

Praktyczne aspekty modelowania układu nerwowego

Ćwiczenia 2

Model Hodgkina-Huxleya

dr Daniel Wójcik

na podstawie „The Book of GENESIS”

Wprowadzenie do interfejsu graficznego GENESIS

- Przećwiczymy obsługę interfejsu graficznego GENESIS na przykładzie przewodnika Neuron
- Uruchamianie GENESIS
- Uruchamianie programu Neuron [uwaga na małe i duże litery – GENESIS je rozróżnia!]

Panel kontrolny Neurona

- Widżety XODUSa:
button, label, dialog box, toggle
- Zmiana wartości parametrów
[pamiętaj o ENTER!]
- STEP, RESET, Overlay OFF, Plot Soma



Korzystanie z pomocy - HELP

- Neuron Inputs [w HELPie]
- Inputs [na Control Panel]
- DONE
- Cable Compts. [na Control Panel]

Wyświetlanie wyników symulacji

- Kontrola wykresów – zmiana skali

Model Hodgkina-Huxleya

- W 1952 roku Alan Hodgkin i Andrew Huxley odkryli podstawowe własności przewodności jonowej leżącej u podstaw generacji potencjału czynnościowego badając wielki akson kalmara *Loligo pealei* (Nobel 1963)

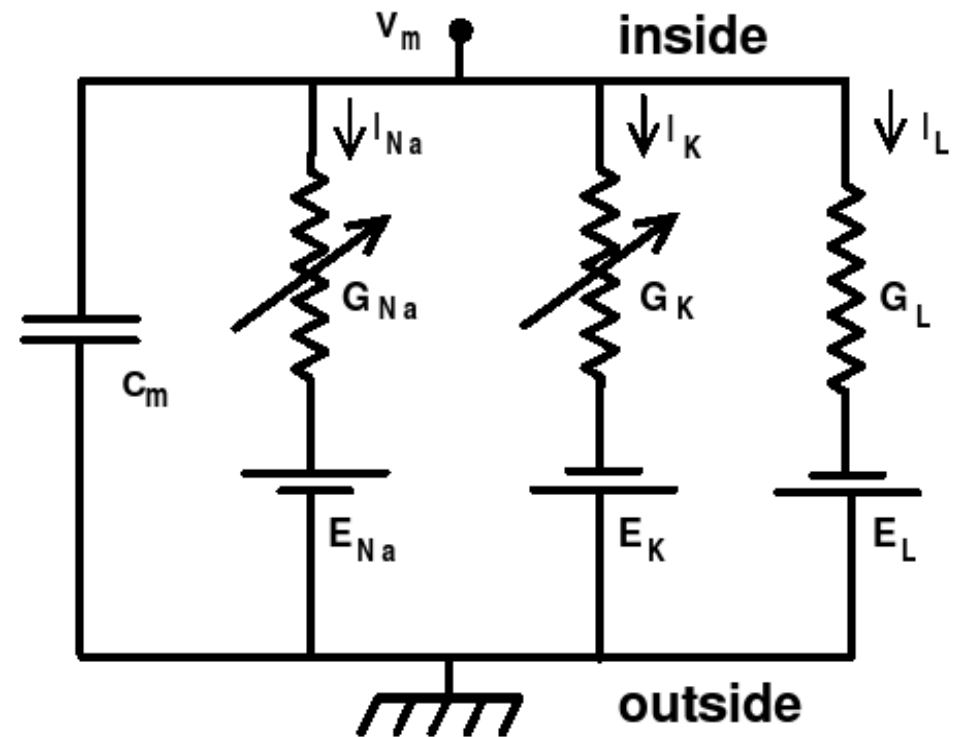


Równoważny obwód elektryczny

Zaproponowany przez
HH dla opisu krótkiego
odcinka aksonu kalmara

Prądy jonowe, prąd
ładujący pojemność
błonową

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + I_{ion} = I_{ext}$$



$$I_{ion} = G_{Na}(V_m - E_{Na}) + G_K(V_m - E_K) + G_L(V_m - E_L)$$

Konwencje HH – prądy

- Zauważmy, że znaki prądów jonowych I_{ion} i prądu zewnętrznego I_{ext} są przeciwne. To jest tzw. *konwencja fizjologiczna*, inaczej „*inward negative*”.

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + I_{ion} = I_{ext}$$

- Wewnętrzna konwencja GENESIS to „*inward positive*”, co pozwala traktować wszystkie prądy tak samo.

Konwencje HH – napięcie błonowe

- Zwykle przyjmujemy, że potencjał na zewnątrz błony jest 0, a wewnątrz V_m , Hodgkin i Huxley przyjmowali odwrotnie: potencjał wewnątrz 0, na zewnątrz V_m .
- Dzisiaj przyjmujemy, że depolaryzacja zwiększa V_m , to jest czyni potencjał „bardziej dodatnim”. Hodgkin i Huxley przyjmowali odwrotną konwencję dotyczącą znaku: depolaryzacja zmniejsza potencjał V_m .

Prądy jonowe

- Z każdym prądem jonowym I_k związana jest odpowiednia przewodność G_k i potencjał równowagowy E_k

$$I_k = G_k(V_m - E_k)$$

- Żeby wyjaśnić swoje obserwacje HH zapostulowali, że przewodność potasowa i sodowa zależą od napięcia błonowego.

Przewodności zależne od napięcia

- Zmiany makroskopowej przewodności w modelu HH biorą się z łącznego efektu otwierania i zamykania wielu mikroskopowych kanałów jonowych zanurzonych w błonie
- Każdy kanał zawiera kilka bramek, które mogą być „przyzwalające” lub „nieprzyzwalające”
- Kiedy wszystkie bramki są w stanie przyzwalającym to kanał jest otwarty
- Jeżeli chociaż jedna bramka jest w stanie nieprzyzwalającym, kanał jest zamknięty

Równanie kinetyczne na prawdopodobieństwo otwarcia bramki

- Zakładamy, że prawdopodobieństwo otwarcia bramki danego typu zależy od napięcia jak

$$\frac{dp_i}{dt} = \alpha_i(V) (1 - p_i) - \beta_i(V) p_i$$

- Parametry α i β są zależnymi od napięcia stałymi szybkości przejścia.

