

ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ УРАВНЕНИЙ КОЛМОГОРОВА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ

© 2023 г. © 2023 г. А.П. Кручинина*,#, Н.В. Куликовская*,##

*Механико-математический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Ленинские горы, 1, Москва, 119912, Россия

#E-mail: anna.kruchinina@math.msu.ru

##E-mail: nvkpostb@mail.ru

Поступила в редакцию 13.07.2021 г.

После доработки 02.11.2022 г.

Принята к публикации 03.11.2022 г.

Предложен способ определения динамических свойств проводимости потенциал-зависимых ионных каналов с несколькими последовательно расположенными энергетическими барьерами, названными воротными частицами, с помощью теории марковских случайных процессов с непрерывным временем и дискретным множеством состояний. Число состояний принималось равным числу энергетических барьеров в канале плюс одно. Если принять гипотезу, что случайные потоки переключающие воротные частицы между открытым и закрытым состояниями являются пуассоновскими, то математическое описание состояния системы одноименных каналов будет иметь вид системы линейных дифференциальных уравнений Колмогорова для вероятностей состояний. С помощью этой модели и результатов испытаний по протоколу «Volt-Clamp», представленных в открытой печати, можно получить зависимость фиксированных значений мембранного потенциала от интенсивностей пуассоновских потоков для многих типов калиевых каналов. Параметры входящих в уравнение Колмогорова функций, описывающих интенсивность перехода ионов сквозь канал, восстанавливаются с помощью обобщенного метода наименьших квадратов. Приводятся примеры определения интенсивностей переходов для двух видов потенциал-зависимых калиевых каналов — «задержанного выпрямления» (IKdr, две идентичные активационные воротные частицы) и канала с быстрыми процессами активации и инактивации (IKa, три идентичные активационные и одна инактивационная воротные частицы). Показано, что активация и деактивация канала описывается решением общего уравнения Колмогорова.

Ключевые слова: интенсивность потока событий, уравнения Колмогорова, ионные токи, протокол VOLT-CLAMP, метод наименьших квадратов.

DOI: 10.31857/S0006302923020114, EDN: CAYUJM

Посвящается памяти В.И. Курилова

ИОННЫЕ ТОКИ ВОЛОСКОВЫХ КЛЕТОК

В 1952 г. А.Л. Ходжкин и А.Ф. Хаксли решили задачу разделения ионных токов и определения их параметров при помощи предложенного экспериментального протокола Volt-Clamp [1]. Они проводили исследования на гигантском аксоне кальмара и предположили, что их метод применим и к другим клеткам.

В настоящее время исследователи постоянно раскрывают основные физические и химические свойства функционирования ионных каналов на основе сочетания вычислительных методов, результатов рентгеновской кристаллографии и мо-

лекулярно- динамического моделирования [2]. Конечная цель исследований состоит не только в том, чтобы извлечь из множества экспериментальных данных основные принципы строения каналов, но и внедрить их в искусственные системы как датчики электрического напряжения. Часто предлагаются «скоростные» модели потенциал зависимых каналов, в которых предполагается, что поры канала находятся в нескольких стабильных конфигурациях, а процесс прохождения ионов изображается как переход ионов из одной стабильной конфигурации в следующую с вероятностью, заданной постоянной скоростью, зависящей от потенциала [3]. Скоростные модели мо-

гут дать лишь приблизительную картину процесса прохода ионов. Модели такого типа связаны с экспериментальными результатами с помощью математических выражений для потоков ионов, и, их можно использовать для оценки параметров кинематики каналов. Исследования также выявили существование ряда специфических катион-связывающих участков, расположенных вдоль узкой поры канала, предполагая, что ионы K^+ могут буквально «перепрыгивать» (*hop*) от одного места связывания к другому по мере продвижения в канале. В поддержку этой точки зрения было обнаружено, что конфигурации ионов могут соответствовать энергетическим ямам одинаковой глубины и что переносу ионов противостоят лишь небольшие энергетические барьеры. Эти «скоростные» модели прохождения могут быть переведены в кинетические модели и использованы для аппроксимации экспериментальных данных [7]. Такой подход можно применять для проверки прогнозов модели на основе структурных и вычислительных исследований, а также для связывания экспериментальных результатов со структурными объектами в канальном белке.

Результаты работы А.Л. Ходжкина и А.Ф. Хаксли [1] можно считать образцом применения «скоростной» модели канала, так как они были представлены в виде аналитических функций $\alpha(V)$ и $\beta(V)$, выражающих зависимость числа переходов за единицу времени (далее называемых *интенсивностями переходов воротных частиц*, или просто — *интенсивностями*). Эти переходы происходят при конформационных перестройках канального белка, которые обеспечивают перемещение ионов между внутренней и внешней стороной мембраны) из открытого состояния в закрытое ($\beta(V)$) и обратно ($\alpha(V)$) [5, 8].

