



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΩΝ ΚΑΙ
ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗΣ (BIOSIM)

2η Εργαστηριακή Αναφορά στο μάθημα
**“ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ”** του 9ου Εξαμήνου

του Εμμανουήλ Αναστάσιου Σερλή, Α.Μ. 03118125

4 Πρακτική εξάσκηση

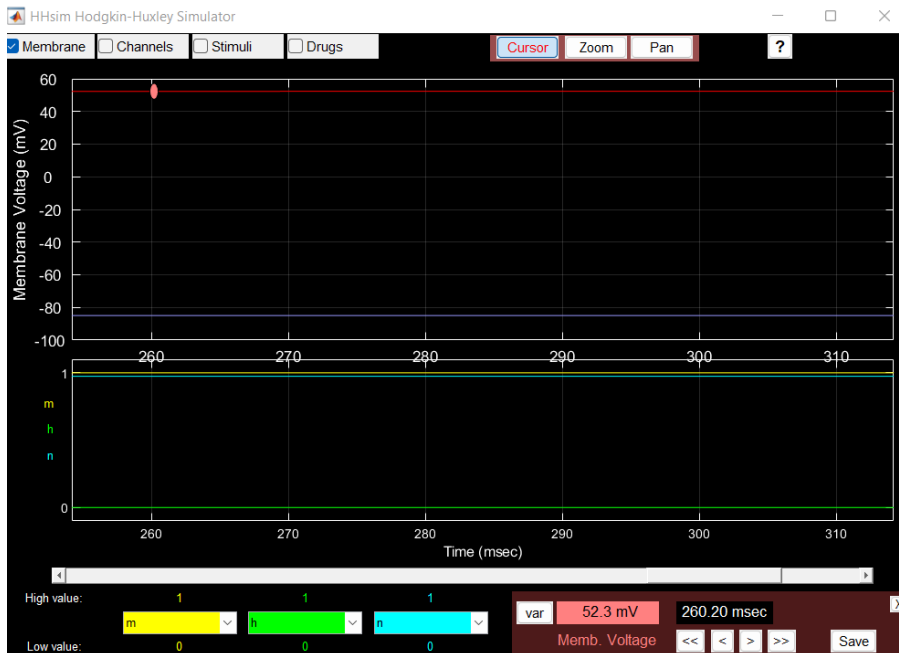
Εφόσον ο Α.Μ. είναι ο 031181125, έχουμε $a=1$, $b=8$, $c=1$, $d=2$, $e=5$. Έτσι, λαμβάνουμε τις κάτωθι τιμές για τις παραμέτρους

P1.2	41.2 mV
P1.3	9.85%
P1.4	-2 mV
P2.2	-42.5 mV
P2.3	-35.3 mV
P3.3	68 nA
P3.4	-5.15 nA
P4.3	45 mV
P5.4	0.6 ms

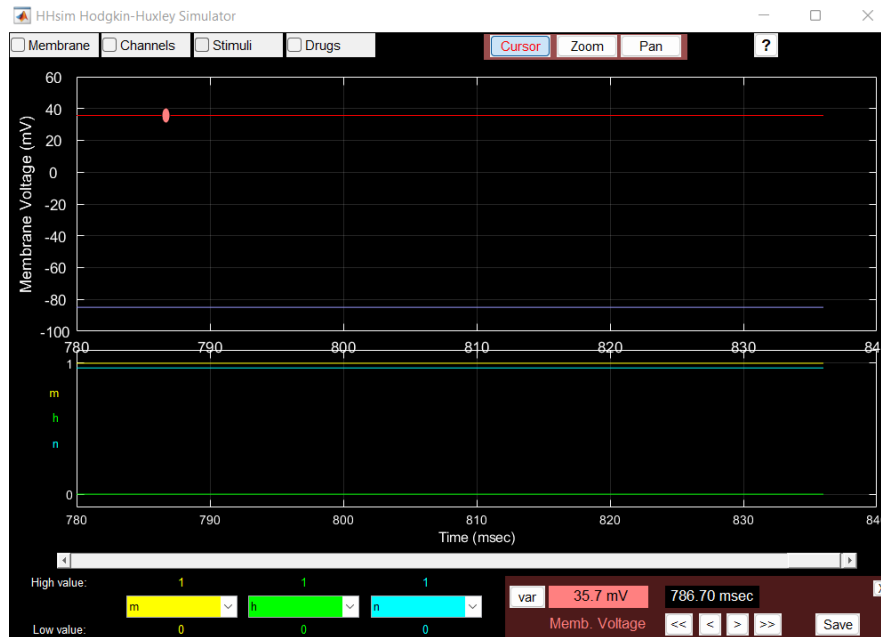
4.1. Δυναμικό Ηρεμίας

Ερώτηση 1:

Αρχικά, απενεργοποιούμε όλα τα κανάλια πέρα από το παθητικό κανάλι νατρίου, από το οποίο λαμβάνουμε το εξής αποτέλεσμα στο προσομοιωτικό:



Στην συνέχεια, υποδιπλασιάζουμε την συγκέντρωση νατρίου από τα 440 mM στα 220 mM και παρατηρούμε μείωση της τάσης στην μεμβράνη από τα 52.3 mV στα 35.7 mV όπως φαίνεται και στην κάτωθι εικόνα:



Αυτό επαληθεύεται θεωρητικά και από την εξίσωση του Nerst για τις δύο διαφορετικές τιμές εξωτερικής συγκέντρωσης του νατρίου:

$$E_X = \frac{RT}{zF} \ln \frac{x_{out}}{x_{in}}$$

- Για $Na_{in} = 50mM$ και $Na_{out} = 440mM$: $E_X = \frac{RT}{zF} * 2.174$, που αντιστοιχεί σε δυναμικό μεμβράνης ίσο με 52.3mV
- Για $Na_{in} = 50mM$ και $Na_{out} = 220mM$: $E_X' = \frac{RT}{zF} * 1.48$, που αντιστοιχεί σε δυναμικό μεμβράνης ίσο με $52.3 * \frac{1.48}{2.17} = 35.67$ mV, που απέχει ελάχιστα από την τιμή των 35.7 mV της προσομοίωσης.

