

Академія наук України  
Інститут кібернетики імені В.М. Глушкова

На правах рукопису

САВЧЕНКО Леснід Петрович

МЕХАНІЗМИ УПРАВЛІННЯ ФОРМУВАНЬМ РІВНОВАЖНОГО ПРОСТОРОВО-  
НЕОДНОРІДНОГО ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ НЕЙРОННИХ ВІДРОСТКІВ.  
МОДЕЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

05.13.09 - управління в біологічних і медичних  
системах (включаючи застосування  
обчислювальної техніки)

А в т о р е ф е р а т  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ 1993



00810730 (J)

роботу виконано в науково-дослідній лабораторії біофізики та біоелектроніки Дніпропетровського державного університету.

Науковий керівник:

кандидат біологічних наук  
КОРОГОД С.М.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук  
КОТОВА А.Б.,  
кандидат біологічних наук  
ЧЕРКАСЬКИЙ В.Л.

Провідна організація:

Київський державний  
університет ім. Т.Г.Шевченка

Захист відбудеться 15 грудня 1993 р. о ..... год. на  
засіданні спеціалізованої вченої ради Д 016.45.05 в Інституті  
кібернетики ім. В.М.Глушкова АН України за адресою:  
252 207 Київ 207, проспект Академіка Глушкова, 40.

З дисертацією можна ознайомитися у науково-технічному  
архіві інституту.

Автореферат розіслано " \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 199 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради

КОСАК Л.М.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ.

Актуальність проблеми. Рівноважний трансмембранний потенціал відіграє важливу роль в життєдіяльності нервової клітини /Hodgkin A. L., Huxley A. F., 1952; Антомонов Д.Г., Котова А.Б., 1976, Stein W.D., 1986/. Він має тісні зв'язки з енергетичними явищами /Костик П.Г., 1988/, транспортом речовини /Лев А.А., 1975; Hill B., 1984/, синаптичною дією /Davies S.N. et al., 1989/, проведенням нервового імпульсу /Golderberg A., 1989/.

Сьогодні уявлення про біофізичну та нейроморфологічну основу просторового розподілу рівноважного потенціалу мають досить загальний характер. Ці уявлення склалися за допомогою експериментів по оптичній реєстрації світлового потенціалозалежного випромінювання, флуоресцентних фарбників, що зв'язані поверхневою нейрональною мембраною. В результаті цих експериментів було встановлено, що рівноважний трансмембранний потенціал може мати просторово-неоднорідний розподіл уздовж відростку нервової клітини /Trisler D., 1990; Gogen P. et al., 1991/. Між тим, кількісні оцінки спостережених розподілів, механізми утворення та управління рівноважним трансмембранним потенціалом встановити не вдалося. Поширені методи локальної реєстрації не дають інформації про просторовий розподіл трансмембранного потенціалу, а використання багатоелектродної реєстрації від мікроскопічних об'єктів, до яких належить червова клітина, пов'язано із значними труднощами /Marmor M.F., 1979/. Тому стає актуальною розробка методів математичного моделювання, котрі дозволяють досліджувати в обчислювальному експерименті механізми управління формуванням та підтриманням рівноважного мембранного потенціалу уздовж нейрональної мембрани.

Вивчення механізмів управління формуванням просторово-неоднорідного розподілу рівноважного трансмембранного потенціалу є актуальним, оскільки ці явища можуть мати важливий вплив на пластичність функцій нейрона відносно до синаптичної дії.

Мета дослідження - на основі єдиного уявлення про фізико-хімічні процеси та структурні особливості нервової клітини виявити механізми утворення, підтримання та управління просторово-неоднорідним розподілом рівноважного трансмембранного потенціалу в клітинній системі.

Основні завдання дослідження.

1. Розробити теоретико-математичний підхід до розв'язання задачі про утворення просторово-неоднорідного розподілу рівноважного трансмембранного потенціалу в нервовій клітині, яка...

дозволяє врахувати фізико-хімічні закономірності розвитку електричних та дифузійних процесів у системі, яка складається з мембрани та примембранних шарів електроліту.

2. Визначити умови і механізми управління утворенням дисипативних структур у формі просторово-неоднорідного розподілу рівноважного трансмембранного потенціалу, густини відкритих іонних каналів та внутрішньоклітинної концентрації катіонів  $Na^+$ , а також визначити їх залежність від параметрів та кінетики системи, представленої різними класами моделей (двох- і трьохкомпонентними).

3. Визначити можливу роль активного трансмембранного транспорту іонів у процесі утворення дисипативних структур.

4. Визначити залежність форми дисипативної структури від довжини нейронного відростка.

Наукова новина. Розроблено оригінальну математичну модель, яка дозволяє розраховувати просторово-неоднорідні стаціонарні розподіли трансмембранного потенціалу в нейронах та їх відростках з урахуванням структури мембрани, локальної та просторової динаміки іонних каналів і фізико-хімічних закономірностей руху іонів, які беруть участь в формуванні трансмембранного струму.

Вперше з використанням розроблених оригінальних математичних моделей показано можливість утворення у відростках нервової клітини стаціонарного просторово-неоднорідного розподілу трансмембранного потенціалу, поверхневої густини відкритих іонних каналів та примембранної концентрації катіонів  $Na^+$ .

Виявлені механізми та параметри управління стаціонарними станами нервової клітини, які відрізняються один від одного формою просторового розподілу рівноважного трансмембранного потенціалу.

Встановлено роль активного транспорту в управлінні утворенням просторово-неоднорідного розподілу рівноважного трансмембранного потенціалу. Показано, що активний транспорт поряд з підтримкою нерівноважного розподілу речовини та заряду між внутрішньо- і зовнішньоклітинними середовищами може управляти утворенням дисипативних структур.

