

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМЕНІ ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

БІОЕЛЕКТРИЧНІ ПРОЦЕСИ-1

Лабораторний практикум

Рекомендовано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського
як навчальний посібник для здобувачів ступеня бакалавра
за освітньою програмою «Електронні мікро- і наносистеми та технології»
за спеціальністю G5 - Електроніка, електронні комунікації,
приладобудування та радіотехніка

Укладачі: Н. Г. Іванушкіна, К. О. Іванько, М.О. Ніколов, Г.С. Порєва,
Ю. В. Прокопенко

Електронне мережеве навчальне видання

Київ
КПІ ім. ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО
2025

УДК 577.3
В19

Укладачі: *Іванушкіна Наталія Георгіївна, доц., канд. техн. наук, доц.*
Іванько Катерина Олегівна, доц., канд. техн. наук, доц.
Ніколов Микола Олександрович, доц., канд. техн. наук, доц.
Порева Ганна Сергіївна, доц., канд. техн. наук, доц.
Прокопенко Юрій Васильович, проф., доктор техн. наук, проф.

Рецензент *Попович Павло Васильович, доц., канд. техн. наук, ,*
доцент кафедри АМЕС

Відповідальний редактор *Тимофєєв Володимир Іванович, д-р техн. наук, проф.*

Гриф надано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського
(протокол № 9 від 26.06.2025 р.)
за поданням вченої ради Факультету електроніки
(протокол № 05/2025 від 19.05.2025 р.)

В19 Біоелектричні процеси-1. Лабораторний практикум [Електронний ресурс] : лаб. практикум: навч. посіб. для здобувачів ступеня бакалавра за освіт. програмою «Електронні мікро- і наносистеми та технології» спец. G5 «Електроніка, електронні комунікації, приладобудування та радіотехніка» / КПІ ім. Ігоря Сікорського; уклад.: Іванушкіна Н. Г., Іванько К. О., Ніколов М.О., Порева Г.С., Прокопенко Ю. В.– Електрон. текст. дані (1 файл). – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2025. – 92 с.

У посібнику наведено вказівки до виконання лабораторних робіт за кредитним модулем «Біоелектричні процеси-1» для студентів спеціальності G5 «Електроніка, електронні комунікації, приладобудування та радіотехніка», що навчаються за освіт. програмою «Електронні мікро- і наносистеми та технології». У лабораторних роботах приділено увагу комп'ютерному аналізу біомедичних сигналів та математичному моделюванню біоелектричних процесів в клітині. Розглянуто теми та наведено завдання, які пов'язані з термодинамікою біологічних процесів, хаотичною динамікою, особливостями обробки даних радіоімунного аналізу, з моделюванням електричного потенціалу спокою та дії на мембрані клітини.

УДК: 577.3

Реєстр. № НП 24/25-624. Обсяг 2,26 авт. арк.

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
проспект Берестейський, 37, м. Київ, 03056
<https://kpi.ua>

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів видавничої продукції ДК № 5354 від 25.05.2017 р.

© КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2025

ЗМІСТ

ВСТУП	5
ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ	7
Лабораторна робота № 1. АНАЛІЗ СИГНАЛІВ У ФАЗОВОМУ ПРОСТОРИ. ХАОТИЧНА ДИНАМІКА СИСТЕМ.....	8
1.1. Теоретичні відомості.....	8
1.2. Завдання	11
1.2.1. Генерація даних.....	11
1.2.2. Аналіз даних	12
1.3. Оформлення результатів	13
1.4. Методичні рекомендації	21
1.4.1. Рекомендації щодо програмного коду розв'язку рівняння Лоренца..	21
1.4.2. Генерація випадкового нормального розподілу	22
1.4.3. Приклад коду для побудови гістограми та розрахунку статистичних даних.....	23
1.4.4. Приклад програмного коду побудови автокореляційної функції Пірсона	25
Контрольні питання	26
Список рекомендованої літератури:	27
Лабораторна робота № 2. ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ РЕЧОВИН. РАДІОІМУННИЙ АНАЛІЗ.	28
2.1. Теоретичні відомості	28
2.1.1. Радіоімуний аналіз	28
2.1.2. Імуноферментний аналіз	30
2.1.3. Методи математичної обробки даних в ІФА і РІА.....	32
2.2. Завдання	37
2.3. Методичні вказівки.....	40
Контрольні питання	41
Список рекомендованої літератури:	41
Лабораторна робота № 3. МОДЕЛЮВАННЯ ПОТЕНЦІАЛУ СПОКОЮ МЕМБРАНИ КЛІТИНИ	43
3.1. Теоретичні відомості	43

3.2. Робоче завдання	56
Контрольні питання	58
Список рекомендованої літератури	59
Лабораторна робота №4. МОДЕЛЮВАННЯ ПОТЕНЦІАЛУ ДІЇ КЛІТИНИ	60
4.1. Теоретичні відомості	60
4.2. Робоче завдання	67
Контрольні питання	72
Список рекомендованої літератури	73
Лабораторна робота № 5. МОДЕЛЮВАННЯ ПОШИРЕННЯ ПОТЕНЦІАЛУ ДІЇ КЛІТИНИ.....	74
5.1. Теоретичні відомості.....	74
5.2. Робоче завдання	85
Контрольні питання	92
Список рекомендованої літератури	92

ВСТУП

Розробка приладів та систем біомедичного призначення вимагає від інженерів-фахівців не тільки поглиблених знань з суто фізико-технічних областей, а й на достатньо високому рівні мати уявлення про принципи будови та функціонування організму, як на молекулярному, так і на системному рівнях. Під системним розуміється як тканинний рівень та окремі підсистеми, організм у цілому, так і популяції та їх взаємодія. Саме це обумовлює викладання студентам інженерної спеціальності, які навчаються за програмою «Електронні мікро- і наносистеми та технології» окремих розділів біофізики, що відображаються у поданому лабораторному практикумі: термодинаміки біофізичних процесів і елементів хаотичної динаміки, молекулярної біофізики, біоелектричних процесів на мембрані клітин.

Лабораторні роботи з дисципліни «Біоелектричні процеси -1» призначені для набуття студентами практичних навичок дослідження біоелектричних процесів, які виникають під час функціонування клітин та біологічних систем у цілому. Послідовно розглядаються особливості фізичних та електричних явищ живої природи, які відбуваються на всіх рівнях її організації, починаючи від молекулярного та клітинного. Також вивчаються сучасні інформаційні технології, які використовуються для моделювання процесів у біологічних системах. Дисципліна базується на знаннях, набутих під час вивчення математики, обчислювальної математики, методів математичної фізики та біофізики, спеціальних розділів фізики, фізичної хімії, біохімії, фізіології людини, теорії електричних кіл.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми після засвоєння навчальної дисципліни «Біоелектричні процеси -1» студенти мають здобути знання щодо виникнення та поширення біоелектричних процесів під час функціонування клітин, а також знання математичних принципів і методів для їх дослідження.

Після виконання лабораторних робіт студенти здобудуть навички моделювання та аналізу детермінованих хаотичних процесів, методів оцінки надмалих концентрацій біологічних компонентів, побудови моделей виникнення та поширення потенціалів на біологічних мембранах; а також за допомогою прикладного програмування розв'язання системи диференціальних рівнянь, що відображають біоелектричні процеси.

У лабораторній роботі №1 студенти вивчають механізм виникнення детермінованого хаосу, що нерідко притаманно для біологічних систем, та базовий інструментарій кількісної оцінки відповідної динаміки. У лабораторній роботі № 2 робиться акцент на методах оцінки надмалих концентрацій чи активності біологічних речовин, зокрема, методах радіоімунного та імуноферментного аналізу; особливостях математичного аналізу результатів досліджень. У лабораторній роботі № 3 студенти вивчають природу, механізми та основні моделі виникнення потенціалу спокою мембрани клітини. Лабораторна робота № 4 присвячується моделюванню процесів генерації потенціалу дії клітини. У лабораторній роботі № 5 студенти виконують дослідження поширення потенціалу дії вздовж клітинного волокна.

У результаті вивчення цієї дисципліни студенти набудуть компетентності самостійного здійснення наукових досліджень та зможуть використовувати отримані знання у практичній діяльності для розроблення та вдосконалення біокомпонентів під час проєктування та застосування мікро- та наносистемної техніки.

ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ

Лабораторні роботи виконуються за графіком, який повідомляється викладачем. Роботи виконуються фронтальним методом, тобто усі студенти одночасно виконують однакову роботу. Залежно від кількості студентів в академічній групі та їх базовими навичками прикладного програмування за вказівкою викладача можуть утворюватися бригади з 2-3 осіб.

Для підготовки виконання лабораторної роботи студенти мають:

- Опрацювати відповідний матеріал на лекційних заняттях.
- Опрацювати теоретичні відомості відповідної лабораторної роботи.
- Ретельно ознайомитися з порядком виконання лабораторної роботи.
- Опрацювати відповіді на контрольні питання.

Після виконання завдань кожен студент готує до захисту окремий протокол виконання лабораторної роботи. Протокол повинен містити:

1. Титульний аркуш, де вказано номер та назву роботи, ім'я та прізвище студента, шифр академічної групи.
2. Мету роботи та робоче завдання.
3. Результати досліджень у вигляді графічних залежностей, кількісних характеристик у відповідності до завдання.
4. Змістовні висновки, що не дублюють текстові дані завдання, а містять стислі основні закономірності та результати порівняння процесів, які досліджувались.

Лабораторна робота № 1. АНАЛІЗ СИГНАЛІВ У ФАЗОВОМУ ПРОСТОРИ. ХАОТИЧНА ДИНАМІКА СИСТЕМ

Мета роботи – ознайомитись з нелінійними рівняннями, для яких властива хаотична динаміка, та отримати навички якісного та кількісного аналізу сигналів.

1.1. Теоретичні відомості

Фазовий портрет – сукупність фазових траєкторій, що характеризує стан і рух динамічної системи [1, 2].

Метод аналізу рівнянь у фазовому просторі – графоаналітичний метод дослідження динамічних систем, які описуються рівняннями виду:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= P(x, y), \\ \frac{dy}{dt} &= Q(x, y)\end{aligned}$$

де x і y – змінні стану системи, $P(x, y)$ і $Q(x, y)$ – функції, що задовольняють умові теорем існування та єдиності рішення, t – час (незалежна змінна). Поведінку такої системи можна представити геометрично на площині у прямокутних декартових координатах. У разі такого зображення кожному стану динамічної системи однозначно відповідає точка на площині з координатами x, y і, навпаки, кожній точці площини відповідає один і тільки один стан динамічної системи, що досліджується.

Площина Oxy називається фазовою площиною. Зміна стану системи відображається на фазовій площині рухом точки, яку називають фазовою. Траєкторія, за якою рухається ця точка, називається фазовою траєкторією, швидкість і напрямок її руху визначаються вектором фазової швидкості $\{P, Q\}$. Суттєво, що через кожен точку фазової площини проходить тільки одна фазова траєкторія. Сукупність фазових траєкторій називається фазовим портретом системи і відображає сукупність всіх можливих сполучень системи і типи можливих рухів у ній.

Типи фазових рухів зазвичай визначають в околі так званих особливих точок - точок рівноваги, в яких

$$P(x, y) = 0, Q(x, y) = 0;$$

Різні типи руху системи у фазовій площині відокремлюються сепаратрисами.

Аналіз рівнянь у фазовому просторі полягає у побудові фазового портрета системи і подальшого аналізу цього портрета. Метод дозволяє визначити число, типи і характер особливих точок, наявність ізольованих замкнутих траєкторій і сепаратрис та дає можливість за виглядом фазових траєкторій наочно представити всю сукупність рухів, що виникають у динамічній системі за різних початкових умов.

Особливі точки класифікують за характером фазових траєкторій в їх околі. Основні типи особливих точок зображені на рис. 1.1. Ізольовані замкнуті траєкторії (граничні цикли) класифікують за характером їх стійкості (рис. 1.2).

Теоретичні основи аналізу рівнянь у фазовому просторі розроблені А. Пуанкаре. Аналіз рівнянь у фазовому просторі – один з методів якісної теорії динамічних систем і широко використовується у теорії коливань, теорії автоматичного управління, в електротехніці і механіці.

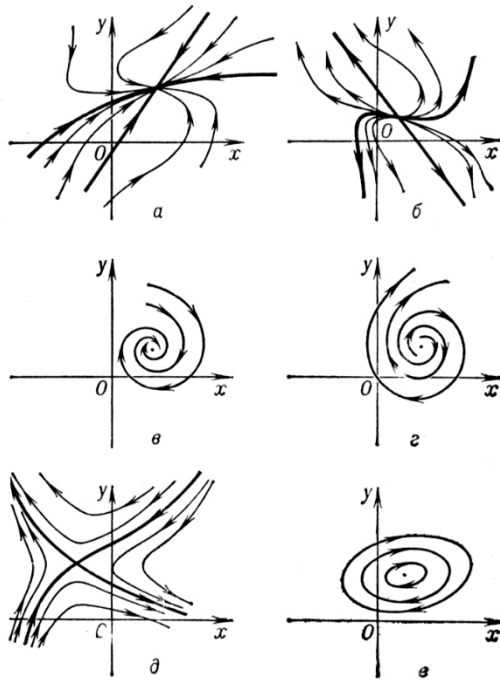


Рис. 1.1. Фазові траєкторії в околі особливих точок: а — стійкий вузол; б — нестійкий вузол; в — стійкий фокус; г — нестійкий фокус; д — сідло; е — центр.

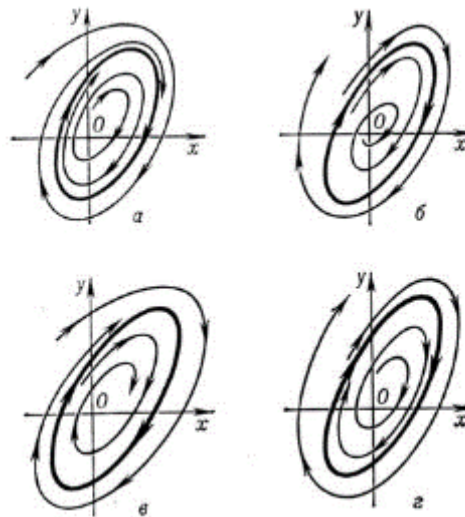


Рис. 1.2. Фазові траєкторії в околі різних граничних циклів, що зображені у вигляді замкнутих кривих: а — стійкий граничний цикл; б — нестійкий граничний цикл; в, г — напівстійкий граничний цикл.

У разі комп'ютерного аналізу сигналів останні представлені часто у вигляді дискретних відліків. Крім того, якщо сигнал є результатом фізичних вимірювань, майже завжди присутні шуми, у тому числі високочастотні. Це вкрай ускладнює оцінку похідної (швидкості). У цьому випадку будують так званий псевдофазовий портрет, опираючись на визначення похідної:

$$\text{похідна} \quad \frac{dx}{dt} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{x(t + \Delta t) - x(t)}{\Delta t};$$

$$\text{апроксимація похідної для дискретного ряду} \quad \frac{dx}{dt} \approx \frac{x_{i+1} - x_i}{\Delta t}.$$

Тобто похідна за фіксованого Δt визначається x_{i+1} та x_i . Тож псевдофазовий портрет оцінюють як функціональну залежність $x_{i+1} = f(x_i)$. Однак, у разі досить дрібного кроку Δt сигнал між x_{i+1} та x_i змінюється квазілінійно. Тому необхідно підбирати інтервал Δt так, щоб коректно відобразити фазовий портрет: $x_{i+j} = f^j(x_i)$, де $j=1,2,\dots,n$.

1.2. Завдання

1.2.1. Генерація даних

1. Розв'язати рівняння Лоренца (Edward N. Lorentz) [1, 2]:

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = \sigma(y - x) \\ \frac{dy}{dt} = x(r - z) - y \\ \frac{dz}{dt} = xy - bz \end{cases} \quad (1.1)$$

за фіксованих $\sigma=10$, $b=8/3$ та за варіації параметра r ($r=3,7$, $r=10$, $r=28$, $r=30+N$, де N -номер варіанту).

2. Побудувати інтегральні криві рівняння (1.1) у просторі (x,y,z) та порівняти їх.

- a. Для варіантів розв'язку рівняння (1.1) за умови $r=3,7$ та $r=28$ побудувати графік функції $x=f(t)$ – сигнали $A1$ та $A2$ відповідно.
- b. Для рівняння (1.1) побудувати функцію $x=f(t)$ за умови $r=28$, але за різних значень похибки числового інтегрування.

3. За допомогою стандартних функцій Matlab згенерувати масиви даних $C1$ та $C2$, що відображає випадковий закон розподілу Гауса цілих чисел від 1 до 21. Масив $C1$ – 100 значень, $C2$ – 10000 значень.

4. За допомогою стандартних функцій Matlab згенерувати синусоїдальний сигнал (D_0) 10 періодів.

5. За допомогою стандартних функцій Matlab згенерувати масиви D_1 та D_2 , для цього до синусоїдального сигналу (D_0) додати випадкову складову інтенсивністю 5% та 50% (рівень шуму повинен бути суттєвим) від максимальної амплітуди D_0 .

1.2.2. Аналіз даних

1. Побудувати гістограми функцій $A_1, A_2, C_1, C_2, D_0, D_1, D_2$.
2. Побудувати псевдофазовий портрет модельних сигналів (A_2, C_2, D_0, D_1, D_2):

$$A_i = f(A_{i+1}), A_i = f(A_{i+5}), A_i = f(A_{i+10}), A_i = f(A_{i+j}),$$

$$C_i = f(C_{i+1}), C_i = f(C_{i+5}), C_i = f(C_{i+10}), C_i = f(C_{i+10}),$$

$$D_i = f(D_{i+1}), D_i = f(D_{i+5}), D_i = f(D_{i+10}), D_i = f(D_{i+j}).$$

Значення j підібрати таким, щоб фазовий портрет якісно відрізнявся від портретів з $j = 1, j=5$ та $j=10$.

3. Побудувати автокореляційні функції для A_2 , C_2 , D_0 , D_1 , D_2 (див. Методичні матеріали).

4. Оцінити математичне очікування, дисперсію, асиметрію та ентропію сигналів (див. Методичні матеріали).

1.3. Оформлення результатів

Результати аналізу отриманих даних зводяться до таблиць та рисунків, що наведені нижче. Нумерація таблиць та рисунків зазначена відповідно до розташування у протоколі.

$r = 3.7$	$r = 10$
$r = 28$	$r = 30+N$

Рис. 1.1 Фазові траєкторії системи Лоренца за різних значень параметру r

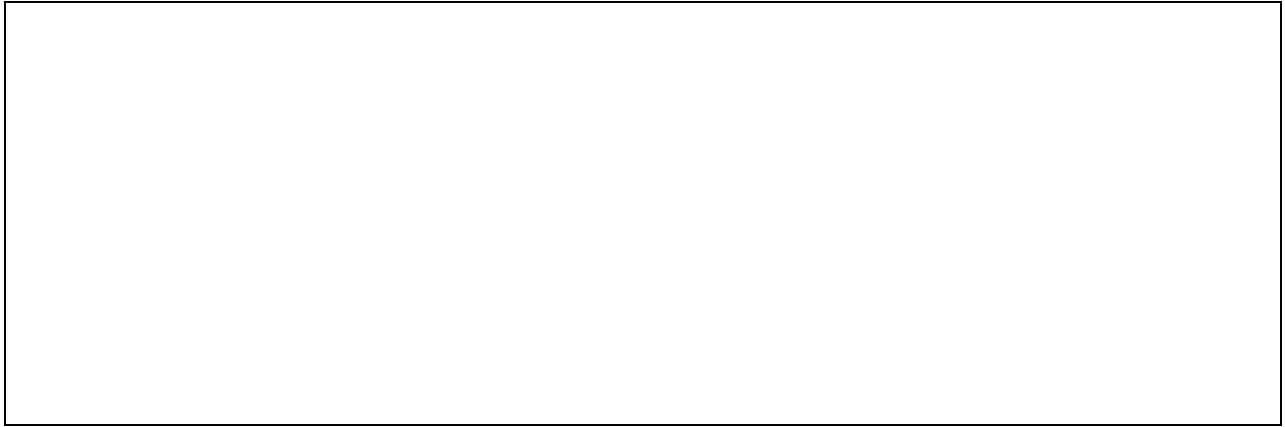


Рис. 1.2. Порівняння двох варіантів розв'язку системи Лоренца у часі для однієї із змінних (наприклад, x) за різних значень параметру r , де: зелена крива – $r=3.7$ (сигнал A_1), червона крива – $r=28$ (сигнал A_2)

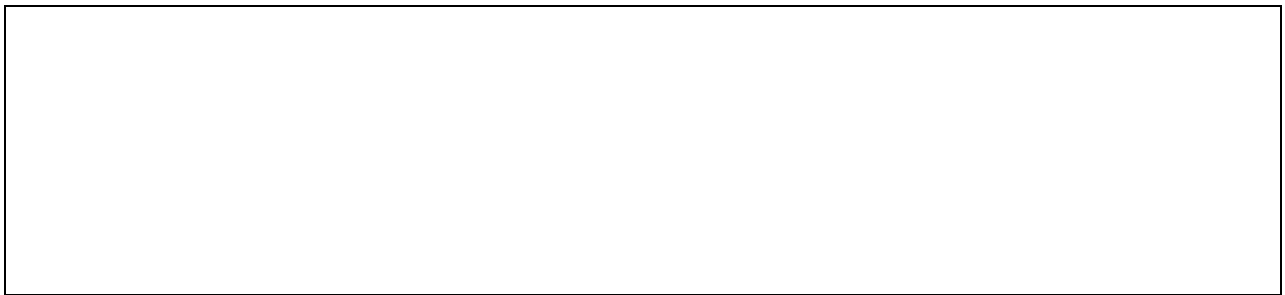


Рис. 1.3. Порівняння двох варіантів розв'язку системи Лоренца у часі для однієї із змінних (наприклад, y) за однакових значень параметру $r=28$, за різних значень похибки числового інтегрування, де: зелена крива – $TOL=10^{-4}$, червона крива – $TOL=10^{-6}$.