Równanie kinetyczne na prawdopodobieństwo otwarcia bramki

- Jeżeli przyłożymy stałe napięcie V , to część bramek w stanie przyzwalającym osiągnie wartość

$$p_{i,t \rightarrow \infty}(V) = \frac{\alpha_i(V)}{\alpha_i(V) + \beta_i(V)}$$

- Prawdopodobieństwo dochodzi do wartości asymptotycznej po krzywej wykładniczej ze stałą czasową daną wzorem

$$\tau_i(V) = \frac{1}{\alpha_i(V) + \beta_i(V)}$$

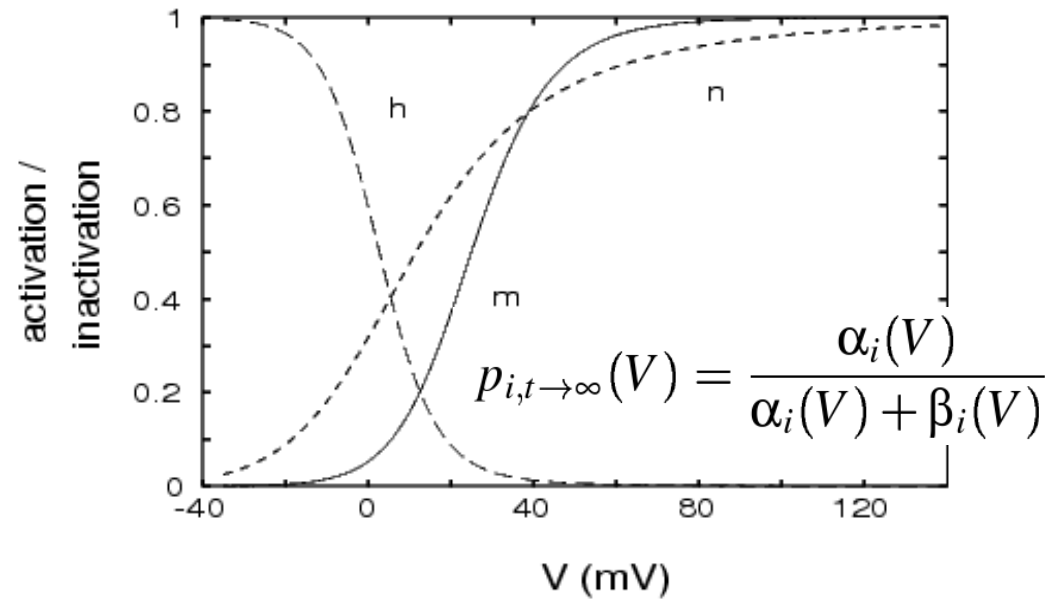
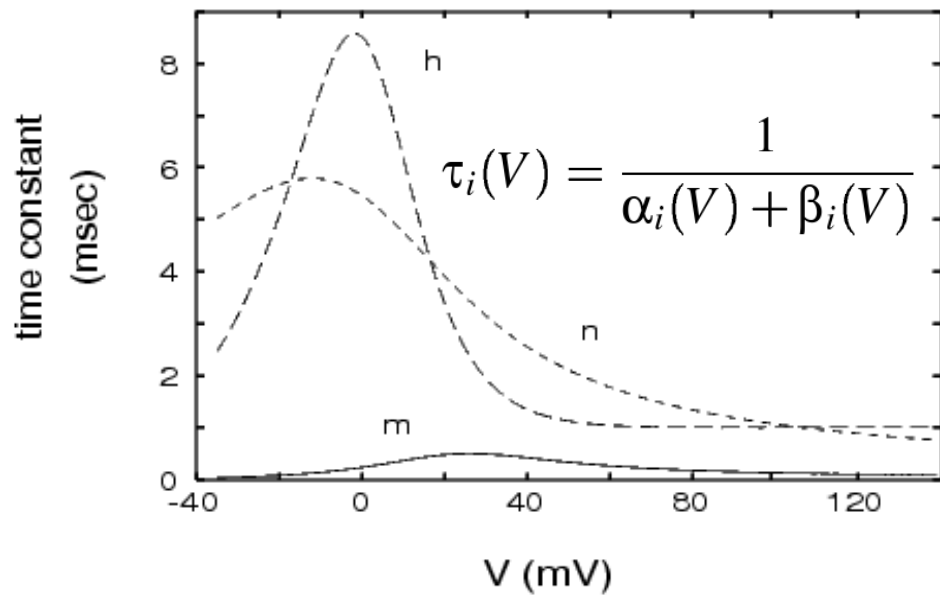
Zależne od napięcia przewodności

- Okazuje się, że aby wyjaśnić obserwowane zmiany przewodności od napięcia, trzeba założyć, że każdy kanał składa się z kilku bramek. Sodowy z trzech bramek m i jednej h , potasowy z czterech bramek n

$$G_{Na} = \bar{g}_{Na} p_m^3 p_h \equiv \bar{g}_{Na} m^3 h$$

$$G_K = \bar{g}_K p_n^4 \equiv \bar{g}_K n^4$$

$$I_k = G_k (V_m - E_k)$$



Mamy więc
trzy typy
bramek
zależnych
od napięcia

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V) (1 - m) - \beta_m(V) m$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V) (1 - h) - \beta_h(V) h$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V) (1 - n) - \beta_n(V) n$$

Równania Hodgkina-Huxleya

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + I_{ion} = I_{ext}$$

$$I_{ion} = \bar{g}_{Na} m^3 h (V_m - E_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V_m - E_K) + \bar{g}_L (V_m - E_L)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V) (1 - m) - \beta_m(V) m$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V) (1 - h) - \beta_h(V) h$$