#### Теоретичне та практичне значення роботи.

Висунута гіпотеза про природу механізму утворення і управління рівноважним просторово-неоднорідним розподілом трансмембранного потенціалу в нейронних відростках. Показано, що такі розподіли можна розглядати як дисипативні структури. Одержані на основі розробленої теорії висновки про умови утворення та керування формою дисипативних структур розширюють існуючі

уявлення про біофізичні механізми просторової організації примембранного простору нервової клітини, дозволяють проектувати нові натурні експерименти.

Результати дисертаційної роботи можуть бути використані для дослідження процесів формування електричної активності в біофізично та морфологічно складних нейронах, в навчальному процесі вузів.

Основні положення, які виносяться на захист.

1. В нервових клітинах може утворюватись і підтримуватись просторово-неоднорідний (зокрема, просторово-періодичний) розподіл рівноважного трансмембранного потенціалу. Утворення і підтримання просторово-неоднорідного рівноважного мембранного потенціалу є складним процесом взаємодії електричних полів трансмембранних іонних струмів з іонними каналами, які здатні до конформаційних переходів та латеральної дифузії по поверхні мембрани, а також з внутрішньоклітинними катіонами, здатними до дифузії в межах примембранних шарів.

2. Активний іонний транспорт, який підтримує нерівноважний розподіл іонів, може призводити до утворення та підтримки дисипативних структур, якщо прирощення активного потоку більша, ніж відповідне прирощення пасивного трансмембранного потоку при одній і тій самій зміні внутрішньоклітинної примембранної концентрації катіонів  $Na^+$ .

3. Існує критичний розмір довжини нейронального відростка, перевищення якого є необхідною умовою утворення дисипативних структур.

Апробація роботи. Дисертаційну роботу виконано відповідно до плану „ДІ біофізики та біоелектроніки Дніпропетровського університету, м держреєстрації тем: ОІ.9І.0036420.

Основні положення та результати роботи докладалися на Всесоюзних конференціях "Застосування обчислювальної техніки та математичних методів в наукових дослідженнях" (Севастополь, 1990; Шацьк; 1991); на наукових конференціях Дніпропетровського держуніверситету (1987 - 1993); на Всесоюзних семінарах "Математичні та обчислювальні методи в біології" (Пушино, 1987, 1989); на ІХ Всесоюзній конференції по нейрокібернетичці (Ростов-на Дону, 1989); на XIII з'їзді Українського фізіологічного товариства (Харків, 1990); на Міжнародній Конференції з нелінійних явищ (Італія, 1991), на 5-му Міжнародному конгресі з клітинної біології (Іспанія, 1992); на Міжнародному Конгресі з нейрохімії (Ірландія,

1992), на міжнародній конференції по застосуванню фізики у медицині та біології (Італія, 1992); на зборах учасників Коледжа з нейрофізики (Італія, 1992), на зборах Американського Біофізичного товариства (США, 1993), на міжнародній конференції з Біології розвитку (Австрія, 1993), на семінарі FEBS "Біохімія мембранного транспорту" (Угорщина, 1993).

Обсяг та структура дисертації. Дисертація складається із вступу, п'яти глав, заключення, висновків та бібліографії. Дисертація має загальний обсяг 136 сторінок, включаючи 104 сторінки машинописного тексту, та ілюстрована 11 малюнками. Список літератури складається з 192 робіт (50 вітчизняних та 142 іноземних авторів). За темою дисертації опубліковано 16 наукових робіт.

### З М І С Т Р О Б О Т И

У вступі показана актуальність теми дослідження, визначені мета і завдання дослідження, її наукова новизна, практична і теоретична значимість дисертації та положення, що виносяться на захист.

Першу главу, яка складається з шести розділів, присвячено аналізу сучасних уявлень про процеси формування в нелінійних фізико-хімічних та біологічних системах /Turing A.M., 1952; Nicolis G., Prigogine I., 1972; Кернер Б.С., Осипов В.В., 1990/. Значну увагу приділено експериментальним та теоретичним дослідженням утворення ДС на рівні клітини /Toku Y., 1989; Fromgerz P., 1990/. Математичне та програмове забезпечення моделювання дисипативних структур у нейронних відростках.

Утворення та існування ДС розглядалось у циліндричній клітині з закритими кінцями. Зовнішньо- та внутрішньоклітинне середовище представлені багатоконпонентними електролітами. Їх іони можуть брати участь у формуванні трансмембранного струму та вільно рухатись в примембранному шарі. Іони можуть також перетинати мембрану пасивно, за електрохімічним градієнтом і, таким чином, формувати резистивну компоненту трансмембранного струму та активно, проти електрохімічного градієнта за рахунок хімічної енергії систем активного транспорту. Іони перетинають мембрану пасивно по іонних каналах, якщо ті знаходяться у відкритому стані, і не можуть перетинати мембрану, якщо ті закриті /Singer S.J., 1972; Kotyk A., 1978/. Ці канали змінюють свій конформаційний стан (канал закритий чи канал відкритий) під дією трансмембранного потенціалу. Активний транспорт іонів розглядався як ланцюг біхімічних реакцій зв'язування іонів  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  на одному боці мембрани та звільнення на іншому /Lemieux D.R. et al., 1991/. В моделі зроблено припущен-

ня, що густина відкритих іонних каналів може мінятися не тільки за рахунок потенційнозалежних конформаційних переходів, але й за рахунок латеральної дифузії. Процеси синтезу каналів та їх можливий вихід з мембрани не розглядалися, таким чином, сума всіх каналів на мембрані впродовж утворення ДС припускалась сталою.

