

فعال سازی تفکیک شده کانالهای سدیمی و پتاسیمی مدل سلول تحریک پذیر بوسیله شکل موجهای تحریک پیش پالس

علی شیخانی^۱، سید محمد فیروز آبادی^۲، مهیار جان احمدی^۳

۱- دانشجوی دوره دکتری بیوالکترونیک دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

۲- دانشیار و عضو هیئت علمی گروه فیزیک پزشکی دانشگاه تربیت مدرس.

۳ - دانشیار و عضو هیئت علمی گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

sheikhaniali@bme-azad.org

چکیده:

در مطالعات الکتروفیزیولوژیک با اعمال ولتاژهای تحریک ثابت بصورت Voltage – Clamp به سلول در مجاورت محلول های یونی با غلظت های مختلف و مهارکننده کانالهای یونی موجب فعالیت یا عدم فعالیت یک یا هر دو دریچه کانالهای پتاسیمی و سدیمی می شوند و با ثبت جریان عبوری از غشاء کینتیک این دریچه ها بررسی می شود. در این تحقیق مدل Hodgkin – Huxley یک سلول تحریک پذیر در نظر گرفته شده و با شبیه سازی آن، اثر ولتاژهای تحریک پیش پالس Step در کنترل زمانهای فعالیت کانال های وابسته به ولتاژ سدیمی و پتاسیمی دنبال می شود. شکل کلی تحریک را به منظور کنترل زمان باز وبسته شدن (Gating) و تفکیک کردن فعالیت کانالهای سدیمی و پتاسیمی طراحی و سپس مشخصات و پارامترهای آن با اعمال روی مدل و بررسی پاسخ ها مشخص گردید. در بررسی حاضر، سیگنال تحریک مناسبی جهت تفکیک فعالیت کانالهای سدیمی و پتاسیمی با هدایت حداکثر در طول مدت تحریک سلول ارائه می شود.

واژه های کلیدی: تفکیک پذیری دریچه های یونی، مهار پتانسیل، شکل موج تحریک الکتریکی

Voltage – Clamp مدل ریاضی مطابق با معادلات H-

مقدمه:

H ارائه کردو تحت چنین شرایطی رفتار کانالهای یونی را بطور مجزا مورد بررسی قرار داد. [4].
کارایی تغییر پارامترهای شکل موجهای پیش پالس کاتدی وهم چنین پیش پالسهای شیب یا Ramp در تحریک انتخابی مقایسه شده اند. [5,6]
تا کنون مطالعات گسترده ای روی اثر جریان راست گوشه شکل بر ویژگی های پتانسیل غشاء و شکل ارسال پتانسیل عمل در نرون ها بعمل آمده است. این جریان ها به دلیل ویژگی های خاص تحریکی خود با فعال یا غیر فعال کردن کانال های یونی می توانند فعالیت الکتریکی سلول ها را تحت تاثیر قرار دهند [7,8].

اعمال تحریکات مختلف در مدل H-H نشان می دهد که با افزایش ولتاژ تحریک پله میزان هدایت کانال های سدیمی و پتاسیمی (g_K, g_{Na}) افزایش یافته و زمان هدایت سدیمی کاهش می یابد [1]. به ازای پالس تحریک پله با عرض بزرگ (۴ mSec) قطع پالس روی هدایت سدیمی

تاکنون مدل های متعددی از غشای تحریک پذیر در سلولهای عصبی از جمله مدل های $H-H$, FH^1 , $CRRSS^2$, SE^3 ارائه شده اند [1,2,3]. از میان مدل های غشاء در دسترس مدل H-H علاوه بر سادگی و پیچیدگی کم آن بهتر می تواند غشاء تحریک را بصورت الکتریکی بیان و مدل نماید. سایر مدل های نامبرده شده در تحریک نرونهای حرکتی و مدلسازی آن کاربرد داشته اند. البته اکثر این مدلها نیز بر پایه مدل Hodgkin-Huxley می باشند. بکار بردن سموم بی شک منجر به تغییر خصوصیات فیزیولوژیک کانالهای یونی و نیز رسانایی غشاء می شود و گاهی این تغییرات برگشت ناپذیر خواهد بود. بنابراین این با استفاده از شبیه سازی بدون دخالت سموم و مواد فارماکولوژیک و دستکاری غیر ضروری غشاء می توان با اندازه گیریهای

