

THE HODGKIN-HUXLEY MODEL APPLIED TO LOW
FREQUENCY REPETITIVE FIRING NERVES

STAFFAN GESTRELIUS

Department of Automatic Control
Lund Institute of Technology
August 1977

Sammandrag

Membranpotentialen hos en cell härledes som en funktion av membranens selektiva permeabilitet och koncentrationsgradienter över membranen.

Hodgkin-Huxleys nervmodell introduceras och med hjälp av digital simulering visas att den inte kan beskriva en lågfrekvent fyrande nerv. Enkla modifieringar med bibehållen tolkning av ekvationerna ger en mer realistisk modell. Den modifierade modellen analyseras matematiskt.

Innehållsförteckning.

Inledning	sid 1
I Membranspänningen	2
II Modeller	8
III Konduktansfunktioner	11
IV Ekvationer och simulering	15
V Analys av ekvationerna	22
VI Analys av det dynamiska skedet	26
VII Slutsatser	29
Referenser	30

INLEDNING

Redan de gamla egyptierna kände till bioelektriska fenomen. I en grav i Sakkara finns det en 4600 år gammal bild av den elektriska kattfisken, Malapterurus. Den romerske läkaren Scribonius rekommenderade urladdningen från en torpedo-rocka som botemedel för bl.a. huvudvärk och epilepsi.

Det var först långt senare som man upptäckte att snabb informationsöverföring i kroppen sker genom elektriska spänningsspikar. Dessa s.k. nervimpulser, eller aktionspotentialer, bildas liksom all bioelektricitet över cellmembran.

I detta arbete visas först hur en elektrisk spänning uppkommer över en cellmembran. Sedan framtages en modell av en långsamt repetetivt fyrande nervcell. Sådana nervceller har man t.ex. funnit i CNS, där de fungerar som interna "klockor". Som modellcell har jag valt att efterlikna den långsamt adapterande nervcellen hos hummer (ref 2). Bioelektricitet är nämligen ett så speciellt fenomen, att kunskap om det hos ett djur, oftast kan generaliseras till att gälla hos många andra.

I Membranspänningen.

Över varje cellmembran finns det en potentialskillnad. I muskel och nervmembran ligger denna mellan 60 och 90 mV, med den intracellulära sidan negativ jämfört med den extracellulära.

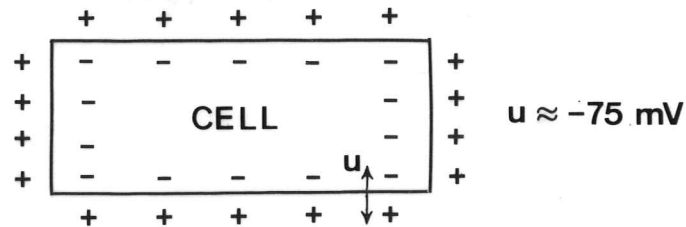


Fig. 1.

Av konvention beräknas membranspänningen som den intracellulära potentialen minus den extracellulära potentialen. Därmed blir membranspänningen normalt negativ.

Vi skall först studera hur en sådan potential uppkommer, och vilka faktorer som kan påverka dess storlek och eventuellt tecken.

Cellmembranen är mycket tunn jämfört med cellens storlek.

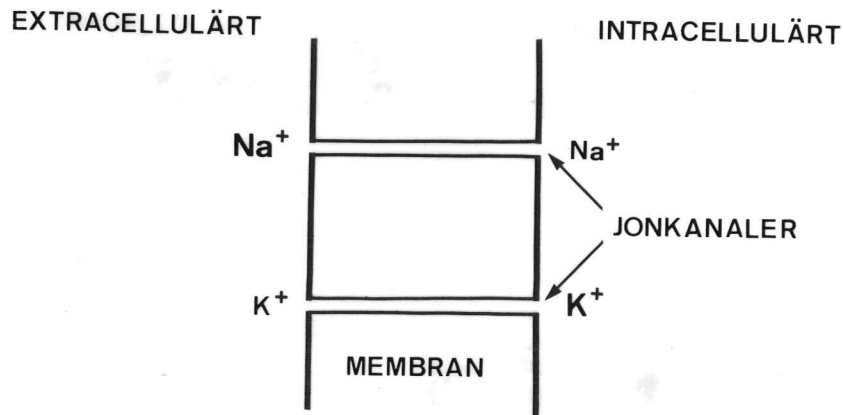


Fig. 2. Modell av cellmembran.

Det material som bildar stommen i nervmembranen, släpper inte igenom några Na^+ eller K^+ joner. Det finns dock "rör" av proteiner som går igenom hela membranen, och dessa kan selektivt släppa igenom vissa joner. Dessa "rör" kallar vi jonkanaler. Se fig 2. (Ref 1,6)

Strömmen per ytenhet genom en membran kan beskrivas med hjälp av diffusionsekvationen, och ekvationen för en laddnings rörelse i ett elektriskt fält.

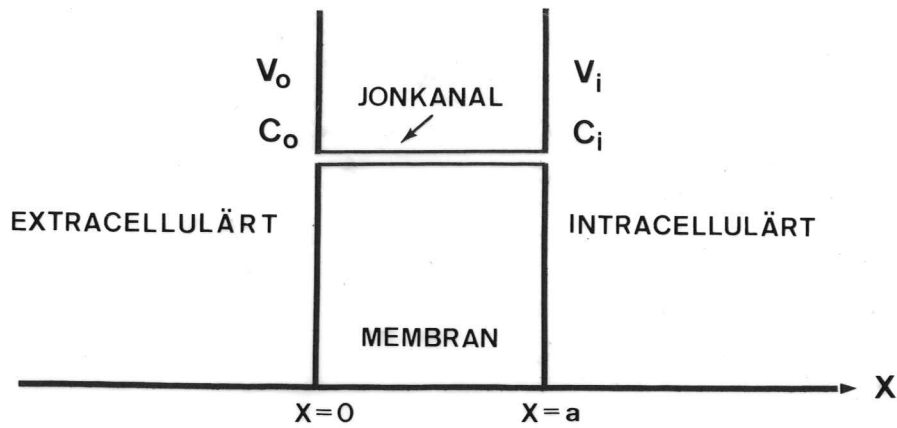


Fig. 3. Modell av cellmembran till ekvationerna 1,1 och 1,2.

För en positiv jon med laddningen $+z$ så finner vi att strömtätheten in i cellen kan skrivas som:

$$I_+ = -zRT\mu \frac{dC}{dx} - zC\mu F \frac{dV}{dx} \quad (1,1)$$

där V =potentialen

C =kemiska aktiviteten \approx koncentrationen [M]

μ =mobiliteten [$\frac{m^2}{Vs}$]

T =temperatur [K]

z =antalet positiva laddningar

F =Faradays konstant $9.64870 \cdot 10^4 \frac{As}{mol}$

R =allmänna gaskonstanten $8.31433 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$

För en negativ jon med laddningen $-z$, blir motsvarande ekvation:

$$I_- = zRT\mu \frac{dC}{dx} - zC\mu F \frac{dV}{dx} \quad (1,2)$$

Här är att märka att vi använt diffusionsekvationen i dess endimensionella form, vilket bör vara det riktiga. Det är ju diffusion igenom rör det är fråga om.

Vi kommer vidare att sätta $\frac{dV}{dx} = \frac{V_i - V_o}{a} = \frac{U}{a}$

Skälet till detta är att vi inte vet hur potentialprofilen ser ut. Det finns ju bl.a. säkert laddade proteiner längs hela kanalen. Vi ansätter därför det lättaste uttryck som fungerar i ekvationen.

Den ekvation vi skall lösa lyder då:

$$\frac{dC}{dx} + \frac{CFU}{RTa} = \frac{-I_+}{\mu zRT} \quad (1,3)$$

med randvillkoren $C(0)=C_o$ och $C(a)=C_i$
finner vi att

$$I_+ = \frac{FUz\mu(C_i \exp(FU/RT) - C_o)}{a(1 - \exp(FU/RT))} \quad (1,4)$$

pss.

$$I_- = \frac{FUz\mu(C_i \exp(-FU/RT) - C_o)}{a(1 - \exp(-FU/RT))} \quad (1,5)$$

Om vi nu antar att koncentrationen precis intill membranväggen är proportionell mot den extracellulära resp. intracellulära koncentrationen, så kan följande förhållanden föreslås.

$$C_o = \beta[C]_o \quad (1,6)$$

$$C_i = \beta[C]_i \quad (1,7)$$

Vi får då

$$I_+ = \frac{\mu\beta FzU([C]_i \exp(FU/RT) - [C]_o)}{a(1 - \exp(FU/RT))} \quad (1,8)$$

Vi inför nu permeabiliteten P . Den är ett mått på hur lätt en jon kan penetrera membranen. Ur Einsteins ekvationer får vi

$$\frac{D}{\mu F} \Rightarrow \frac{D}{a} = \frac{\mu RT}{Fa} = P$$

Vi ser att P är diffusionskoefficient per längdenhet och att den för en viss membran = visst bestämt a , blir direkt proportionell mot μ . $[P] = m/s$

I vår fortsatta lösning kommer vi att baka in den sortlösa proportionalitetskonstanten β i permeabiliteten och skriver därför $P = \mu\beta RT/Fa$.

