

УДК: 57.087

Анализ вклада внутриклеточных механизмов в изменение генерации потенциала действия в моделях возбудимых клеток

Васильева А.Д.^{*1}, Соловьева О.Э.^{**1,2}

¹Институт иммунологии и физиологии, Уральское отделение Российской Академии наук, Екатеринбург, 620049, Россия

²Институт математики и компьютерных наук, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина, Екатеринбург, 620083, Россия

Аннотация. В формировании потенциала действия (ПД) возбудимых клеток принимают участие трансмембранные ионные каналы и обменники. При изменении условий функционирования клетки могут происходить изменения во взаимодействии механизмов, формирующих ПД, отражающиеся в изменении его формы и длительности. Сравнительная оценка влияния различных клеточных механизмов на процесс генерации ПД в рамках математических моделей стала возможной благодаря разработке специальных методов. На основе использования таких методов нами предложен подход, позволяющий проанализировать причины изменения конфигурации ПД в моделях возбудимых клеток в результате различных воздействий.

Ключевые слова: потенциал действия, электрофизиологическая модель, метод ведущего потенциала, метод интегралов разности токов.

ВВЕДЕНИЕ

Математические модели возбудимых клеток содержат большое количество переменных, которые сложным образом зависят друг от друга. К примеру, в классической модели Ходжкина–Хаксли, описывающей генерацию потенциала действия (ПД) в нервных клетках, ионные токи сложным образом зависят от потенциала действия [1]. Эти нелинейные обратные связи создают трудности при оценке вклада различных клеточных механизмов в генерацию ПД.

При изменении либо внешних условий, либо внутренних механизмов функционирования клетки изменяется и ее ПД. Например, ряд генетических аномалий в сердечной клетке может приводить к изменению плотности тех или иных каналов и, как следствие, изменению формы и длительности ПД. В частности, известный синдром Бругада, во многих случаях приводящий к внезапной смерти пациента, генетически обусловлен уменьшением количества или ускоренной инактивацией натриевых каналов в клетках эпикарда правого желудочка, что приводит к потере характерной конфигурации ПД (типа «spike-and-dome») и укорочению его длительности в этих клетках [2]. Это, в свою очередь, вызывает увеличение дисперсии реполяризации различных слоев стенки желудочка, что чревато возникновением эктопических очагов возбуждения и развитием желудочковой фибрилляции. Внешние воздействия со стороны нервной системы, модулирующие функцию сердца, реализуются через влияние медиаторов симпатической или парасимпатической системы, норадреналина

* a.vasilyeva@iip.uran.ru

** o.solovyova@iip.uran.ru

или ацетилхолина, на чувствительные к ним мембранные каналы сердечных клеток. Так, адренергическая стимуляция увеличивает частоту сердечного ритма, а холинергическая, напротив, уменьшает, вследствие соответствующего изменения длительности ПД в клетках водителя ритма – синусного узла [3]. Использование фармакологически активных веществ также может быть источником изменения формы и длительности ПД в клетках. Например, лекарственные препараты с антиаритмическим действием делят на четыре группы в зависимости от их преимущественного влияния на отдельные параметры ПД. В частности, выделяют блокаторы натриевых каналов, угнетающие начальную деполяризацию сердечного волокна, или блокаторы калиевых каналов, удлиняющие продолжительность ПД и рефрактерный период (период невозбудимости клеток) преимущественно за счет угнетения фазы реполяризации сердечного волокна, или блокаторы медленных кальциевых каналов («антагонисты кальция»), угнетающие фазу быстрой деполяризации ПД и спонтанную диастолическую деполяризацию в синусном узле и атрио-вентрикулярном соединении [4].

Ни одно воздействие, какой бы специфической ни была точка его приложения в клетке, не может избирательно модулировать работу только того механизма, который непосредственно подвергается этому воздействию. Все электрофизиологические процессы в клетке взаимосвязаны, например, мембранный потенциал влияет на все ионные токи. Поэтому изменение в одном из ионных механизмов влечет изменение процесса генерации ПД, что модулирует работу всех других механизмов и т.д. В этой сложной цепочке взаимосвязанных процессов достаточно затруднительно, а скорее невозможно, умозрительно определить причинно-следственные связи и оценить количественный вклад тех или иных ионных механизмов в итоговую реакцию на воздействие. Особенно затруднительно такой дифференциальный анализ провести в физиологическом эксперименте. Для этих целей уникальным инструментом являются математические модели и специальные методы их анализа, благодаря которым можно провести количественную оценку вклада различных клеточных механизмов в изменение формы и длительности ПД в ответ на то или иное воздействие, т.е. изменение параметров системы или условий ее функционирования.

