

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 6

ΤΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΤΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

Η κυτταρική μεμβράνη

Κάθε κύτταρο στο σώμα μας περιβάλλεται από εξωκυττάριο υγρό. Η κυτταρική μεμβράνη διαχωρίζει το εσωτερικό των κυττάρων από το εξωκυττάριο περιβάλλον και αποτελείται από φωσφολιπίδια, τα οποία περιέχουν μια υδρόφιλη κεφαλή (φωσφορική ομάδα) και δυο υδρόφοβες ουρές λιπιδίων. Τα φωσφολιπίδια που συναντώνται στις κυτταρικές μεμβράνες είναι η λεκιθίνη, η σφιγγομυελίνη, και η φωσφατιδυλοσερίνη. Τα φωσφολιπίδια σχηματίζουν μια διπλοστοιβάδα όπου οι υδρόφιλες κεφαλές βρίσκονται στις άκρες και οι υδρόφοβες ουρές προς το εσωτερικό. Βασική λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης είναι η επιλεκτική μεταφορά μορίων μεταξύ του ενδο- και έξω-κυττάριου χώρου, ώστε ένα κύτταρο να λαμβάνει τις ουσίες που χρειάζεται, όπως οξυγόνο, ιόντα, γλυκόζη, αμινοξέα, και να αποβάλλει αυτές που δεν χρειάζεται, όπως το διοξείδιο του άνθρακα.

Εκτός από τα φωσφολιπίδια, στην κυτταρική μεμβράνη υπάρχει και πληθώρα πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στη μεμβράνη συμμετέχουν στη επικοινωνία μεταξύ κυττάρων, στην πρόσδεση ουσιών που βρίσκονται στον εξωκυττάριο χώρο και στη μετάδοση του σήματος της κάθε ουσίας ενδοκυττάρια, στη μεταφορά ιόντων και άλλων ουσιών που δεν είναι διαπερατές στη μεμβράνη, κλπ.

Οι ουσίες μετακινούνται είτε παθητικά, αν δεν χρειάζεται κατανάλωση ενέργειας ή ενεργητικά, αν απαιτείται ενέργεια (ATP) για τη μεταφορά τους. Στην **παθητική μεταφορά**, μια ουσία μεταφέρεται από το διαμέρισμα με μεγαλύτερη συγκέντρωση (της συγκεκριμένης ουσίας) στο διαμέρισμα με μικρότερη συγκέντρωση. Παραδείγματα παθητικής μεταφοράς είναι α) η διάχυση, β) η ώσμωση και γ) η διευκολυνόμενη μεταφορά. Η διάχυση είναι η μεταφορά μιας ουσίας από την περιοχή μεγαλύτερης συγκέντρωσης σε περιοχή μικρότερης συγκέντρωσης, δια μέσου της διπλοστοιβάδας φωσφολιπιδίων και χωρίς τη βοήθεια κάποιας πρωτεΐνης. Η διάχυση ουσιών είναι δυνατή μόνο στην περίπτωση που η ουσία είναι μικρή σε μέγεθος και σημαντικά λιπόφιλη ώστε να 'διασχύσει' τη διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων. Η ώσμωση αναφέρεται στη διάχυση του νερού, ενώ η διευκολυνόμενη μεταφορά είναι η μετακίνηση μορίων με τη βοήθεια μιας πρωτεΐνης ενσωματωμένης στη μεμβράνη, χωρίς τη χρήση ενέργειας. Οι διάυλοι ιόντων, πρωτεΐνες που επιτρέπουν την ελεγχόμενη διέλευση ιόντων, συμμετέχουν σε διευκολυνόμενη μεταφορά και συγκεκριμένα διευκολυνόμενη διάχυση. Στην **ενεργητική μεταφορά**, μια ουσία μεταφέρεται από το διαμέρισμα με χαμηλή συγκέντρωση της συγκεκριμένης ουσίας προς το διαμέρισμα με υψηλή συγκέντρωση. Παράδειγμα ενεργητικής μεταφοράς είναι η αντλία νατρίου/καλίου, η οποία μεταφέρει 3 ιόντα νατρίου στον εξωκυττάριο χώρο και 2 ιόντα καλίου στον ενδοκυττάριο χώρο, μετά από διάσπαση ενός

μορίου ATP (δράση ενζύμου ATPάσης). Με αυτό τον τρόπο, η λειτουργία της αντλίας νατρίου/καλίου διατηρεί την αυξημένη συγκέντρωση νατρίου στον εξωκυττάριο χώρο και την αυξημένη συγκέντρωση καλίου στον ενδοκυττάριο χώρο (δες την παρακάτω παράγραφο) ή επαναφέρει τις συγκεντρώσεις αυτές μετά από μια διαταραχή (π.χ. έκλυση δυναμικού ενέργειας).

