

# Az idegsejtek konduktancia-alapú többszakaszos modellezése

Szilágyi Tibor, Metz Júlia

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Élettani Tanszék

## Modele neuronale multicompartimentale bazate pe conductanță

Întrebarea principală, la care se așteaptă răspuns de la un model, este, dacă, ceea ce știm despre un sistem, poate explica comportamentul acestuia. Modelele complexe realizează sinteza unui volum mare de date experimentale. Un model bine construit nu numai demonstrează că ipoteza de lucru este compatibilă (sau nu) cu sistemul real, dar atrage atenția asupra datelor care lipsesc, și arată direcții noi pentru experimente menite, să furnizeze aceste date. Acest articol este prezentarea concisă a metodelor de simulare utilizate la modelele neuronale bazate pe date experimentale. Sunt prezentați: modelul de membrană și circuitul electric echivalent, respectiv modelarea conductanțelor active cu ajutorul formalismului lui Hodgkin și Huxley. Cilindrul neizopotențial este prezentat pe scurt, după care se arată cum pot fi simulate cu ajutorul modelelor compartimentale celulele nervoase cu morfologie complicată.

*Cuvinte cheie: sistem nervos central, model de membrană, formalismul lui Hodgkin și Huxley, ecuația de cablu, modelare compartimentală.*

## Conductance-based multicompartimental neuron models

The main question addressed by modeling is whether what we know about a system can account for the behavior of that system. Complex models provide synthesis of a large body of experimental data. A well designed model not only demonstrates that our hypothesis is compatible (or not) with the real system, but also points to the missing data and suggests experiments which are necessary to fill the gap in our knowledge. This article gives a concise review of the simulation methods used in single cell level neuron models which are closely linked to experimental data. The membrane model and its electrical equivalent circuit and the modeling of active conductances using the Hodgkin-Huxley formalism are presented. The non-isopotential cylinder is presented very briefly and for the simulation of intricated neuronal morphologies the compartmental modeling is introduced.

*Keywords: central nervous system, membrane model, Hodgkin-Huxley formalism, cable equation, compartmental modeling.*

Orvostudományi Értesítő, 2008, 81 (3): 158-162

www.orvtudert.ro

A számítógépes modellezés legfontosabb célja az ismereteink elmélyítése. Az alapkérdés amire választ keresünk, hogy amit egy rendszerről ismerünk, az megmagyarázza-e ezen rendszer működését. Minden szimuláció előkészítésében tehát egy alaplépés az, hogy hogyan fogalmazzunk meg egy konceptuális modellt, amiben meghatározzuk, hogy mit tudunk a rendszerről (vagy legalábbis feltételezzük, hogy tudjuk) és amelyben minden lényegtelen részlettől eltekintünk. A döntést, hogy mi kerüljön be a modellbe és mi maradjon ki, nagymértékben befolyásolja a vizsgált tudományos kérdés, de mindenképp fontos, hogy a modell minél egyszerűbb maradjon [2].

Az utóbbi évtizedben a kísérletes eredmények rendkívül gyors felhalmozódásával nyilvánvalóvá vált, hogy az anatómiai és élettani adatok önmagukban való kiértékelése nem képes az idegrendszer működését megmagyarázni. A kísérletes módszereket használó kutatók egyre nagyobb jelentőséget tulajdonítanak a jelenségek mennyiségi jellemzésének és egyre gyakrabban fordulnak számítógépes módszerekhez a vizsgált rendszer működésének megértéséhez. Egy jól felépített modell magába foglalja mindazt amit az adott rendszerről tudunk, és ezáltal az eredmények rámutatnak a hiányzó adatokra és ötletet adnak az elvégzendő kísérletekhez. A kísérletezés és a számítógépes modellezés közötti kapcsolat egyre szorosabb és kölcsönösebb. Ez a kölcsönhatás az utóbbi években egy új tudományterület létrejöttét eredményezte, melyet számítógépes idegtudománynak (*computational neuroscience*) nevezünk.