Därmed blir strömtäthetsuttrycken:

$$I_+ = \frac{PF^2U([C]_i \exp(FU/RT) - [C]_o)}{RT(1 - \exp(FU/RT))} \quad (1,9)$$

$$I_- = \frac{PF^2U([C]_i \exp(-FU/RT) - [C]_o)}{RT(1 - \exp(-FU/RT))} \quad (1,10)$$

De joner vi är intresserade av är Na^+ och K^+ . För dessa får vi följande strömtätheter:

$$I_{\text{Na}} = \frac{P(\text{Na})F^2U([\text{Na}]_i \exp(FU/RT) - [\text{Na}]_o)}{RT(1 - \exp(FU/RT))} \quad (1,11)$$

$$I_{\text{K}} = \frac{P(\text{K})F^2U([\text{K}]_i \exp(FU/RT) - [\text{K}]_o)}{RT(1 - \exp(FU/RT))} \quad (1,12)$$

Vi har nu kommit så långt i härledningen att vi inser att det kommer att gå joner igenom kanalerna hela tiden, och att det är denna diffusion, tillsammans med de olika permeabiliteterna, som kommer att ge upphov till en membranspänning. Man förstår nu att det måste finnas någon mekanism som ser till att koncentrationerna hålls konstanta. I annat fall skulle ju inte membranspänningen kunna existera någon längre tid, då jonkoncentrationerna skulle bli helt utjämnade. Den viktigaste av dessa mekanismer är $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pumpen. Det är en pump som är beroende av koncentrationerna, och som håller dessa uppe. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pumpen, som drar energi, fungerar så att den pumpar ungefär lika mycket Na^+ ut ur cellen, som den pumpar K^+ in i cellen. Den blir därmed nästan elektriskt neutral, och kan i första approximationen försummas. För ett närmare studium av pumpen se t.ex. ref 7.

Vi kan därmed uttrycka den totala strömmen igenom membranen:

$$I_{\text{tot}} = I_{\text{Na}} + I_{\text{K}} + I_{\text{pump}} \approx I_{\text{Na}} + I_{\text{K}} \quad (1,13)$$

$$\Rightarrow I_{\text{tot}} = \frac{F^2U((P(\text{Na})[\text{Na}]_i + P(\text{K})[\text{K}]_i) \exp(FU/RT) - (P(\text{Na})[\text{Na}]_o + P(\text{K})[\text{K}]_o))}{RT(1 - \exp(FU/RT))}$$

Vid stationaritet är $I_{\text{tot}} = 0 \Rightarrow$ parentesen i ovanstående uttryck är 0 \Rightarrow

$$\Rightarrow U = V_i - V_o = \frac{-RT}{F} \ln \left(\frac{P(\text{Na})[\text{Na}]_i + P(\text{K})[\text{K}]_i}{P(\text{Na})[\text{Na}]_o + P(\text{K})[\text{K}]_o} \right) \quad (1,15)$$

Detta är ett uttryck som ger vilopotentialen U för en membran, förutsatt att koncentrationer och relativa permeabiliteter är kända. Uttrycket ovan brukar kallas för Goldmans konstantfältsekvation.

Typvärden på koncentrationer för groda är:

$$[\text{Na}]_i = 12 \text{ mM} \quad [\text{Na}]_o = 145 \text{ mM}$$

$$[\text{K}]_i = 155 \text{ mM} \quad [\text{K}]_o = 4 \text{ mM}$$

Permeabiliteterna i nervmembran förhåller sig approximativt som $P(K):P(Na)=1:0.04$

Dessa värden insatta i konstantfältsekvationen ger vid $T=300\text{ K}$ en membranspänning på -71 mV . Detta stämmer approximativt med gjorda mätningar. Det kan tilläggas att försummandet av Na^+-K^+ pumpen ger oss en över-skattning med $\approx 5\text{ mV}$. Det rätta värdet bör alltså vara $\approx -76\text{ mV}$.

Vad händer nu om permeabiliteten för ett visst jonslag dominerar kraftigt? Jo, då kommer denna jon att vilja driva membranpotentialen mot ett visst värde, bestämt enbart av den yttre och inre koncentrationen samt temperaturen. Detta värde kallar vi för jonslagets jämviktspotential. För Na^+ får vi:

$$U_{Na} = \frac{-RT}{F} \ln \frac{[Na]_i}{[Na]_o} = 64\text{ mV} \quad (T=300\text{ K}) \quad (1,16)$$

pss. fås $U_K = -95\text{ mV}$

Vi finner alltså att membranpotentialen kan ändras med hjälp av permeabiliteterna, och permeabiliteterna berodde ju på jonkanalerna. Det blir alltså möjligt att beskriva en nervimpuls uppkomst och utseende såsom funktioner av permeabilitetsändringar hos jonkanalerna. (Ref 2,3)

Innan vi går in på modeller för nervimpulsen, så skall vi lite närmare betrakta de experimentella fakta man funnit om dessa.

De nervimpulser vi här närmare skall betrakta har det följande typiska utseendet.

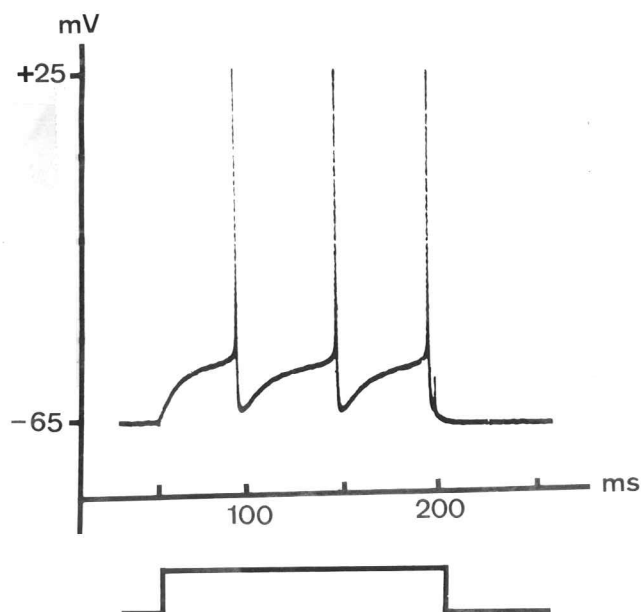
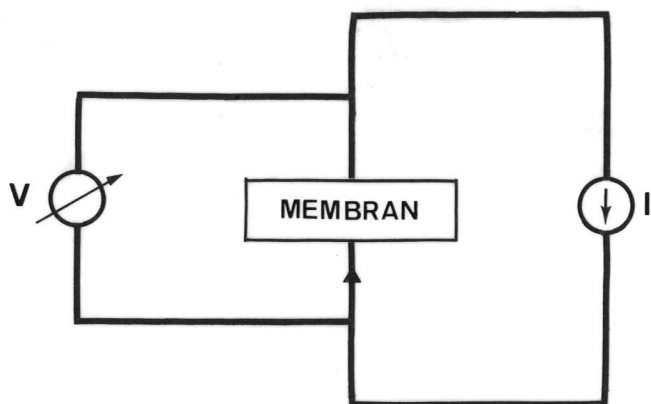


Fig. 4. Nervimpulser framkallade av stimuleringsström (4 nA).

Det krävs att man lyckas depolarisera = öka
 membranpotentialen till ett visst värde, tröskelvärde,
 så att nervspiken skall uppstå. Nervspiken är sedan av
 ett eller annat typ, och varar ett fåtal millisekunder.
 I följande experiment (fig 4) är depolariseringen
 exponentiell, vilket man får när man lägger på ett
 konstant strömsteg (current clamp).

Vid current clamp depolariseras cellen genom att man
 injicerar en bestämd ström igenom membranet, oberoende
 av membranets reaktioner. Strömmen är alltså bestämd
 av en utom cellen liggande referens. Spänningen
 över membranet mäts sedan helt oberoende av ström-
 injiceringen.

Att vi i vårt experiment får en exponentiell depolarise-
 ring, beror på att nervmembranet i vissa lägen upp-
 beter sig som en RC-krets. Mer härom längre fram.



5. Schema över current clamp.

II Modeller.

Vi skall nu introducera en modell som kommer att ha vissa likheter med konstantfältsekvationen, men samtidigt många olikheter.

Vi erinrar oss utseendet på konstantfältsekvationen:

$$V = \frac{-RT}{F} \ln \frac{P(\text{Na}) [\text{Na}]_i + P(\text{K}) [\text{K}]_i}{P(\text{Na}) [\text{Na}]_o + P(\text{K}) [\text{K}]_o} \quad (2,1)$$

Vi inför nu de tidigare nämnda jämviktspotentialerna.

$$V_{\text{Na}} = \frac{-RT}{F} \ln \frac{[\text{Na}]_i}{[\text{Na}]_o} \quad (2,2)$$

$$V_{\text{K}} = \frac{-RT}{F} \ln \frac{[\text{K}]_i}{[\text{K}]_o} \quad (2,3)$$

Istället för permeabilitet P använder vi nu konduktans g och skriver:

$$V = \frac{V_{\text{Na}} \cdot g_{\text{Na}} + V_{\text{K}} \cdot g_{\text{K}}}{g_{\text{Na}} + g_{\text{K}}} \quad (2,4)$$

Detta uttryck kan jämföras med konstantfältsekvationen ovan. Då vi jämför de två uttrycken så ser vi att de kommer att stämma överens då permeabiliteten eller konduktansen för ett visst jonslag dominerar kraftigt. I mellanområdena kommer de dock ej att överensstämma. Se fig 6, där jag har låtit relativa permeabiliteten resp. relativa konduktansen för Na^+ öka från 0 till 4, medan K^+ konduktansen resp. permeabiliteten hållits konstant.