Το εξωκυττάριο υγρό είναι πλούσιο σε διάφορα είδη ιόντων, τα οποία καθορίζουν τη σωστή λειτουργία του κυττάρου. Η διπλοστοιβάδα φωσφολιπιδίων και η ελεγχόμενη μεταφορά των ιόντων από τη μεμβράνη έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία διαφορετικών συγκεντρώσεων ιόντων εκατέρωθεν της μεμβράνης. Οι εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια συγκεντρώσεις των βασικότερων ιόντων στα ζωικά κύτταρα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1: Συγκεντρώσεις ιόντων στον εξωκυττάριο και ενδοκυττάριο χώρο

Ιόν	Εξωκυττάριος χώρος	Ενδοκυττάριος χώρος
Na ⁺	145mM	15mM
K ⁺	4mM	150mM
Cl ⁻	110mM	10mM
Ca ⁺⁺	2mM	10 ⁻⁸ M
Mg ⁺⁺	2mM	0.5mM
P _i	2mM	40mM
H ⁺	10 ⁻⁷ M	10 ⁻⁷ M
πρωτεΐνη	0.2mM	4mM
HCO ⁻³	0.2Mm	4mM
pH	7.4	7.0

Καθώς τα ιόντα είναι θετικά ή αρνητικά φορτισμένα μόρια, η διαφοροποίηση των συγκεντρώσεών τους εκατέρωθεν της μεμβράνης και η παρουσία ιοντικών διαύλων στην κυτταρική μεμβράνη καθορίζουν το δυναμικό της μεμβράνης. Το δυναμικό της μεμβράνης επηρεάζεται από τρεις παράγοντες:

- A) τη συγκέντρωση των ιόντων στον ενδοκυττάριο και εξωκυττάριο χώρο (κυρίως του νατρίου, καλίου και χλωρίου)
- B) τη διαπερατότητα της μεμβράνης σε αυτά τα ιόντα, κάτι που εξαρτάται από το είδος των ιοντικών διαύλων και τον τρόπο λειτουργίας τους
- Γ) τη λειτουργία αντλιών, όπως η αντλία νατρίου/καλίου.

Επίδραση της συγκέντρωσης των ιόντων στο δυναμικό της μεμβράνης

Η εξωκυττάρια και η ενδοκυττάρια συγκέντρωση του κάθε ιόντος καθορίζουν το δυναμικό ισορροπίας για το συγκεκριμένο ιόν. Το δυναμικό ισορροπίας μπορεί να υπολογιστεί βάσει της εξίσωσης του Νερστ.

Εξίσωση 1 – Η εξίσωση του Νερστ

$$V = \frac{R \times T}{z \times F} \times \ln \frac{[Co]}{[Ci]}$$

Όπου, R είναι η σταθερά αερίων, T είναι η θερμοκρασία, z είναι το σθένος του ιόντος, F είναι η σταθερά Faraday, $[Co]$ είναι η συγκέντρωση του ιόντος X στο εξωκυττάριο υγρό, και $[Ci]$ είναι η συγκέντρωση του ιόντος X στο ενδοκυττάριο υγρό (κυτταρόπλασμα). Η εξίσωση του Νερστ στην απλοποιημένη της μορφή έχει ως εξής:

Εξίσωση 2 – Η εξίσωση του Νερστ στην απλοποιημένη μορφή της

$$V = \frac{59}{z} \times \log \frac{[Co]}{[Ci]}$$

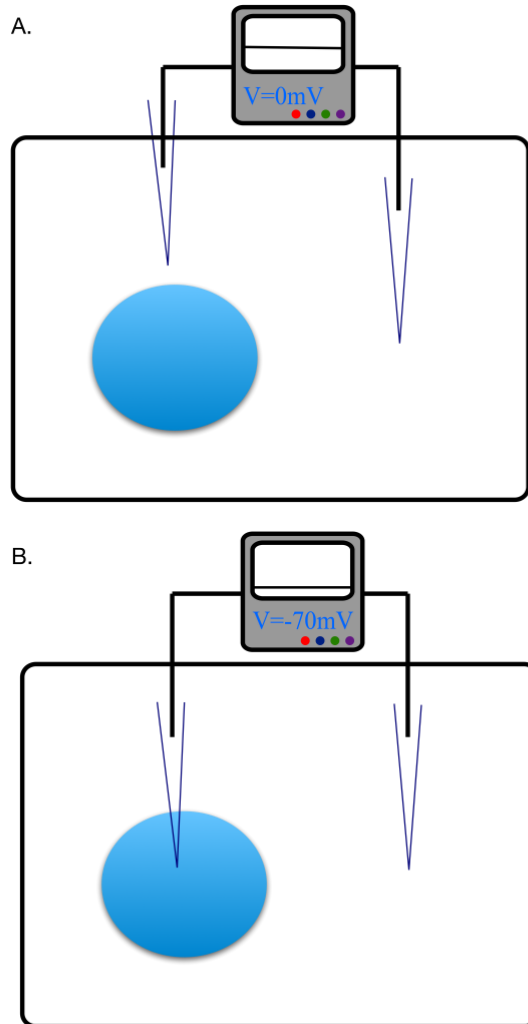
Όπου, z είναι το σθένος του ιόντος, $[Co]$ είναι η συγκέντρωση του ιόντος X στο εξωκυττάριο υγρό, και $[Ci]$ είναι η συγκέντρωση του ιόντος X στο ενδοκυττάριο υγρό (κυτταρόπλασμα).