A számítógépek teljesítményének robbanásszerű növekedésével, sikerült olymértékben valóságghú idegsejt-modelleket alkotni, hogy ezeket a kísérleti preparátumokhoz hasonlíthatjuk. Annak ellenére, hogy számos biológus a modelleket alsóbbrendűnek tartja a kísérleti módszereknél, sok esetben a laboratóriumi preparátumok is csak korlátozott leképezései a valóságnak. A kísérleti módszerek technikai korlátai miatt a

kutatók sokszor nagymértékben redukált rendszeren kénytelenek dolgozni. A eredmények extrapolálása a teljes, érintetlen szervezetre sokszor bizonytalan. Például az idegsejtek biztosan eltérő módon viselkednek *in vitro* agyszövetben vagy sejttenyészetben mint *in vivo* körülmények között. Sokszor az élettani állapottól távol álló, mesterséges körülmények között zajlanak a mérések, például ioncsatorna-blokkolók, receptor agonisták vagy antagonisták jelenlétében, megváltoztatott ionkoncentráció mellett stb. Az *in vivo* kísérletek többsége is az altató/érzéstelenítő szerek hatása alatt zajlik. Az érintetlen szervezet, a szabadon mozgó állat viszont technikai és etikai okok miatt a laboratóriumi módszerek döntő többségével nem tanulmányozható.

Azok a komplex modellek, amelyek számos kísérleti eredményt szintetizálnak „tökéletes” kísérleti preparátumnak tekinthetők, hiszen minden összetevő „natív” állapotban van jelen és szabadon léphet egymással kölcsönhatásba. Ezen kívül a kutató állandóan hozzáfér minden paraméterhez és teljesen ellenőrizheti a rendszert érő behatásokat. Ilymódon olyan komplex idegi mechanizmusok is tanulmányozhatók, amelyek a kísérletes módszerek számára nem elérhetők. Egyes szerzők ezt a módszert *in computo* kísérletnek is nevezték [3].

Az, hogy mennyire lehet megbízni egy szimulációs kísérlet eredményében, elsősorban a modell minőségétől függ. Ezért nagyon fontos, hogy a modellt szisztematikusan és nagy körültekintéssel építsük fel. Tisztán el kell választani a modell felépítéséhez használt adatokat a teszteléshez illetve funkcionális előrejelzéshez használtaktól. Veszélyes csapda, ha a modellt nem lehet független módon tesztelni, mivel felépítéskor minden rendelkezésre álló adatot felhasználtuk. Ha a rendszer működésére vonatkozó hipotézisünk befolyásolja a modell felépítésére vonatkozó döntéseinket, az eredmény nagy valószínűséggel csak egy demonstratív modell lesz, ami megmutatja, hogy a hipotézis kompatibilis a valósággal, de nem lesz prediktív értéke.



A biofizikai idegsejtmodellek kiinduló pontját a membránnal egyenértékű elektromos áramkör képezi (1. ábra).

A membrán kapacitása ( $C_m$ ) a bilipid-réteg dielektromos tulajdonságaitól függ, és ezt nem befolyásolja a permeabilitás helyi változása, amit az ioncsatornák határoznak meg. A specifikus membránkapacitás (felületegységre viszonyított kapacitás) közel azonos az idegsejtek többségénél; értéke  $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$  körül van.

A membrán ellenállása ( $R_m$ ), és annak fordítottja a konduktancia ( $G_m$ ), a transzmembrán fehérjék alkotta ioncsatornákon átfolyó ionáramot jelképezi. A kapacitással ellentétben az ellenállás nagymértékben idő- és membránpotenciál-függő. Ezek a változások szabályozzák a membrán elektromos jelzéseit az ingerelhető sejtekben.