C_1	C_1

Рис. 1.4. Випадкові модельні сигнали

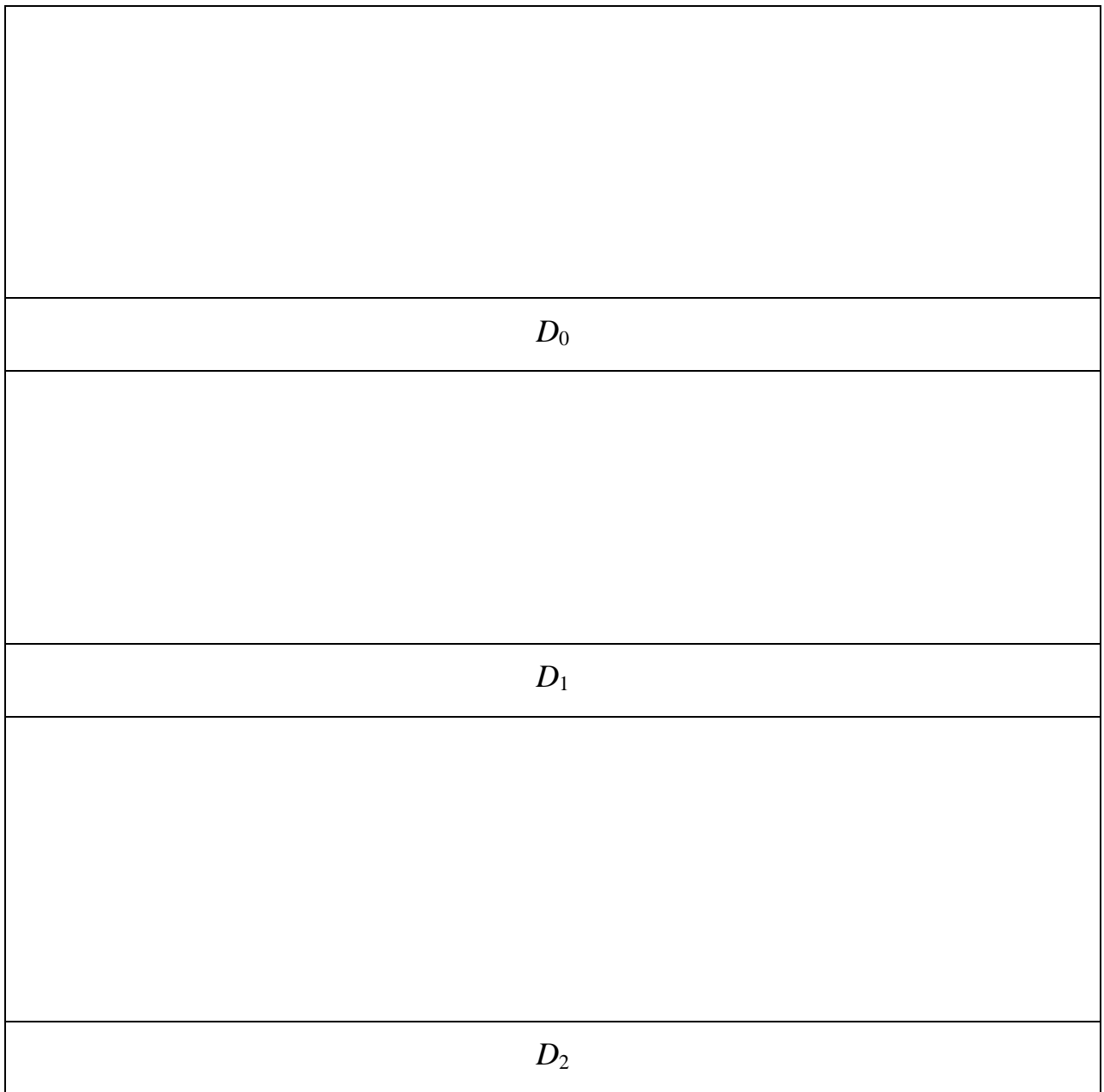


Рис. 1.5. Синусоїдальні модельні сигнали з та без шуму

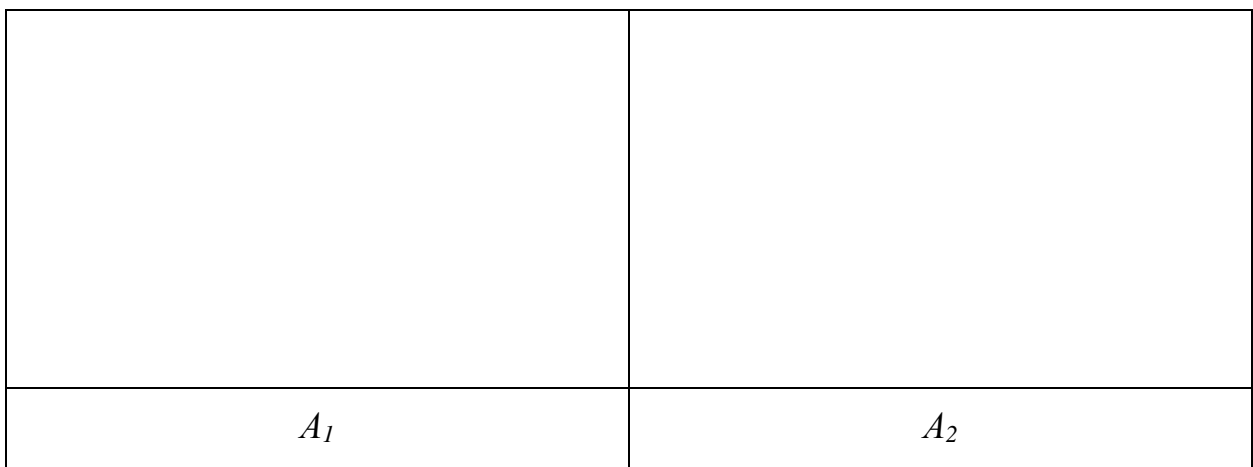


Рис. 1.6. Гістограми модельних сигналів А (системи Лоренца)

C_1	C_2

Рис. 1.7. Гістограми випадкових модельних сигналів C (випадкового сигналу)

D_0	D_1	D_2

Рис. 1.8. Гістограми випадкових модельних сигналів D (синусоїдального сигналу)

$j = 1$	$j = 5$
$j = 10$	$j =$

Рис. 1.9. Псевдофазовий портрет модельного сигналу A_2 для змінної x

$j = 1$	$j = 5$
$j = 10$	$j =$

Рис. 1.10. Псевдофазовый портрет модельного сигналу C_2

$j = 1$	$j = 5$
$j = 10$	$j =$

Рис. 1.11. Псевдофазовый портрет модельного сигналу D_0

$j = 1$	$j = 5$
$j = 10$	$j =$

Рис. 1.12. Псевдофазовый портрет модельного сигнала D_1

$j = 1$	$j = 5$
$j = 10$	$j =$

Рис. 1.13. Псевдофазовый портрет модельного сигнала D_2

Таблиця 1.1. Результати статистичного аналізу даних

Модельний сигнал	Математичне очікування	Дисперсія	Ентропія	Асиметрія
A_1				
A_2				
C_1				
C_2				
D_0				
D_1				
D_2				



Рис. 1.14. Автокореляційна функція модельного сигналу A_1



Рис. 1.15. Автокореляційна функція модельного сигналу C_2

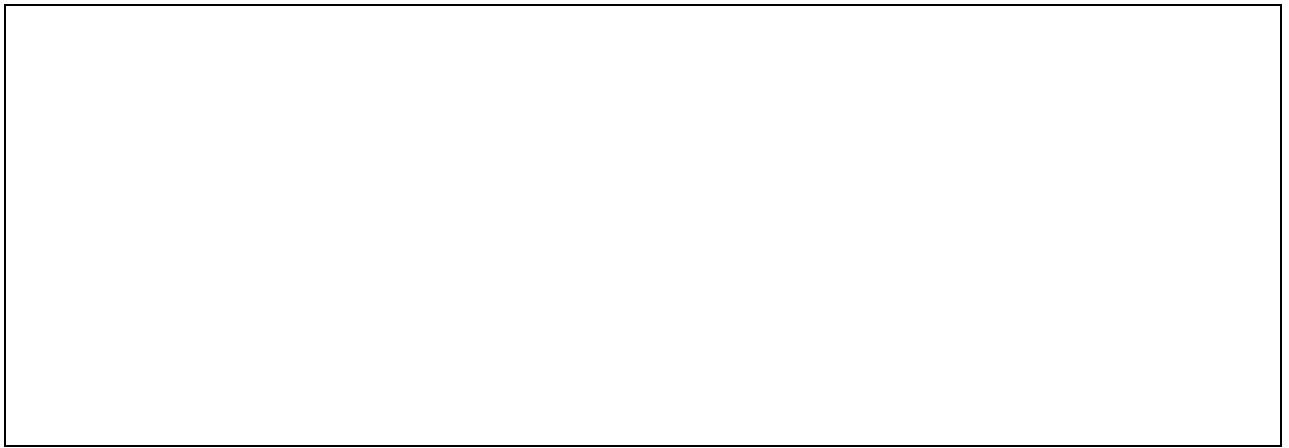


Рис. 1.16. Автокореляційна функція модельного сигналу D_0



Рис. 1.17. Автокореляційна функція модельного сигналу D_1



Рис. 1.18. Автокореляційна функція модельного сигналу D_2

1.4. Методичні рекомендації

1.4.1. Рекомендації щодо програмного коду розв'язку рівняння Лоренца

Програмний код мовою Matlab для знаходження чисельного розв'язку системи рівнянь Лоренца (1.1) може бути представлено так:

```
global S R B
S=5; B=1;
Rn=[0.3 1.8 3.7 10 16 24.06 28];
options = odeset('RelTol',1e-4,'AbsTol',[1e-4 1e-4 1e-5]);
for i = 1:length(Rn);
    R=Rn(i);
    [t DD]=ode45(@F2,[0 100],[10 10 10], options);
    x=DD(:,1); y=DD(:,2); z=DD(:,3);
    figure;
    plot3(x,y,z); grid on;
    title(R)
    xlabel('x')
    ylabel('y')
    zlabel('z')
end
```

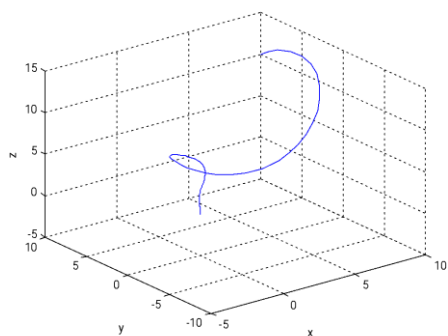
F2 – ім'я m-файл функції рівняння (1.1) (F2.m).

Програмний код функції F2.m:

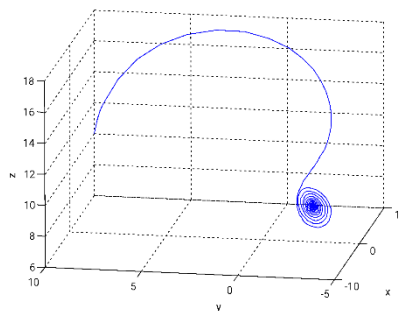
```
function dsdt=F2(t,s)
global S R B % параметри рівняння. В більш загальному варіанті вони
             % можуть бути вхідними параметрами функції F2
n=length(s)/3;
X=s(1:n);
Y=s(n+1:2*n);
Z=s(2*n+1:3*n);
dXdT=S.*(Y-X);
dYdt=X.*(R-Z)-Y;
dZdt=X.*Y-B.*Z;
dsdt=[dXdT;dYdt;dZdt];
```

Слід звернути увагу, що за замовчуванням вирішувач диференціальних рівнянь, такий як `ode45`, що наведено у прикладі, інтегрує систему зі змінним кроком [3, 4]. Тобто Δt змінюється залежності від ступеня нелінійності кривих на інтервалі обчислень. Це вкрай ускладнює подальший спектральний, кореляційний та статистичний аналіз даних. Тому після отримання інтегральних кривих доцільно застосувати сплайн-інтерполяцію вже зі сталим кроком. У системі Matlab цю процедуру можна здійснити за допомогою команд `spline` або `csaps` з `ppval` [5]. Інакше діапазон інтегрування необхідно задати вектором, з вказанням Δt , наприклад, `[0: 0.01:100]`. Але це може бути неоптимально з точки зору обчислювальних ресурсів і похибки інтегрування.

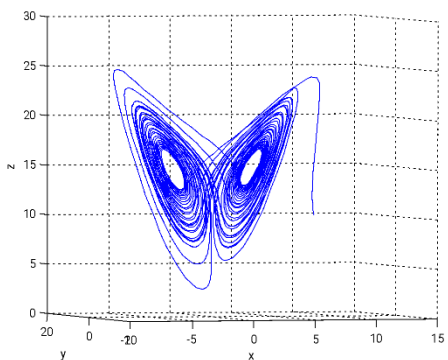
Типові результати розв'язку системи (1.1) наведені на рис. 1.3



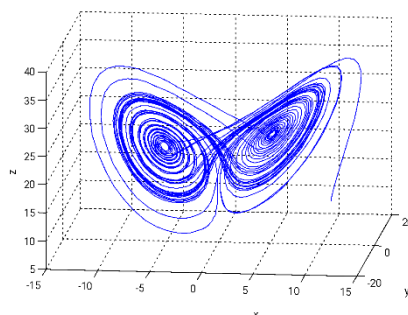
$r = 0,3$



$r = 10$



$r = 16$



$r = 24,06$

Рис. 1.3. Варіанти розв'язку системи диференціальних рівнянь Лоренца для завдання 2 за різних значень параметру r

1.4.2. Генерація випадкового нормального розподілу

Команда генерації випадкового нормального розподілу в системі Matlab [3]:

$$A = \text{randn}(n1, n2),$$

де A – масив даних, n – розмірність масиву A ($n1$ – кількість рядків, $n2$ – кількість стовпчиків).

Для генерації псевдовипадкових цілих значень, розподілені за нормальним законом, можна використовувати функцію Matlab:

$$A = \text{randni}(imax).$$

Ця функція повертає випадкові значення від 1 до $imax$.

Для генерування одновимірного вектору цілих випадкових значень в певному фіксованому діапазоні від i_{\min} до i_{\max} використовують команду:

$$A = \text{randi}([i_{\min}, i_{\max}], n, 1)$$

Нормальний розподіл Гауса передбачає можливість випадкового числа у межах $(-\infty, +\infty)$ чи, мовою програмувань $(-\text{inf}, \text{inf})$. У разі моделювання фізичних та біофізичних процесів амплітуди шумових випадкових сигналів як правило мають деякі обмеження. Для генерації випадкового Гаусівського розподілу у певних межах можна застосувати наступний алгоритм (функцію Matlab):

```
function x = randn_limit(n, mu, sigma, minVal, maxVal)
    %n -кількість випадкових значень
    % mu - математичне очікування
    % sigma - стандартне відхилення
    % minVal, maxVal - границі розподілу

    assert(mu>=minVal && mu<=maxVal); % перевірка коректності діапазону
    assert(sigma>0); % перевірка , що стандартне відхилення більше 0
    % assert - функція, що дасть помилку, якщо умова не вірна

    x = mu + sigma*randn(n,1);
    outsideRange = x<minVal | x>maxVal;
    % nnz - стандартна функція, що повертає ненульові елементи
    % ті елементи масиву, що вийшли за межі діапазону будуть
    % перегенеровані

    while nnz(outsideRange)>0
        x(outsideRange) = mu + sigma*randn(nnz(outsideRange),1);
        outsideRange = x<minVal | x>maxVal;
    end
```

1.4.3. Приклад коду для побудови гістограми та розрахунку статистичних даних

Побудова гістограми мовою Matlab, може бути представлена наступним кодом:

```
%% Функція розподілу ймовірності
N=20; % кількість стовпчиків
[h, x]=hist(A, N);
p=h./length(A); % перехід від абсолютних значень на гістограми до відносних,
% тобто до розподілу ймовірності
hist(A, N); % візуалізація гістограми чи bar(x,h)
```

Більш строго, під час статистичного аналізу даних кількість стовпчиків гістограми для малих вибірок (десятки значень) доцільно обирати за правилом Стерджесса (Sturges' Rule), для достатньо великих вибірок – за правилом Райса (Rice Rule) чи Фрідмана-Діаконіса (Freedman–Diaconis)

```
%% Розрахунок статистичних показників
```

Майже для кожного стандартного статистичного показника є окремі функції. Наприклад, `mean` – команда для розрахунку середнього значення, `std` – середньоквадратичне відхилення. Але у деяких задачах для мінімізації машинних ресурсів бажано розрахунки проводити за гістограмою.

```
% Розрахунок середнього значення
% Розрахунок середнього значення за гістограмою
tmpSum = 0;
for i = 1:N
    tmpSum = tmpSum + x(i)*p(i);
end
Avarage_0 = mean(A); % стандартна функція в Matlab
Avarage_p= tmpSum; % якщо p - ймовірність події
% якщо нормування не було проведено, тобто є тільки h, тобто відображає
% абсолютну кількість подій, то %Avarage_p= tmpSum/length(A);

% розрахунок середньоквадратичного відхилення
tmpSum = 0;
for i = 1 : N
    tmpSum = tmpSum + p(i)*(M_av - x(i))^2;
end
Sigma_0=std(A) % стандартна функція в Matlab
Sigma_p = (tmpSum)^0.5

% розрахунок асиметрії
```

За визначенням асиметрія розраховується за формулою:

$$A_s = \frac{\mu_3}{\sigma^3},$$

де σ – середньоквадратичне відхилення (у вищенаведеному коді воно позначалось як `Sigma_0` чи `Sigma_p`), μ_3 – третій центральний момент:

$$\mu_3 = E[(X - EX^3)],$$

де E – оператор, що позначає середню величину.

```
tmpSum = 0;
for i = 1:N
    tmpSum = tmpSum + p(i)*(x(i)-M_av)^3;
```

```

end
if Sigma_h~=0
    Asimmetry_p = tmpSum/Sigma_p^3;
else
    Asimmetry_p =0;
end

Asymmetry_0= skewness(A) % стандартна функція в Matlab
Asimmetry_p

```

Як можна побачити з наведених прикладів розрахунку цих статистичних показників, для кожного з них застосовується цикл `for i = 1:n`.

Для задач, де необхідно одночасно розраховувати відповідні значення у реальному часі, представлені фрагменти коду доцільно об'єднати, що суттєво зменшує машинні ресурси. Це ж стосується і розрахунку показника ентропії за Шенноном. Для розрахунку ентропії за Шенноном використовують формулу:

$$E = -\sum_{i=1}^n p_i \ln p_i .$$

Безпосередній розрахунок ентропії Matlab окремою командою здійснюється як:

```
entrop=abs(wentropy(p, 'shannon')) .
```

Розрахунок дисперсії:

```
disp=std(p)^2 .
```

1.4.4. Приклад програмного коду побудови автокореляційної функції Пірсона

Варіант програмного коду розрахунку автокореляційної функції

Пірсона ($R(\tau)$) може мати наступний вигляд:

```

k=length(A);
R(1)=1; % при нульовому зміщенні автокореляційна функція завжди =1
for i=1:k-2
    a1=A(1:k-i);
    a2=A(i+1:k);
    tem=corrcoef(a1,a2);
    R(i+1)=tem(1,2);
end

```

В інтегральній формі для нескінченного сигналу автокореляційна функція має вигляд:

$$R(\tau) = \int f(t) \cdot f(t - \tau) dt .$$

Автокореляція Пірсона визначається за формулою:

$$r_k = \frac{\sum_{t=k+1}^n (y_t - \overline{y_{2k-1}})(y_{t-k} - \overline{y_{2k}})}{\sqrt{\sum_{t=k+1}^n (y_t - \overline{y_{2k-1}})^2 (y_{t-k} - \overline{y_{2k}})^2}}$$

де суцільна лінія над змінною означає середнє значення у певному діапазоні:

$$\overline{y_{2k-1}} = \frac{1}{n-k} \sum_{t=k+1}^n y_t ,$$

$$\overline{y_{2k}} = \frac{1}{n-k} \sum_{t=k+1}^n y_{t-k} .$$

Значення автокореляційної функції Пірсона знаходиться межах $[- 1; 1]$, оскільки $|\text{cov}_{xy}| \leq \sqrt{D_x D_y}$, де D – дисперсія відповідної вибірки.

Контрольні питання

1. Що таке фазовий простір?
2. Як трактувати функцію автокореляції й навіщо необхідно нормування функції на дисперсію вибірки?
3. Класифікація особливих точок системи.
4. Що означають: математичне очікування, середнє квадратичне відхилення, дисперсія, асиметрія, ексцес, ентропія, мода, медіана?
5. Принцип Пригожина для біологічних систем.
6. Основні властивості атрактора Лоренца.

7. Надайте визначення й пояснення до терміну «емерджентність», «синергетичність».
8. Як можна передати параметри/коефіцієнти у функцію у разі розв'язку диференціальних рівнянь?
9. Якими кількісними критеріями характеризуються хаотичні, стохастичні/випадкові сигнали?

Список рекомендованої літератури:

1. James J. Scully, Alexander B. Neiman, Andrey L. Shilnikov; Measuring chaos in the Lorenz and Rössler models: Fidelity tests for reservoir computing. Chaos 1 September 2021; 31 (9): 093121. <https://doi.org/10.1063/5.0065044>
2. Лошицький П.П. Моделювання біофізичних процесів. Вступ до синергетики.[текст]: Навчальний посібник /П.П.Лошицький, М.О.Ніколов – Київ.: НТУУ»КПІ», 2014.-412с.
3. Лазарєв Ю. Ф. Моделювання динамічних систем у Matlab. Електронний навчальний посібник. – Київ: НТУУ "КПІ", 2011. – 421 с. – Режим доступу: https://elprivod.nmu.org.ua/files/mathapps/mds_matlab.pdf
4. Хоцкіна В.Б., Вдовиченко І.Н. Робота в пакеті MATLAB: Навчальний посібник. – Кривий Ріг: Державний університет економіки і технологій, 2023. – 130 с. – Режим доступу: <https://api.dspace.duet.edu.ua/server/api/core/bitstreams/3b0ebf90-2636-4c70-b6dd-2bf29b04b64a/content>
5. Сплайн-функції та їх застосування / Б.П. Довгий, А.В. Ловеїкін, Є.С. Вакал, Ю.Є. Вакал. – К.:Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет”, 2016. – 117 с. – Режим доступу: https://mp.mechmat.knu.ua/images/library/Dovhyi_Loveikin_Vakal_Vakal_2016_Spline_Tutor.pdf.

Лабораторна робота № 2. ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ РЕЧОВИН. РАДІОІМУННИЙ АНАЛІЗ.

Мета роботи – ознайомитись з методиками проведення радіоімунного та імуноферментного аналізу й особливостями комп'ютерного розрахунку концентрації біологічних речовин, що досліджуються відповідними методами.

2.1. Теоретичні відомості

2.1.1. Радіоімунний аналіз

Радіоімунний аналіз (PIA), також радіоімунологічний або ізотопний імунологічний аналіз, (англ. Radioimmunoassay, RIA) - високочутливий метод, заснований на реакції антиген-антитіло, один з компонентів якої несе радіоактивну мітку [1, 2, 3]. Метод дозволяє виявляти як антигени, так і антитіла і визначати їх концентрацію у досліджуваній пробі. Це метод кількісного визначення біологічно активних речовин у біологічних рідинах, заснований на конкурентному зв'язуванні шуканих стабільних і аналогічних їм мічених радіонуклідом речовин зі специфічними зв'язуючими системами, з подальшою детекцією на спеціальних лічильниках - радіоспектрометрах.

Для радіоімунного аналізу (PIA) використовують комерційні набори, до складу яких входять: антиген радіоактивний (аналог того, що необхідно визначати), 5-6 флаконів зі стандартними відомими концентраціями антигену для отримання калібрувальної кривої та близько 100 спеціальних пробірок.

У перші пробірки вносять певні об'єми стандартних проб, в інші – біологічну рідину пацієнтів. Також до всіх пробірок додають радіоактивний антиген. Після додавання всіх компонентів проводять інкубацію. У загальному випадку час інкубації становить 4-12 годин за постійного струшування та за умови сталої температури.

Після інкубації проводять процедуру розділення зв'язаних компонентів (антитіло-антиген) та вільних компонентів. Розділення проводять за допомогою центрифугування чи, якщо реакція іде на поверхні пробірки

(хемосорбція), простим відбором рідини з пробірки відсмоктувачем. В останньому випадку нерідко пробірки додатково промивають водою. Після процедури розділення проводять радіометрію пробірок. Якщо у пробі пацієнта високий вміст антигену, концентрацію якого необхідно визначити, то осад буде менш радіоактивний. А якщо антигену у сироватці мало, то з антитілами зв'яжеться більше радіоактивних антигенів і осад буде більш радіоактивним.

Для кількісного визначення концентрації речовини, що досліджується, будують калібрувальну криву за допомогою стандартів (реактивів/проб), де чітко визначена концентрація. У загальному випадку наборі знаходиться 5-6 стандартних проб. Інкубування стандартів проводиться одночасно з пробами пацієнтів за тих же самим умов. За результатами радіометрії будується графік залежності радіоактивності від концентрації, тобто отримується калібрувальна крива.

Загальна схема проведення конкурентного РІА наведена на рис. 2.1 [2].

Області медицини, в яких найбільш поширений РІА:

1. Ендокринологія (інсулін, T_3 , T_4 , ТТГ).
2. Онкологія (раково-ембріональний антиген (РЕА), альфа-фетопротеїн, хоріонічний гонадотропін (ХГТ).
3. Кардіологія (міоглобін).
4. Педіатрія (соматотропний гормон (СТГ), ТТГ).
5. Акушерство і гінекологія (лютеїнізуючий гормон (ЛГ), фолікулостимулюючий гормон (ФСГ).
6. Алергологія (Ig E).
7. Токсикологія (лікарські препарати).

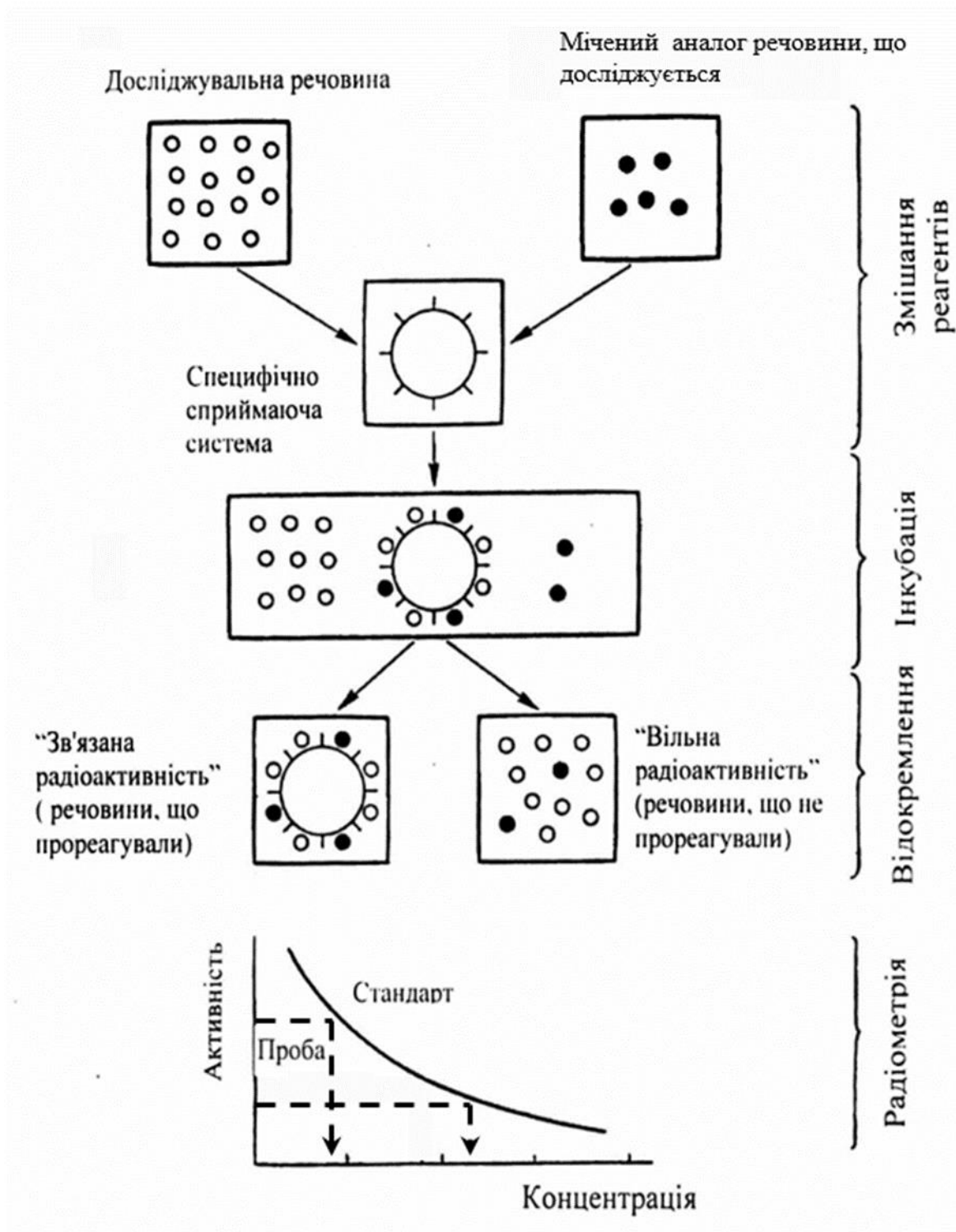


Рис. 2.1. Схема радіоімунного (радіоконкурентного) аналізу *in vitro*

2.1.2. Імуноферментний аналіз

У даний час ІФА-діагностика є найбільш часто використовуваним імунологічним методом у міських і районних лікарнях, поліклініках,

пологових будинках, установах санепіднагляду та інших мед установах [1, 5, 6, 7].