Такі властивості модельної системи вибрано тому, що вони відповідають відомим даним про нервову клітину /Finger S.J., 1972; Rakic P., 1990/ та особливостям, які розглядалися в інших відкритих термодинамічних системах і призводили там до утворення сталих просторово-неоднорідних розподілень /Nicolis G., Frigogine I. 1978; Васильев В.А., 1983; Кернел Б.С., Осипов А.А.1991/. Це, по-перше, нерівноважний стаціонарний розподіл іонів у просторі, розмежованих плазматичною мембраною, який підтримується завдяки роботі активного транспорту /Костик П.Г. и др., 1990/. По-друге, це можливість просторового переміщення головних компонент системи, іонів та іонних каналів за рахунок електродифузії та латеральної дифузії /Hill B., 1978; Singer S.J., 1972/. По-третє, іонні мембранні струми нелінійним чином залежать від мембранного потенціалу.

Базова математична модель фізико-хімічних процесів у циліндричній нервовій клітині завдовжки  $B$  та діаметром  $D$  була представлена трьома диференціальними рівняннями параболічного типу з нелінійною функцією в правій частині. Внутрішньо- та зовнішньоклітинна концентрації  $S$ -катионів (наприклад,  $Na^+$  або  $Ca^{+2}$ ), які формують трансмембранний струм, були відповідно  $S_i$  та  $S_e$ , для яких чинно нерівняння  $S_i < S_e$ . Перше диференціальне рівняння моделі - це кабельне рівняння /Hodgkin A. L., Huxley A. F., 1952/, яке описує співвідношення між локальним трансмембранним потенціалом та сумарним локальним трансмембранним струмом. До суми локального струму входило три компоненти. Пасивний струм іонів сорту  $S$  через відкриті іонні канали. Активний струм, який визначає долю некомпенсованих зарядів, які активно перетинають мембрану. Цей струм характеризується коефіцієнтом електрогенності (в роботі цей коефіцієнт дорівнює  $3/2$ , тобто три катіони виносяться через поверхню клітини у зовнішній простір, а два заносяться до цитоплазми). Струм витoku є сумою інших струмів, що також впливають на формування трансмембранного потенціалу.

Локальний пасивний струм через відкриті канали залежить не тільки від трансмембранного потенціалу, але також від локальної густини відкритих каналів. Густина останніх може змінюватися в результаті як конформаційних переходів, так і латеральної дифузії.

Цю зміну описано другим диференціальним рівнянням.

Третє рівняння моделі описує внутрішньоклітинну зміну концентрації катіонів сорту  $S$  у примембранному шарі за рахунок катіонів, які перетинають мембрану пасивно або активно, та за рахунок внутрішньоклітинної дифузії. Перехід від трьохвимірної моделі дифузії іонів до двовимірної було зроблено за допомогою наступних припущень: тільки іони, які досить близько підходять до мембрани, можуть спливати на трансмембранний потенціал. В примембранному шарі електроліт змінюється лінійним чином, згідно з припущенням Гендерсона. Між примембранним шаром та внутрішньоклітинним простором, де йдуть процеси по зв'язуванню, збереженню та визволенню іонів, існує обмін іонами, який підтримує внутрішньоклітинну термодинамічну рівновагу.

У роботі для моделювання пасивного струму, віднесеного до одиниці поверхні мембрани, було використано рівняння /Goldman D. E., 1943/

$$I_S(\phi, \rho, S_i) = g_R \rho P \phi (S_e - S_i \exp(\phi)) / (1 - \exp(\phi))$$

де  $P$  є параметр, що приводить розмірність потенціалу до розмірності концентрації, а  $g_R$  є провідність одинокого каналу,  $\phi$  - трансмембранний потенціал,  $\rho$  - густина відкритих іонних каналів на одиницю поверхні мембрани.

Рівняння, яке описує струм активного транспорту на одиницю поверхні мембрани, було отримано згідно з методом Кінг-Алтмана, які розглядали активний перенос як ланцюг біохімічних реакцій. Такий струм залежав як від трансмембранного потенціалу, так і від внутрішньоклітинної концентрації катіонів. Ця залежність мала вигляд у формі

$$I_P(\phi, S_i) = \Lambda \frac{a_1 \exp(\phi) - a_2 \exp(-\phi)}{a_3 \exp(\phi) + \exp(-\phi)} f(S_i),$$

де  $\Lambda$  є розмірний параметр (він дорівнює  $1 \text{ mA/cm}^2$ , коли густина активного транспорту на одиницю поверхні мембрани стає  $500 \text{ mM}^{-2}$ );  $f(S_i)$  - функція залежності активного транспорту від внутрішньоклітинної концентрації катіонів. Числові значення параметрів  $a_1, a_2, a_3$  було отримано згідно з рівняннями:

$I_P(0, S_i) = I_P^0$ ,  $I_P(-\infty, S_i) = I_P^{-\infty}$ ,  $I_P(+\infty, S_i) = I_P^{+\infty}$   
 при фіксованих  $S_i = 0.4 \text{ mM}$  та  $\Lambda = 1 \text{ mA/cm}^2$ . При цих умовах насосний струм на одиницю поверхні мембрани мав такі значення:  $I_P^0 = 0.121 \text{ mA/cm}^2$ ,  $I_P^{-\infty} = -0.01 \text{ mA/cm}^2$ ,  $I_P^{+\infty} = 0.13 \text{ mA/cm}^2$ .

У роботі припускалось, що іонні канали мають два

конформаційні стани. Один стан - канал відкрито, іони можуть вільно рухатись через мембрану; другий стан - канал закрито і іони не можуть перетинати мембрану. Ці переходи від одного стану до другого залежать від рівня трансмембранного потенціалу.