Η εξίσωση του Νερστ υπολογίζει το δυναμικό της μεμβράνης όταν ένα ιόν γίνει πλήρως διαπερατό στη μεμβράνη. Με βάση την εξίσωση του Νερστ το δυναμικό ισορροπίας εξαρτάται από την εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια συγκέντρωση του ιόντος καθώς και από το σθένος του. Αλλάζοντας την εξωκυττάρια συγκέντρωση του ιόντος αλλάζει και το δυναμικό ισορροπίας του. Η αλλαγή του δυναμικού ισορροπίας διαφορετικών ιόντων έχει επίδραση και στο δυναμικό της μεμβράνης. Παρακάτω, θα περιγράψουμε την επίδραση των εξωκυττάρια συγκεντρώσεων των ιόντων στο δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης.

Δυναμικό ηρεμίας

Το δυναμικό ηρεμίας ενός κυττάρου μπορεί να οριστεί ως η διαφορά δυναμικού, μεταξύ του ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια χώρου όταν το κύτταρο βρίσκεται σε ηρεμία, δηλαδή όταν δεν δέχεται κάποιου είδους ερέθισμα (π.χ. περιβαλλοντικό, πρόσδεση ορμονών ή νευροδιαβιβαστών). Πειραματικά, μπορούμε να μετρήσουμε το δυναμικό ηρεμίας ενός κυττάρου με την τοποθέτηση ενός ηλεκτροδίου στο εσωτερικό του κυττάρου και ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς στο εξωτερικό του κυττάρου (Εικόνα 4). Όταν το ηλεκτρόδιο βρίσκεται στο εξωκυττάρια υγρό, η διαφορά δυναμικού που καταγράφεται από το ηλεκτρόδιο αναφοράς είναι 0mV, καθώς και το ηλεκτρόδιο αναφοράς βρίσκεται επίσης στο εξωκυττάρια υγρό. Μόλις το ηλεκτρόδιο εισέλθει στο εσωτερικό του κυττάρου, ο

παλμογράφος άμεσα καταγράφει μια αρνητική διαφορά δυναμικού μεταξύ του ενδοκυττάριου χώρου και του εξωκυττάριου υγρού. Αυτή η αρνητική διαφορά δυναμικού αποτελεί το δυναμικό ηρεμίας του κυττάρου, και στα νευρικά κύτταρα είναι συνήθως γύρω στα -70mV .



Εικόνα 4

Διάταξη καταγραφής του δυναμικού ηρεμίας από τον ενδοκυττάριο χώρο ενός νευρικού κυττάρου. Α. Διάταξη των ηλεκτροδίων όταν αυτά βρίσκονται στο εξωκυττάριο διάλυμα και τα δύο. Β. Διάταξη των ηλεκτροδίων για την καταγραφή του δυναμικού ηρεμίας (το δυναμικό ηρεμίας εμφανίζεται στον παλμογράφο)

Διαφορετικά είδη κυττάρων έχουν διαφορετικό δυναμικό ηρεμίας.

- Σκελετικά και καρδιακά μυϊκά κύτταρα: -80 mV
- Νευρώνες: -70 mV
- Λεία μυϊκά κύτταρα: -50 έως -60 mV
- Άλλα κύτταρα: -30 ως -60 mV

- Ερυθροκύτταρα -10 mV

Το δυναμικό ηρεμίας στα κύτταρα καθορίζεται από την α) εξωκυττάρια συγκέντρωση του καλίου, β) τη δράση της αντλίας νατρίου/καλίου και γ) τη λειτουργία ιοντικών διαύλων καλίου που υπάρχουν πάνω στη μεμβράνη.