Ερώτηση 2:

Επιθυμούμε τιμή $V_r = P1.2 = 41.2$ mV, η οποία δίνεται για εξωτερική συγκέντρωση νατρίου που υπολογίζεται από τον τύπο του Nerst ως εξής:

$$x_{out} = e^{Ex * zF / RT} * x_{in}, \text{ με:}$$

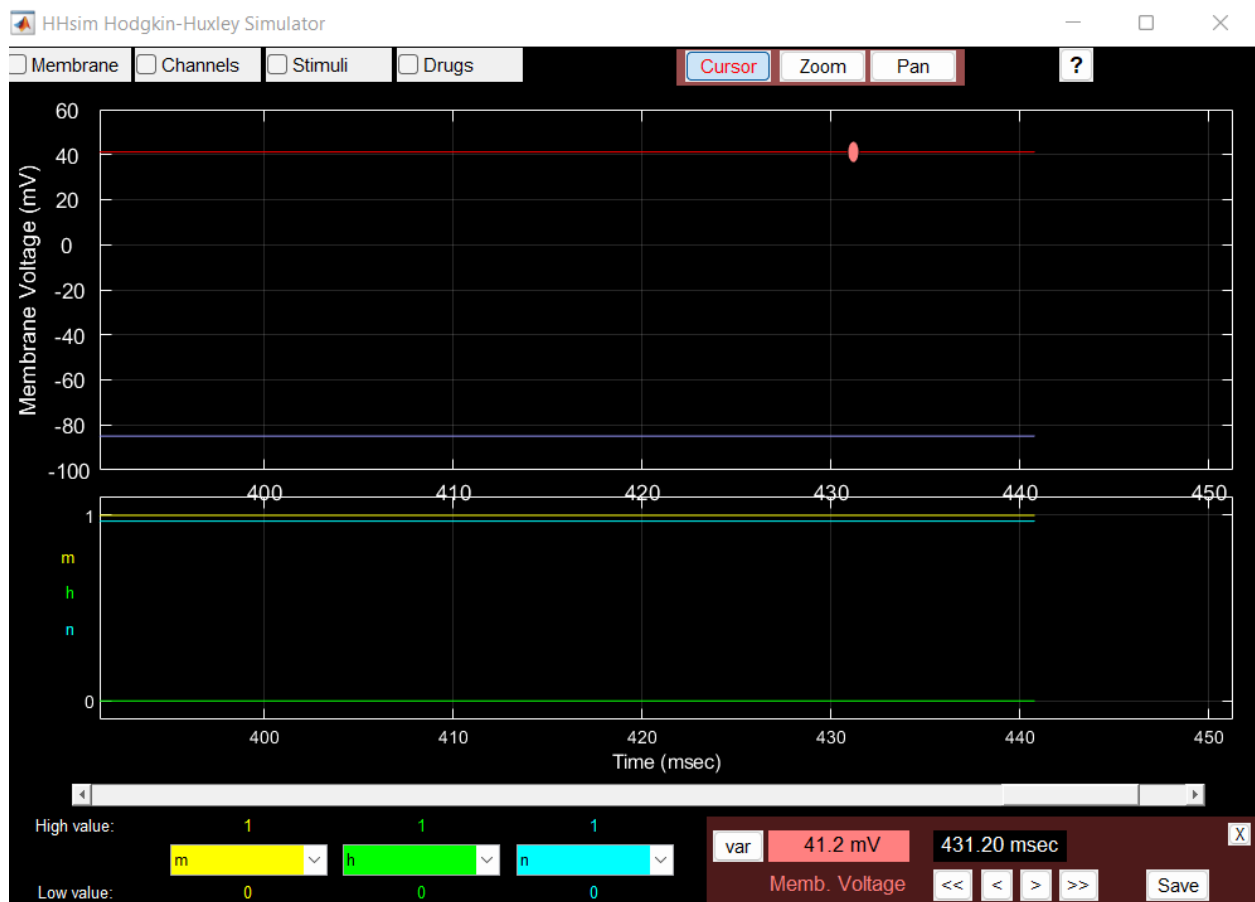
$$R = 8,314472 \text{ (m}^2\text{s}^2\text{kg)/(K * mol)}$$

$$T = 279.3 \text{ K}$$

$$F = 96.486,3415 \text{ C/mol}$$

$$z = 1$$

Έτσι, λαμβάνουμε την τιμή $x_{out} = 277 \text{ mM}$, η οποία πράγματι μας δίνει $V_r \approx 41.2 \text{ mV}$, όπως φαίνεται και από τα αποτελέσματα του hhsim:



Ερώτηση 3:

Παρατηρούμε από τον τύπο του Nerst για το δυναμικό ηρεμίας πως αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε αύξηση του δυναμικού ηρεμίας. Έτσι, αύξηση δυναμικού κατά 9.85% θα επιτευχθεί με αύξηση της

θερμοκρασίας κατά το ίδιο ποσοστό. Με βάση το ερώτημα 2, ορίζουμε αρχική θερμοκρασία $T_1=279.3\text{K}$. Η επαυξημένη θερμοκρασία θα είναι $T_2 = (1+0.0985)*T_1=1.0985*T_1$ ή **$T_2 = 306.81\text{K}$**

Ερώτηση 4:

Από την εξίσωση του Nernst, μπορούμε να απαριθμήσουμε 3 βασικούς παράγοντες που μεταβάλλουν την τιμή V_r :

- Την θερμοκρασία T
- Την συγκέντρωση του ιόντος εντός της μεμβράνης C_{in}
- Την συγκέντρωση του ιόντος εκτός της μεμβράνης C_{out}

Στην περίπτωση μας, θέλουμε να επιτύχουμε $V_r = P1.4 = -2\text{mV}$, κάτι το οποίο επιτυγχάνεται για τους συνδυασμούς συγκεντρώσεων Na και θερμοκρασίας που αναγράφονται παρακάτω:

The screenshot shows a software window titled "Membrane" with a black background and red text. It displays various parameters for a membrane simulation, including ion concentrations, temperature, and membrane properties. The parameters are organized into rows and columns, with some values highlighted in red boxes.

