

Wstęp

Potencjał równowagi

Jeśli po dwu stronach przegrody przepuszczalnej dla jonów wytworzyć różnicę stężeń tych jonów, to na skutek dyfuzji będą one przechodziły z przedziału o stężeniu wyższym do przedziału o stężeniu niższym. Przepływ jonów pomiędzy przedziałami można zatrzymać wytwarzając pomiędzy nimi odpowiednią różnicę potencjałów. Pole elektryczne będzie powodowało ruch jonów (migrację) w stronę przeciwną do kierunku ich ruchu związanego z dyfuzją. W ten sposób może dojść do równowagi pomiędzy strumieniem dyfuzyjnym i migracyjnym. Tym samym całkowity strumień przez przegrodę będzie równy zero i stężenia jonów w obu przedziałach przestaną się zmieniać. Wartość różnicy potencjałów przy której dochodzi do takiej równowagi nazywamy potencjałem równowagi (Nernsta).

Rozważmy sytuację, gdy w roztworze znajdują się dwa rodzaje jonów (np. Na^+ i Cl^-) zaś przegroda jest selektywna, to znaczy przepuszcza tylko jeden rodzaj jonów (np. Na^+). Wówczas dyfuzyjne przechodzenie tych jonów z jednego przedziału do drugiego powoduje, że pomiędzy przedziałami wytwarza się różnica potencjałów elektrycznych. W układzie takim transport jonów będzie zachodził zatem do chwili, gdy rosnąca różnica potencjałów nie osiągnie wartości potencjału równowagi dla tych jonów. Wartość potencjału równowagi zależy rzecz jasna od wartości stężeń przenikających jonów w obu przedziałach (oznaczonych jako c_1 i c_2). Matematycznie potencjał równowagi (np. dla rozpatrywanych jonów sodowych) przedstawia wzór Nernsta:

$$V_{\text{Na}^+} = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{C_1}{C_2} \right) \quad (1)$$

gdzie R oznacza stałą gazową, T - temperaturę, z - ładunek jonu, zaś F - stałą Faraday'a.

Występowanie potencjału równowagi (V_r) musi być brane pod uwagę, gdy rozważamy przepływ prądu w układzie z błoną selektywną. Potencjał Nernsta pełni bowiem w takim układzie rolę dodatkowej siły elektromotorycznej. Ze względu na przeciwne kierunki siły elektromotorycznej (E) i potencjału równowagi dla przewodzących prąd jonów równanie opisujące natężenie płynącego prądu będzie miało postać:

$$J = g(E - V_r) \quad (2)$$

gdzie g jest przewodnością elektryczną (odwrotnością oporu) przewodzącego ośrodka. Widać więc, że o wielkości prądu danego jonu decyduje różnica pomiędzy napięciem zasilającym i potencjałem równowagi.

Potencjałem błonowym lub membranowym nazywamy różnicę potencjałów pomiędzy wnętrzem komórki i jej otoczeniem ($V_m = V_w - V_z$). Wygodnie jest przyjąć (i taka jest obowiązująca konwencja), że potencjał po zewnętrznej stronie błony wynosi zero. W takim razie napięcie pomiędzy obu stronami błony jest po prostu potencjałem wnętrza komórki mierzonym względem jej otoczenia. Zasada pomiaru wartości potencjału membranowego jest bardzo prosta. Układ składa się z miliwoltomierza oraz pary elektrod, z których jedna jest zanurzona w roztworze otaczającym badaną komórkę, druga natomiast, umieszczona w pipecie szklanej przebijającej błonę komórkową, ma dostęp do wnętrza komórki. Błona komórki przylega szczelnie do szkła, z którego jest zrobiona pipeta i nie dochodzi dzięki temu do bezpośredniego elektrycznego kontaktu pomiędzy wnętrzem i otoczeniem komórki. Miliwoltomierz mierzy różnicę potencjałów pomiędzy wnętrzem i otoczeniem komórki, czyli potencjał błonowy.

Z doświadczenia wiadomo, że większość żywych komórek utrzymuje stałą wartość różnicy potencjałów pomiędzy swym wnętrzem a otoczeniem. Ten stały potencjał wnętrza komórki

względem jej otoczenia nazywamy potencjałem spoczynkowym. Zdolność komórki do utrzymywania stałej wartości potencjału spoczynkowego związana jest bezpośrednio z istnieniem różnicy stężeń niektórych jonów pomiędzy wnętrzem i otoczeniem komórki. Dla większości komórek jonami "najważniejszymi" z punktu widzenia potencjału spoczynkowego są jony sodu, potasu oraz chlorkowe. "Typowy" - czyli najczęściej spotykany - rozkład stężeń jonów jest taki, że na zewnątrz komórki stężenie jonów sodowych i chlorkowych jest większe niż wewnątrz komórki, natomiast stężenie jonów potasu jest większe wewnątrz komórki. Stała wartość potencjału błonowego może być utrzymana jedynie wtedy, gdy całkowity ładunek przepływający przez błonę jest równy zero (w przeciwnym razie następowalaby zmiana ładunku błony i związana z tym zmiana potencjału). Błona komórki jest przepuszczalna dla jonów - w stanie spoczynku najlepiej przepuszczane są jony potasu, gorzej chlorkowe, najgorzej zaś sodowe. Wobec istniejących różnic stężeń indywidualne strumienie każdego z jonów nie są równe zero. W związku z tym potencjał spoczynkowy może być utrzymany, gdy suma ładunków przenoszonych przez jony w jednostce czasu (suma prądów jonowych) jest równa zero:

$$I_{Na^+} + I_{K^+} + I_{Cl^-} = 0.$$

Oznacza to, że w stanie spoczynku, każdy z prądów jonowych ma różną od zera, stałą wartość, ich suma zaś wynosi zero. Stan spoczynku na błonie nie jest zatem stanem równowagi lecz stanem stacjonarnym, czyli takim w którym mimo braku równowagi termodynamicznej wartości parametrów opisujących stan układu nie zmieniają się.