Локальна зміна концентрації іонів в примембранному шарі залежала від потоку іонів через мембрану і від внутрішньоклітинного обміну.

Аналітичні дослідження можливості утворення просторово - неоднорідного розподілу трансмембранного потенціалу та густини відкритих іонних каналів без врахування впливу концентрації іонів.

З теорії нелінійних нерівноважних відкритих середовищ відомо /Жаботинський Ф., 1977; Nikolis G., Prigogine I., 1978; Toko K., 1987/, що математична модель здатна описувати процес утворення ДС, якщо вона включає до себе як мінімум два рівняння параболічного типу з нелінійною функцією джерел. Одного такого рівняння з кінцевими умовами Неймана недостатньо, тому що його стаціонарне рішення може бути тільки просторово-однорідним при будь-яких початкових умовах. З цієї мінімальної системи двох рівнянь для моделювання самоорганізації одне рівняння повинно описувати поведінку так званого "інгібітора" (змінна, через яку в системі встановлюється локальний негативний зворотний зв'язок), котрий відносно повільно розповсюджується по просторовій області, а друге рівняння - поведінку "активатора" (змінна, через яку встановлюється позитивний зворотний зв'язок), який швидко розповсюджується по просторовій області. У цьому випадку "інгібітор" не може ефективно стримувати локальне зростання "активатора", внаслідок чого з'являються ділянки з підвищеною та зниженою кількістю активатора та інгібітора. Така загальна особливість моделей самоорганізації дозволила розглядати в цій роботі утворення сталих просторово-неоднорідних розподілів в нервовій клітині за допомогою моделі, яка складається з двох рівнянь. Одне з таких рівнянь описувало зміну трансмембранного потенціалу (кабельне рівняння з нелінійними активними та пасивними струмами), а друге - зміну густини відкритих іонних каналів (рівняння лінійної латеральної дифузії каналів з потенціалозалежних кінетиком конформаційних переходів).

В результаті аналізу цієї моделі, яка описує поведінку іонних каналів в полі трансмембранного потенціалу, було встановлено такі факти. По-перше, змінна густини  $\rho$  відкритих іонних каналів ні пр.

яких умовах не може самопідсилватися (тобто  $\rho$  не може виступати у ролі "інгібітора"). По-друге, змінна мембранного потенціалу може самопідсилватися (тобто  $\phi$  може виступати у ролі "активатора"), якщо навколо стаціонарного стану вольт-амперна характеристика мембрани має негативний схил. Вольт-амперна характеристика мембрани може мати таку особливість тому, що потенціалозалежний електрогенний активний транспорт в околі стаціонарного стану забезпечує потік іонів, направлений проти їх електрохімічного градієнта. По-третє, при існуванні вказаних вище предумов ДС в системі можуть утворюватися при таких умовах: 1) трансмембранний потенціал є активатором; 2) коефіцієнт латеральної дифузії іонних каналів  $D_0$  більше ніж  $\lambda^2/\tau$ , де  $\lambda$  і  $\tau$  - постійні довжини і часу клітини відповідно. Між тим, відомо, що максимальне значення фізичного коефіцієнта латеральної дифузії мембранних протеїнів має значення порядку  $10^{-8}$  см<sup>2</sup>/с, що набагато менше оцінки мінімального значення  $\lambda^2/\tau$  порядку  $10^{-2}$  см<sup>2</sup>/с. Такий підхід до аналізу коефіцієнтів розповсюдження раніше розглядався в роботі /Toke K., 1987/, присвяченій механізму утворення ДС в рослинних клітинах. Подальший аналіз показав, що урахування латеральної дифузії іонних каналів з фізично можливими коефіцієнтами дифузії можливий, якщо нестача швидкості розповсюдження цього виду "інгібітора" може бути скомпенсована підсилвачем його дії синергетиком, в ролі якого може виступати дифузія примембранних носіїв трансмембранного струму. Коефіцієнт дифузії іонів в елек.роліті має порядок  $10^{-5}$ - $10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с.

Треба додати, що у цій моделі поведінка іонних каналів була значно складнішою, ніж описана вище. А саме, проходження іонів через канал розглядалось як серія послідовних "пересkokів" через потенціальні бар'єри, яких у каналі налічувалось три. Висота центрального бар'єру залежала від трансмембранного потенціалу. У цьому разі пасивний трансмембранний струм відрізнявся від відомого рівняння Гольдмана. Але подальший аналіз кінетики іонного каналу показав, що будь-яка фізично можлива кінетика не впливає на процес утворення ДС.

Аналitичні дослідження формування ДС з урахуванням впливу внутрішньоклітинної концентрації катіонів.

За допомогою лінійного та нелінійного аналізу в роботі зроблено загальне аналітичне дослідження математичної моделі, яка складається з трьох рівнянь параболічного типу:

$$\frac{\partial x_j}{\partial t} = D_j \frac{\partial^2 x_j}{\partial z^2} + C_j, \text{ де } j=1,2,3, x_j - \text{ вектор з координатами } (\phi, \rho, S_i).$$

Лінеаризувавши нелінійні праві частини  $Q_j$  цих диференціальних рівнянь навколо стаціонарного стану, ми отримали систему лінеаризованих рівнянь

$$\frac{\partial x_j}{\partial t} = D_j \frac{\partial^2 x_j}{\partial z^2} + \sum_k \frac{3}{k} m_{jk} x_k', \quad \text{де } m_{jk} = \frac{\partial Q_j}{\partial x_k}$$

характеристичне рівняння якої мало вигляд

$$\text{Det} \left\| m_{ij} - i\omega - D_j k^2 \right\| = 0, \quad i, j=1,2,3,$$