	C_{in} (mM)	C_{out} (mM)	E_{ion}
Na^+	50.0	46.0	-2.0 mV
K^+	400.0	20.0	-71.9 mV
Cl^-	52.0	560.0	-57.0 mV

Below the table, the temperature T is set to 5.30 °C. The passive V_r is -2.0 mV. The membrane resistance R_m is 5.1 MΩ. The membrane capacitance C_m is 1.00 nF.

At the bottom left, there are two buttons: "Reset" and "Hide".

4.2 Δυναμικό Μεμβράνης

Ερώτηση 1:

Παρακάτω αναγράφεται η εξίσωση παράλληλων αγωγιμοτήτων για το δυναμικό ηρεμίας ως συνάρτηση του δυναμικού ισορροπίας και των αγωγιμοτήτων του καναλιού:

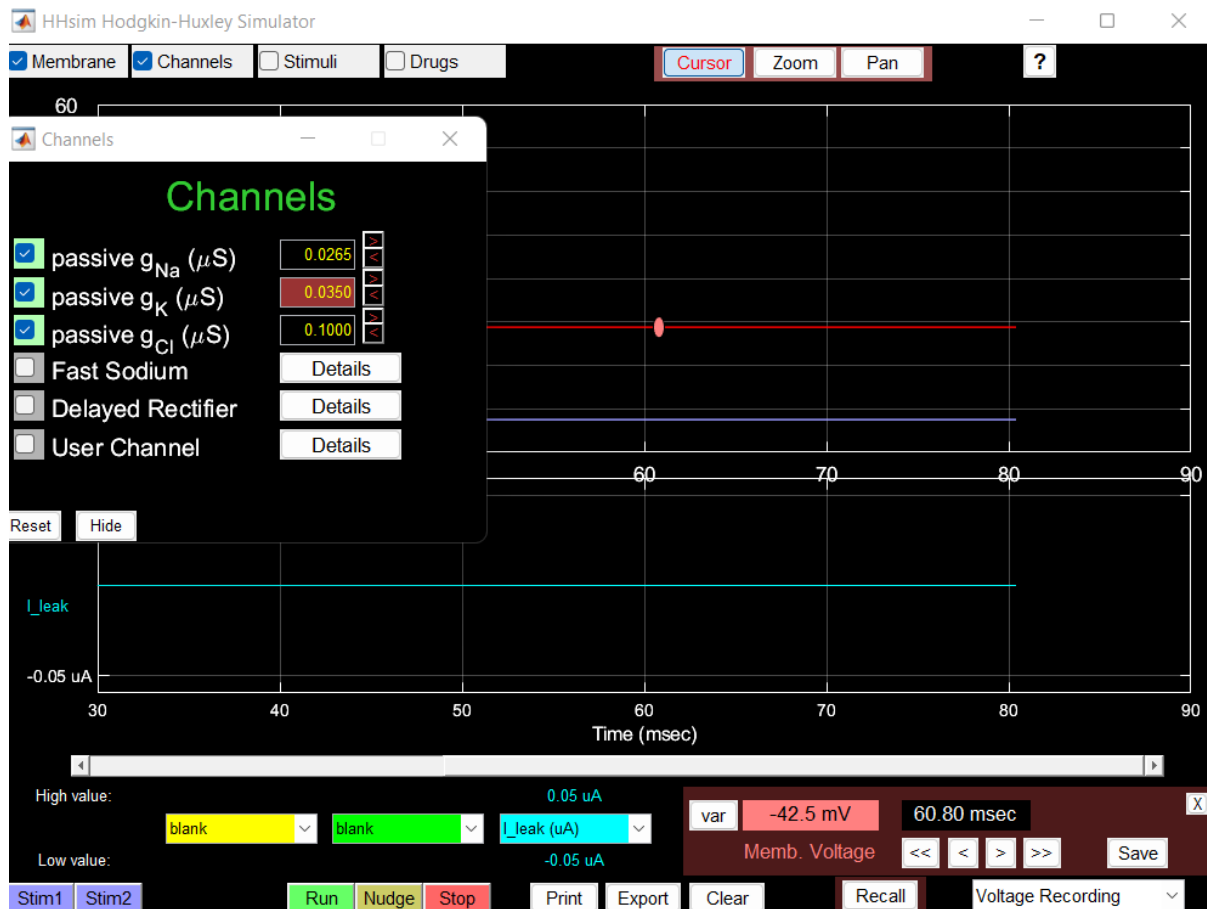
$$E = \frac{E_K * G_K + E_{Na} * G_{Na} + E_{Cl} * G_{Cl}}{G_K + G_{Cl} + G_{Na}}$$

Με βάση τις initial τιμές δυναμικού και αγωγιμοτήτων που προσφέρει το hhsim και φαίνονται παρακάτω, υπολογίζουμε το δυναμικό ηρεμίας **E = -47.727 mV**

The screenshot shows two windows from the hhsim software. The 'Channels' window on the left has a green title and lists three active channels: 'passive g_{Na} (μS)' with a value of 0.0265, 'passive g_K (μS)' with 0.0700, and 'passive g_{Cl} (μS)' with 0.1000. It also lists 'Fast Sodium', 'Delayed Rectifier', and 'User Channel' which are currently inactive. The 'Membrane' window on the right has a red title and displays various parameters: C_{in} (mM) = 50.0, C_{out} (mM) = 440.0, E_{ion} for Na⁺ = 52.4 mV, K⁺ = -72.1 mV, and Cl⁻ = -57.2 mV. It also shows T (°C) = 6.30, passive V_r = -47.8 mV, R_m = 5.1 MΩ, and C_m (nF) = 1.00. Both windows have 'Reset' and 'Hide' buttons at the bottom.