Μικρές αλλαγές στην εξωκυττάρια συγκέντρωση του καλίου αλλάζουν σημαντικά το δυναμικό ηρεμίας του κυττάρου. Μπορείτε να υπολογίσετε αυτές τις αλλαγές με την εξίσωση Goldman-Hodgkin-Katz (εξίσωση 4)

$$\text{Εξίσωση 4} - V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{p_K [K^+]_o + p_{Na} [Na^+]_o + p_{Cl} [Cl^-]_i}{p_K [K^+]_i + p_{Na} [Na^+]_i + p_{Cl} [Cl^-]_o} \right)$$

Η αντλία νατρίου-καλίου είναι ένας ενεργητικός μεταφορέας και μεταφέρει 3 μόρια νατρίου στον εξωκυττάριο χώρο και 2 μόρια καλίου στον ενδοκυττάριο χώρο ενάντια στην ηλεκτροχημική τους διαβάθμιση και με τη διάσπαση ενός μορίου ATP. Η λειτουργία της αντλίας νατρίου-καλίου βοηθάει στη διατήρηση των συγκεντρώσεων του νατρίου και του καλίου τόσο στον εξωκυττάριο όσο και στον ενδοκυττάριο χώρο.

Οι διάυλοι που είναι πολύ σημαντικοί για τη διατήρηση του δυναμικού ηρεμίας του κυττάρου είναι κυρίως διάυλοι καλίου, και συγκεκριμένα ένα είδος διαύλων καλίου που ονομάζονται εισερχόμενοι διάυλοι ανορθοτές καλίου (inward rectifying potassium, IRK). Οι διάυλοι αυτοί κωδικοποιούνται από τα γονίδια IRK ή Kir. Κάθε υπομονάδα IRK αποτελείται από 2 διαμεμβρανικές περιοχές. Τέσσερις αντίστοιχες υπομονάδες αλληλεπιδρούν για να σχηματίσουν ένα διάυλο. Αυτοί οι διάυλοι είναι ενεργοποιημένοι όταν το κύτταρο βρίσκεται σε ηρεμία. Επειδή, λοιπόν, όταν το κύτταρο βρίσκεται σε κατάσταση ηρεμίας υπάρχει διαρροή ιόντων καλίου μέσω αυτών των διαύλων, οι διάυλοι αυτοί ονομάζονται διάυλοι διαρροής.

Δυναμικό ενεργείας

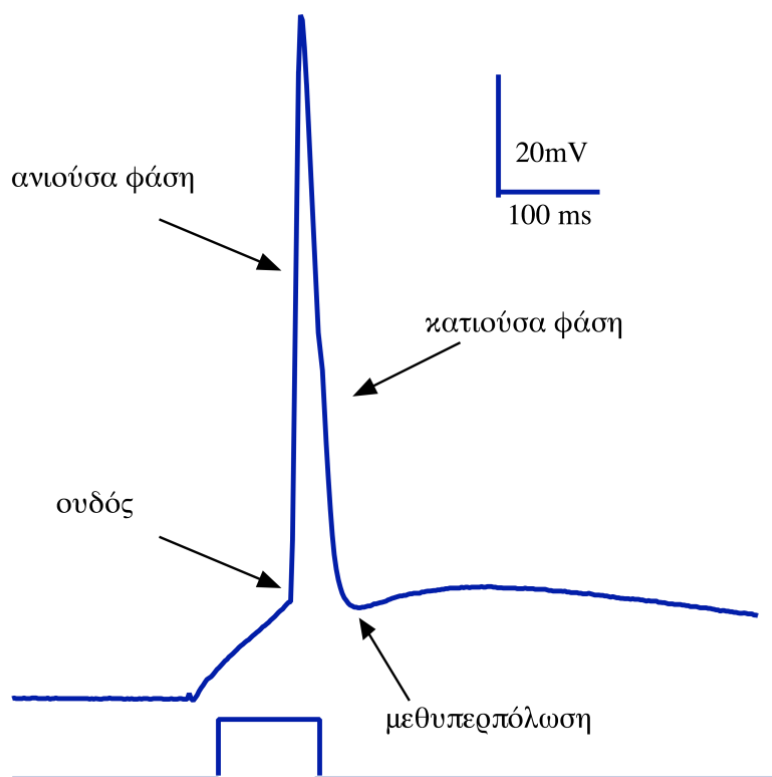
Οι νευρώνες επικοινωνούν μεταξύ τους καθώς και με τα μυϊκά ή άλλα κύτταρα με νευρικές ώσεις ή δυναμικά ενεργείας. Δυναμικά ενεργείας αναπτύσσονται επίσης και στα μυϊκά και καρδιακά κύτταρα, όπου δίνουν το έναυσμα για τη συστολή.