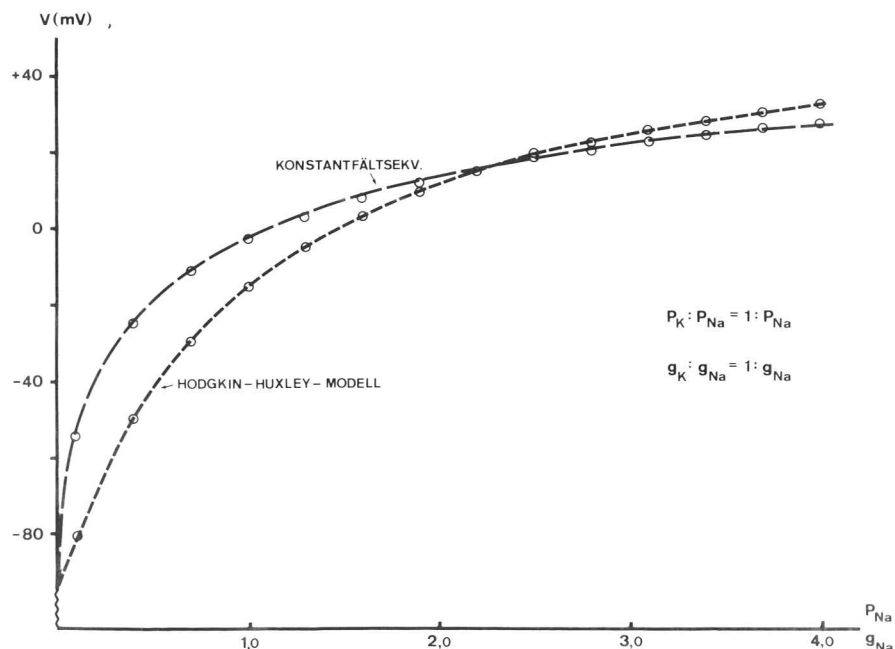


Fig. 6.

Vi inför nu i modellen en läckkanal. Detta är en kanal som saknar den höga specificiteten för ett visst slags joner som Na^+ - och K^+ -kanalen har. Vårt uttryck för V kan nu skrivas:

$$V = \frac{V_{\text{Na}} \cdot g_{\text{Na}} + V_{\text{K}} \cdot g_{\text{K}} + V_{\text{L}} \cdot g_{\text{L}}}{g_{\text{Na}} + g_{\text{K}} + g_{\text{L}}} \quad (2,5)$$

Vi kan nu rita upp ett kopplingsschema för detta uttryck.

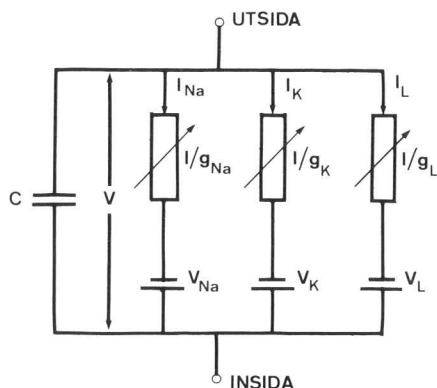


Fig. 7. Hodgkin-Huxley modell.

Detta kopplingsschema ger ovanstående V vid stationaritet, dvs. då $I_{\text{Na}} + I_{\text{K}} + I_{\text{L}} = 0$.

Modellen kallas för Hodgkin-Huxleys modell (Ref. 5).

Kommentarer:

- 1) Analogen till fig 2 med separata parallella kanaler som leder olika slags joner.
- 2) Vi har inkluderat en kondensator. Denna kondensator är en konsekvens av membranens grunduppbyggnad. Värdet på C är ungefär $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ för de flesta membraner. Det är denna kondensator som ligger bakom den exponentiella depolariseringen under current clamp i fig 4.
- 3) V_{L} kan vi räkna ut då totalströmmen i vila igenom membranen är 0.
- 4) Na^+ och K^+ konduktanserna beror dynamiskt på potentialen V .
- 5) Läckkonduktansen kommer vi att ge ett konstant värde för enkelhetens skull. Man kan genom att applicera konstantfältsteorin få fram ett potentialberoende även för denna konduktans (Ref 4). Detta är dock mycket mindre än de andra konduktansernas, och det bidrar inte till att förbättra nervspikarnas utseende nämnvärt.

Bägge de ovan beskrivna modellerna har använts för att beskriva nervspikar. I den som bygger på konstantfältsekvationen har man ansatt dynamiskt potentialberoende permeabiliteter, medan man i den andra har ansatt dynamiskt potentialberoende konduktanser. Man kan redan intuitivt, ur fig 6, se att skillnaderna mellan de två modellerna lätt kan överbryggas genom att insätta olika olinjära funktioner som ger g resp. P som funktion av potentialen V . (Mer härom i nästa avsnitt). Det har heller inte framkommit några större fördelar med den mer komplicerade konstantfältsteorin. De antaganden den bygger på, kan också ofta ifrågasättas.

I fortsättningen kommer vi därför att arbeta med en modell som bygger på Hodgkin-Huxleys modell (Fig. 7).

III Konduktansfunktioner.

Vi skall nu söka uttryck för de spänningsberoende konduktanserna.

För att få ett lite fastare grepp om de storheter som nu kommer att införas, är följande åskådningsmodell lämplig:

Enligt fig. 2 (sid 2) så finns det i membranen kanaler som löper parallellt, och som endast släpper igenom vissa joner. Det finns en mängd sådana kanaler i en cellmembran. En enskild kanal kan vara antingen öppen eller stängd. Konduktansens kontinuerliga utseende blir sedan en effekt av hur många av dessa som är stängda respektive öppna. För att beskriva hur en enstaka kanal stängs eller öppnas så inför vi övergångssannolikheterna $\alpha(V)$ och $\beta(V)$.

$\alpha(V)$ =övergångssannolikheten (rate constant) för att kanalen öppnas vid potentialen V .

$\beta(V)$ =övergångssannolikheten för att kanalen stängs vid potentialen V .

Om vi sätter n =sannolikheten för att kanalen är öppen, så kan följande differentialekvation nedskrivas:

$$\frac{dn}{dt} = (1-n)\alpha - n\beta \quad (3,1)$$

Löser vi denna ekvation, med V konstant, får vi:

$$n(t) = n_{\infty} - (n_{\infty} - n_0) \exp(-t/\tau) \quad (3,2)$$

där

$$n_{\infty} = \frac{\alpha_n}{\alpha_n + \beta_n} \quad (3,3)$$

$$\tau = 1/(\alpha_n + \beta_n) \quad (3,4)$$

Lägg märke till att α och β är ögonblickliga funktioner av V , medan $n(t)$ har en viss tidskonstant.

En lämplig funktion som beskrev t.ex. K^+ -kanalens konduktans, som funktion av V , skulle nu vara $g_K = \bar{g}_K \cdot n$, där \bar{g}_K är den maximala kaliumkonduktansen och $n \in [0,1]$, (Ref 3).

Det är fullt möjligt att mäta g_K vid olika depolariseringar=olika V . Denna så kallade voltage clamp mätning tillgår så här:

Först täpper man till de kanaler som man ej vill ha med i mätningen med något lämpligt nervgift. Sedan lägger man på ett spänningssteg över membranen. Denna nya spänning hålles framgent konstant, genom att vi kopplar voltmeteren till en variabel ström-källa som kan köra ström igenom membranen. Ström-källan kan då kompensera för cellmembranens svar på spänningssteget, och spänningen hålles konstant. Den ström som vi måste injicera blir därmed ett mått på konduktansen. En typisk kurva ser ut som fig 8.

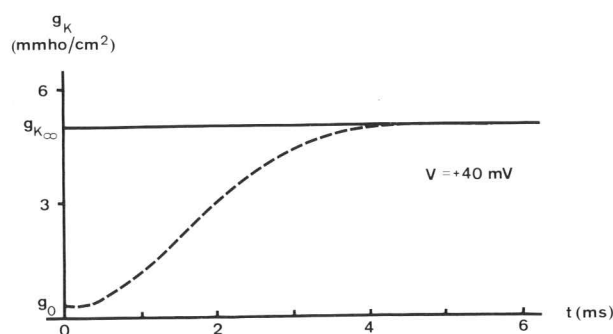


Fig. 8. Kaliumkonduktansen förändras vid ett pålagt voltage-clamp steg på 40 mV.

När vi lägger på ett spänningssteg över membranen, så kommer givetvis kondensatorn (se fig 7) att märkas. Kondensatorns tidskonstant är emellertid så mycket kortare än tidskonstanten för g_K , att dess inverkan kan försummas.

Om vi nu jämför kurvan i fig 8 med den teoretiska kurva vi får ur $g_K = \bar{g}_K \cdot n$, där n är lösningen till exv. 3,7, så finner vi att de inte överensstämmer vidare väl. Ändrar vi i det teoretiska uttrycket $g_K = \bar{g}_K \cdot n$ till $g_K = \bar{g}_K \cdot n^4$ så blir genast överensstämmelsen bättre. Denna införda potens kan nu tolkas:

Man kan t.ex. tänka sig att öppnings resp. slutningsmekanismerna är beroende av ett flertal molekyler, vilkas rörelser var för sig beror på α och β . Beroende på hur många dessa molekyler är, och hur pass oberoende deras rörelser är, så skulle man få fram olika potenser. Man bör även ha i minnet fig 6, som visar att övergången från permeabiliteter i konstantfältsekvationen, till konduktanser i Hodgkin-Huxleys modell inte är helt invändningsfri.