Ερώτηση 2:

Θέλουμε τιμή V_r = E = P2.2 = -42.5mV. Η επιθυμητή τιμή συγκέντρωσης ιόντων καλίου βρίσκεται αν λύσουμε την εξίσωση παράλληλης αγωγιμότητας ως προς G_K από όπου και λαμβάνουμε επιθυμητή τιμή ίση με **0.035 μS**, κάτι που επαληθεύεται και από τα αποτελέσματα του προσομοιωτικού:



Ερώτηση 3:

Για να λάβουμε επιθυμητό δυναμικό ηρεμίας ίσο με P2.3 (≈ -35.3 mV), αποφασίστηκε να μείνουν σταθερές οι συγκεντρώσεις νατρίου και καλίου και να μεταβάλλεται μονάχα η συγκέντρωση του χλωρίου. Έτσι, μετά από εμπειρικό πειραματισμό με το προσομοιωτικό, η ζητούμενη τιμή επετεύχθη για $G_{Cl} = 172 \mu S$, όπως μπορεί να φανεί και παρακάτω:

Membrane

Membrane

	C_{in} (mM)	C_{out} (mM)	E_{ion}
Na^+	50.0	440.0	52.4 mV
K^+	400.0	20.0	-72.1 mV
Cl^-	52.0	172.0	-28.8 mV

T ($^{\circ}C$) 6.30

passive $V_r = -33.3$ mV

$R_m = 5.1$ M Ω

C_m (nF) 1.00

Reset Hide

Ερώτηση 4:

Για το εν λόγω ερώτημα, αποφασίστηκε να τα απενεργοποιηθεί το κανάλι Na. Στην συνέχεια, έγινε προσαρμογή των εξωτερικών συγκεντρώσεων K και Cl ώστε να επιτευχθεί $V_r = 0$ V. Το αποτέλεσμα της προσομοίωσης αναγράφεται παρακάτω:

Membrane

Membrane

	C_{in} (mM)	C_{out} (mM)	E_{ion}
Na^+	50.0	440.0	52.4 mV
K^+	400.0	100.0	-33.4 mV
Cl^-	52.0	19.7	23.4 mV

T ($^{\circ}C$) 6.30

passive $V_r = 0.0$ mV

$R_m = 5.1$ M Ω

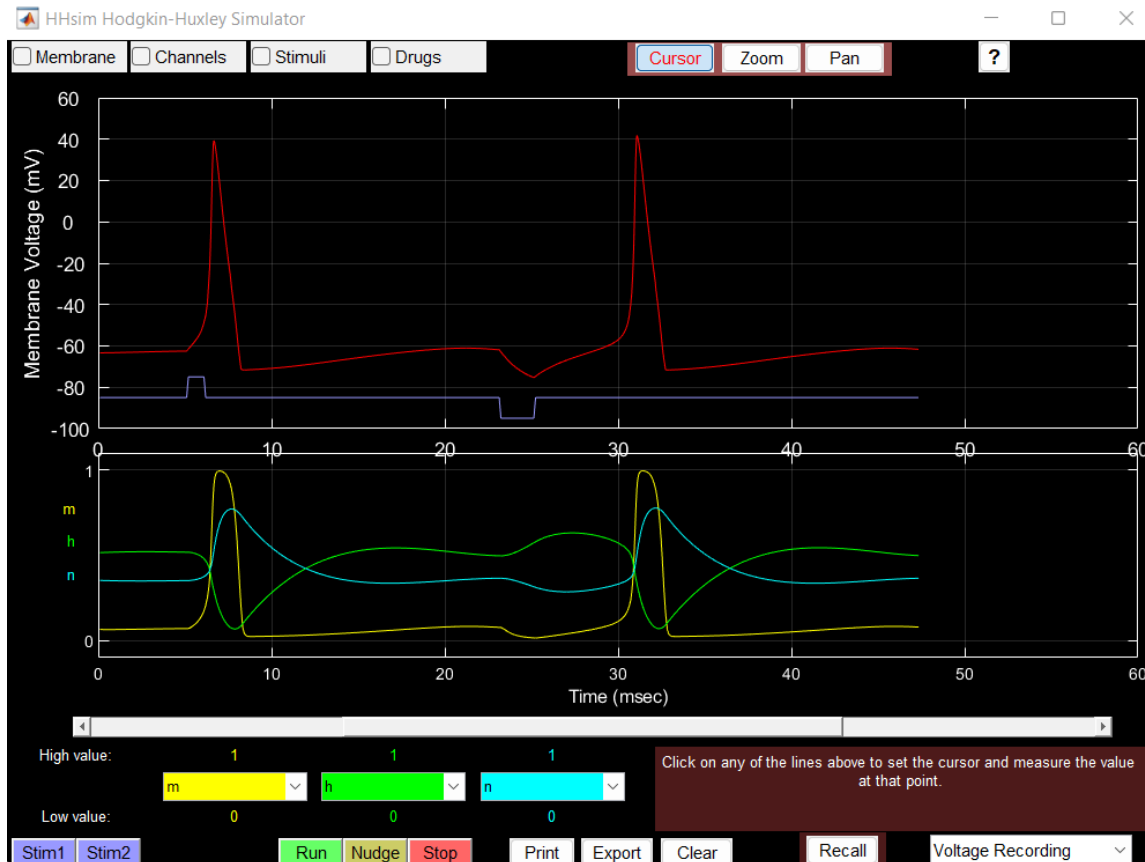
C_m (nF) 1.00

Reset Hide

4.3 Δυναμικό Δράσης

Ερώτηση 1:

Παρακάτω φαίνεται το αποτέλεσμα από την διαδοχική προσθήκη 2 διαδοχικών ερεθισμάτων (stim1 και stim2), τα οποία οδηγούν στην παραγωγή αιχμών στο δυναμικό της μεμβράνης.