Το δυναμικό ενεργείας είναι μια παροδική μεταβολή στο δυναμικό της μεμβράνης. Κατά τη διάρκεια του δυναμικού ενεργείας, το δυναμικό της μεμβράνης ουσιαστικά αντιστρέφεται, και από αρνητικό (-70mV σε κατάσταση ηρεμίας) γίνεται θετικό και φτάνει το +40 mV στην κορυφή του. Το δυναμικό ενεργείας ενεργοποιείται όταν το δυναμικό της μεμβράνης ξεπεράσει κάποιο συγκεκριμένη τιμή, γύρω στα -50mV. Αυτή η τιμή ονομάζεται **ουδός** και μπορεί να διαφέρει από κύτταρο σε

κύτταρο. Το δυναμικό ενεργείας εμφανίζεται με τη μορφή «όλον ή ουδέν». Αυτό σημαίνει ότι η ένταση του ερεθίσματος, από τη στιγμή που ξεπεραστεί η ουδός του κυττάρου, δεν επηρεάζει το μέγεθος του δυναμικού ενεργείας.

Η καμπύλη του δυναμικού ενεργείας μπορεί να χωριστεί στις παρακάτω φάσεις (Εικόνα 5).

- 1) εκπόλωση μέχρι την ουδό
- 2) ανιούσα φάση
- 3) μέγιστη τιμή
- 4) κατιούσα φάση
- 5) μεθυπερπόλωση

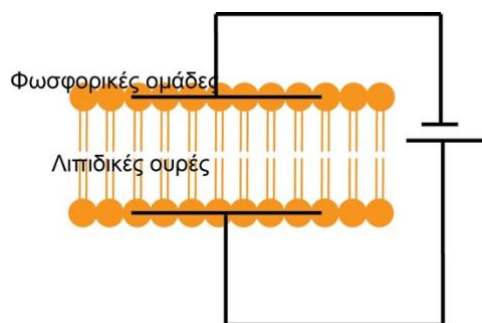


Εικόνα 5: Το δυναμικό ενέργειας

Υπάρχουν διάλυτοι ιόντων Na^+ και K^+ που ανοίγουν εξαιτίας της διαφοράς δυναμικού της μεμβράνης (τασο-ελεγχόμενοι). Όλα τα χαρακτηριστικά του δυναμικού ενεργείας μπορούν να γίνουν κατανοητά μέσω των μοριακών ιδιοτήτων των ιοντικών καναλιών και τις ηλεκτροχημικές διαβαθμίσεις των Na^+ και K^+ . Συγκεκριμένα, οι τασο-ελεγχόμενοι διάλυτοι νατρίου ανοίγουν πολύ γρήγορα σε μια εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης, και επιτρέπουν την εισροή ιόντων νατρίου στον

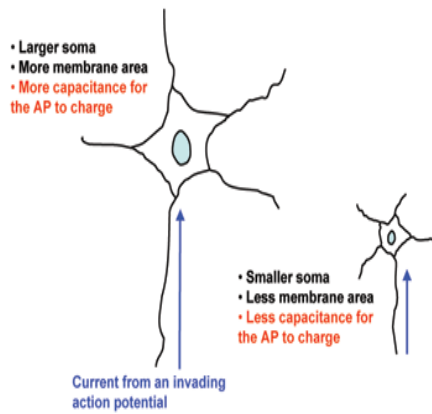
ενδοκυττάριο χώρο. Το εισερχόμενο ρεύμα νατρίου προκαλεί μια μεγάλη και γρήγορη εκπόλωση της μεμβράνης. Επομένως, οι δίαυλοι νατρίου είναι υπεύθυνοι για την ουδό και το ύψος του δυναμικού ενεργείας. Οι τασο-ελεγχόμενοι δίαυλοι καλίου ανοίγουν πιο αργά σε μια εκπόλωση του δυναμικού της μεμβράνης και επιτρέπουν τη μεταφορά ιόντων καλίου προς τον εξωκυττάριο χώρο με αποτέλεσμα να υπερπολώνεται η μεμβράνη, δηλαδή το δυναμικό της μεμβράνης γίνεται πιο αρνητικό. Το εξερχόμενο ρεύμα καλίου είναι υπεύθυνο για τη φάση επαναπόλωσης του δυναμικού ενεργείας.

Για αυτή την άσκηση θα χρησιμοποιήσετε ένα απλοποιημένο μοντέλο ενός νευρώνα. Οι ηλεκτρικές ιδιότητες ενός νευρικού κυττάρου μπορούν να μοντελοποιηθούν/αναπαρασταθούν ως ένα ηλεκτρικό κύκλωμα. Η διπλοστοιβάδα φωσfolιπιδίων εξαιτίας της δομής της προβάλλει αντίσταση στην ελεύθερη μετακίνηση των ιόντων και μπορεί να θεωρηθεί ισοδύναμη με έναν **πυκνωτή** ενός ηλεκτρικού κυκλώματος, δηλαδή μια συσκευή που αποθηκεύει ηλεκτρικό φορτίο. Κάθε πυκνωτής αποτελείται από δύο αγωγούς ανάμεσα στους οποίους παρεμβάλλεται μονωτικό υλικό. Στην περίπτωση της μεμβράνης, αγωγοί είναι οι κεφαλές των φωσfolιπιδίων, ενώ μονωτής οι λιπιδικές ουρές (Εικόνα 6).