¹ - Frankenhaeser – Huxley

² - Chiu , Ritchie , Rogert , Staff and Stag

³ - Schwarz and Eikhof

در آکسون شکل و سرعت انتشار پتانسیل عمل را نیز محاسبه کنند. علت اینکه مدل پیشنهادی (H-H) در مقایسه با آزمایشات عملی از نظر کمی قابل قبول می باشد این است که علاوه بر ساده تر بودن و پیچیدگی کم این مدل حاوی اطلاعات جزئی درباره کینتیک وابسته به زمان کانالهای K^+ , Na^+ می باشد. [10]

مدل (H-H) با انجام آزمایش Voltage – Clamp و ثبت جریان عبوری از غشاء به ازای پالسهای تحریکی با دامنه و عرض متفاوت منحنی های مختلفی از رسانایی غشاء بدست آمده را برازش می نماید. روابط ریاضی بکار گرفته شده در مدل بیانگر این منحنی ها می باشند. [11]

$$g_{Na}(V, t) = \overline{g_{Na}} m^3(V, t) h(V, t) \quad (1)$$

$$\frac{dm(V, t)}{dt} = \frac{m_{ss}(V) - m(V, t)}{\tau_m(V)} \quad (2)$$

$$m_{ss}(V) = \frac{\alpha_m(V)}{\alpha_m(V) + \beta_m(V)} \quad (3)$$

$$\tau_m(V) = \frac{m_{ss}(V)}{\alpha_m(V)} \quad (4)$$

$$\frac{dh(V, t)}{dt} = \frac{h_{ss}(V) - h(V, t)}{\tau_h(V)} \quad (5)$$

$$h_{ss}(V) = \frac{\alpha_h(V)}{\alpha_h(V) + \beta_h(V)} \quad (6)$$

$$\tau_h(V) = \frac{h_{ss}(V)}{\alpha_h(V)} \quad (7)$$

$$\alpha_m(V) = \frac{2.5 - 0.1V}{\text{EXP}(2.5 - 0.1V) - 1} \quad (8)$$

$$\beta_m(V) = 4 \text{EXP}\left(-\frac{V}{18}\right) \quad (9)$$

$$\alpha_h(V) = 0.07 \text{EXP}\left(-\frac{V}{20}\right) \quad (10)$$

$$\beta_h(V) = \frac{1}{\text{EXP}(3 - 0.1V) + 1} \quad (11)$$

$$g_k(V, t) = g_k n^4(V, t) \quad (12)$$

$$\frac{dn(V, t)}{dt} = \frac{n_{ss}(V) - n(V, t)}{\tau_n(V)} \quad (13)$$

$$n_{ss}(V) = \frac{\alpha_n(V)}{\alpha_n(V) + \beta_n(V)} \quad (14)$$

$$\tau_n(V) = \frac{n_{ss}(V)}{\alpha_n(V)} \quad (15)$$

$$\alpha_n(V) = \frac{1 - 0.3V}{10(E(1 - 0.1V) - 1)} \quad (16)$$

تأثیری ندارد و بشکل نمایی سبب کاهش هدایت پتاسیمی می شود. پالس تحریک پله با عرض کوتاه (0.2mSec) سبب نرسیدن کانالها به هدایت کامل بوده و در ضمن هدایت سدیمی را قطع و بشکل نمایی هدایت پتاسیمی را کاهش می دهد. در پالس شبه دوزنقه (4 mSec) افزایش ثابت زمانی نمایی نزولی در g_{Na} بی تأثیر بوده و سبب طولانی تر شدن g_K می شود. به ازای پالس شبه دوزنقه (0.2mSec) افزایش ثابت زمانی نمایی نزولی، زمان و اندازه g_{Na} را افزایش داده و اندازه g_K را کاهش می دهد. پالس شبه دوزنقه با پهنای بزرگتر (15 mSec) افزایش ثابت زمانی نمایی صعودی زمان هدایت g_{Na} افزایش داده و g_K با تاخیر افزایش می یابد. [1,4]

ولتاژ Ramp شروع شونده از محدوده منفی منتهی به پالس مثبت با شیب های مختلف می تواند زمان و میزان باز و بسته شدن کانالهای سدیمی را کنترل نماید [9]. از جمله شکل موجهای دیگر نیز می توان به تحریک پیش پالس کاتدی اشاره کرد که به ازای هر پالس مثبت شیب منحنی هدایت کانال سدیمی تغییر می نماید، عرض پیش پالس ها نیز تغییر محسوسی ایجاد نمی کند. پیش پالسهای منفی می تواند باعث بسته شدن کانالهای سدیمی باشد [5,9].

