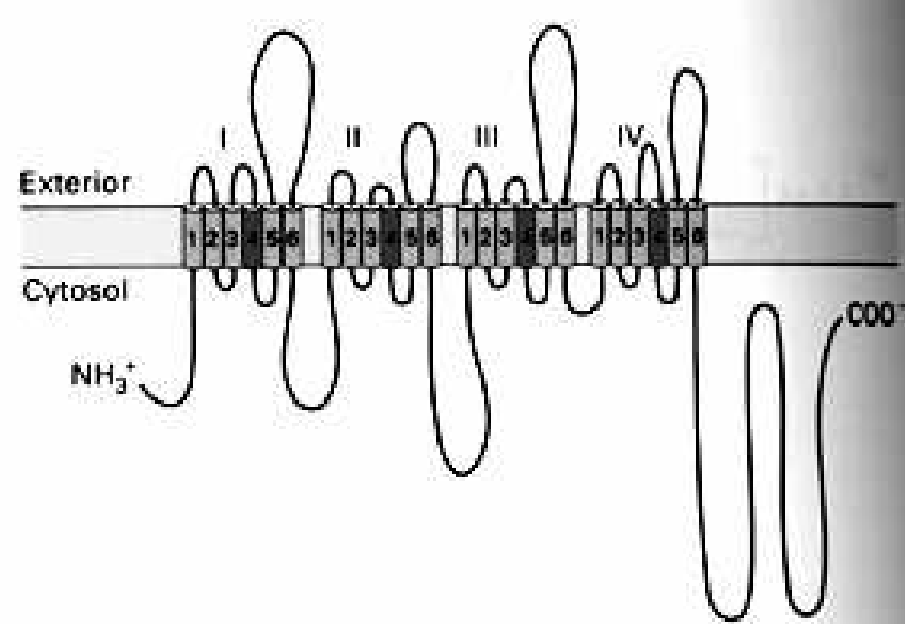
- úspěšná purifikace proteinů tvořících sodíkové kanálky afinitní chromatografií prostřednictvím neurotoxinů, které specificky vážou a inhibují funkci Na^+ kanálků - zabraňují tvorbě akčních potenciálů (**tetrodoxin a saxitoxin**)
- hlavní složkou - jediný polypeptid, který obsahuje 4 homologní transmembránové domény (každá cca 300 AA)
- transmembránové domény jsou propojeny kratšími nehomologními úseky
- při otevření iontového kanálku při změně potenciálu dochází k pohybu 4 - 6 pozitivních nábojů transmembránového helixu kanálkového proteinu z vnitřního povrchu membrány k vnějšímu - konformační změna - otevření kanálku

Struktura kanálových proteinů

(a) Voltage-gated Na⁺ channel protein



(b) Voltage-gated Ca²⁺ channel protein



Voltage-gated Na⁺ channel

Helix 4: *domain I* S A L R T F R V L R A L K T I S V I P G L K
domain II G L S V L R S F R L L R V F K L A K S W P
domain III G A I K S L R T L R A L R P L R A L S R F E
domain IV R V I R L A R I G R I L R L I K G A K G I R

Voltage-gated Ca²⁺ channel

Helix 4: *domain I* K A L R T F R V L R P L R V L S G V P S L Q
domain II L G I S V L R C I R L L R L F K I T K Y W T
domain III S V V K I L R V L R A L R P L R A I N R A K
domain IV I S S A F F R L F R V M R L I K L L S R A E

Experiment

Otázka: Zodpovídají zbytky argininu a lysinu za otevření Na⁺ kanálku při depolarizaci membrány?