A sejthártyának egy izopotenciális területén átfolyó áramot az ún. membránegyenlet írja le. A membrán kapacitásán létrejövő feszültségváltozás sebessége arányos a membránon átfolyó ionárammal. Ez utóbbi felbontható a különböző csatornatípusokon átfolyó (általában valamilyen ionra szelektív) áramokra, tehát:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -g_l(V - E_l) - \sum g_i(V)(V - E_i),$$

ahol  $V$  a membránpotenciál,  $g_l$ ,  $g_i(V)$  a membrán vezetőképessége a szivárgási (*leak*) illetve a különböző feszültségfüggő áramok irányába, továbbá  $E_l$ ,  $E_i$  ezek egyensúlyi potenciálja. Ez utóbbi a Nernst-féle egyenlet alapján számítható ki.  $K^+$  esetén például:

$$E_K = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{[K^+]_k}{[K^+]_b},$$

ahol  $R$  az egyetemes gázállandó,  $T$  az abszolút hőmérséklet,  $Z$  az iontöltésszám (például:  $K^+$  esetén  $Z=1$ ,  $\text{Cl}^-$  esetén

$Z=-1$ ),  $F$  a Faraday-állandó, valamint  $[K^+]_k$  és  $[K^+]_b$  a  $K^+$  ionok sejten kívüli illetve sejten belüli koncentrációja.

Ha a membránban található csatornák vezetőképessége állandó (ohmikus, lineáris feszültség-áram összefüggés) akkor passzív membránról beszélünk. Ha a vezetőképesség változik a membránpotenciál vagy más tényező függvényében (nem lineáris működés) akkor a membránt aktívnak tekintjük. Ezen áramok idő- és feszültségfüggését Hodgkin, Katz és Huxley jellemezték először *voltage-clamp* módszerrel. A mért adatokhoz egyenleteket illesztettek, melyek alapján sikerült az akciós potenciált matematikai úton szimulálni [4].

Az aktív membránban az ionáramokat az ioncsatornák nyitása és záródása szabályozza. A csatorna pórúsát több kapu ellenőrzi, ezek a kapuk egymástól függetlenül működnek és az összes kapu nyitva kell legyen ahhoz, hogy a csatorna vezessen [4, 9].

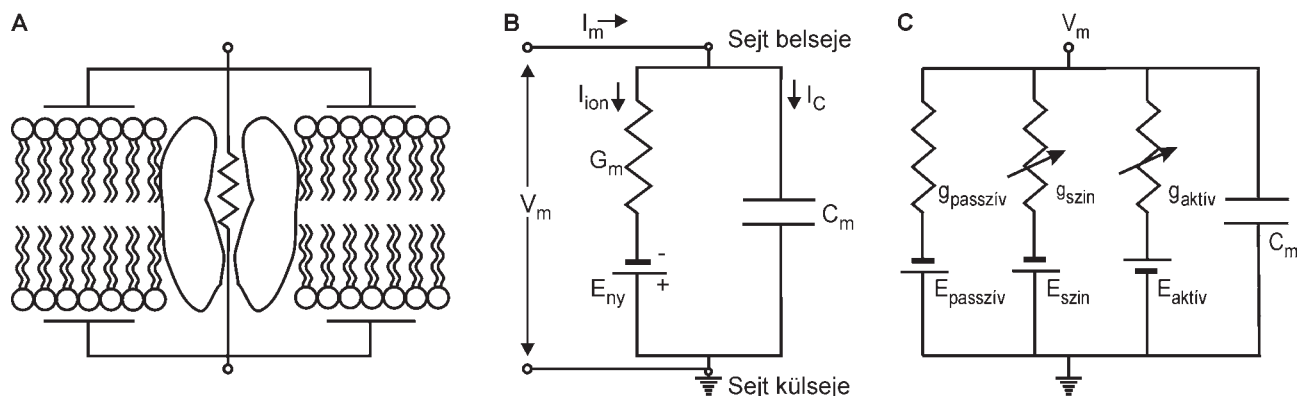
A zárt és nyitott állapot közötti átmenet feszültségfüggő és az alábbi összefüggéssel írható le:

$$\text{(zárt)} \xrightleftharpoons[\beta_m(V)]{\alpha_m(V)} \text{(nyitott)}$$

ahol  $\alpha$  és  $\beta$  az átmenet sebességi állandói. Ha  $m$  a nyitott állapotnak megfelelő kapuk hányadát jelenti és  $(1-m)$  a zárt állapotúak hányadát, egy első-rendű kinetikai egyenletet kapunk:

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

Az ionáramok nemlineáris viselkedését, késleltetett aktívációját és szigmoidális felfutó szakaszát úgy lehet a legjobban illeszteni, hogy a konduktanciát arányosnak tekintik több ilyen változó szorzatával.