Om man nu har bestämt sig för att t.ex. ansätta att $g_K = \bar{g}_K \cdot n^4$ så kan man ur de ovan beskrivna voltage-clamp experimenten få fram kurvor för $\alpha(V)$ och $\beta(V)$, och därmed finna funktioner för dessa. För att göra detta så upptager man en mängd kurvor vid olika potentialer. För varje potential så avläser vi tidskonstanten, $g_{K\infty}$ och g_{K0} (se fig 8). \bar{g}_K (den maximala konduktansen) kan man lätt sluta sig till då alla kurvorna är upptagna. Ekvationerna

$$g_K = \bar{g}_K \cdot n^4 \quad (3,5)$$

$$g_{K\infty} = \bar{g}_K \cdot n_\infty^4 \quad (3,6)$$

$$g_{K0} = \bar{g}_K \cdot n_0^4 \quad (3,7)$$

$$n(t) = n_\infty - (n_\infty - n_0) \exp(-t/\tau) \quad (3,8)$$

ger nu

$$g_K = (g_{K\infty}^{1/4} - (g_{K\infty}^{1/4} - g_{K0}^{1/4}) \exp(-t/\tau))^4 \quad (3,9)$$

Därmed kan vi få uttryck på τ och n_∞ , men

$$\tau = 1/(\alpha + \beta) \text{ och } n_\infty = \alpha/(\alpha + \beta) \Rightarrow \alpha = n_\infty/\tau \text{ och } \beta = (1 - n_\infty)/\tau .$$

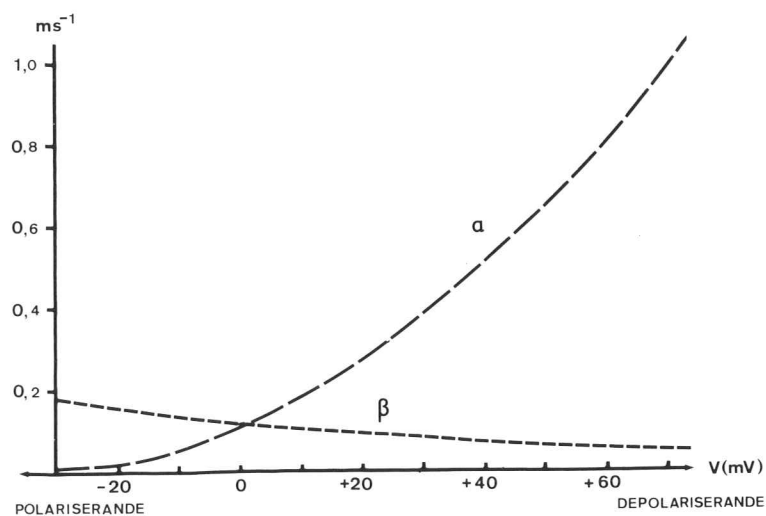


Fig. 9. α - och β -kurvor för K^+ -kanalen.

I fig 9 är α och β kurvorna utritade som funktion av polariseringen. Alla våra funktioner kommer framgent också att vara givna som funktioner av denna spänning. Man utgår ifrån cellens vilopotential och sätter den till 0. En depolarisering är sedan, enligt gängse fysiologisk terminologi, en spänning som ökar membranspänningen. Denna sättes positiv. En hyperpolariserande spänning är en spänning som minskar totalspänningen över membranen. Denna sättes negativ. Om membranspänningen är -75 mV, så kommer

alltså en depolarisering med 10 mV att ge -65 mV, medan en hyperpolarisering med 10 mV ger -85 mV.

Det som ovan beskrivits är modellen för K^+ -kanalens potentialberoende. Modellen för Na^+ -kanalen är lite annorlunda. Vi skriver $g_{Na} = \bar{g}_{Na} \cdot m^3 \cdot h$. m^3 systemet är helt analogt till K^+ -kanalens n^4 system. h systemet är däremot ett "stängnings-system" som krävs för att beskriva Na^+ -kanalens konduktanskurvor. Till skillnad från m^3 och n^4 systemen så är alltså h systemet i vila öppet. Då potentialspiken kommer, och nervmembranen depolariseras, kommer h systemet att stänga till Na^+ -kanalen som m^3 systemet precis innan hade öppnat. Därmed kommer potentialdriven upp mot natriums jämviktspotential, som började när m^3 systemet öppnade, att avbrytas. h systemet behandlas matematiskt precis som m^3 och n^4 systemen. En intuitiv och slarvig, men ganska nyttig, beskrivning av n^4 , m^3 och h systemens agerande under en nervspik kan sammanfattas så här:

- 1) Vid fyrningströskeln öppnar m^3 systemet och membranspänningen ökar snabbt. Spiken börjar.
- 2) h systemet täpper till Na^+ -kanalen. Därmed börjar membranspänningen åter att sjunka.
- 3) n^4 systemet har nu öppnat ordentligt, och hjälper till att driva membranpotentialen ner mot sitt vilovärde igen. Därmed är själva spiken slut.

De i detta avsnitt införda öppnings och stängningsmekanismerna har visat sig vara mer än en matematisk modell. Man har nämligen lyckats uppmäta sk. gatingströmmar som tycks vara sammankopplade med de gatingmekanismer som styr kanalernas öppnande och slutande.

IV Ekvationer och simulering.

För att få fram den ekvation som behövs för att kunna simulera en nervspik, så ritar vi om fig 7.

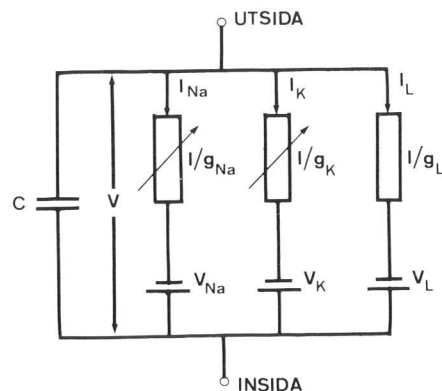


Fig. 10. Simuleringsmodell.

$$I_{\text{tot}} = C \frac{dV}{dt} + I_{\text{Na}} + I_{\text{K}} + I_{\text{L}} \quad (4,1)$$

Det går inte någon totalström igenom membranen när vi inte stimulerar nerven $\Rightarrow I_{\text{tot}} = 0$

$$\Rightarrow \frac{dV}{dt} = \frac{1}{C} (\bar{g}_{\text{K}} n^4 (V_{\text{K}} - V) + \bar{g}_{\text{Na}} m^3 h (V_{\text{Na}} - V) + \bar{g}_{\text{L}} (V_{\text{L}} - V)) \quad (4,2)$$

Vidare kan vi sätta upp de differentialekvationer vi härledde i föregående avsnitt, samt de dit tillhörande α och β uttrycken.

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n (1-n) - \beta_n n \quad (4,3)$$

$$\alpha_n = 0.01 (10-V) / (\exp((10-V)/10) - 1) \quad (4,4)$$

$$\beta_n = 0.125 \exp(-V/80) \quad (4,5)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m (1-m) - \beta_m m \quad (4,6)$$

$$\alpha_m = 0.1 (25-V) / (\exp((25-V)/10) - 1) \quad (4,7)$$

$$\beta_m = 4 \exp(-V/18) \quad (4,8)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h (1-h) - \beta_h h \quad (4,9)$$

$$\alpha_h = 0.07 \exp(-V/20) \quad (4,10)$$

$$\beta_h = 1 / (\exp((30-V)/10) + 1) \quad (4,11)$$

I dessa uttryck är V polariseringen ifrån vilopotentialen enligt sid 13.

Vid simulering av ett förlopp, som också kan iakttas experimentellt, måste även experimentet som sådant medtagas i simuleringsmodellen. Om vi vill simulera ett current clamp experiment (se sid 7),

så måste då den depolariserande konstanta strömkällan ingå, och membranspänningen vara observerbar. Att membranspänningen är observerbar vid en simulering av ovanstående ekvationer är självklart, men hur skall vi placera in strömkällan? Vid ett betraktande av ekv. 4,2 så ser man att de tre uttrycken inom parenteserna alla är strömuttryck. Det enklaste och samtidigt korrekta sättet att införa strömkällan är att addera den till dessa uttryck, precis som om den vore en egen kanal som hela tiden gav en viss konstant ström. Vi får då

$$\frac{dV}{dt} = \frac{1}{C} (\bar{g}_K n^4 (V_K - V) + \bar{g}_{Na} m^3 h (V_{Na} - V) + \bar{g}_L (V_L - V) + IDEP) \quad (4,12)$$

IDEP=den konstanta strömkällans depolariserande ström. Innan nerven stimulerats med IDEP≠0, så befinner den sig i vila, dvs IDEP=0, V=0 och $\frac{dV}{dt}=0$. Därmed kan vi beräkna V_L , då alla andra värden är kända.

Den cell vi vill simulera är en lågfrekvent repetitivt fyrande cell. Som exempel på en sådan cell har jag valt en långsamt adapterande cell hos hummer. Se fig 12 (ref 2).

Simuleringen börjar med att vi låter IDEP antaga ett lämpligt värde som för V över den tröskel där m^3 systemet öppnar och en spik avfyras. Se fig 11.

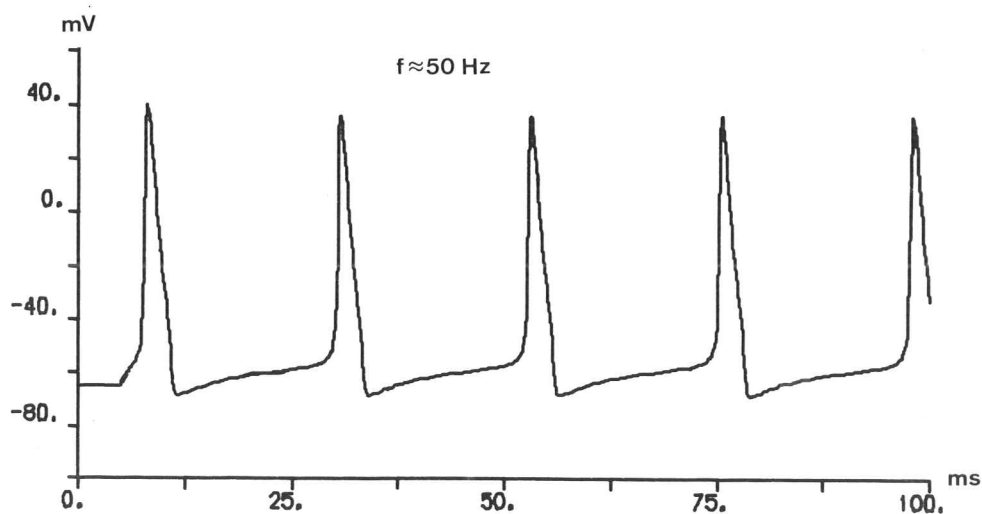


Fig. 11.

