

УДК 573.2:577.95:577.3:597.554.3

МОДЕЛЬ ДИНАМІКИ МЕМБРАНОПОВ'ЯЗАНИХ БІОЕЛЕКТРИЧНИХ ПРОЦЕСІВ У РАНЬОМУ ЕМБРІОГЕНЕЗИ В'ЮНА

Р. Гумецький, М. Дика

*Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул.Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна,
e-mail: biolog@franko.lviv.ua*

Для дослідження часових змін електрофізіологічних характеристик зародкових клітин в'юна, що відбуваються після запліднення в період їхніх синхронних дроблень, запропоновано часткові математичні моделі (аперіодичного тренда та коливних складових цих змін), а також комплексну (об'єднану) модель динаміки мембранопов'язаних процесів, на підставі якої змодельовано цілісну кількісну картину часових змін головних біоелектричних показників протягом 7-годинного періоду розвитку зародків в'юна. Отримані результати в зіставленні з експериментальними даними підтверджують достатню повноту розробленої математичної моделі та її придатність для опису динаміки певних реальних процесів на початковому етапі розвитку ембріональних об'єктів.

Ключові слова: плазматична мембрана, біоелектричні параметри, часова динаміка, математична модель.

Протягом дроблення бластомерів зародків тварин мембранопов'язаним біоелектричним процесам властиві зміни загального рівня, які мають коливний характер із періодом, що дорівнює тривалості клітинного циклу [4]. Як описано в попередніх працях [6, 5], часову динаміку трансмембранного потенціалу (ТМП), іонних струмів і провідностей плазматичної мембрани можна описати двома адитивними складовими: перша відображає загальну тенденцію змін, їхній часовий тренд; друга – їхній ритмічний характер. Оскільки періодичні коливання і тренд загального рівня зумовлені різними за природою механізмами, то зазначені властивості динаміки можна описати окремими моделями, які об'єднують у цілісну модель.

Розглянута нижче модель динаміки мембранопов'язаних біоелектричних процесів раннього ембріогенезу враховує достатньо повний комплекс функціональних взаємозв'язків між характеристиками досліджуваної біосистеми. Математично її описує система 15 рівнянь. Ця модель враховує залежності між біоелектричними та концентраційними показниками. В нашому випадку значно розшифрована внутрішня “логіка” досліджуваних процесів, оскільки її відображає система з повним описом атрибутів (через елементи, їхні функції та зв'язки). Схема

причинно-наслідкових зв'язків між змінами всіх показників зображена на рис. 1, який дає змогу уявити головні контури функціональних залежностей, незважаючи на складність модельованої біосистеми.

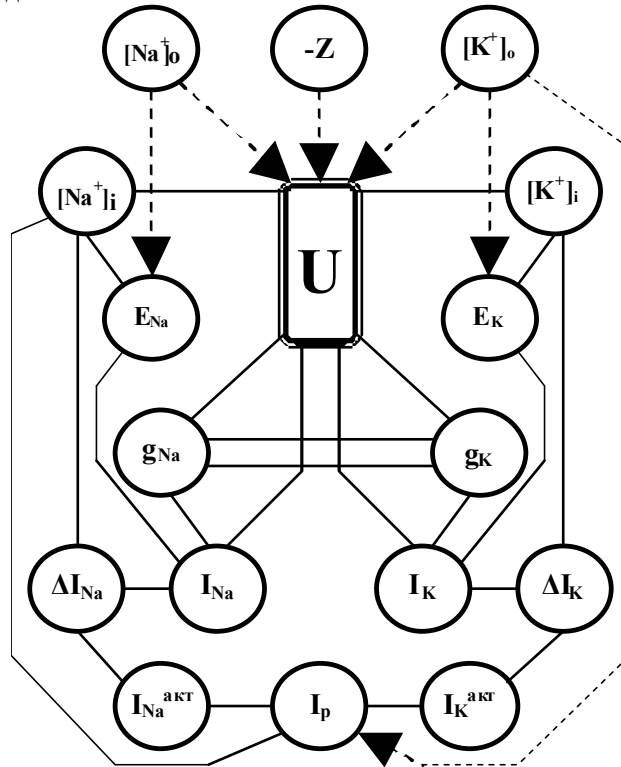


Рис. 1. Схема залежностей між біоелектричними показниками врахованих у моделі динаміки мембранопов'язаних процесів (суцільні лінії – динамічні залежності, штрихові – стаціонарні впливи).

