

Н. А. БЕРЕГОВОЙ, А. В. БУШ, М. Б. ШТАРК  
(Новосибирск)

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ВОЗБУДИМОСТИ МЕМБРАН НЕРВНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНТЕРАКТИВНОЙ ГРАФИКИ

В экспериментальных исследованиях функционирования биологических мембран за последнее десятилетие достигнут значительный успех: убедительно доказано, что процесс возбуждения связан с наличием пронизывающих мембрану структур — селективных ионных каналов. Наиболее трудным является понимание того, каким образом ионные токи, возникающие в этих каналах, взаимодействуют друг с другом в процессе генерации потенциала действия или в режиме периодической активности. Математическое моделирование, основанное на современных представлениях о структуре и функции возбудимых мембран, может предоставить широкие возможности для интерпретации экспериментальных результатов и понимания того, как «работает» клетка в целом, чего не могут дать эксперименты, исследующие только какую-то часть из всего функционального аппарата объекта.

Настоящая работа посвящена использованию математического моделирования для описания электрической возбудимости соматической мембраны нейронов моллюсков на основании литературных данных с учетом разделения входящего тока на натриевую и кальциевую компоненты.

**Аппаратные и программные средства.** Использовалась мини-ЭВМ «Саратов-2» с подключенными к ней буквенно-цифровым («Video-top-340») и графическим («Дельта») дисплеями. Для написания программ применялся интерактивный язык DFOCAL, разработанный в ИАиЭ СО АН СССР [1]. Этот язык, кроме обычных функций языка FOCAL, позволяет выводить графическую информацию на экран дисплея «Дельта» и производить редактирующие процедуры с помощью светового пера и функциональной клавиатуры.

Нами использовалась доработанная версия языка DFOCAL, обеспечивающая больший объем программ. Для этой версии языка необходима оперативная память не менее 12К слов. В таком случае 4К отводится для диспетчера дисплея «Дельта» и графических массивов, 4К — для интерпретатора FOCAL и 4К — для рабочих программ.

Вслед за Моором и Рамоном [2] для решения системы нелинейных дифференциальных уравнений, входящих в математическую модель, была выбрана «гибридная» схема численного интегрирования, наиболее оптимально удовлетворяющая условиям минимума времени счета и приемлемой точности при ограниченной оперативной памяти ЭВМ. Проверка устойчивости и сходимости проводилась путем сравнения результатов вычислений, полученных при неизменных начальных данных и различных шагах интегрирования. Для сравнения результатов счета пользовались наложением кривых, соответствующих различным решениям, на одном кадре дисплея.

**Математическая модель возбудимости соматической мембраны нейронов моллюсков.** Впервые количественное описание ионных токов через мембрану было проведено Ходжкиным и Хаксли [3]. Математическая теория нервного импульса разработана ими применительно к мембране гигантского аксона кальмара. Механизм переноса токов через мембрану сомы гигантских нейронов моллюсков существенно отличается от аналогичных механизмов в мембране аксона кальмара (как, например, в [4, 5]).

Коннор и Стивенс [4] предложили модификацию уравнений Ходжкина — Хаксли применительно к соматической мембране нейронов моллюсков. Модифицированная модель Ходжкина — Хаксли представляет собой систему нелинейных дифференциальных уравнений первого порядка:

$$I = C \frac{dV}{dt} + \sum_{i=1}^3 \bar{g}_i \cdot [m_i(V, t)]^{x_i} h_i(V, t) (V - \bar{V}_i) + \bar{g}_L \cdot (V - \bar{V}_L); \quad (1)$$