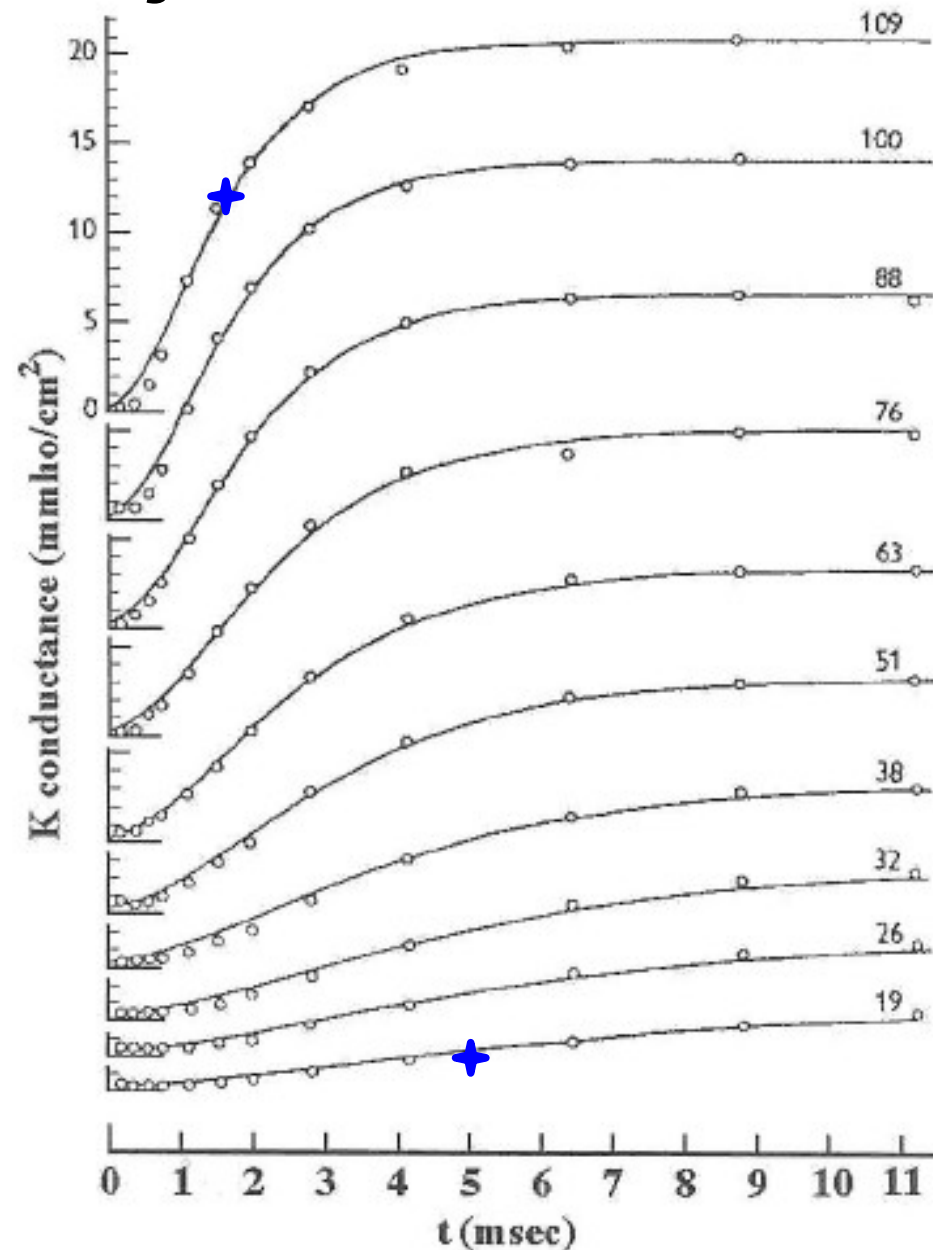
$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V) (1 - n) - \beta_n(V) n$$

Stabilizacja napięcia

- Jak Hodgkin i Huxley wyznaczyli funkcje α i β ?
- Jak stwierdzili, że przewodność sodową można modelować 4 bramkami n , ale potasowa potrzebuje 3 m i jednej h ?
- Przyjrzyjmy się ich doświadczeniom.

Charakterystyka przewodności potasowej

- Przy stałym napięciu przewodność rośnie z czasem
- Przy wzroście napięcia widzimy dwa efekty:
 - Końcowa wartość przewodności rośnie
 - Wzrost przewodności jest coraz szybszy (stała czasowa dochodzenia do tej wartości maleje)



In the experiments illustrated in Fig. 4.4, the membrane potential starts in the resting state ($V_m = 0$) and is then instantaneously stepped to a new clamp voltage V_c . What is the time course of the state variable n under these circumstances? Initially, with $V_m = 0$, the state variable n has a resting value given by Eq. 4.5,

$$n_\infty(0) = \frac{\alpha_n(0)}{\alpha_n(0) + \beta_n(0)}. \quad (4.15)$$

When V_m is clamped to V_c , n will eventually reach a steady-state value given by

$$n_\infty(V_c) = \frac{\alpha_n(V_c)}{\alpha_n(V_c) + \beta_n(V_c)}. \quad (4.16)$$

The solution to Eq. 4.14 that satisfies these boundary conditions is a simple exponential of the form

$$n(t) = n_\infty(V_c) - (n_\infty(V_c) - n_\infty(0))e^{-t/\tau_n}, \quad (4.17)$$