در این مقاله با استفاده از تحریک پیش پالس کاتدی سعی در جداسازی زمانی فعالیت کانالهای سدیمی و پتاسیمی با حداکثر هدایت خود در مدت دوام پالس تحریک داریم تا تابع فعالیت کانالهای هدایتی کاملاً شناخته شده باشند و به طور مجزا این دو هدایت یونی از هم تفکیک شوند. در بررسی حاضر به نظر می رسد سیگنال طراحی شده نسبت به تکنیک های پیش پالس مثبت کاتدی [5] و شکل موجهای نمایی صعودی [4] کارایی بیشتری دارد.

مدل و شبیه سازی:

تغییرات پتانسیل غشاء در بافت عصبی حاصل دینامیک های پیچیده جریان های یونی کانالهای حساس به ولتاژ است که اولین اندازه گیریهای کمی جریان های یونی در اوایل 1950 توسط Hodgkin-Huxley صورت گرفت و با این عمل آنها توانستند معادلات دیفرانسیلی ارائه دهند که دینامیک پتانسیل عمل را توصیف می کرد. علاوه با ترکیب این معادلات با معادله کابل برای گسترش جریان

۴ mSec دوام می یابد. به ازای دامنه تحریک لازم هدایت پتاسیمی نیز با قدری تاخیر فعال می شود. برای نزدیک شدن به هدف موردنظر گام های ذیل را دنبال می کنیم.

گام اول: هدایت کامل کانالها و اعتبار سنجی مدل

در این مرحله تحریک کامل هر دو کانال با توجه به تحمل سلول در مدت دوام پالس را می بینیم. بدین منظور پالس تحریک با مدت دوام ۱۰ mSec در نظر گرفته می شود. اندازه میزان هدایت و مدت زمان هدایت دو کانال را بررسی می کنیم. مطابق با داده های این مسئله تحریک پالس پله ۱۱۰ mv را مرجع فرض می کنیم (شکل ۱- الف). با این تحریک هر دو کانال فعال می شوند. هدایت سدیمی حدوداً در ۴ mSec اولیه پالس تحریک دوام دارد (شکل ۱- ب) و هدایت پتاسیمی با تاخیر ۱ mSec شروع شده و پس از ۵ mSec به نهایت خود می رسد (شکل ۱- ج). پاسخهای مدل با توجه به داده های مراجع اعتبار و صحت عملکرد مدل را نشان می دهد.

گام دوم: دامنه تحریک هدایت کامل کانال سدیمی.

تعیین دامنه پالس تحریک کامل سدیمی به گونه ای است که هدایت پتاسیمی را نداشته باشیم. حداقل دامنه پالس که بتواند هدایت کامل کانال سدیمی را باعث شود و در ضمن هدایت پتاسیمی قابل صرف نظری را بسازد پالس ۶۰ mv بدست آمده است. پالس ۶۰ mv تحریک کانال سدیمی را به همراه داشته و کانال پتاسیمی را با تاخیر ۱ mSec و هدایت بسیار کم (۰.۱ ms/cm²) به همراه داشته است (شکل ۲).

گام سوم: دامنه تحریک هدایت کامل کانال پتاسیم.

تعیین دامنه پالس تحریک کامل کانال پتاسیمی و انتخاب تاخیر این پالس برای داشتن تاخیر کافی در فعالیت پتاسیمی بگونه ای است که تداخل کمتری با فعالیت سدیمی داشته باشد. زمان شروع این پالس با دامنه ۱۱۰ mv برابر با T1 = ۴.۳ (mSec) بدست می آید. زمانهای کمتر از T1 تداخل بیشتر فعالیت دو کانال (شکل ۳ solid). و زمانهای بزرگتر کاهش مدت هدایت کامل کانال پتاسیمی (شکل ۳ dash) را سبب می شود. با دوام این پالس فعالیت پتاسیمی نیز می تواند به حداکثر خود برسد. با وجود چنین تحریکی مدت دوام فعالیت فقط سدیمی