Разработаны методы, которые в рамках математических моделей электрической активности клеток позволяют количественно оценить влияние различных клеточных механизмов на генерацию ПД. К таким относятся метод «ведущего потенциала» [5] и метод «интегралов разности токов» [6] (см. ниже их краткое описание). Метод ведущего потенциала, предложенный японскими авторами из университета г. Киото, позволяет оценить вклад динамически меняющихся характеристик ионных механизмов в скорость развития так называемого ведущего потенциала, равного в каждый момент времени псевдостационарному значению потенциала, соответствующему текущим значениям параметров ионных токов [5]. Значения ведущего потенциала в каждый момент времени определяют основное направление изменения мембранного потенциала вслед за изменением проводимостей каналов и ионных обменников. На основе этого метода в этой работе мы предлагаем подход для оценки вклада тех или иных механизмов в **изменение** конфигурации ПД, вызванное изменением внешних или внутренних параметров функционирования системы. Метод интегралов разности тока, разработанный сотрудниками ИИФ УрО РАН и Оксфордского университета [6], изначально был предназначен для оценки вклада изменения тех или иных ионных токов, т.е. разности некоторого тока до и после воздействия, в изменение (приращение) мембранного потенциала в ответ на воздействие.

Оба подхода проиллюстрированы в данной работе на примере анализа изменений формы и длительности ПД в модели Ходжкина–Хаксли [1], вызванных вариацией

максимальной проводимости калиевых каналов и потенциала реверсии для трансмембранной разности концентрации ионов калия. В данной работе были специально приведены достаточно простые примеры, позволяющие наглядно продемонстрировать возможности обоих методов и сравнить их между собой. Однако даже для этих простых примеров нам удалось получить неочевидные, как нам представляется, результаты, которые обсуждаются ниже.

Численные эксперименты проведены в программной среде COR [7] при использовании явного метода интегрирования Рунге – Кутты 4-го порядка с шагом интегрирования 10^{-5} мс.

МЕТОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Модель Ходжкина – Хаксли

Уравнение, описывающее скорость развития ПД в модели возбуждения аксона Ходжкина – Хаксли, записывается следующим образом [1]:

$$\frac{dV_m}{dt} = -\frac{1}{C_m} \left(I_{stim} + g_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot (V_m - E_{Na}) + g_K \cdot n^4 \cdot (V_m - E_K) + g_L \cdot (V_m - E_L) \right), \quad (1)$$

где V_m – мембранный потенциал; C_m – емкость мембраны; I_{stim} – стимулирующий ток; g_{Na} , g_K , g_L – максимальные проводимости натриевых и калиевых каналов, а также проводимость мембраны для обобщенного тока утечки соответственно; m^3 – вероятность активации натриевых каналов; h – вероятность инактивации натриевых каналов; n^4 – вероятность активации калиевых каналов; E_{Na} , E_K , E_L – потенциалы реверсии для соответствующих токов.

Переменные m , h и n являются решениями обыкновенных дифференциальных уравнений вида: $\frac{dx}{dt} = \alpha_x(V_m) \cdot (1-x) - \beta_x(V_m) \cdot x$, где x – это переменные m , h или n ; $\alpha_x(V_m)$, $\beta_x(V_m)$ – предопределенные функции, зависящие от мембранного потенциала [1].

Уравнения модели, вид функций и значения параметров, использованные в данной работе, соответствуют версии, написанной на языке CellML и представленной на сайте <http://models.cellml.org>¹. В таблице 1 представлены значения максимальной проводимости калиевых каналов (g_K) и потенциала реверсии для трансмембранной разности концентраций ионов калия (E_K) в указанной выше («контрольной») модели Ходжкина–Хаксли, а также измененные значения данных параметров, использованные в численных экспериментах.

Таблица 1. Значения максимальной проводимости калиевых каналов (g_K) и потенциала реверсии (E_K) в контрольной модели Ходжкина – Хаксли и в численных экспериментах в рамках модели

Параметры модели	Контрольная модель	Численный эксперимент № 1	Численный эксперимент № 2	Численный эксперимент № 3
g_K , мСм/см ²	36	52, 62, 72	36	62
E_K , мВ	-87	-87	-90, -94, -98	94

¹ http://models.cellml.org/exposure/5d116522c3b43ccaeb87a1ed10139016/hodgkin_huxley_1952.cellml/view

При увеличении g_K (табл. 1, численный эксперимент № 1) фаза деполяризации ПД, замедляется (рис. 1), а реполяризация, напротив, ускоряется, причем с увеличением g_K оба эффекта проявляются в большей степени (рис. 1, табл. 2). Аналогичное изменение развития ПД во времени было получено при уменьшении E_K , и при сочетанном увеличении g_K и уменьшении E_K , (см. табл. 1 и табл. 2, численные эксперименты № 2,3).