I fig 11 som är en ganska bra imitation av en perifer nerv (se ref 3), skall man lägga märke till vissa saker:

- 1) Den första toppen är högre än de andra. Detta är helt i överensstämmelse med riktiga nerver och förklaras med att det natriuminaktiverande h systemet inte hinner nå sitt stationära värde mellan spikarna.
- 2) Den höga frekvensen. 50 Hz är möjlig för en perifer nerv. Det finns däremot nerver i kroppen som fyrar repetitivt vid en betydligt lägre frekvens, och det är dessa vi försöker efterlikna.
- 3) Hyperpolariseringen direkt efter spiken. Den kvarstående natriuminaktiveringen (h systemet) och den sent stängande kaliumkanalen (n-systemet) gör att vi efter spiken hamnar under vilopotentialen. Detta är också typiskt för perifer nerv, men förekommer ej hos den långsamt adapterande.
- 4) Den första spiken kommer med en gång, medan de andra har längre mellanrum mellan sig.

Fig 11 kan jämföras med den långsamt adapterande modellspiken i fig 12.

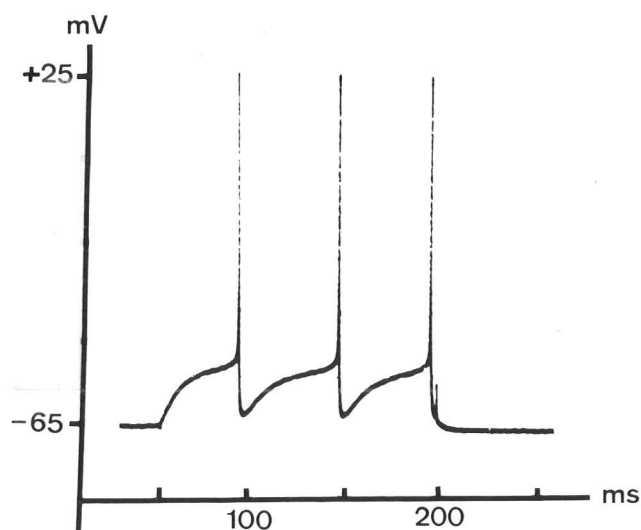


Fig. 12. Långsamt adapterande nerv.

I fig 12 är följande att märka:

- 1) Den låga frekvensen, mindre än 20 Hz. Frekvenser ner till under 10 Hz är inte ovanliga.
- 2) Alla spikar är lika höga.
- 3) Intervallet från stimuleringens början till första spiken är ungefär lika med intervallet mellan spikarna.
- 4) Ingen efterhyperpolarisation.

Alla försök att få Hodgkin-Huxleys ekvationer att fyra med en frekvens under ≈ 40 Hz misslyckades.

Depolariseringsströmmen vid en current clamp bestämmer hur snabbt "RC-kretsen" laddas, och därmed med vilken frekvens nerven kommer att fyra. Inte ens med minsta möjliga depolariseringsström visade det sig emellertid vara möjligt att få ner frekvensen till en acceptabel nivå. Antingen fyrade nerven inte alls, eller bara en gång, eller med en frekvens av ≈ 40 Hz.

Då man betraktar fig 12 så lägger man märke till hur liten skillnad det är mellan den första spiken och de övriga. Uppenbarligen är frekvensen så låg att även h systemet, med sin längre tidskonstant, hinner anta sitt stationaritetsvärde innan nästa spik börjar.

I fig 12 syns också tydligt att det undertröskliga förloppet mycket liknar en exponentialkurva av det slag som man skulle vänta sig om alla konduktanser var konstanta, och nervmembranen sålunda beskrevs av en enkel RC-krets modell. Det är i detta sammanhang viktigt att poängtera att det är denna exponentialkurva som bestämmer den lägsta frekvens varmed nervmodellen kan fyra vid ett pålagt strömsteg.

För att undersöka skillnaderna mellan modell och experiment gjordes följande beräkningar:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{1}{C} (\bar{g}_K n^4 (V_K - V) + \bar{g}_{Na} m^3 h (V_{Na} - V) + g_L (V_L - V) + IDEP) \quad (4,13)$$

$$TKONST = C / (\bar{g}_K n^4 + \bar{g}_{Na} m^3 h + g_L) \quad (4,14)$$

$$VR = \frac{1}{C} (\bar{g}_K n^4 V_K + \bar{g}_{Na} m^3 h V_{Na} + g_L V_L) \quad (4,15)$$

$$\Rightarrow V = \text{TKONST} (VR + \text{IDEP}/C) (1 - \exp(-t/\text{TKONST})) \quad (4,16)$$

Sätt $V_{\text{DEP}} = \text{TKONST} (VR + \text{IDEP}/C)$.

Vi ser att för att få en snygg exponentialkurva så måste ända fram till fyrningströskeln V_{DEP} vara approximativt konstant. Detta innebär att VR och TKONST (IDEP/C är ju konstant) inte får röra sig alltför mycket i det undertröskliga området.

För att få fram en så låg frekvens som möjligt, vill vi göra TKONST så stort som möjligt. Stor tidskonstant ger ju en långsam exponentialuppgång. Då vi betraktar uttrycken för TKONST och VR , så finner vi att det bästa vi kan göra för givna konstanta g_L och V_L , är att minska n^4 och m^3 . Därmed kommer TKONST att bli större, och VR att variera mindre.

Ett lämpligt sätt att ordna detta på är att ändra upphöjningarna på n^4 och m^3 till n^5 och m^5 . Då blir sannolikhetstolkningen för dessa kvar. Vidare blir de maximala n^4 och m^3 värdena, som är i närheten av 1 kvar. De i det undertröskliga området låga n^4 och m^3 värdena, kommer dock att minska betydligt. Därmed får TKONST och VR de egenskaper vi önskade oss. Problemet i sammanhanget är att Na^+ och K^+ strömmarna (I_{Na} och I_{K}) givetvis minskar i motsvarande grad. Då dessa lägre strömmar jämfördes med experimentellt funna, befanns de dock vara acceptabla.

Med dessa ändringar i modellen, visade det sig vara lätt att få ner frekvensen betydligt. Alla spikar blev dessutom lika. Se fig 13.

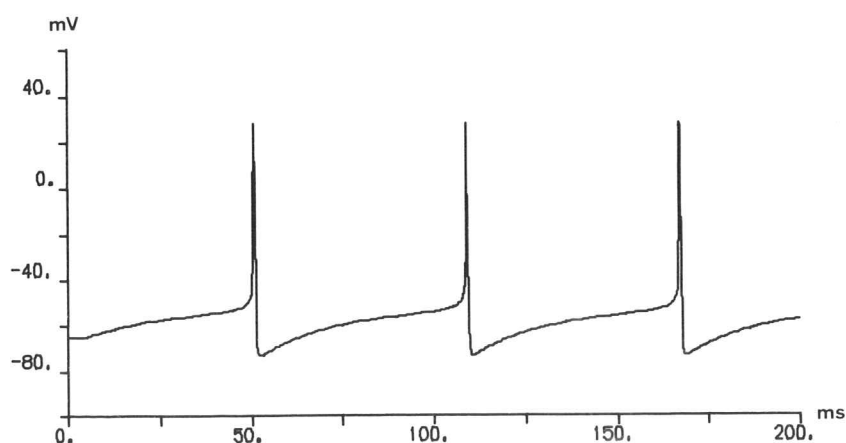


Fig. 13.

Nu återstår att lyfta upp den dip under vilopotentialen som förekommer direkt efter spiken. Man skulle kunna tänka sig att flytta på h-systemet, och därmed minska natriuminaktiveringen. Detta leder emellertid bara till en obetydlig höjning av hyperpolarisationsdippen innan spiken blir helt deformerad. Se fig 14 där h systemet är flyttat.

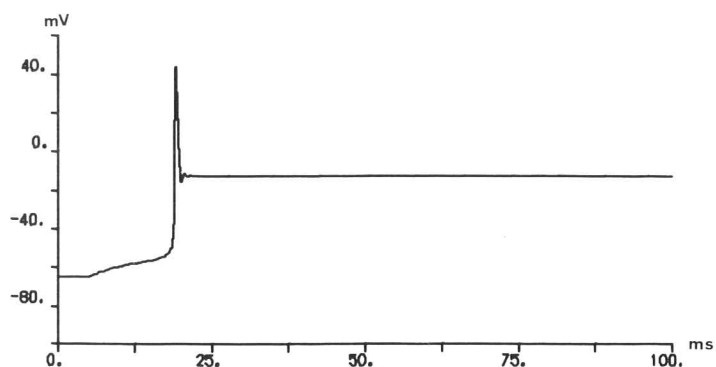


Fig. 14. Spik som har "hängt sig" beroende på att h-systemet flyttats 30 mV.

Bättre visade det sig vara att flytta n-systemet i depolariserande riktning. Då stänger K^+ kanalen tidigare, och driven ner mot kaliums jämviktspotential på -77 mV minskar. När detta var gjort, blev det möjligt att få spikarna att se ut som fig 15. Vi ser att frekvensen är låg, och att de väsentliga dragen överensstämmer med fig 12.