$$\beta_n(V) = 0.125 \text{ EXP} \left(-\frac{V}{80} \right) \quad (17)$$

در این روابط g_k حداکثر هدایت پتاسیمی و n_{ss} و τ_n پارامترهای وابسته به پتانسیل غشاء در تغییرات هدایت پتاسیمی نسبت به زمان می باشند. g_{Na} حداکثر هدایت سدیمی و m ضریب باز شدن دریچه سدیمی متغیر با زمان و m_{ss} و τ_m پارامترهای وابسته به پتانسیل غشاء در تغییرات m نسبت به زمان می باشند. h ضریب وضعیت non-activating و h_{ss} و τ_h پارامترهای وابسته به پتانسیل غشاء در تغییرات h نسبت به زمان می باشند. در حل عددی معادلات دیفرانسیل غیر خطی این مدل به روش رانگ - گوتا شرایط اولیه مطابق جدول (۱) را می توان در نظر گرفت [12]

جدول (۱): ثابت های معادلات دیفرانسیل H-H

$g_{Na} (K\Omega^{-1} cm^{-2})$		$g_K (K\Omega^{-1} cm^{-2})$	
120		36	
$V_{rest} (mv)$		$V_{Na} (mv)$	
-70		115	
$m(0)$	$n(0)$	$h(0)$	
0.05	0.32	0.6	
$V_K (mv)$	$V_L (mv)$	gl	
-12	10.6	0.3	

این مدل در محیط Matlab-Simulink6.5 روی سیستم کامپیوتر Pentium4 شبیه سازی شده است. ورودی مدل ولتاژ تحریک و خروجی های آن یعنی هدایت های سدیمی و پتاسیمی با توجه به روابط (۱) الی (۱۷) و ثابت های جدول (۱) بدست آمده است. بر این اساس پاسخ تحریکات مختلف بررسی می شود [13,14,15].

آنالیز پاسخها و تحریک پیشنهادی:

هدف اصلی تحقیق حاضر کنترل زمانهای هدایت سدیمی و پتاسیمی بوسیله موج تحریک ولتاژی در مدل H-H می باشد. هدایت سدیمی به ازای دامنه تحریک کافی حدود

گام آخر: بهینه سازی زمان تفکیک هدایت کانالها.

هدف اصلی تحقیق حاضر جداسازی فعالیت های سدیمی و پتاسیمی با تحریک ولتاژی است. پیش پالسهای پله مثبت [5] در فاصله زمانی هدایت دو کانال می تواند فعالیت سریعتر کانال پتاسیمی را باعث شود که با هدف تحقیق ناسازگار است (شکل ۶- الف و ج- solid). لذا از پالسهای پله منفی استفاده شد. پالسهای منفی بزرگتر به هدایت کامل سدیمی آسیب می رسانند (شکل ۶- الف و ب- dash). برای حذف سریعتر هدایت سدیمی و آغاز هدایت پتاسیمی پالس منفی بهینه بدست آمده در بازه زمانی [۴-۶ mSec] برابر با ۴۰ (mv) اعمال می شود (شکل ۶- الف و ب و ج dot). به ازای چنین پالس تحریکی زمان هدایت سدیمی محدود به بازه [۴-۴ mSec] و هدایت فقط پتاسیمی محدود به بازه [۰-۹,۵] خواهد بود. حداقل هدایت های دو کانال را در بازه [۴-۶ mSec] می بینیم. عرض پالس منفی $T_3 = 1 \text{ mSec}$ برای داشتن تاخیر در شروع هدایت پتاسیمی و کاهش هدایت سدیمی با اجراء برنامه و بررسی پاسخها بدست آمده است ..

جمع بندی:

در این تحقیق، هدف تفکیک سازی فعالیت کانالهای سدیمی و پتاسیمی توأم با هدایت کامل آنها بوده است. پس از اعتبار سنجی مدل و پاسخهای آن به تحریکهای شناخته شده، مشخصات تحریک پله استاندارد در فعال سازی کانالها با هدایت کامل در مدت دوام قابل تحمل از طرف سلول بعنوان مرجع اختیار شده و از پیش پالسهای پله جهت طراحی پالس تحریک پیشنهادی مورد نظر هدف بهره جسته ایم. استفاده از پالسهای نمایی صعودی برای فعال سازی کانال پتاسیمی وهم چنین پیش پالسهای متوالی پله مثبت نیز در ارتباط با هدف تحقیق ناکارآمد مشاهده شده اند. پاسخ تحریک طراحی شده روی مدل شبیه سازی شده H-H مشاهده و بهینه شده است. در این راستا به جداسازی کامل فعالیت کانالهای سدیمی و پتاسیمی دست یافته ایم. بدین ترتیب تابع فعالیت کانال شناخته شده تر بوده، پاسخها مستقل تر و بهتر قابل بررسی و آنالیز خواهند بود. این دستاورد روی مغز و عصب می تواند کارآیی داشته باشد.