where

$$\tau_n(V_c) = \frac{1}{\alpha_n(V_c) + \beta_n(V_c)}. \quad (4.18)$$

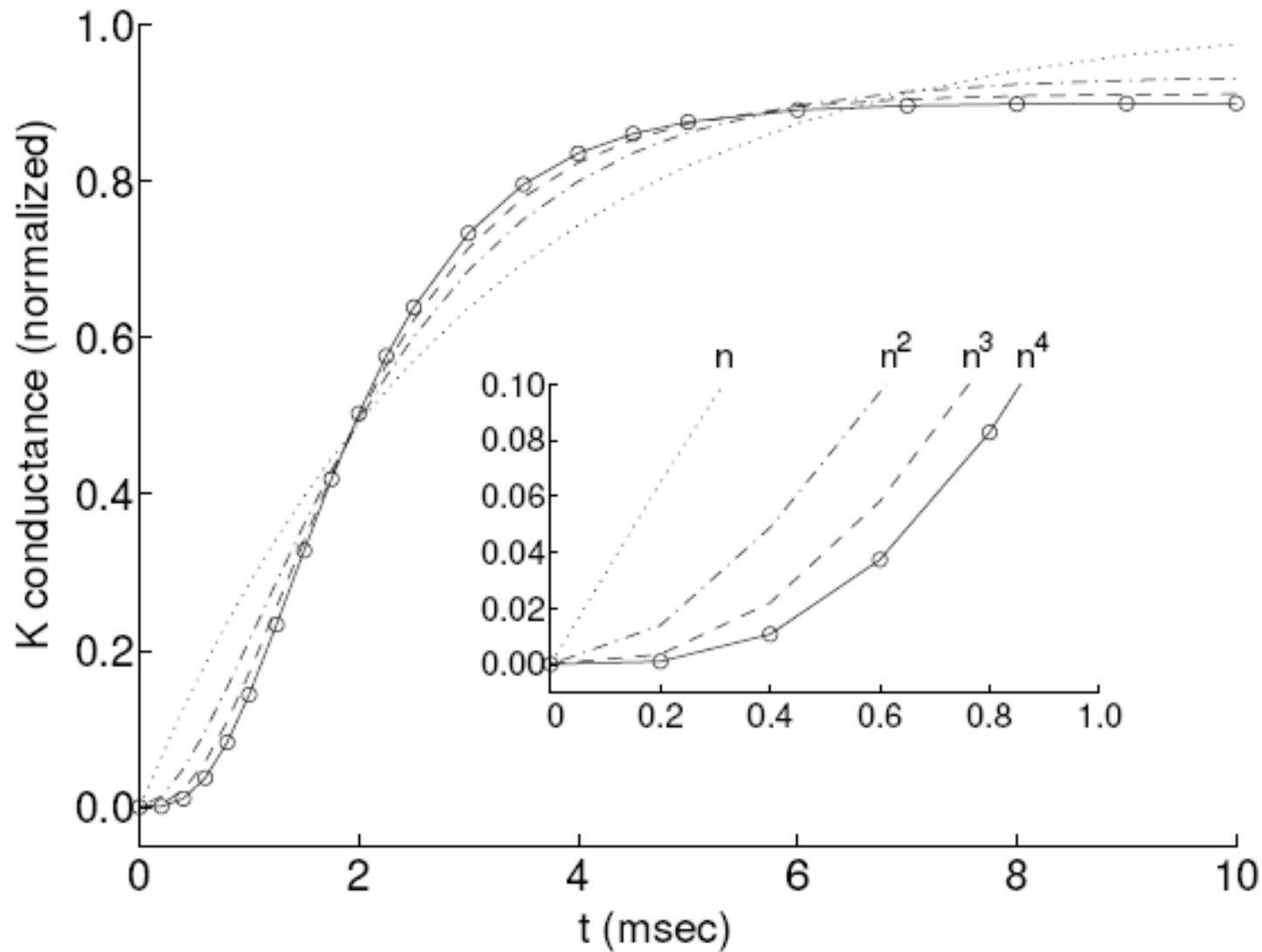
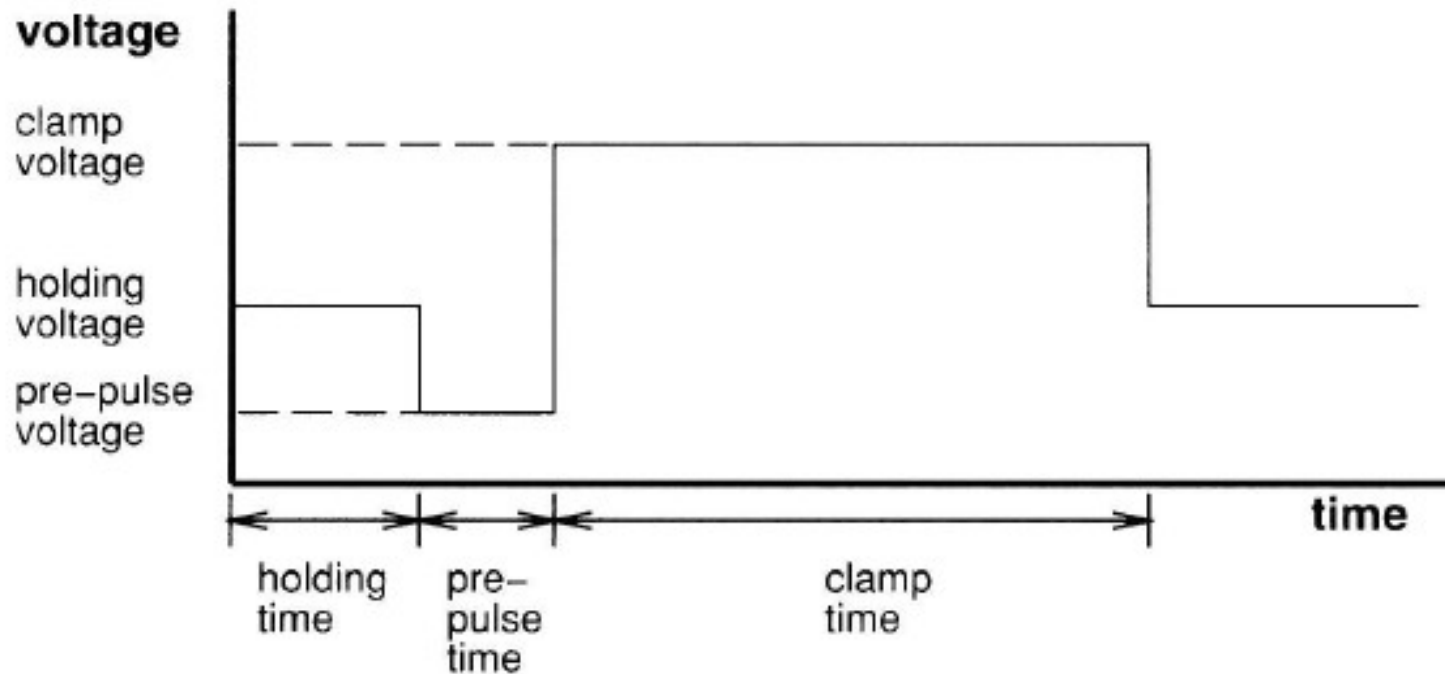