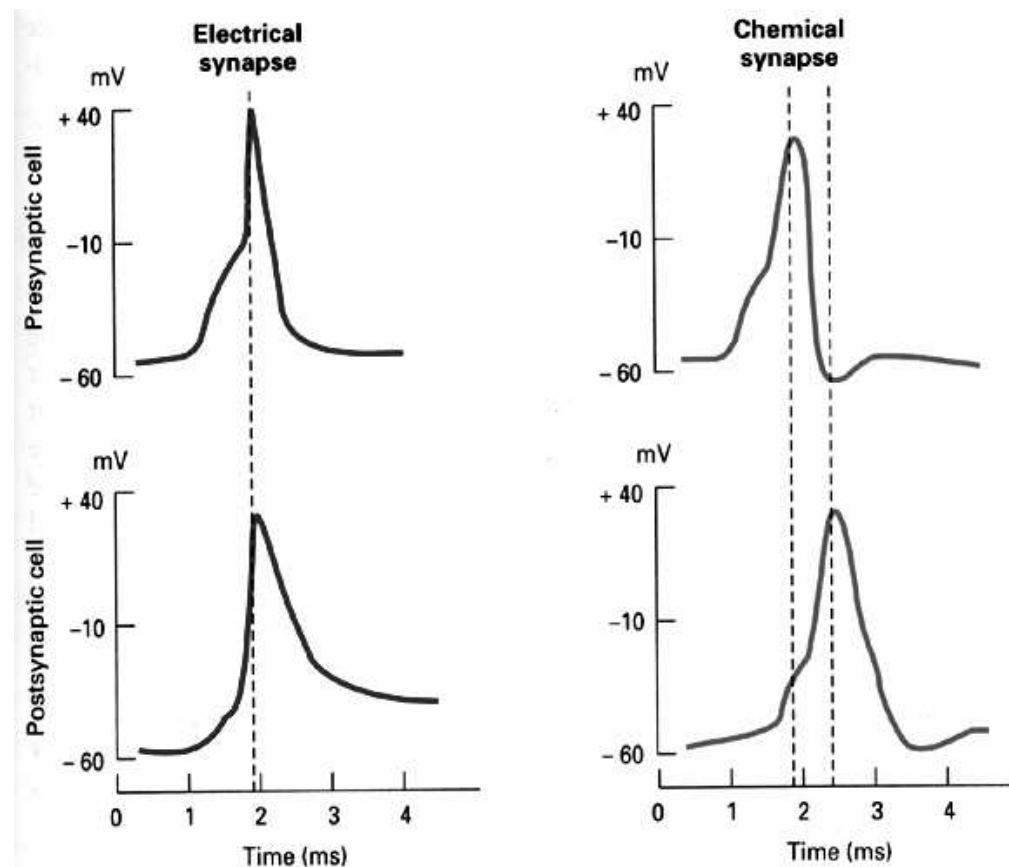
Strategie: Nahrazení zbytků Arg a Lys v helixech α kanálkového proteinu za neutrální aminokyseliny (“site-directed mutagenesis”).

Pozorování: Mutantní proteiny tvoří kanálky se sníženou schopností otevření při depolarizaci membrány.

Odpověď: ANO.

Přenos impulsů mezi buňkami

u chemických synapsí je stimulace postsynaptické buňky zpomalena o cca 0,5 ms - čas nutný pro sekreci a difúzi chemického přenašeče a stimulaci postsynaptické buňky



Typy chemických přenašečů

- obvykle aminokyseliny nebo jejich deriváty a malé peptidy, méně často ATP, adenosin
- nejčastější typ: acetylcholin
- přenašeč se váže na receptor v membráně postsynaptické buňky, který funguje jako iontový kanálek závislý na vazbě ligandu –následkem je změna permeability membrány
- obvyklé je méně přímé propojení mezi vazbou ligandu a otevřením kanálku (účast proteinu G)

Cholinergní synapse

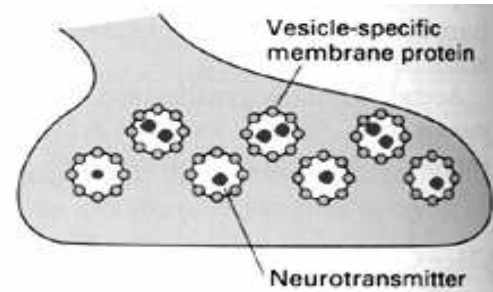
- synapse neuron / neuron nebo neuron / svalová buňka, kde přenašečem je **acetylcholin**
- acetylcholin se syntetizuje v cytozolu z acetyl koenzymu A a cholinu enzymem **cholinacetyltransferázou**
- acetylcholin se koncentruje v synaptických vezikulech uspořádaných do řad v oblasti zakončení axonů
- exocytoza acetylcholinu do synaptické štěrbiny je indukována zvýšením obsahu iontů Ca^{2+} v cytozolu po otevření iontových kanálků Ca^{2+} v membráně axonu, které vyvolává depolarizace membrány