Im większa jest przepuszczalność błony dla danego typu jonu, tym bardziej wartość potencjału spoczynkowego będzie zbliżona do potencjału Nernsta dla tego typu jonu. W związku z tym potencjał spoczynkowy jest zbliżony do potencjału Nernsta dla jonów potasowych, gdyż właśnie dla tych jonów błona jest najbardziej przepuszczalna w stanie spoczynku.

Mimo że prądy jonowe płynące przez błonę komórki w stanie spoczynku mają małe wartości, to jednak po pewnym czasie doprowadzałyby one do wyrównania wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych stężeń jonów. Utrzymanie stałej różnicy stężeń jonów pomiędzy wnętrzem i otoczeniem komórki jest możliwe dzięki aktywnemu (tzn. wymagającego nakładu energii) transportowi zachodzącemu w przeciwnym - niż dyfuzja - kierunku. Klasycznym przykładem takiego aktywnego mechanizmu transportu jest pompa sodowo-potasowa.

Potencjał czynnościowy komórek

Niektóre z komórek, oprócz utrzymywania potencjału spoczynkowego są zdolne dodatkowo do szybkiej i krótkotrwałej zmiany potencjału błonowego - będziemy je nazywali komórkami pobudliwymi. Komórki nie posiadające tej zdolności nazywamy niepobudliwymi. Chwilową, impulsową zmianę potencjału błony komórkowej będziemy nazywali potencjałem czynnościowym. Potencjał czynnościowy powstaje w komórce pobudliwej, gdy potencjał jej błony przekroczy pewną graniczną wartość nazywaną progami pobudzenia. Warto zauważyć, że wielkość bodźca pobudzającego ma znaczenie jedynie dla powstania pojedynczego potencjału czynnościowego - nie ma ona natomiast wpływu na jego przebieg. Zmiany potencjału błonowego podczas trwania potencjału czynnościowego składają się z kilku faz:

1. gwałtownego wzrostu potencjału błonowego (depolaryzacji)
2. nieco powolniejszego spadku potencjału błony (repolaryzacji)
3. okresu, gdy potencjał błony jest niższy od potencjału spoczynkowego (hiperpolaryzacji)

Zjawisko to opisuje model Hodgkin'a i Huxley'a, który został po raz pierwszy opublikowany w 1952 roku, ale pozostaje do dziś modelem z wyboru dla większości neurologów. Korzystając z techniki patch-clamp, Hodgkin i Huxley oszacowali funkcje aktywacji i dezaktywacji opisujące prądy sodowe i potasowe. To pozwoliło im na opracowanie modelu matematycznego, którym opisany jest potencjał czynnościowy, a który dobrze opisuje to co udało się uzyskać z pomiarów zarejestrowanych dla aksonu kałamarnicy olbrzymiej.

Model H-H składa się z czterech równań różniczkowych i opisuje jak zmienia się potencjał

błonowy (V) w czasie. Trzy równania opisują zmienne aktywacji (oznaczone jako m i n) oraz zmienną dezaktywacji (oznaczoną jako h) dla prądów sodowych i potasowych.

Całkowity prąd membranowy to suma prądów: pojemnościowego i jonowego:

$$I_m = C_m \left(\frac{dV}{dt} \right) + I_i$$

Prąd jonowy to suma trzech indywidualnych składowych: składowa potasowa, sodowa oraz tzw. prąd wycieku (*leak*)

$$I_i = I_{Na^+} + I_{K^+} + I_l$$

Równanie na prąd sodowy to relacja pomiędzy: maksymalną przewodnością g_{Na} zmienną aktywacji - m zmienną dezaktywacji kanału oraz różnicą potencjałów ($V - V_{Na^+}$):

$$I_{Na^+} = \bar{g}_{Na^+} m^3 h (V - V_{Na^+})$$

Równanie na prąd potasowy to relacja pomiędzy : maksymalną przewodnością g_K , zmienną aktywacji kanału oraz różnicą potencjałów ($V - V_{K^+}$):

$$I_{K^+} = \bar{g}_{K^+} n (V - V_{K^+})$$

Prąd wycieku to produkt maksymalnej przewodności g_l oraz różnicy potencjałów ($V - V_l$):

$$I_l = \bar{g}_l (V - V_l)$$

Zmienna aktywacji (m oraz n) a także zmienna dezaktywacji h mają wartości od 0 do 1 i zależą od czasu w sposób opisany równaniami poniżej:

$$\frac{dm}{dt} = \phi [\alpha_m(V)(1-m) - \beta_m(V)m]$$

$$\frac{dh}{dt} = \phi [\alpha_h(V)(1-h) - \beta_h(V)h]$$

$$\frac{dn}{dt} = \phi [\alpha_n(V)(1-n) - \beta_n(V)n]$$

gdzie: (α) to funkcja szybkości aktywacji/dezaktywacji w kierunku propagacji potencjału czynnościowego, (β) to funkcja szybkości aktywacji/dezaktywacji w kierunku przeciwnym do propagacji potencjału czynnościowego, ϕ - czynnik zależny od temperatury.