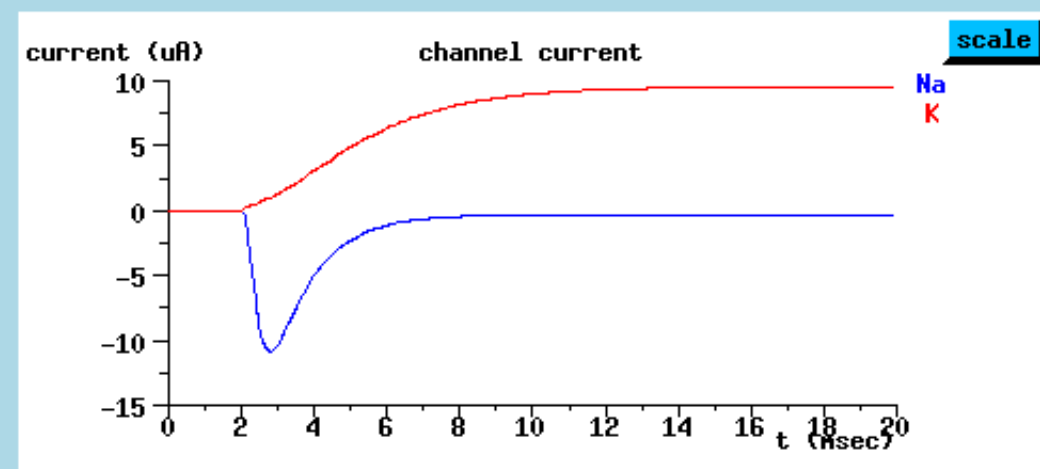
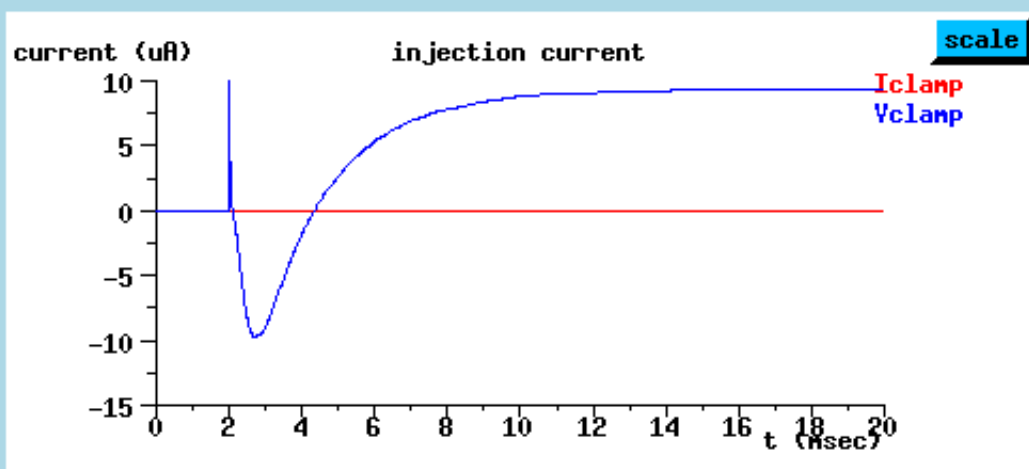
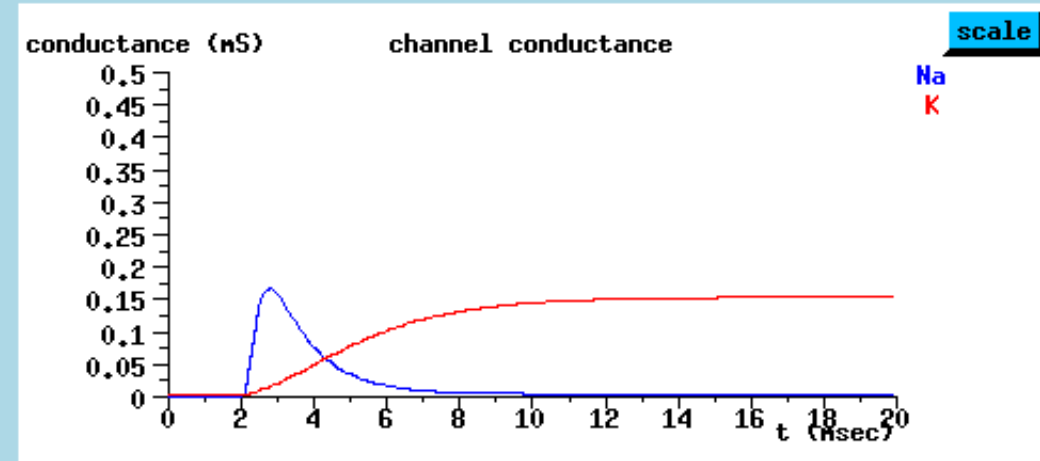
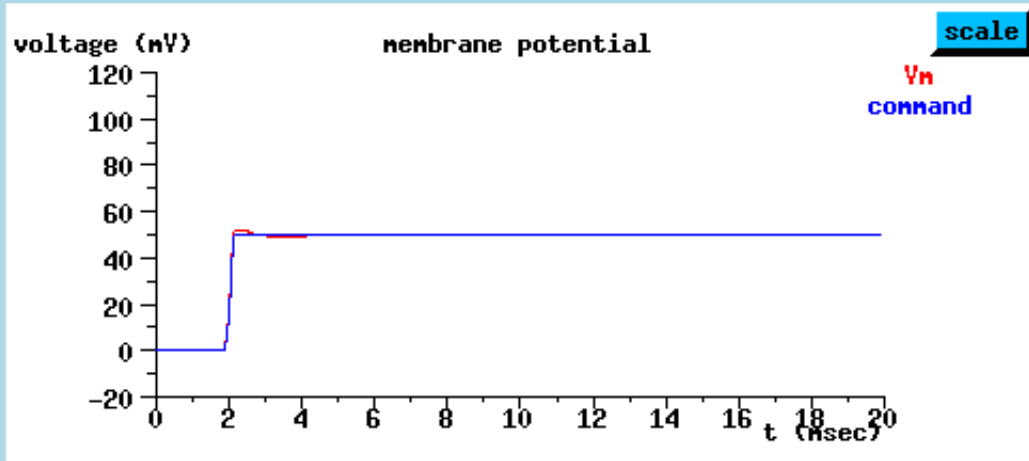
Figure 4.5 Best-fit curves of the form $G_k = \bar{g}_K n^p$ ($p = 1-4$) for simulated conductance vs. time data (open circles). The inset shows an enlargement of the first millisecond of the response. The initial inflection in the curve cannot be well fit by a simple exponential (dotted line) that rises linearly from zero. Successively higher powers of p ($p = 2$: dot-dashed; $p = 3$: dashed line) result in a better fit to the initial inflection. In this case, $p = 4$ (solid line) gives the best fit.

Doświadczenia ze stabilizacją napięcia



Holding Voltage	= 0 mV
Holding Time	= 2 msec
Pre-pulse Voltage	= 0 mV
Pre-pulse Time	= 0 msec
Clamp Voltage	= 50 mV
Clamp Time	= 20 msec