**1. ábra.** A membránnal egyenértékű elektromos áramkör. **A:** a bilipid réteg dielektromos szigetelőként viselkedik, ami a intra- és extracelluláris elektrolit (tehát vezető közeg) között található, ezért kondenzátorként viselkedik. Az ioncsatornák ezzel a kondenzátorral párhuzamosan kapcsolt ellenállásoknak tekinthetők. **B:** az egyenértékű áramkör. Ebben a leegyszerűsített példában a membrán passzív és az ionáram nincs felbontva ionfajták szerint. **C:** a valódi sejthártyában időben változó ellenállások (konduktanciák) is vannak. Ezek a membránpotenciál függvényében ( $g_{aktiv}$ ) vagy ligandumok (például szinaptikus neurotranszmitterek,  $g_{szin}$ ) hatására változtatják vezetőképességüket. Ionszelektív csatornák esetén  $E$  az adott ion egyensúlyi potenciálja, több ion számára átjárható, vegyes csatornák esetén  $E$  a fordulási potenciál.

Ha az  $\alpha(V)$  és  $\beta(V)$  sebességi állandók olyanok, hogy a depolarizáció a kapu nyitásának kedvez, ez a jelenség az *aktiváció*. Ezzel szemben, ha a sebességi állandók olyanok, hogy a depolarizáció a kapu záródásának kedvez, ez az *inaktiváció*.

A Hodgkin- és Huxley-féle egyenleteket gyakran írják a kísérleti adatokhoz könnyebben illeszthető formában. Az aktiváció kinetikai egyenlete átírható a következő alakra:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{m_\infty(V) - m}{\tau_m(V)},$$

ahol:

$$m_\infty(V) = \frac{\alpha(V)}{\alpha(V) + \beta(V)}$$

$$\tau_m(V) = \frac{1}{\alpha(V) + \beta(V)}$$

ahol  $m_\infty$  a kapu állandósult (*steady-state*) aktivációs értéke és  $\tau_m$  az aktivációs időállandó.

Ha a csatorna vezetőképessége nem csak membránpotenciál- hanem ligand-függő is (például calcium függő kálium csatornák), a Hodgkin- és Huxley-féle egyenleteket ki lehet egészíteni egy koncentráció függő tényezővel.

Az idegsejtek egyáltalán nem tekinthetők pontszerűeknek és egy izopotenciális gömbhöz sem hasonlíthatók. A legkönnyebb, de mégis felhasználható egyszerűsítés, ha hengereket használunk a sejt szerkezetének leírásához. A neuron részei közül az axon és a dendritek hasonlítanak leginkább hengerekre.

Feltételezve a legegyszerűbb esetet, amikor a citoplazma és a sejtmembrán fajlagos ellenállása ( $r_i$  és  $r_m$ ), illetve a membrán fajlagos kapacitása ( $c_m$ ) állandó a henger minden részén, a membránpotenciál ( $V_m$ ) változását a henger hosszában ( $x$ ), az idő ( $t$ ) függvényében egy parciális differenciálegyenlettel tudjuk leírni, amelyből levezethető a Kelvin-féle kábel-egyenlet [5]:

$$\frac{1}{r_i} \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} = c_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + \frac{V_m}{r_m}$$

Az egyenletet legegyszerűbb általános megoldása végtelen hosszúságú kábelbe injektált konstans áramimpulzus esetén van:

$$V_m(T, X) = \frac{r_i I_0 \lambda}{4} \left[ e^{-X} \operatorname{erfc}\left(\frac{X}{2\sqrt{T}} - \sqrt{T}\right) - e^X \operatorname{erfc}\left(\frac{X}{2\sqrt{T}} + \sqrt{T}\right) \right]$$