Hodkin i Haxley oszacowali wartość tych funkcji na podstawie swoich eksperymentów. Funkcje aktywacji i dezaktywacji zostały przekształcone z oryginalnych wartości HH by zgadzały się z współczesną konwencją, gdzie po depolaryzacji potencjał błony przyjmuje wartości dodatnie. Dodatkowo potencjał spoczynkowy został przesunięty na -60mV z oryginalnego 0mV . Ostateczna wersja funkcji aktywacji i dezaktywacji przyjmuje postać:

$$\alpha_m(V) = \frac{0,1(-35-V)}{e^{(-35-V)/10} - 1}$$

$$\beta_m(V) = 4e^{(-V-60)/18}$$

$$\alpha_n(V) = 0,07e^{(-V-60)/20}$$

$$\beta_m(V) = \frac{1}{e^{(-30-V)/10} + 1}$$

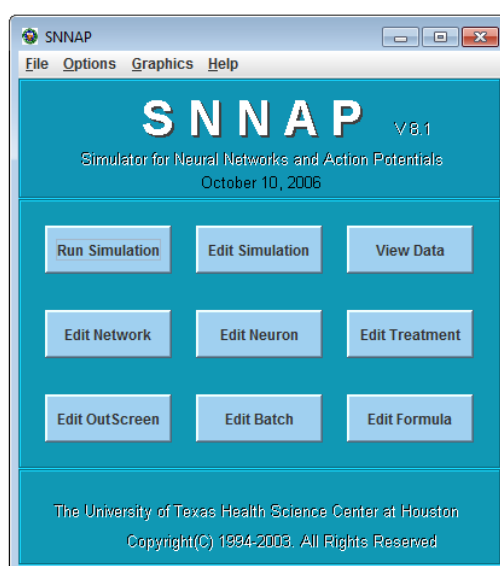
$$\alpha_n(V) = \frac{0,01(-50-V)}{e^{(-50-V)/10} - 1}$$

$$\beta_n(V) = 0,125e^{(-V-60)/80}$$

Wykonanie doświadczenia:

Uruchomienie programu:

Otwórz folder ssnap8_1 i kliknij dwukrotnie na plik wykonawczy **SNNAP8_1.JAR** w celu uruchomienia głównego okna programu (Rys. 1).

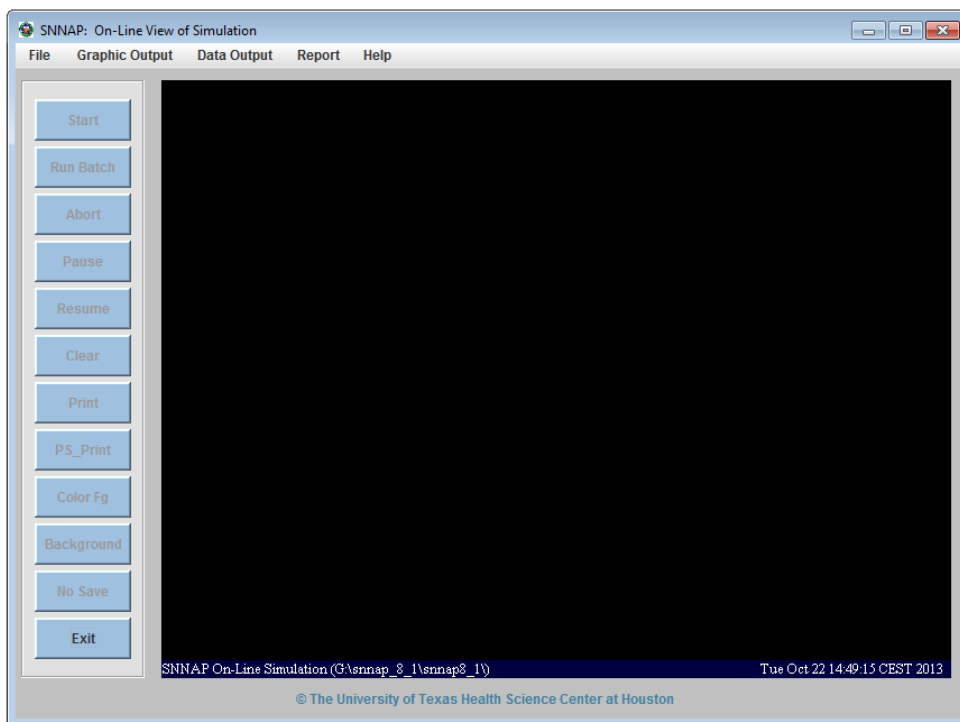


Rys.1 Główne okno programu SNNAP.

Główne okno programu zawiera przyciski uruchamiające różne okna funkcjonalne do edycji parametrów SNNAP, edycji samego modelu, parametrów sieci oraz uruchomienia symulacji.

Uruchomienie symulacji:

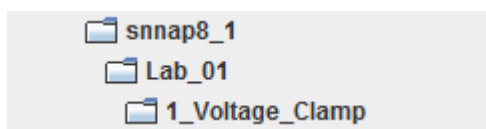
W oknie głównym kliknij przycisk “Run simulation” w celu uruchomienia okna symulacji.



Rys. 2 Główne okno widoku symulacji.

Kliknij File> Load Simulation w celu otwarcia okna wyboru.