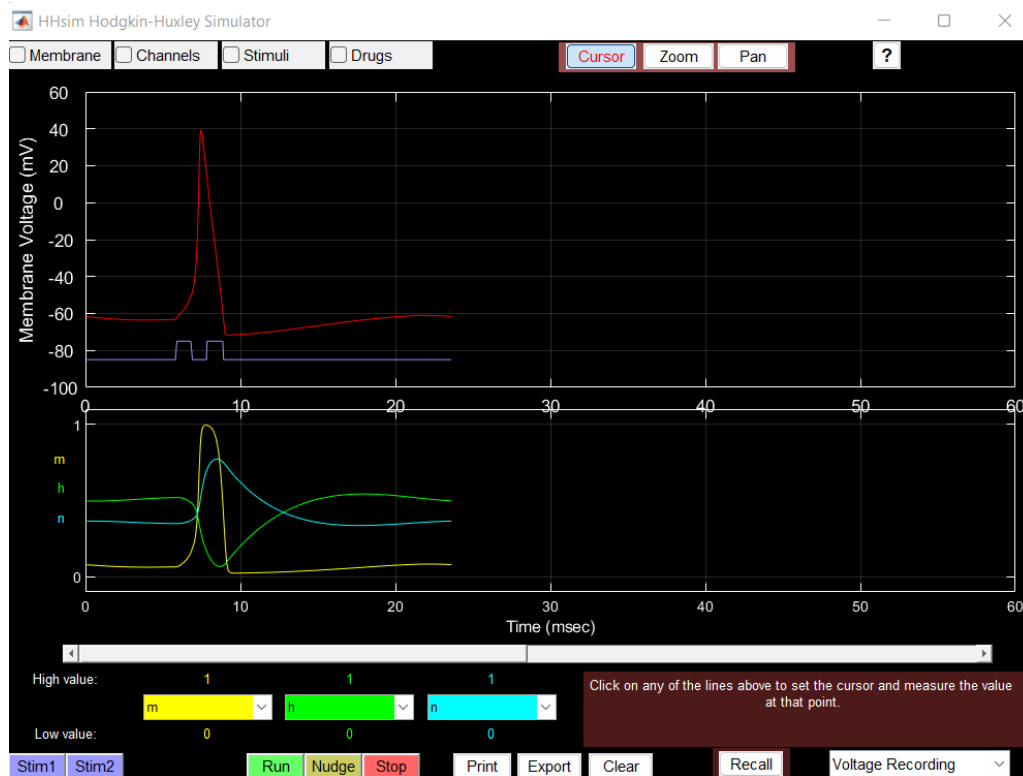


Αυτό συμβαίνει τόσο στο ερέθισμα της αποπόλωσης όσο και σε αυτό της υπερπόλωσης, μιας και στις 2 περιπτώσεις παρατηρείται ενεργοποίηση του καναλιού του νατρίου ($m > 0.5$), γεγονός που συνεπάγεται την έγχυση ιόντων νατρίου στο εσωτερικό της μεμβράνης και κατ'επέκταση αύξηση του δυναμικού της.

Συνεπώς, η διαφορά μεταξύ των 2 stimuli έγκειται στο γεγονός ότι κατά το ερέθισμα stim2, παρατηρείται πρώτα μία μείωση των μεταβλητών n και m , η οποία αντιστοιχεί στην ενεργοποίηση των καναλιών K προς το εξωτερικό της μεμβράνης και Na προς το εσωτερικό της μεμβράνης αντίστοιχα, ενώ αυξάνεται η τιμή απενεργοποίησης του καναλιού Na (h) σε τιμή πάνω από 0.5. Ως απόρροια αυτού, σταματά η ροή Na προς το εσωτερικό της μεμβράνης και K προς το εσωτερικό, οι οποίες αυξάνουν το δυναμικό της μεμβράνης. Έτσι, παρατηρείται μία μικρή πτώση στο δυναμικό, πρώτου επιτραπεί εκ νέου η έγχυση φορέων Na προς το εσωτερικό και οδηγήσει στο χαρακτηριστικό spike της καμπύλης.

Ερώτηση 2:

Παρακάτω παρατίθεται το αποτέλεσμα της προσομοίωσης στην περίπτωση που έχουμε για stim1 δύο διαδοχικούς παλμούς των 10nA και διάρκειας 1ms, οι οποίοι απέχουν 1ms μεταξύ τους.



Παρατηρούμε ότι η προσθήκη δεύτερου διαδοχικού παλμού δεν προκαλεί δεύτερη αιχμή, κάτι το οποίο έγκειται στο γεγονός ότι συμπίπτει με την δράση του πρώτου παλμού. Συγκεκριμένα, κατά την εκκίνηση του δεύτερου παλμού, η πύλη νατρίου-η οποία ευθύνεται για τον σχηματισμό της αιχμής-είναι ήδη ενεργοποιημένη ($m \rightarrow 1$), και δεν μπορεί να ενεργοποιηθεί εκ νέου.

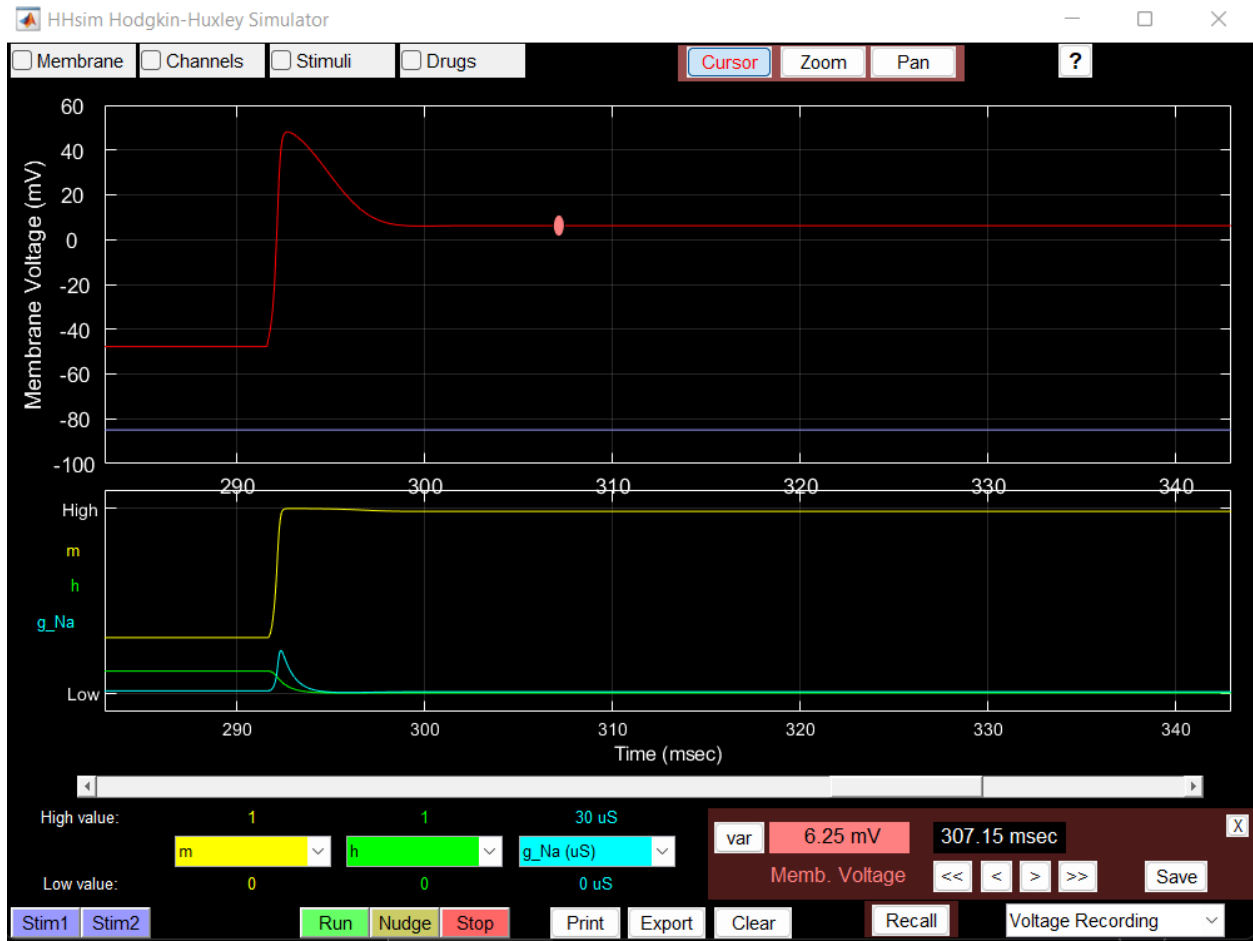
Ερώτηση 3:

Για δεύτερο παλμό πλάτους $P3.3 = 68\text{nA}$ και έπειτα από πειραματισμό στον προσομοιωτή, καταλήξαμε ότι δεύτερη αιχμή σχηματίζεται για χρονική διαφορά μεταξύ των 2 παλμών ίση με τουλάχιστον 4 ms όπως φαίνεται και στο παρακάτω αποτέλεσμα.

4.4 Κανάλι Νατρίου

Ερώτηση 1:

Έπειτα από απενεργοποίηση του ενεργητικού καναλιού K και διατηρώντας μόνο το ενεργητικό κανάλι νατρίου, λαμβάνουμε δυναμικό ηρεμίας στα 6.25mV.



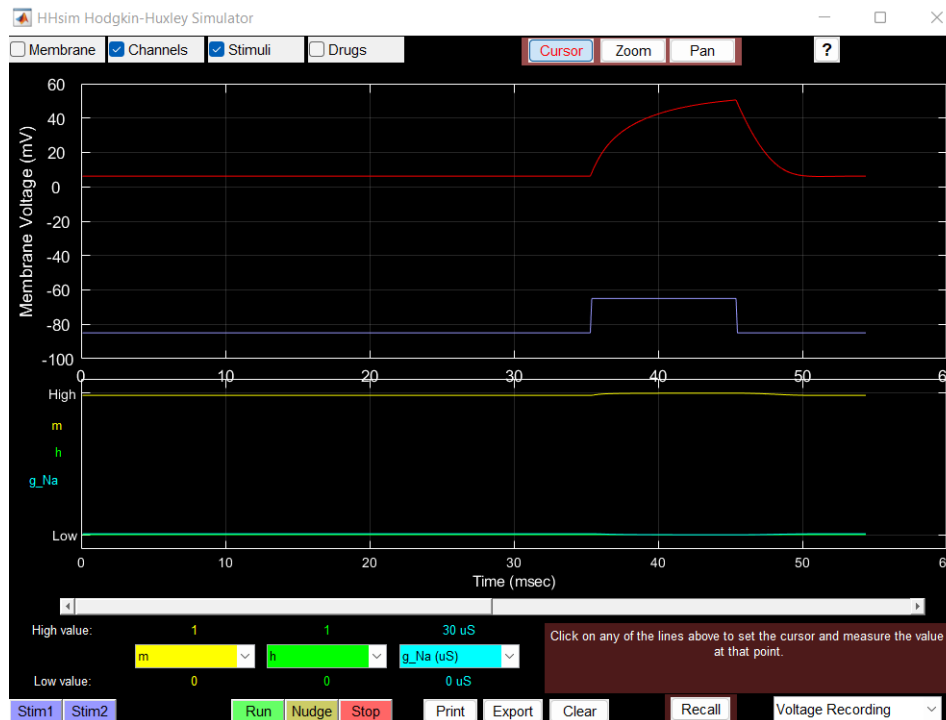
Τροποποιήσαμε την εξίσωση παράλληλης αγωγιμότητας ώστε να ληφθεί υπόψιν και το ενεργητικό κανάλι νατρίου:

$$E = \frac{E_K * G_K + E_{Na} * G_{Na} + E_{Cl} * G_{Cl} + E_{Na} * G_{Na,e}}{G_K + G_{Cl} + G_{Na} + G_{Na,e}}$$

Αντικαθιστώντας τις initial τιμές αγωγιμότητας και δυναμικού για τα υπόλοιπα κανάλια, λαμβάνουμε για δυναμικό ηρεμίας στα 6mV, $g_{Na,e} = 0.23\mu S$

Ερώτηση 2:

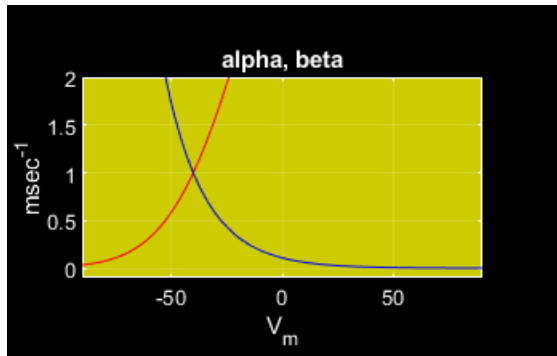
Παρακάτω παρατίθεται το αποτέλεσμα της προσομοίωσης για τον ζητούμενο παλμό.