Ahol:

$$\operatorname{erfc}(x) = 1 - \operatorname{erf}(x) = 1 - \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-y^2} dy = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_x^\infty e^{-y^2} dy$$

$\operatorname{erf}(x)$  a hibafüggvény,  $\operatorname{erfc}(x)$  a komplementáris hibafüggvény,  $X=x/\lambda$  és  $T=t/\tau_m$ ,

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_i}} \quad \tau_m = r_m c_m$$

$\lambda$  a kábel hosszállandója,  $\tau$  a membrán időállandója.

Ha a sejt paraméterei térben vagy időben változnak, vagy ha elágazások vannak, a fenti analitikus megoldás gyakorlatilag nem kivitelezhető. Ilyenkor célszerűbb a többszakaszos (kompartimentális) modelleket alkalmazni. Ezek alapelve, hogy a folytonos rendszert fel lehet osztani, anélkül, hogy számottevő hibát követnénk el, olyan kis szegmentumokra, amelyeket izopotenciálisnak és homogén tulajdonságúnak tekinthetünk [8]. A fizikai tulajdonságok (pl. átmérő, specifikus elektromos tulajdonságok stb.) és a membránpotenciál változása a kompartmentumok között jelentkezik és nem folyamatosan azok hosszában (**2. ábra**). Ilymódon az analitikus modellek parciális differenciálegyenletei egy közönséges differenciálegyenlet-rendszerrel helyettesíthetők.

A kompartmentális modellek előnye, hogy semmilyen megszorítást nem jelentenek az egyedi szegmentumok tulajdonságait illetően. A kompartmentumok leírhatják a sejttest, a dendritek vagy az axon membránját, ami lehet passzív vagy aktív (feszültség vagy ligandfüggő csatornákkal), tartalmazhatnak szinaptikus bemeneteket. Ezen előnyök mellett bármilyen elágazó struktúrát vagy morfológiai részletet (pl. dendrittűskét) könnyen le lehet írni a modellben (**3. ábra**).

Kirchhoff törvénye szerint minden kompartmentum ( $j$ ) esetén, a teljes membránáram egyenlő a kompartmentumba bemenő és az azt elhagyó longitudinális áram különbségével. Egy elágazás nélküli szakaszon, ahol a  $j$  szegmentum a  $j-1$  és a  $j+1$  szegmentum között található, a membránáram ( $i_{mj}$ ):