Запропонована математична модель відтворює закономірності мембранного транспорту та розподілу іонів калію і натрію з огляду на динаміку динамікою електрофізіологічних показників клітини, зокрема ТМП, з урахуванням потенціало- і взаємозалежності натрієвої та калієвої мембранних провідностей.

Зміна провідності мембрани для K^+ і Na^+ призводять до зміни відповідних іонних струмів, які змінюють внутрішньоклітинну концентрацію іонів натрію і калію, що визначає (як один із факторів) трансмембранний потенціал. Динаміка іонного струму пасивного транспорту залежить від різниці між ТМП і відповідним рівноважним потенціалом, що визначений концентраціями певного іона в цитоплазмі й позаклітинному середовищі. Динаміка іонного струму активного транс-

порту також залежить від внутрішньоклітинної концентрації іонів Na^+ та зовнішньоклітинної концентрації K^+ . Отже, провідність мембрани впливає на мембранний потенціал, однак не безпосередньо, а через зміни іонних струмів і, як наслідок, концентрацій електрогенних іонів. Відповідно, між провідностями й ТМП є зворотний зв'язок, що реалізується як потенціалозалежність кожної з них [6].

Кінцеві рівняння моделювальних співвідношень, запропоновані для розрахунку динаміки мембранопов'язаних біоелектричних процесів і застосовані для дослідження раннього розвитку зародків в'юна, такі:

$$U = \frac{RT}{F} \ln \left[1 - \frac{z+1}{z-1} \left(\frac{[\text{K}^+]_i + [\text{Na}^+]_i}{[\text{K}^+]_o + [\text{Na}^+]_o} - 1 \right) \right] + U_d, \quad (1)$$

$$U_d = \frac{I_K + I_{\text{Na}} + I_p}{g_K + g_{\text{Na}}}, \quad (2)$$

$$E_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{K}^+]_o}{[\text{K}^+]_i}, \quad (3)$$

$$E_{\text{Na}} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Na}^+]_o}{[\text{Na}^+]_i}, \quad (4)$$

$$I_K = g_K (U - E_K), \quad (5)$$

$$I_{\text{Na}} = g_{\text{Na}} (U - E_{\text{Na}}), \quad (6)$$

$$I_p = \frac{P_{\text{ATP}} I_{\text{max}}}{\left(1 + \frac{K_{\text{Na}}}{[\text{Na}^+]_i} \right)^3 \times \left(1 + \frac{K_K}{[\text{K}^+]_o} \right)^2}, \quad (7)$$

$$I_K^{\text{akm}} = -2 \times I_p, \quad (8)$$

$$I_{\text{Na}}^{\text{akm}} = 3 \times I_p, \quad (9)$$

$$\frac{d[\text{Na}^+]_i}{dt}, \quad (10)$$

$$\frac{d[\text{K}^+]_i}{dt} = \frac{s}{vF} (I_K + I_K^{\text{akm}}), \quad (11)$$

$$g_K(U) = \frac{G_K}{1 + \exp[k_K (U_K - U)]}, \quad (12)$$

$$g_{\text{Na}}(U) = \frac{G_{\text{Na}}}{1 + \exp[k_{\text{Na}} (U_{\text{Na}} - U)]}, \quad (13)$$

$$\frac{dg_K}{dt} = \omega_1 g_{Na} - a_1 U, \quad (14)$$

$$\frac{dg_{Na}}{dt} = -\omega_2 g_K - 2\delta g_{Na} + \alpha_2 U, \quad (15)$$

де R , F – фізичні сталі; T – температура; s , v , z – клітинні параметри (константи); I_{max} , p^{ATP} , K_{Na} , K_K – параметри активного іонного транспорту; G_{Na} , G_K , U_{Na} , U_K , k_{Na} , k_K – параметри пасивного іонного транспорту; ω_1 , ω_2 , δ , α_1 , α_2 – параметри періодичних змін провідностей.