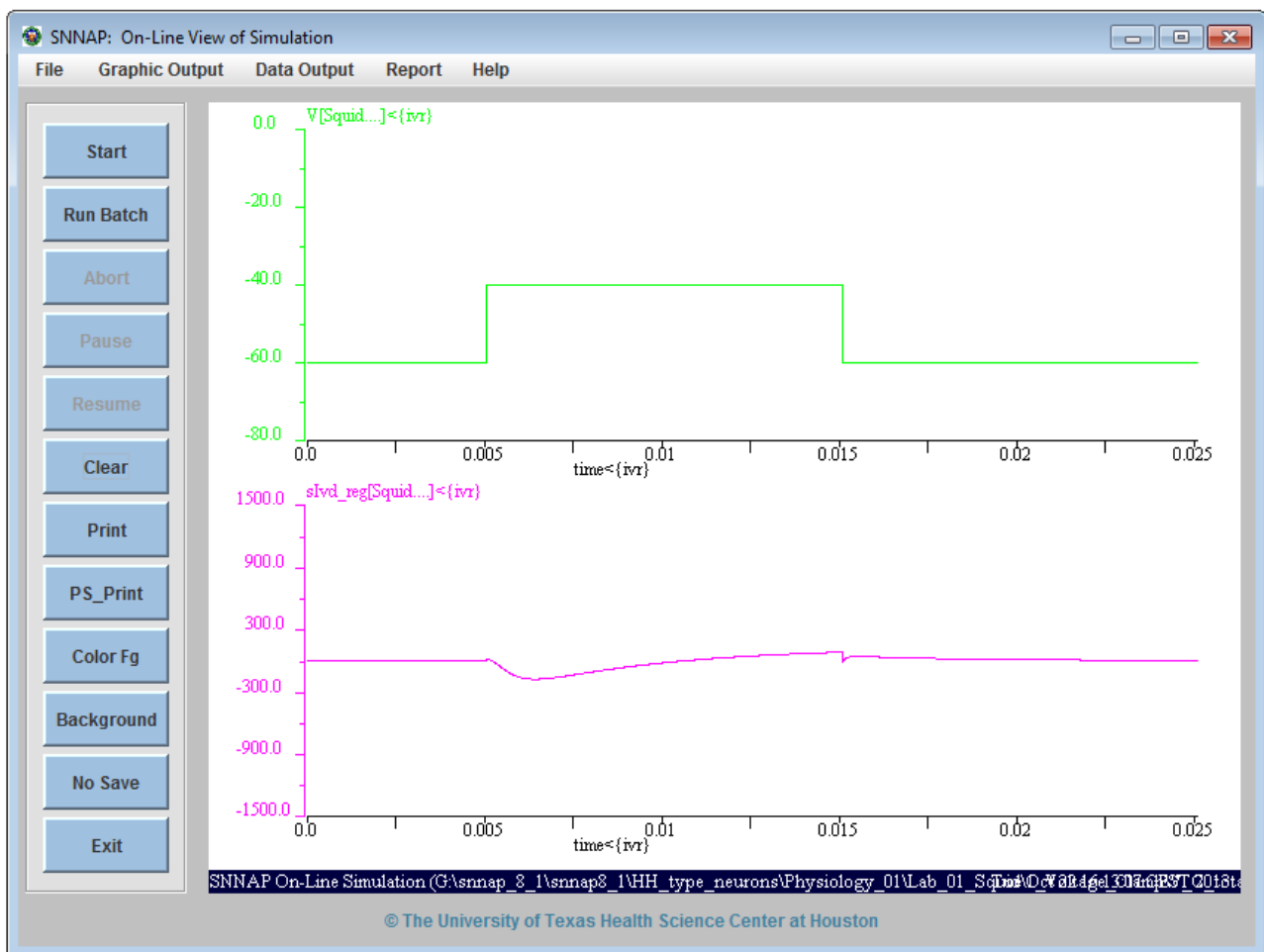
Otwórz plik **V_C_total_Im.smu** znajdujący się w folderze **1_Voltage_Clamp**. Plik zostanie załadowany do symulatora. Drzewko folderów przedstawia rys. 3.



Rys.3. Ścieżka dostępu do plików symulacji.

Uwaga: Jeśli plik modelu jest duży, proces ładowania może potrwać kilka sekund. Jeśli przyciski po lewej są **aktywne**, ich tytuły będą wyświetlane w kolorze **czarnym**. Jeśli tytuły przycisków są na **szaro**, **nie są one funkcjonalne**.

Kliknij przycisk **Start**, aby rozpocząć symulację; wynik powinien wyglądać tak jak rys 4.



Rys. 4. Symulacja obrazuje odpowiedź modelu Hodgkin'a-Huxley'a na eksperyment Voltage-Clamp, w którym potencjał spoczynkowy (-60 mV) został zwiększony do -40 mV przez czas 10 ms. Na wykresach wykreślono kolejno: potencjał błonowy $V[\text{Squid...}]<\{ivr\}$ i całkowity prąd jonowy $sIvd_reg[\text{Squid...}]<\{ivr\}$.

Zmiana koloru tła:

Dwukrotnie kliknij na Color Fg w panelu bocznym okna symulacji.

Wczytywanie symulacji grupowych (**Run Batch**):

Wczytywanie symulacji grupowych wymaga by wpieryw wczytana była symulacja podstawowa.

Kliknij **Run Batch** i upewnij się, że otwarty jest ten sam folder co przy wczytywaniu symulacji podstawowej.

Otwórz plik **trt_VC_total_Im.bch** na który składa się 6 symulacji, w czasie których potencjał błonowy jest zmieniany z -60 mV kolejno na -75, -50, -40, -30, -20 i -10 mV (czas trwania: 10 ms). Symulacje przebiegną samoczynnie.

Co można powiedzieć na temat otrzymanych wyników?

Czy jest to wynik przepływu pojedynczego prądu czy suma kilku prądów?

Czy przepływ prądów jest w tym samym kierunku?

Czy są rozdzielone w czasie czy równoczesne?

Otwórz plik **V_C_Ina_Ik.smu** znajdujący się w folderze **1_Voltage_Clamp** i kliknij **Start**. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_VC_Ina_Ik.bch**.

Na wykresie dodano prąd sodowy $I_{vd}[\text{Na.Squid...}]$ i prąd potasowy $I_{vd}[\text{K.Squid...}]$.

Czy symulacje potwierdzają wcześniejsze wnioski?

Czy przepływ jonów jest hamowany? Zanotuj odpowiedzi.

Na podstawie m.in. takich eksperymentów Hodgkin i Huxley opracowali model matematyczny opisujący potencjał czynnościowy neuronu, na którym będziemy pracowali w dalszej części ćwiczenia.

Zad.1. Otwórz plik **Spike_04.smu** znajdujący się w folderze **2_Spike** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał czynnościowy neuronu wzbudzony przez 2,5 nA prąd działający przez 5 ms. Na wykresie zaznaczono przewodnictwo błony dla jonów sodu $G_{vd}[\text{Na.Squid...}]$, przewodnictwo błony dla jonów potasu $G_{vd}[\text{K.Squid...}]$ oraz potencjał błonowy $V[\text{Squid...}]$.

Co można powiedzieć na temat otrzymanych wyników?

Jakie fazy można wyróżnić w przebiegu potencjału błonowego?