Squid Axon



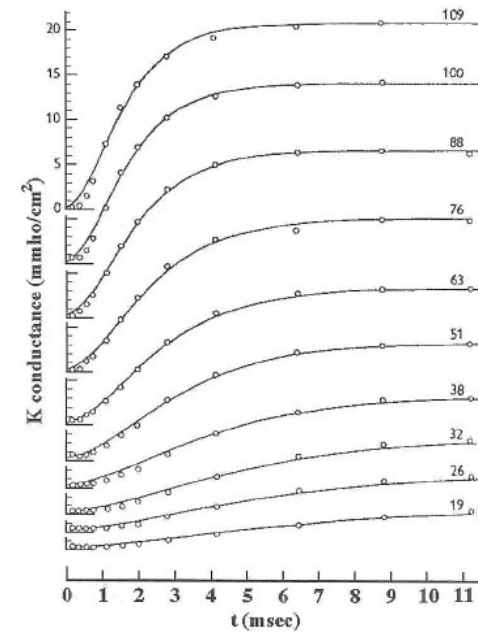
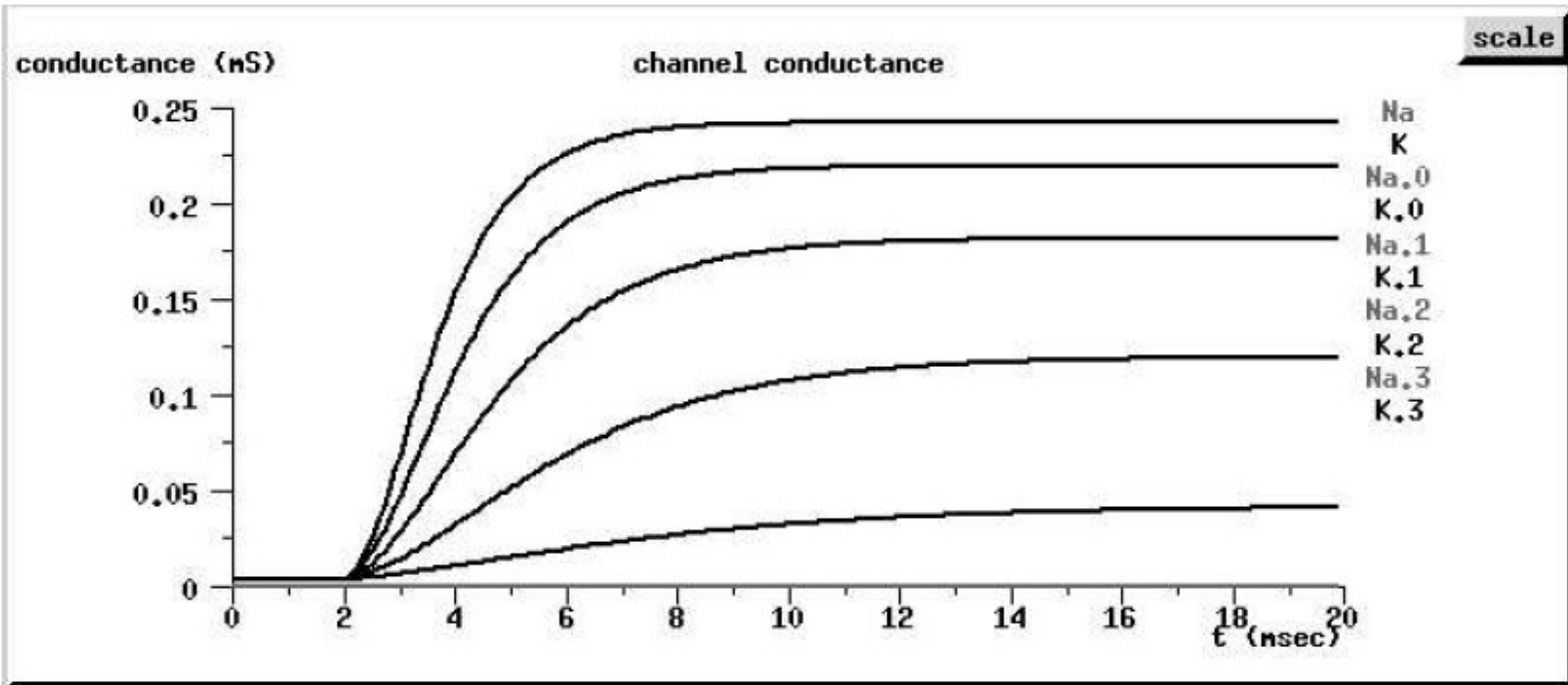


Figure 4.8 Plots of K conductance vs. time for a simulated voltage clamp series with Na channels blocked. Responses are shown for five values of the clamp voltage: 20, 40, 60, 80 and 100 *mV*. Compare with the experimental data in Fig. 4.4.