$$m_i(V, t) + \tau_{m_i}(V) \frac{dm_i(V, t)}{dt} = m_i(V, \infty); \quad (2)$$

$$h_i(V, t) + \tau_{h_i}(V) \frac{dh_i(V, t)}{dt} = h_i(V, \infty),$$

индексы  $i = 1, 2, 3$  обозначают соответственно параметры натриевого тока, задержанного калиевого тока и быстрого калиевого тока;  $x_1 = 3$ ,  $x_2 = 2$ ,  $x_3 = 4$ ;  $m_i(V, t)$ ,  $h_i(V, t)$  — переменные активации и инактивации;  $\bar{g}_i$ ,  $\bar{V}_i$  — максимальные проводимости и равновесные потенциалы соответствующих каналов;  $\bar{g}_L$ ,  $\bar{V}_L$  — проводимость и равновесный потенциал тока утечки;  $m_i(V, \infty)$  и  $h_i(V, \infty)$  — стационарные уровни активации и инактивации;  $\tau_{m_i}(V)$ ,  $\tau_{h_i}(V)$  — постоянные времени активации и инактивации;  $C$  — емкость мембраны;  $V$  — трансмембранное напряжение;  $I$  — полный ток через мембрану. Здесь введено описание быстрого калиевого тока в соматической мембране, и активация задержанного калиевого тока описывается не одним, как у Ходжкина и Хаксли, а двумя дифференциальными уравнениями первого порядка с различными постоянными времени. Для расчетов ионных токов, вместо констант скоростей активации и инактивации, используются постоянные времени этих процессов.

Быстрый выходящий ток детально рассмотрен в работе Негера [5], причем в отличие от Коннора и Стивенса им отмечена потенциалозависимость постоянных времени активации и инактивации быстрого калиевого тока. Модифицированная система уравнений Ходжкина — Хаксли была использована в [6] для описания трансмембранных ионных токов при фиксированных смещениях мембранного потенциала и при генерации потенциала действия в соме гигантских нейронов моллюсков. В таблице приведены значения параметров модели, использованные

Потенциалозависимые параметры мембраны клетки

$V, \text{ мВ}$	$m_1(V, \infty)$	$h_1(V, \infty)$	$m_2(V, \infty)$	$h_2(V, \infty)$	$m_3(V, \infty)$	$h_3(V, \infty)$	$\tau_{m_1}(V), \text{ мс}$	$\tau_{h_1}(V), \text{ мс}$	$\tau_{m_2}(V), \text{ мс}$	$\tau_{h_2}(V), \text{ мс}$	$\tau_{m_3}(V), \text{ мс}$	$\tau_{h_3}(V), \text{ мс}$
-50	0,13	1	—	—	0,39	0,08	—	26	—	—	17,2	250
-40	0,22	0,76	0,21	0	0,60	0	11	55	—	—	10	150
-30	0,44	0,40	0,36	0,05	0,77	0	4,5	45	245	45	5,5	100
-20	0,62	0,18	0,56	0,21	0,96	0	3,1	22	190	45	3,3	75
-10	0,77	0,08	0,71	0,43	0,97	0	2,5	13,2	138	45	2,5	50
0	0,84	0,02	0,84	0,72	0,98	0	1,9	9,6	83	20	1,8	30
10	0,92	0	0,94	0,90	1	0	1,5	8,9	43	15	1,7	20
20	0,97	0	0,97	0,95	1	0	1,4	7,5	30	10	1,4	10
30	1	0	1	0,98	1	0	1,2	7,1	25	5	—	0

Примечание. Независимые параметры мембраны клетки:  $\bar{V}_1 = 50 \text{ мВ}$ ,  $\bar{V}_2 = \bar{V}_3 = -65 \text{ мВ}$ ,  $\bar{V}_L = -40 \text{ мВ}$ ,  $C = 10^{-6} \text{ Ф/см}^2$ ,  $\bar{g}_L = 0,1 \cdot 10^{-4} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ ,  $\bar{g}_1 = 21 \cdot 10^{-4} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ ,  $\bar{g}_2 = 10 \cdot 10^{-4} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ ,  $\bar{g}_3 = 12 \cdot 10^{-4} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ .

ими в расчетах; потенциал покоя равен приблизительно  $-50$  мВ. Здесь учтена потенциалазависимость постоянных времени процессов активации и инактивации быстрого калиевого тока.

Исследования последних лет (например, [7, 8]) показали, что в соматической мембране нейронов моллюсков существуют две отдельные системы каналов входящего тока — натриевые и кальциевые. Существование системы специализированных каналов, создающих кальциевый входящий ток, может лежать в основе регуляции авторитмической активности и сопряжения мембранных процессов с процессами в цитоплазматических системах [9]. В связи с этим изучение кинетики кальциевого тока в процессе развития потенциала действия представляет особенный интерес.