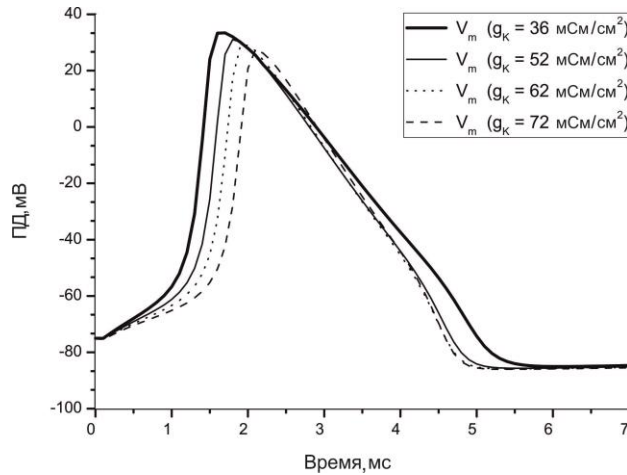


Рис. 1. Временной ход ПД при различных значениях максимальной проводимости калиевых каналов.

2. Методы оценки влияния внутриклеточных механизмов на изменение конфигурации потенциала действия

2.1. Метод «ведущего потенциала» («Lead-potential analysis»)

Метод «ведущего потенциала» («lead-potential analysis») [5] позволяет количественно оценить и сравнить между собой вклад различных мембранных каналов и обменников в *скорость развития потенциала действия*. На его основе мы предложили метод оценки вклада внутриклеточных механизмов в *изменение скорости* развития ПД, вызванное изменением условий функционирования клетки (т.е. изменением внутренних или внешних параметров модели).

Согласно методу ведущего потенциала (опуская часть допущений), развитие ПД во времени записывается в обобщенном виде:

$$\frac{dV_m}{dt} = -\frac{1}{C_m} \left(\sum_x i_x + \sum_y i_y \right) = -\frac{1}{C_m} \left(\sum_x G_x \cdot (V_m - E_x) + \sum_y i_y \right), \quad (2)$$

где V_m – мембранный потенциал; C_m – емкость мембраны; i_x – ток через канал x ; i_y – ток через обменник y . При этом ионные токи через каналы записываются в обобщенном виде в форме закона Ома: $i_x = G_x (V_m - E_x)$, где G_x – проводимость x -го канала, E_x – потенциал реверсии для тока через x -й канал.

Скорость изменения мембранного потенциала может быть выражена через так называемый «ведущий» потенциал V_L («leading potential») в виде:

$$\frac{dV_m}{dt} = -\frac{1}{\tau} (V_m - V_L), \quad (3)$$

$$V_L = \frac{\sum_x G_x \cdot E_x - \sum_y I_y}{\sum_x G_x}, \quad \tau = \frac{C_m}{\sum_x G_x}. \quad (4)$$

Ведущий потенциал в каждый момент времени представляет собой псевдостационарное значение мембранного потенциала, соответствующее текущим значениям параметров ионных токов. Смысл ведущего потенциала заключается в том, что если зафиксировать значения всех параметров модели (1) в некоторый момент времени, то при этих постоянных значениях параметров мембранный потенциал V_m в силу уравнения (3) стремился бы к значению V_L с константой времени τ . Другими словами, ведущий потенциал V_L определяет направление изменения мембранного потенциала, обусловленное изменением проводимостей ионных каналов и параметров работы ионных обменников.

Изменение во времени мембранного потенциала V_m и ведущего потенциала V_L для модели (1) представлено на рис. 2. Видно, что временной ход V_m близок к V_L , при этом V_L определяет основную тенденцию изменения V_m в каждый момент времени.

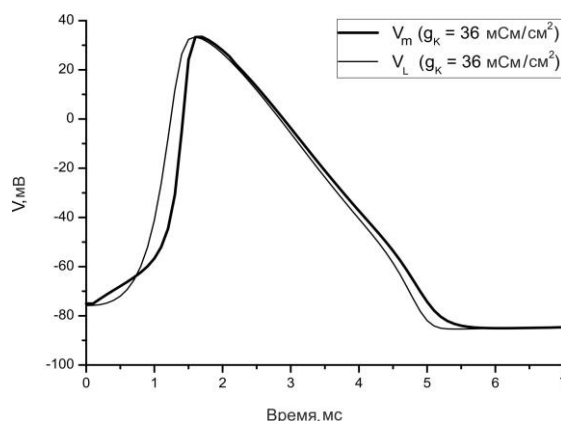


Рис. 2. Временной ход ПД (V_m) и ведущего потенциала (V_L).

