

# Električni model akcionog potencijala okidajućeg neurona vinogradarskog puža *Helix pomatia*

---

*Cilj ovog rada je uvođenje poluprovodničkih elemenata u električna kola Hočkin-Hakslijevo modela i modelovanje jednostrukog i višestrukog pojavljivanja akcionih potencijala kod Br neurona vinogradarskog puža Helix pomatia. Procenjena su fizička ograničenja modela i ispitano koliko model odgovara zapisima akcionih potencijala Br neurona u realnom vremenu. Takođe, ispitani su uticaji jonskih kanala na višestruko pojavljivanje akcionih potencijala. Utvrđeno je da model verno prikazuje okidajući Br neuron puža Helix pomatia, ali samo u određenim opsezima.*

---

## Uvod

Odlika svake žive ćelije je postojanje membranskog potencijala. Membranski potencijal je posledica različite permeabilnosti ćelijske membrane za jone (Hodgkin 1975), postojanja stacionarnih anjona, uglavnom DNK i proteina, kao i postojanja aktivnosti membranske K-Na ATPaze. Ćelije koje mogu menjati svoj membranski potencijal nazivaju se nadražljive ćelije. Najpoznatiji primeri nadražljivih ćelija su neuroni, mišićne ćelije i neke žlezdane ćelije (Yarom 1985). Brzim promenama membranskog potencijala ćelije su u mogućnosti da odgovore na različite promene u njihovoj sredini.

Kada neka hemijska, mehanička ili električna draž deluje na membranu nadražljive ćelije, ona dovodi do promene permeabiliteta membrane za jone, što remeti potencijal membrane. Oscilatorna promena membranskog potencijala pri kojoj dolazi do promene polariteta membrane naziva se akcioni potencijal (Kandel *et al.* 2000).

Membranski potencijal mirovanja iznosi oko -60 mV. Pri otpočinjanju akcionog potencijala prvo se detektuje influks kalcijuma koji dovodi do porasta potencijala za oko 20 mV. Na toj vrednosti membranskog potencijala dolazi do otvaranja voltažno zavisnih natrijumovih kanala koji posreduju u influksu natrijuma. Kada membranski potencijal dostigne

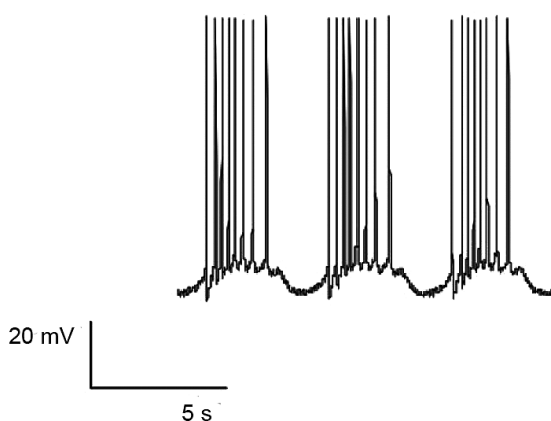
---

*Aleksandra Dimić (1991),  
Beograd, Siniše  
Stankovića 21/5, učenica 3.  
razreda Matematičke  
gimnazije u Beogradu*

*MENTOR: Miloš Rokić,  
Institut za  
multidisciplinarna  
istraživanja, Beograd*

pozitivne vrednosti dolazi do otvaranja voltažno zavisnih kanala za kalijum, pri čemu se detektuje efluks kalijuma (Salanaki 1976).

Na modelu vinogradarskog puža *Helix pomatia* kod okidajućih Br neurona detektovano je dva osnovna oblika akcionog potencijala – osnovno i intermitentno stanje. Tokom intermitentnog stanja u kratkom vremenskom intervalu dolazi do pojave višestruko ponovljenih akcionih potencijala (slika 1) koji se javljaju u skupovima od 4 do 12 (Nikolić *et al.* 2008). Broj ponavljanja akcionih potencijala u pojedinačnom skupu zavisi od stanja organizma puža. Pretpostavlja se da je intermitentno stanje posledica postojanja i aktivacije kalcijum zavisnih kalijumovih kanala (Gorman 1980).