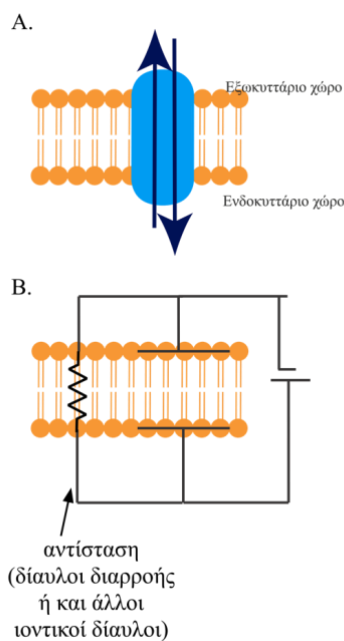
Εικόνα 6: Σχηματική αναπαράσταση της δομής της κυτταρικής μεμβράνης η οποία της δίνει την ιδιότητα του πυκνωτή.

Κάθε πυκνωτής, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά, έχει τη δυνατότητα να αποθηκεύσει συγκεκριμένο ηλεκτρικό φορτίο. Το χαρακτηριστικό του αυτό ονομάζεται χωρητικότητα. Η λιπιδική διπλοστοιβάδα έχει χωρητικότητα $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, που εξαρτάται από τη δομή και τις ιδιότητες των λιπιδίων της. Η χωρητικότητα της διπλοστοιβάδας δεν μπορεί να τροποποιηθεί με κάποιο φυσικό τρόπο, αλλά μπορεί να είναι διαφορετική σε διαφορετικά κύτταρα, ανάλογα με το μέγεθος του σώματός τους.



Εικόνα 7. Ένα κύτταρο με μεγαλύτερο σώμα έχει και μεγαλύτερη χωρητικότητα, ενώ ένα κύτταρο με μικρότερο σώμα έχει μικρότερη χωρητικότητα.

Η ικανότητα των διαύλων ιόντων να επιτρέπουν την κίνηση ιόντων, και άρα ηλεκτρικού ρεύματος, τους προσδίδει τη λειτουργία των αντιστάσεων. Επομένως, μπορούμε να αναπαραστήσουμε τη κυτταρική μεμβράνη με ένα κύκλωμα RC (Εικόνα 8), όπου ο πυκνωτής αντιπροσωπεύει τη διπλοστοιβάδα φωσφολιπιδίων και η αντίσταση προσομοιώνει τους διαύλους διαρροής ή και άλλους ιοντικούς διαύλους όπως θα δούμε παρακάτω.



Εικόνα 8

A. Σχηματική απεικόνιση ενός διαύλου ιόντων

B. Σχηματική απεικόνιση της μεμβράνης ως ισοδύναμο ηλεκτρικό κύκλωμα. Η διπλοστοιβάδα φωσφολιπιδίων έχει το ρόλο του πυκνωτή, η αντλία νατρίου-καλίου το ρόλο της μπαταρίας και οι διάυλοι ιόντων, το ρόλο της αντίστασης.

ΑΣΚΗΣΕΙΣ

Άσκηση 1 - Επίδραση της εξωκυττάριας συγκέντρωσης του νατρίου και του καλίου στο δυναμικό ισορροπίας και δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης.

Για την πραγματοποίηση αυτής, θα χρησιμοποιήσετε το φύλλο εργασίας «ΑΣΚΗΣΗ 1» στο excel αρχείο «ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ-6».

1. Στο πρώτο υπο-ερώτημα θα υπολογίσετε το δυναμικό ισορροπίας του νατρίου με τη χρήση της εξίσωσης του Νερστ σε 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις του νατρίου: α) φυσιολογική (140mM), β) μειωμένη συγκέντρωση νατρίου (100mM) και γ) αυξημένη συγκέντρωση νατρίου (180mM). Στο κελί υπολογισμού της εξίσωσης, γράψτε την εξίσωση του Nerst για να βρείτε το αποτέλεσμα, δηλ. $= (59/[\sigma\theta\acute{\epsilon}\nu\omicron\varsigma]) * \text{LOG}10([\text{εξωκυττάρια συγκέντρωση}]/[\text{ενδοκυττάρια συγκέντρωση}])$

2. Στο δεύτερο υπο-ερώτημα, θα υπολογίσετε το δυναμικό ισορροπίας του καλίου με τη χρήση της εξίσωσης του Νερστ σε 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις του καλίου: α) φυσιολογική (4mM), β) μειωμένη συγκέντρωση καλίου (2mM) και γ) αυξημένη συγκέντρωση καλίου (6mM). Στο κελί υπολογισμού της εξίσωσης, γράψτε την εξίσωση του Nerst για να βρείτε το αποτέλεσμα, δηλ. $= (59/[\sigma\theta\acute{\epsilon}\nu\omicron\varsigma]) * \text{LOG}10([\text{εξωκυττάρια συγκέντρωση}]/[\text{ενδοκυττάρια συγκέντρωση}])$.