В работе [5] определяется относительный вклад rc_j («relative contribution») каждого из учтенных в модели мембранных каналов и обменников в скорость развития V_L , и, следовательно, в скорость развития V_m по следующей формуле:

$$rc_j = \frac{dV_j/dt}{dV_L/dt}, \text{ при } dV_L/dt \neq 0, \quad (5)$$

где dV_L/dt – скорость развития ведущего потенциала V_L . Числитель в формуле (5) dV_j/dt определяет вклад, который вносят характеристики j -го канала или обменника в скорость развития потенциала V_L (вывод приведенных ниже соотношений см. в работе [5]). Для j -го ионного канала он определяется по формуле [5]:

$$\frac{dV_j}{dt} = \frac{\dot{G}_j \cdot (E_j - V_L) + G_j \cdot \dot{E}_j}{\sum_x G_x}. \quad (6)$$

Для j -го обменника справедливо соотношение [5]:

$$\frac{dV_j}{dt} = \frac{\dot{I}_j}{\sum_x G_x}. \quad (7)$$

Нетрудно убедиться, что $\sum_j rc_j = 1$ для совокупности всех механизмов, учтенных в модели. Если $rc_j > 0$, то изменение характеристик тока через данный канал или обменник вносит *сонаправленный* вклад в скорость развития V_L . Если $rc_j < 0$, то вклад изменения характеристик данного внутриклеточного механизма в скорость развития V_L – *противоположно направленный*.

Следуя описанной выше методике, мы оценили вклад изменений функционирования внутриклеточных механизмов, вызванных изменением условий функционирования клетки (т.е. изменением параметров модели, имитирующих то или иное воздействие), в изменение скорости развития V_L .

Относительный вклад изменения характеристик внутриклеточных механизмов после воздействия в изменение скорости развития V_L можно рассчитать по формуле:

$$rcc_j = \frac{\Delta dV_j/dt}{\Delta dV_L/dt}, \quad \text{при } \Delta dV_L/dt \neq 0, \quad (8)$$

где $\Delta dV_L/dt = dV_{L2}/dt - dV_{L1}/dt$ – разность скоростей генерации ведущего потенциала после воздействия и исходного (контрольного) потенциала до воздействия; $\Delta dV_j/dt = dV_{j2}/dt - dV_{j1}/dt$ – разность вкладов j -го канала или обменника в $\Delta dV_L/dt$. Можно показать, что $\sum_j rcc_j = 1$ по совокупности всех ионных токов.

Если $rcc_j > 0$, то изменение характеристик данного канала вносит *сонаправленный* вклад в изменение скорости развития ведущего потенциала $\Delta dV_L/dt$. Если же $rcc_j < 0$, то вклад изменения характеристик данного канала в $\Delta dV_L/dt$ – *противоположно направленный*.

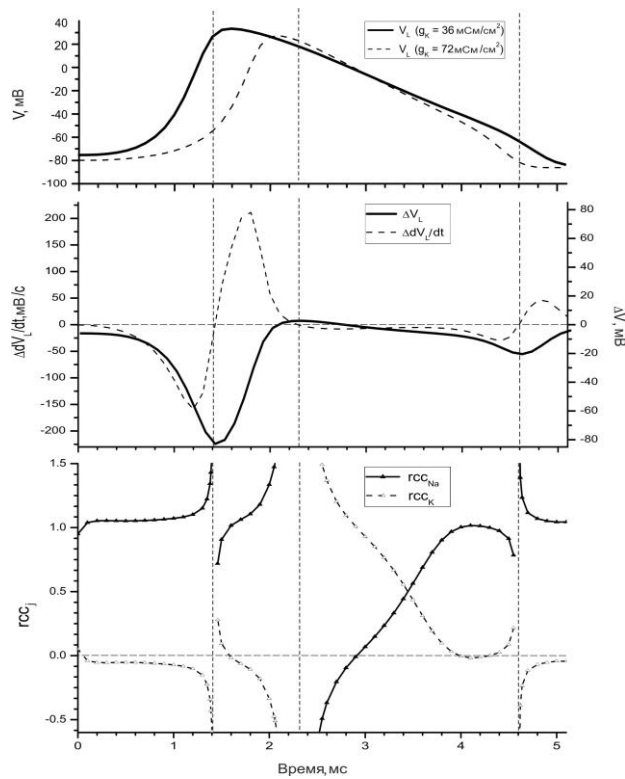


Рис. 3. На верхней панели: временной ход V_L при различных значениях g_K ; на средней панели: временной ход ΔV_L и $\Delta dV_L/dt$ при различных значениях g_K ; на нижней панели: относительный вклад изменения характеристик каналов rcc_j при изменении g_K .