Exocytóza měchýřků obsahujících chemický přenašeč

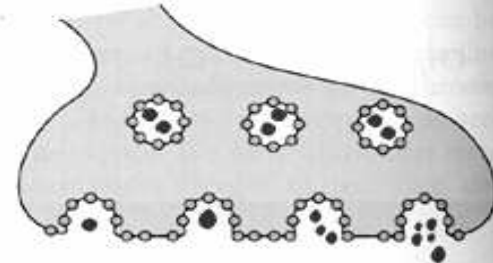
- fúze membrány vezikulu s plazmatickou membránou, následuje znovuvytvoreání vezikulu (nedochází k zvětšování povrchu membrány)
- **recyklování vezikulů** je rychlé (mohou plnit svou funkci několikrát za vteřinu) a specifické (do vezikulů jsou uzavírány charakteristické proteiny (**synaptofysin**))
- koordinace pohybu vezikulů: propojení vlákniny **synapsinu I**
- na synapsin se váže **spektrin**, který paprscitě vybíhá z plazmatické membrány podél synaptické štěrbiny
- acetylcholin uvolněný z vezikulů difunduje synaptickou štěrbinou a váže se na receptory v membráně postsynaptické buňky - přechodné zvýšení permeability pro ionty Na^+ a K^+

Exocytóza chemických přenašečů

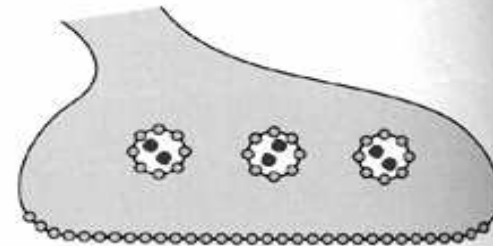
(a) Resting state



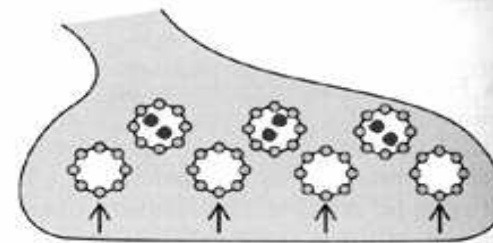
(b) Stimulation and exocytosis of vesicles



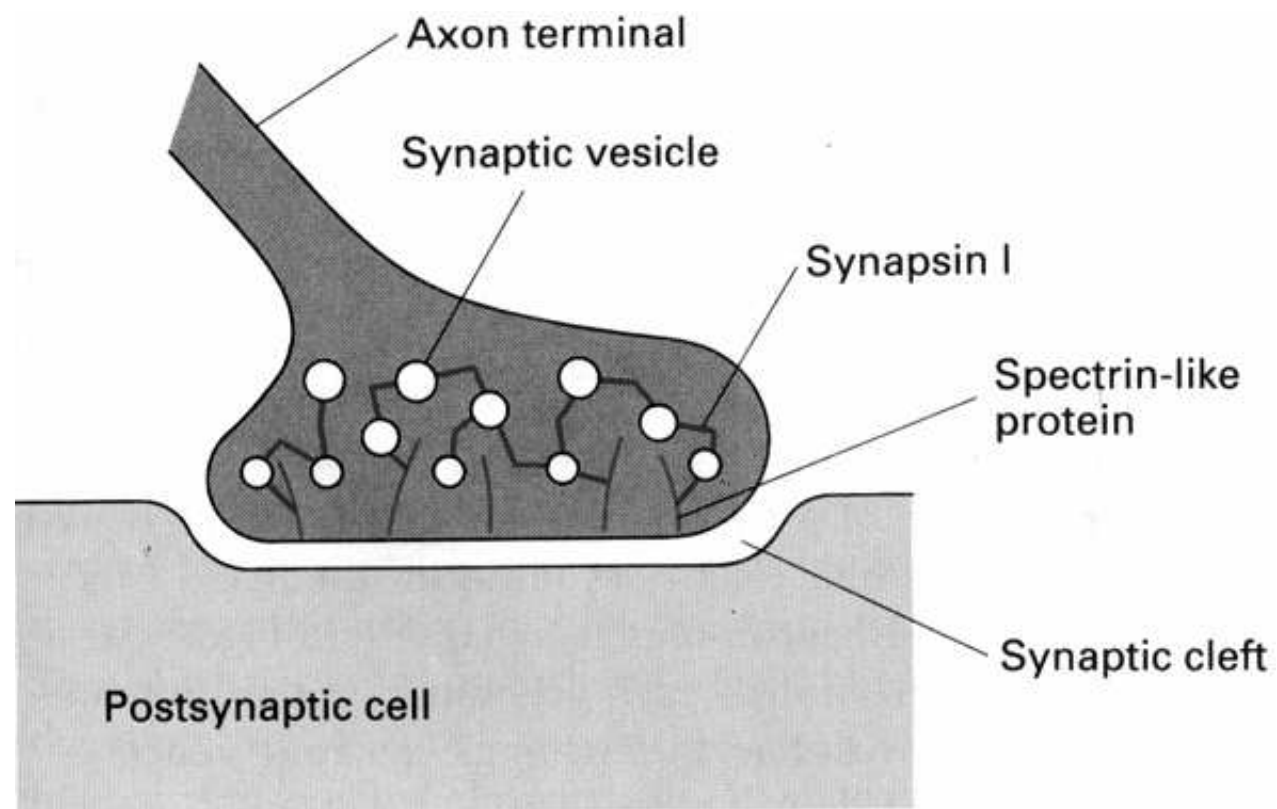
(c) Vesicle membrane protein is integrated into plasma membrane