Czy widoczny jest czasowo rozdzielczy przepływ jonów sodu i potasu?

Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **Spikle_04_trt.bch**. Jest to zbiór 5 symulacji, w których potencjał czynnościowy wzbudzany jest prądem o wartościach 0,5, 1, 2, 2,5, 3 nA w czasie 5ms.

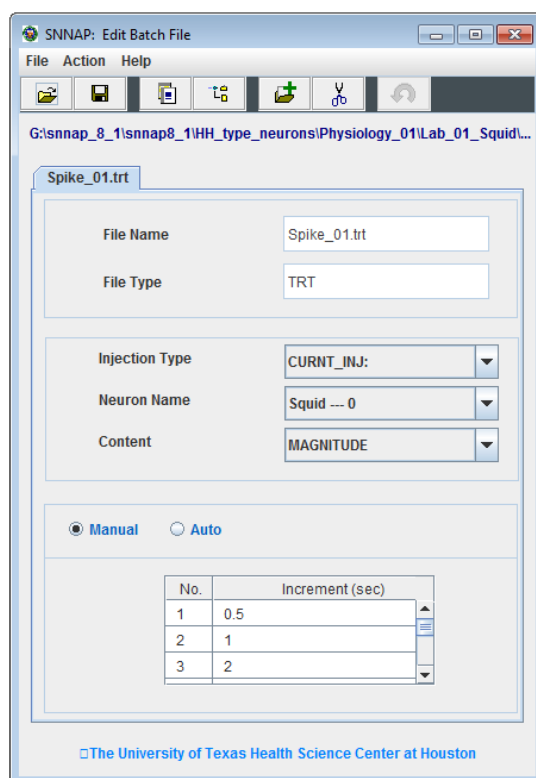
Jaka jest minimalna wartość prądu by wzbudzić potencjał czynnościowy? Zanotuj obserwacje.

Zapisywanie wyników symulacji:

1. W oknie symulacji (rys.4) kliknij **Data Output>Output File Name**. Wskaż folder docelowy do zapisu wyników oraz podaj nazwę plików z wynikami.
2. W oknie symulacji (rys.4) w panelu bocznym kliknij **No Save**, powinno zmienić się na **Save to File**.
3. Uruchom symulację/symulację grupową. *W przypadku symulacji grupowych program automatycznie doda kolejne numery symulacji do nazwy pliku.*

Edycja symulacji grupowych:

Kliknij przycisk Edit Batch w głównym oknie sterowania SNNAP (rys. 1), aby otworzyć okno edycji Edit Batch File, patrz rys. 6.



Rys. 6. Okno edycji symulacji grupowych.

Kliknij **File>Open** i upewnij się, że otwarty jest ten sam folder, co przy wczytywaniu symulacji podstawowej.

Otwórz plik **Spike_04_trt.bch**. W dolnej części okna można zmieniać wielkość parametru (nie należy się przejmować „sec”, program wstawi odpowiednią jednostkę). Po wpisaniu wartości należy kliknąć w pole poniżej, spowoduj to trwałe wpisanie wartości. Po zakończeniu należy zapisać zmiany i od nowa wczytać całą symulację klikając **File>Reload Simulation** w oknie symulacji (rys.2).

Manipulując tymi wielkościami, określ minimalną wartość prądu, która wyzwoli potencjał czynnościowy. Wyniki zapisać.

Zad 2. Otwórz plik **Spike_05.smu** znajdujący się w folderze **2_Spike** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał czynnościowy neuronu wzbudzony przez 2,5 nA prąd działający przez 5 ms. Na wykresie zaznaczono prąd sodowy $I_{vd}[Na.Squid...]<\{ivr\}$, prąd potasowy $I_{vd}[K.Squid...]<\{ivr\}$ oraz potencjał błonowy $V[Squid...]<\{ivr\}$.

Czy przepływ prądów jest w tym samym kierunku?

Czy prądy jonowe są rozdzielone w czasie czy równoczesne?

Czy przepływ prądów jest monotoniczny w obu przypadkach?

Zanotować odpowiedzi.

Zad 3. Otwórz plik **Spike_02.smu** znajdujący się w folderze **2_Spike** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez 6,3 nA prąd działający przez 260 ms.

Co można powiedzieć na temat otrzymanych wyników? Zanotuj obserwacje.

Zad 4. Otwórz plik **Spike_03.smu** znajdujący się w folderze **2_Spike** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez 4,0 nA prąd działający przez 5 ms. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **Spikle_03_vdg_Ena.bch**. Jest to zbiór 5 symulacji w których potencjał równowagowy dla jonów sodu jest zmieniany (100%, ~70%, ~50%, ~30%, ~150%).

Potencjał równowagowy dla danego jonu to taki potencjał, przy którym ilość jonów wpływających do komórki jest równa ich wypływowi w jednostce czasu (strumień jonów jest równy 0).

Jak wpływa zmiana potencjału równowagowego dla jonów sodu na przebieg potencjału błonowego? Zanotuj obserwacje.

Zad 5. Otwórz plik **Spike_06.smu** znajdujący się w folderze **2_Spike** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez 40 nA prąd działający przez 1 ms. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **Spikle_06_vdg_Gk.bch**. Jest to zbiór 5 symulacji w których przewodnictwo błony dla jonów potasu jest zmieniane (100%, ~80%, ~66%, ~50% i ~33%).

Jak wpływa zmiana przewodnictwa błony dla jonów potasu na przebieg potencjału błonowego? Zanotuj obserwacje.

Zmieniając plik symulacji grupowej (Spikle_06_vdg_Gk.bch) wyznaczyć minimalną wartość przewodnictwa błony dla jonów potasu, przy której pojawiają się oscylacje. Wyniki zapisać.

Zad 6. Hiprepolaryzacja jest czynnikiem hamującym wyzwalać sygnału?