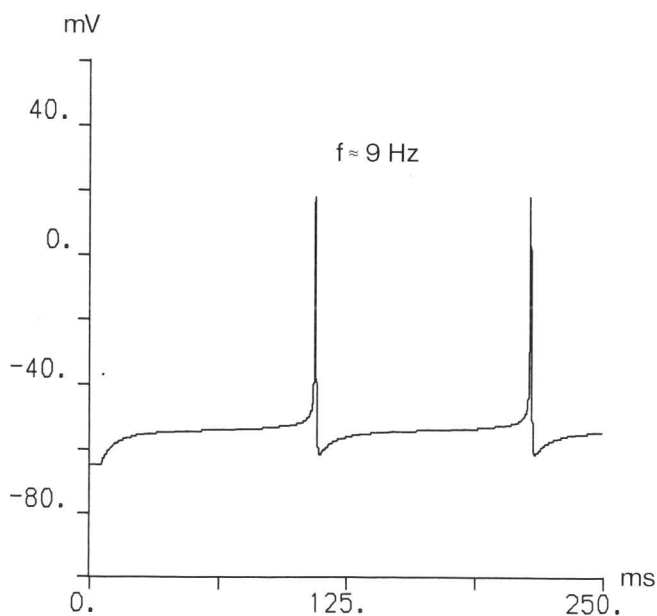
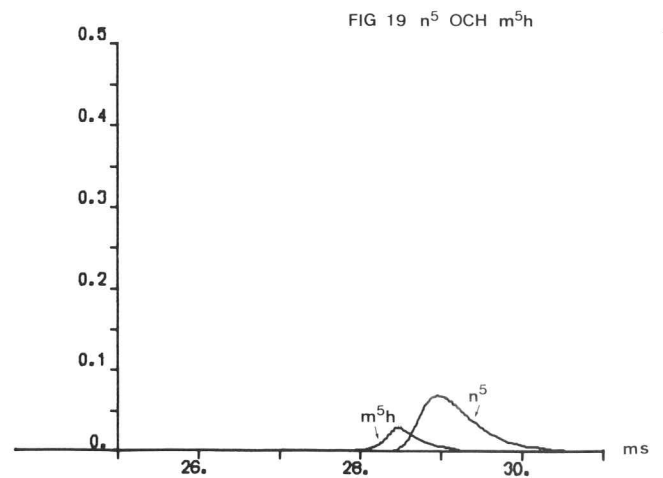
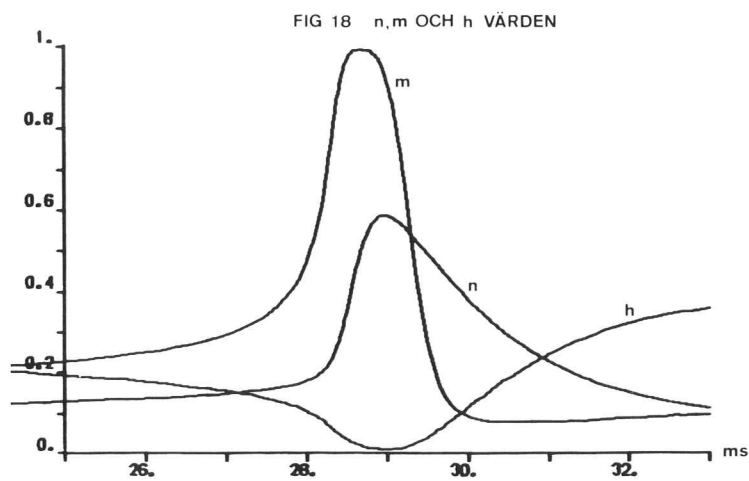
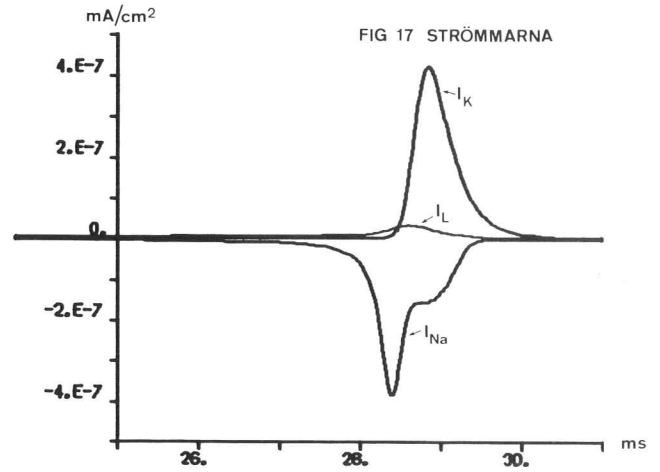
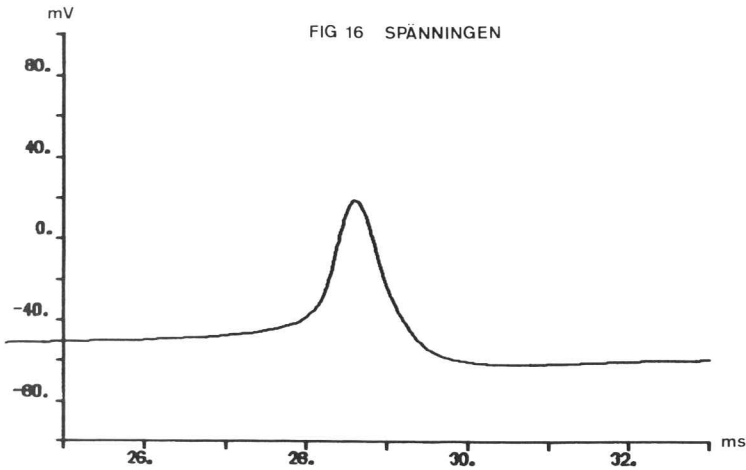


Fig. 15. Slutligt utseende på den simulerade nervspiken.

Då vi nu funnit en fungerande modell, kan det vara intressant att närmare betrakta de olika strömmarna samt n , m och h systemen under en spik. Fig 16 visar uppförstorad samma spik som fig 15. Fig 17 visar strömmarna under samma spik, medan fig 18 ger h , n och m värdena under spiken. Fig 19 visar n^5 och $m^5 h$.



V Analys av ekvationerna.

Vi skall nu göra en mer reglerteknisk analys av den olinjära differentialekvationen vi kom fram till i tidigare avsnitt.

Vi har:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{1}{C} (\bar{g}_K n^5 (V_K - V) + \bar{g}_{Na} m^5 h (V_{Na} - V) + \bar{g}_L (V_L - V) + IDEP) = f_1 \quad (5,1)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n (1-n) - \beta_n n = f_2 \quad (5,2)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m (1-m) - \beta_m m = f_3 \quad (5,3)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h (1-h) - \beta_h h = f_4 \quad (5,4)$$

$$\alpha_n = 0.01 (38 - V) (\exp(3.8 - 0.1V) - 1)^{-1} \quad (5,5)$$

$$\beta_n = 0.125 \exp((28 - V)/80) \quad (5,6)$$

$$\alpha_m = (2.5 - 0.1V) (\exp(2.5 - 0.1V) - 1)^{-1} \quad (5,7)$$

$$\beta_m = 4 \exp(-V/18) \quad (5,8)$$

$$\alpha_h = 0.07 \exp(-V/20) \quad (5,9)$$

$$\beta_h = (\exp(3 - 0.1V) + 1)^{-1} \quad (5,10)$$

De stationära punkterna fås då tidsderivatan är noll. Detta är för n, m och h systemet uppfyllt

$$\text{då } n = \alpha_n / (\alpha_n + \beta_n) \quad (5,11)$$

$$m = \alpha_m / (\alpha_m + \beta_m) \quad (5,12)$$

$$h = \alpha_h / (\alpha_h + \beta_h) \quad (5,13)$$

Vi ser att de stationära punkterna är en funktion av V , och att de överensstämmer med de oändlighetsvärden vi kom fram till på sid 13. Fig 20 visar de stationära punkterna för n, m och h .

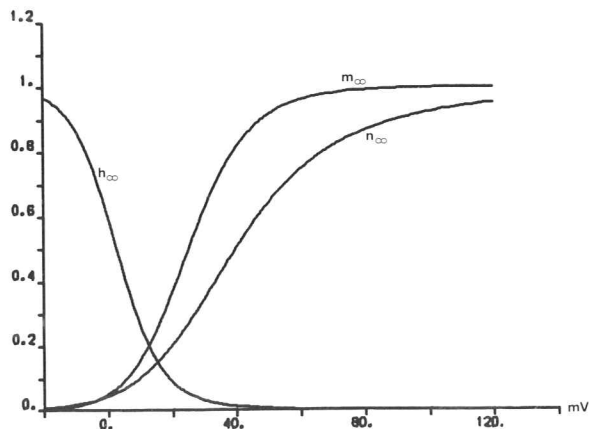


Fig. 20 Stationära punkter till ekv. 5,2, 5,3 och 5,4.

De stationära punkterna för V är inte lika lätta att behandla, då de beror av IDEP. Man kan dock lösa ut IDEP som funktion av V . Denna funktion är plottad i fig 21.

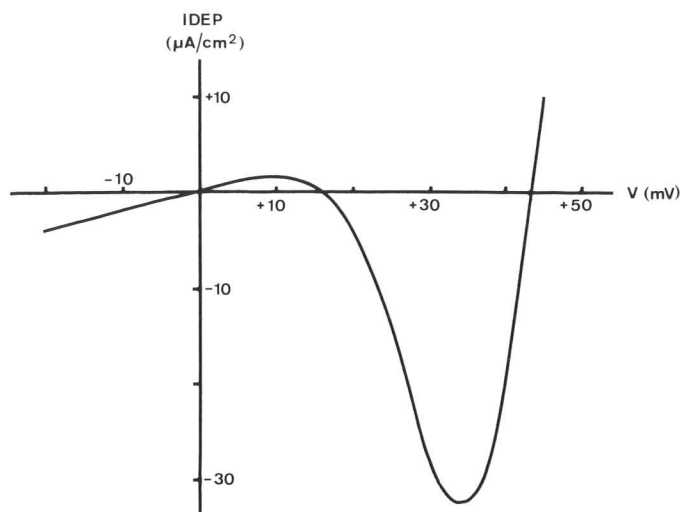


Fig. 21. Stationära punkter till ekv. 5,1.