Проиллюстрируем данный метод на примере. Увеличим максимальную проводимость g_K калиевых каналов с 36 мСм/см² (контроль) до 72 мСм/см² (табл. 1, численный эксперимент № 1). Как уже говорилось ранее, деполяризация мембранного потенциала V_m и соответствующего ведущего потенциала V_L в тестовой модели замедлились по сравнению с контрольной (см. рис. 1 и рис. 3, верхняя панель). Времена достижения 10% и 90% амплитуды V_L , а также время достижения пика V_L увеличились (см. табл. 2, $LPD_{Dep}(10\%)$, $LPD_{Dep}(90\%)$, TTP соответственно). При этом амплитуда V_L немного снизилась (см. табл. 2, V_{LMax}). Весь период деполяризации контрольного V_L и большую часть фазы деполяризации тестового V_L их разность отрицательна, $\Delta V_L < 0$ (рис. 3, средняя панель, $t < 1.4$ мс). На рис. 3 (нижняя панель) видно, что в течение этого интервала основной вклад в изменение скорости развития V_L вносит изменение проводимости натриевых каналов ($r_{CCNa} \approx 1$, $r_{CCK} \approx 0$). Заметим, что поскольку $\Delta dV_L/dt = 0$ при максимальной разности ΔV_L ($t \approx 1.4$ мс), имеется разрыв функций $r_{CCNa}(t)$, $r_{CCK}(t)$ в этот момент времени (рис. 3, нижняя панель, пунктирная линия). В связи с этим здесь и ниже сравниваются значения r_{CCj} вне окрестности моментов времени, где $\Delta dV_L/dt = 0$

Поскольку пик V_L достигается позднее в тестовой модели, соответственно и фаза реполяризации V_L начинается позднее, чем в контрольной модели, поэтому имеется небольшой промежуток времени ($2.1 \text{ мс} < t < 2.9 \text{ мс}$) в течение фазы медленной реполяризации тестового V_L , когда $V_{L2} > V_{L1}$ и $\Delta V_L > 0$. Однако уже в начале этого промежутка ($t \approx 2.3$ мс) $\Delta dV_L/dt$ меняет знак и становится отрицательной, что означает, что скорость реполяризации V_L в тестовой модели выше, чем в контрольной.

Таблица 2. Сравнение значений величин, характеризующих «ведущий» потенциал, в контрольной модели Ходжкина – Хаксли и в численных экспериментах в рамках модели.

	V_{mMax} , мВ	V_{LMax} , мВ	LPD_{Dep} (10%),мс	LPD_{Dep} (90%),мс	TTP , мс	LPD_{Rep} (10%),мс	LPD_{Rep} (90%),мс
Контрольная модель	33.71	33.37	0.71	1.37	1.59	0.57	3.05
Численный эксперимент № 1 ($g_K = 72$ мСм/см ²)	27.49	27.34	1.09 (54%)	1.88 (37%)	2.11 (32%)	0.40 (30%)	2.33 (24%)
Численный эксперимент № 2 ($E_K = -98$ мВ)	33.05	32.72	0.87 (23%)	1.60 (17%)	1.83 (15%)	0.52 (9%)	2.76 (10%)
Численный эксперимент № 3	27.59	27.96	1.32 (86%)	2.19 (60%)	2.40 (51%)	0.42 (26%)	2.29 (25%)

V_{mMax} – амплитудное значение ПД; V_{LMax} – амплитудное значение «ведущего» потенциала; $LPD_{Dep}(10\%)$, $LPD_{Dep}(90\%)$ – времена достижения 10% и 90% амплитуды V_L ; TTP – время достижения пика V_L ; $LPD_{Rep}(10\%)$, $LPD_{Rep}(90\%)$ – времена достижения 10% и 90% реполяризации, начиная с пика V_L . В скобках указано относительное отклонение от значений контрольной модели, выраженное в процентах.