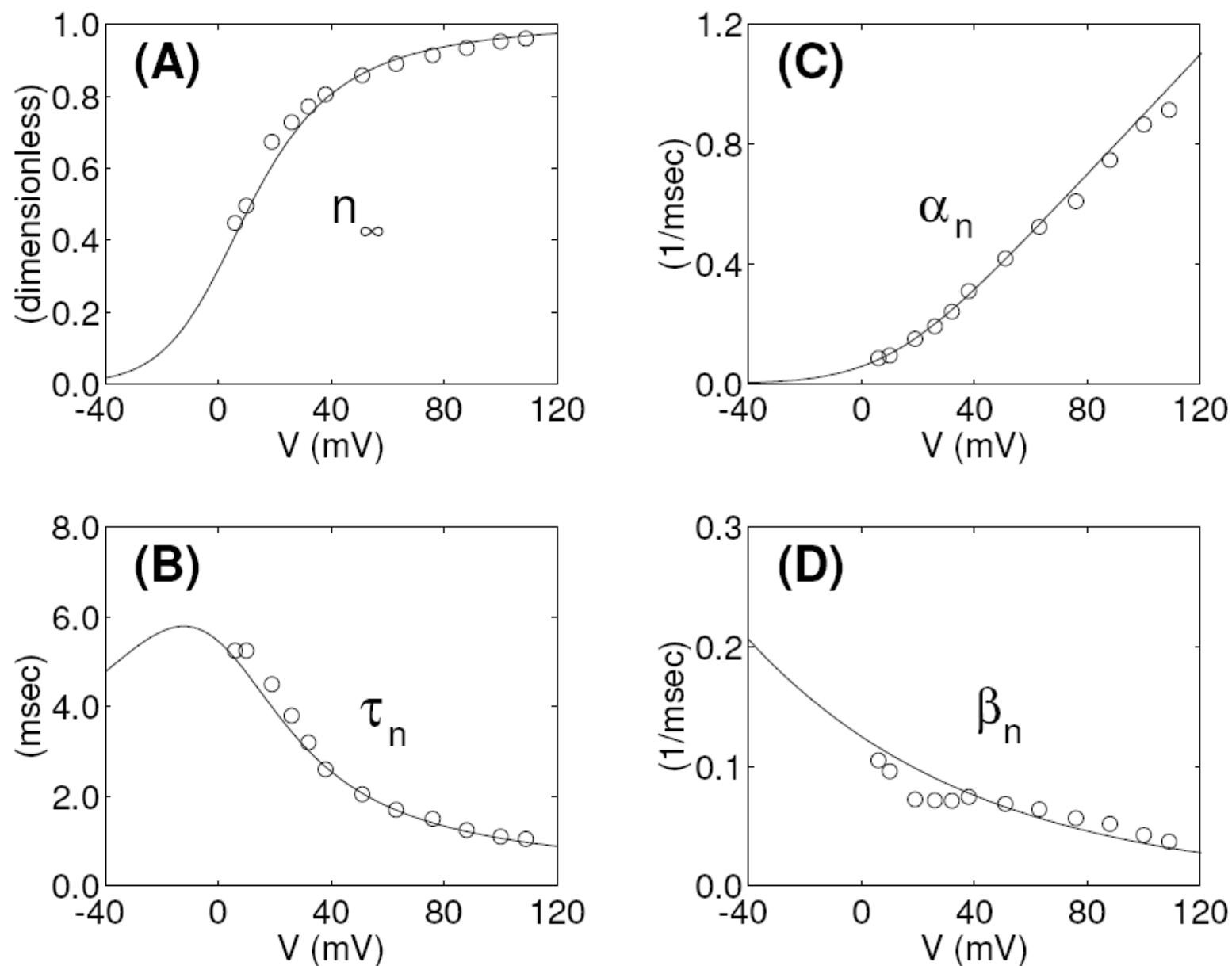


Figure 4.9 Voltage dependence of K conductance parameters in the HH model. (A) Steady-state value $n_\infty(V)$; (B) time constant $\tau_n(V)$ (C) rate constant $\alpha(V)$; and (D) rate constant $\beta(V)$. Open circles in (A) and (B) are best-fit parameters from voltage clamp data of the type shown in Fig. 4.4. Open circles in (C) and (D) are computed from Eqs. 4.21–4.22. Solid lines in (C) and (D) are empirical fits to the rate constant data of the form given in Eqs. 4.23–4.24. Solid lines in (A) and (B) are then calculated from Eqs. 4.16 and 4.18.

Inaktywacja przewodności sodowej

To explore the Na conductance change in more detail, run the *Squid* simulation in voltage clamp mode with **Na channels unblocked** and **K channels blocked** (use the toggle buttons on the control form). Set the maximum simulation time to 10 *msec* in the **Simulation Control** panel and set the following values in the **Voltage Clamp Mode** control panel dialog boxes:

Holding Voltage	= 0 mV
Holding Time	= 2 msec
Pre-pulse Voltage	= 0 mV
Pre-pulse Time	= 0 msec
Clamp Voltage	= 50 mV
Clamp Time	= 8 msec

Place the graphs in overlay mode (use the **Overlay ON** toggle button in the **Simulation Control** panel), and observe the magnitude and time course of the Na conductance change for clamp voltages between 10 and 70 *mV*. You will note that the magnitude of the peak conductance increases with increasing voltage and that the time constants of the rising and falling phases generally become shorter (faster) with increasing voltage.

Inaktywacja przewodności sodowej

Following a procedure very similar to that outlined previously for the K conductance, Hodgkin and Huxley determined the voltage-dependence of the rate constants that govern the activation and inactivation variables. The empirically determined expressions that they arrived at for describing α_m , β_m , α_h and β_h are:

$$\alpha_m(V) = \frac{0.1(25 - V)}{\exp(\frac{25-V}{10}) - 1}, \quad (4.26)$$

$$\beta_m(V) = 4 \exp(-V/18), \quad (4.27)$$

$$\alpha_h(V) = 0.07 \exp(-V/20), \quad (4.28)$$

$$\beta_h(V) = \frac{1}{\exp(\frac{30-V}{10}) + 1}. \quad (4.29)$$

Stabilizacja prądu

Base Current = 0.0 uA
Pulse Current 1 = 0.1 uA
Onset Delay 1 = 5.0 msec
Pulse Width 1 = 30.0 msec
Pulse Current 2 = 0.0 uA
Onset Delay 2 = 0.0 msec
Pulse Width 2 = 0.0 msec
Pulse Mode = Single Pulse

Ćwiczenia 1

Zasymuluj doświadczenie z zaciskiem napięciowym stosując domyślne wartości parametrów w trybie 'Voltage Clamp'. Wyjaśnij obserwowane własności wykresu całkowitego wstrzykiwanego prądu i powiąż je z wykresami prądów kanałowych.

Ćwiczenia 2

Wykonaj doświadczenie z zaciskiem napięciowym żeby oszacować potencjał odwrócenia sodu. W tym celu zablokuj kanały potasowe i zmieniaj napięcie zacisku od -40 do $+140\text{mV}$ względem potencjału spoczynkowego. Zrób wykresy maksimum przewodności i maksimum prądu sodowego w funkcji napięcia zacisku. Jaki jest ogólny kształt tych dwóch wykresów? Jaki jest potencjał odwrócenia dla sodu?

Ćwiczenia 3

Zbadaj efekt podawania różnych impulsów hiper- i depolaryzujących błonę przed właściwym doświadczeniem z zaciskiem napięciowym. Sugerowane parametry:

holding voltage	= 0 mV
holding time	= 5 ms
pre-pulse voltage	= -50 do +50 mV co 10 mV
pre-pulse time	= 5 ms
clamp voltage	= +40 mV
clamp time	= 20 ms

Jaki wpływ mają te impulsy na przewodność sodową? Potasową? Opisz mechanizm odpowiedzialny za ten efekt w kontekście modelu HH. Jak się on wiąże z „post-hiperpolaryzacją” następującą po iglicy?

Ćwiczenia 4

W trybie zacisku prądowego (current clamp) znajdź minimalny prąd (prąd progowy) potrzebny do wygenerowania pojedynczej iglicy. Sugerowane ustawienia:

```
base current      = 0  $\mu$ A  
onset delay 1    = 5 ms  
pulse width 1    = 15 ms  
simulation time  = 20 ms
```

Jak ostry jest ten próg – czy możesz znaleźć wartość wstrzykniętego prądu, która daje iglicę o wysokości połowy typowej iglicy? Jeżeli próg wydaje się zero-jedynkowy podaj minimalny ułamek wstrzykiwanego prądu, który używałeś (np., 1 część na 100, 1 na 1000, itd.).

Ćwiczenia 5

a) Nazwijmy prądem bazowym minimalny prąd generujący wielokrotne iglice, tj. ciąg potencjałów czynnościowych. *Jaki jest prąd bazowy w modelu Squid?*

Sugerowane ustawienia:

```
base current      = 0  $\mu$ A      onset delay 1    = 5 ms
pulse width 1    = 95 ms        simulation time  = 100 ms
```

Jak ostre jest przejście od pojedynczej iglicy do ciągów iglic? Czy możesz znaleźć wartość prądu, która prowadzi do generacji dwóch iglic, ale nie daje długiego ciągu iglic?

b) Policz iglice w 100ms oknach i narysuj wykres częstości generacji iglic w funkcji wstrzykniętego prądu. Zaczynij od prądu bazowego i zmieniaj wartość prądu do wartości około 10 razy większej. Sugerowane ustawienia:

```
base current      = 0  $\mu$ A      onset delay 1    = 0 ms
pulse width 1    = 100 ms     simulation time  = 100 ms
```

Jak bardzo dziesięciokrotny wzrost wstrzykiwanego prądu zwiększa częstość generacji iglic? Co się stanie kiedy zwiększysz wstrzykiwany prąd do wartości 100 razy prąd bazowy?