Сутність ІФА полягає у специфічній взаємодії антитіла та антигену з наступним приєднанням до отриманого комплексу кон'югата (антивидового імуноглобуліну, міченого ферментом). Фермент викликає розкладання хромогенного субстрату з утворенням забарвленого продукту, який виявляється або візуально, або фотометрично. Реєстрацію результатів реакції проводять на спеціальних фотометрах з вертикальним променем з певною довжиною хвилі. Результат виражають в одиницях оптичної щільності.

Існує безліч варіантів постановки ІФА, з яких найбільше практичне значення отримав гетерогенний твердофазний імуноферментний аналіз (Сендвіч-ІФА). В якості твердої фази у більшості комерційних діагностичних наборів використовують полістиролові 96-ти лункові планшети. Схема проведення аналізу представлена на рис. 2.2.

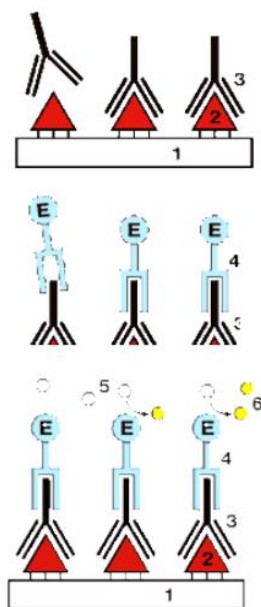


Рис. 2.2. Схема виявлення антигенів і антитіл за допомогою імуноферментного аналізу

I. У даній схемі специфічні **антигени** (2) пришиті до **пластика лунок** (1) планшета. У лунку додається досліджувана сироватка і, якщо у ній є **антитіла** (3) (ці антитіла називаються першими) до даних **антигенів** (2), то під

час інкубації відбувається взаємопізнання, у результаті якого утворюється принципово значущий зв'язок **антиген / антитіло** (2 / 3).

II. Після відмивання лунок від непов'язаних (а значить неспецифічних) субстанцій у кожен лунку додаються так звані **другі антитіла** (4). Вони впізнають людські антитіла певного типу (IgA, IgG, IgM). До цих других антитіл хімічно пришитий активний фермент (E). Таке комплексне з'єднання називається кон'югат. Під час інкубації відбувається взаєморозпізнавання перших і других антитіл, у результаті чого у лунці утворюється структура типу "сендвіч" (2 \ 3 \ 4).

III. Після відмивання кон'югата, що не зв'язався, у лунку додається безбарвний субстрат (5), на який діє фермент (E), у результаті чого субстрат перетворюється на пофарбований продукт (6).

IV. Кількість пофарбованого продукту вимірюється на фотометрі з певною довжиною хвилі. Отже, кількість кольорового продукту прямо пропорційна кількості ферменту у лунці, а значить і кількості кон'югата в "сендвічі". Час проведення аналізу складає від 1-го до 3-х годин.

Слід звернути увагу на те, що виявлення імуноглобулінів (IgM, IgG, IgA) вказує тільки на наявність збудника. Тому в деяких випадках імуноферментний аналіз може давати невірні результати - як неправдиві позитивні, так і неправдиві негативні. Проте, специфічність кращих тест-систем ІФА рекомбінованого типу на даний час наближається до 100%.

Разом з ферментами в якості міток для антигенів використовують флуоресціюючі з'єднання. У цьому випадку це дослідження називають флуоресцентно-імуноним аналізом (ФІА).

2.1.3. Методи математичної обробки даних в ІФА і РІА

Дані методи аналізу досить прості у виконанні. Проте в їх основі лежать складні біологічні і фізико-хімічні процеси, які впливають на характер

отримуваних даних і накладають певні обмеження на застосовність методів математичної обробки результатів [3, 4].

В ідеальному випадку *калібрувальна крива* (КК) повинна мати пряму лінійну залежність між величиною сигналу і концентрацією аналіта у пробі. Проте через обмежену кількість антитіл, субстрату ферментативної реакції, а також через обмеження робочого діапазону вимірювальної апаратури калібрувальні криві можуть мати різної міри спотворений вигляд (рис. 2.3). Залежність величини реєстрованого сигналу від концентрації аналіта у разі проведення РІА і ІФА практично завжди має тією чи іншою мірою нелінійний характер. Причини цього ховаються у природі аналізу.

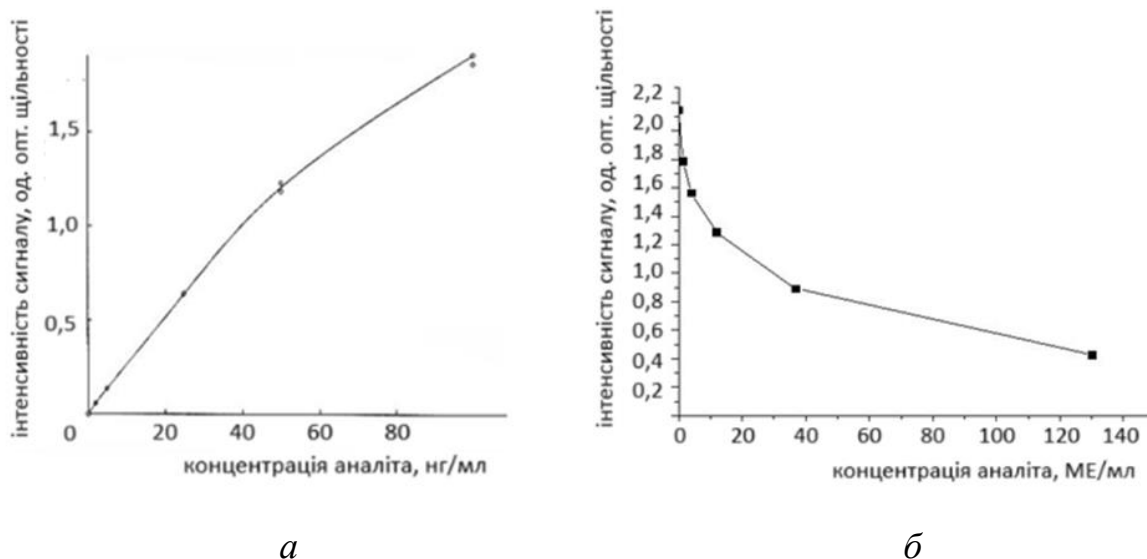


Рис. 2.3. Графік залежності інтенсивності сигналу від концентрації аналіта у наборі калібрувальних проб для типового сендвіч-ІФА (а) і типового конкурентного ІФА (б)

Процес побудови КК є завданням апроксимації залежності оптичної щільності або радіоактивного рахунку від концентрації аналіта у пробі. Припустимо, що нам відома залежність реєстрованого сигналу від концентрації аналіта за відсутності всіх неконтрольованих чинників і помилок - ідеальна теоретична КК. У реальному експерименті КК завжди відрізняється від "істинної" внаслідок прямих помилок і впливу чинників оточення, які

змінюються, на калібрувальні проби і проби пацієнтів. З екстраполяцією ми маємо справу у разі, коли треба визначити концентрацію аналіта у пробі, яка виходить за межі мінімальної або максимальної концентрації калібрувальних проб.

В залежності від методу апроксимації/інтерполяції/екстраполяції якісний вигляд КК може суттєво розрізнятися [4, 8]. Екстраполяції, що вище за значення останньої калібрувальної проби, можна уникнути, якщо аналізовану сироватку розводити так, щоб її значення потрапляло у динамічний діапазон аналізу. Проте цим способом можна користуватися тільки за умови, що в інструкції до набору дозволяється розводити сироватки, тобто виконується лінійність визначених за серійного розведення концентрацій аналіта. Екстраполяція, що нижче за першу калібрувальну точку, зазвичай вважається помилкою, навіть якщо програмне забезпечення дозволяє її здійснювати, і виключається з аналізу. На практиці зустрічаються випадки, коли програма видає негативні значення концентрації аналіта, що суперечить природі речей і здоровому глузду.

Якби в РІА і ІФА існувала лінійна залежність величини сигналу від концентрації в усьому діапазоні вимірювання, то це дозволило б позбавитися багатьох проблем, у тому числі і від суб'єктивності при побудові КК. Для візуального розширення лінійної області графіку і наступного спрощення процедури "побудови" графіку застосовують різні *перетворення осей*. Подібні перетворення називаються *лінеаризуючими*. Форму кривої можна модифікувати, міняючи масштаб концентрацій антигену, що відкладаються по осі абсцис. Масштаб може бути лінійним або логарифмічним (рис. 2.4 а, б). Лінійний масштаб використовується зазвичай при визначенні концентрації вимірюваної речовини у вузькому діапазоні. У широкому діапазоні за зміни концентрації антигену у калібрувальних пробах більш ніж на один порядок краще використовувати логарифмічну шкалу.

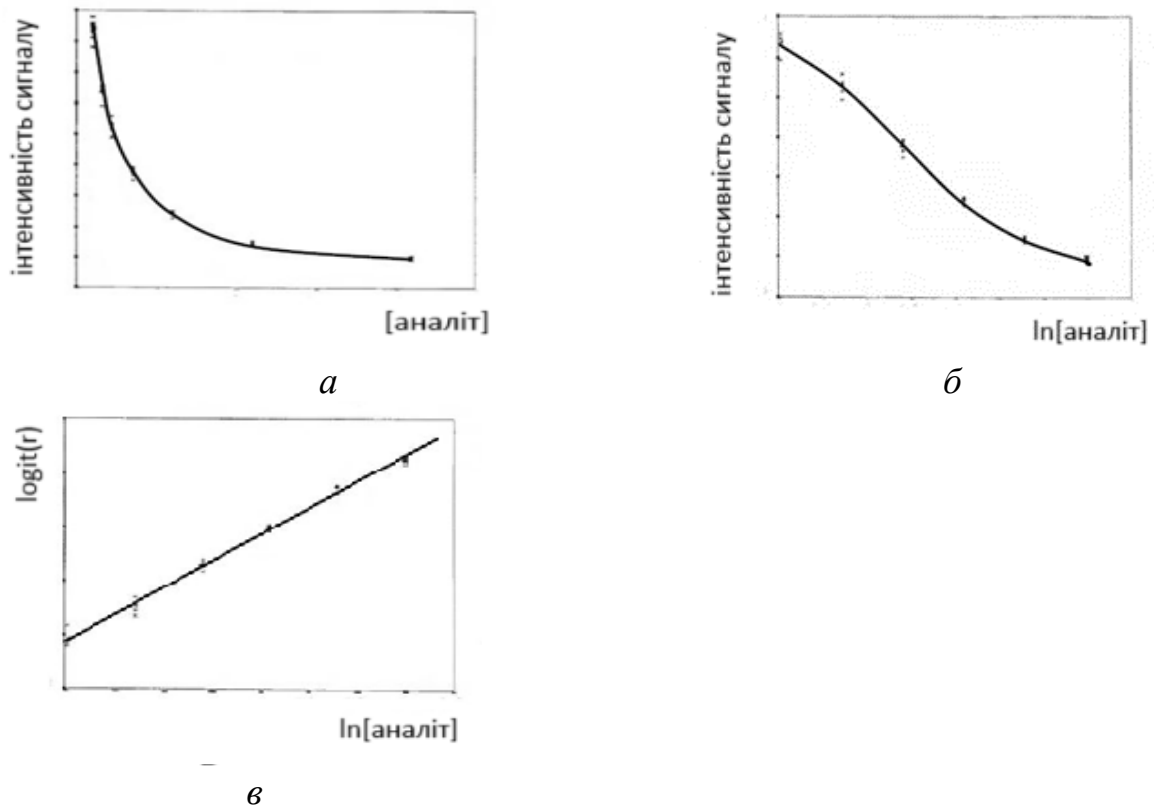


Рис. 2.4. Форма калібрувального графіку у конкурентному аналізі.

У залежності від масштабу осей криві стають більш лінійними (квазілінійними), що спрощує подальший аналіз:

а і б: на осі Y відкладена інтенсивність сигналу. *а:* на осі X - концентрація аналіта, *б:* по осі X – натуральні логарифми концентрацій аналіта. *в:* на осі X – натуральний логарифм концентрації, на осі Y – $\text{Logit}(r)$

На осі ординат також можуть відкладатися різні величини: виміряне значення оптичної щільності розчину чи швидкості радіоактивного рахунку, їх логарифми, відношення концентрацій або результати спеціальних складних перетворень. Прикладом такого спеціального лінеаризуючого перетворення служить запропоноване Родбардом перетворення Logit .

$$\text{Logit } r = \ln \frac{r}{1-r}$$

Інтенсивність сигналу як правило визначають у відносних одиницях або у відсотках щодо аналіта з нульовою концентрацією (B_0), тобто роблять нормування B/B_0 :

$$r = B / B_0.$$

Якщо r виражають у процентному співвідношенні, то Logit перетворення виглядає так:

$$\text{Logit } r' = \ln \frac{r}{100 - r}$$

За такого перетворення калібрувальний графік часто, хоча і не завжди, перетворюється практично у пряму лінію. На такому графіку можливі похибки окремих калібрувальних проб, які значно легше виявляються у разі візуальної оцінки якості КК.

У багатьох випадках застосування КК без додаткових математичних перетворень масштабу осей викликає ускладнення подальшого аналізу через велику крутизну кривої (рис. 2.4 а). Це перешкоджає точному геометричному визначенню низьких концентрацій аналіту. Якщо використовувати для побудови оригінальні значення сигналу і натуральні (чи десяткові) логарифми концентрацій, часто вдається добитися істотної лінеаризації калібрувального графіку (рис. 2.4 б). При цьому збільшується точність зчитування низьких концентрацій аналіта, оскільки ця область графіку як би "розтягується". Проте, на кінцях кривої все ще може спостерігатися відхилення від лінійності. Такий спосіб має істотний недолік: у точці B_0 (нульова концентрація аналіта) логарифмічна функція не визначена. Через це використовувати калібрувальну пробу з нульовою концентрацією для побудови КК неможливо. Отже, за необхідністю визначення концентрації у нижній частині динамічного діапазону у наборі калібраторів має бути присутньою калібрувальна проба з концентрацією, близькою до нуля. Для подолання цієї проблеми в алгоритмі програмного забезпечення може бути закладене штучне присвоєння

контрольної проби з нульовою концентрацією аналіта надмалого номіналу, наприклад 10^{-6} .

Використання *інтерполяційних* сплайнів для обробки результатів доцільне тільки у разі високої точності проведення дослідження. Проте розкид експериментальних значень зазвичай виходить досить великим. У цих умовах інтерполяційні сплайни відтворюють усі химерні осциляції, обумовлені випадковими похибками. У результаті спотворюється вигляд залежності, яка вивчається, та ускладнюється інтерпретація результатів дослідження. У цьому випадку доцільнішим є застосування підходу, що заснований на процедурі згладжування кривих. Це дозволяє зменшити елемент випадковості у результатах вимірів. Для цієї мети використовуються *згладжуючі* сплайни.

Слід уникати застосування сплайн-інтерполяції у тих випадках, коли характер зміни сигналу в конкретному аналізі має тенденцію до нерегулярності або немонотонності. Усі теоретичні методи побудови КК засновані на тому, що природа залежності сигналу від концентрації аналіта вважається відомою і може бути виражена у математичній формі. Внаслідок цього можна частково відкоригувати помилки у початкових даних конкретного аналізу, оскільки математичне представлення кривої різко обмежує число можливих конфігурацій, які ця крива може приймати. Недоліком методу є те, що математичні моделі засновані на спрощених молекулярно-кінетичних схемах імуноаналізу.

Найбільш поширеними функціями апроксимації калібрувальних точок для побудови КК є: лінійна апроксимація, квадратична і кубічна поліноміальна апроксимація, апроксимація і інтерполяція кубічним сплайном. Істотно рідше використовують кусково-лінійну інтерполяцію.

2.2. Завдання

2.1. Побудувати калібрувальну криву для радіоімунного набору гормону щитовидної залози Т4, задану значеннями, представленими в табл. 2.1.

Табл. 2.1. Вихідні дані: результати виміру значень
для калібрувальної кривої

Стандарт	Концентрація стандарту, моль/мл	Радіоактивний рахунок, імп. (за 60 с)		
		реплікат 1	реплікат 2	реплікат 3
B ₀	0	43100	44000	42000
B ₁	2,7	34931	35000	33000
B ₂	10	26991	27000	21000
B ₃	27	10695	11000	9000
B ₄	73	3590	3000	3400

2.2. Апроксимувати калібрувальну криву сплайн-функцією, лінійною залежністю, кубічним поліномом у чотирьох масштабах: lineX-lineY, lineX-logY, logX-lineY, logX-logY. Визначити концентрацію стандартів з модельної кривої, задаючи експериментальні дані їх радіоактивності.

2.3. За побудованими залежностями визначити концентрацію T4 у біологічній пробі, якщо швидкість радіоактивного рахунку проби має значення, наведені у табл. 2.2. Оцінити похибку визначення концентрації T4. Результати аналізу даних звести у табл. 2.3.

Табл. 2.2. Вихідні дані: результати вимірювання проб пацієнта

№ варіанта	№ біопроби пацієнтів	Реплікат 1	Реплікат 2
1	1	18018	18000
	2	26759	26000
	3	21409	30000
2	1	27373	27000
	2	5675	6000
	3	3000	2100
3	1	18927	19000
	2	13760	13000
	3	40000	41000
4	1	21793	21000
	2	15674	15000
	3	22040	2000
5	1	23363	20000
	2	19763	19000
	3	2000	2100
6	1	19658	20000
	2	22061	22000
	3	43000	50000
7	1	28676	28000
	2	10058	10000
	3	6655	6700
8	1	22043	22000
	2	16582	16000
	3	3000	2100
9	1	16582	17000
	2	27236	28000
	3	10655	1500
10	1	15508	15000
	2	25286	25000
	3	2000	2100

Табл. 2.3. Результати оцінки концентрації гормону Т4 у пробі пацієнта

Масштаб осей	Біопроба	Вид модельної функції		
		лінійна апроксимація	Інтерпол. кубічним сплайном	апроксимація кубічним поліномом
lineX-lineY	B ₁	M ± m		
	B ₂			
	B ₄			
	П ₁			
	П ₂			
	П ₃			
lineX-logY	B ₁			
	B ₂			
	B ₄			
	П ₁			
	П ₂			
	П ₃			
logX-lineY	B ₁			
	B ₂			
	B ₄			
	П ₁			
	П ₂			
	П ₃			
logX-logY	B ₁			
	B ₂			
	B ₄			
	П ₁			
	П ₂			
	П ₃			

2.3. Методичні вказівки

У разі виконання даної лабораторної роботи в системі Matlab доцільно використовувати наступні макрокоманди [9]:

1. $p = \text{polyfit}(x, y, n)$ - повертає вектор коефіцієнтів полінома $p(x)$ ступеня n , який з найменшою середньоквадратичною похибкою апроксимує $y(x)$. Результатом є вектор-рядок довжиною $n+1$, що містить коефіцієнти полінома у порядку зменшення степенів x .

2. $y1 = \text{polyval}(p, x1)$ - повертає значення полінома p , обчислені у точках, що задані у масиві $x1$.
3. $y2 = \text{spline}(x, y, x1)$ - повертає значення (вектор) кубічної сплайн-інтерполяції функції, що задана векторами x і y , у точках з аргументами, заданими у векторі $x1$.
4. $s3 = \text{csaps}(x, y)$ - повертає структуру кубічного сплайну, що заданий векторами x та y .
5. $sx = \text{roots}(p)$ - повертає вектор-стовпець, чий елементи є коренями полінома p .
6. $r = \text{fnzeros}(s3)$ - повертає корені сплайну, що заданий структурою $s3$.

Контрольні питання

1. Суть конкурентного аналізу.
2. Яку фізичну величину вимірюють у разі проведення ІФА, РІА, ФІА і які у цьому випадку використовуються прилади?
3. Як оцінити якість проведеного аналізу?
4. Що таке зважена апроксимація?
5. Що таке білки?
6. Що таке ферменти?
7. Чим визначається специфічність ферментів?

Список рекомендованої літератури:

1. Павлов С. В. Біохімічні методи. Імуноферментний аналіз, радіоімунний аналіз, хемілюмінесцентний аналіз [Електронний ресурс] : презентація лекції / С. В. Павлов. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. – 55 с. – URL: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/8161>
2. Вибрані лекції з радіонуклідної діагностики та променевої терапії /за ред. проф.. А.П. Лазара. „Нова книга”, Вінниця, 2006. – 197с..

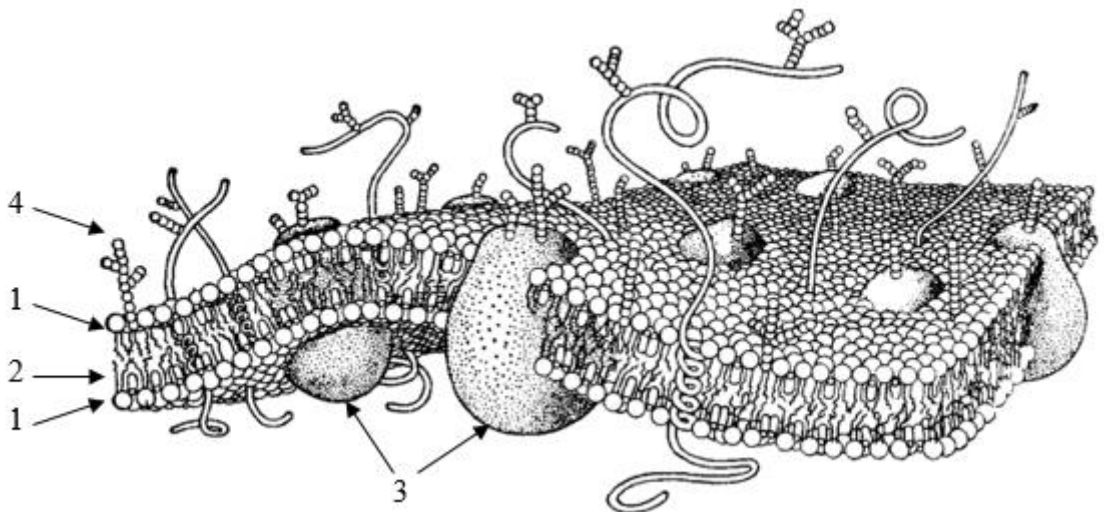
3. Elsheikh, H.M., Fathy, S.AH., Ebeid, N.H. et al. Development of radioimmunoassay system for determination of human chorionic gonadotropin in human sera. J Radioanal Nucl Chem 332, 581–590 (2023). <https://doi.org/10.1007/s10967-023-08797-5>
4. Fernandez, A A; Stevenson, G W; Abraham, G E; Chiamori, N Y . (1983). Interrelations of the various mathematical approaches to radioimmunoassay.. Clinical Chemistry, 29(2), 284–289. doi:10.1093/clinchem/29.2.284
5. Wikipedia: ELISA – URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/ELISA>
6. Nummer, Stephanie A.; Weeden, Alexandra J.; Shaw, Chloe; Snyder, Brenda K.; Bridgeman, Thomas B.; Qian, Song S. . (2018). Updating the ELISA standard curve fitting process to reduce uncertainty in estimated microcystin concentrations. MethodsX, 5, 304–311. –doi:10.1016/j.mex.2018.03.011
7. Good ELISA Practice. Manual. R-Biopharm – URL: https://food.r-biopharm.com/wp-content/uploads/2021/03/good_elisa_practice_manual_en_2020-06.pdf
8. Geoff Jones; Emily Kawabata. (2012). A restricted b-spline basis for S-shaped calibration curves. , 26(7) – doi:10.1002/cem.2457.
9. Сплайн-функції та їх застосування / Б.П. Довгий, А.В. Ловеїкін, Є.С. Вакал, Ю.Є. Вакал. – К.:Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет”, 2016. – 117 с. – Режим доступу: https://mp.mechmat.knu.ua/images/library/Dovhyi_Loveikin_Vakal_Vakal_2016_Spline_Tutor.pdf.