Παρατηρούμε ότι ακόμα και για ερέθισμα πλάτους 10nA και διάρκειας 10ms δεν παρατηρείται κάποιο ακόμα spike πέρα από το αρχικό. Αυτό συμβαίνει μιας και έχει απενεργοποιηθεί το ενεργό κανάλι καλίου το οποίο προκαλεί την επαναπόλωση της μεμβράνης και κατ'επέκταση την πτώση τάσης. Έτσι, και αφού μένει το κανάλι νατρίου διαρκώς ανοιχτό (λόγω της εξωτερικής διέγερσης), παρατηρείται διαρκής έγχυση ιόντων Na προς το εσωτερικό, η οποία δεν αντισταθμίζεται από την απαιτούμενη έγχυση ιόντων K προς το εξωτερικό, με αποτέλεσμα την διατήρηση του δυναμικού σε υψηλά επίπεδα. Τέλος, μετά το τέλος του ερεθίσματος, επιστρέφουμε στο δυναμικό ηρεμίας των 6.25mV, το οποίο διατηρείται λόγω του ενεργητικού καναλιού νατρίου.

Ερώτηση 3:

Αύξηση του ρυθμού m έρχεται για $a > b$, δηλαδή η κόκκινη γραμμή να λαμβάνει υψηλότερες τιμές από την μπλε γραμμή. Παρατηρούμε πως κάτι τέτοιο συμβαίνει για τιμές V_m μεγαλύτερες των -40mV. Για τιμή του V_m στα 45mV, έχουμε $a > b$ με απόρροια την ενεργοποίηση της πύλης νατρίου ($m > 1$)



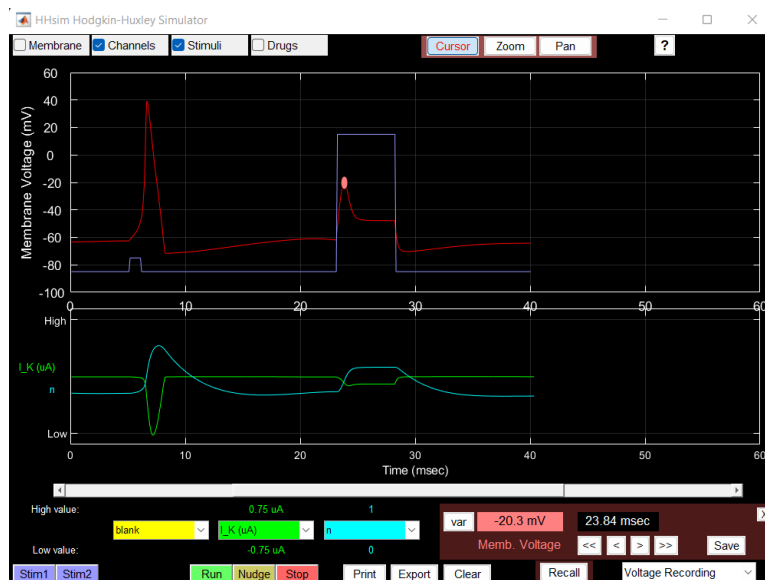
Ερώτηση 4:

Έτσι ώστε να παρατηρηθεί αιχμή, θα πρέπει να έχουμε σχεδόν κλειστό κανάλι απενεργοποίησης όταν έρθει το εξωτερικό ερέθισμα, δηλαδή $h \rightarrow 0$. Έτσι, για το δυναμικό ηρεμίας των 6.5 mV πρέπει να ισχύει ότι $a \gg b$ όπου a είναι ο ρυθμός που ανοίγει και b ο ρυθμός που κλείνει το κανάλι h . Με αυτόν τον τρόπο, θα έχουμε $h \rightarrow 1$ και κλειστό κανάλι νατρίου. Στην συνέχεια, στο δυναμικό της αιχμής θα πρέπει να ισχύει η αντίστροφη ανισότητα, δηλαδή $a \ll b$ ώστε να μπορεί να κλείσει γρήγορα το κανάλι, δηλαδή να έχουμε $h \rightarrow 0$ και πτώση του δυναμικού. Σημειώνεται ότι ο ρυθμός a αντιστοιχεί στην κόκκινη γραμμή και ο ρυθμός b στην μπλε.

4.5 Κανάλι Καλίου

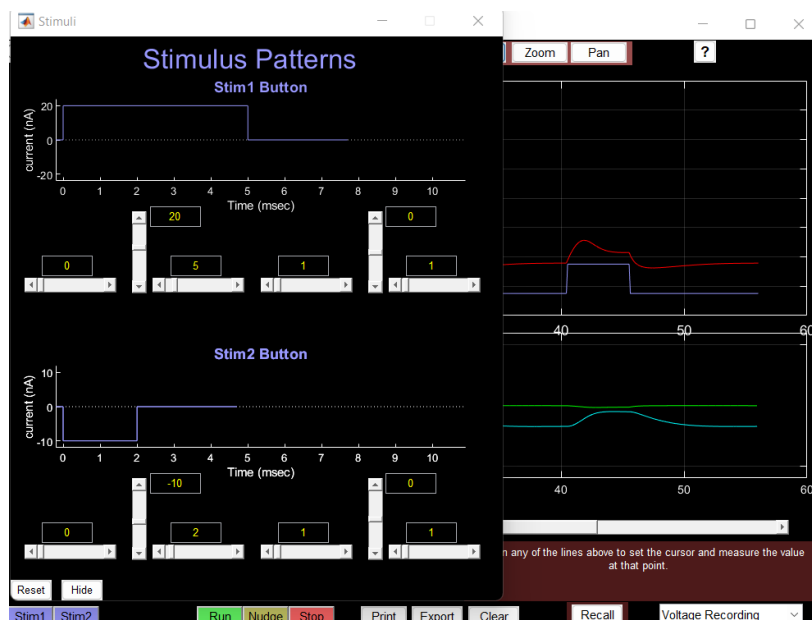
Ερώτηση 1:

Έχοντας μονάχα το ενεργό κανάλι καλίου ενεργοποιημένο και με βάση τις ζητούμενες ρυθμίσεις στην προσομοίωση, λαμβάνουμε μέγιστη τιμή δυναμικού στα **-20.3mV**.