حدود ۲ mSec به ازای هدایتی بیش از ۵۰٪ و برای پتاسیم این مقدار ۳ mSec مشاهده می شود.

استفاده از پالسهای نمایی صعودی در فعال سازی کانال پتاسیمی [4] مؤثر نیست و نمی تواند تفکیک سازی هدایت دوکانال را توأم با هدایت کامل پتاسیمی در مدت دوام قابل اعتبار پالس تحریک فراهم سازد. شکل (4) افزایش تداخل هدایت دو کانال را در باند میانی در استفاده از چنین پالسهای نشان می دهد ..

گام چهارم: حذف هدایت پتاسیمی.

بهترین شکل موج بدست آمده برای حذف سریع هدایت پتاسیمی پالس نمایی نزولی با شیب زیاد می باشد که به سرعت این هدایت را به صفر می رساند و بدین ترتیب پالس تحریک مورد نظر بدست می آید. در شبیه سازی، این پالس با شیب ۳۰- در نظر گرفته شده است. زمان شروع پالس نزولی پس از زمان $T_2 = 9,5 \text{ mSec}$ برای رسیدن به هدایت کامل پتاسیمی انتخاب می شود. (شکل ۵)

مراجع :

فارماکولوژی . جلسه ۳ شماره ۲ . پاییز و زمستان ۷۸.

[8] بلوچ نژاد مجرد، بررسی ویژگیهای الکتروفیزیولوژی

جریان های کلسیمی وابسته به ولتاژ در جسم سلولی نورون F1 حلزون باغی (Helix Aspersa) با استفاده از پتانسیل های فرمانی شبه دوزنقه ای در مقایسه با پتانسیل های زمانی مستطیلی، مجله کوثر، زمستان ۷۹ شماره ۴ و ۵ صفحات ۲۶۷-۲۸۰

[9] ۱ براهیمیان همایون، فیروزآبادی سید محمد، جان

احمدی مهیار، "مقایسه تاثیر شکل موجهای تحریکی جدید بر فعالیت کانالهای سدیمی و پتا سیمی، سمینار کلاسی، تابستان ۸۱.

[10] Rubinstein J.T, Axon termination conditions, IEEE transaction on biomedical Engineering. Vol.140, No7. July 1993.

[11] Mura C.B10 v , " A Quantitative Approximation Scheme for the traveling wave solutions in the Hodgkin - Huxley Model " , Biophysical Journal , Vol. 79, december 2000 , 2893- 2901

[12] Svetlana Vranic - Sowers , James W. Fleshman" Application of existing design software to problem in neuronal modeling , IEEE Transactions on biomedical engineering , Vol .41 , No.3 , March 1994

[13] Computer Analysis of electrophysiological signals, chapter seven, Analysis of voltage, activated currents for electrical stimulation.

[14] Chanfeng Tai, Dazong Jiang " Selective stimulation of smallest fibers in a compound nerve trunk with single cathode by rectangular current pulses , IEEE transaction on biomedical engineering , Vol. 41, No. 3 , March 1994.

[15] Charles .A. Millen , Panl .J. Abhas , Jay T ,Rubinstein " Electrically

[1] Plonsey, R.; "Bioelectric Phenomena " , 1969,(McGraw-Hill).