Ur fig 21 kan man så avläsa vilka möjliga stationära punkter som finns för en viss depolarisationsström (IDEP). Vi ser t.ex. att det för IDEP= $1\mu\text{A}$ finns tre möjliga stationära punkter (5,15 och 44 mV), medan det för IDEP= $2\mu\text{A}$ bara finns en (44 mV). Det kan nu vara intressant att ta reda på vilka stationära punkter som är stabila resp. instabila. För att undersöka detta så beräknades de partiella derivatorna av högerledet i de fyra ovan uppsatta differentialekvationerna, och A-matrisen uppsattes.

$$A = \begin{bmatrix} \frac{\delta f_1}{\delta V} & \frac{\delta f_1}{\delta n} & \frac{\delta f_1}{\delta m} & \frac{\delta f_1}{\delta h} \\ \frac{\delta f_2}{\delta V} & \frac{\delta f_2}{\delta n} & \frac{\delta f_2}{\delta m} & \frac{\delta f_2}{\delta h} \\ \frac{\delta f_3}{\delta V} & \frac{\delta f_3}{\delta n} & \frac{\delta f_3}{\delta m} & \frac{\delta f_3}{\delta h} \\ \frac{\delta f_4}{\delta V} & \frac{\delta f_4}{\delta n} & \frac{\delta f_4}{\delta m} & \frac{\delta f_4}{\delta h} \end{bmatrix}$$

För en depolariserande ström på 1 μA , så avläser vi i fig 21 att de stationära punkterna ligger på 5,15 och 44 mV. De mot dessa stationära punkter svarande A-matriserna är:

$$5 \text{ mV}; A = \begin{bmatrix} -0.146 & 0 & 6.36 & 0.348 \\ -3\text{E-}10 & -0.179 & 0 & 0 \\ 7.2\text{E-}7 & 0 & -3.42 & 0 \\ -8\text{E-}8 & 0 & 0 & -0.130 \end{bmatrix}$$

$$15 \text{ mV}; A = \begin{bmatrix} 5.32 & 0 & 588 & 349 \\ -5\text{E-}8 & -0.17 & 0 & 0 \\ 1.96\text{E-}6 & 0 & -3.19 & 0 \\ 3.9\text{E-}8 & 0 & 0 & -0.215 \end{bmatrix}$$

$$44 \text{ mV}; A = \begin{bmatrix} -1.4 & -2.26 & 285 & 5150 \\ 1.1\text{E-}8 & -1.21 & 0 & 0 \\ -1.6\text{E-}6 & 0 & -2.58 & 0 \\ 3\text{E-}9 & 0 & 0 & -0.180 \end{bmatrix}$$

Det verkar mycket frestande att här stryka de små talen i första kolonnen. Egenvärdena kommer nämligen då att helt enkelt bli diagonalelementen. För att kontrollera om detta är tillåtet, så kan vi beräkna egenvärdena för t.ex. 44 mV A-matrisen då alla matriselementen är med. Inte helt oväntat visar det sig att dessa små tals inverkan på egenvärdenas storlek, och framför allt tecken, är helt försumbar. Vi kan alltså bortse från de små talen i matrisen, och därmed avläsa egenvärdena direkt ur diagonalen.

Vi finner sålunda att de stationära punkterna vid 5 mV och 44 mV är stabila, då alla egenvärden till deras A-matriser är negativa (Lyapunov-Poincarés sats). Den stationära punkten vid 15 mV är dock instabil, ty

här är ett egenvärde positivt. Man kan nu ana sig till vad fyrningströskeln egentligen är för något: Om vi långsamt drar upp vår IDEP, så kommer vi hela tiden att befinna oss i jämvikt. De olika kanalerna kommer nämligen i detta fall att hela tiden hinna med den långsamma depolariseringen. Vi kommer därmed att röra oss utmed kurvan i fig 21. När IDEP når upp till $\approx 1.6 \mu\text{A}$ kommer vi däremot inte att ha någon stationär punkt förrän vid $\approx 44 \text{ mV}$, och membranspänningen kommer att rusa iväg mot detta värde. Spänningen stannar emellertid i normala fall inte här. Detta beror på dynamiska effekter som inte framgår ur fig 21. Fig 14 (sid 20) visar dock att man genom en förflyttning av h-systemet i depolariserande riktning, faktiskt kan få fram en nervspik som stannar vid den högre liggande stabila stationära punkten. Detta fenomen har även observerats på riktiga nerver, efter kanalförgiftning, under current clamp.

I det undertröskliga området går emellertid fig 21 utmärkt att använda. Även om vi lägger på ett steg i IDEP som kommer att föra oss över fyrningströskeln, så rör sig nämligen membranpotentialen så långsamt att dynamiken i kanalerna blir försumbar. De ur fig 21 lätt avläsbara värdena på 11 mV för fyrningströskeln, och 1.6 μA depolariseringsström för att nå denna, överensstämmer således mycket väl med de faktiska förhållandena under en simulering. Dessa värde är även i rimlig överensstämmelse med experiment.

Inte helt oväntat visar det sig att $\delta f_1 / \delta V$ för 11 mV är ≈ 0 . Fyrningströskeln ligger alltså i övergången mellan stabila stationära punkter och instabila stationära punkter.

VI Analys av det dynamiska skedet.

Vid simulering är det lätt att visa vad som händer under ett dynamiskt skeende. Se t.ex. fig 16-19 (sid 21). Experimentellt är det dessvärre omöjligt att göra sådana mätningar, varför man blir tvungen att ta sig fram på andra vägar för att försöka beskriva förloppet under en spik.

Ett vanligt sätt är att för olika steg i V uppta voltage clamp kurvor (se sid 12 och fig 22) av totalströmmen igenom membranen.

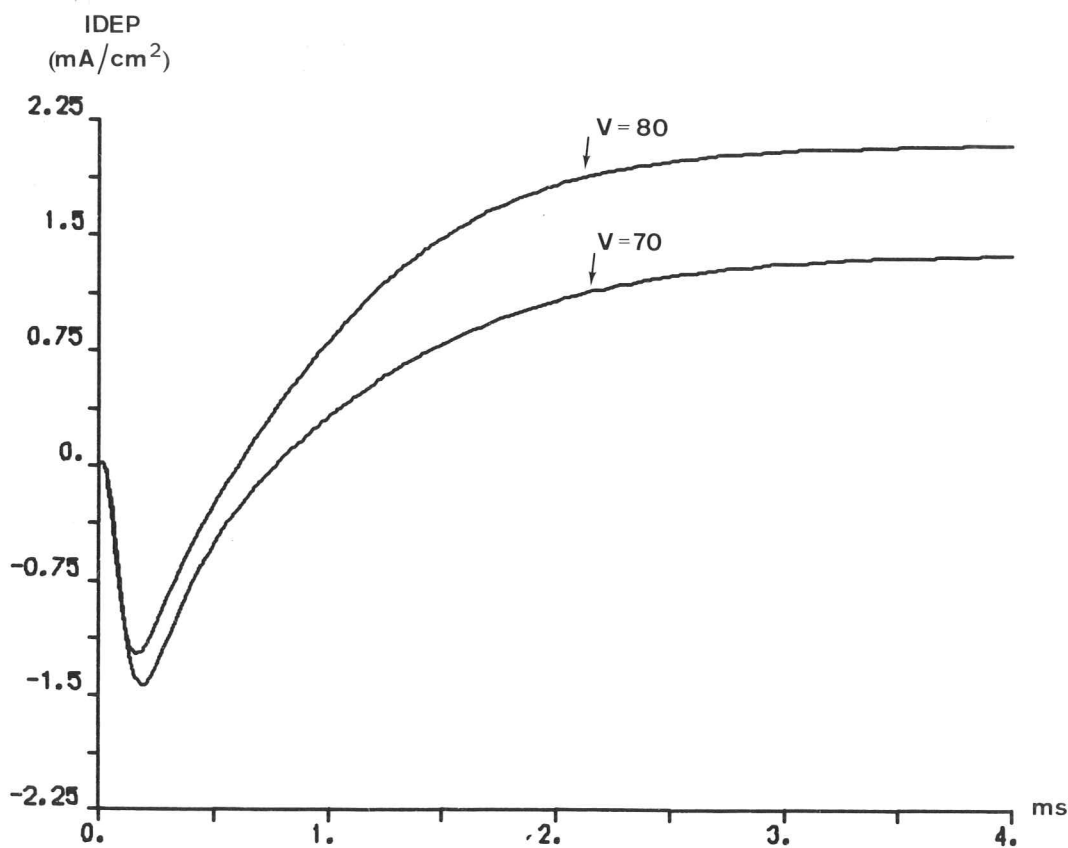


Fig. 22. Voltage-clamp kurvor.

Man kan sedan ur dessa mätningar plotta kurvor som ger strömmen igenom membranen som funktion av polarisationen, vid olika tidpunkter. Se fig 23-26.

Den i fig 23-26 svängande kurvan är nu ett sätt att beskriva vad som händer under en spik (\approx de första två millisekunderna). Man kan t.ex. se hur stationaritetetsvärdet för V , $\delta V/\delta t = 0$, vid en ström på 0.05 mA rör sig. Stationaritetetsvärdet efter 0.1 ms är ≈ 110 mV, 1.9 ms senare har det emellertid sjunkit till ≈ 47 mV (se fig 23 och 26). Det är att märka att den "svängande" kurvan går mot kurvan i fig 21, då $t \rightarrow \infty$.