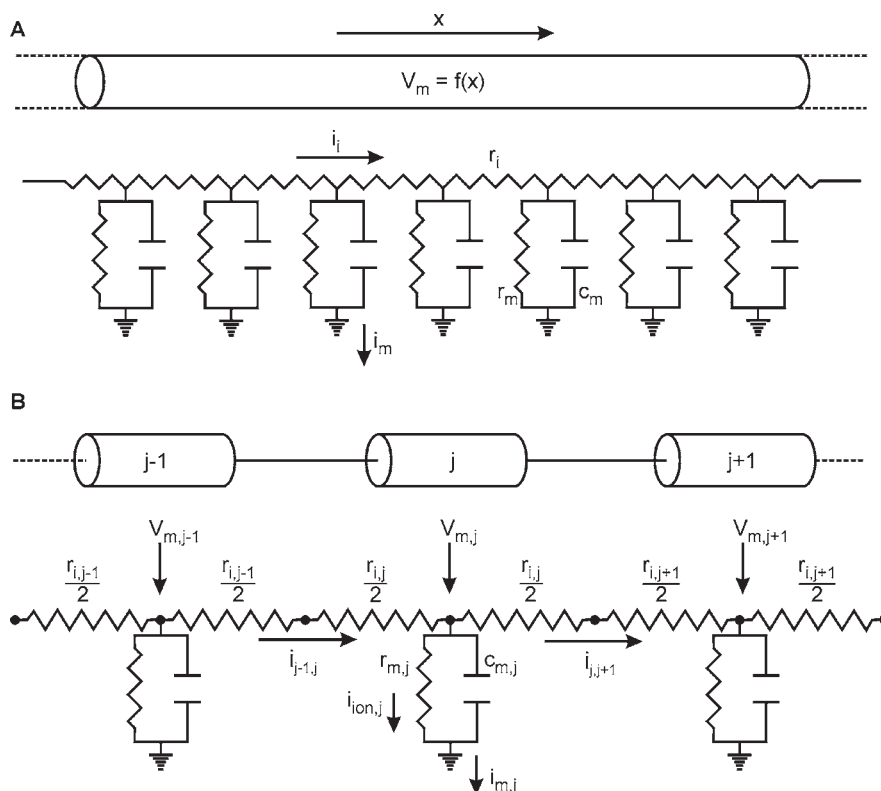
$$i_{mj} = i_{j-1,j} - i_{j,j+1}$$

ahol  $i_{j-1,j}$  a  $j-1$  és  $j$  kompartmentum között folyó axiális áram erőssége és  $i_{j,j+1}$  a  $j$  és  $j+1$  között folyó áram erőssége.

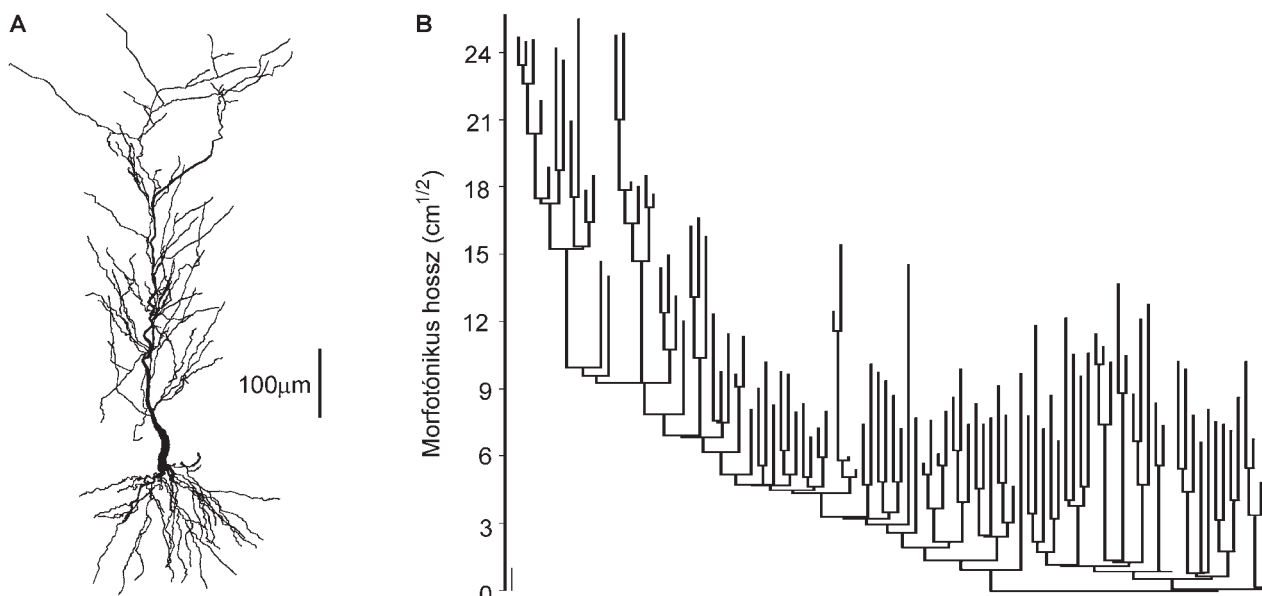
A Hodgkin- és Huxley-féle modell ismertetésénél leírtak szerint, a membránáram a kapacitív áram és az ionáram ( $i_{ion}$ ) összege, tehát a  $j$  kompartmentum esetén a membránáram:

$$i_{mj} = c_{mj} \frac{dV_j}{dt} + i_{ion,j}$$

ahol  $V_j$  a  $j$  kompartmentum membránpotenciálja. Ha a kompartmentumot egy külső áramforrással stimuláljuk, egy plusz tagot kell az egyenletbe iktatni ( $I_{stim}$ ), ha szinaptikus bemenetet akarunk leírni, akkor egy ezt leíró taggal bővíti az egyenlet ( $I_{szin}$ ):