Slika 1.  
Zapis intracelularno registrovanih akcionih potencijala okidajućeg Br neurona puža u realnom vremenu (Nikolić *et al.* 2008). Uočava se aktivnost neurona u paketima.

Figure 1.  
Record of action potentials of Br neurone in real time (Nikolić *et al.* 2008). Spiking activity is observed.

Međutim, kompletan mehanizam nastanka neuralne aktivnosti u paketima nije potpuno razjašnjen, kao ni faktori koji utiču na broj pojedinačnih okidanja u skupovima. Dosadašnji modeli akcionog potencijala se zasnivaju na prostornoj i vremenskoj analizi transmembranskih jonskih struja, uglavnom struja natrijumovih, kalijumovih i hloridnih jona. Najpoznatiji model akcionog potencijala je Hočkin-Haksljev (HH) model. Hočkin i Haksli su postavili model kao rezultat analize eksperimenata nametnute voltaže. Kod ovog modela je ustanovljeno da je akcioni potencijal rezultat promene provodljivosti membrane za jone  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  i da ta provodljivost na specifičan način zavisi od membranskog potencijala i vremena (Andus 2001). Iz zapisa transmembranske jonske struje može se dobiti informacija o provodljivosti membrane za jon koji je nosilac registrovane struje imajući u vidu jednačinu (proisteklu iz Omovog zakona  $I = V/R$ ):

$$I_j = g_j \cdot (V_m - E_j)$$

gde je  $I_j$  – jonska struja,  $g_j$  – provodljivost membrane za dati jon ( $j$ ),  $g = 1/R$ ,  $V_m$  – membranski potencijal, a  $E_j$  – ravnotežni potencijal za dati jon ( $j$ ) koji se može se izračunati iz Nernstove jednačine:

$$E_j = \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_e}{[j]_i}$$

gde je  $[j]_e$  – ekstracelularna koncentracija jona, a  $[j]_i$  – intracelularna koncentracija jona ( $j$ ).

Promene provodljivosti se dobijaju numeričkom analizom registrovanih zapisa potencijala membrane i jonskih struja:

$$g_j = \frac{I_j}{V_m - E_j}$$

Sistematski menjajući nametnute potencijale i mereći veličine transmembranskih jonskih struja, utvrđuje se voltažna zavisnost jonskih provodljivosti koje se aktiviraju u toku akcionih potencijala.

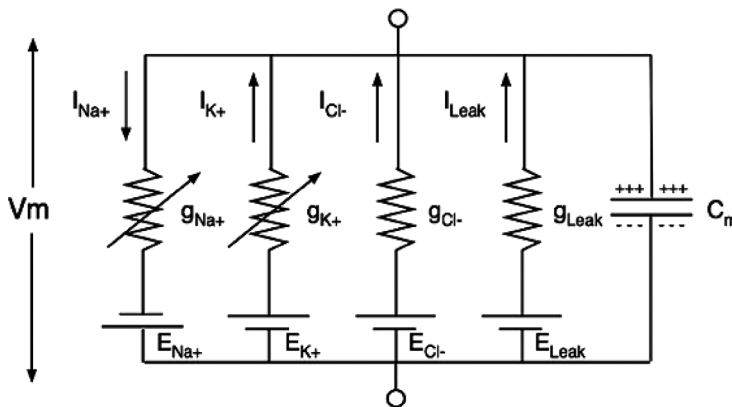
$$I_m = I_i + I_c$$

gde je  $I_m$  – ukupna transmembranska struja,  $I_c$  – kapacitivna struja, a  $I_i$  – transmembranska jonska struja tj.

$$I_m = I_{Na} + I_K + I_{Cl} + I_c$$

i najzad kombinacijom jednačina:

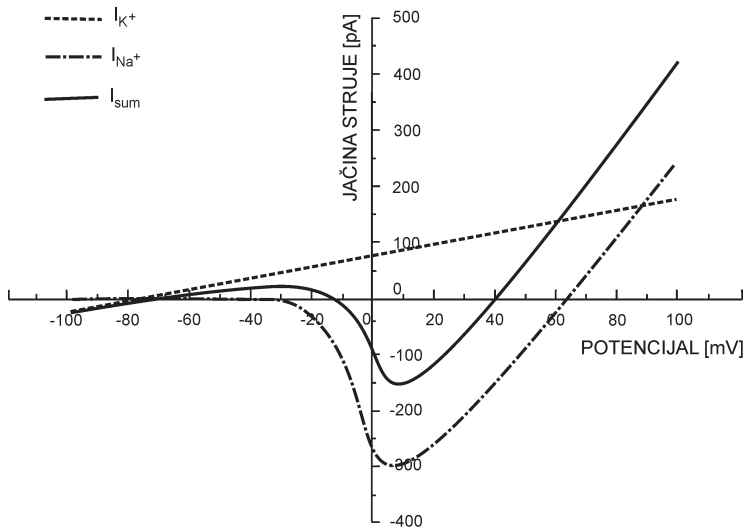
$$I_m = g_{Na}(V_m - E_{Na}) + g_K(V_m - E_K) + g_{Cl}(V_m - E_{Cl}) + C_m \frac{\partial V_m}{\partial t}$$



Slika 2.  
Shema električnog kola  
kojom su Hočkin i  
Haksli predstavili svoj  
model

Figure 2.  
Scheme of electrical  
circuit given by  
Hodgkin and Huxley

Hočkin-Hakslijev model (slika 2) izostavlja ulogu jonskih kanala za kalcijum. U Hočkin-Hakslijevom modelu jonski kanali su predstavljeni kao promenljivi otpornici. Međutim, postoje razmatranja da jonski kanali ne funkcionišu kao promenljivi otpornici, već kao poluprovodnički elementi različitih strujno-naponskih karakteristika (Maeda i Makino 2000), na šta sugeriše i oblik krivih datih na slici 3.



Slika 3. Prikaz strujno naponskih karakteristika jona kalijuma i natrijuma kao i sumarna strujno-naponska karakteristika za kanale

Figure 3. Current-voltage characteristics of potassium and sodium ions as well as summative current-voltage characteristic of the channels

U membrani neurona postoji voltažno zavisni natrijumov kanal koji je zatvoren pri negativnim vrednostima membranskog potencijala, zavisni kalijumov kanal koji se otvara na jako pozitivnim vrednostima membranskog potencijala i pasivni kanali za hloridne jone koji su uvek otvoreni to jest otpor je konstantan ali je njihov broj u membrani jako mali, tj niska je gustina funkcionalne ekspresije (Hille 2003). Strujno-naponske karakteristike pomenutih kanala ukazuju da se radi o poluprovodničkim elementima i kombinacijama istih sa pasivnim elementima strujnih kola.

## Cilj

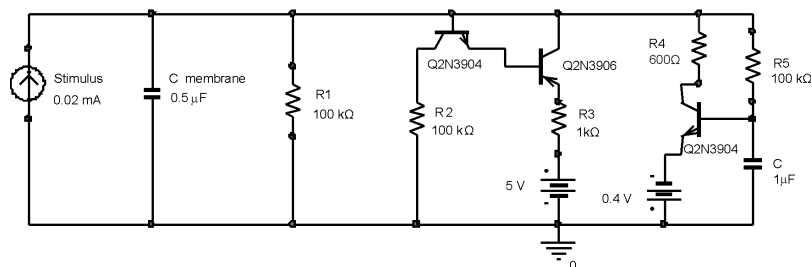
Cilj ovog rada je uvođenje poluprovodničkih elemenata u električna kola Hočkin-Haksljevog modela i modelovanje jednostrukog i višestrukog pojavljivanja akcionih potencijala kod Br neurona vinogradarskog puža *Helix pomatia*. Procenjena su fizička ograničenja modela, i ispitano koliko model odgovara zapisima akcionih potencijala Br neurona puža u realnom vremenu.