**Разделение входящего тока на натриевый и кальциевый.** Суммарный входящий ток был описан в работе [6], где показано, что модифицированная модель Ходжкина — Хаксли хорошо описывает общие свойства соматических мембран гигантских нейронов моллюсков.

В работе [8] исследованы входящие натриевый и кальциевый токи в соматической мембране гигантских нейронов моллюсков. Нашей целью было дополнение модели и проведение ее исследования. Для описания входящих ионных токов и тока утечки использовались экспериментальные данные, приведенные в [6]; для описания входящих натриевого и кальциевого токов — экспериментальные данные работы [8]. Результаты расчетов по этой расширенной модели сравнивались с результатами [6], где было получено удовлетворительное согласие с экспериментом. Кальциевый ток аналогично обычному входящему току описан в терминах переменных активации и инактивации и постоянных времени. Окончательно модифицированная система уравнений Ходжкина — Хаксли, учитывающая разделение входящего тока на натриевую и кальциевую компоненты, имеет вид, аналогичный приведенному ранее ((1) и (2)), с тем лишь отличием, что индекс  $i$  в уравнениях пробегает значения от 1 до 4. Параметры кальциевого тока входят в уравнения с индексом 4, причем  $x_4 = 2$ ,  $m_4(V, t)$  и  $h_4(V, t)$  удовлетворяют уравнениям, аналогичным (2). Равновесный потенциал кальциевого входящего тока был выбран равным  $+170$  мВ. По данным работы [8] он лежит в пределах  $130 \div 200$  мВ.

Поскольку в [8] не приведены значения стационарных уровней активации кальциевого и натриевого токов, мы были вынуждены вычислить их, используя приведенные в [8] вольт-амперные характеристики для максимумов натриевого и кальциевого токов. Опишем процедуру вычислений. Максимальное значение кальциевого входящего тока при фиксации напряжения на уровне  $V$ , если перед этим напряжение длительно удерживалось на уровне  $V_0$ , можно описать выражением

$$I_{\max} = \bar{g}m^2(V, \infty)h(V_0, \infty)(V - \bar{V}_{Ca});$$

так как постоянная времени активации кальциевого тока много меньше постоянной времени инактивации [8], тогда

$$m(V, \infty) = \left[ \frac{I_{\max}}{\bar{g}h(V_0, \infty)(V - \bar{V}_{Ca})} \right]^{1/2}.$$

Таким образом, из вольт-амперной характеристики для максимумов токов, измеренных при фиксации напряжения на различных уровнях  $V$ , когда кондиционирующее напряжение  $V_0$  остается неизменным, получена зависимость от напряжения стационарного уровня активации  $m(V, \infty)$ , которую остается только поделить на максимальное значение  $m_{\max}(V, \infty)$ , чтобы выполнялось  $0 \leq m(V, \infty) \leq 1$ . При этом предполагается, что в исследуемом интервале напряжений достигается значение  $m(V, \infty) = 1$ .

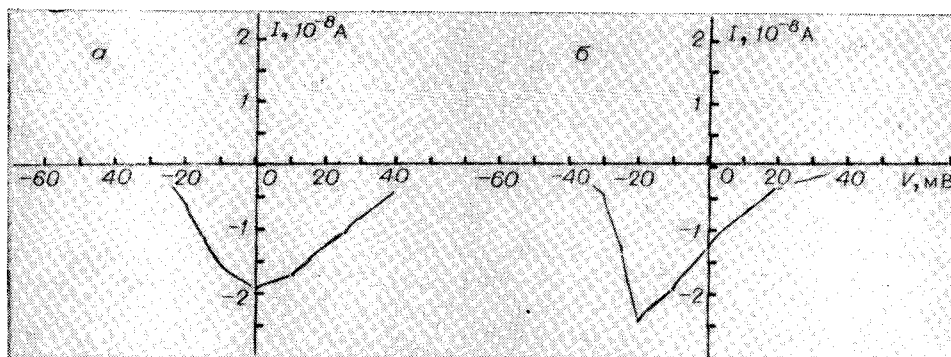


Рис. 1. Рассчитанные вольт-амперные характеристики для максимумов входящих токов: а — для кальциевого, б — для натриевого тока. (Удерживаемое напряжение равно  $-50$  мВ.)