3. Στο τρίτο υπο-ερώτημα, θα υπολογίσετε το δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης με τη χρήση της εξίσωσης Goldman-Hodgkin-Katz σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νατρίου και καλίου.

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{p_K [K^+]_o + p_{Na} [Na^+]_o + p_{Cl} [Cl^-]_i}{p_K [K^+]_i + p_{Na} [Na^+]_i + p_{Cl} [Cl^-]_o} \right)$$

Αρχικά, θα υπολογίσετε τον αριθμητή που βρίσκεται στην παρένθεση της παραπάνω εξίσωσης, δηλ. θα γράψετε στο αντίστοιχο κελί τα παρακάτω $= [\text{εξωκυττάρια συγκέντρωση νατρίου}] * [\text{διαπερατότητα νατρίου}] + [\text{εξωκυττάρια συγκέντρωση καλίου}] * [\text{διαπερατότητα καλίου}] + [\text{ενδοκυττάρια συγκέντρωση χλωρίου}] * [\text{διαπερατότητα χλωρίου}]$. Στη συνέχεια, θα υπολογίσετε τον παρονομαστή παραπάνω εξίσωσης, δηλ. θα γράψετε στο αντίστοιχο κελί τα παρακάτω $= [\text{ενδοκυττάρια συγκέντρωση νατρίου}] * [\text{διαπερατότητα νατρίου}] + [\text{ενδοκυττάρια συγκέντρωση καλίου}] * [\text{διαπερατότητα καλίου}] + [\text{εξωκυττάρια συγκέντρωση χλωρίου}] * [\text{διαπερατότητα χλωρίου}]$. Τέλος, θα γράψετε την εξίσωση GHK (στην απλοποιημένη μορφή της) για να υπολογίσετε το δυναμικό της μεμβράνης, δηλ. $= 59 * \text{LOG}10(\text{αριθμητής}/\text{παρονομαστής})$.

Άσκηση 2 – Επίδραση των διαύλων διαρροής και των τασοελεγχόμενων διαύλων καλίου στις

αλλαγές που συμβαίνουν στο δυναμικό της μεμβράνης μετά από ερεθίσματα

Για αυτή την άσκηση, θα χρησιμοποιήσετε το 'google collab' σε συνδυασμό με το φύλλο εργασίας 'ΑΣΚΗΣΗ-2' στο αρχείο excel. Συνδεθείτε στο <https://colab.research.google.com/>. Επιλέξτε Upload και διαλέξτε το αρχείο 'erg6-askisi2.pyrb'

Με τον παρακάτω κώδικα στο περιβάλλον προσομοίωσης NEURON έχουμε φτιάξει έναν απλό νευρώνα

```
soma = h.Section(name='soma')
```

Στη συνέχεια, ορίζουμε τις ιδιότητες του 'νευρώνα' (#4)

Διάμετρος: `soma.diam = 10` (σε μm)

Μήκος: `soma.L = 30` (σε μικρόμετρα)

Αντίσταση κυτταροπλάσματος: `soma.Ra = 100` σε $\text{Ohm} * \text{cm}$

Χωρητικότητα νευρώνα: `soma.cm = 1` σε $\mu\text{F}/\text{cm}^2$

Τμήματα από τα οποία αποτελείται ο νευρώνας : `soma.nseg = 1` # number of segments

Μετά, ενσωματώνουμε τις βιοφυσικές ιδιότητες

```
soma.insert('hh')
```

```
for seg in soma:
```

Ορίζουμε την αγωγιμότητα των τασοελεγχόμενων διαύλων νατρίου

```
seg.hh.gnabar = 0.12 # Sodium conductance in S/cm^2
```

Ορίζουμε την αγωγιμότητα των τασοελεγχόμενων διαύλων καλίου

```
seg.hh.gkbar = 0.036 # Potassium conductance in S/cm^2
```

Ορίζουμε την αγωγιμότητα των διαύλων διαρροής και το δυναμικό αναστροφής

```
seg.hh.gl = 0.00035 # Leak conductance, initial 0.00035 in S/cm^2
```

```
seg.hh.el = -65 # Reversal potential in mV
```

Σημειώστε τις αρχικές τιμές της αγωγιμότητας των τασοελεγχόμενων διαύλων νατρίου, καλίου καθώς και των διαύλων διαρροής.