Действительно, характеристические времена достижения 10% и 90% реполяризации, начиная с пика V_L , меньше в тестовой модели по сравнению с контрольной (см. табл. 2, $LPD_{Rep}(10\%)$, $LPD_{Rep}(90\%)$ соответственно). Как видно из рис. 3 (нижняя панель), сначала превышение скорости реполяризации ведущего потенциала V_L обуславливается изменением проводимости калиевых каналов ($r_{CCK} > 0$, а $r_{CCNa} < 0$). Затем ($2.9 \text{ мс} < t < 4.6 \text{ мс}$) вклад изменения проводимости натриевых каналов также становится сонаправленным с изменением скорости изменения ведущего потенциала ($r_{CCNa} > 0$) и

постепенно увеличивается, в то время как $r_{сск} > 0$ – убывает. Наконец, в финальную фазу быстрой реполяризации ($t > 4.6$ мс) вклад изменения проводимости натриевых каналов в формирование $\Delta dV_L/dt$ становится доминирующим по сравнению с влиянием изменения проводимости калиевых каналов ($r_{сcNa} \approx 1, r_{сcK} \approx 0$).

2.2. Метод интегралов разности токов

Метод интегралов разности токов, предложенный в работе [6], позволяет рассчитать количественный вклад изменения тока через каждый канал или обменник, учтенные в модели, в *изменение величины потенциала действия* после воздействия:

$$\Delta V_{mj} = -\frac{1}{C_m} \cdot \int_{t_0}^t (i_{j2}(\tau) - i_{j1}(\tau)) d\tau, \quad (9)$$

где $\Delta V_{mj} = \Delta V_m(t) - \Delta V_m(t_0)$ – изменение потенциала действия, вызванное отклонением $\Delta i_j = i_{j2} - i_{j1}$ величины тока i_{j2} через j -ый канал после воздействия от контрольных значений i_{j1} до воздействия, C_m – емкость мембраны.

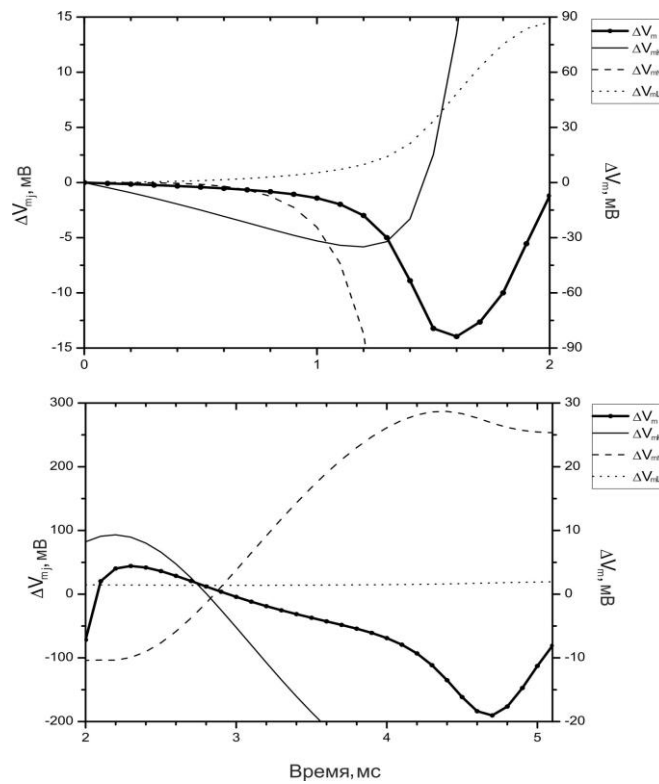


Рис. 4. Временной ход изменения ПД ΔV_m (по правой оси) и вклад изменения тока каналов в ПД ΔV_{mj} (по левой оси) при изменении максимальной проводимости калиевых каналов.

Приведем в качестве примера оценки вклада изменения токов в модели (1) в изменение ПД при увеличении максимальной проводимости калиевых каналов с 36 мСм/см^2 до 72 мСм/см^2 (табл. 1, численный эксперимент №1). Весь период деполяризации тестового ПД $\Delta V_m < 0$ (рис. 4, верхняя панель, $t < 2.1$ мс). В раннюю стадию деполяризации ($t < 1.4$ мс) вклад разности токов и через калиевые (Δi_K), и через натриевые (Δi_{Na}) каналы в изменение ПД также меньше нуля ($\Delta V_{mK} < 0$ и $\Delta V_{mNa} < 0$), т.е. изменение обоих токов вносит сонаправленный вклад в изменение ПД. Заметим, что знаки $\Delta V_{mj} < 0$ и $\Delta i_j > 0$ – противоположные (см. формулу (9)), при этом $\Delta i_K > 0$

означает, что в модели с большей максимальной проводимостью калиевых каналов реполяризуемый калиевый ток в эту фазу больше, чем в контрольном случае, а деполяризуемый ток через натриевые каналы, напротив, меньше, что и обуславливает замедление развития ПД в тестовой модели. При этом видно, что в начальную фазу деполяризации ($t < 1$ мс) величина ΔV_{mK} нарастает существенно быстрее, чем ΔV_{mNa} , что позволяет предположить, что именно изменение калиевого тока является триггером для последующего изменения потенциала, а вслед за этим и потенциал-зависимого изменения натриевого тока и т.д. В позднюю стадию деполяризации только Δi_{Na} вносит сонаправленный вклад в изменение ПД (рис. 4, верхняя панель, $1.4 < t < 2.1$ мс).