Наведені рівняння описують активність іонної помпи I_P (7), динаміку іонних струмів I_K та I_{Na} (5), (6), (8), (9) і мембранних провідностей g_K , g_{Na} (12), (13) електрогенних іонів K^+ і Na^+ , динаміку їхніх внутрішньоклітинних концентрацій (10), (11) і залежні від них зміни рівноважних потенціалів E_K , E_{Na} (3), (4) та трансмембранного потенціалу U (1), (2).

За допомогою статистичного методу нелінійної регресії аналітично описано залежність калієвої та натрієвої провідностей від ТМП. Незважаючи на те, що для ембріональних клітин у літературі немає конкретних даних про потенціалозалежні іонні канали для натрію і калію, за модельними результатами [5] можна стверджувати про їхнє існування в мембранах бластомерів зародка в'юна. Зазначимо, що нелінійні вольтамперні характеристики мембрани ембріона в'юна [4] також свідчать про наявність потенціалозалежної провідності.

Зокрема, рівняння (1–13) становлять модель часового тренда біоелектричних показників, а рівняння (14–15) – модель взаємозалежності натрієвої та калієвої провідностей, які доповнюючи одна одну, описують різні сторони єдиного процесу функціонування ембріональної клітини, що відображають характерні зміни загального рівня електрофізіологічних показників і їхні періодичні коливання, синхронні з циклами клітинного поділу.

Аперіодичні динамічні зміни загального рівня електрофізіологічних характеристик ембріональних клітин, що відбуваються після запліднення в період їхніх синхронних дроблень, досліджено на підставі розрахунку часового тренда всіх мембранопов'язаних біоелектричних і концентраційних показників упродовж 7-годинного періоду початкових дроблень [5].

Для оцінки адекватності моделі результати моделювання порівнювали з наявними експериментальними даними про динаміку біоелектричних характеристик зародків в'юна на початковому етапі їхнього розвитку. Результати комп'ютерного експерименту, виконаного з метою підтвердження можливості одержання адекватної динаміки рівня ТМП для початкового етапу розвитку зародка в'юна винятково розрахунковим шляхом за заданими початковими концентраціями внутрішньоклітинних іонів K^+ і Na^+ відображені на рис. 2 і 3. Зіставлення 7-годинного тренда ТМП, визначеного *in model* (рис. 3), з реальною динамікою рівня ТМП (рис. 2), виміряного *in vivo*, засвідчує відповідність моделі мембранопов'язаним процесам, що відбуваються в ембріональних клітинах у період їхніх початкових дроблень [4].

Це підтверджує достатню повноту моделі щодо опису часового тренду біоелектричних показників зародкових клітин, оскільки співвідношення, виведені з теоретично обґрунтованих кількісних закономірностей (1-11) та на підставі експериментальних даних (12-13), досить точно характеризують динаміку загальних змін електрофізіологічних показників мембрани, а також внутрішньоклітинних концентрацій основних іонів, які беруть участь у генерації мембранного потенціалу.

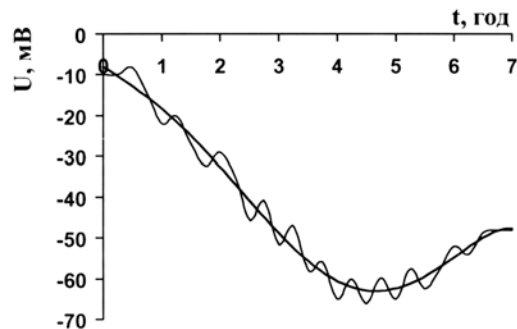


Рис. 2. Динаміка рівня ТМП [4] в ранньому розвитку зародків в'юна (1) та її тренд (2), виділений методом ковзного усереднення

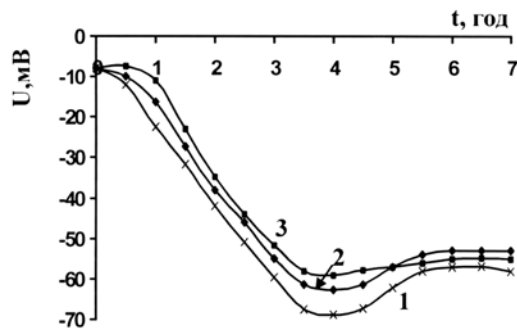


Рис. 3. Тренд ТМП, визначений *in model* за заданими початковими значеннями $[Na^+]_i$, $[K^+]_i$, мМ: 1 – 40,90; 2 – 40,100; 3 – 40,110.