Лабораторна робота № 3. МОДЕЛЮВАННЯ ПОТЕНЦІАЛУ СПОКОЮ МЕМБРАНИ КЛІТИНИ

Мета роботи: вивчення впливу іонного складу внутрішньо- та позаклітинного середовища, а також проникності мембрани на величину потенціалу спокою мембрани.

3.1. Теоретичні відомості

Клітини живих організмів оточені плазматичною мембраною завтовшки приблизно 6-10 нм (рис. 3.1), головна функція якої полягає в управлінні переходом речовин (іонів і молекул) у клітину і з неї [1-5]. До складу мембрани входять ліпіди та білкові компоненти. Молекули ліпідів розташовані упорядковано — перпендикулярно до поверхні, у два шари, так, що полярні голівки, які мають гідрофільні властивості, спрямовані назовні, а неполярні вуглеводневі хвости, які мають гідрофобні властивості, спрямовані всередину мембрани. Ліпідний шар мембрани ефективно перешкоджає процесу вільного проходження іонів крізь мембрану.



*Рис. 3.1. Будова клітинної мембрани:
1 — гідрофільні голівки ліпідів, 2 — гідрофобні частини молекул ліпідів,
3 — молекули білків, 4 — молекули вуглеводів*

Гідрофобні хвости утворюють внутрішню структуру мембрани, яка поводить себе, як діелектрик із відносною діелектричною проникністю $\epsilon \approx 3$ завтовшки d приблизно 30\AA . Оцінимо питому ємність такої структури:

$$C_m = \frac{\epsilon\epsilon_0}{d} = \frac{3 \cdot 8.85 \cdot 10^{-12} \frac{\Phi}{\text{м}}}{30 \cdot 10^{-10} \text{м}} = 8.85 \cdot 10^{-3} \frac{\Phi}{\text{м}^2} = 0.885 \frac{\text{мкФ}}{\text{см}^2} \approx 1 \frac{\text{мкФ}}{\text{см}^2}.$$

Отримане значення виявляється досить прийнятною оцінкою майже для всіх збудливих мембран.

У функції мембранних білків входить формування каналів, завдяки яким може відбуватися обмін іонами між внутрішньо- і позаклітинним середовищем. Частина білків занурена у ліпідний шар, а деякі з них пронизують мембрану наскрізь, як, наприклад, транспортні білки, що беруть участь у перенесенні іонів натрію та калію. Вважається, що білки не закріплені у мембрані нерухомо, а мають деяку свободу переміщення.

У нерві і м'язі електрична активація пов'язана з рухом натрію, калію та інших іонів крізь іонні канали мембрани [1-3]. Білки не лише полегшують проходження кожного з іонів, але й управляють їхніми потоками, зумовлюючи вибірккову проникність мембрани.

Наявність потенціалу спокою мембрани зумовлена двома чинниками:

- різною концентрацією іонів у внутрішньо- і позаклітинному середовищі;
- вибірковою проникністю мембрани для різних іонів.

У всіх збудливих клітинах концентрація внутрішньоклітинного калію набагато перевищує концентрацію калію поза клітиною, а позаклітинні концентрації натрію і хлору набагато більше їхніх внутрішньоклітинних концентрацій.

Нерівність концентрацій іонів у внутрішньо- і позаклітинному просторі спричиняє дифузію іонів з області високої концентрації в область низької

концентрації. Швидкість дифузії залежить від різниці концентрацій і проникності мембрани.

Оскільки іони несуть електричні заряди, а мембрана характеризується певною електричною ємністю, заряди накопичуються, що призводить до виникнення різниці потенціалів на мембрані. Ця різниця потенціалів створює у товщі мембрани електричне поле, яке породжує сили, що діють на всі заряджені частинки всередині мембрани.

Отже, повний струм іонів крізь мембрану має дифузійну і дрейфову складові. Відповідно до закону Фіка, дифузійна складова щільності струму іонів має вигляд:

$$\vec{J}_{\text{диф}} = -ZD \vec{\nabla}N,$$

де Z — заряд іона, D — коефіцієнт дифузії, N — концентрація іонів як функція координат.

Дрейфову складову щільності струму іонів можна виразити як:

$$\vec{J}_{\text{др}} = ZN\vec{v}_{\text{др}} = ZN\mu\vec{E} = -ZN\mu\vec{\nabla}\phi,$$

де $\vec{v}_{\text{др}}$ — дрейфова швидкість іонів, μ — рухливість; \vec{E} , ϕ — відповідно напруженість і потенціал електричного поля всередині мембрани..

Тоді повна щільність іонного струму крізь мембрану може бути знайдена за формулою:

$$\vec{J} = \vec{J}_{\text{диф}} + \vec{J}_{\text{др}} = -ZD\vec{\nabla}N - ZN\mu\vec{\nabla}\phi.$$

У стані термодинамічної рівноваги повний іонний струм дорівнює нулю, тому:

$$D\vec{\nabla}N + N\mu\vec{\nabla}\phi = 0.$$

Оскільки в електричному полі іони здобувають енергію $W = Z\phi$, тоді з урахуванням того, що розподіл іонів за енергіями підкоряється статистиці Максвелла-Больцмана, одержимо:

$$N = N_0 e^{-\frac{W}{kT}} = N_0 e^{-\frac{Z\varphi}{kT}},$$

де N_0 — концентрація іонів за відсутності електричного поля, k — постійна Больцмана, T — температура. Використовуючи останні вирази, знайдемо градієнт концентрації іонів $\vec{\nabla}N$ через градієнт потенціалу $\vec{\nabla}\varphi$:

$$\vec{\nabla}N = -\frac{Z}{kT} N_0 e^{-\frac{Z\varphi}{kT}} \vec{\nabla}\varphi = -\frac{ZN}{kT} \vec{\nabla}\varphi.$$

Підставляючи отриманий вираз у рівняння повного струму, за умови термодинамічної рівноваги, одержимо:

$$-\frac{ZDN}{kT} \vec{\nabla}\varphi + N\mu \vec{\nabla}\varphi = 0.$$

Звідки маємо:

$$D = \mu \frac{kT}{Z} = \mu \varphi_T \frac{q}{Z}, \text{ або } \mu = \frac{D}{\varphi_T} \frac{Z}{q},$$

де $\varphi_T = kT/q$ — тепловий потенціал, q — заряд електрона. Останнє співвідношення відоме, як співвідношення Ейнштейна.

Підставляючи співвідношення Ейнштейна у рівняння для повної щільності іонного струму, одержимо:

$$\vec{J} = -ZD \left(\vec{\nabla}N + \frac{Z}{q} \frac{N}{\varphi_T} \vec{\nabla}\varphi \right).$$

Рівняння вище називають рівнянням Нернста-Планка. Застосуємо його для одержання кількісних оцінок потенціалу мембрани на прикладі модельної задачі.

Нехай є певний об'єм, який заповнений електролітом та розділений проникною мембраною на дві частини: i та e (рис. 3.2). Припустимо, що концентрація катіона C^+ у частині i N_{ci} перевищує його концентрацію N_{ce} у частині e . Припустимо також, що мембрана непроникна для аніона A^- . У такій ситуації катіон C^+ буде дифундувати з області i в область e . Однак аніон A^- з області i в область e дифундувати не може.

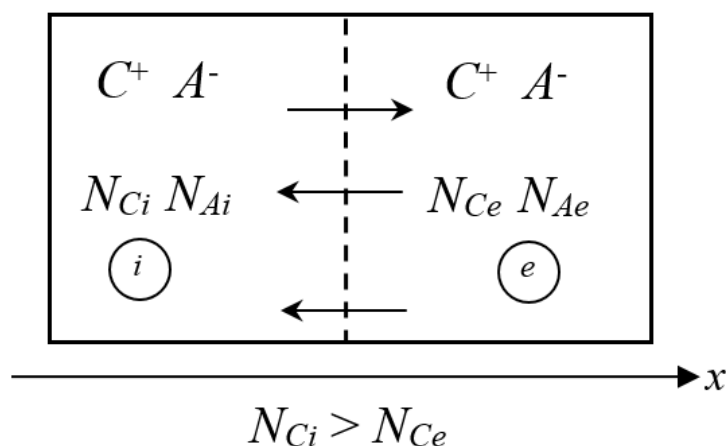


Рис. 3.2. Спрощена модель мембрани, що розділяє електроліти з різними іонними концентраціями

Дифузія веде до накопичення позитивного заряду в області e (електростатичні сили змушують цей заряд утримуватися на мембрані) та залишає в області i надлишок негативного заряду, який завдяки електростатичним силам збирається на мембрані з лівої сторони. Це призводить до утворення електричного поля, що спрямоване від e до i та зростає за величиною пропорційною дифузії іонів C^+ з області i в область e . Зростаюче електричне поле все більш заважає дифузії, доки сумарна дифузія не припиняється зовсім і не настає стан рівноваги.

У рівновазі сила електричного поля (спрямована вліво) повністю компенсує дифузійну силу (спрямовану вправо). За цих умов із рівняння Нернста-Планка одержуємо:

$$\vec{J} = -D_c Z \left(\vec{\nabla} N_c + \frac{Z N_c}{q \Phi_r} \vec{\nabla} \Phi \right) = 0,$$

де D_c — коефіцієнт дифузії катіонів, N_c — концентрація катіонів.

Звідки маємо:

$$\vec{\nabla} N_c = -\frac{Z N_c}{q \Phi_r} \vec{\nabla} \Phi.$$

Припустимо, що всі величини змінюються тільки за напрямком x перпендикулярно до мембрани. Тоді:

$$\frac{dN_c}{dx} = -\frac{Z N_c}{q \varphi_T} \frac{d\varphi}{dx},$$

або

$$\frac{dN_c}{N_c} = -\frac{Z}{q \varphi_T} d\varphi.$$

Інтегруючи за товщиною мембрани від області i до області e , одержимо:

$$\int_{N_{Ci}}^{N_{Ce}} \frac{dN_c}{N_c} = -\frac{Z}{q \varphi_T} \int_{\varphi_i}^{\varphi_e} d\varphi,$$

або

$$\ln \frac{N_{Ce}}{N_{Ci}} = -\frac{Z}{q \varphi_T} (\varphi_e - \varphi_i).$$

Для біологічних клітин потенціал мембрани прийнято визначати як різницю внутрішнього та зовнішнього потенціалів. Отже, різниця потенціалів на мембрані U_m дорівнює:

$$U_m = \varphi_i - \varphi_e = \varphi_T \frac{q}{Z} \ln \frac{N_{Ce}}{N_{Ci}}.$$

Отримане значення потенціалу мембрани називають потенціалом Нернста [4-6]. Його можна інтерпретувати як потенціал, за якого іон сорту C перебуває у рівновазі з діючою на нього дифузійною силою.

Для того, щоби підкреслити, що отриманий вираз для потенціалу Нернста відповідає катіонам, перепишемо останнє рівняння у вигляді:

$$U_C = \varphi_T \frac{q}{|Z|} \ln \frac{N_{Ce}}{N_{Ci}} \quad (3.1)$$

Аналогічно можна розв'язати рівняння Нернста-Планка, якщо припустити, що мембрана проникна для аніонів A^- , але непроникна для катіона C^+ . З огляду на те, що для аніонів $Z < 0$, одержимо:

$$U_A = \varphi_T \frac{q}{|Z|} \ln \frac{N_{Ai}}{N_{Ae}} \quad (3.2)$$

де N_{Ai} — концентрація аніонів в області i , N_{Ae} — концентрація аніонів в області e .

Не варто ототожнювати потенціали Нернста з потенціалом на мембрані U_m . Вони збігаються лише у розглянутій модельній задачі. У реальних клітинах потенціал мембрани є зваженою сумою потенціалів Нернста для різних іонів. Вагові коефіцієнти у цій сумі залежать від того, наскільки мембрана здатна пропускати через себе відповідний сорт іонів. Якщо потенціал на мембрані близький до потенціалу Нернста для якогось типу іонів, то це означає, що для цих іонів дрейфові сили врівноважують дифузійні. А якщо ні, то дифузійні та дрейфові сили не врівноважені й рівновага у системі досягається тільки завдяки тому, що мембрана виявляється непроникною (точніше слабко проникною) для цього сорту іонів.

Для врахування впливу кінцевих проникностей мембрани для різних сортів іонів на потенціал мембрани необхідно розв'язати рівняння Нернста-Планка з урахуванням процесів у мембрані. Однак труднощі застосування рівняння Нернста-Планка до біологічних мембран полягають у тому, що зміни величин N або ϕ усередині мембрани невідомі й залежать від існуючих просторових електричних зарядів. Однак оскільки мембрана тонка, у якості прийняттого наближення можна обрати лінійний закон зміни потенціалу ϕ всередині мембрани (тобто вважати, що напруженість електричного поля постійна вздовж мембрани) (рис. 3.3). Це припущення було використано Голдманом, щоби проінтегрувати рівняння Нернста-Планка.

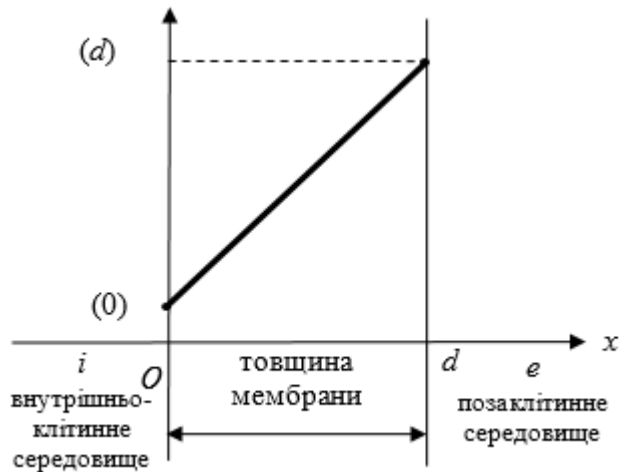


Рис. 3.3. Лінійний закон зміни потенціалу всередині мембрани

В одновимірному випадку:

$$\frac{d\varphi}{dx} = \frac{\varphi(d) - \varphi(0)}{d} = -\frac{U_m}{d} .$$

Враховуючи останнє співвідношення, проведемо аналіз, наприклад, для іонів калію. Рівняння Нернста-Планка у цьому випадку буде мати вигляд:

$$J_K = -D_K q \left(\frac{dN_K}{dx} - \frac{N_K}{\varphi_T} \frac{U_m}{d} \right) ,$$

або

$$\frac{dN_K}{dx} = -\frac{J_K}{D_K q} + \frac{N_K}{\varphi_T} \frac{U_m}{d} ,$$

звідки

$$\frac{dN_K}{-\frac{J_K}{D_K q} + \frac{N_K U_m}{\varphi_T d}} = dx .$$

Розглядаючи стаціонарний процес, для якого $J_K = \text{const}$, проведемо інтегрування останнього виразу від $x = 0$ до $x = d$. Отримаємо:

$$\frac{\varphi_T d}{U_m} \ln \left(\frac{\frac{U_m}{\varphi_T d} N_K(d) - \frac{J_K}{D_K q}}{\frac{U_m}{\varphi_T d} N_K(0) - \frac{J_K}{D_K q}} \right) = d$$

Вираз відносно J_K запишеться як:

$$J_K = \frac{q D_K U_m}{\varphi_T d} \frac{N_K(d) - N_K(0) e^{\frac{U_m}{\varphi_T}}}{1 - e^{\frac{U_m}{\varphi_T}}}.$$

В останньому рівнянні під $N_K(d)$ і $N_K(0)$ розуміють внутрішньомембранні концентрації. Вони пов'язані з концентрацією калію у загальному об'ємному середовищі за допомогою коефіцієнту пропускання β_K . Припустимо, що коефіцієнти β_K на обох поверхнях розділу однакові. Тоді маємо

$$N_K(d) = \beta_K [K]_e, N_K(0) = \beta_K [K]_i,$$

де $[K]_i$, $[K]_e$ — внутрішньо- та позаклітинна концентрації іонів калію.

Визначимо проникність мембрани для калію p_K як:

$$p_K = \frac{D_K \beta_K}{d}.$$

Тоді рівняння для щільності струму іонів калію через мембрану буде мати вигляд:

$$J_K = q p_K \frac{U_m}{\varphi_T} \frac{[K]_e - [K]_i e^{\frac{U_m}{\varphi_T}}}{1 - e^{\frac{U_m}{\varphi_T}}}.$$

Аналогічні вирази можна одержати для J_{Na} , J_{Cl} — щільностей струмів іонів натрію та хлору. Повна щільність іонного струму дорівнює сумі окремих іонних компонентів $J = J_K + J_{Na} + J_{Cl}$.

Підставляючи вирази для кожної іонної компоненти, отримаємо:

$$J = q \frac{U_m}{\varphi_T} \frac{p_K [K]_e + p_{Na} [Na]_e + p_{Cl} [Cl]_i - (p_K [K]_i + p_{Na} [Na]_i + p_{Cl} [Cl]_e) \cdot e^{\frac{U_m}{\varphi_T}}}{1 - e^{\frac{U_m}{\varphi_T}}},$$

де $[Na]_i$, $[Na]_e$ — внутрішньо- та позаклітинна концентрації іонів натрію, а $[Cl]_i$, $[Cl]_e$ — внутрішньо- та позаклітинна концентрації іонів хлору.

У загальному випадку біологічна мембрана не може бути у рівновазі для всіх іонів. Якщо обчислити потенціали Нернста для іонів K^+ , Na^+ , Cl^- за умови їхніх звичайних концентрацій, то отримані величини виявляться різними. Отже, жоден мембранний потенціал Нернста не може одночасно врівноважити всі іони. Мембранний потенціал спокою може бути знайдений з умови рівноваги $J = 0$, отже отримаємо:

$$p_K[K]_e + p_{Na}[Na]_e + p_{Cl}[Cl]_i - (p_K[K]_i + p_{Na}[Na]_i + p_{Cl}[Cl]_e) \cdot e^{\frac{U_m}{\phi_r}} = 0.$$

Виразивши з рівняння напругу на мембрані U_m , одержимо:

$$U_m = \phi_r \ln \left[\frac{p_K[K]_e + p_{Na}[Na]_e + p_{Cl}[Cl]_i}{p_K[K]_i + p_{Na}[Na]_i + p_{Cl}[Cl]_e} \right] \quad (3.3)$$

Ця формула називається рівнянням Голдмана. З неї випливає, що мембранний потенціал не залежить від абсолютних значень проникностей мембрани для різних іонів, а залежить тільки від їхнього співвідношення $p_K : p_{Na} : p_{Cl}$.

З рівняння Голдмана можна зробити висновок, що якщо мембрана проникна тільки для одного виду іонів (наприклад, $p_K \gg p_{Na}$ і $p_K \gg p_{Cl}$), тоді мембранний потенціал дорівнює потенціалу Нернста для того виду іонів, для якого проникна мембрана (наприклад, іонів K^+).

З рівняння для повного іонного струму випливає, що зв'язок між струмом і мембранним потенціалом є сильно нелінійним. Тому диференціальна провідність мембрани $G_{diff} = dJ/dU_m$ не є постійною та відрізняється від статичної провідності $G_{cm} = J/U_m$.

У створенні потенціалу спокою вплив іона хлору в порівнянні з впливом іона калію є другорядним. Це пов'язане з тим, що внутрішньоклітинна концентрація хлору дуже мала та у разі малого притоку або відтоку іонів зазнає більших відносних змін. Отже, можна чекати, що рух іонів хлору буде

приводити його концентрації за обома сторонами мембрани до практично фіксованих відношень концентрацій іона калію, тобто буде спрямований на вирівнювання потенціалів Нернста. Тому в багатьох практичних задачах можна припустити, що іони хлору перебувають у рівновазі або відсутні. У цьому випадку:

$$U_m \approx \varphi_T \ln \frac{[K]_e + \alpha[Na]_e}{[K]_i + \alpha[Na]_i} \quad (3.4)$$

де $\alpha = \frac{P_{Na}}{P_K}$.

Припущення щодо наявності незалежних провідних іонних каналів дає змогу побудувати схемотехнічну модель мембрани [1-3], відому як модель паралельних провідностей (рис. 3.4). Кожна з ланок електричного кола відображає внесок одного виду іонів у загальний мембранний струм.

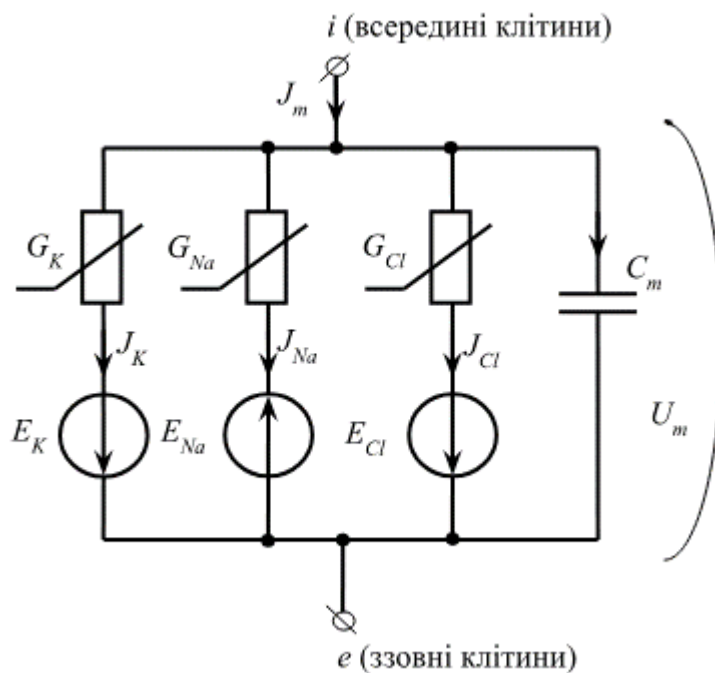


Рис. 3.4. Модель паралельних провідностей для мембрани клітини з незалежними провідними каналами для іонів K^+ , Na^+ , Cl^- .

Джерела напруги еквівалентної схеми мембрани моделюють потенціали Нернста для кожного типу іонів. Їхня електрорушійна сила (ЕРС) визначається за формулою Нернста:

$$\begin{aligned}
E_K &= -\varphi_r \ln \frac{[K]_e}{[K]_i} \\
E_{Na} &= \varphi_r \ln \frac{[Na]_e}{[Na]_i} \\
E_{Cl} &= -\varphi_r \ln \frac{[Cl]_i}{[Cl]_e}
\end{aligned}
\tag{3.5}$$

Різні полярності джерел напруги відображають той факт, що потенціали Нернста для калію та хлору є від'ємними, а потенціал Нернста для натрію — додатнім.

Якщо потенціал мембрани дорівнює U_m , то результуюча рушійна сила для калію буде дорівнювати $U_m + E_K$, що відповідає відхиленню від стану рівноваги. Тоді щільність калієвого струму J_K дорівнює $J_K = G_K(U_m + E_K)$, де G_K — калієва провідність.

Якщо напруга на мембрані U_m — від'ємна за величиною та $|U_m| < E_K$, то спрямовані назовні дифузійні сили не повністю врівноважуються електричним полем. У результаті виникає некомпенсований потік калію назовні.

Аналогічно для іона хлору одержимо: $J_{Cl} = G_{Cl}(U_m + E_{Cl})$. Якщо $U_m < 0$ і $|U_m| < E_{Cl}$, то дифузія хлору не врівноважується повністю й виникає некомпенсований потік іонів, що спрямований всередину клітини. Оскільки цей потік складається з іонів із від'ємним зарядом, він створює електричний струм, спрямований назовні.

Для іона натрію маємо: $J_{Na} = G_{Na}(U_m - E_{Na})$.

Останньою складовою мембранного струму є ємнісний струм (струм зміщення): $J_C = C_m(dU_m/dt)$. Тоді повний мембранний струм дорівнює:

$$J = G_K(U_m + E_K) + G_{Na}(U_m - E_{Na}) + G_{Cl}(U_m + E_{Cl}) + C_m \frac{dU_m}{dt} .$$

За умови рівноваги $J = 0$ та $\frac{dU_m}{dt} = 0$. Звідки отримаємо:

$$U_m = \frac{G_{Na}E_{Na} - G_K E_K - G_{Cl}E_{Cl}}{G_{Na} + G_K + G_{Cl}} \quad (3.6)$$

Це рівняння відоме як рівняння паралельних провідностей (порівняйте його з рівнянням Голдмана). Відповідно до нього U_m є зваженим середнім величин E_K , E_{Na} , E_{Cl} , що залежить від відносних провідностей. Цей вираз є вірним тільки для стаціонарних умов.

Оскільки роль іонів калію та натрію у біоелектричних процесах є першорядною, то у багатьох практичних задачах вплив інших іонів враховується введенням у модель паралельних провідностей єдиного кола, що складається із джерела напруги E_l і провідності G_l (рис. 3.5). Це ж коло враховує струми витоку через мембрану.