В фазу медленной реполяризации тестового ПД $\Delta V_m > 0$, при этом $\Delta V_{mK} > 0$, а $\Delta V_{mNa} < 0$. Следовательно, именно разность тока $\Delta i_K < 0$ через калиевые каналы вносит положительный вклад в изменение ПД (рис. 4, нижняя панель, $2.1 < t < 2.8$ мс). В фазу быстрой реполяризации и отклонение ПД, и интеграл разности калиевого тока одновременно меняют знаки, т.е. $\Delta V_m < 0$ и $\Delta V_{mK} < 0$, при этом интеграл разности натриевого тока имеет противоположный знак, $\Delta V_{mNa} > 0$, следовательно, также Δi_K вносит сонаправленный вклад в изменение ПД (рис. 4, нижняя панель, $t > 2.8$ мс).

СРАВНЕНИЕ ДВУХ МЕТОДОВ. ОБСУЖДЕНИЕ

Объединив два метода, мы смогли представить более полную картину влияния внутренних механизмов на конфигурацию ПД, чем при использовании каждого метода в отдельности. При этом метод ведущего потенциала дает оценку роли отклонений во временном ходе «проводимостей» каналов в изменении скорости развития потенциала, а метод интегралов – оценку влияния изменения токов в изменении собственно величины потенциала.

Суммируя приведенные выше результаты, полученные в модели Ходжкина–Хаксли при увеличении максимальной проводимости (уменьшении потенциала реверсии) калиевых каналов, можно заключить следующее:

1. Фаза деполяризации ПД замедляется. Согласно методу ведущего потенциала, в эту фазу основную роль в изменении скорости развития ПД играет изменение проводимости натриевых каналов (рис. 3), в основном за счет более медленного нарастания вероятности их активации. Согласно же методу интегралов, триггером для изменения величины ПД в начальную фазу деполяризации является изменение калиевого тока (рис. 4).

В этих результатах нет кажущегося противоречия. В первом методе оценивается скорость изменения во времени тех или иных динамических характеристик, влияющих на величину тока, и поэтому он позволяет сравнить влияние только динамически меняющихся характеристик каналов, таких как вероятность активации–инактивации, на изменение скорости генерации ПД после воздействия. Собственное изменение статических параметров данной модели, таких как максимальная проводимость канала (g_K) или величина потенциала реверсии (E_K), в методе ведущего потенциала отражается только опосредованно в их влиянии на скорость изменения динамических характеристик проводимости каналов. Так, например, в начальную фазу деполяризации активационная переменная m для натриевых каналов (см. уравнение (1)) возрастает существенно быстрее, чем активационная переменная n для калиевых каналов (пик скорости возрастания m на порядок величин больше пика скорости возрастания n), и при этом чувствительность величины m к изменению параметра g_K также оказалась выше, чем для переменной n , что и привело к значительно большему изменению вероятности открытия натриевых каналов при изменении параметра g_K . Соответственно, метод ведущего потенциала показывает, что в начальную фазу

медленной деполяризации за изменение скорости развития ведущего потенциала в основном отвечает изменение проводимости натриевых, а не калиевых каналов, что связано с большей чувствительностью натриевых каналов к мембранному потенциалу в этом диапазоне значений потенциала.

В отличие от метода ведущего потенциала, в методе интегралов оценивается вклад изменения величины тока в изменение ПД, а значение максимальной проводимости g_K непосредственно определяет величину тока i_K и отражается в величине интеграла от разности тока, позволяя увидеть эффекты изменения параметра модели. Так, при увеличении g_K именно увеличение абсолютной величины калиевого тока в раннюю фазу деполяризации противодействует активации натриевых каналов и является исходным триггером для задержки деполяризации ПД.