Максимальная проводимость кальциевых каналов  $\bar{g}_{Ca}$  была подобрана так, чтобы в модельных экспериментах с фиксацией напряжения максимумы входящего кальциевого тока совпадали с измеренными экспериментально и  $\bar{g}_{Ca}$  оказалась равной  $1,65 \cdot 10^{-7} \text{ Ом}^{-1}$ .

Аналогично параметрам кальциевого тока определялись параметры натриевого тока на основании экспериментальных данных работы [8]:  $\bar{V}_{Na}$  выбран равным  $+60$  мВ, а  $\bar{g}_{Na}$  оказалась равной  $7,65 \cdot 10^{-7} \text{ Ом}^{-1}$ . На рис. 1 приведены вольт-амперные характеристики для максимумов ионных токов, рассчитанные по математической модели. Они удовлетворительно согласуются с характеристиками, полученными экспериментально.

Поскольку для сравнения гораздо удобнее использовать величины, отнесенные к единице площади, мы оценили площадь участка мембраны, для которого в [8] были проведены измерения, считая, что емкость  $1 \text{ см}^2$  мембраны равна  $10^{-6} \text{ Ф}$ . Эта площадь оказалась равной  $3 \times 10^{-3} \text{ см}^2$ .

Параметры натриевого и кальциевого входящих токов были описаны в [8] не во всем интересующем нас диапазоне напряжений. За границы описанной области они были продолжены нами наиболее естественным образом. Использованные в расчетах значения стационарных уровней активации и инактивации и их постоянных времени в зависимости от трансмембранного напряжения представлены на рис. 2. Для описания инактивации кальциевого тока выбрана более «быстрая» кинетика с постоянной времени  $\tau_h$  порядка  $50$  мс. Более «медленная» зависимость от времени инактивации кальциевого тока, о которой сообщалось в [8], не рассматривалась, так как ее постоянная времени порядка  $200$  мс и эта компонента инактивации не может существенно измениться за время развития потенциала действия  $50$  мс.

В работе [8] отмечается, что измеренные входящие токи были значительно меньше, чем наблюдаемые прежде. Причиной этого, по мнению авторов, могут быть специфические условия их эксперимента: замена внутреннего содержимого клетки на искусственный раствор и начальный гидростатический толчок (разрушающий «лишнюю» часть мембраны). Мы считали, что при этом разрушена приблизительно половина каналов входящего тока, поэтому в расчетах использовалась увеличенная в два раза проводимость для этих каналов.

**Результаты исследования математической модели.** Начальные условия при вычислении потенциалов действия и ионных токов во время потенциала действия были следующими:

$$V = V_0 = -40 \text{ мВ, а } m_i(V, \infty), h_i(V, \infty), \tau_{mi}(V), \tau_{hi}(V) \quad (i = 1, 2, 3, 4)$$

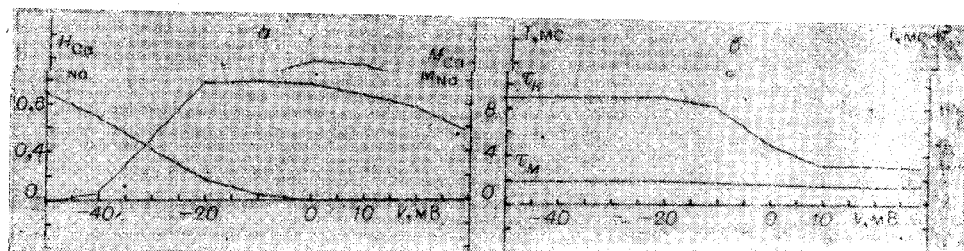


Рис. 2. Значения параметров входящих токов, использованные в расчетах: а — стационарные уровни активации ( $M_{Ca}$ ) и инактивации ( $H_{Ca}$ ) кальциевого тока; б — постоянные времена активации ( $\tau_M$ ) и инактивации ( $\tau_H$ ) кальциевого тока; в — стационарные уровни активации ( $M_{Na}$ ) и инактивации ( $H_{Na}$ ) натриевого тока; г — постоянные времена активации ( $T_M$ ) и инактивации ( $T_H$ ) натриевого тока.