Κατόπιν, ορίζουμε το πρωτόκολλο του ερεθίσματος. Δίνουμε έναν τετραγωνισμένο παλμό, με καθυστέρηση 100ms, διάρκεια 500ms και ένταση 0.1nA.

```
# Place the electrode to the middle (0.5) of the soma, ...
ic1 = h.IClamp(soma(0.5))
ic1.delay=100
ic1.dur=500
ic1.amp=-0.1
```

Αρχικά, θα μελετήσετε την αλλαγή του δυναμικού της μεμβράνης όταν αλλάζουμε την ένταση του ερεθίσματος, σε ένα ‘φυσιολογικό’ μοντελοποιημένο νευρώνα (δηλ. με τις βιοφυσικές ιδιότητες που αναφέραμε παραπάνω) (Νευρώνας Α).

Θα αλλάζετε την ένταση του ερεθίσματος (ic1.amp). Αρχικά, θα δίνετε αρνητικό ρεύμα με τις παρακάτω τιμές :-0,1 | -0,08 | -0,06 | -0,04 | -0,02 | 0 | 0,02 τις οποίες θα τις βρείτε και στο φύλλο του αρχείου. Κάθε φορά που θα αλλάζετε την τιμή, θα τρέχετε ξανά την προσομοίωση και θα σημειώνετε την αλλαγή του δυναμικού που προκαλείται στο αντίστοιχο κελί στο φύλλο excel.

Στη συνέχεια, θα επαναλάβετε την παραπάνω διαδικασία για τις παρακάτω συνθήκες:

Νευρώνας Β με αυξημένο ρεύμα διαύλων διαρροής: *seg.hh.gnabar=0.12; seg.hh.gnabar=0.036; seg.hh.gnabar=0.00045*

Νευρώνας Γ με μειωμένο ρεύμα διαύλων διαρροής: *seg.hh.gnabar=0.12; seg.hh.gnabar=0.036; seg.hh.gnabar=0.00025*

Νευρώνας Δ με μειωμένο ρεύμα τασοελεγχόμενων διαύλων νατρίου: *seg.hh.gnabar=0.06; seg.hh.gkbar = 0.036; seg.hh.gnabar = 0.00035*

Νευρώνας Ε με μειωμένο ρεύμα τασοελεγχόμενων διαύλων καλίου: *seg.hh.gnabar=0.12; seg.hh.gkbar=0.018; seg.hh.gnabar=0.00035*

Στη συνέχεια απαντήστε τις ερωτήσεις στο αρχείο αναφοράς.

Άσκηση 3- Επίδραση των διαύλων διαρροής και των τασοελεγχόμενων διαύλων νατρίου και καλίου στις ιδιότητες του δυναμικού ενέργειας

Για αυτή την άσκηση, θα χρησιμοποιήσετε το ‘google collab’ σε συνδυασμό με το φύλλο εργασίας ‘ΑΣΚΗΣΗ-3’ στο αρχείο excel. Συνδεθείτε στο <https://colab.research.google.com/>. Επιλέξτε Upload και διαλέξτε το αρχείο ‘erg6-askisi3.pyrb’

Τρέξτε την προσομοίωση με τις ‘φυσιολογικές’ τιμές και μετρήστε τη βοήθεια του κέρσορα τις παρακάτω τιμές: α) το δυναμικό της μεμβράνης πριν την έναρξη του ερεθίσματος, β) το μέγιστο του δυναμικού ενέργειας τοποθετώντας τον κέρσορα στην κορυφή του δυναμικού ενέργειας (δεύτερη τιμή

που αναγράφεται), γ) το ύψος του δυναμικού ενέργειας (θα το βρείτε αφαιρώντας τη μέγιστη τιμή από την τιμή του δυναμικού ηρεμίας), δ) το χρόνο που συμβαίνει το μέγιστο του δυναμικού ενέργειας (πρώτη τιμή που αναγράφεται), ε) το χρόνο στο σημείο κοντά στα 0mV στην ανοδική φάση (t1), στ) το χρόνο στο σημείο κοντά στα 0mV στην καθοδική φάση (t2), ζ) τη διάρκεια του δυναμικού ενέργειας αφαιρώντας το t2 από το t1 και η) την ελάχιστη τιμή δυναμικού μετά το δυναμικό ενέργειας. Αυτές τις τιμές τις γράφετε στο αντίστοιχο φύλλο excel και απαντάτε τις ερωτήσεις στο αρχείο αναφοράς.