Физиологи, исследовавшие вестибулярный и слуховой аппарат животных, определили характеристики калиевых, натриевых и кальциевых токов в волосковых клетках и в первичных нейронах. Однако в основном приводятся не функции $\alpha(V)$ и $\beta(V)$, а стационарные проводимости каналов и постоянные времени для токов. В случаях описания каналов со многими воротными частицами это приводит, например, к тому, что постоянные времени переходных процессов при одном и том же потенциале мембраны, но при разных начальных условиях (в режимах активации и деактивации мембраны) оказываются различными, что противоречит основному предположению о том, что интенсивности зависят только от потенциала. Такие случаи, возможно, связаны с трудностями определения постоянных времени на тестовых потенциалах близких к значению потенциала покоя клетки. Далее мы, используя математическую модель, покажем, что никакого парадокса не возникает, и несмотря на большие

шумы в данных в окрестности потенциала покоя клетки, возможно восстановить значения функций $\alpha(V)$ и $\beta(V)$ и уточнить по ним значения постоянных времени для разных каналов.

В настоящее время новые технические возможности при проведении экспериментов на возбудимых рецепторных клетках животных приводят к необходимости дополнительного математического описания ионной проводимости клеточных мембран и анализа получающихся при моделировании результатов для их трактовки и дальнейшего использования.

Для описания изменения вероятностей состояний каналов в форме марковских процессов с помощью обыкновенных дифференциальных уравнений [6] требуется, чтобы были известны интенсивности переходов между состояниями канала. Зависимость вероятностей от потенциала представляется, например, традиционными формулами Ходжкина–Хаксли [1]. Такое описание позволяет выбрать интервал и длительность тестового потенциала, на котором проводится исследование каждого тока, а также определить вид аппроксимирующих функций для анализа записей тока клетки, получаемых как результат испытаний по протоколу «*Volt-Clamp*». В этих опытах производятся записи изменения тока через определенный тип каналов возникающего при мгновенных переходах потенциала клетки между фиксированными уровнями. Полученные графики аппроксимируются функциями времени с известными параметрами. В результате получают наборы значений параметров аппроксимирующей функции, описывающей изменение силы тока, для каждого фиксированного значения потенциала мембраны. Затем на основе этой таблицы определяются экспериментальные значения интенсивностей для этих значений мембранного потенциала.

Для получения параметров интенсивностей в традиционном аналитическом виде предлагается использовать квазирегулярный метод наименьших квадратов для монотонных гладких функций, который изложен далее. Приводятся примеры определения интенсивностей для двух типов калиевых каналов в мембранах волосковых клеток вестибулярных органов лягушки по результатам экспериментов, описанных в работе [7].

Математическая модель перехода между состояниями ионного канала. Для построения математической модели переходного процесса, наблюдаемого в эксперименте, рассмотрим традиционный метод исследования свойств ионных каналов — метод регистрации тока при испытаниях по протоколу «*Volt-Clamp*», использованный Ходжкиным и Хаксли. При испытаниях потенциал мембраны исследуемой клетки V_m сначала длительно удерживается на постоянном значении

$V_m = V_{\text{hold}}$, а затем мгновенно переключается на потенциал $V_m = V_{\text{test}}$ (индексом «m» здесь и далее будем обозначать переменные и параметры, относящиеся к мембране клетки). При этом мгновенно изменяются интенсивности переходов воротных частиц между открытыми и закрытыми состояниями во всех ионных каналах и начинается переход вероятностей открытого состояния каналов от стационарного значения при потенциале мембраны $V_m = V_{\text{hold}}$ к стационарному значению при $V_m = V_{\text{test}}$. Поддержание потенциала на заданном значении во время этого переходного

процесса осуществляет электрическая схема, подающая в клетку ток I_{com} , который компенсирует изменения мембранного тока клетки. Обработка записей компенсирующего тока позволяет найти характеристики исследуемых ионных каналов.