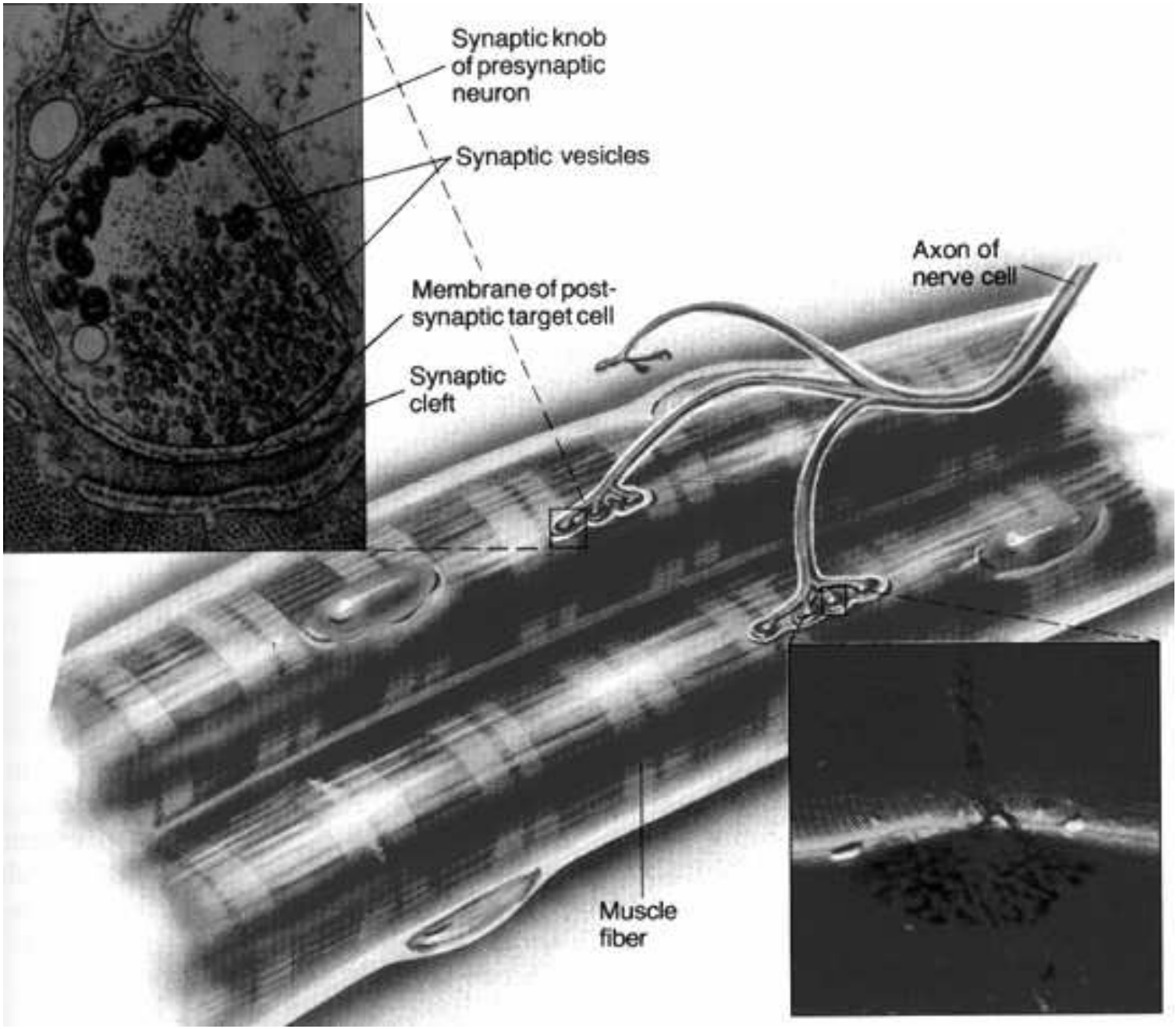


(d) Recovery of vesicle membrane by endocytosis



Propojení měchýřků v zakončení axonu

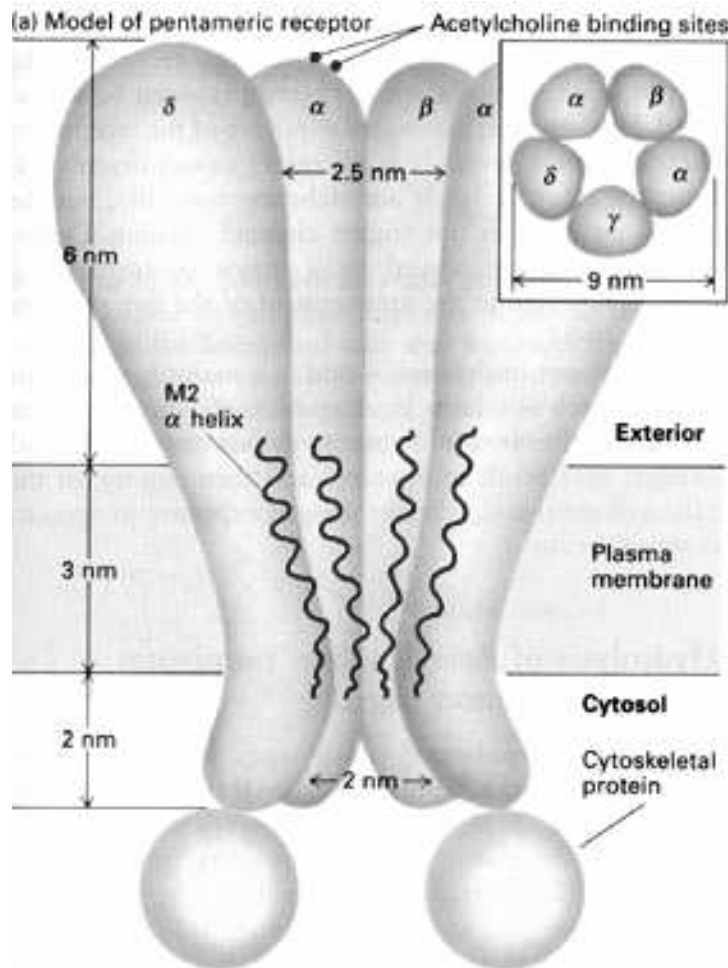




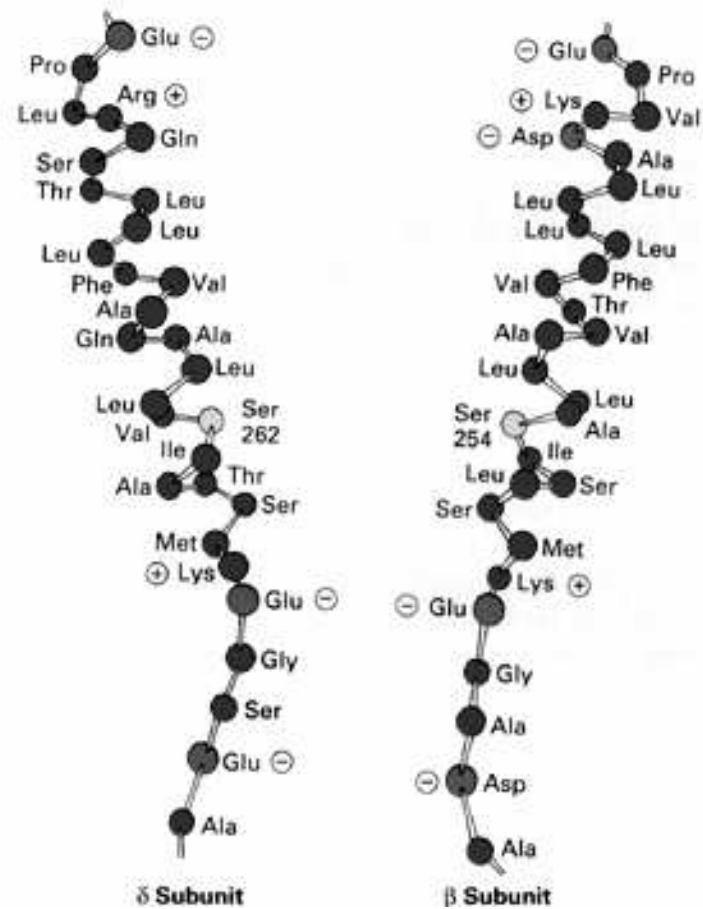
Struktura acetylcholinových receptorů

- složen z 5 podjednotek (2 řetězce α a po jednom řetězci β , γ , δ), které obklopují otvor o průměru cca 2,5 nm
- k podjednotce α se vážou dvě molekuly acetylcholinu
- každá podjednotka obsahuje 4 nebo 5 transmembránových helixů, nejdůležitějším z nich je **helix M2**
- na koncích helixu M2 jsou negativně nabitě zbytky kyseliny glutamové a asparagové - důležité pro transport iontů Na^+ a K^+ přes membránu

Struktura receptoru pro acetylcholin



(b) Sequence of M2 helices



Odstranění přenašeče ze synaptické štěrbiny

3 mechanismy:

- difúze přenašeče mimo štěrbinu
- odebrání přenašeče presynaptickou buňkou
- enzymatická degradace přenašeče

- u cholinergních synapsí je acetylcholin rozložen **acetylcholinesterázou**
- tento enzym je lokalizován v synaptické štěrbině, kde je navázán na vlákna kolagenu bazální laminy