Otwórz plik **Anode_01.smu** znajdujący się w folderze **3_Anode_Brake** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez -3 nA prąd działający przez 10 ms. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Anode_01.bch**. Jest to zbiór 7 symulacji, w których potencjał błonowy jest wzbudzany prądem o wartościach od -0,5 do -3,5 nA co 0,5 nA, czas działania sygnału wynosi 10 ms.

Jaka jest maksymalna wartość prądu, która wyzwala potencjał czynnościowy? Dlaczego tak się dzieje? Zanotuj odpowiedzi.

Otwórz plik **Anode_02.smu** znajdujący się w folderze **3_Anode_Brake** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez -3 nA prąd działający przez 10 ms. Na dolnym wykresie wykreślono przewodnictwo błony dla jonów potasu $G_{vd}[K.Squid...]>\{ivr\}$ oraz parametr inaktywacji przewodnictwa błony dla jonów sodu $h[Na.Squid...]<\{ivr\}$. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Anode_02.bch**. Są to 2 symulacje, w których potencjał błonowy jest wzbudzany prądem o wartościach -2,5 i -3,0 nA, czas działania sygnału wynosi 10 ms.

Na podstawie wykreślonych parametrów wyjaśnić podstawy zjawiska „Anode Break Excitation”.

Zad 7. Depolaryzacja jest czynnikiem aktywującym wyzwalać sygnału?

Otwórz plik **Accom_01.smu** znajdujący się w folderze **4_Accomodation** i kliknij **Start**.

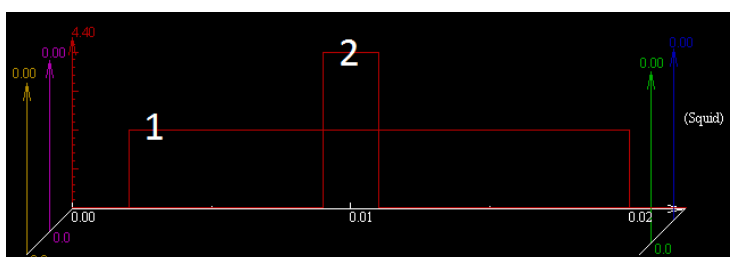
Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez 4 nA prąd działający przez 2 ms. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Accom_01.bch**. Jest to zbiór 5 symulacji, w których potencjał błonowy jest wzbudzany prądem o wartościach 2, 3, 4, 5, 6 nA, czas działania sygnału wynosi 2 ms. Jest to symulacja podobna do Spike_04.smu

Jaka jest w tym przypadku minimalna wartość prądu by wzbudzić potencjał czynnościowy? Zanotuj obserwacje.

Otwórz plik **Accom_02.smu** znajdujący się w folderze **4_Accomodation** i kliknij **Start**.

Potencjał czynnościowy wyzwalany będzie przez zadziałanie dwoma prądami: od 2 do 20 ms prądem o wartości 2 nA oraz od 9 do 11 ms prądem o wartości 4 nA (rys. 7).

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu oraz prąd sodowy. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Accom_02.bch**. Jest to zbiór 5 symulacji w których potencjał błonowy jest wzbudzany przez zmianę wartości drugiego impulsu na 2, 3, 4, 5, 6 nA.



Rys. 7. Schemat impulsów stosowanych w symulacji Accom_02.smu.

Jaka jest w tym przypadku minimalna wartość prądu drugiego impulsu by wzbudzić potencjał czynnościowy? Dlaczego jest inna?

Otwórz plik **Accom_03.smu** znajdujący się w folderze **4_Accomodation** i kliknij **Start**.

Potencjał czynnościowy wyzwalany będzie przez zadziałanie dwoma prądami: od 2 do 20 ms prądem o wartości 2 nA oraz od 9 do 11 ms prądem o wartości 4 nA (rys. 7).

Wykres przedstawia potencjał błonowy oraz przewodnictwo błony dla jonów potasu (Gvd[K.Squid...]) oraz parametr inaktywacji przewodnictwa błony dla jonów sodu (h[Na.Squid...]). Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Accom_03.bch**. Jest to zbiór 5 symulacji, w których potencjał błonowy jest wzbudzany przez zmianę wartości pierwszego impulsu na 0, 0,5; 1; 1,5; 2 nA.

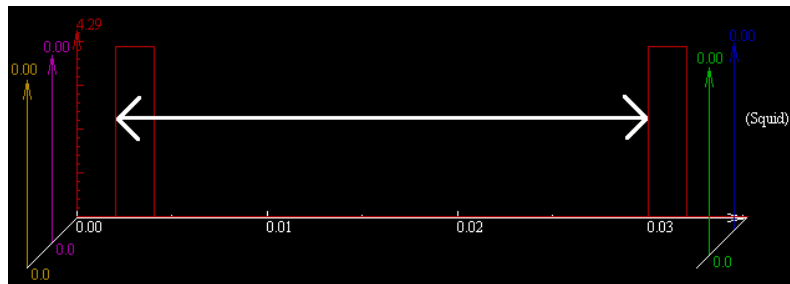
Jaka jest minimalna wartość prądu pierwszego impulsu by zahamować potencjał czynnościowy? Dlaczego tak się dzieje? Zapisz obserwacje.

Zad 8. Minimalny czas opóźnienia pomiędzy potencjałami czynnościowymi.

Otwórz plik **Refrac_01.smu** znajdujący się w folderze **5_Refractory** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez 2 dwa impulsy o wartości 3,9 nA przez 2 ms rozdzielone przerwą o długości 28 ms (2 do 4 ms i 30 do 32 ms) (rys 8). Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Refrac_01.bch**. Jest to zbiór 6 symulacji, w których potencjał błonowy jest wzbudzany dwoma impulsami, a czas opóźnienia wynosi kolejno 10, 12, 16, 18, 20 i 22 ms.

Jaki jest minimalny czas opóźnienia by wzбудzić drugi potencjał czynnościowy? Zanotuj obserwacje.