2. Фаза реполяризации ускоряется. Согласно обоим методам, в начальную фазу реполяризации этот эффект связан с изменениями функционирования калиевых каналов: первый метод указывает на основную роль изменения временного хода активации калиевых каналов в увеличении скорости реполяризации ПД, а второй метод – на основной вклад изменения самого калиевого тока в изменение временного хода ПД. В финальную фазу быстрой реполяризации, согласно первому методу, начинает превалировать вклад изменения проводимости натриевых каналов (а именно, ускорение инактивации натриевых каналов за счет ускорения убывания активационной переменной m) по сравнению со вкладом изменения проводимости калиевых каналов в увеличение скорости реполяризации ПД. Согласно второму методу, за изменение величины ПД отвечает изменение калиевого тока. Здесь, как и было отмечено выше, оба метода дают дополнительную по отношению друг к другу информацию о причинах изменения конфигурации ПД в соответствии с их различной чувствительностью к изменению параметров модели.

Таким образом, в настоящей работе показано, что усовершенствованный метод ведущего потенциала позволяет не только оценить вклад различных внутриклеточных механизмов в скорость генерации ПД при фиксированном наборе параметров модели (что проиллюстрировано в работе японских авторов [5]), но и оценить вклад изменения проводимости каналов в изменение скорости развития потенциала действия при изменении параметров модели. В отличие от второго метода, метод ведущего потенциала не требует численного интегрирования. Однако в выражения для оценки вклада (формулы (5), (8)) сложным образом входят параметры канала, что затрудняет качественный анализ системы. Кроме того, необходимо аккуратно исследовать области, в которых $dV_i/dt \rightarrow 0$, что также усложняет интерпретацию результатов. Достоинство интегрального метода заключается в том, что он позволяет оценить вклад каналов непосредственно в изменение потенциала действия, а не в изменение скорости развития ПД, что несколько проще для интерпретации результатов.

Следует отметить, что ни первый, ни второй методы не позволяют идентифицировать исходную причину изменения конфигурации ПД. Они лишь позволяют оценить последствия изменения параметров модели и сравнить вклад различных механизмов в наблюдаемые изменения временного хода развития ПД. В то же время, сочетание двух методов может позволить высказать разумные предположения о возможных причинах возникновения отклонений во временном ходе развитии ПД.

Например, в рассмотренном примере по результатам расчетов, проведенных с использованием метода ведущего потенциала, мы получили, что в фазу ранней деполяризации вероятность активации калиевых каналов практически не меняется, а из

расчетов, проведенных с использованием метода интегралов разности токов – что изменение калиевого тока является триггером для задержки деполяризации мембраны. Зная уравнение для калиевого тока в модели Ходжкина – Хаксли (см. третье слагаемое в уравнении (1)), можно предположить, что замедленная деполяризация ПД обусловлена либо изменением максимальной проводимости калиевого канала, либо изменением потенциала реверсии для калиевого тока. Таким образом, проведенный анализ содержит не только важную информацию о сравнительном вкладе тех или иных внутриклеточных механизмов в модуляцию процесса генерации ПД в результате изменения параметров функционирования клетки, но и позволяет упростить решение задачи идентификации, сузив список параметров, потенциально ответственных за изменение конфигурации ПД.

Работа поддержана грантом № 09-М-14-2001 Президиума УрО РАН, грантом РФФИ №11-04-00785-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hodgkin A.L., Huxley A.F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiology*. 1952. V. 117. P. 500–544.
2. Bezzina C., Veldkamp M.W., van Den Berg M.P. et al. A single Na⁺ channel mutation causing both long-QT and Brugada syndromes. *Circ. Res.* 1999. V. 85. P. 1206–1213.
3. Абрамочкин Д.В., Сухова Г.С., Розенштраух Л.В. Механизмы функционирования и регуляции синоатриального узла млекопитающих. *Успехи физиологических наук*. 2009. Т. 40. № 4, С. 20–40.
4. Ройтберг Г.Е., Струтынский А.В. *Внутренние болезни. Сердечно-сосудистая система*. Бином-пресс, 2007. 855 с.
5. Cha C.Y., Himeno Y., Shimayoshi T., Amano A., Noma A. A novel method to quantify contribution of channels and transporters to membrane potential dynamics. *Biophysical Journal*. 2009. V. 97. №12. P. 3086–3094.
6. Solovyova O., Vikulova N., Markhasin V.S., Kohl P. A novel method for quantifying the contribution of different intracellular mechanisms to mechanically induced changes in action potential characteristics. *Lecture Notes in Computer Science*. 2003. V. 2674. P. 7–16.
7. Garny A., Noble D., Hunter P.J. and Kohl P. Cellular Open Resource (COR): current status and future directions. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 2009. V. 367. № 1895. P. 1885–1905. URL: <http://cor.physiol.ox.ac.uk/> (дата обращения: 01.08.2011).

Материал поступил в редакцию 30.06.2011, опубликован 02.08.2011.