Если параметры протокола (потенциалы V_{hold} и V_{test} и длительности их действия) подобраны так, что возникающий ток является током через калиевые каналы одного заданного типа, то изменение общего мембранного тока может быть описано уравнением

$$I_{\text{com}}(t) = C_m \frac{dV_m}{dt} + G_K P_{\text{open}}(t)(V_{\text{test}} - E_K) + G_l (V_{\text{test}} - E_l)$$

с начальными условиями $V_m(t=0) = V_{\text{hold}}$, и $P_{\text{open}}(t=0) = P_{\text{open}}(V_{\text{hold}})$, где вероятностная мера числа каналов, открытых в момент времени t . Параметры равновесного потенциала и проводимости ионнеселективного тока утечки E_l и G_l обычно бывают известны до начала обработки основных результатов, и ток утечки может быть компенсирован. Реверсный потенциал калиевого тока E_K также можно считать известным, если известны концентрации калия в протоплазме и вне клетки. Обозначим C_m — емкость клеточной мембраны и G_K — максимальная проводимость каналов изучаемого типа определяемые экспериментально.

Так как схема с отрицательной обратной связью обеспечивает равенство $\frac{dV_m}{dt} = 0$, и ток утечки компенсирован, то в результате опыта регистрируется ток $I_{\text{com}}(t) = P_{\text{open}}(t)G_K(V_{\text{test}} - E_K)$. Во всех дальнейших вычислениях мы будем предполагать, что величины G_K и E_K известны и можно для каждого значения V_{test} получить зависимость от времени для вероятности открытого состояния канала: $P_{\text{open}}(t) = \frac{I_{\text{com}}(t)}{G_K(V_{\text{test}} - E_K)}$.

Следуя Ходжкину и Хаксли, сделаем два предположения: общая проводимость клеточной мембраны для однотипных ионных каналов равна сумме проводимостей большого количества отдельных каналов; проводимость каждого канала зависит от функционирования входящих в его состав воротных частиц.

Пусть каждая воротная частица в случайные моменты времени, образующие случайные пуассоновские потоки событий, переходит из открытого состояния в закрытое со средней скоростью $\beta(V)$ и из закрытого в открытое со средней скоростью $\alpha(V)$, где V — электрический потенциал мем-

браны клетки. Если все воротные частицы (k) в канале включены последовательно и управляют независимыми потоками событий, то кинетика ионного канала может быть представлена размеченным графом с числом состояний $k+1$:

$$S_{0\beta_1}^{\alpha_0} S_{1\beta_2}^{\alpha_1} S_2 \dots S_{k-1\beta_k}^{\alpha_{k-1}} S_k. \quad (1)$$

В каждый момент времени все каналы, у которых открыты i ворот, находятся в состоянии S_i , и с каждым состоянием процесса с номером i можно связать значение вероятности нахождения в этом состоянии $P_i^k(t)$, (верхний индекс соответствует общему числу воротных частиц в канале, а нижний индекс соответствует числу открытых

ворот). Очевидно, что $\sum_{j=0}^{k+1} P_j^k(t) = 1$. В состоянии S_k все ворота открыты и проводимость мембраны клетки для соответствующего ионного тока в момент времени t определяется произведением $P_k^k(t)G_{\text{tot}}$, где $G_{\text{tot}} = Ng$, N — общее число однотипных каналов в мембране клетки и g — проводимость одного канала.

Вместо графа канала в форме (1), который соответствует последовательному прохождению ионов через ряд ворот, можно использовать граф с параллельным расположением воротных частиц. Граф (1) возникает при предположении, что в канале существуют последовательно расположенные энергетические ямы, проход через которые закрывается с интенсивностью $\beta_i(V)$, а открывается с интенсивностью $\alpha_i(V)$. Параллельное расположение соответствовало бы возможности открытия канала только в случае присутствия около его входа одновременно всех k частиц.

Если все управляющие потоки являются пуассоновскими и взаимно независимыми, то процесс графа (1) является марковским процессом

[6] с конечным числом дискретных состояний и непрерывным временем. В этом случае изменение вероятностей $P_i^k(t)$ описывается системой уравнений Колмогорова:

$$\frac{dP_i^k(t)}{dt} = -P_i^k(t)(\alpha_i + \beta_i) + \alpha_{i-1}P_{i-1}^k(t) + \beta_{i+1}P_{i+1}^k(t), \quad (2)$$

$$i = 1 \dots k, \alpha_k = 0, \beta_{k+1} = 0$$

при начальных условиях, отвечающих условиям нормировки: $P_o^k(t=0) = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^k(0)$.

Задача идентификации характеристик ионных каналов. В этой работе мы предполагаем, что можно рассматривать процессы быстрой активации и относительно медленной инактивации разделенными во времени. Положим, что в канале находятся k активационных и одна инактивационная частица.