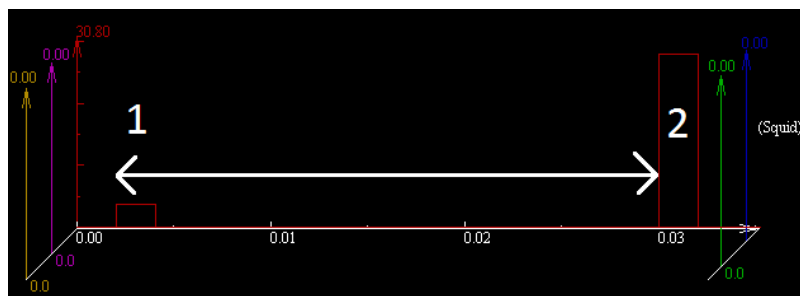
Rys. 8. Czas opóźnienia pomiędzy sygnałami, wartość prądu jest taka sama i wynosi 3,9 nA.

Zmieniając plik symulacji grupowej (trt_Refrac_01.bch) wyznaczyć minimalny czas opóźnienia potrzebny by wzbudzić drugi potencjał czynnościowy. Wyniki zapisać.

Otwórz plik **Refrac_02.smu** znajdujący się w folderze **5_Refractory** i kliknij **Start**.

Wykres przedstawia potencjał błonowy neuronu wzbudzony przez 2 dwa impulsy: pierwszy o wartości 3,9 nA (2 ms) i drugi o wartości 28 nA rozdzielone przerwą o długości 28 ms (2 do 4 ms i 30 do 32 ms) (rys 9). Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Refrac_02.bch**. Jest to zbiór 4 symulacji, w których potencjał błonowy jest wzbudzany dwoma impulsami, a czas opóźnienia wynosi kolejno 10, 12, 16 i 18 ms.

Jaki jest minimalny czas opóźnienia by wzbudzić drugi potencjał czynnościowy? Dlaczego tak duży impuls nie jest w stanie wytworzyć potencjału czynnościowego? Zanotuj obserwacje.



Rys. 9. Czas opóźnienia pomiędzy sygnałami, wartość pierwszego impulsu wynosi 3,9 nA a drugiego 28 nA.

Zmieniając plik symulacji grupowej (trt_Refrac_02.bch) wyznaczyć minimalny czas opóźnienia potrzebny by wzbudzić drugi potencjał czynnościowy. Wyniki zapisać.

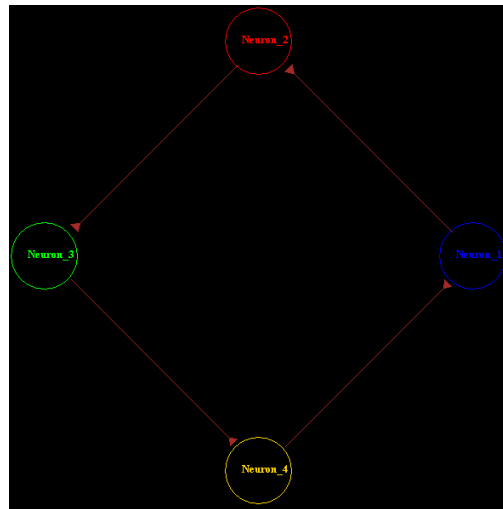
Otwórz plik **Refrac_03.smu** znajdujący się w folderze **5_Refractory** i kliknij **Start**. Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **trt_Refrac_03.bch**. Są to 2 symulacje o parametrach takich jak poprzednio, w których potencjał błonowy jest wzbudzany dwoma impulsami, a czas opóźnienia wynosi kolejno 12 i 16 ms.

Wykresy przedstawiają potencjał błonowy oraz przewodnictwo błony dla jonów potasu $G_{vd}[K.Squid...]>\{ivr\}$ oraz parametr inaktywacji przewodnictwa błony dla jonów sodu $h[Na.Squid...]<\{ivr\}$.

Na podstawie wykresów zaproponować wyjaśnienie dlaczego 2 impuls nie może być wyzwolony zbyt szybko.

POŁĄCZENIA SYNAPTYCZNE

Cztery neurony sieci wykazują zachowanie oscylacyjne z powodu synaptycznego połączenia pomiędzy nimi (rys 11).



Rys. 11. Schemat połączeń sieci neuronowej.

Aktywacja potencjału czynnościowego skutkuje pojawieniem się prądu synaptycznego, który stymuluje kolejny neuron. Prąd ten modelowany jest za pomocą funkcji *alfa* pomnożoną przez przewodnictwo maksymalne oraz siłę elektromotoryczną, zgodnie ze wzorem:

$$I_{syn}(V, t) = \bar{g}_{syn} \cdot g_{syn}(t) \cdot (V(t) - E_{syn}) \quad (5.1)$$

$$g_{syn}(t) = t \cdot e^{-\frac{t}{u}} \quad (5.2)$$

gdzie t jest czasem, który upłynął od uruchomienia "aktywatora" prądu synaptycznego, u jest czasem jaki upływa do osiągnięcia maksimum (time to peak), E_{syn} to synaptyczny potencjał Nernsta (synaptic reversal potential), \bar{g}_{syn} to maksymalna przewodność synaptyczna.

Istnieją dwa parametry, które wpływają na skuteczność prądu synaptycznego. Parametr „ u ” zmienia czas przepływu prądu, podczas gdy maksymalne przewodnictwo synaptyczne zmienia natężenie prądu.

Zad 9. Oscylacje sieci neuronowej

Otwórz plik **hhNetwork.smu** znajdujący się w folderze **6_Network** i kliknij **Start**.

Górny wykres przedstawia oscylacje potencjału błonowego dla 4 neuronów wzbudzonych 5,0 nA prądem przez 3 ms. Parametry modelu: $u = 1$ ms, $\bar{g}_{syn} = 1,4$ mS/cm².

Jaka jest częstotliwość oscylacji?