де  $i$  — одинична матриця;  $k$  — хвильовий вектор;  $\omega$  — частота, значення якої визначає форму трьох векторів розв'язання системи у фазовому просторі та умови сталості стаціонарного стану;  $D_j$  — діагональна матриця, елементами якої є коефіцієнти "розповсюдження", що мають розмірність коефіцієнта дифузії. Встановлено, що розв'язання системи трьох диференціальних рівнянь є локально сталим, якщо виконуються такі умови:  $\text{Sp} \|m_{ij}\| < 0$ ,  $\text{Det} \|m_{ij}\| < 0$ ,  $-\text{Sp} \|m_{ij}\| \sum_k A_{kk}$

$\text{Det} \|m_{ij}\| > 0$ , де  $A_{kk}$  — алгебраїчне доповнення елемента  $m_{kk}$ .

У цій системі існують ЛС, якщо має чинність наступна нерівність:

$$k^2 D_f D_\sigma D_\rho - k^4 (D_\rho D_\sigma m_{11} + D_f D_\sigma m_{22} + D_f D_\rho m_{33}) + k^2 (D_f A_{11} + D_\rho A_{22} + D_\sigma A_{33})$$

$-\text{Det}(m_{ij}) < 0$ , де  $D_f = \lambda^2/\tau$ , а під  $D_\sigma$  та  $D_\rho$  розуміли коефіцієнти дифузії іонів та іонних каналів відповідно.

Остання нерівність дала змогу встановити, що утворення ЛС можливо або за рахунок позитивного зворотного зв'язку систем активного транспорту (автокаталізу), або за рахунок ефекту крос-каталізу, коли при збільшенні концентрації внутрішньоклітинних катіонів збільшується густина відповідних відкритих каналів.

Аналітичне нелінійне дослідження просторової форми рівноважного потенціалу проводили тільки в околі точки біфуркації керуючого параметра, коли спостерігалася "м'яка" втрата просторово-однорідної стійкості рівноважного потенціалу. Встановлено, що просторово-періодичні розподіли рівноважного потенціалу, коли керуючий параметр знаходиться біля точки біфуркації, будуть періодичними і матимуть малу амплітуду. Крім того, встановлено, що в системі, параметри якої знаходяться далеко від крапки біфуркації, форма неоднорідного стаціонарного розподілу змінних стану буде складатися із значного числа м.д. нестійких до просторово-неоднорідних збурень. Але аналітичних методів було

недостатньо для встановлення самої форми ДС. Аналіз форми ДС, яка утворюється в системі, параметри якої знаходяться далеко від точки біфуркації, проводився за допомогою числових засобів.

Дослідження впливу варіації параметриі нейрона на форму утвореного стаціонарного просторово-неоднорідного розподілу (Числове моделювання).

Числове моделювання було проведено з метою дослідження впливу параметрів циліндричного відростка нервової клітини на процес утворення та форму стаціонарного просторово-неоднорідного розподілу рівноважного потенціалу. Базову систему рівнянь було замінено її різницевою наближенням за схемою Крчча-Нікольса.

Було показано, що при числовому моделюванні процесу самоорганізації і утворення ДС в нервовій клітині в виборі різницевого аналогу неперервної системи рівнянь ключовим є крок інтегрування за координатою  $\Delta Z$ . Максимальний крок  $\Delta Z$  можна визначити за формулою  $\Delta Z = \frac{\pi}{k_{max}}$ , де  $k_{max}$  - максимальне значення хвильового вектора, отримане за допомогою розв'язання характеристичного рівняння системи рівнянь. Особливість числового моделювання процесу самоорганізації полягає у тому, що вибір кроку інтегрування  $\Delta Z$  з умов стійкості різницевої схеми може призвести до того, що частина високочастотних мод, які беруть участь у формуванні неперервного стаціонарного рішення, буде відсутня в дискретному розв'язанні.

В роботі вибір параметрів базової моделі здійснювався в декілька етапів.

1. Використовуючи літературні дані, вибирали вхідні параметри та визначали діапазони їх значення. 2. Розв'язуючи числовими засобами систему рівнянь  $Q_j = 0$ , де  $j=1,2,3$ , визначали стаціонарні значення  $(\phi, \rho, S_1)$  і вибирали ті з них, які відповідали діапазонам значень, котрі зустрічаються в реальних нейронах. Вимоги стаціонарності зменшували діапазони усіх можливих значень вхідних параметрів. 3. Перевіряли критерій сталості відповідних стаціонарних станів. Відбір значень параметрів, які забезпечували умови сталості, приводить до подальшого звужування діапазонів. 4. За допомогою умов існування ДС визначали діапазон значень параметрів, які забезпечували виконання цих умов.

Такий аналіз дозволив розділити параметри на дві групи. Першу групу складали параметри, які відповідали за те, щоб в системі існували стійкі стаціонарні стани. Ці параметри не мали безпосереднього впливу на дифузійну несталість системи і на утворення ДС.