имеют свои установившиеся значения при потенциале покоя, когда  $t = 0$ . Все расчеты проводились при неизменных начальных условиях.

На рис. 3, кривая 2, представлен потенциал действия, рассчитанный для параметров на рис. 2. Для сравнения на рис. 4 приведены потенциал действия и ионные токи во время потенциала действия, рассчитанные в [6] при тех же начальных условиях, но без учета разделения входящих токов. Видно резкое несоответствие потенциалов действия. На рис. 3 спадающая фаза потенциала действия сильно растянута во времени и потенциал действия вообще не выходит на уровень потенциала покоя. Причиной этого может быть медленная инактивация кальциевого тока и слабая деактивация его во время спадающей фазы потенциала действия. Деактивацию кальциевого тока может увеличить изменение взаимного расположения кривых активации и инактивации кальциевого тока (см. рис. 2, а).

В работе [10] показано, что повышение концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в наружном растворе приводит к смещению вольт-амперных характеристик и кривых инактивации вдоль оси напряжений в положительную сторону. Однако в [8] инактивация кальциевого тока измерялась в среде с повышенной концентрацией  $Ca^{2+}$ ; поэтому, чтобы учесть эффект

смещения кривой инактивации кальциевого тока, мы провели вычисления потенциалов действия в условиях, когда инактивационная кривая кальциевого тока параллельным переносом смещена вдоль оси напряжений в отрицательную сторону. Потенциал действия и входящие ионные токи на рис. 5 рассчитаны в таких условиях. Видно, что  $I_{Ca}$  не деактивируется во время спадающей фазы потенциала

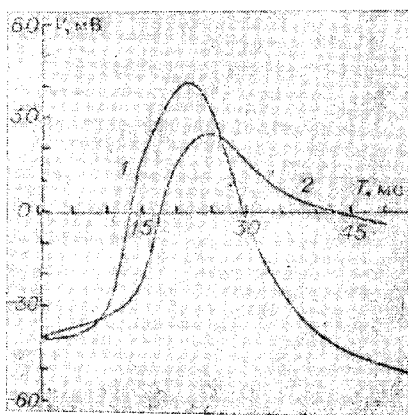


Рис. 3. Рассчитанные потенциалы действия: 1 — потенциал действия, рассчитанный в условиях, когда использованы  $M_{Ca}$  и  $H_{Ca}$  из рис. 2; 2 — потенциал действия, рассчитанный по данным рис. 2.

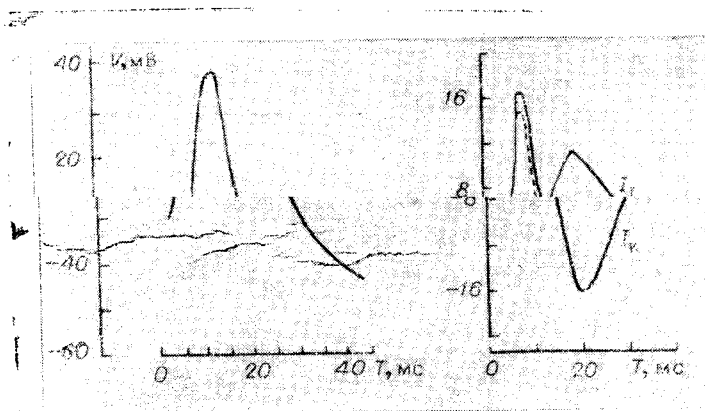


Рис. 4. Потенциал действия и ионные токи во время потенциала действия из работы [6]:

$I_I$  — входящий ток,  $I_K$  — выходящий калиевый ток.

действия;  $M_{Ca}$  и  $N_{Ca}$  (см. рис. 2, а) вообще не достигают нуля. Видимо, для уточнения их поведения необходимы более детальные экспериментальные исследования. В работе [11] сообщалось об аналогичных измерениях для мембраны сомы нейронов *Helix*. По их данным (рис. 6)  $N_{Ca}$  и  $M_{Ca}$  достигают нуля при определенных значениях мембранного потенциала.