За допомогою часової моделі динаміки провідностей (14), (15) досліджено коливання мембранної провідності як при фіксованому потенціалі, так і у випадку зміни рівня ТМП відповідно до його реального тренду. Модель відтворює періодичні зміни натрієвої та калієвої провідностей, які синхронні з циклами клітинного поділу, мають однакову частоту й зміщені по фазі (рис. 4). Амплітуда коливань калієвої провідності в 2-3 рази більша від натрієвої. Упродовж перших 6 год

після запліднення простежується деяке зростання середнього рівня калієвої провідності мембрани та чітко визначене спадання натрієвої.

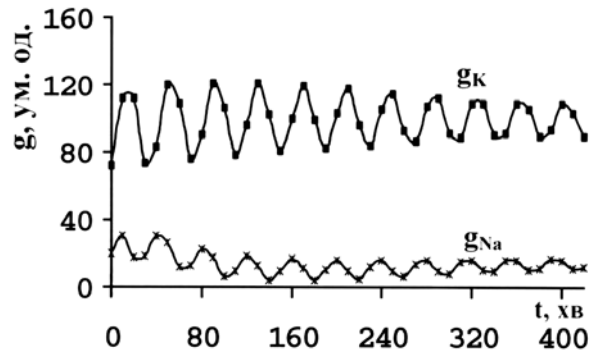


Рис. 4. Динаміка K^+ - і Na^+ -провідностей у випадку змін ТМП, характерних для періоду раннього розвитку в'юна.

Запропоновану модель динаміки провідностей, що її описує система з двох диференціальних рівнянь і яка враховує взаємозалежність провідностей та їхню залежність від ТМП, можна вважати теоретичним узагальненням моделі, описаної раніше в працях Антомонова [1] для збудливих мембран аксона, оскільки вона стає придатною і для мембран бластомерів зародка в'юна.

Результати останньої серії експериментів з комп'ютерного моделювання були спрямовані на перевірку функціонування моделі коливної динаміки мембранної провідності в складі комплексної моделі, яка враховує всі зв'язки між біоелектричними показниками, зокрема між калієвою і натрієвою провідностями, у вигляді відповідної системи рівнянь (1)–(15) і дає змогу відтворити аперіодичні та періодичні динамічні зміни електрофізіологічних характеристик ембріональних клітин, а саме: коливання на фоні тренда їхнього рівня. Для оцінки відображальної здатності повної моделі результати моделювання порівнювали з наявними експериментальними даними про динаміку біоелектричних характеристик зародків в'юна [2, 4, 7, 8].

Одержана на підставі моделі кількісна характеристика динаміки концентрацій іонів K^+ і Na^+ всередині клітини повністю відповідає відомим з літератури законно-мірностям їхньої зміни в період раннього розвитку зародка в'юна [2]. Зазначимо, що як у результатах моделювання, так і в експериментальних даних майже немає коливних змін концентрацій, синхронних з циклами клітинного поділу, оскільки відносна зміна концентрацій, як інтегрального показника щодо струмів, дуже незначна.

Динаміка трансмембранного потенціалу ембріональних клітин на початковому етапі їхнього розвитку, відтворена описаною моделлю (рис. 5), відповідає експериментальним даним 6-годинної реєстрації ТМП зародків в'юна (без периві-

телінових оболонки) (рис. 6), що свідчить про відповідність електрогенних і автоколивних процесів, відображених в моделі, процесам, що відбуваються в ембріональних клітинах у період їхніх початкових дроблень.