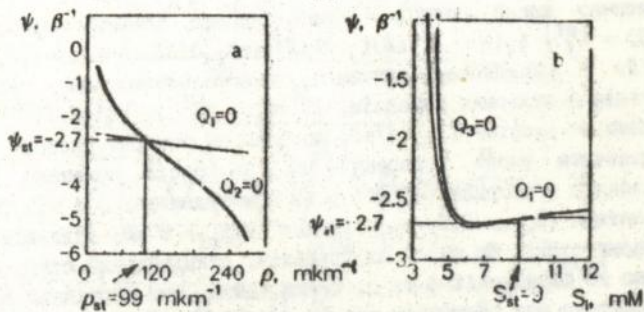


Рис. 1 Нуль-ізокліни швидкості зміни трансмембранного потенціалу ( $Q_1 = 0$ ) і густини відкритих іонних каналів ( $Q_2 = 0$ ) при  $S_1 = S_{st} = 9$  мМ (а); а також швидкості зміни трансмембранного потенціалу ( $Q_1 = 0$ ) та примембранної концентрації ( $Q_2 = 0$ ) при  $\rho = \rho_{st} = 99$  мкм $^{-2}$  (б). Точки з координатами  $(\psi_{st}, \rho_{st})$  та  $(\psi_{st}, S_{st})$  відповідають сталому стаціонарному стану.

Тому при моделюванні значення цих параметрів були фіксовані на таких рівнях. Діаметр клітини  $D=0.3$  мкм. Середня густина іонних каналів на одиницю площі  $e=300$  мкм $^{-2}$  /Костик П. та ін., 1987/. Провідність каналу  $g_R=7$  пС, що відповідало описаній в літературі величині провідності одиночного  $Na^+$ -каналу /Pugaley A., 1972/, мембранна провідність струму витоку при потенціалі спокою становила  $g_n = 0.23$  мкС/см $^2$ , а рівнозначний потенціал струму витоку дорівнював  $\phi_n = -3.59$  (-89.8 мВ)). Такі значення відповідали описаним в літературі даним, які характеризують калієвий струм /Ходоров Б.И., 1975/. Пасивний мембранний опір одиниці площі мембрани  $R_m = 700$  ом.см $^2$  /Костик П.Г., 1987/, а опір одиниці довжини цитоплазми був від 70 ом.см. Стала часу клітини  $\tau_R=0.7$  мс, а стала довжини  $\lambda=10$  мкм. Концентрація  $Na^+$  у зовнішньоклітинному середовищі  $S_0=150$  мМ.

До другої групи відносили параметри, які впливали на дифузійну несталість і, тому, на формування ДС. Такими параметрами були  $\lambda$ ,  $v$ ,  $D_\rho$  та  $D_\sigma$ .

В початковий момент часу  $t=0$  мембранний потенціал  $\phi$ , примембранна внутрішньоклітинна концентрація катіонів  $S_i$  та густина відкритих іонних каналів  $g$  в мембрані були випадковим чином розподілені вздовж осі циліндричної клітки.

Математично такий розподіл було описано такими виразами:

$$X_j(O, Z) = X_j^{st} + \xi_j(Z) \quad \langle \xi_i(Z) \xi_j(Z+\Delta Z) \rangle = \varepsilon \delta_{ij} \delta(\Delta Z), \quad i, j=1, 2, 3,$$

де  $\xi_i(Z)$  - випадкова, адитивна,  $\delta$ -корельована за простором флукуація з нульовим середнім,  $X_1^{st} = \phi_{st}$ ,  $X_2^{st} = \rho$ ,  $X_3^{st} = S_t$ .

Відомо [Prigogine I., 1978/], що фазовий портрет системи дозволяє визначити умови утворення ДС. На рис.1 показано графіки нуль-ізоклін у координатах  $\phi$  і  $\rho$  та в координатах  $\phi$  і  $S_t$ . Точка з координатами  $(\phi_{st} = -2.7, \rho_{st} = 19 \text{ мкм}^{-2}, S_{st} = 9 \text{ мВ})$  відповідає стаціонарному стану. Як видно із графіків, стаціонарний стан стійкий відносно до флукуації  $\phi$  та  $\rho$ . Таким чином, при постійній концентрації система має тенденцію завжди спрямовуватись до стаціонарної точки. Як видно із рис.2б, при  $\phi = \text{const}$  та  $\rho = \text{const}$  усі флукуації  $\delta S_t$  в системі зростають. Таким чином, в координатах  $(S_t, \phi)$  навколо стаціонарного стану можуть виникати автоколивання. У цьому разі в системі тільки за рахунок зміни внутрішньоклітинної концентрації катіонів може виникнути просторова несталість.

Вплив параметрів  $\Lambda$  та  $B$  на процес утворення ДС.

Змінюючи параметр  $\Lambda$ , при сталості усіх інших параметрів першої групи, отримували два різних сценарії самоорганізації. За одним сценарієм ДС зароджувались і з часом стабілізувались. За іншим сценарієм ДС не утворювались. Параметр  $\Lambda$  змінювали в діапазоні від 1 до 10, що відповідало зміні густини одиниць активного транспорту від  $500 \text{ мкм}^{-1}$  до  $5000 \text{ мкм}^{-1}$ . При  $\Lambda < \Lambda_0$  в системі ДС не утворювались. При  $\Lambda > \Lambda_0$  в системі ДС утворювались.

Наприклад, при  $\Lambda=3$  просторово-неоднорідні відхилення (флукуації) мембранного потенціалу від стаціонарного стану під дією внутрішніх механізмів нервової клітини зростали. Цей факт ілюструється рис. 2, де показано профілі ДС у два моменти часу  $t_1=220 \text{ мс}$  та  $t_2 = 1 \text{ с}$ . Коли  $\Lambda=1$ , в системі усі просторово-неоднорідні відхилення з часом зникали; таким чином, у цьому разі формувалася просторово-однорідний розподіл, а ДС не утворювались. Форму профілів  $\phi$ ,  $\rho$  та  $S_t$  показано на рис.3.