Кривая 1 на рис. 3 — потенциал действия, рассчитанный в условиях, когда использовались  $N_{Ca}$  и  $M_{Ca}$  из рис. 6. Полученный потенциал действия удовлетворительно согласуется с приведенным в [6] (см. рис. 4). На рис. 7 показаны входящие токи во время потенциала действия, рассчитанные при описанных выше условиях. Натриевый ток достигает значительной величины во время нарастания потенциала действия, тогда как кальциевый ток велик в момент достижения максиму-

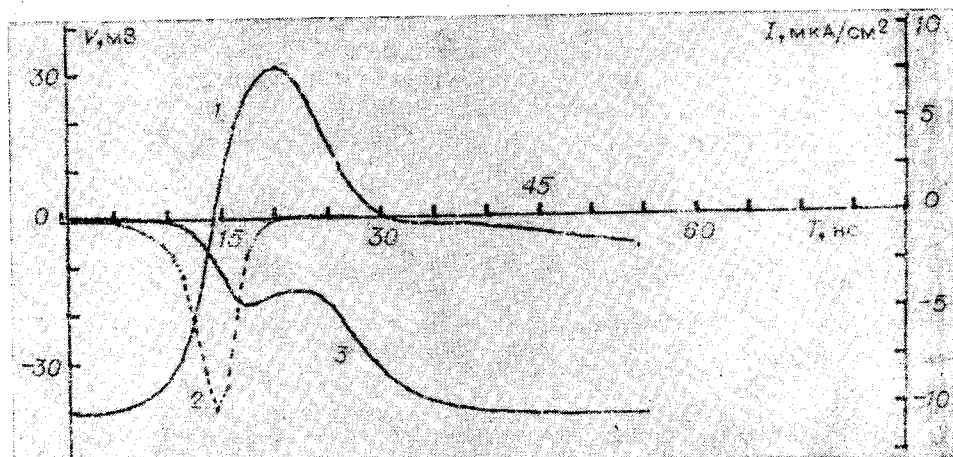


Рис. 5. Потенциал действия и токи в процессе его развития:

1 — потенциал действия, 2 — входящий натриевый ток, 3 — входящий кальциевый ток. Зависимость  $N_{Ca}$  смещена вдоль оси напряжений на 10 мВ в сторону отрицательных значений.

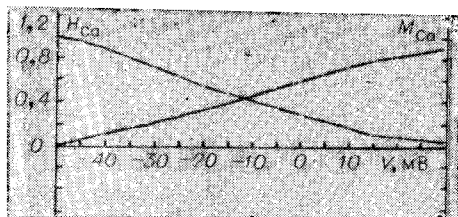


Рис. 6. Зависимость стационарных уровней активации и инактивации от мембранного потенциала.

ма потенциала действия. Видно, что кривая суммарного входящего тока будет иметь форму, сходную с формой входящего тока, представленной на рис. 4, но если прежде существование двух максимумов на кривой входящего тока объяснялось изменением электрохимического потенциала для ионов — переносчиков входящего тока при развитии потенциала действия, то из рис. 7 следует, что суммарный входящий ток имеет два максимума (по модулю) из-за того, что максимумы  $I_{Na}$  и  $I_{Ca}$  вследствие различия кинетики этих токов разнесены во времени.

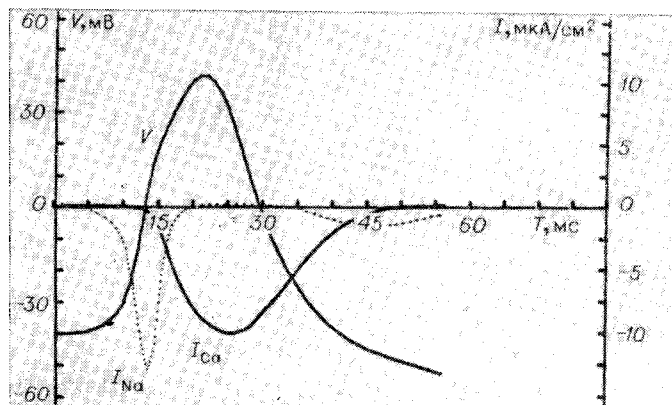


Рис. 7. Потенциал действия и входящие ионные токи во время потенциала действия ( $H_{Ca}$  и  $M_{Ca}$  — по данным [11] (рис. 6), остальные параметры — по данным [8] (рис. 2)).