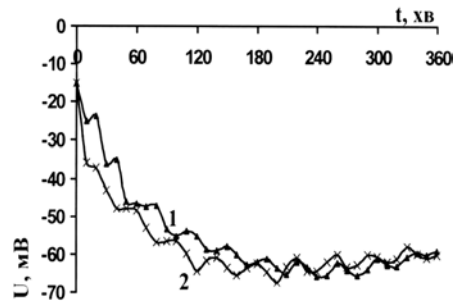


Рис. 5. Динаміка трансмембранного потенціалу, отримана *in model* за заданими початковими значеннями $[Na^+]_i$, $[K^+]_i$, мМ: 1 – 20,90; 2 – 30,90.

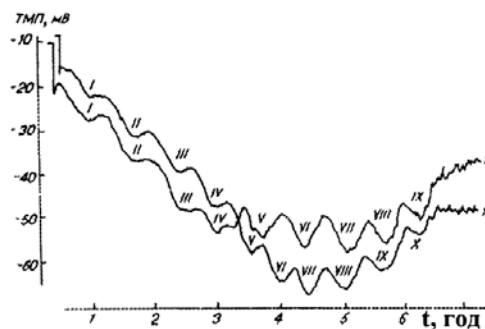


Рис. 6. Експериментально визначена динаміка ТМП зародків в'юна [4] в перивітелінових оболонках (1) і без них (2).

Зіставлено результати моделювання динаміки сумарного іонного струму й сумарної провідності мембрани з експериментально визначеними їхніми змінами [4]. В обох випадках простежуються синхронні зміни двох названих показників, що збігаються фазою (максимальні значення провідності відповідають за часом максимальним значенням іонного струму). З розвитком зародка виявляється тенденція до поступового збільшення сумарного струму й провідності. Більш виражене зростання обох показників *in vivo* пояснюють певним збільшенням (у результаті клітинних поділів) загальної площі мембрани, що не враховували *in model*, оскільки визначали провідність на одиницю площі мембрани.

Крім того, результати моделювання зіставлено з експериментально визначеними змінами вхідного опору мембрани $R_{вх}$ у період дроблення [7]. Для цього використано дані про те, що утворення в процесі клітинного поділу нової мембрани пов'язано із збільшенням її іонної проникності, тобто зменшенням вхідного опору як глобальної характеристики всієї клітинної мембрани. Спадання загального рівня вхідного опору мембрани та зростання провідності *in model* відповідає збільшенню абсолютних значень ТМП, у цьому разі максимальні значення іонної провідності *in model* і мінімальні значення вхідного опору, отримані експериментально, відповідають у часі максимальним значенням ТМП.

Результати виконаних досліджень дають змогу стверджувати, що моделююча система співвідношень (1)–(15), у яких враховано теоретично обґрунтовані кількісні закономірності, є достатньо повною для якісної характеристики динаміки загальних і періодичних змін електрофізіологічних показників мембрани, а також динаміки внутрішньоклітинних концентрацій іонів натрію і калію. За відповідно визначених параметрів моделі вона дає змогу досить точно відтворити й кількісні характеристики часових змін усіх досліджуваних біоелектричних показників і таким способом системно вивчати мембранопов'язані процеси з моменту запліднення коцита протягом усього періоду початкових дроблень.

У наведеній моделі простежується декілька контурів прямого й зворотнього зв'язку (див. рис. 1), крім описаної вище взаємозалежності між калієвою та натрієвою провідністю. Математичний опис їх можна вважати засобом феноменологічного відображення механізмів як внутрішньої саморегуляції, так і генерації автоколивань у цілісній динамічній системі. На базі останнього можна глибше й повніше дослідити ці механізми та їхні прояви в живих системах, серед яких і взаємозв'язок між електричними мембранопов'язаними коливними процесами та ритмом дроблення бластомерів у ранньому ембріогенезі риб.

Вплив рівня провідності на напрям зміни ТМП, протилежний за характером до описаної потенціалозалежності провідності, можна трактувати як керівний фактор у динаміці мембранопов'язаних процесів. Прямий зв'язок між початковими змінами провідності (зокрема, g_{Na}), що спричиняють зміни іонних струмів, концентрацій, активності іонної помпи, і рівнем ТМП можна вважати пусковим фактором у динаміці мембранопов'язаних процесів, а зворотний вплив змін рівня ТМП на провідність – як фактор, що призводить до їхньої стабілізації, тобто загасання перехідного процесу.