Щоб з'ясувати вплив довжини просторової області на форму ДС, ми виконали серію з декількох обчислювальних експериментів при таких значеннях параметрів:  $g_n=0.2 \text{ мкС/см}^2$ ,  $\phi_n=-3$  (-75 мВ),  $R_m=1000 \text{ Ом/см}^2$ ,  $i_{\text{п}}=100 \text{ Ом.см}$ ,  $\tau_k=1 \text{ мсек}$ ,  $\lambda=100 \text{ мкм}$ ,  $\lambda_c=0.1 \text{ мкм}$ . Розрахунки було проведено при чотирьох різних значеннях довжини, а саме 400, 300, 200, 100 мкм. При зменшенні  $B$  від 400 мкм до деякого критичного значення форма просторової структури залишалась практично незмінною, тобто основні параметри ДС, такі, як період та

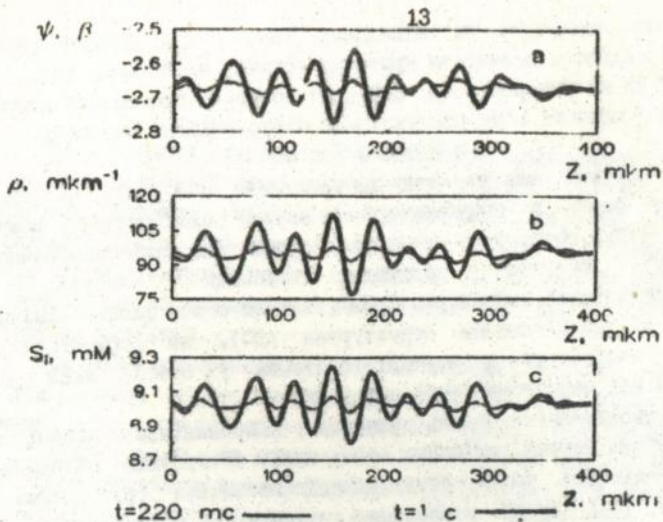


Рис.2 Утворення такого, що самопідтримується, просторово - неоднорідного розподілу  $\psi$  (a),  $\rho$  (b) і  $S_l$  (c) уздовж циліндричної клітини довжиною 400  $\mu\text{m}$ . Показано стани в моменти 220  $\mu\text{s}$  (тонка лінія) і 1 с (товста лінія).

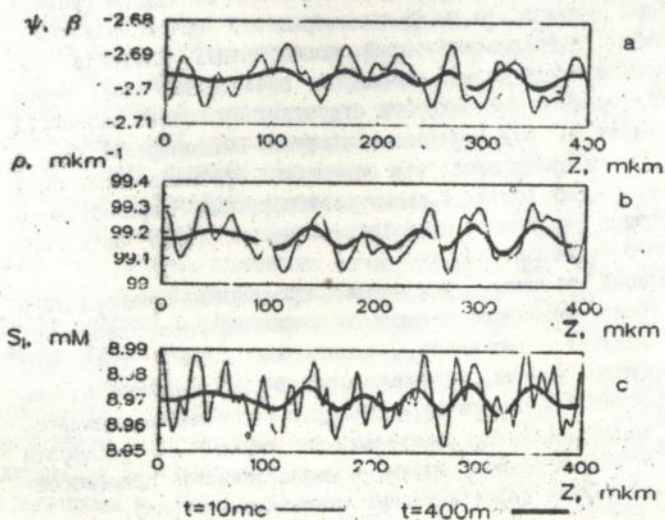


Рис.3 Утворення з'тухаючого просторово-неоднорідного розподілу  $\psi$  (a),  $\rho$  (b),  $S_l$  (c) уздовж циліндричної клітини довжиною 400  $\mu\text{m}$ . Показано стани в моменти 10  $\mu\text{s}$  (тонка лінія) і 400  $\mu\text{s}$  (товста лінія).

максимальна амплітуда не мінялись. Так, для даного набору параметрів вдалось визначити критичну довжину  $\nu=157$  мкм, таку, що при  $\nu < 157$  ДС не утворювались. Цей факт говорить про те, що довжина просторової області може виступати як біфуркаційний параметр.

#### В И С Н О В К И.

1. В системі, яка утворена плазматичною мембраною нейронних відростків разом з примембранними шарами електроліту, можуть виникати стійкі просторово-неоднорідні розподіли трансмембранного потенціалу, густини відкритих іонних каналів та внутрішньоклітинної концентрації  $Na^+$ , які за своєю фізико-хімічною природою є дисипативними структурами (ДС), що формуються у відкритих нелінійних динамічних системах у стаці, який є віддаленим від термодинамічної рівноваги.

2. Двокомпонентна модель процесів у нейрональній мембрані з примембранними шарами, змінними стану якої є густина відкритих іонних каналів ( $\rho$ ) та трансмембранний потенціал ( $\phi$ ), дозволяє встановити такі умови утворення дисипативних структур: (а) вольт-амперна характеристика мембрани на околі стаціонарного стану має негативний схил; (б) коефіцієнт розповсюдження хвилі конформаційних переходів (який має розмірність коефіцієнта дифузії) каналів з закритого у відкритий стан більше, ніж коефіцієнт розповсюдження трансмембранного потенціалу.

3. Явне врахування просторово-часової зміни не тільки густини відкритих іонних каналів ( $\rho$ ) та трансмембранного потенціалу ( $\phi$ ), але також і зміни внутрішньоклітинної концентрації катіонів  $Na^+$  ( $S_i$ ) в трьохкомпонентній моделі дозволило встановити такі умови утворення і підтримання дисипативних структур: крутизна залежності активного переносу  $Na^+$  від внутрішньоклітинної концентрації  $Na^+$  в околі стаціонарного стану вища, ніж аналогічна крутизна залежності пасивного переносу цих іонів. У цьому разі керуючим параметром є псверхнева густина мембранних протеїнів - посередників активного трансмембранного транспорту іонів.