На основании приведенных результатов можно сказать, что использование математического моделирования с применением диалоговой графики позволило существенно расширить диапазон исследований клеточных мембран, наглядно представить происходящие в них процессы и их взаимосвязь, целенаправленно проводить планирование экспериментальных исследований. При этом появилась возможность проверки полученных экспериментальных результатов на соответствие их и наших представлений реальным процессам, присущим объекту исследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бабат Е. Г. Графическое программирование для автономной дисплейной станции «Дельта». Препринт № 80. Новосибирск, изд. ИАиЭ СО АН СССР, 1978.
2. Moore J. W., Ramon F. On numerical integration of the Hodgkin and Huxley equations for a membrane action potential.—*J. Theor. Biol.*, 1974, vol. 45, p. 249—273.
3. Hodgkin A. L., Huxley A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.—*J. Physiol.*, 1952, vol. 117, p. 500—544.
4. Connor J. A., Stevens C. F. Prediction of repetitive firing behaviour from voltage clamp data on an isolated neurone soma.—*J. Physiol.*, 1971, vol. 213, p. 31—53.
5. Neher E. Two fast transient current components during voltage clamp on snail neurons.—*J. Gen. Physiol.*, 1971, vol. 58, p. 36—53.

6. Долгая Е. В., Магура И. С. Модификация уравнений Ходжкина — Хаксли применительно к мембране сомы гигантских нейронов моллюсков.— «Нейрофизиология», 1973, т. 5, № 3, с. 315.
7. Костюк П. Г., Крышталь О. А., Цыдренко А. Я. Разделение натриевых и кальциевых каналов в поверхностной мембране нервных клеток моллюсков.— «Нейрофизиология», 1976, т. 8, № 2, с. 183.
8. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. Separation of sodium and calcium currents in the somatic membrane of mollusc neurones.— «J. Physiol.», 1977, vol. 270, p. 545—568.
9. Костюк П. Г. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки.— В кн.: Современные проблемы общей физиологии возбудимых образований. Киев, «Наукова думка», 1978.
10. Дорошенко П. А., Костюк П. Г., Крышталь О. А. Действие кальция на мембрану сомы гигантских нейронов моллюсков.— «Нейрофизиология», 1973, т. 5, № 6, с. 621.
11. Akaike N., Lee K. S., Brown A. M. The calcium current of Helix neuron.— «J. Gen. Physiol.», 1978, vol. 71, N 5, p. 509—531.

*Поступила в редакцию 23 апреля 1979 г.*

УДК 621.391.26 : 612.172.4

А. А. ГАЗАРЯН, Д. С. МЕЛКОНЯН

(Ереван)

## АЛГОРИТМЫ ЦИФРОВОГО СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА ПЕРЕХОДНЫХ ПРОЦЕССОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

**Введение.** Быстрому прогрессу в течение последнего десятилетия в применении методов цифрового спектрального анализа к исследованию биологических систем в значительной степени способствовало наличие разнообразных программных и аппаратурных средств для использования алгоритмов быстрого преобразования Фурье (БПФ), реализующих эффективные методы вычисления дискретного преобразования Фурье (ДПФ). Поэтому основные проблемы в области спектрального анализа биологических сигналов были связаны с вопросами интерпретации результатов спектрального анализа, их использования на дальнейших стадиях машинной обработки [1]. Однако интенсивные исследования в этих направлениях выдвинули ряд новых требований и к технике спектрального анализа, в особенности в отношении алгоритмов цифрового спектрального анализа переходных процессов в биологических системах.

Специфика обработки переходных процессов определяется тем, что результаты спектрального анализа, как правило, интерпретируются в виде частотных характеристик динамических систем с применением соответствующих теорий и расчетных методов. При этом, например, часто необходимо иметь значения частотных характеристик для логарифмических шкал частот [2], вычислять картины текущих и мгновенных спектров процессов [3].

Определенные особенности цифровой обработки переходных процессов связаны и со спецификой их экспериментального определения. Обычно переходные процессы (так называемые вызванные реакции биологических систем) регистрируются путем цифрового осциллографирования или методом синхронного накопления с помощью специализированных ЭВМ [4]. Поскольку при этом используется цифровая память ограниченного объема, необходима повышенная точность алгоритмов