Рассмотрим случай, когда все k воротные частицы идентичны и каждая имеет интенсивности переходов α и β , тогда интенсивности переходов в цепи состояний (1) будут равны:

$$\alpha_0 = k\alpha, \alpha_1 = (k-1)\alpha, \dots, \alpha_{k-1} = \alpha;$$

$$\beta_1 = \beta, \beta_2 = 2\beta, \dots, \beta_k = k\beta.$$

Когда потенциал мембраны постоянен, и интенсивности не зависят от времени, существует стационарное решение системы уравнений (2) и соотношения для стационарных значений вероятностей stP_i^k имеют вид

$$stP_o^k = \beta^k / (\alpha + \beta)^k,$$

$$\dots,$$

$$stP_i^k = C_k^i \alpha^i \cdot \beta^{k-i} / (\alpha + \beta)^k,$$

$$\dots,$$

$$stP_k^k = \alpha^k / (\alpha + \beta)^k,$$

а система уравнений (2) имеет k характеристических корней:

$$\lambda_1 = -(\alpha + \beta), \lambda_2 = -2(\alpha + \beta), \dots, \lambda_k = -k(\alpha + \beta).$$

В условиях проведения экспериментов по протоколу «Volt-Clamp», принято использовать разные обозначения для соответствующих значений потенциала: $V(t=0^-) = V_{hold}$ и $V(t=0^+) = V_{test}$. Такая запись равносильна предположению, что мембрана как конденсатор мгновенно перезаряжается. В дальнейшем мы будем придерживаться этой гипотезы и введем ряд обозначений:

$$\lambda_k = -k(\alpha(V_{test}) + \beta(V_{test})), \tau_k(V_{test}) = -\frac{1}{\lambda_k}$$

$$m_{st}(V_{test}) = \sqrt[k]{stP_{open}(V_{test})} = \frac{\alpha(V_{test})}{\alpha(V_{test}) + \beta(V_{test})} \quad (3)$$

$$stP_{open}(V_{test}) = \left[\frac{\alpha(V_{test})}{\alpha(V_{test}) + \beta(V_{test})} \right]^k = m_{st}^k,$$

где $stP_{open}(V_{test})$ – стационарная вероятность пребывания ионного канала в открытом состоянии.

Представим решение уравнений (2) с учетом введенных обозначений (3) в виде

$$P_{open}(t) = P_k^k(t) = stP_{open}(V_{hold}) + C_1(1 - e^{-t/\tau}) + C_2(1 - e^{-2t/\tau}) + \dots + C_k(1 - e^{-kt/\tau}). \quad (4)$$

Запись решения системы уравнений (2) в форме (4) позволяет показать роль в переходном процессе каждого из членов суммы с различными показателями экспонент.

Возможность такого изменения вероятности предполагает, что интенсивности переходов из закрытого в открытое состояние и обратно принимают новые значения $\alpha(V_{test})$ и $\beta(V_{test})$ за время порядка пикосекунд, а $\tau(V_{test})$ имеет порядок от единиц миллисекунд до десятков и сотен миллисекунд.

Покажем, как выражаются коэффициенты решения (4) $C_1, C_2, \dots, C_k$ через интенсивности переходов воротных частиц в случаях $k = 1, 2, 3$.

Случай одной частицы. Пусть в канале есть только одна активационная воротная частица, $k = 1$ и цепь имеет два состояния:

$$\text{Close} \xrightleftharpoons[\beta]{\alpha} \text{Open}.$$

Тогда уравнение для вероятности открытого состояния канала $P_1^1(t) = P_{open}(t)$:

$$\frac{dP_{open}}{dt} = \alpha(V_{test})(1 - P_{open}) - \beta(V_{test})P_{open}$$

с начальным условием

$$P_{open}(0) = stP_{open}(V_{hold}) = \frac{\alpha(V_{hold})}{\alpha(V_{hold}) + \beta(V_{hold})}.$$

Его решение

$$P_{open}(t) = stP_{open}(V_{hold}) + C_1(1 - e^{-t/\tau_1(V_{test})})$$

$$C_1 = \frac{stP_{open}(V_{test}) - stP_{open}(V_{hold})}{1 - stP_{open}(V_{hold})} = \frac{\alpha(V_{test})}{\alpha(V_{test}) + \beta(V_{test})} - \frac{\alpha(V_{hold})}{\alpha(V_{hold}) + \beta(V_{hold})}, \quad (5)$$

где τ_1 и $stP_{open}(V_{hold})$ выражаются в соответствии с уравнениями (3).