## Materijal i metode

Konstrukcija i analiza električnog kola sprovedena je modelovanjem i simulacijom pomoću softverskog paketa Pspice Student 9.1. Analiza kola je podrazumevala testiranje različitih vrednosti parametara pasivnih komponenta kola i jačine inicijalnog stimulusa. (3) Analiza je bila usmerena na determinaciju graničnih vrednosti parametara komponenta kola izvan kojih model ne odgovara realnom sistemu.

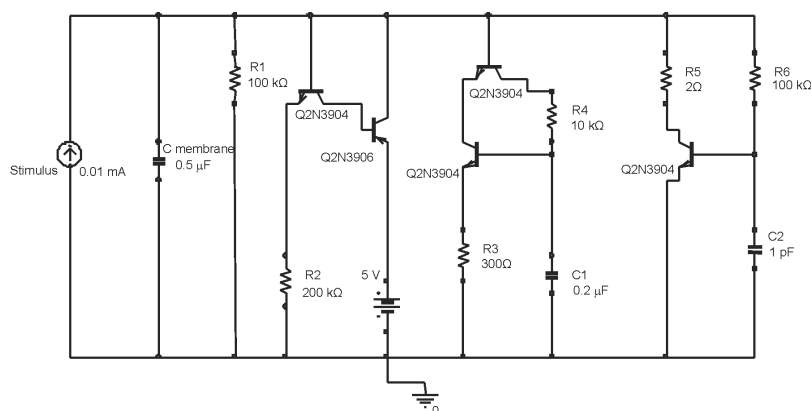
## Rezultati i diskusija

Strujna kola koje su konstruisana sa ciljem modelovanja akcionog potencijala su predstavljena na slikama 4 i 5. Akcioni potencijali u jednostrukom (monomodalnom) obliku su dobijeni analizom potencijala dobijenih pomoću kola na slici 4, dok u višestrukom (polimodalnom) pomoću kola na slici 5.



Slika 4.  
Strujno kolo model Br neurona u monomodalnom režimu

Figure 4.  
Electrical circuit model of Br neurone in mono-modal mode



Slika 5.  
Strujno kolo model Br neurona u polimodalnom režimu

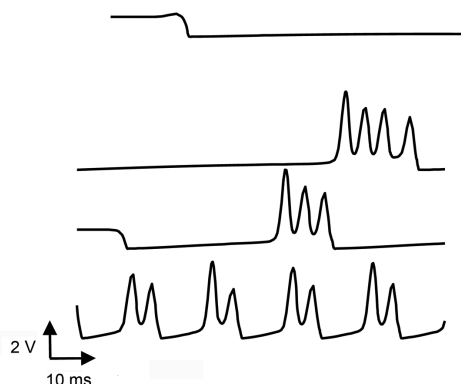
Figure 5.  
Electrical circuit model of Br neurone in poli-modal mode

U oba kola kapacitivne promene na membrani su modelovane kondenzatorom C membransko. Struja curenja koja je propratna pojava u toku elektrofiziološkog registrovanja je modelovana otpornikom R1. Kalijumov jonski kanal u kolu sa slike 4 modelovan je pomoću diode Q2N3904, diode Q2N3906, otpornika R2 i R3 i izvora jednosmerne struje. Natrijumov jonski kanal u kolu sa slike 5 modelovan je pomoću diode Q2N3904, otpornika R4 i R5, kondenzatora kapacitivnosti C i izvora jednosmerne struje. Kalijumov jonski kanal u kolu sa slike 5 modelovan je pomoću diode Q2N3904, diode Q2N3906, otpornika R2 i izvora jednosmerne struje. Natrijumov jonski kanal u kolu sa slike 5 modelovan je pomoću diode Q2N3904, otpornika R5, R6 i kondenzatora kapacitivnosti C2. Kolo sa slike 5 sadrži i kalijum zavisani kalcijumov kanal koji

je modelovan pomoću dve diode Q2N3904, otpornika R3 i R4 i kondenzatora kapacitivnosti C1.