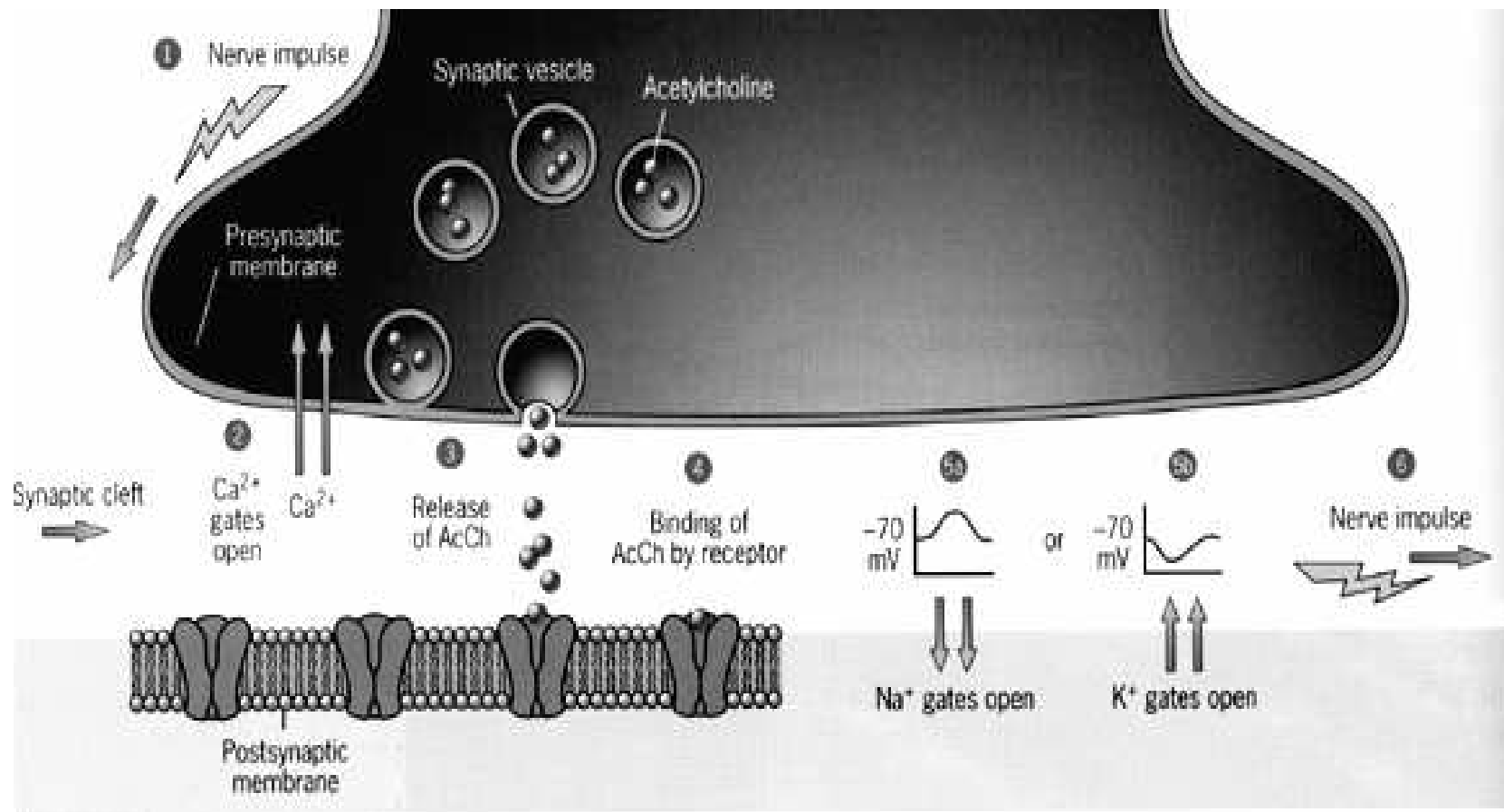
Mechanismus synapse

- nervový impuls dosáhne zakončení axonu
- depolarizace membrány vyvolá otevření kanálků pro Ca^{2+}
- ionty Ca^{2+} pronikající do cytoplazmy neuronu z mimobuněčného prostředí vyvolají fúzi membrán synaptických vezikulů s membránou plazmatickou
- přenašeč uvolněný z vezikulů proniká synaptickou štěrbinou a váže se na receptory v membráně postsynaptické buňky

Dva různé účinky přenašeče na postsynaptickou buňku

- navázaný přenašeč vyvolá otevření membránových sodíkových kanálků - průnik Na^+ - snížení membránového potenciálu - zvýšená pravděpodobnost vzniku akčního potenciálu v postsynaptické buňce
- navázaný přenašeč vyvolá otevření membránových draslíkových kanálků - únik K^+ z buňky nebo chloridových kanálků - průnik Cl^- do buňky. Zvýšená negativita vnitřního povrchu membrány - zvýšení membránového potenciálu (hyperpolarizace) - snížená pravděpodobnost vzniku akčního potenciálu v postsynaptické buňce