Ερώτηση 2:

Η γρήγορη μείωση που παρατηρείται στο δυναμικό της μεμβράνης έγκειται στην απενεργοποίηση του καναλιού νατρίου, η οποία συνεπάγεται περιορισμένη αύξηση του δυναμικού στην φάση αποπόλωσης του, η οποία οφείλεται περισσότερο στο πολύ ισχυρό εξωτερικό ερέθισμα των 100nA. Μάλιστα, για ερέθισμα πλάτους 20nA, παρατηρούμε αμελητέα αύξηση στο δυναμικό:



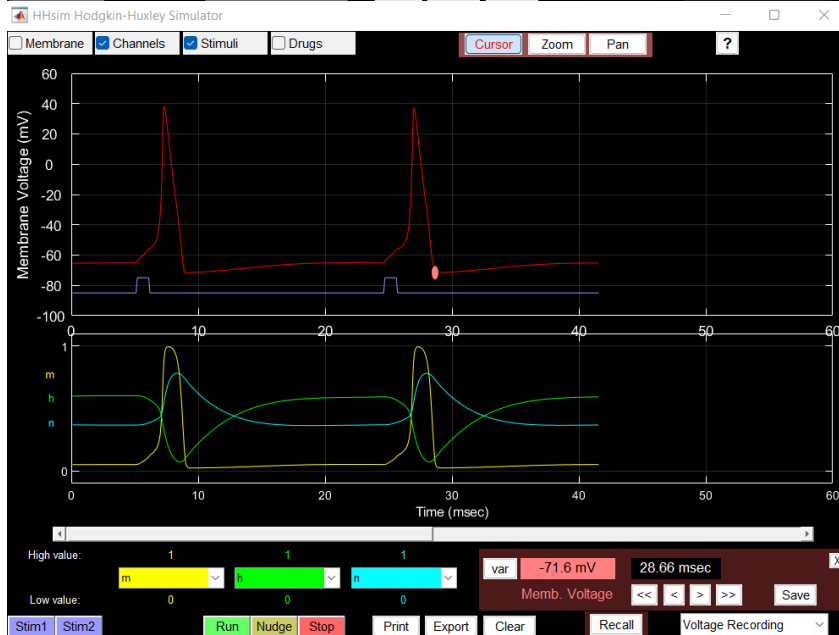
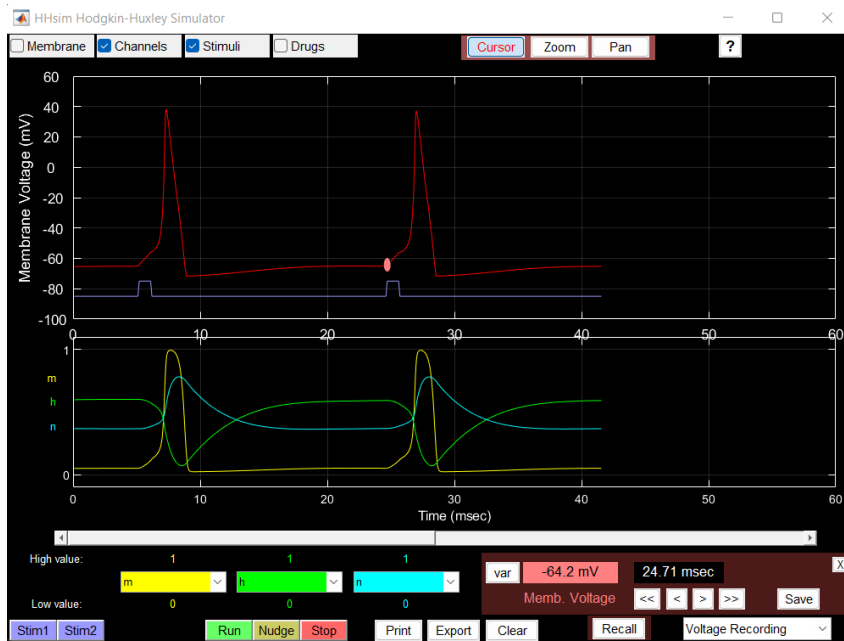
Έπειτα από την περιορισμένη αποπόλωση της μεμβράνης, το δυναμικό επιστρέφει γρήγορα σε τιμές steady-state εξαιτίας του ενεργού καναλιού καλίου.

Ερώτηση 3:

Η μείωση του δυναμικού σε τιμές κάτω από την τιμή ισορροπίας παρατηρείται στην φάση της υπερπόλωσης. Συγκεκριμένα, σε αυτήν, τα κανάλια K παραμένουν ανοιχτά για τιμές κάτω από το δυναμικό ισορροπίας οδηγώντας στην εν λόγω πτώση της τιμής. Στην συνέχεια, τα κανάλια αυτά κλείνουν οδηγώντας σε προσέγγιση του δυναμικού στην τιμή ισορροπίας.

Ερώτηση 4:

Χωρίς μεταβολή της παραμέτρου α , ο χρόνος ΔT από την εκκίνηση του ερεθίσματος μέχρι και την ολοκλήρωση της επαναπόλωσης υπολογίστηκε στα $21.97-18.5=3.47\text{msec}$. Θέλουμε να αυξηθεί το εν λόγω χρονικό διάστημα κατά 0.6ms , δηλαδή να έχουμε συνολικό delay στα 4.07msec . Κάτι τέτοιο επιτεύχθηκε μέσω μείωσης του ρυθμού α , που είναι ανάλογος του ρυθμού ενεργοποίησης του καναλιού K. Συγκεκριμένα, μέσω μείωσης του παράγοντα slope (κατ'απόλυτον τιμή), ο οποίος θα μειώσει το ρυθμό ενεργοποίησης α και κατ'επέκταση θα καθυστερήσει την συνολική διάρκεια πτώσης του δυναμικού της μεμβράνης. Έπειτα, από πειραματισμούς, καταλήξαμε σε τιμή slope ίση με -0.085 , ώστε να επιτευχθεί νέα περίοδος ίση με $28.86-24.71 = 4.05\text{ms}$



Delayed Rectifier

Ion K+ g_{\max} (μ S) 36.0

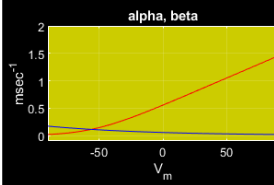
n: exponent 4

alpha: Closed \rightarrow Open

$c \cdot (V - th) / (1 - \exp((V - th) \cdot s))$
magnitude (c) 0.010
threshold (th) -55.000
slope (s) -0.085

beta: Open \rightarrow Closed

$c \cdot \exp((V - th) \cdot s)$
magnitude (c) 0.125
threshold (th) -65.000
slope (s) -0.013



Reset

Hide