Ćwiczenia 6

W ćwiczeniu 4 badaliśmy wywoływanie iglic małym prądem o stałej wartości. Pojedyncze iglice można też wywołać przejściowymi impulsami wstrzykiwanego prądu nawet jeżeli czas trwania impulsu jest krótszy niż czas trwania potencjału czynnościowego. Kiedy jednak skracamy impuls jego amplituda musi rosnać. Narysuj wykres progów generacji pojedynczej iglicy w funkcji długości impulsu dla impulsów zmieniających się od 0.1 do 2 ms. Czy jest prosty związek pomiędzy szerokością impulsu a prądem progowym? [Do tego badania użyj kroku całkowania 0.01ms.]

Ćwiczenia 7

W tym ćwiczeniu zbadamy czas refrakcji występujący po każdym potencjale czynnościowym. Czas refrakcji bezwzględnej to taki czas, w którym nie da się wygenerować kolejnej iglicy, bez względu na siłę bodźca. Okres refrakcji względnej to przedział czasu, w którym możliwe jest wygenerowanie drugiej iglicy, ale potrzebny jest do tego silniejszy bodziec. Używając dwóch impulsów w trybie zacisku prądowego zmapuj okresy refrakcji bezwzględnej i względnej dla badanego modelu. W tym celu narysuj wykres prądu progowego w funkcji latencji. Używaj impulsów długości 1ms. Jak długi jest okres refrakcji bezwzględnej? Względnej? Mapując okres refrakcji bezwzględnej upewnij się, że odpowiedzi, które nazywasz iglicami, są rzeczywiście zjawiskami typu „wszystko-lub-nic”.

Dodatkowe slajdy
ZIGNOROWAĆ!

Ćwiczenia 8

W trybie zacisku prądowego ustaw prąd wstrzykiwany (Pulse 1 Current) na 0. Teraz zwiększaj stężenie jonów potasu [K] na zewnątrz aż pojawią się spontaniczne oscylacje. Dlaczego wzrost stężenia [K] powoduje oscylacje? Czy spodziewasz się podobnego wyniku przy zmianie stężenia jonów sodu?

1. In voltage clamp mode, generate plots of peak conductance versus clamp voltage and peak current versus clamp voltage for the Na and K currents. (Characterize the Na and K components individually by using the appropriate toggle button to block the other component.) Select clamp voltages that cover the range from 40 *mV* below resting potential to 140 *mV* above resting potential. For each case, determine the peak conductance and current from the graphs and use them in your plots. What is the general shape of the conductance vs. voltage plots? What is the general shape of the current vs. voltage plots? What are the reversal potentials for Na and K?
2. In voltage clamp mode, examine the effect of giving different hyperpolarizing pre-conditioning pulses prior to the voltage clamp step. (Suggested parameters: holding voltage = 0 *mV*; holding time = 5 *msec*; pre-pulse voltage = 0 to -50 *mV* in 10 *mV* steps; pre-pulse time = 5 *msec*; clamp voltage = +40 *mV*; clamp time = 20 *msec*.) What is the effect of the pre-conditioning pulse on the Na conductance? On the K conductance? In the context of the HH model, describe the mechanism responsible for this effect. How might this relate to the “after-hyperpolarization” that follows an action potential?

3. In current clamp mode, find the minimum current (threshold current) for eliciting a single action potential. (Suggested settings: base current = $0 \mu A$; onset delay 1 = $5 msec$; pulse width 1 = $15 msec$; simulation time = $20 msec$.) How “sharp” is the threshold phenomenon — can you find a value of the injected current that gives a “half-height” action potential? If the threshold appears to be “all-or-none,” report the minimum fractional change in injection current that you tested (e.g., 1 part in 100, 1-in-1000, etc.).

4. The *rheobase* current is the minimum current that will elicit repetitive firing (i.e., generate a train of action potentials). What is the rheobase current for the *Squid* model? (Suggested settings: base current = $0 \mu A$; onset delay 1 = $5 msec$; pulse width 1 = $95 msec$; simulation time = $100 msec$.) How sharp is the transition from single spike generation to repetitive firing? — Can you find a value of the injected current that generates *two* action potentials, but doesn’t fire repetitively?

5. By counting the number of spikes generated in a 100 *msec* window, construct a plot of firing frequency vs. injected current, starting at the rheobase current and working up to a value of about 10 times rheobase. (Suggested settings: base current = 0 μA ; onset delay 1 = 0 *msec*; pulse width 1 = 100 *msec*; simulation time = 100 *msec*.) How much does a 10-fold increase in injected current increase the firing rate? What happens if you increase the injected current to 100 times rheobase?

6. In problem 3 we saw that single action potentials can be elicited by small *sustained* levels of current injection. Single action potentials can also be elicited by *transient* pulses of current injection, even when the duration of the pulse is shorter than the duration of the action potential. As the length of the pulse decreases, however, the amplitude necessary to elicit an action potential increases. Generate a plot of single spike threshold current vs. pulse duration for pulse widths between 0.1 and 2.0 *msec*. Is there a simple relationship between pulse width and threshold current? (Use an integration time step of 0.01 *msec* for this study.)

7. In this problem you will investigate the *refractory period* that follows each action potential. The *absolute* refractory period is the time interval during which no stimulus, regardless of strength, is capable of generating another action potential in the axon. The *relative* refractory period is the time interval during which a second action potential can be generated, but which requires an increased stimulus amplitude in order to do so. Using the two-pulse capability of the current clamp mode, map out the absolute and relative refractory periods of the model by generating a plot of threshold amplitude vs. latency. Use a pulse width of 1 *msec*. How long is the absolute refractory period? The relative refractory period? (When mapping out the absolute refractory period, make sure that the responses you call “spikes” are true “all-or-none” phenomena.)
8. All of the injection pulses in the previous current clamp problems have been depolarizing. In this problem you will look at the effect of hyperpolarizing current pulses. Set the pulse amplitude to $-0.1 \mu A$ and set the pulse duration to 5 *msec*. What happens? What is the threshold, in terms of current magnitude and pulse duration, for eliciting this so-called *anode break* excitation? What mechanisms in the model are responsible for this behavior? (Hint: look at the time course of the state variables m , n and h , using the **State Plot Visible** toggle button.)
9. Set the base current level just above rheobase to establish repetitive firing. Now superimpose a 1 *msec* duration, $0.1 \mu A$ current pulse at various latencies ranging from 5.0 to 15.0 *msec*. Can you find a latency value that abolishes the repetitive firing?