Mechanism synapse

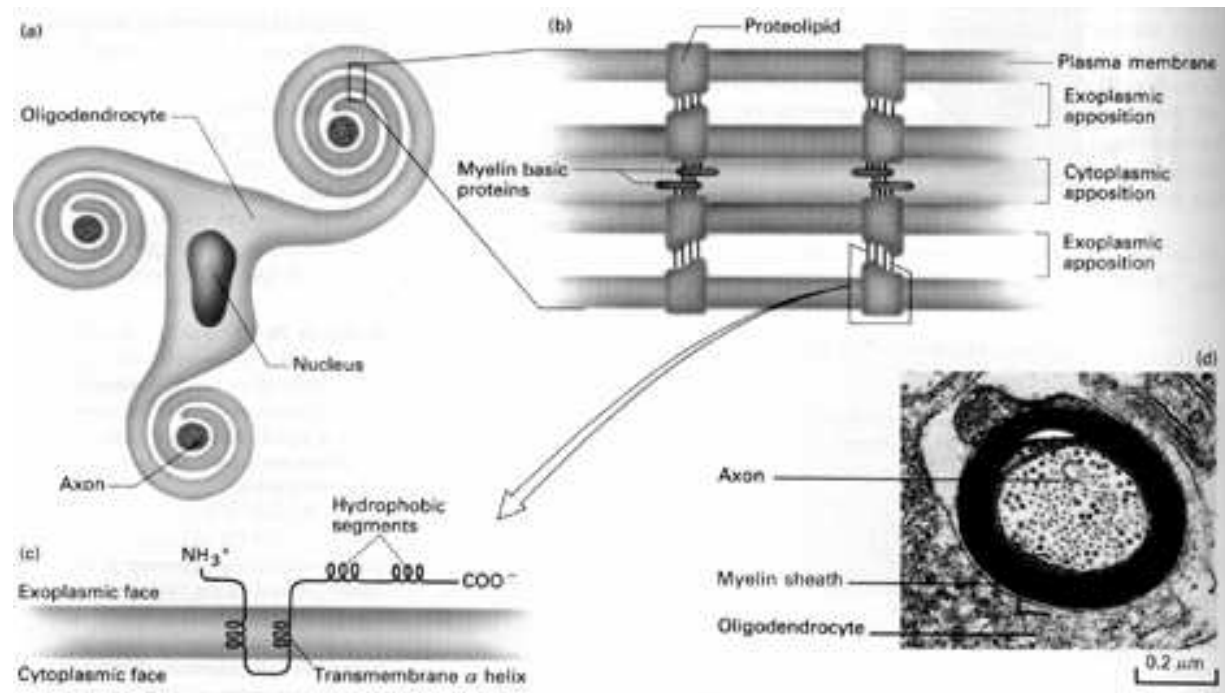


Gliové buňky

- u periferních nervů: **Schwannovy buňky**
- u centrálního nervového systému: **oligodendrocyty**
- vyplňují prostory mezi neurony a **vyživují je**
- podíl na **regulaci funkce** neuronů - např. **tvorba myelinové pochvy**, která obklopuje axony neuronů (myelin je komplex vrstev plazmatických membrán gliových buněk)
- specializace gliových buněk pro tvorbu myelinu se objevuje převážně jen u obratlovců

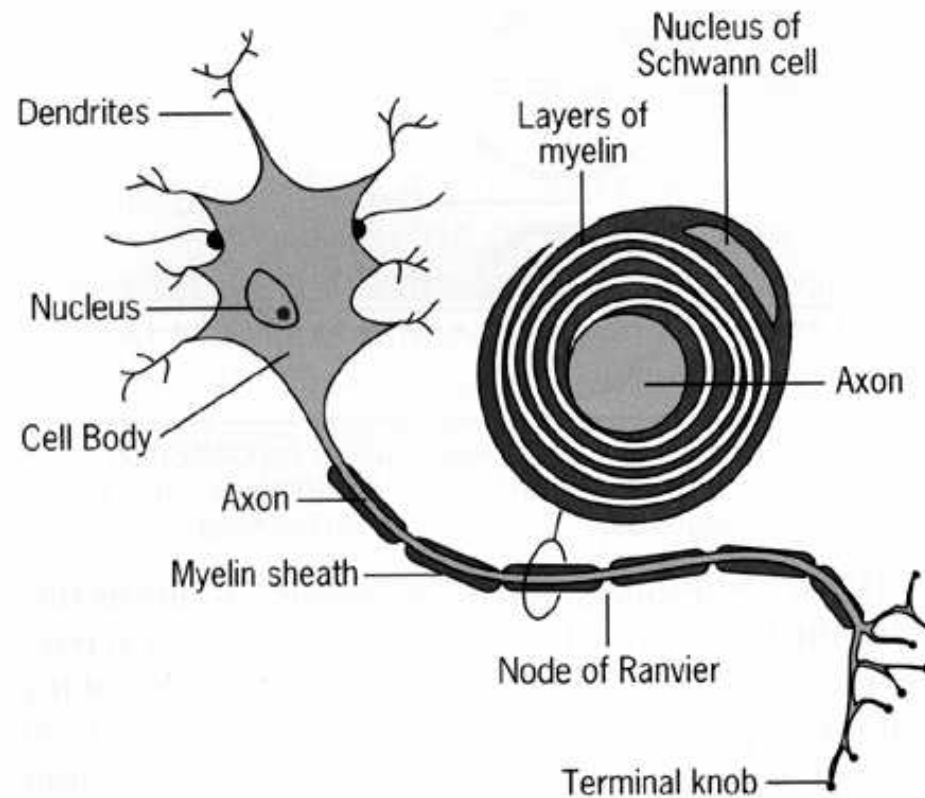
Myelinace zvyšuje rychlost průchodu elektrických impulsů

- myelinová membrána: fosfolipidová dvojvrstva s malým počtem typů proteinů
- u CNS se v myelinu gliových buněk objevují **proteolipidy** a **bazické myelinové proteiny**, které umožňují těsné skládání membrán na sebe



Periferní nervový systém

- v myelinu jiné typy proteinů než u CNS
- jeden axon je obklopen myelinem tvořeným několika gliovými buňkami - tvorba charakteristických myelinových úseků oddělených **Ranvierovými uzly**



Myelinová pochva

- **elektrický izolátor axonu** - znemožňuje výměnu iontů mezi cytoplazmou axonu a extracelulární tekutinou - urychlení šíření akčního potenciálu
- **poruchy myelinace**: ztráta myelinu v mozkových a míšních oblastech - zpomalení vedení akčních potenciálů - **skleróza**