[2] Terry Bahill.A (1981) , Biomedical and clinical engineering, Prentice - Hall

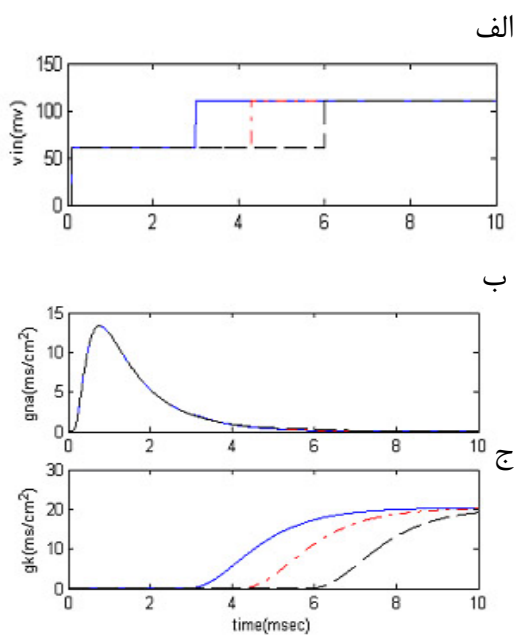
[3] Frank Rattay , Matthias.A , "Modeling axon membranes for functional electrical stimulation " , IEEE Transactions on biomedical engineering , Vol.40 , No.12 , December 1993 .

[4] حقی پور س، فیروز آبادی م، جان احمدی م، "مقایسه اثر ولتاژهای تحریکی شبه دوزنقه ای و راست گوشه بر روی فعالیت الکتریکی کانال های وابسته به ولتاژ سدیمی و پتاسیمی مدل سلول تحریک پذیر اولین همایش نقش و جایگاه ریاضیات در علوم انسانی و پزشکی" صفحه ۱۳ ، اسفند ماه ۱۳۷۹.

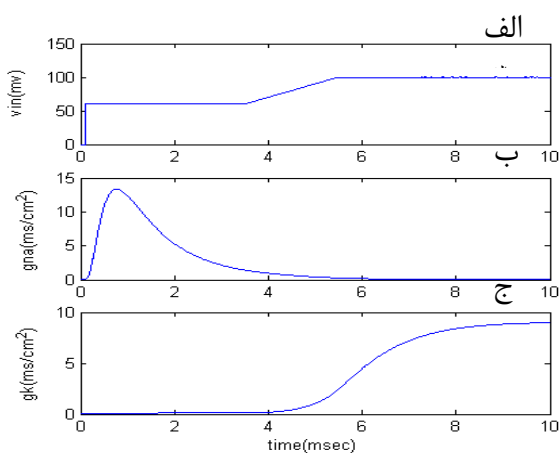
[5] مهنام امین، فیروز آبادی سید محمد، هاشمی گلپایگانی سید محمد رضا ، "بررسی تاثیر پارامتر های پیش پالس کاتدی در تحریک انتخابی فیبرهای مایلین دار و استخراج شکل موج جدیدی برای تحریک الکتریکی انتخابی"، دهمین کنفرانس مهندسی پزشکی ایران.

[6] Rubinstein .J.T" Threshold fluctuations in an N sodium channel model of the node of ranvier, Biophysical Journal , Vol. 68, March 1995 ,779-785

[7] توراندخت بلوچ نژاد مجرد. مهیار جان احمدی. محمد جعفر پور فیروزآبادی . "مقایسه اثر جریان های تحریکی نیمه دوزنقه ای و راست گوشه بر فعالیت الکتریکی و ویژگی های پتانسیل عمل کلسیمی و پتانسیل های متعاقب منفی نرون F1 در حلزون باغی (Helix Aspersa) با استفاده از روش ثبت داخل سلولی . فصل نامه فیزیولوژی

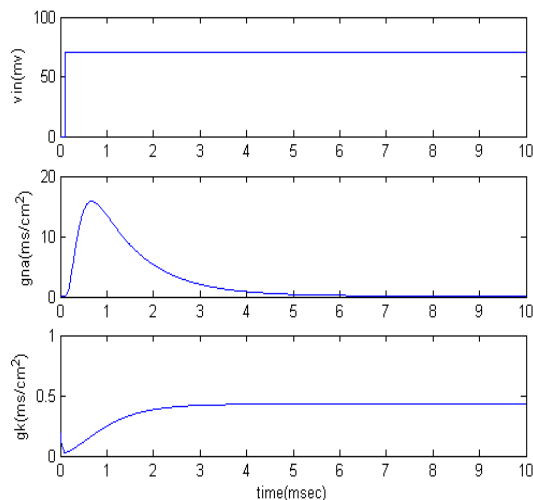


شکل (۳): الف - پالسهای step to step با زمانهای کمتر برابر و بیشتر از $T=4.3$ (mSec) به ترتیب dash و dot. solid - هدایت ها