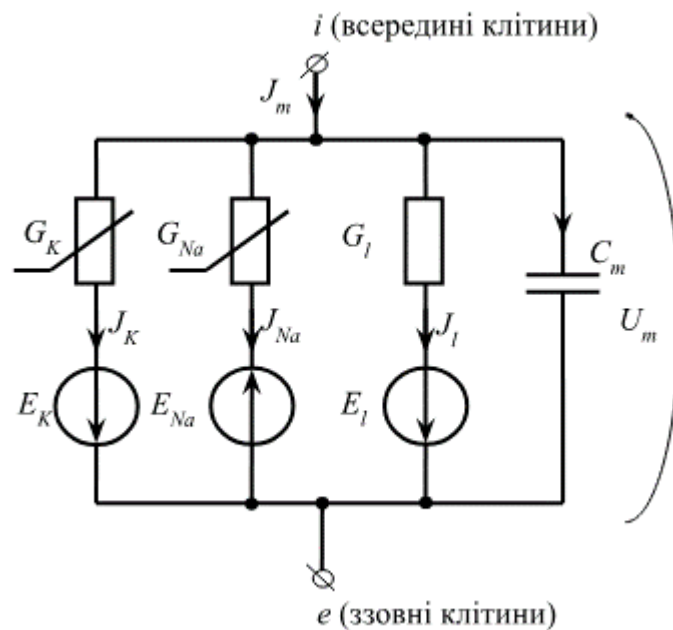


Рис. 3.5. Модель паралельних провідностей для мембрани клітини з незалежними провідними каналами для іонів K^+ , Na^+

Потенціал на мембрані для схеми з рис. 3.5 розраховується за формулою:

$$U_m = \frac{G_{Na}E_{Na} - G_K E_K - G_l E_l}{G_{Na} + G_K + G_l} \quad (3.7)$$

3.2. Робоче завдання

1. Для заданих у таблиці 3.1 внутрішньо- та позаклітинних концентрацій іонів, а також відносних проникностей іонів розрахувати потенціали Нернста для іонів калію та натрію за формулою і потенціал мембрани за формулою Голдмана (3.3).

2. Знайти таку концентрацію іонів хлору всередині клітини, за якої іон хлору перебуває у рівновазі. Врахувати, що потенціал Нернста для іонів хлору дорівнює потенціалу на мембрані. Для знайденого значення внутрішньоклітинної концентрації хлору знайти потенціал мембрани за формулою Голдмана (3.3). Порівняти його з результатом, отриманим за формулою (3.4).

3. Розрахувати та побудувати графічно залежність мембранного потенціалу, розрахованого за формулою Голдмана (3.4) та потенціалу Нернста для калію від концентрації іонів калію всередині клітини. Межі зміни внутрішньоклітинної концентрації іонів калію: $[K]_e \dots 2[K]_i$. Значення $[K]_e$ та $[K]_i$ наведені у таблиці 3.1.

4. Розрахувати та побудувати графічно залежність мембранного потенціалу, розрахованого за формулою Голдмана (3.4), та потенціалу Нернста для натрію від концентрації іонів натрію поза клітиною. Межі зміни позаклітинної концентрації іонів натрію: $[Na]_i \dots 2[Na]_e$. Значення $[Na]_i$ і $[Na]_e$ наведені у таблиці 3.1.

5. Розрахувати та побудувати графічно залежність мембранного потенціалу, розрахованого за формулою Голдмана (3.4), від відношення проникностей іонів калію та натрію. Межі зміни відносних проникностей іонів калію й натрію: 0.01...100.

6. Для заданих внутрішньо- і позаклітинних концентрацій іонів, а також для розрахованої у пункті 2 напруги на мембрані ідентифікувати параметри моделі паралельних провідностей. Для цього потрібно задати значення G_K ,

G_{Na} , G_l , прийнявши, що їхнє відношення дорівнює відношенню проникностей, та знайти напругу джерела E_l .

7. Використовуючи модель паралельних провідностей із параметрами, ідентифікованими у пункті 6, розрахувати та побудувати графічно залежність мембранного потенціалу, розрахованого за формулою паралельних провідностей (3.7) від концентрації іонів калію всередині клітини. Порівняти результати з залежностями, отриманими у пункті 3.

8. Розрахувати та побудувати графічно залежність мембранного потенціалу, розрахованого за формулою паралельних провідностей (3.7), від концентрації іонів натрію поза клітиною. Порівняти результати з залежностями, отриманими у пункті 4.

9. Розрахувати та побудувати графічно залежність мембранного потенціалу, розрахованого за формулою паралельних провідностей (3.7), від відношення провідностей іонів калію й натрію. Порівняти результати з залежностями, отриманими у пункті 5.

Таблиця 3.1. Варіанти завдань

Варіант	$[K]_i$, мМоль/л	$[K]_e$, мМоль/л	$[Na]_i$, мМоль/л	$[Na]_e$, мМоль/л	$[Cl]_i$, мМоль/л	$[Cl]_e$, мМоль/л	$p_K: p_{Na}: p_{Cl}$
1	400	50	10	500	40	600	1:0,01:0,5
2	130	2	4	120	1,4	90	1:0,008:0,45
3	200	30	8	400	10	350	1:0,01:0,4
4	180	5	4	160	8	280	1:0,006:0,55
5	350	30	6	400	30	450	1:0,004:0,6
6	160	3	7	220	2	120	1:0,006:0,35
7	280	20	10	320	6	310	1:0,007:0,5
8	220	8	3	140	12	320	1:0,015:0,55
9	300	15	10	450	20	400	1:0,009:0,3

Контрольні питання

1. Яким є іонний склад всередині та поза клітиною?
2. Поясніть явище селективної проникності біомембран.
3. Який вигляд має співвідношення для іонів калію у м'язових та нервових клітинах між внутрішньоклітинною концентрацією $[K]_i$ та позаклітинною концентрацією $[K]_e$?
4. Який вигляд має співвідношення для іонів натрію у м'язових та нервових клітинах між внутрішньоклітинною концентрацією $[Na]_i$ та позаклітинною концентрацією $[Na]_e$?
5. Наведіть вираз, який описує закон Фіка для пасивного транспорту речовини через мембрану.
6. Наведіть електродифузійне рівняння Нернста-Планка.
7. Дайте визначення потенціала Нернста.
8. Наведіть рівняння Голдмана.
9. Поясніть природу потенціалу спокою. Від яких факторів він залежить?
10. Як зміниться потенціал спокою мембрани клітини, якщо:
 - внутрішньоклітинна концентрація для іонів $[Na]_i$ збільшиться (зменшиться);
 - позаклітинна концентрація для іонів $[Na]_e$ збільшиться (зменшиться);
 - внутрішньоклітинна концентрація для іонів $[K]_i$ збільшиться (зменшиться);
 - позаклітинна концентрація для іонів $[K]_e$ збільшиться (зменшиться);
 - внутрішньоклітинна концентрація для іонів $[Cl]_i$ збільшиться (зменшиться);
 - позаклітинна концентрація для іонів $[Cl]_e$ збільшиться (зменшиться);
 - проникність для іонів K збільшиться (зменшиться);
 - проникність для іонів Na збільшиться (зменшиться)?
11. За якими рівняннями визначається величина потенціалу спокою?

12. Модель паралельних провідностей.

13. Наведіть рівняння паралельних провідностей.

Список рекомендованої літератури

1. Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси. Конспект лекцій. [Електронний ресурс]: навч. посіб. для студ. спеціальності 153 «Мікро- та наносистемна техніка», освітньої програми «Електронні мікро- і наносистеми та технології» / КПІ ім. Ігоря Сікорського; уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько, Ю.В. Прокопенко — Електронні текстові данні (1 файл: 4 580 Кбайт). — Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. — 121 с.
2. Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси: конспект лекцій для студ. спец. 8.05080102 — фізична та біомедична електроніка / Уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько, Ю.В. Прокопенко. — К., 2016. — 115 с.
3. Plonsey R. Bioelectricity. A Quantitative Approach / R . Plonsey, R. Barr; Third Edition. — Springer, 2007. — 528 p.
1. Кузьмінський Є. В. Біофізика / Є. В. Кузьмінський, Н. Б. Голуб. — К.: Комп'ютерпрес, 2007. — 421 с.
2. Медична і біологічна фізика. Навчальний посібник/ Е.І. Сливко, О.З. Мельнікова, О.З.Іванченко, Н.С. Біляк. — Запоріжжя, 2018. — 291 с.
3. Костюк П.Г. (ред.) Біофізика. Підручник / П. Г. Костюк, В. Л. Зима, І. С. Магура та ін. — К.: Обереги, 2001. — 544 с.

Лабораторна робота №4. МОДЕЛЮВАННЯ ПОТЕНЦІАЛУ ДІЇ КЛІТИНИ

Мета роботи: вивчення основних механізмів та біофізичних процесів виникнення потенціалу дії біологічної мембрани.

4.1. Теоретичні відомості

Мембранний потенціал у довільний момент часу можна представити рівнянням [1]:

$$U_m(t) = U_{m0} + u_m(t), \quad (4.1)$$

де $u_m(t)$ — змінна складова мембранного потенціалу, U_{m0} — потенціал спокою, що визначається з моделі паралельних провідностей як:

$$U_{m0} = \frac{-G_{K0}E_K + G_{Na0}E_{Na} - G_lE_l}{G_{K0} + G_{Na0} + G_l}, \quad (4.2)$$

де G_{K0} , G_{Na0} — провідності для іонів калію та натрію у стані спокою, $E_K = -\varphi_T \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i}$, $E_{Na} = \varphi_T \ln \frac{[Na^+]_e}{[Na^+]_i}$ — електрорушійна сила (ЕРС) джерел, що моделюють потенціал Нернста для калію та натрію, G_l — провідність витоку через мембрану, E_l — електрорушійна сила джерела, що моделює потенціал Нернста для іонів хлору, процеси витоку та інші фактори, які впливають на потенціал мембрани у стані спокою. Величину E_l на практиці знаходять опираючись на задані величини провідності G_l та потенціалу спокою U_{m0} .

Під час протікання крізь мембрану деполяризуючого струму I_d , як впливає з моделі паралельних провідностей, змінна складова мембранного потенціалу мусить задовольняти диференційному рівнянню:

$$\frac{du_m}{dt} = \frac{1}{C_m} (-I_K(u_m, t) - I_{Na}(u_m, t) - I_l + I_d), \quad (4.3)$$

де $I_K(u_m, t) = G_K(u_m, t)(U_{m0} + u_m + E_K)$ — часова залежність калієвого струму,

$I_{Na}(u_m, t) = G_{Na}(u_m, t)(U_{m0} + u_m - E_{Na})$ — часова залежність натрієвого струму,

$I_l = G_l(U_{m0} + u_m + E_l)$ — струм витоку через мембрану,

$$I_d = \begin{cases} I_{d0}, & 0 < t < T_d \\ 0, & t \geq T_d \end{cases} \quad \text{— струм деполяризації,}$$

T_d — тривалість дії деполяризуючого струму.

Калієва та натрієва провідності $G_K(u_m, t)$ та $G_{Na}(u_m, t)$ описуються рівняннями Ходжкіна-Хакслі:

$$G_K(u_m, t) = G_{Kmax} n^4(u_m, t) \quad (4.4)$$

$$G_{Na}(u_m, t) = G_{Namax} m^3(u_m, t) h(u_m, t) \quad (4.5)$$

де G_{Kmax} — провідність мембрани для іонів калію у випадку, коли всі калієві канали мембрани знаходяться у відкритому стані, n — функція активації калієвих каналів, G_{Namax} — провідність мембрани для іонів натрію у випадку, коли всі натрієві канали мембрани знаходяться у відкритому стані, m — функція активації натрієвих каналів, h — функція інактивації натрієвих каналів.

Функції активації та інактивації мають сенс ймовірності того, що субодиниця іонного каналу знаходиться у відкритому стані. Вони є розв'язками диференційних рівнянь:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_\infty - n}{\tau_n} \quad (4.6)$$

$$\frac{dm}{dt} = \frac{m_\infty - m}{\tau_m} \quad (4.7)$$

$$\frac{dh}{dt} = \frac{h_\infty - h}{\tau_h} \quad (4.8)$$

де $\tau_n = \frac{1}{\alpha_n + \beta_n}$ — час релаксації активації калієвих каналів;

$$\alpha_n = \frac{10(0.01 - u_m)}{\exp\left(\frac{0.01 - u_m}{0.01}\right) - 1} \quad \text{— швидкість переходу активаційних субодиниць калієвих каналів із закритого стану у відкритий;}$$

$$\beta_n = 125 \exp\left(-\frac{u_m}{0.08}\right) \quad \text{— швидкість переходу активаційних субодиниць калієвих каналів із відкритого стану в закритий;}$$

$$n_\infty = \alpha_n \tau_n;$$

$$\tau_m = \frac{1}{\alpha_m + \beta_m} \quad \text{— час релаксації активації натрієвих каналів;}$$

$$\alpha_m = \frac{100(0.025 - u_m)}{\exp\left(\frac{0.025 - u_m}{0.01}\right) - 1} \quad \text{— швидкість переходу активаційних субодиниць натрієвих каналів із закритого стану у відкритий;}$$

$$\beta_m = 4 \cdot 10^3 \exp\left(-\frac{u_m}{0.018}\right) \quad \text{— швидкість переходу активаційних субодиниць натрієвих каналів із відкритого стану в закритий;}$$

$$m_\infty = \alpha_m \tau_m;$$

$$\tau_h = \frac{1}{\alpha_h + \beta_h} \quad \text{— час релаксації інактивації натрієвих каналів;}$$

$$\alpha_h = 70 \exp\left(-\frac{u_m}{0.002}\right) \quad \text{— швидкість переходу інактиваційних субодиниць натрієвих каналів із закритого стану у відкритий;}$$

$$\beta_h = \frac{10^3}{\exp\left(\frac{0.03 - u_m}{0.01}\right) + 1} \quad \text{— швидкість переходу інактиваційних субодиниць натрієвих каналів із відкритого стану в закритий;}$$

$$h_\infty = \alpha_h \tau_h.$$

Якщо вважати, що до впливу деполяризуючого стимулу мембрана знаходилась у стані спокою, то змінна складова мембранного потенціалу повинна задовольняти початкову умову:

$$u_m(0) = 0 \quad (4.9)$$

Припустимо, що n_0 — це ймовірність того, що активаційна субодиниця калієвого каналу в стані спокою знаходиться у відкритому стані. Тоді

$$n(0) = n_0 \quad (4.10)$$

Аналогічно, нехай m_0 і h_0 — ймовірності того, що активаційна субодиноця та інактивована субодиноця натрієвого каналу в стані спокою знаходяться у відкритому стані. Тоді маємо:

$$m(0) = m_0 \quad (4.11)$$

$$h(0) = h_0. \quad (4.12)$$

Значення n_0 , m_0 та h_0 можуть бути знайдені як n_∞ , m_∞ та h_∞ для $u_m = 0$. Знаючи n_0 , m_0 та h_0 , з рівнянь (4.4) та (4.5) можна знайти максимальні провідності мембрани для калію та натрію:

$$G_{K \max} = \frac{G_{K0}}{n_0^4} \quad (4.13)$$

$$G_{Na \max} = \frac{G_{Na0}}{m_0^3 h_0} \quad (4.14)$$

Рівняння (4.3), (4.6) - (4.12) складають задачу Коші відносно функцій $u_m(t)$, n , m та h . Дана задача Коші може бути подана у вигляді:

$$\begin{aligned} \frac{du_m}{dt} &= f_1(u_m, n, m, h, t); \\ \frac{dn}{dt} &= f_2(u_m, n, m, h, t); \\ \frac{dm}{dt} &= f_3(u_m, n, m, h, t); \\ \frac{dh}{dt} &= f_4(u_m, n, m, h, t), \end{aligned} \quad (4.15)$$

де функції f_1, f_2, f_3, f_4 визначаються з рівнянь (4.3), (4.6) - (4.8), а початкові умови з (4.9) - (4.12).

Задача Коші (4.15), (4.9) - (4.12) є системою жорстких диференціальних рівнянь. Тому для її розв'язання необхідно використовувати неявні методи інтегрування. У випадку використання методів предиктор-коректор, аби уникнути переповнення розрядної сітки комп'ютера, не варто обирати крок $\otimes t$ на початковому відрізку інтегрування надто великим. Початкову величину $\otimes t$

потрібно обирати як $\Delta t < \frac{t_{end}}{10}$, де t_{end} — задане кінцеве значення часу інтегрування задачі Коші.

У якості спрощеного, проте, більш грубого розв'язання задачі Коші можна використовувати наступний прийом. Припустимо, що швидкості переходів активаційних (інактиваційних) субодиноць іонних каналів із закритого стану в відкритий і навпаки змінюються слабо у межах кроку інтегрування. Тоді час релаксації τ_n , τ_m , τ_h та значення n_∞ , m_∞ , h_∞ можна вважати слабо змінними. Приймаючи їх константами, які залежать від напруги й не залежать від часу, рівняння (4.6) - (4.8) можна розв'язати явним способом. Тоді отримаємо:

$$n(u_m, t) = n_\infty - (n_\infty - n_0)e^{-\frac{t}{\tau_n}}; \quad (4.16)$$

$$m(u_m, t) = m_\infty - (m_\infty - m_0)e^{-\frac{t}{\tau_m}}; \quad (4.17)$$

$$h(u_m, t) = h_\infty - (h_\infty - h_0)e^{-\frac{t}{\tau_h}} \quad (4.18)$$

У цьому випадку задача (4.15), (4.9) - (4.12) зводиться до задачі Коші з одним диференціальним рівнянням:

$$\frac{du_m}{dt} = f_1(u_m, t); \quad (4.19)$$

$$u_m(0) = u_{m0} = 0.$$

Величину E_l визначають з (4.2). Величини G_{Kmax} , $G_{Na max}$ знаходять із рівнянь (4.13) і (4.14) з врахуванням того, що n_0 , m_0 та h_0 є усталеними значеннями функцій активації та інактивації n_∞ , m_∞ та h_∞ для $u_m = 0$.

Після виникнення потенціалу дії слідує період під час якого мембрана не може бути повторно збуджена, тобто спостерігається стан так званої абсолютної рефрактерності [3-6]. Після деякого періоду часу відновлюється можливість повторно викликати потенціал дії, але для цього потрібно

подавати аномально великий стимул. Цей період часу характеризується станом відносної рефрактерності. Наявність обох станів можна пояснити на основі поведінки функції інактивації натрієвих каналів h . Після виникнення потенціалу дії h зменшується до дуже низького значення. Цей низький рівень h не дає знову виникнути збудженню. Для повернення до нормального або майже нормального рівня має пройти якийсь час. Також необхідно, щоби значення функції активації калієвих каналів n встигло знизитися, оскільки для виникнення збудження необхідним є виконання умови: $|I_{Na}| > |I_K|$. У разі виконання цієї умови загальний потік катіонів всередину клітини спричиняє збільшення потенціалу U_m і запускає регенеративний процес, який характеризує фазу наростання потенціалу дії (тобто, зростання U_m спричиняє зростання G_{Na} , що у свою чергу веде до подальшого збільшення U_m і т. д.).

Експериментальні дослідження показали, що збудження мембрани може виникнути після закінчення тривалої гіперполяризації [1; 2]. Оскільки під час гіперполяризації мембрани електрод у зовнішньому середовищі є анодом, то це явище називають збудженням клітини анодним розмиканням. Наявність такого ефекту можна пояснити так. Безпосередньо перед зняттям гіперполяризації рівень h є підвищеним, у той час як рівні m і n є пониженими. Проте після відновлення нормального U_m функція активації натрієвих каналів m швидко відновлює своє значення, оскільки час релаксації активації натрієвих каналів τ_m є дуже малим. Отже, у результаті того, що $\tau_m \ll \tau_n, \tau_h$, виникає стан зі знизеним значенням n , нормальним значенням m і підвищеним значенням h . Таке поєднання трьох параметрів створює умову, за якої $|I_{Na}| > |I_K|$, у результаті чого можливим стає виникнення збудження. Виникнення такого збудження спостерігається в разі використання позаклітинних електродів. У цьому випадку мембрана під анодом під час стимуляції гіперполяризується. З такою процедурою стимуляції пов'язана назва цього явища: збудження анодним розмиканням.

У зв'язку з наявністю потоку натрію у клітину і в спокої, і під час виникнення потенціалу дії, а також потоку калію назовні за цих же умов, можна було б очікувати, що через деякий час внутрішньо- і позаклітинне середовища досягнуть доннанівської рівноваги, за якої потенціали Нернста всіх іонів дорівнюють потенціалу на мембрані, і збудливість зникне. Це сталося б, якби не існувало процесу, який переміщує іони у зворотному напрямку. Оскільки описаний вище рух іонів спрямований за їхнім електрохімічним градієнтом, рух у зворотному напрямку вимагає витрати енергії. Наприклад, для перенесення натрію з клітини необхідно подолати спрямовані всередину електричне поле та дифузійну силу. Енергія, яка приводить у дію цей процес, компенсує витрати енергії в спокої та під час поширення потенціалу дії, так як вона відновлює й ефективно підтримує електрохімічні градієнти, що відповідають за виникнення потенціалу дії. Ця енергія забезпечується активним перенесенням іонів або іонним насосом (К-На насосом) і є енергією метаболізму, так що енергія, яка надходить із їжею, перетворюється в елементарні струми активних іонів.

Таблиця 4.1. Варіанти завдань

Параметр	№ варіанта								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$C_m, 10^{-9} \text{ Ф}$	10	30	60	40	50	12	35	45	15
$I_{d0}, 10^{-6} \text{ А}$	3	8	30	10	9	9	8	15	9
$T_d, 10^{-3} \text{ с}$	0,04	0,05	0,07	0,06	0,06	0,04	0,05	0,07	0,05
$U_{m0}, 10^{-3} \text{ В}$	-75	-80	-78	-55	-70	-73	-50	-65	-85
$[K]_i, 10^{-3} \text{ Моль/л}$	350	300	450	260	150	250	150	315	450
$[K]_e, 10^{-3} \text{ Моль/л}$	15	10	20	30	10	18	10	25	20
$[Na]_i, 10^{-3} \text{ Моль/л}$	30	20	30	50	60	50	25	20	50
$[Na]_e, 10^{-3} \text{ Моль/л}$	250	350	200	450	250	300	120	250	500
$G_{K0}, 10^{-5} \text{ См}$	0,4	1,3	6	1,5	1,6	0,8	1,4	1,7	0,7
$G_{Na0}, 10^{-7} \text{ См}$	1,5	3	3,5	4	4,3	1,5	3,5	5	1,5
$G_l, 10^{-5} \text{ См}$	0,6	1,7	5	2	2	2,2	1,4	1,3	1,1
$t_{end}, 10^{-3} \text{ с}$	60	70	70	50	60	125	50	50	100
Відносна похибка розв'язку ϵ	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}

4.2. Робоче завдання

1. На відрізку $[0, t_{end}]$, використовуючи рівняння (4.4), (4.5), (4.16) - (4.18), побудувати залежності $G_K(t)$ та $G_{Na}(t)$ для фіксованих потенціалів $u_m = 80, 90, 100$ мВ.
2. На відрізку $[0, t_{end}]$ отримати розв'язок задачі Коші (4.15), (4.9) - (4.12), відносно $u_m(t)$.
3. Для вихідних даних, вибраних у відповідності з варіантом завдання, побудувати залежності $U_m(t)$, $G_K(t)$, $G_{Na}(t)$, $I_K(t)$, $I_{Na}(t)$ та сумарний іонний струм мембрани $I_m(t) = I_K(t) + I_{Na}(t) + I_l(t)$ за умови виникнення потенціалу дії під впливом деполяризуючого стимулюючого імпульсу (приклади залежностей показані на рис. 4.1 - рис. 4.3).
4. Знайти порогове значення деполяризуючого струму $I_{dпор}$. Для цього зафіксувати T_d та знайти таке мінімальне значення деполяризуючого струму I_{d0} , за якого потенціал дії ще виникає. Змінюючи T_d , встановити зв'язок $I_{dпор}$ з T_d . Побудувати залежність $I_{dпор}$ як функцію від T_d . Знайти значення реобазис.
5. Знайти мінімальний час періоду рефрактерності мембрани. Для цього подати на мембрану два деполяризуючих імпульси з амплітудою вище порогової. Змінюючи період подавання стимулюючих імпульсів, знайти найменший період, за якого мембрана генерує два потенціали дії (рис. 4.4-рис. 4.6).
6. Збуджуючи мембрану анодним розмиканням, побудувати залежності $U_m(t)$, $G_K(t)$, $G_{Na}(t)$, $I_K(t)$, $I_{Na}(t)$ та $I_m(t)$. Для цього змінити полярність стимулюючого струму I_{d0} та, змінюючи тривалість стимулюючого імпульсу, досягнути виникнення потенціалу дії (рис. 4.7 - рис. 4.9).