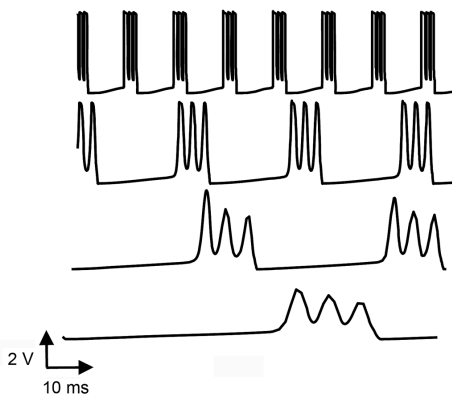
Analizom strujnog kola sa slike 5 utvrđeni su parametri kola pri kojima se dobija zadovoljavajuća modularnost. Ispitana su ograničenja modela i uticaji pojedinih elemenata kola na modularnost.

Konstatovano je da postoji minimalni intenzitet stimulusa pri kome dolazi do okidanje akcionih potencijala koji iznosi  $2.54 \mu\text{A}$ . Sa grafika (slika 6), na kome je strujno kolo u slobodnom režimu uočava se da je potrebno jako kratko vreme da se uspostavi konstantan napon membrane neurona, dok do porasta potencijala dolazi usled usklađivanja rada kola (punjenje kondenzatora). Porastom stimulusa dobija se manje izražena modularnost. Promena kapacitivnosti membrane (slika 7) ne utiče na modularnost, već samo na trajanje jednog skupa ponavljanja, tj. period okidanja, što je u skladu sa fiziologijom. Kad je debljina membrane veća odgovor se brže prenosi, odnosno trajanje jednog paketića je manje. Istovremeno, kad je membrana deblja, kapacitet membranskog kondenzatora je manji ( $C \sim d^{-1}$ ).



Slika 6.  
Signali koje daje intermitentno kolo pri vrednostima stimulusa od 0, 0.004, 0.008 i 0.05 mA

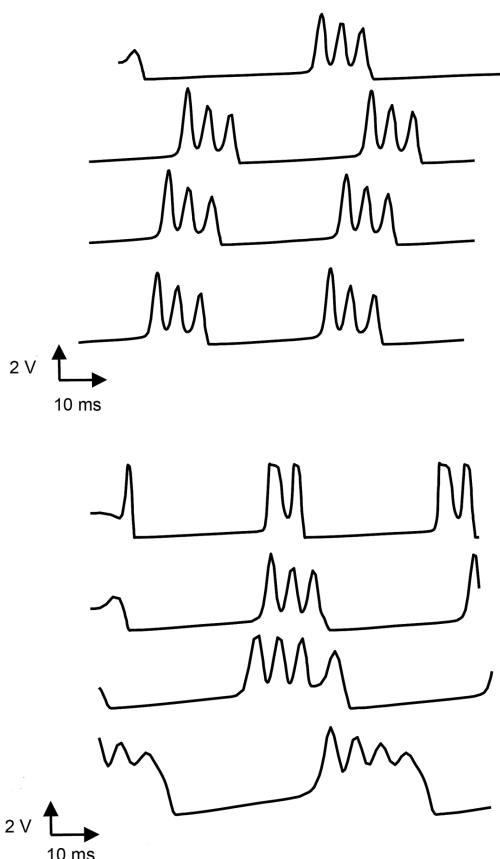
Figure 6.  
Signals given by intermittent circuit when the values of the stimulus are 0, 0.004, 0.008 and 0.05 mA



Slika 7.  
Signali koje daje intermitentno kolo pri vrednostima C membransko od 1 nF, 0.2  $\mu\text{F}$ , 0.5  $\mu\text{F}$  i 1  $\mu\text{F}$

Figure 7.  
Signals given by intermittent circuit when the values of C membrane are 1 nF, 0.2  $\mu\text{F}$ , 0.5  $\mu\text{F}$  and 1  $\mu\text{F}$