4. В основі процесу утворення просторово-неоднорідного рівноважного трансмембранного потенціалу в циліндричних нейронних відростках лежить: локальна взаємодія між головними потенціалутворюючими іонами, здатними проти і за електрохімічним радієнтом перетинати плазматичну мембрану, та білками-каналами, здатними до конформаційних переходів, а також електродифузія іонів, носіїв трансмембранного струму в межах тонкого примембранного шару, та латеральна дифузія іонних каналів у мембрані.

5. При утворенні стаціонарного просторово-рівноважного потенціалу важливу роль відіграють внутрішні параметри системи, такі, як діаметр, довжина нервового відростка, середня густина інтегральних білків, які виконують роль посередника при перенесенні іонів проти електрохімічного градієнта. Синаптичні та регенеративні потенціали не впливають безпосередньо на процес утворення дисипативних структур.

6. При зміні внутрішніх параметрів нервової клітини час, за який утворюється просторово-неоднорідний розподіл рівноважного трансмембранного потенціалу з початкового просторово-однорідного, є тим більший, чим більшу довжину має нейрональний відросток.

7. Особливістю трьохкомпонентної моделі процесів у плазматичній мембрані з примембранними шарами з врахуванням змін внутрішньоклітинної концентрації є можливість утворення дисипативних структур без самопідсилювання трансмембранного потенціалу, а тільки за рахунок підсилення зростання густини відкритих іонних каналів, при збільшенні внутрішньоклітинної концентрації  $Na^+$ . Іншими словами, виникнення дисипативних структур може відбуватися при такому протіканні процесів, коли зростання внутрішньоклітинної концентрації  $Na^+$  ( $S_t$ ) підсилює інтенсивність відкриття каналів і призводить до зростання густини відкритих іонних каналів ( $\rho$ ).

8. При фіксованому просторово-однорідному розподілі внутрішньоклітинної концентрації натрію ( $S_t$ ) система стійка відносно флуктуації трансмембранного потенціалу ( $\phi$ ) та густини відкритих іонних каналів ( $\rho$ ), отже, при будь-якому їх початковому стохастичному розподілі в системі утворюється просторово-однорідний стан. В разі просторово-однорідного розподілу трансмембранного потенціалу або густини відкритих іонних каналів при будь-якому початковому стохастичному просторово-неоднорідному розподілі внутрішньоклітинної концентрації натрію в системі виникає тенденція до утворення дисипативних структур.

9. Просторово-періодичний розподіл рівноважного трансмембранного потенціалу виникає, коли значення керуючого параметра є біфуркаційним. В цьому разі система "мембрана - примембранні шари" має дифузійну нестійкість тільки відносно до флуктуацій з хвильовими векторами з малого інтервалу  $[k_1^2, k_2^2]$ . Якщо значення керуючого параметра віддалено від точки біфуркації в надкритичній області, то просторовий розподіл рівноважного потенціалу значно відрізняється від періодичного, тому що в утворенні такого розподілу бере участь велика кількість мод, що відповідають.

широкому інтервалу  $[K_1^2, K_2^2]$ .

10. Існує критична довжина нейронального відростка, перевищення якої є необхідною умовою утворення просторово-неоднорідного рівноважного трансмембранного потенціалу.

Основні результати дисертації опубліковано в роботах:

1. Савченко Л.П. Програмові засоби автоматизації наукових досліджень та навчання у галузі електрофізіології та біофізики нейронів // Зб. матеріалів XIII з'їзду Українського фізіологічного товариства. - Харків, 1990. - С.125.

2. Савченко Л.П., Корогод С.М. Об образовании диссипативных структур (ДС) внутри цилиндрической области на примере одной электрохимической системы // Конф. "Применение вычислительной техники и математических методов в научных исследованиях". - Шацк, 1991. - С. 98.

3. Савченко Л.П., Корогод С.М. Особенности численного моделирования процесса самоорганизации в мембране нейрональных отростков. - Киев, 1993. - 25 С. - Деп. в УкрИНТЭИ 04.03.93 №380-Укр93.

4. Savchenko L.P., Korogod S.M. On existence of Steady-State Spatially periodical non-uniform distributions on ion concentration in cylinder-shaped cells // Proc. of IWACS. - 1991. - p.123.

5. Savchenko L.P., Korogod S.M. The spatial density patterns of the open ion channels as dissipative structures // *Neurochem. Intern.* - 1992. - 219. - p. B16.

6. Korogod S.M., Savchenko L.P. A mathematical model of spatial patterns of the open ion channels density formed along cylinder-shaped cells // *Cell Biol.* - 1992. - p. 196.

7. Savchenko L.P., Korogod S.M. Creation of longitudinal dissipative structures in modeled cylinder-shaped cells // *Biophys. J.* - 1993. - 64(2 Pt 2). - A1-404

8. Savchenko L.P., Korogod S.M. Lateral patterns of protein molecules in neuron plasmaic membranes as self-organized dissipative structures storing information // *J. of cellular biochemistry.* - 1993. - Supplement. - 17E. - Wiley-Liss.-Inc. - New York, 51(3).

9. Savchenko L.P., Korogod S.M. A possible role of  $Ca^{2+}$  in neuron cell recognition. Computer simulations studies // *Proc. of ISDB the 12 Int. Congr.* - 1993. - p.450.

10. Savchenko L. P., Korogod S.M. "Hot spots" of  $Ca^{2+}$  channels in simulated neuron as dissipative structures (DS) FEBS Course Manual, *Biochemistry of Membrane Transport.* - 1993. - T4. - P.23.

тип СДГУ зок. 432 шир 100.

11/11/2024

AB 28.481

**AB 28.481**