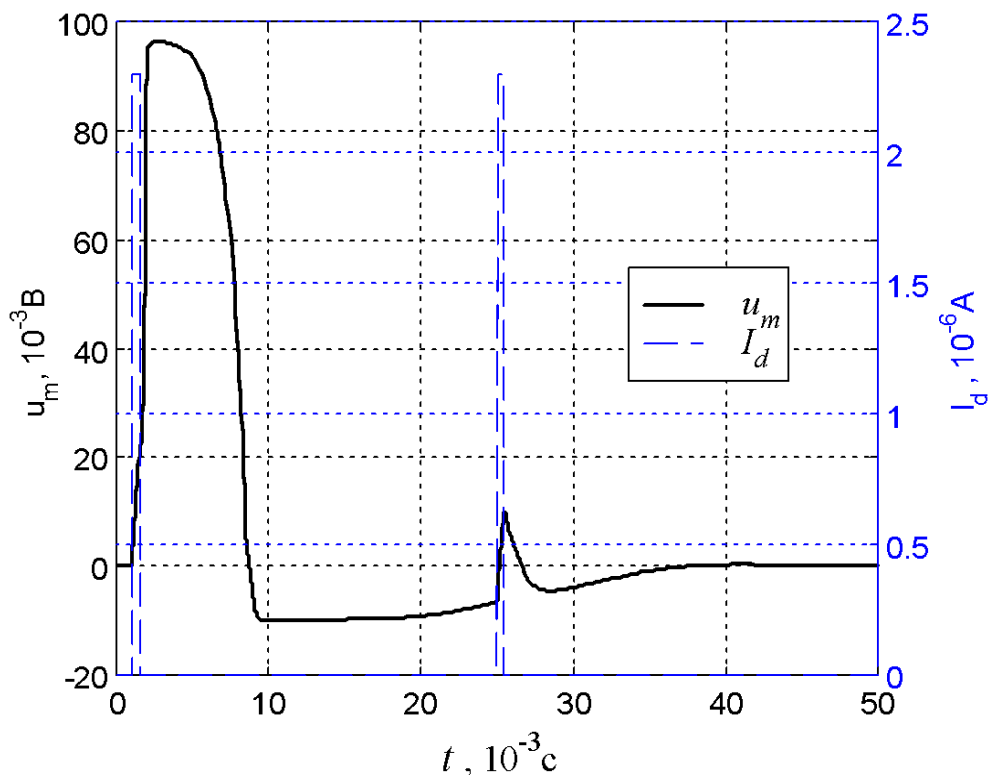


Рис. 4.1. Потенціал мембрани за умови збудження двома деполяризуючими імпульсами, що подаються з періодом, меншим за період рефрактерності

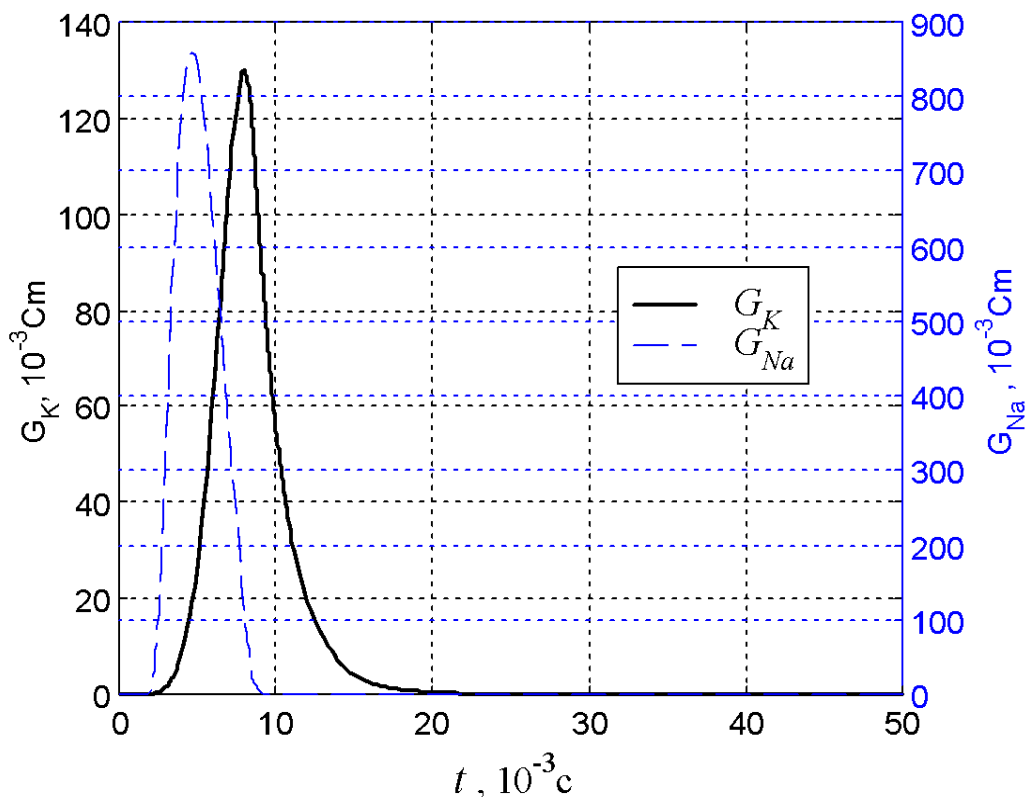


Рис. 4.2. Провідності мембрани для іонів калію та натрію за умови збудження двома деполяризуючими імпульсами, що подаються з періодом, меншим за період рефрактерності

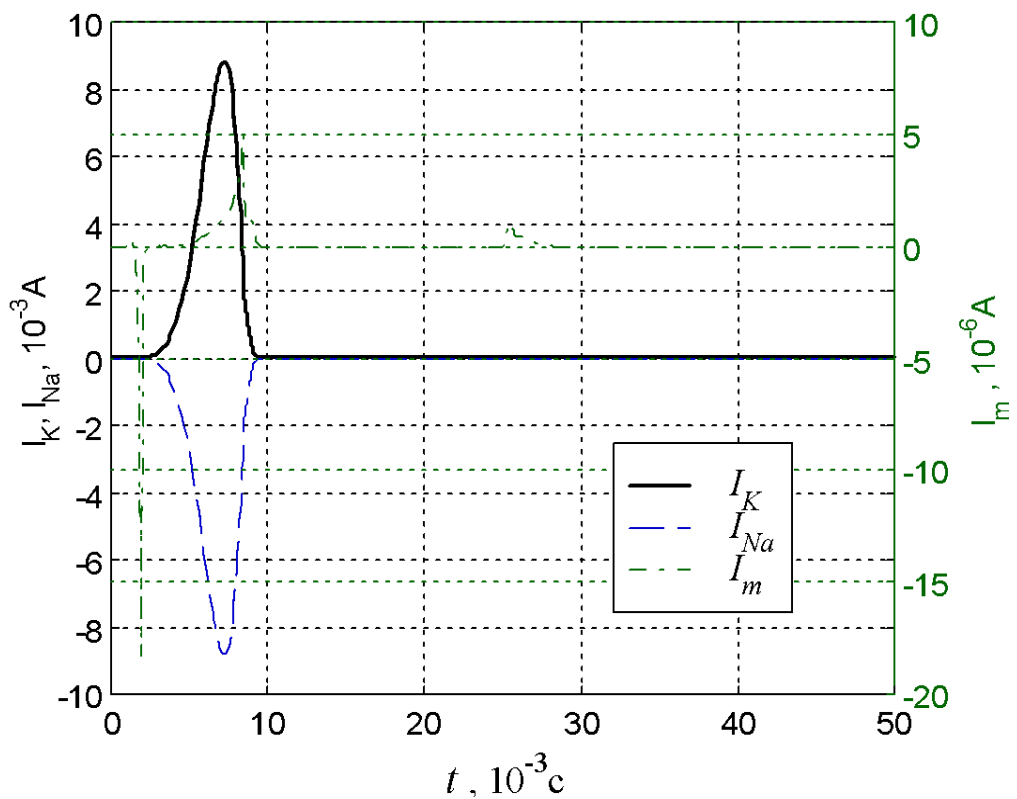


Рис. 4.3. Струми мембрани за умови збудження двома деполяризуючими імпульсами, що подаються з періодом, меншим за період рефрактерності

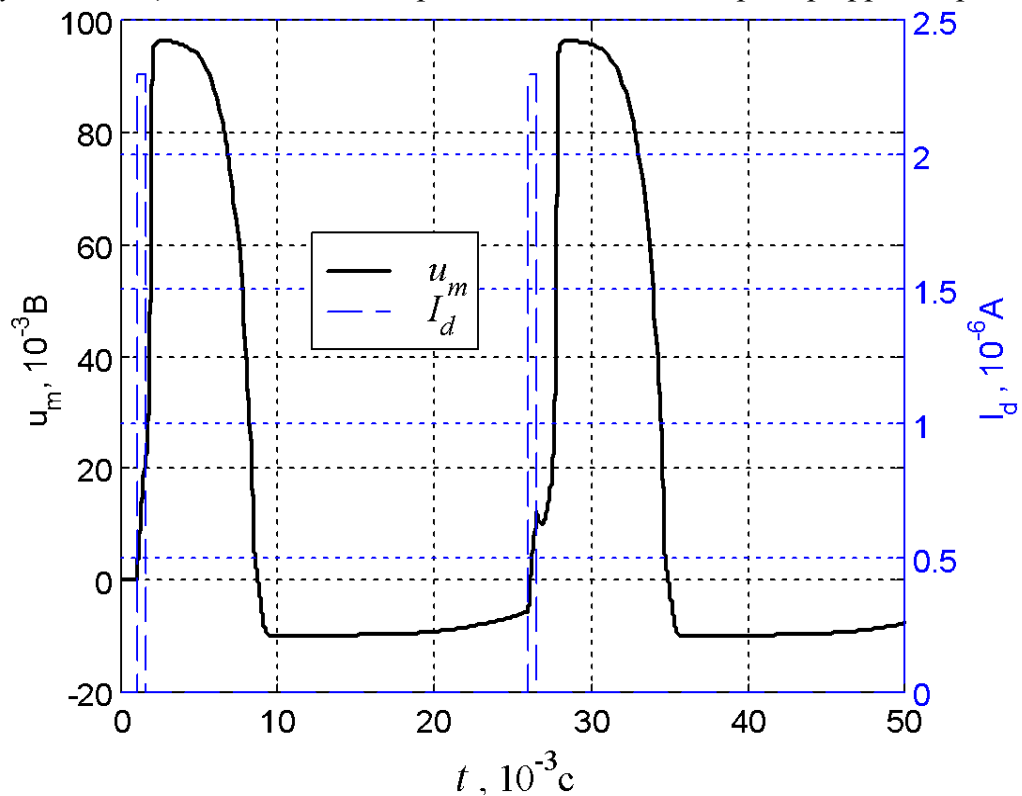


Рис. 4.4. Потенціал мембрани за умови збудження двома деполяризуючими імпульсами, що подаються з періодом, більшим за період рефрактерності

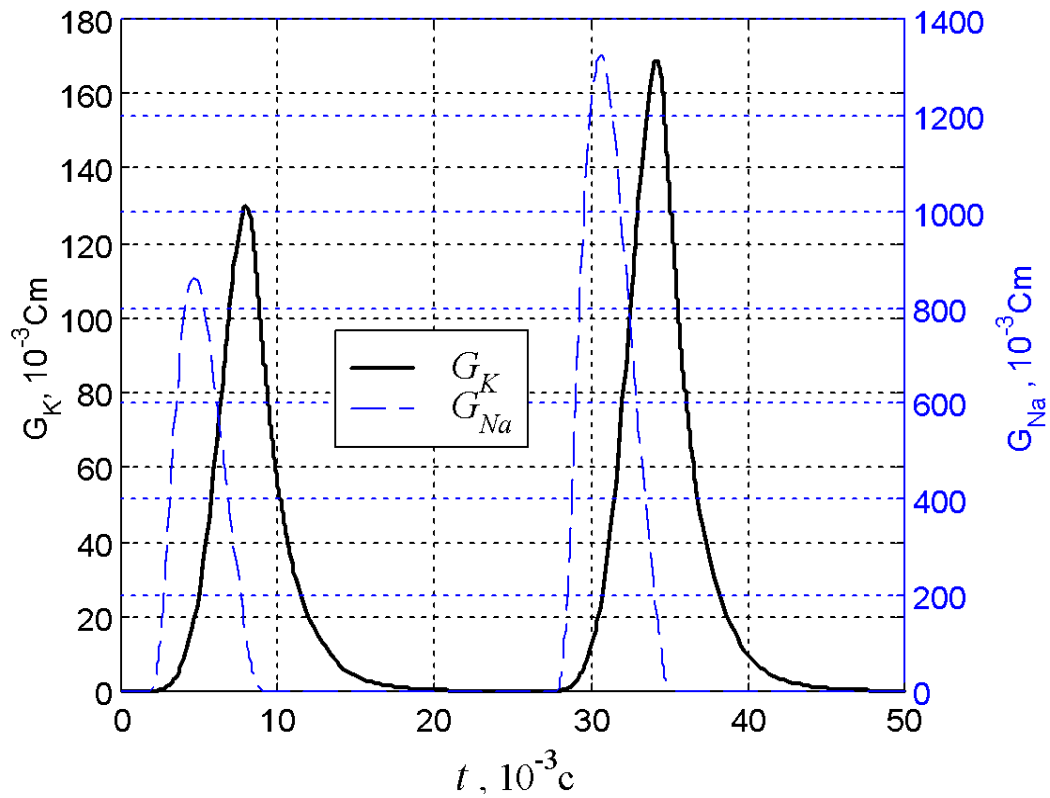


Рис. 4.5. Провідності мембрани для іонів калію та натрію за умови збудження двома деполаризуючими імпульсами, що подаються з періодом, більшим за період рефрактерності

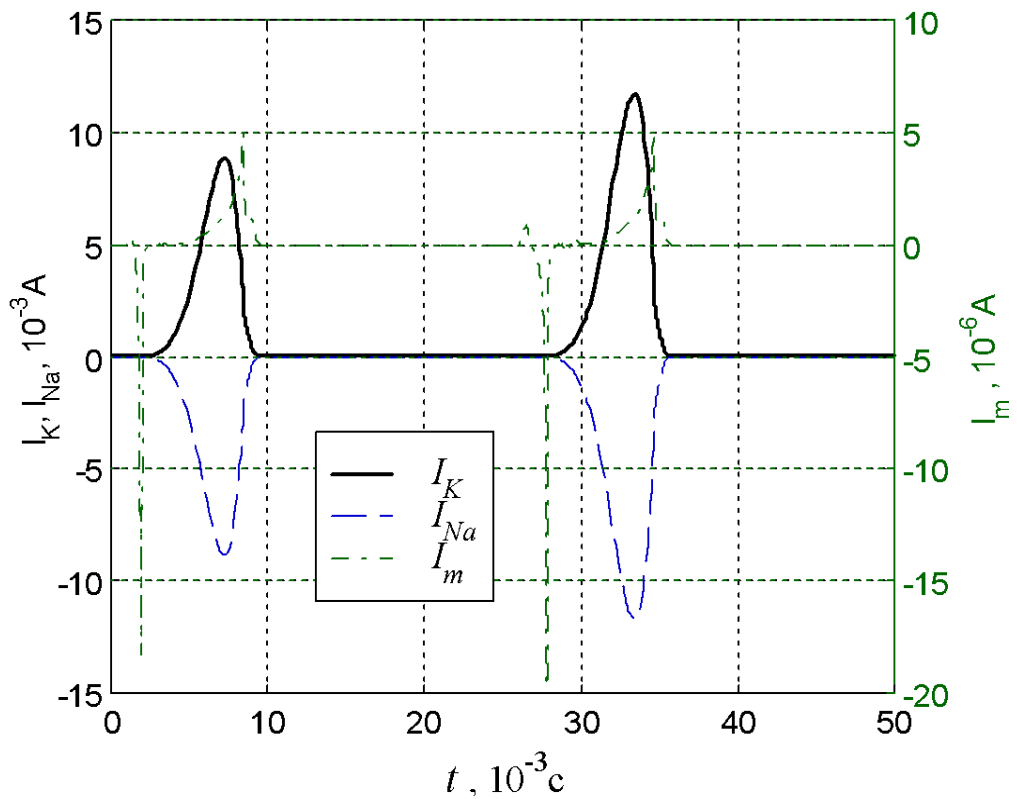


Рис. 4.6. Струми мембрани за умови збудження двома деполаризуючими імпульсами, що подаються з періодом, більшим за період рефрактерності

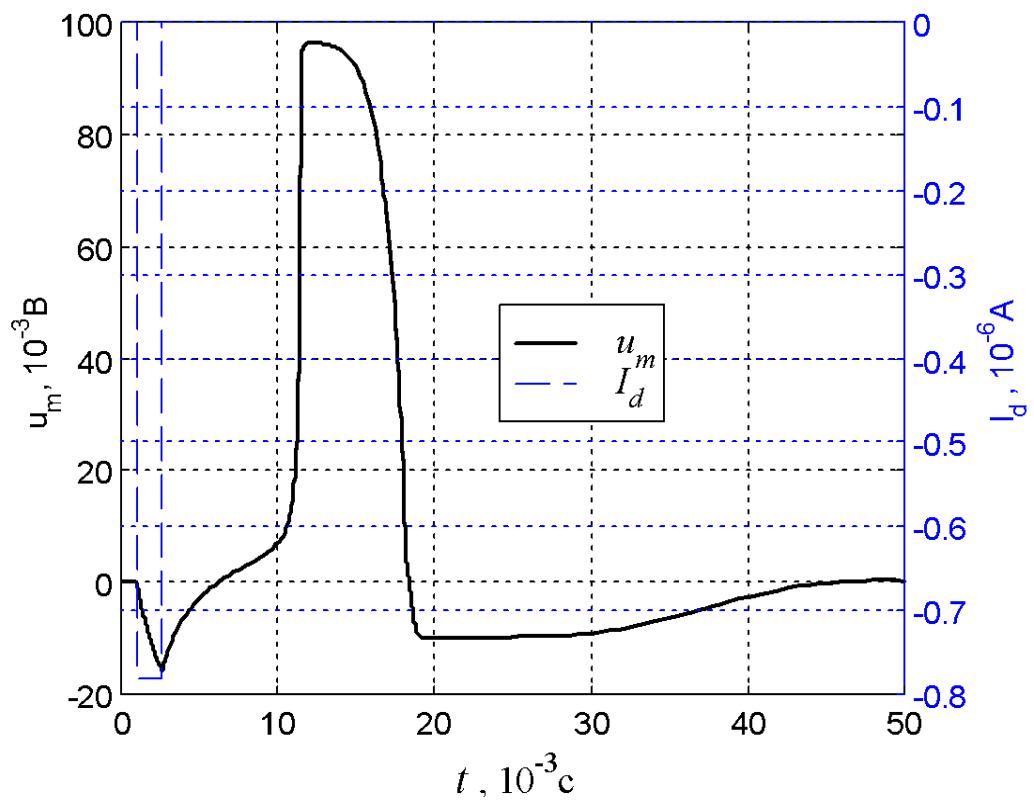


Рис. 4.7. Потенціал мембрани за умови збудження анодним розмиканням

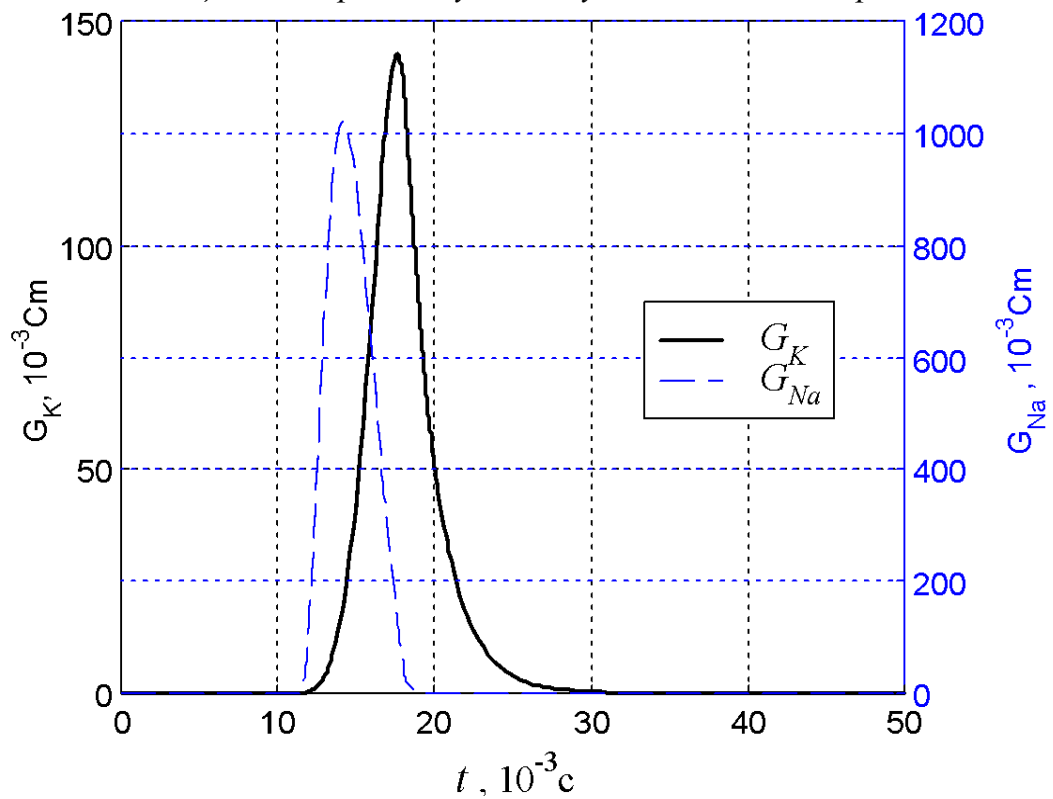


Рис. 4.8. Провідності мембрани для іонів калію та натрію за умови збудження анодним розмиканням

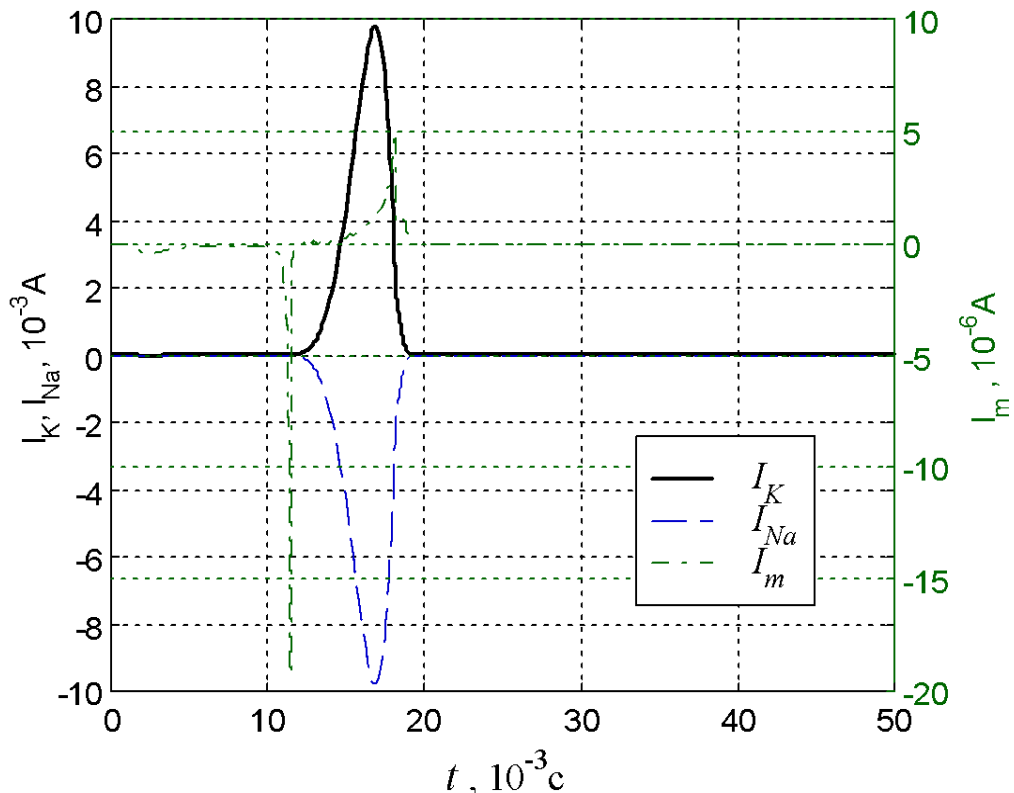


Рис. 4.9. Струми мембрани за умови збудження анодним розмиканням

Контрольні питання

1. Назвіть іони, які відіграють ту або іншу роль у динаміці біоелектричних потенціалів.
2. Поясніть явища, що супроводжують генезис потенціалу дії.
3. Як співвідносяться проникності мембрани для різних іонів ($p_K : p_{Na} : p_{Cl}$) у стані спокою та у стані збудження?
4. Яка умова мусить виконуватися між струмами для іонів натрію I_{Na} та калію I_K для виникнення потенціалу дії клітинної мембрани?
5. Як зміниться амплітуда потенціалу дії клітинної мембрани, якщо внутрішньоклітинна концентрація іонів натрію $[Na]_i$ збільшиться?
6. Що таке рефрактерність і які механізми цього явища?
7. У чому полягає механізм збудження клітини анодним розмиканням?

Список рекомендованої літератури

1. Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси. Конспект лекцій. [Електронний ресурс]: навч. посіб. для студ. спеціальності 153 «Мікро- та наносистемна техніка», освітньої програми «Електронні мікро- і наносистеми та технології» / КПІ ім. Ігоря Сікорського; уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько, Ю.В. Прокопенко — Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. — 121 с.
2. Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси: конспект лекцій для студ. спец. 8.05080102 — фізична та біомедична електроніка / Уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько, Ю.В. Прокопенко. — К., 2016. — 115 с
3. Plonsey R. Bioelectricity. A Quantitative Approach / R . Plonsey, R. Barr; Third Edition. — Springer, 2007. — 528 p.
4. Кузьмінський Є. В. Біофізика / Є. В. Кузьмінський, Н. Б. Голуб. — К.: Комп'ютерпрес, 2007. — 421 с.
5. Медична і біологічна фізика. Навчальний посібник/ Е.І. Сливко, О.З. Мельнікова, О.З.Іванченко, Н.С. Біляк. — Запоріжжя, 2018. — 291 с.
6. Костюк П.Г. (ред.) Біофізика. Підручник / П. Г. Костюк, В. Л. Зима, І. С. Магура та ін. — К.: Обереги, 2001. — 544 с.