**2. ábra.** Az idegsejt-nyúlványok modellezése. Az extracelluláris tér ellenállását nullának tekintettük.  $r_m$  és  $c_m$  a membrán ellenállása illetve kapacitása,  $i_m$  a membránon átfolyó áram,  $r_i$  a belső (citoplazmatikus) ellenállás,  $i_i$  a henger hosszában folyó citoplazmatikus áram,  $x$  a távolság a nyúlvány hosszirányában. **A:** folytonos modell, amelyet a kábel egyenlettel lehet leírni. **B:** többszakaszos (kompartimentális) modell, amelynél egy hosszabb nyúlvány olyan apró hengeres szakaszokra bontva modellezhető, melyek átmérője állandó és kellően rövidke ahhoz, hogy a szegmentum membrán-paramétereit és -potenciálját minden ponton egyformának tekintsük. Mindkét részen alól az adott modellnek megfelelő egyenértékű áramkör látható.



**3. ábra.** Az idegsejtek bonyolult térszerkezetének elektromos szempontból hű megfelelője. **A:** patkány hippocampus CA1 régiójának piramissejtje a lap síkjára merőleges vetületben. A sejt szerkezeti adatok a *Duke-Southampton archive of neuronal morphology*n találhatóak (n128, <http://neuron.duke.edu/cells>, [7]). **B:** a sejt morfolónikus dendrogramja. Ezen jól követhető az elágazódások és az egyes ágak hosszai. A dendrogram elkészítésénél a morfolónikus hosszát használtuk, mert ez jellemzi, hogy az adott szakasz, passzív elektromos tulajdonságai révén, milyen mértékben csillapítja a rajta áthaladó jelet. Egy szegmentum morfolónikus hossza:  $L_m = 2l/\sqrt{d}$ , ahol  $l$  a szegmentum hossza,  $d$  az átmérője.

$$c_{m_j} \frac{dV_j}{dt} + i_{ion_j} + I_{stim_j} + I_{szin_j} = \frac{V_{j-1} - V_j}{r_{j-1,j}} - \frac{V_j - V_{j+1}}{r_{j,j+1}}$$

ahol  $r_{j-1,j}$  a  $j-1$  és  $j$  kompartmentum közötti axiális ellenállást jelöli (hasonlóan az  $r_{j,j+1}$ )

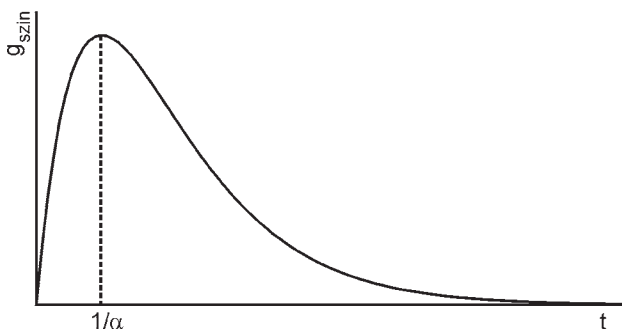
Elágazási pontoknál a jobb oldal utolsó tagja megismétlődik minden alág számára.

A szinaptikus bemenetek szimulálhatók a transzmitter kötődését, hatását és leválását valamint a csatornák nyitódását és záródását modellező kinetikai sémák segítségével (számítás igényes) vagy alfa-függvényt (4. ábra) illetve két exponenciális függvény különbségét követő konduktancia változással. Ez utóbbi előnye, hogy a felfutási ( $\tau_1$ ) és visszatérési ( $\tau_2$ ) időállandó eltérő lehet.

$$g_{szin}(t) = Ag_{max} \alpha t e^{-\alpha t}$$

$$g_{szin}(t) = \frac{Ag_{max}}{\tau_1 - \tau_2} (e^{-t/\tau_1} - e^{-t/\tau_2})$$

ahol  $A$  egy normalizálási együttható, amely biztosítja hogy a szinaptikus konduktancia ( $g_{szin}$ ) maximális értéke  $g_{max}$  legyen.