Otpor  $R_1$  ne utiče ni na modularnost ni na period ni na amplitudu signala (slika 8), što je pozitivna strana modela, jer  $R_1$  predstavlja otpor preko koga se kače mikrodiode pri davanju stimulusa. Postoji minimalni  $R_1$  koji iznosi  $30 \text{ k}\Omega$ , pri kome dolazi do uspostavljanja rada kola; to znači da ako mikroelektrode nisu dobro pričvršćene eksperiment se smatra neuspelim. Posmatranjem kanala za jone natrijuma (kanal koji se sastoji iz diode i  $R_2$ ) utvrđeno je da  $R_2$  utiče na modularnost (slika 9). Postoji opseg vrednosti  $R_2$  pri kojima kolo funkcioniše kao neuron ( $150\text{-}1000 \text{ k}\Omega$ ), kada vrednosti izlaze iz ovog opsega dolazi do nemogućnosti provođenja struje kroz diodu ili do proboja diode. Povećavanjem intenziteta  $R_2$  dobija se veći broj okidanja u skupu, ali taj broj ne prelazi 4.



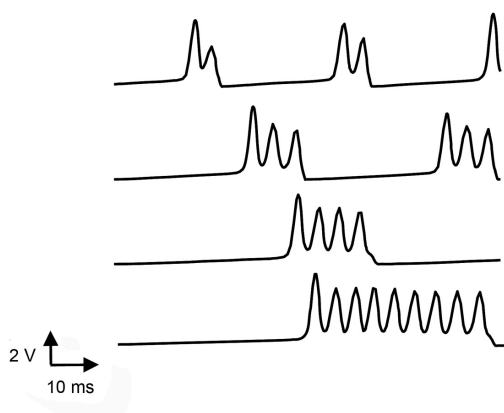
Slika 8.  
Signali koje daje  
intermitentno kolo pri  
vrednostima  $R_1$  od  
 $50 \text{ k}\Omega$ ,  $200 \text{ k}\Omega$ ,  
 $1 \text{ M}\Omega$  i  $1 \text{ G}\Omega$

Figure 8.  
Signals given by  
intermittent circuit  
when the values of  
 $R_1$  are  $0 \text{ k}\Omega$ ,  
 $200 \text{ k}\Omega$ ,  $1 \text{ M}\Omega$  and  
 $1 \text{ G}\Omega$

Slika 9.  
Signali koje daje  
intermitentno kolo pri  
vrednostima  $R_2$  od  
 $100$ ,  $250$ ,  $300$  i  
 $500 \text{ k}\Omega$

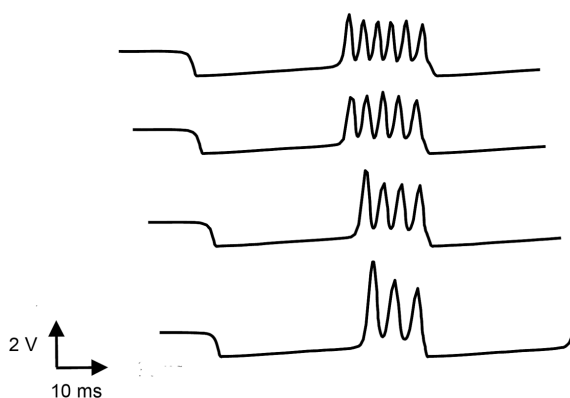
Figure 9.  
Signals given by  
intermittent circuit  
when the values of  
 $R_2$  are  $100$ ,  $250$ ,  $300$   
and  $500 \text{ k}\Omega$

Jonski kanal za kalijum ima 3 promenljive komponente ( $R_5$ ,  $R_6$  i  $C_2$ ). Promenom vrednosti tih komponenti utvrđeno je da  $R_5$  i  $R_6$  ne utiču na modularnost i nema značajnih promena amplitude, ali da  $C_2$  utiče na modularnost (slika 10). Minimalna vrednost  $R_5$  je  $2 \text{ k}\Omega$ ,  $R_6$  mora biti u opsegu ( $10\text{-}100 \text{ k}\Omega$ ), a minimalna vrednost  $C_2$  je  $0.2 \mu\text{F}$ .