Vid simulering av voltage clamp tekniken, så sätter vi dV/dt i ekv. 5,1 till 0. Därmed blir IDEP den ström som måste tillföras för att hålla V konstant. Vi betraktar alltså IDEP som funktion av tiden (se fig 22).

FIG 23

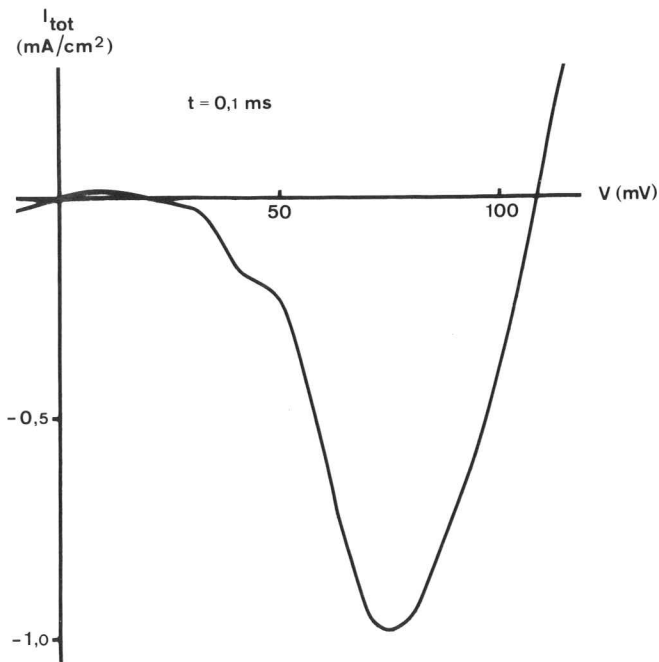


FIG 24

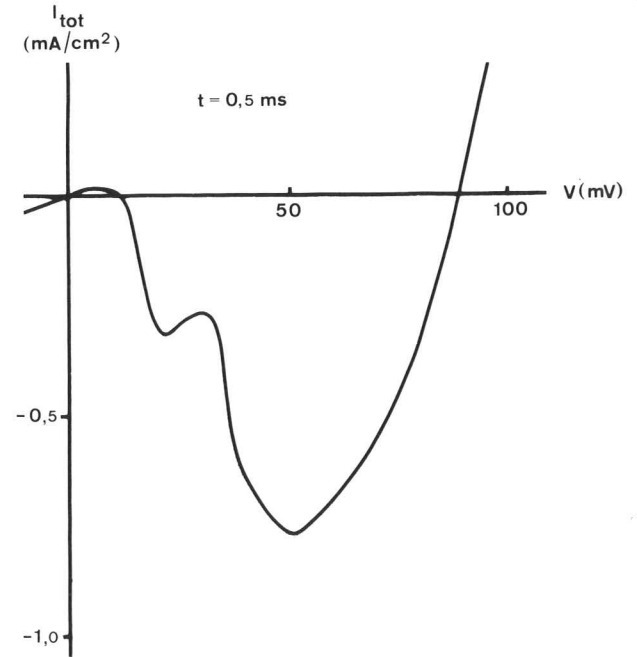


FIG 25

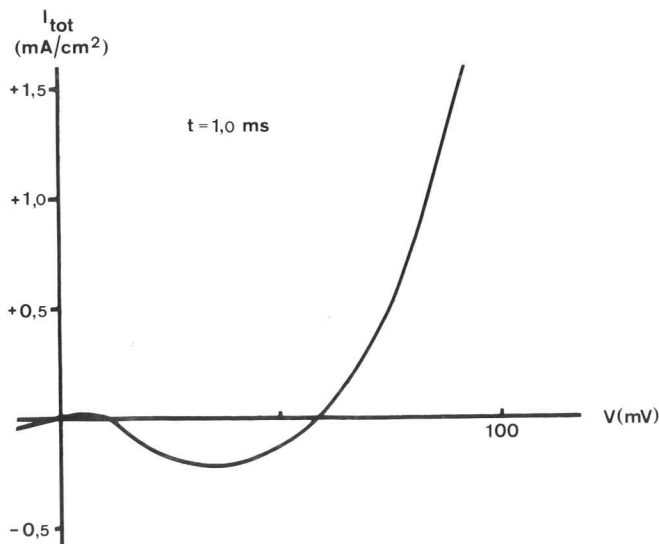
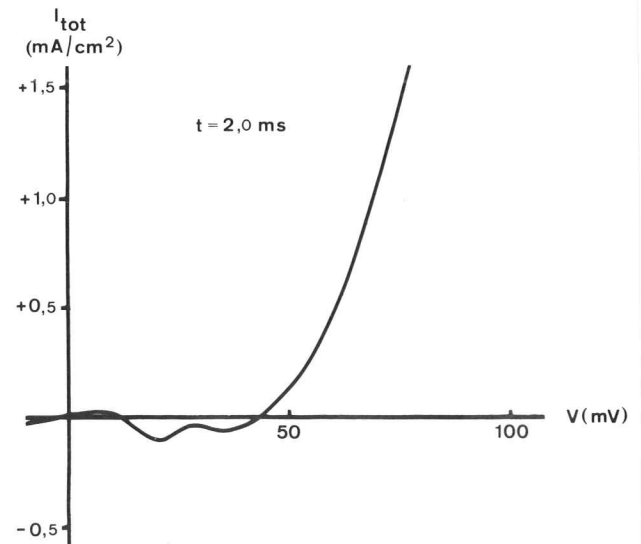


FIG 26



Kurvorna 23-26 användes ofta för att ge bild av spänningen över och strömmen genom membranen även under ett current clamp försök. Detta sätt att beskriva dynamiken på är långt ifrån invändningsfritt. En voltage clamp spik är ju inte alls identisk med en current clamp spik. Kondensatorn som spelar så stor roll vid current clamp är ju betydelselös vid voltage clamp. Voltage clamp mätningar ger god information om kanalernas dynamik och kan alltså användas för att uppmäta parametrar som sedan insättes i en lämplig modell, vilken innehåller dynamiken vid current clamp.

VII Slutsatser.

För att närmare utröna vad som händer i en repetetivt fyrande nerv så är simulering en bra metod. Detta beror på att det ofta är svårt att mäta precis det man vill. Biologiska mätningar ger dessutom ofta ganska osäkra resultat beroende på stora differenser mellan preparaten. Ett bra och lätthanterligt simuleringsprogram som SIMNON är därför en ovärderlig hjälp. Det gäller emellertid att aldrig glömma bort att det är biologi och inte matematiska datorlekar det är frågan om. Ett nära samarbete med experimenterare är därför en grundförutsättning för ett lyckat resultat.

Under arbetets gång framkom en del problem med Hodgkin-Huxleys membranmodell. Det visade sig att den inte kunde beskriva långsamt fyrande nervers beteende. För att få ner frekvensen till en rimlig nivå blev en onaturlig minskning av Na^+ och K^+ strömmarna nödvändig. Hodgkin-Huxley modellens dynamik stämmer inte heller med mätningar gjorda i det undertröskliga området.

En ny modell som bygger på Hodgkin-Huxleys kanalbegrepp och stationaritetsmätningar, men med en annan dynamik är därför under utarbetande.

Referenser

1. Bretscher, M.S. Membrane structure: Some general principles. *Science* 181, 622-629 (1973).
2. Eyzaguirre, C. & Kuffler, S.W. Process of excitation in the soma of single isolated sensory nerve cells of the lobster and crayfish. *J.gen.Physiol.* 39, 87-119 (1955).
3. Hodgkin, A.L., Huxley, A.F. & Katz, B. Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of loligo. *J.Physiol.* 116, 424-448 (1952).
4. Hodgkin, A.L. & Katz, B. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J.Physiol.* 108, 37-77 (1949).
5. Hodgkin, A.L. & Katz, B. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J.Physiol.* 117, 500-544 (1952).
6. Singer, S.J. & Nicolson, G.L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175, 720-731 (1972).
7. Thomas, R.C. Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells. *Physiol.Rev.* 52, 563-589 (1972).

Det krävs att man lyckas depolarisera = öka membranspänningen till ett visst värde, tröskelvärdet, för att nervspiken skall uppstå. Nervspiken är sedan av allt eller intet typ, och varar ett fåtal millisekunder. I ovanstående experiment (fig 4) är depolariseringen exponentiell, vilket man får när man lägger på ett konstant strömsteg (current clamp). Vid current clamp depolariseras cellen genom att man injicerar en bestämd ström igenom membranen, oberoende av membranens reaktioner. Strömmen är alltså bestämd av en utanför cellen liggande referens. Spänningen över membranen mätes sedan helt oberoende av ström-
körningen.

Att vi i vårt experiment får en exponentiell depolarisering, beror på att nervmembranen i vissa lägen uppför sig som en RC-krets. Mer härom längre fram.

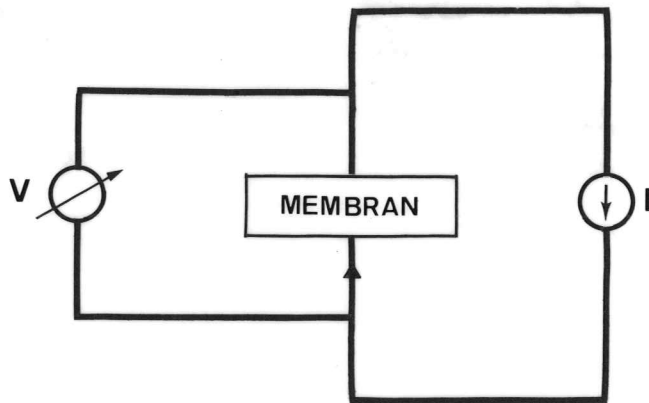


Fig. 5. Schema över current clamp.