4. ábra. Az alfa függvény. Ez a legegyszerűbb függvény amivel aránylag valósághűen lehet a szinaptikus bemeneteket modellezni. Az így modellezett konduktancia a maximális értékét az  $1/\alpha$  időpontban éri el.

A számítások hatékonyságának növelése érdekében a rövid de azonos átmérőjű dendrit szegmentumokat hosszabb darabokba lehet összevonni, de szükség esetén a túl hosszú darabokat fel kell osztani úgy, hogy a kapott szegmentumok hossza minden esetben  $0,05 \lambda$  alatt legyen. Általában a dendrittűskéket nem modellezik részletesen;

helyettük minden szegmentum felületét a tűske-sűrűség és méret függvényében növelik. Csak azokat a tűskéket szokták explicit megmodellezni amelyek közvetlenül szinaptikus bemenetet kapnak [6].

A kompartmentális modellek nagy előnye, hogy a konceptuális modell könnyen és különösebb matematikai tudás nélkül átültethető a gyakorlatba. Több, ingyenesen felhasználható, kitűnő programcsomag szerezhető be az interneten. Ezek közül a leginkább alkalmazottak a Neuron (<http://www.neuron.yale.edu>) [2] és a GENESIS (General NEural SIMulation System, <http://www.genesis-sim.org>) [1]. Ezek a programok olyan kezelői felületet biztosítanak, ami eltakarja a modell matematikai részleteit, így a felhasználó a biológiai kérdésre összpontosíthat. Számos kutató, miután a tanulmánya nyomtatásban megjelent, a modelleket szabadon hozzáférhetővé teszi az interneten, ami lehetővé teszi, hogy bárki leellenőrizze az eredményeket, és a kész modellt felhasználja további kutatásokhoz, anélkül, hogy a sokszor évekig tartó előkészítő munkát és tesztelést újra el kellene végezze. A kész modellek nagyon jól használhatók az oktatásban is. Minimális informatikai ismerettel, komplex biológiai jelenségek demonstrálhatók, illetve *in computo* kísérletek végezhetők.

### Irodalom

1. Bower J.M., Beeman D. – *The Book of GENESIS-exploring realistic neural models with the GEneral NEural SIMulation System*, Springer - TELOS, 1998.
2. Carnevale N.T., Hines M.L. – *The NEURON Book*, Cambridge University Press, 2006.
3. De Schutter E. – *Modelling the cerebellar Purkinje cell: experiments in computo*, Prog Brain Res, 1994, 102:427-441.
4. Hodgkin A.L., Huxley A.F. – *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve*, J Physiol, 1952, 117:500-544.
5. Jack J.J.B., Noble D., Tsien R.W. – *Electric current flow in excitable cells*, Clarendon Press, 1975.
6. Jaeger D. – *Accurate reconstruction of neuronal morphology*, In: De Schutter E (szerk.): *Computational neuroscience: realistic modeling for experimentalists*, CRC Press, Boca Racon, FL, 2000, 159-178.
7. Pyapali G.K., Sik A., Penttonen M. et al. – *Dendritic properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons in the rat: intracellular staining in vivo and in vitro*, J Comp Neurol, 1998, 391:335-352.
8. Segev I., Burke R.E. – *Compartmental models of complex neurons*, In: Koch C, Segev I (szerk.): *Methods in Neuronal Modeling*, MIT Press - A Bradford Book, 1998, 93-137.
9. Szilágyi T. – *A Hodgkin-Huxley modell. 50 év az ideggyűrűlet megértésének szolgálatában*, Revista de Medicină și Farmacie - Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle, 2002, 48:253-258.