Slika 10.  
Signali koje daje  
intermitentno kolo pri  
vrednostima  $C_2$  od  
0.5, 1, 2 i 5  $\mu\text{F}$

Figure 10.  
Signals given by  
intermittent circuit  
when the values of  
 $C_2$  are 0.5, 1, 2 and  
5  $\mu\text{F}$



Slika 11.  
Smanjivanje broja  
pikova usled promena  
 $R_3$ ,  $R_4$  i  $C_1$

Figure 11.  
Decrease in number  
of spikes with change  
in values of  $R_3$ ,  $R_4$   
and  $C_1$

Najmanje istraženi kanal je kalijum zavisan kalcijumov kanal. Primećuje se da promenom  $R_3$  dolazi samo do promene modularnosti, a da nema promena u trajanju signala i amplitude što govori da je pojava više okidanja posledica rada ovog kanala. Svi elementi ovog kanala ( $R_3$ ,  $R_4$  i  $C_1$ ) utiču na modularnost. Povećavanjem vrednosti  $R_4$  ili  $R_3$  ili  $C_1$ , broj pikova se smanjuje (slika 11).

## Zaključak

Upoređivanjem signala dobijenih modelovanjem i realnih signala okidajućeg Br neurona puža *Helix pomatia* utvrđeno je da teorijske pretpostavke važe i da model verno prikazuje realnost. Postoje tehnička ograničenja mogela, stoga on funkcioniše u određenom opsegu vrednosti.

**Zahvalnost.** Zahvalnost za uspešnu realizaciju projekta dugujem Milošu Rokiću, dipl. biohemičaru, Ivanu Razumeniću, studentu Elektrotehničkog fakulteta u Beogradu, i rukovodiocu programa molekularne biomedicine Luki Mihajloviću, dipl. biohemičaru.



## Literatura

- Anđus R. K. 2001. *Opšta fiziologija i biofizika*. Beograd: Univerzitet u Beogradu
- Analog and digital neural hardware models. Dostupno na:  
<http://www.nbb.cornell.edu/neurobio/land/PROJECTS/NeuralModels/index.html>
- Gorman, A. L. F., Thomas M. V. 1980. Intracellular calcium accumulation during depolarization in a molluscan neurone. *J. Physiol. (Lond.)*, 308: 259-285.
- Hille B. 2003. *Ion Channels of Excitable Membranes*. Massachusetts: Sinauer Associates
- Hodgkin A. L. 1975. The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. *Biol. Rev.* 26: 309-409.
- Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. 2000. *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill
- Maeda Y., Makino H. 2000 A pulse-type hardware neuron model with beating, bursting excitation and plateau potential. *BioSystems* 58 (2000): 93-100.
- Nikolić Lj., Kartelija G., Nedeljković M. 2008. Effect of static magnetic fields on bioelectric properties of the Br and N1 neurons of snail *Helix pomatia*. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **151**: 657.
- Salanki J. 1976. *Neurobiology of invertebrates*. Budapest: Akademiai Kiado
- Yarom Y. 1985, Ionic currents and firing patterns of mammalian vagal motoneurons in vitro. *Neuroscience* 16: 719-737.

---

Aleksandra Dimić

### Electrical Model of Multispike Neuron Action Potential in the Burgundy Snail *Helix pomatia*

The aim of this project is adding semiconductor elements into circuits of the Hodgkin-Haxley model and modeling single and multiple spiking in Br neurons of the Burgundy snail *Helix pomatia*. The physical limitations of the model are estimated and recordings of action potentials of the Br neuron in real time are compared. Also, the effects of ion channels on multispiking are discussed. It was found that the model faithfully describes spiking of Br neurons of the snail *Helix pomatia*. However, it has some limitations and works only in certain bands. Further analysis of existing results can be performed in future research.