Загалом увесь комплекс розглянутих вище біоелектричних показників дає змогу досить повно кількісно описати та моделювати часові зміни в структурно-функціональних системах плазматичної мембрани, а одержані результати в зіставленні з експериментальними даними підтверджують адекватність розробленої моделі певним реальним процесам на початковому етапі розвитку ембріональних об'єктів [2 – 4, 7]. Однак модель створюють не стільки для оцінки її адекватності, скільки для глибшого розуміння певних процесів, для перевірки гіпотез чи з'ясу-

вання нових властивостей або закономірностей, характерних досліджуваному об'єкту. Якісна оцінка одержаних результатів моделювання свідчить про значну біологічну змістовність створеної моделі, її достатню повноту й відповідність реальним процесам. Сам факт втілення названих вимог повністю і в завершеній математичній формі в динамічну модель – дієздатну комп'ютерну систему, є вагомим теоретичним і практичним результатом, оскільки йдеться про складну систему. Модель також дає змогу точніше описати певні специфічні закономірності функціонування мембрани бластомерів зародка в'юна, до яких можна зачислити, наприклад, потенціалозалежність іонних каналів для натрію та калію.

З методологічного погляду одержані результати підтверджують перспективність використання сучасних інформаційних технологій – таких як комп'ютерне моделювання – у дослідженні складних феноменів, до яких можна зачислити динаміку мембранопов'язаних процесів.

1. Антомонов Ю.Г. Принципы нейродинамики. К., 1974. 198 с.
2. Бериташвили Д.Р. Исследование динамики калия и натрия, аденозинтрифосфатаз и аденилатциклазы в раннем эмбриогенезе вьюна: Автореф. дисс....канд. биол. наук. М., 1974.
3. Божкова В.П. Роль клеточной поверхности в стимуляции размножения клеток // Онтогенез. 1986. Т.17. С.453-469.
4. Гойда Е.А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. К., 1993. 224 с.
5. Гойда О.А., Гумецький Р.Я., Дика М.В. Результати моделювання часового тренду мембранозв'язаних біоелектричних процесів в ранньому ембріогенезі в'юна // Проблеми патології в експерименті та клініці, Львів, 1998. Т.19. С.96-101.
6. Гумецький Р.Я. Математична модель часового тренду мембранозв'язаних біоелектричних процесів в ранньому ембріогенезі тварин // Проблеми патології в експерименті та клініці: Львів, 1998. Т.19. С.101-108.
7. Квавилашвили И.Ш. Исследование электрических свойств клеточных мембран в раннем эмбриогенезе вьюна: Автореф. дисс.... канд. биол. наук. М., 1971.
8. Медына И.Р. Ионная проводимость плазматических мембран дробящихся бластомеров вьюна: Автореф. дис.... канд. биол. наук. К., 1988.

**MODEL FOR DYNAMICS OF MEMBRANE-RELATED
BIOELECTRICAL PROCESSES IN EARLY EMBRYOGENESIS OF
LOACH**

R. Humetsky, M. Dyka

*Ivan Franko National University of L'viv,
Hrushevsky st. 4, L'viv 79005, Ukraine
e-mail: biolog@franko.lviv.ua*

The investigation of dynamic changes in electrophysiological characteristics of loach embryo cells which pass after fertilization during synchronous cell divisions, were carried out on individual models (for aperiodic time trend and for oscillatory dynamics of membrane conductance) and also on the basis of the complex model for bioelectrical processes dynamics. The last one reflects regularity of membrane transport and the distribution of electrogenic potassium and sodium ions in connection with the changes of membrane bioelectrical parameters.

It has simulated a quantitative picture of temporary changes for electrophysiological characteristics at the 7 hours period of loach embryo development. The dynamics of all bioelectrical parameters and intracellular concentrations of the electrogenic cations was determined only using the given initial concentration of these cations. The obtained results in comparison with experimental data confirm adequacy of the developed mathematical model to real processes on the initial stage of embryonic objects development.

Keywords: cell membrane, bioelectrical parameters, temporary dynamics, mathematical model.

Стаття надійшла до редколегії 13.07.2001

Прийнята до друку 27.07.2001