Лабораторна робота № 5. МОДЕЛЮВАННЯ ПОШИРЕННЯ ПОТЕНЦІАЛУ ДІЇ КЛІТИНИ

Мета роботи: вивчення механізмів поширення потенціалу дії вздовж біологічної мембрани та основних біофізичних процесів, що супроводжують це явище.

5.1. Теоретичні відомості

Збудження, що виникає в певному місці клітини, з часом поширюється вздовж мембрани [1-5]. Основною причиною такого поширення є локальні струми, що протікають вздовж мембрани внаслідок різниці потенціалів між збудженою ділянкою клітини та незбудженою. Локальні струми спричиняють деполяризацію ділянок мембрани, які прилягають до області збудження. У процесі зарядження ємності мембрани, потенціал мембрани на цих ділянках підвищується й у разі перевищення порогового значення виникає збудження, яке далі поширюється на суміжні області. Для біологічних клітин, які мають циліндричну симетрію, процеси поширення потенціалу дії можна легко описати за допомогою моделі з провідним осердям. Циліндрична конфігурація клітинного волокна є характерною для нерва, поперечно-смугастого м'язу. До того ж, результати, отримані для цієї простої геометрії, можна застосувати до більш складних структур, таких, як нервовий стовбур, пучок м'язових волокон і навіть серцевий м'яз.

Модель із провідним осердям дає змогу зв'язати другу просторову похідну потенціалу на мембрані зі струмом, що протікає крізь мембрану, та зовнішнім струмом збудження:

$$\frac{\partial^2 U_m}{\partial z^2} = (r_i + r_e)i_m + i_p r_e \quad (5.1)$$

де U_m — потенціал мембрани, i_m — погонний струм мембрани (струм мембрани одиничної довжини), який вимірюється в А/м, r_e та r_i — погонні опори (питомі опори на одиницю довжини) позаклітинного та внутрішньоклітинного середовища, які вимірюються в Ом/м, i_p — погонний зовнішній струм збудження.

Представимо потенціал мембрани, що є функцією від координат та часу, як:

$$U_m(z, t) = U_{m0} + u_m(z, t), \quad (5.2)$$

де $u_m(z, t)$ — змінна складова мембранного потенціалу, що показує відхилення потенціалу мембрани від потенціалу спокою, U_{m0} — потенціал спокою мембрани, z — просторова координата вздовж напрямку поширення, t — час. Тоді рівняння (5.1) перепишеться у вигляді:

$$\frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2} = (r_i + r_e)i_m + i_p r_e \quad (5.3)$$

Рівняння (5.3) містить параметри середовища та мембрани, які не дуже зручні у користуванні. Тому знайдемо їхній взаємозв'язок із величинами, які можна легко виміряти. Такими величинами є об'ємні питомі опори позаклітинного та внутрішньоклітинного середовища, ρ_e та ρ_i , які вимірюються в Ом·м, і щільність струму мембрани J_m , яка вимірюється в А/м². Нехай діаметр циліндричної клітини дорівнює D . Тоді маємо:

$$r_e = \frac{4\rho_e}{\pi D^2}, r_i = \frac{4\rho_i}{\pi D^2}, i_m = J_m \pi D \quad (5.4)$$

Підставляючи (5.4) в (5.3) отримаємо:

$$\frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2} = \frac{4(\rho_i + \rho_e)}{D} J_m + \frac{4\rho_e}{\pi D^2} i_p \quad (5.5)$$

З моделі паралельних провідностей маємо:

$$J_m = J_K + J_{Na} + J_l + C_m \frac{\partial u_m}{\partial t} \quad (5.6)$$

де $J_K = G_K(u_m, t)(U_{m0} + u_m + E_K)$ — щільність калієвого струму, $J_{Na} = G_{Na}(u_m, t)(U_{m0} + u_m - E_{Na})$ — щільність натрієвого струму, $J_l = G_l(U_{m0} + u_m + E_l)$ — щільність струму витоку через мембрану, C_m — питома ємність мембрани, E_K — потенціал Нернста для іонів калію, E_{Na} — потенціал Нернста для іонів натрію, G_l — питома провідність витоку, E_l — еквівалентний потенціал витоку. Калієва та натрієва питома провідності $G_K(u_m, t)$ і $G_{Na}(u_m, t)$ описуються рівняннями Ходжкіна та Хакслі, що наведені в лабораторній роботі №4.

Підставляючи вираз (5.6) в (5.5) отримаємо:

$$\frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2} - \frac{4(\rho_i + \rho_e)}{D} C_m \frac{\partial u_m}{\partial t} = \frac{4(\rho_i + \rho_e)}{D} (J_K + J_{Na} + J_l) + \frac{4\rho_e}{\pi D^2} i_p \quad (5.7)$$

Рівняння (5.7) є нелінійним диференціальним рівнянням у частинних похідних параболічного типу [2]. Його розв'язком є функції, які описують хвильовий процес.

Для чисельного розв'язання рівняння (5.7) можна використати метод скінченних різниць [1]. Задача (5.7) може бути зведена до задачі Коші. Для цього відрізок $[0, z_{end}]$, на якому шукається розв'язок, розбиваємо рівномірною

сіткою з кроком $\Delta z = \frac{z_{end}}{N}$, де N — кількість вузлів сітки (рис. 5.1). Замість неперервної функції $u_m(z, t)$, будемо шукати розв'язки $u_1(t), u_2(t), \dots, u_N(t)$ у вузлах сітки z_1, z_2, \dots, z_N .

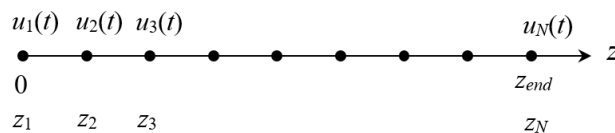


Рис. 5.1. Розташування вузлів та відповідних їм розв'язків вздовж напрямку поширення потенціалу дії

Для апроксимації похідної $\frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2}$ у внутрішніх вузлах відрізка $[0, z_{end}]$

$z = z_k$, $k = \overline{2, N-1}$ побудуємо поліном Лагранжа, що проходить крізь точки (z_{k-1}, u_{k-1}) , (z_k, u_k) та (z_{k+1}, u_{k+1}) . Обчисливши другу похідну явним чином отримаємо:

$$\frac{\partial^2 u_m(z_k, t)}{\partial z^2} \approx \frac{u_{k-1} - 2u_k + u_{k+1}}{\Delta z^2}, \quad k = \overline{2, N-1} \quad (5.8)$$

Для апроксимації похідної $\frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2}$ у крайніх точках $z = z_1$ та $z = z_N$ необхідно

побудувати інтерполяційний поліном Лагранжа, що проходить крізь чотири точки, наприклад, точки (z_1, u_1) , (z_2, u_2) , (z_3, u_3) і (z_4, u_4) . Розрахувавши другу похідну явним чином у точці $z = z_1$, отримаємо:

$$\frac{\partial^2 u_m(z_1, t)}{\partial z^2} \approx \frac{-u_4 + 4u_3 - 5u_2 + 2u_1}{\Delta z^2} \quad (5.9)$$

Аналогічно для точки $z = z_N$ маємо:

$$\frac{\partial^2 u_m(z_N, t)}{\partial z^2} \approx \frac{-u_{N-3} + 4u_{N-2} - 5u_{N-1} + 2u_N}{\Delta z^2} \quad (5.10)$$

Підставляючи вирази (5.8) – (5.10) у рівняння (5.7) отримаємо:

$$\begin{aligned} \frac{du_1}{dt} &= \frac{1}{C_m} \left(\frac{D}{4(\rho_i + \rho_e)} \frac{-u_4 + 4u_3 - 5u_2 + 2u_1}{\Delta z^2} - J_{K1} - J_{Na1} - J_{l1} - \frac{\rho_e}{(\rho_i + \rho_e)\pi D} i_{p1} \right) \quad (5.11) \\ \frac{du_k}{dt} &= \frac{1}{C_m} \left(\frac{D}{4(\rho_i + \rho_e)} \frac{u_{k-1} - 2u_k + u_{k+1}}{\Delta z^2} - J_{Kk} - J_{Nak} - J_{lk} - \frac{\rho_e}{(\rho_i + \rho_e)\pi D} i_{pk} \right), \quad k = \overline{2, N-1} \\ \frac{du_N}{dt} &= \frac{1}{C_m} \left(\frac{D}{4(\rho_i + \rho_e)} \frac{-u_{N-3} + 4u_{N-2} - 5u_{N-1} + 2u_N}{\Delta z^2} - J_{KN} - J_{NaN} - J_{lN} - \frac{\rho_e}{(\rho_i + \rho_e)\pi D} i_{pN} \right) \end{aligned}$$

де J_{Kk} , J_{Nak} , J_{lk} — щільності калієвого та натрієвого струму, а також струму витоку в точці $z = z_k$, i_{pk} — щільність зовнішнього струму збудження на одиницю довжини в точці $z = z_k$.

Нехай у момент часу $t = 0$ клітина знаходилась у стані спокою. Тоді маємо:

$$u_k(0) = 0, \quad k = \overline{1, N} \quad (5.12)$$

Рівняння (5.11) та (5.12) утворюють задачу Коші відносно функцій $u_k(t)$, $k = \overline{1, N}$. Для її чисельного розв'язання можна використовувати відомі методи, але необхідно враховувати, що система диференціальних рівнянь (5.1) є жорсткою. Тому варто віддавати перевагу неявним схемам інтегрування.

Варто відмітити, що щільності струмів J_{Kk} та J_{Nak} залежать не лише від напруги u_k , але й від функцій активації та інактивації субодиниць іонних каналів:

$$J_{Kk} = G_{K\max} n_k^4 (U_{m0} + u_k + E_K) \quad (5.13)$$

$$J_{Nak} = G_{Na\max} m_k^3 h_k (U_{m0} + u_k - E_{Na}) \quad (5.14)$$

де $G_{K\max}$ — питома провідність мембрани для іонів калію, яка вимірюється в $\text{См}/\text{м}^2$, у випадку, якщо всі калієві канали мембрани знаходяться у відкритому стані, n_k — функція активації калієвих каналів у точці $z = z_k$, $G_{Na\max}$ — питома провідність мембрани для іонів натрію, яка вимірюється в $\text{См}/\text{м}^2$, у випадку, якщо всі натрієві канали мембрани знаходяться у відкритому стані, m_k — функція активації натрієвих каналів, h_k — функція інактивації натрієвих каналів у точці $z = z_k$. Функції n_k , m_k і h_k є розв'язками задачі Коші:

$$\frac{dn_k}{dt} = \frac{n_{\infty k} - n_k}{\tau_{nk}} \quad (5.15)$$

$$\frac{dm_k}{dt} = \frac{m_{\infty k} - m_k}{\tau_{mk}} \quad (5.16)$$

$$\frac{dh_k}{dt} = \frac{h_{\infty k} - h_k}{\tau_{hk}} \quad (5.17)$$

$$n_k(0) = n_{0k} \quad (5.18)$$

$$m_k(0) = m_{0k} \quad (5.19)$$

$$h_k(0) = h_{0k} \quad (5.20)$$

Зміст і числові значення параметрів $n_{\infty k}$, $m_{\infty k}$, $h_{\infty k}$, n_{0k} , m_{0k} , h_{0k} , τ_{nk} , τ_{mk} і τ_{hk} визначені у лабораторній роботі №4. Нижній індекс k визначає належність цих параметрів до точки $z = z_k$. Величини $G_{K\max}$ і $G_{Na\max}$ знаходять, використовуючи значення питомих провідностей мембрани для іонів калію та натрію G_{K0} і G_{Na0} у стані спокою, а також значення n_0 , m_0 та h_0 . Варто відмітити, що параметри задачі Коші (5.15) - (5.20) залежать від напруги u_k . Тому вказану задачу Коші необхідно розв'язувати у системі з задачею Коші (5.11) та (5.12).

Отже, задача (5.7) може бути зведена до задачі Коші:

$$\begin{aligned} \frac{d\mathbf{Y}}{dt} &= \mathbf{F}(\mathbf{Y}), \\ \mathbf{Y}(0) &= \mathbf{Y}_0, \end{aligned} \quad (5.21)$$

де

$$\mathbf{Y} = \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ \dots \\ u_N \\ n_1 \\ n_2 \\ \dots \\ n_N \\ m_1 \\ m_2 \\ \dots \\ m_N \\ h_1 \\ h_2 \\ \dots \\ h_N \end{bmatrix} \quad \mathbf{F}(\mathbf{Y}) = \begin{bmatrix} f_1(\mathbf{Y}) \\ f_2(\mathbf{Y}) \\ \dots \\ f_N(\mathbf{Y}) \\ f_{N+1}(\mathbf{Y}) \\ f_{N+2}(\mathbf{Y}) \\ \dots \\ f_{2N}(\mathbf{Y}) \\ f_{2N+1}(\mathbf{Y}) \\ f_{2N+2}(\mathbf{Y}) \\ \dots \\ f_{3N}(\mathbf{Y}) \\ f_{3N+1}(\mathbf{Y}) \\ f_{3N+2}(\mathbf{Y}) \\ \dots \\ f_{4N}(\mathbf{Y}) \end{bmatrix} \quad \mathbf{Y}_0 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \dots \\ 0 \\ n_0 \\ n_0 \\ \dots \\ n_0 \\ m_0 \\ m_0 \\ \dots \\ m_0 \\ h_0 \\ h_0 \\ \dots \\ h_0 \end{bmatrix}$$

Функції f_1, f_2, \dots, f_N є правими частинами рівняння (5.11), а функції $f_{N+1}, f_{N+2}, \dots, f_{2N}; f_{2N+1}, f_{2N+2}, \dots, f_{3N}; f_{3N+1}, f_{3N+2}, \dots, f_{4N}$ відповідно правими частинами рівнянь (5.15), (5.16) та (5.17).

Розв'язки задачі (5.7) та відповідно (5.21) залежать від розподілу струму зовнішнього струму збудження i_p вздовж клітини. З рівнянь (5.11) можна побачити, що додатній струм i_p , який втікає у внутрішньоклітинне середовище, призводить до зменшення потенціалу на мембрані, тобто до гіперполяризації мембрани. Оскільки у цьому випадку зовнішній електрод, з якого витікає струм, є анодом, то кажуть, що мембрана під анодом гіперполяризується. Отже, для депольаризації мембрани струм зовнішнього електрода мусить витікати з позаклітинного простору і його варто обирати від'ємним.

Припустимо, що струм зовнішнього електрода втікає у позаклітинний простір у точці $z = 0$. Тоді отримаємо:

$$i_{pk} = \begin{cases} -I_d(t), & k=1 \\ 0, & k=\overline{2, N}, \end{cases}$$

де струм деполяризації $I_d(t)$ є імпульсом тривалості T_d та амплітудою I_{d0} :

$$I_d(t) = \begin{cases} I_{d0}, & 0 < t < T_d \\ 0, & t \geq T_d \end{cases}.$$

За умов підпорогових деполяризуючих та гіперполяризуючих зовнішніх впливів мембрана поводитья подібно лінійному RC -колу (рис. 5.2). У цьому випадку рівняння (5.3) можна розв'язати аналітично. Дійсно, як впливає з рис. 5.2, у цьому випадку струм мембрани одиничної довжини дорівнює:

$$i_m = \frac{u_m}{\rho_m} + c_m \frac{du_m}{dt} \quad (5.22)$$

де ρ_m — питомий об'ємний опір мембрани у підпорогових умовах, який вимірюється в Ом·м, а c_m — погонна ємність мембрани (питома ємність на одиницю довжини клітини), що вимірюється у Ф/м.

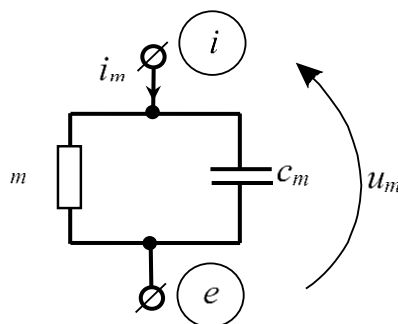


Рис. 5.2. Електрична еквівалентна схема елементарної мембрани одиничної довжини в підпорогових умовах

Підставляючи (5.22) в (5.3), отримаємо:

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2} - \tau \frac{\partial u_m}{\partial t} - u_m = r_e \lambda^2 i_p \quad (5.23)$$

де

$$\lambda = \sqrt{\frac{\rho_m}{r_e + r_i}} \quad (5.24)$$

λ — стала довжини, $\tau = \rho_m c_m$ — стала часу мембрани.

Припустимо, що зовнішній струм втікає у позаклітинний простір у точці $z = 0$ і має сходинкоподібну форму у часі, яку можна описати функцією Хевісайда $\sigma(t)$:

$$i_p = -I_{d0} \delta(z) \sigma(t) \quad (5.25)$$

У цьому випадку рівняння (5.23) можна розв'язати аналітично. Для цього можна використати перетворення Лапласа. Замість функції $u_m(z, t)$ будемо

шукати її зображення $\bar{u}_m(z, p)$. Тоді, з огляду на те, що $\frac{\partial u_m}{\partial t} \xrightarrow{\bullet} p\bar{u}_m - u_m(z, 0)$

, $\sigma(t) \xrightarrow{\bullet} \frac{1}{p}$ і приймаючи $u_m(x, 0) = 0$, отримаємо диференційне рівняння і приймаючи $u_m(x, 0) = 0$, отримаємо диференційне рівняння:

$$\lambda^2 \frac{d^2 \bar{u}_m}{dz^2} - (1 + p\tau) \bar{u}_m = -\frac{r_e \lambda I_{d0} \delta(z)}{p} \quad (5.26)$$

Розв'язок рівняння (5.26) має вигляд:

$$\bar{u}_m(z, p) = \frac{r_e \lambda I_{d0}}{2p \sqrt{1 + p\tau}} e^{-\frac{\sqrt{1 + p\tau} |z|}{\lambda}} \quad (5.27)$$

Перейшовши в (5.27) від зображення до оригіналу, отримаємо:

$$u_m(z, t) = -\frac{r_e \lambda I_{d0}}{4} \left[e^{-\frac{|z|}{\lambda}} \operatorname{erfc} \left(\frac{|z|}{2\lambda} \sqrt{\frac{\tau}{t}} - \sqrt{\frac{t}{\tau}} \right) - e^{\frac{|z|}{\lambda}} \operatorname{erfc} \left(\frac{|z|}{2\lambda} \sqrt{\frac{\tau}{t}} + \sqrt{\frac{t}{\tau}} \right) \right] \quad (5.28)$$

де $\operatorname{erfc}(y) = 1 - \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^y e^{-x^2} dx$. Залежність (5.28) схематично показана на рис. 5.3.

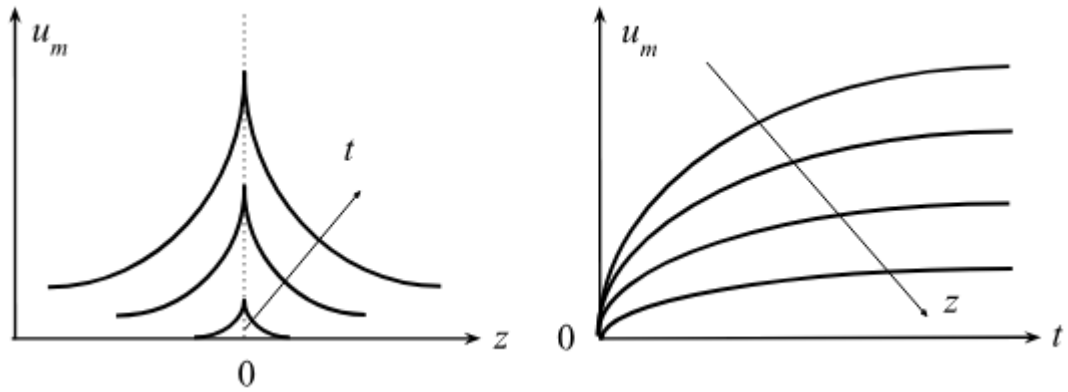


Рис. 5.3. Розподіл потенціалу на мембрані у просторі та у часі у разі підпорогового збудження

З (5.28) випливає, що у стаціонарному випадку (коли $t \rightarrow \infty$) розподіл потенціалу мембрани вздовж клітини має вигляд:

$$u_m(z) = \frac{r_e \lambda I_{d0}}{2} e^{-\frac{|z|}{\lambda}} \quad (5.29)$$

З (5.29) випливає фізичний зміст сталої довжини λ клітини. Як видно з (5.29) λ є такою довжиною клітини, на якій потенціал на мембрані у разі підпорогового збудження зменшується в e разів. З (5.4) та (5.24) випливає, що стала довжини циліндричної клітини пропорційна діаметру:

$$\lambda = D \sqrt{\frac{\pi \rho_m}{4(\rho_e + \rho_i)}} \quad (5.30)$$

Варто відмітити, що стала довжини може бути легко знайдена з залежності $\ln(u_m) = f(z)$. Дійсно, з (5.29) для додатних z маємо:

$$\ln(u_m) = \ln\left(\frac{r_e \lambda I_{d0}}{2}\right) - \frac{1}{\lambda} z \quad (5.31)$$

Отже, величина $\frac{1}{\lambda}$ може бути знайдена як тангенс кута нахилу прямої

$$\ln(u_m) = f(z).$$

Приймаючи до уваги, що рівняння поширення потенціалу дії вздовж клітинного волокна (5.7) має типовий вид хвильового рівняння, його розв'язок можна подати у вигляді:

$$u_m(z, t) = u_m(z - vt) \quad (5.32)$$

де v — швидкість поширення хвилі потенціалу дії.

З виразу (5.32) випливає:

$$\frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2} = \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 u_m}{\partial t^2} \quad (5.33)$$

Коли зовнішнього струму немає, тобто у випадку самовільного поширення потенціалу дії у волокні, $i_p = 0$. Прийmemo також, що $\rho_e = 0$. Тоді з врахуванням виразу (5.33) рівняння (5.7) набуде вигляду:

$$\frac{D}{4\rho_i v^2} \frac{\partial^2 u_m}{\partial t^2} = C_m \frac{\partial u_m}{\partial t} + J_K + J_{Na} + J_l \quad (5.34)$$

Оскільки права частина (5.34) не залежить від діаметра клітинного волокна D , то це рівняння (5.34) має розв'язок, якщо $\frac{D}{4\rho_i v^2} = \text{const} = \frac{1}{A}$. Звідки

отримаємо:

$$v = \sqrt{\frac{AD}{4\rho_i}} \quad (5.35)$$

тобто швидкість поширення хвилі потенціалу дії v пропорційна кореню квадратному з діаметра клітинного волокна D . Коефіцієнт пропорційності A

легко знайти, якщо мати експериментальні значення швидкості v для різних діаметрів D .

Емпірично встановлено, що для багатьох клітин швидкість поширення потенціалу дії можна оцінити за формулою:

$$v \approx \sqrt{D} \quad (5.36)$$

якщо значення D задані у мікрометрах, а значення v — у м/с.

5.2. Робоче завдання

1. Написати програму розв'язання задачі Коші (5.21) на відрізках $t \in [0, t_{end}]$, $z \in [0, l_{end}]$.

2. Дослідити процеси поширення потенціалу мембрани за умови підпорогового збудження. Параметри клітини взяти з таблиці 5.1 відповідно до свого варіанта. Параметри зовнішнього збудження та межі інтегрування задачі Коші взяти з таблиці 5.2 відповідно до свого варіанта. Кількість вузлів сітки N необхідно вибрати не менше 100.

2.1. Розрахувати та побудувати залежності потенціалу на мембрані u_m від часу у трьох точках z , а також залежності u_m від z для різних трьох значень часу, включно з моментом часу t_{end} (приклади залежностей показані на рис. 5.4 та рис. 5.5)

2.2. Побудувати залежності $\ln(u_m) = f(z)$ для $t = t_{end}$. За тангенсом кута нахилу цієї залежності знайти сталу довжини клітини λ . Повторити розрахунки та обчислення для різних діаметрів клітини D . Побудувати залежність $\lambda(D)$. Знайти питомий об'ємний опір мембрани у підпорогових умовах ρ_m .

Таблиця 5.1. Параметри клітини

Параметр	№ варіанта								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$C_m, 10^{-10}\text{Ф/М}^2$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$U_{m0}, 10^{-3}\text{В}$	-72	-68	-50	-60	-75	-80	-70	-60	-65
$[K]_i, 10^{-3}\text{Моль/л}$	200	300	400	300	250	150	280	350	380
$[K]_e, 10^{-3}\text{Моль/л}$	15	25	45	20	15	8	10	30	25
$[Na]_i, 10^{-3}\text{Моль/л}$	30	15	15	25	30	30	20	40	20
$[Na]_e, 10^{-3}\text{Моль/л}$	100	120	200	200	150	110	170	300	200
$G_{K0}, 10^{-8}\text{См/М}^2$	4	3	3	7	3	3	7	9	6
$G_{Na0}, 10^{-10}\text{См/М}^2$	5	4	7	10	5	6	12	15	8
$G_l, 10^{-8}\text{См/М}^2$	6	2	4	8	5	4	8	8	7
$\rho_e, 10^4, \text{Ом*М}$	4	2	2	1	3	1	5	3	1
$\rho_i, 10^6, \text{Ом*М}$	6	8	8	9	7	8	4	10	6
$D, 10^{-6}\text{М}$	10	10	8	12	10	9	12	15	9

Таблиця 5.2. Параметри зовнішнього сигналу та межі інтегрування задачі Коші у разі підпорогового збудження.