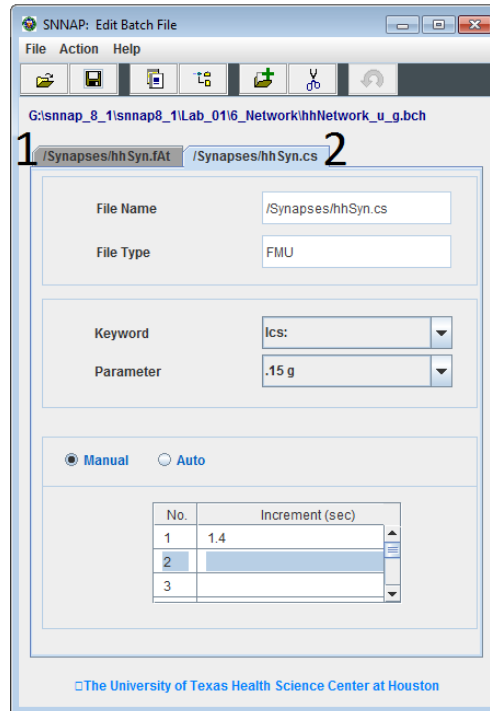
Kliknij **Run Batch** i otwórz plik **hhNetwork_u_g.bch**. Jest to symulacja, w których parametr „ u ” wynosi 2 ms, a parametr $\bar{g}_{syn} = 1,4$ mS/cm².

Określ częstotliwość oscylacji.

Zmieniając plik symulacji grupowej (hhNetwork_u_g.bch) (rys 12) określ częstotliwość oscylacji sieci dla każdego neuronu przy parametrach zebranych w tabeli 1. Przy której wartości przewodnictwa synaptycznego oscylacje zanikają? Dlaczego neurony przestają się aktywować? Dane zestaw w tabeli.

Tabela 1. Parametry symulacji sieci neuronowej z zadania 9.

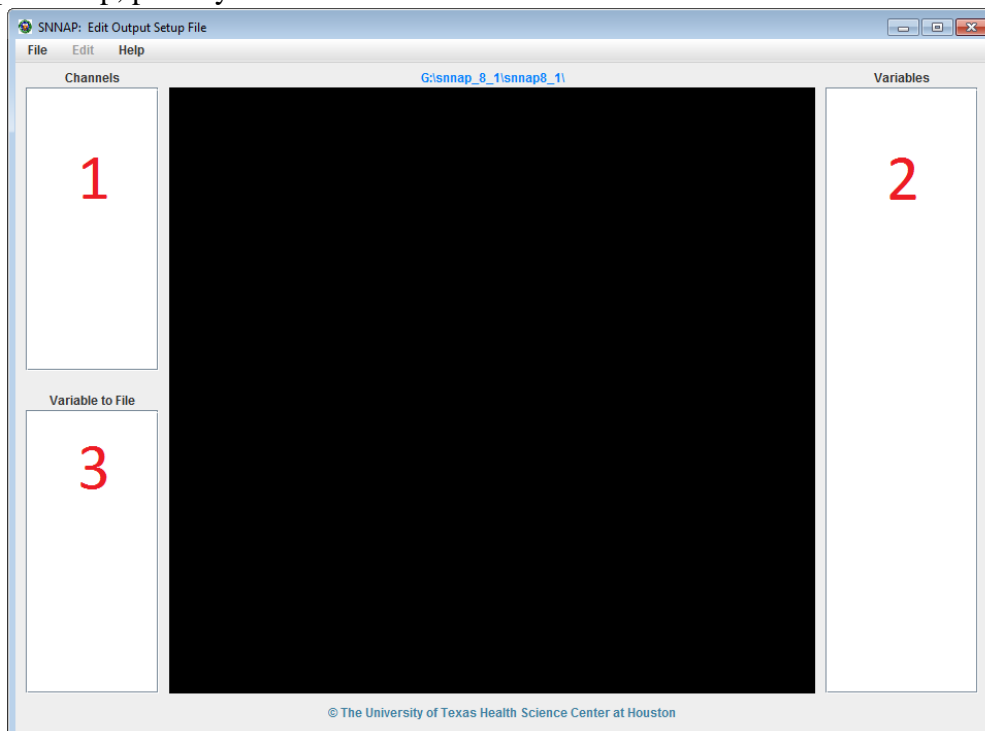
u	$\bar{g}_{syn} [mS/cm^2]$			
2 ms	2	3	4	6
1 ms	2	3	4	6



Rys 12. Okno edycji symulacji grupowej hhNetwork_u_g.bch posiada 2 zakładki. (1) Pozwala na zmianę parametru „u” (2) na zmianę parametru \bar{g}_{syn} . Ilość symulacji w obu zakładkach powinna być jednakowa.

Zmiana ustawień wyświetlanych/zapisywanych wyników (Output Display):

Kliknij przycisk Edit OutScreen w głównym oknie sterowania SNNAP (rys. 1) aby otworzyć okno edycji Output Setup, patrz rys. 5.



Rys.10 Okno edycji wyświetlanych/zapisywanych wyników. (1) lista dostępnych osi x. (2) lista dostępnych osi y. (3) lista zmiennych zapisywanych do pliku.

Kliknij **File>Open** i upewnij się, że otwarty jest ten sam folder co przy wczytywaniu symulacji podstawowej.

Otwórz plik z rozszerzeniem „.ous”.

Dodawanie osi X: **Edit>Add>Add Channel**.

Dodawanie osi Y: **Edit>Add>Add Variable**.

Dodawanie zmiennych do zapisu: **Edit>Add>Add Var to File**.

Modyfikowanie parametrów osi odbywa się poprzez **zaznaczenie jej na liście dostępnych osi** (1 lub 2 na rys. 5) i kliknięcie **Edit>Modify**.

Usuwanie osi odbywa się poprzez **zaznaczenie jej na liście dostępnych osi** (1 lub 2 na rys. 5) i kliknięcie **Edit>Cut**.

Po zakończeniu wybierz **File>Save**.

dr inż. Magdalena Przybyło

mgr inż. Jan Procek