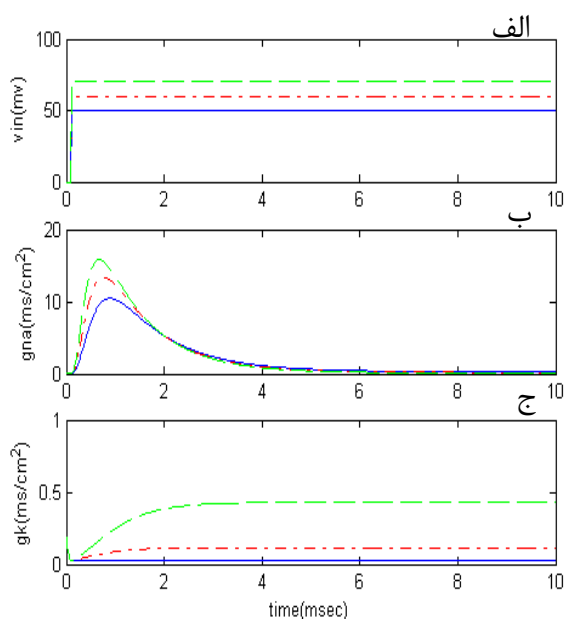


شکل (۴): الف - پالس تحریک نمای صودی و افزایش زمان تداخل هدایت دو کانال. ب - هدایت کانال پتاسیمی. ج - هدایت کانال سدیمی

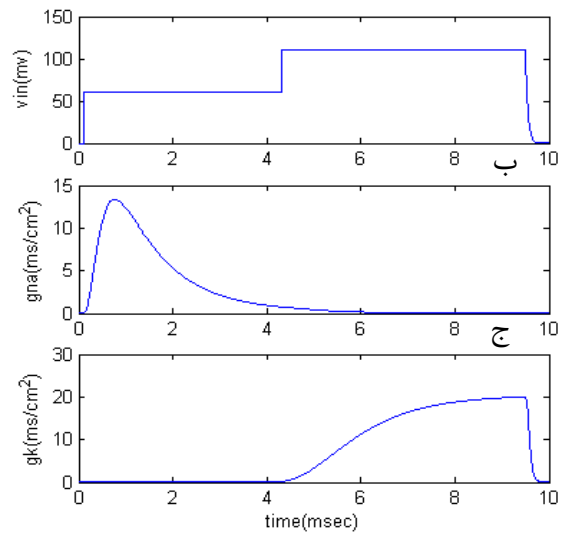
evoked compound action potentials of guineu pig and cats “ responses to monopolar , monophasic stimulation , Hearing Research 119 (1998) ELSEVIER 142-154



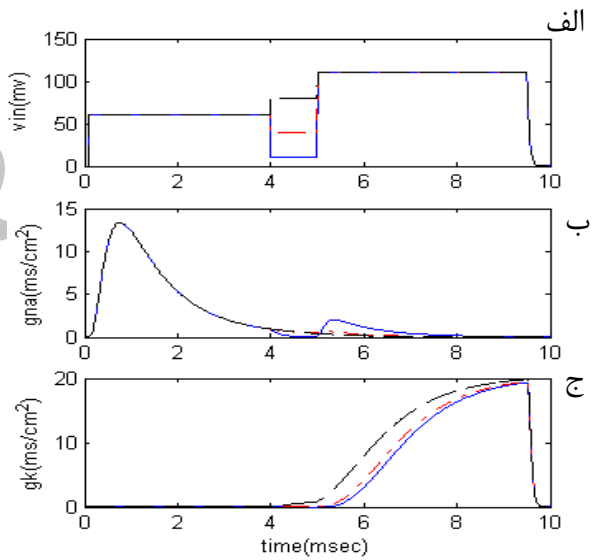
شکل (۱): الف - پالس تحریک mv-step 110 ب - هدایت سدیمی. ج - هدایت پتاسیمی.



شکل (۲): الف - پالسهای step dot. solid dash ب - هدایت های ترتیب برابر با ۵۰ و ۶۰ و ۷۰. ب - هدایت های سدیمی متناظر با پالسهای step. ج - هدایت های پتاسیمی متناظر با پالسهای step.



شکل (۵): الف - پالس تحریک step to step منتهی
به پالس نمایی نزولی. ب - هدایت سدیمی ج -
هدایت پتاسیمی



شکل (۶): الف - پیش پالسهای step کوچکتر، برابر و
بزرگتر از ۴۰ (mv) به ترتیب dash, dot, و solid ب -
هدایتها سدیمی متناظر ج - هدایتها پتاسیمی
متناظر.