Параметр	№ варіанта								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$I_{d0}, 10^{-15}\text{А/М}$	1	1	2	20	1	2	1.5	8	10
$T_d, 10^{-3}\text{с}$	10	10	6	3	8	12	3	5	4
$t_{end}, 10^{-3}\text{с}$	10	10	6	3	8	12	3	5	4
$z_{end}, 10^{-3}\text{М}$	12	12	10	10	12	14	12	10	12

3. Дослідити процеси поширення потенціалу дії вздовж мембрани за умови збудження вище порогового. Параметри клітини взяти з таблиці 5.1 відповідно до варіанта. Параметри зовнішнього збудження та межі інтегрування задачі Коші взяти з таблиці 5.3 відповідно до варіанта. Кількість вузлів сітки N варто обирати так, щоби крок інтегрування Δz був менше за сталу довжини клітини λ .

3.1. Розрахувати та побудувати залежності щільності струму мембрани J_m та локального струму I_i у внутрішньоклітинному середовищі від часу в трьох точках z , а також залежності J_m та I_i від z для трьох різних значень часу (приклади залежностей показані на рис. 5.8 - 5.10).

Щільність струму мембрани J_m може бути знайдена з виразу:

$$J_m = \frac{D}{4(\rho_i + \rho_e)} \frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2} \quad (5.37)$$

де друга просторова похідна потенціалу на мембрані розраховується за формулою (5.8).

Для розрахунку локального струму I_i у внутрішньоклітинному середовищі можна врахувати, що $\rho_e \ll \rho_i$. У цьому випадку $\frac{\partial \phi_e}{\partial z} \ll \frac{\partial \phi_i}{\partial z}$, отже $\frac{\partial \phi_i}{\partial z} \approx \frac{\partial u_m}{\partial z}$. Тому маємо:

$$I_i = \frac{1}{r_i} \frac{\partial \phi_i}{\partial z} \approx \frac{D^2}{4\rho_i} \frac{\partial u_m}{\partial z} \quad (5.38)$$

Похідну потенціалу на мембрані можна розрахувати за скінченно-різницевою апроксимацією:

$$\frac{\partial u_m(z_k, t)}{\partial z} \approx \frac{u_{k+1} - u_{k-1}}{2\Delta z}, k = \overline{2, N-1} \quad (5.39)$$

3.2. Розрахувати та побудувати залежності потенціалу на мембрані u_m від часу у двох точках z для різних діаметрів клітини D . Розрахувати швидкість поширення хвилі потенціалу дії v для різних D . Побудувати графік залежності $v(D)$. Перевірити виконання закону (5.36), за яким $v \approx \sqrt{D}$.

Таблиця 5.3. Параметри зовнішнього сигналу та межі інтегрування задачі Коші за умови збудження імпульсом вище порогового значення

Параметр	№ варіанта								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$I_{d0}, 10^{-10} \text{А/м}$	1	1	0,8	5	1	8	1	5	10
$T_d, 10^{-3} \text{с}$	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
$t_{end}, 10^{-3} \text{с}$	150	120	80	80	100	100	50	80	80
$z_{end}, 10^{-3} \text{м}$	150	120	120	130	120	150	120	150	150

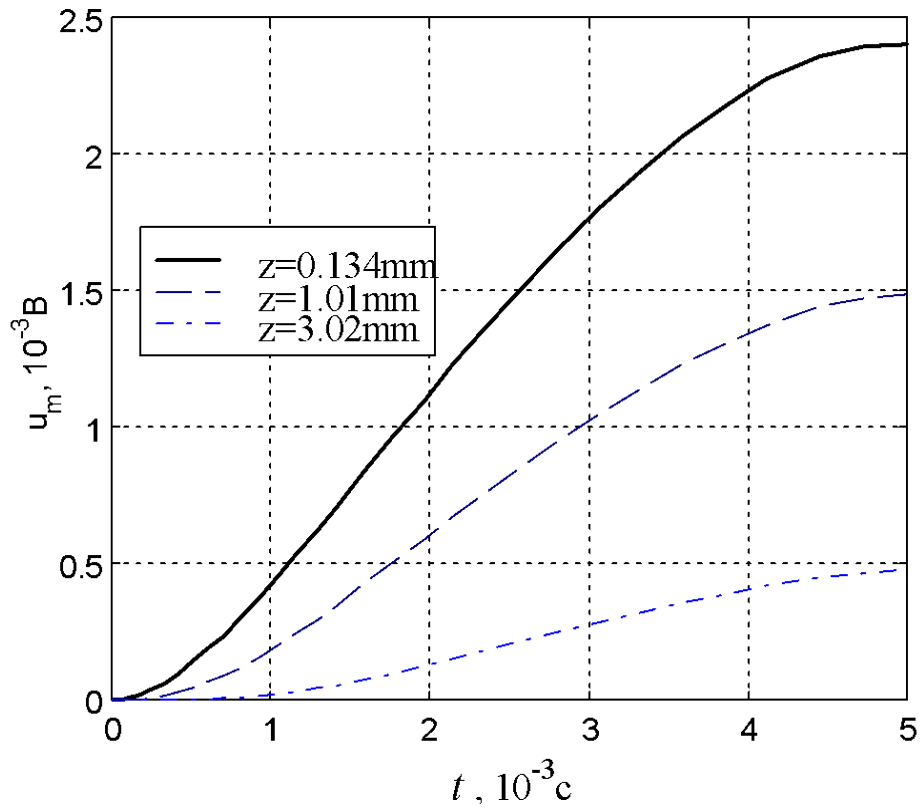


Рис. 5.4. Залежності потенціалу на мембрані u_m від часу t у трьох точках z клітини в разі підпорогового зовнішнього збудження

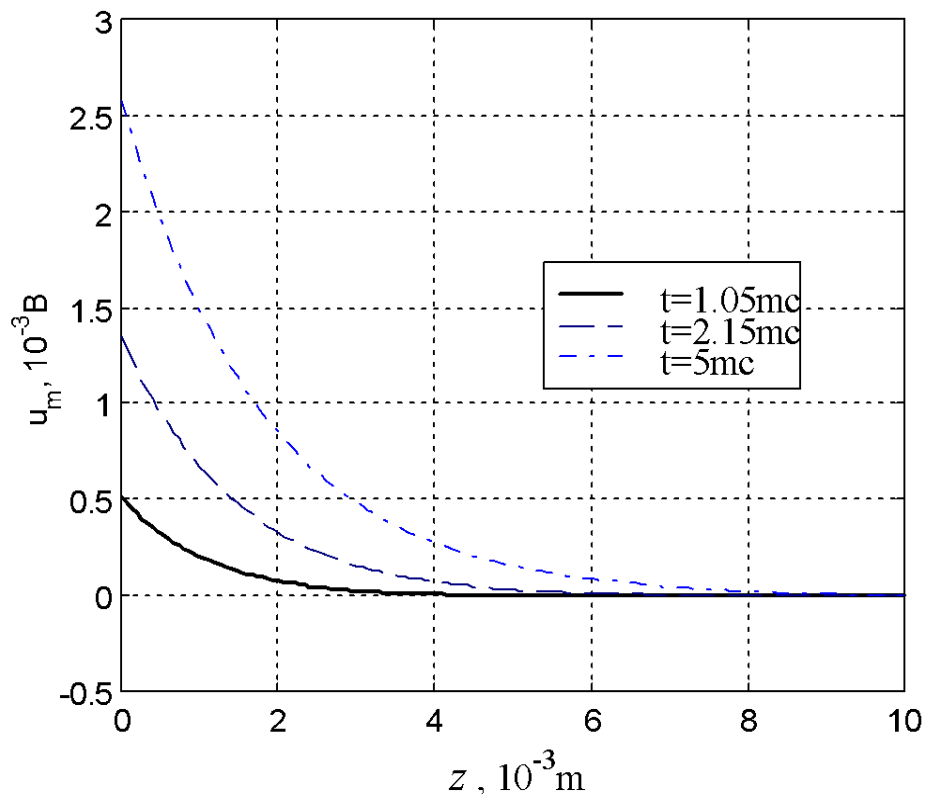


Рис. 5.5. Залежність потенціалу на мембрані u_m вздовж клітини у різні моменти часу t у разі підпорогового зовнішнього збудження

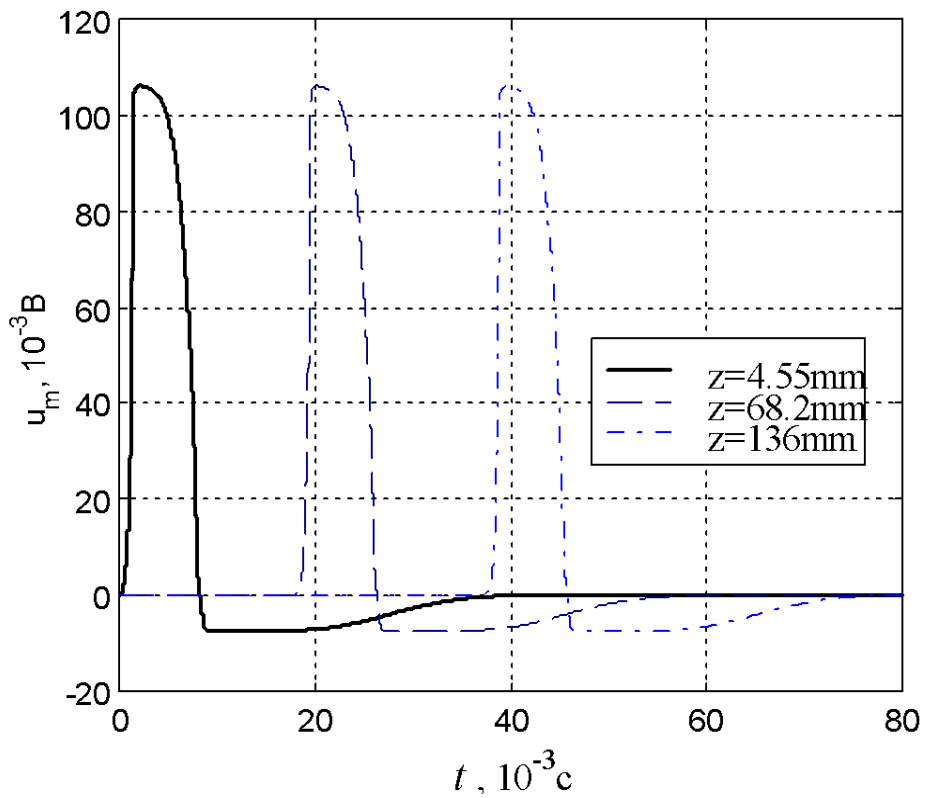


Рис. 5.6. Залежність потенціалу на мембрані u_m від часу t у трьох точках з клітини у разі зовнішнього збудження вище порогового значення

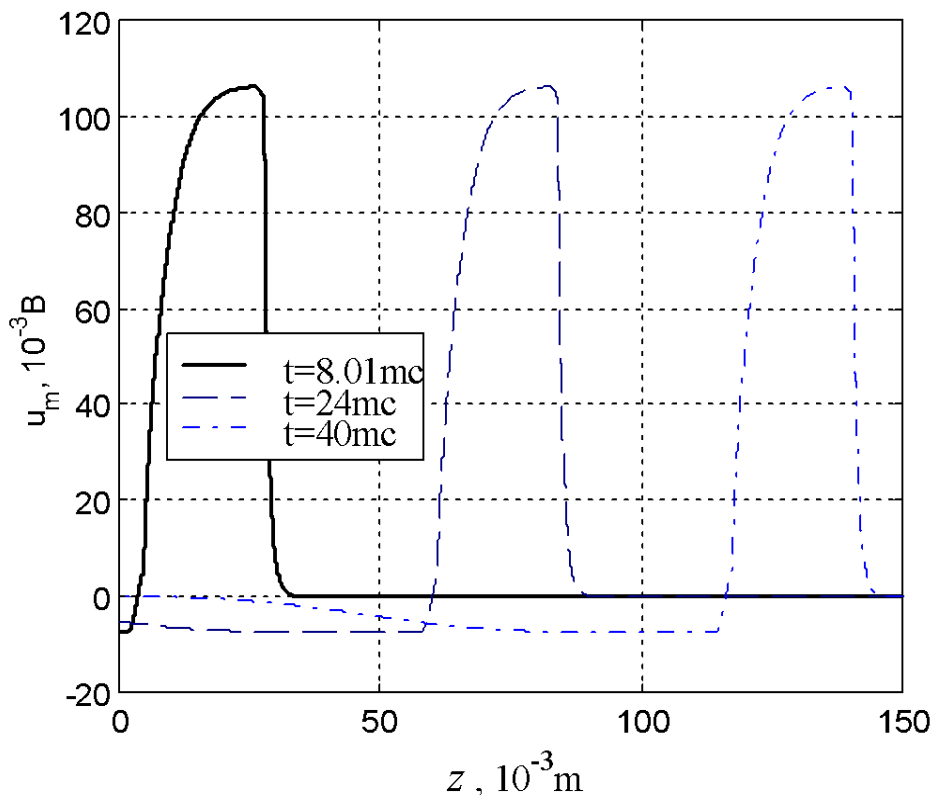


Рис. 5.7. Залежність потенціалу на мембрані u_m вздовж мембрани у різні моменти часу t у разі зовнішнього збудження вище порогового значення

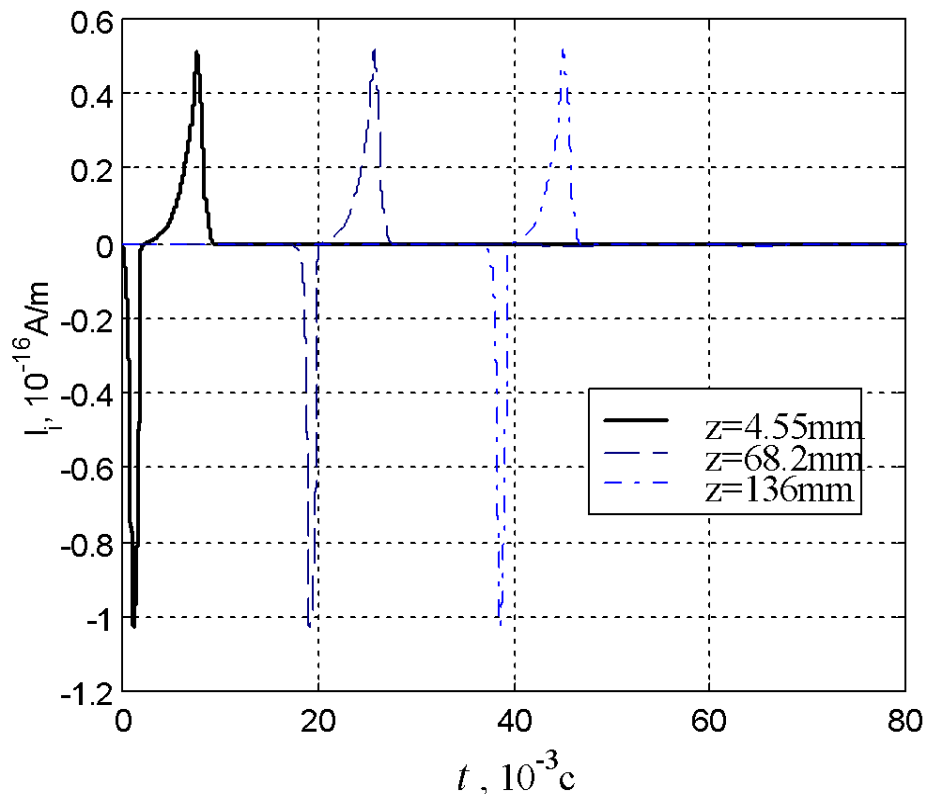


Рис. 5.8. Залежність локального струму I_i у внутрішньоклітинному середовищі від часу у трьох точках z клітини у разі зовнішнього збудження вище порогового значення

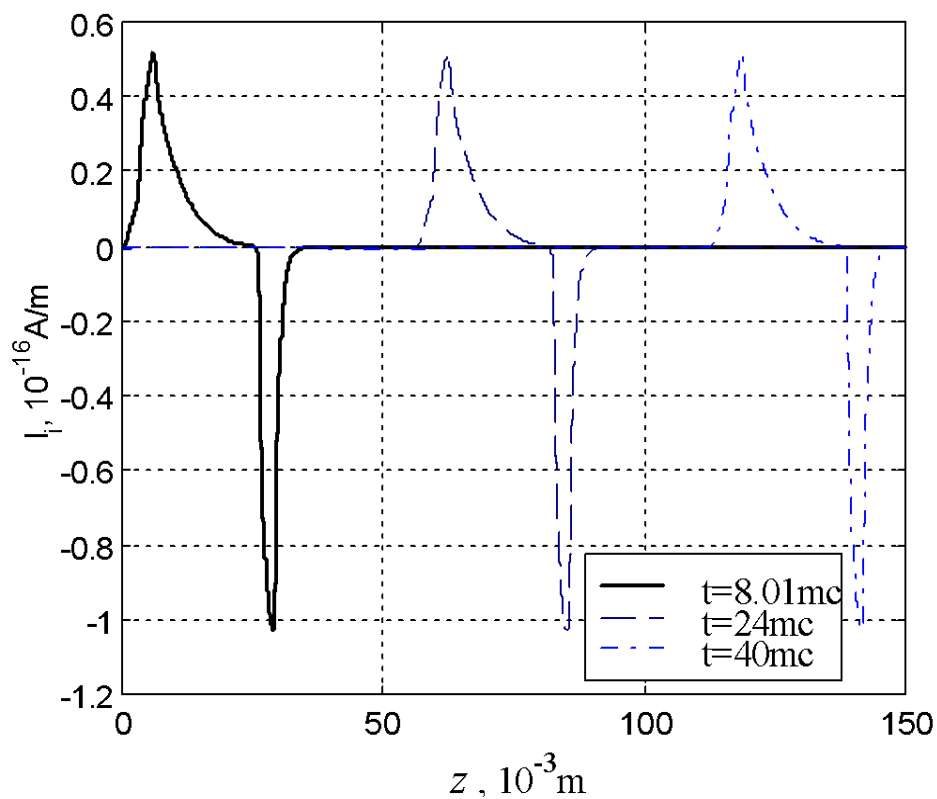


Рис. 5.9. Залежність локального струму I_i у внутрішньоклітинному середовищі вздовж клітини у різні моменти часу в разі зовнішнього збудження вище порогового значення

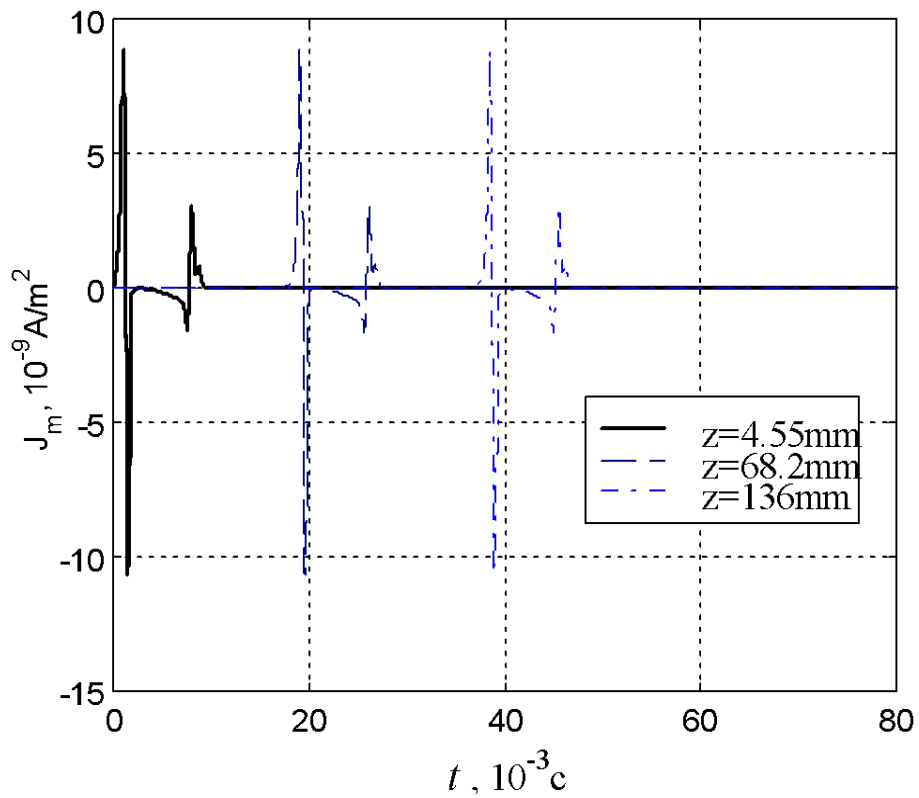


Рис.5.10. Залежність щільності струму мембрани J_m від часу t у трьох точках z клітини у разі зовнішнього збудження вище порогового значення

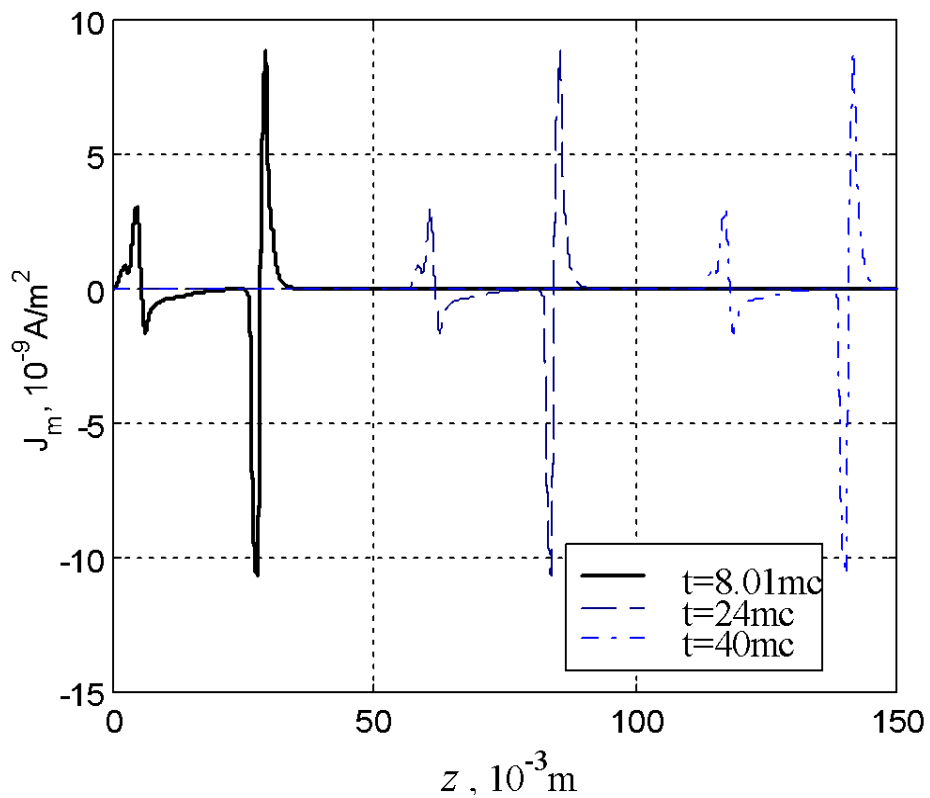


Рис. 5.11. Залежність щільності струму мембрани J_m вздовж клітини у різні моменти часу у разі зовнішнього збудження вище порогового значення

Контрольні питання

1. Модель із провідним осердям.
2. Модель мембрани клітини у підпорогових умовах.
3. Модель мембрани клітини у надпорогових умовах.
4. Система рівнянь для вирішення задачі Коші для процесу поширення потенціалу дії вздовж клітинного волокна.
5. Дайте визначення сталої довжини та сталої часу мембрани клітини. Як ці параметри залежать від параметрів клітини та середовища?
6. Як швидкість поширення потенціалу дії залежить від параметрів клітини та середовища?

Список рекомендованої літератури

1. Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси. Конспект лекцій. [Електронний ресурс]: навч. посіб. для студ. спеціальності 153 «Мікро- та наносистемна техніка», освітньої програми «Електронні мікро- і наносистеми та технології» / КПІ ім. Ігоря Сікорського; уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько, Ю.В. Прокопенко. — Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. — 121 с.
2. Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси: конспект лекцій для студ. спец. 8.05080102 — фізична та біомедична електроніка / Уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько, Ю.В. Прокопенко. — К., 2016. — 115 с
3. Plonsey R. Bioelectricity. A Quantitative Approach / R . Plonsey, R. Barr; Third Edition. — Springer, 2007. — 528 p.
4. Кузьмінський Є. В. Біофізика / Є. В. Кузьмінський, Н. Б. Голуб. — К.: Комп'ютерпрес, 2007. — 421 с.
5. Медична і біологічна фізика. Навчальний посібник/ Е.І. Сливко, О.З. Мельнікова, О.З.Іванченко, Н.С. Біляк. — Запоріжжя, 2018. — 291 с.
6. Костюк П.Г. (ред.) Біофізика. Підручник / П. Г. Костюк, В. Л. Зима, І. С. Магура та ін. — К.: Обереги, 2001. — 544 с.