Случай двух частиц. При двух активационных частицах схема канала, представима в виде $\text{Close}_{\beta}^{2\alpha} S_1^{\alpha} \text{Open}$ и уравнения (2) с начальными условиями приобретают вид

$$\begin{aligned} \frac{dP_{S_1}}{dt} &= -(\alpha(V_{\text{test}}) + \beta(V_{\text{test}})) P_{S_1} + 2\beta(V_{\text{test}}) P_{\text{open}} + 2\alpha(V_{\text{test}})(1 - P_{S_1} - P_{\text{open}}), \\ \frac{dP_{\text{open}}}{dt} &= \alpha(V_{\text{test}}) P_{S_1} - 2\beta(V_{\text{test}}) P_{\text{open}}, \\ P_{\text{open}}(0) &= stP_{\text{open}}(V_{\text{hold}}) = \left(\frac{\alpha(V_{\text{hold}})}{\alpha(V_{\text{hold}}) + \beta(V_{\text{hold}})} \right)^2, \\ P_{S_1}(0) &= stP_{S_1}(V_{\text{hold}}) = 2\alpha(V)\beta(V) \left(\frac{1}{\alpha(V) + \beta(V)} \right)^2 \Big|_{V=V_{\text{hold}}}. \end{aligned} \quad (6)$$

Решение уравнений (6) имеет вид

$$P_{\text{open}}(t) = stP_{\text{open}}(V_{\text{hold}}) + C_1 \left(1 - e^{-t/\tau(V_{\text{test}})} \right) + C_2 \left(1 - e^{-2t/\tau(V_{\text{test}})} \right). \quad (7)$$

Постоянные коэффициенты решения (7) в обозначениях (3):

$$\begin{aligned} C_1 &= 2k_1 - k_2 \cdot \tau(V_{\text{test}}), \\ C_2 &= -k_1 + k_2 \cdot \tau(V_{\text{test}}), \\ k_1 &= stP_{\text{open}}(V_{\text{test}}) - stP_{\text{open}}(V_{\text{hold}}), \\ k_2 &= 2\beta(V_{\text{test}}) stP_{\text{open}}(V_{\text{hold}}) + \alpha(V_{\text{test}}) stP_{S_1}(V_{\text{hold}}). \end{aligned} \quad (8)$$

Случай трех частиц. При наличии трех активационных частицах схема канала ($k=3$) представима в виде $\text{Close}_{\beta}^{3\alpha} S_1^{2\alpha} S_2^{\alpha} \text{Open}$ и уравнения (2) с начальными условиями приобретают следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{dP_{\text{open}}}{dt} &= \alpha(V_{\text{test}}) P_{S_2} - 3\beta(V_{\text{test}}) P_{\text{open}}, \\ \frac{dP_{S_1}}{dt} &= (-2\alpha(V_{\text{test}}) - \beta(V_{\text{test}})) P_{S_1} + 2\beta(V_{\text{test}}) P_{S_2} + 3\alpha(V_{\text{test}})(1 - P_{S_1} - P_{\text{open}} - P_{S_2}), \\ \frac{dP_{S_2}}{dt} &= 2\alpha(V) P_{S_1} - (2\beta(V) + \alpha(V)) P_{S_2} + 3\beta(V) P_{\text{open}} \Big|_{V=V_{\text{test}}}, \\ P_{\text{open}}(0) &= stP_{\text{open}}(V_{\text{hold}}) = \left(\frac{\alpha(V_{\text{hold}})}{\alpha(V_{\text{hold}}) + \beta(V_{\text{hold}})} \right)^3, \\ P_{S_1}(0) &= stP_{S_1}(V_{\text{hold}}) = 3\alpha(V_{\text{hold}})\beta^2(V_{\text{hold}}) \left(\frac{1}{\alpha(V_{\text{hold}}) + \beta(V_{\text{hold}})} \right)^3, \\ P_{S_2}(0) &= stP_{S_2}(V_{\text{hold}}) = \frac{3\alpha^2(V_{\text{hold}}) \cdot \beta(V_{\text{hold}})}{(\alpha(V_{\text{hold}}) + \beta(V_{\text{hold}}))^3}. \end{aligned} \quad (9)$$

Они имеют решение

$$\begin{aligned}
 P_{\text{open}}(t) &= \text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{hold}}) + C_1 \left(1 - e^{-t/\tau(V_{\text{test}})}\right) + C_2 \left(1 - e^{-2t/\tau(V_{\text{test}})}\right) + C_3 \left(1 - e^{-3t/\tau(V_{\text{test}})}\right), \\
 C_1 &= 3k_1 - 2.5k_2 \cdot \tau(V_{\text{test}}) - 0.5k_3 \cdot \tau^2(V_{\text{test}}), \\
 C_2 &= -3k_1 + 4k_2 \tau(V_{\text{test}}) + k_3 \tau^2(V_{\text{test}}), \\
 C_3 &= k_1 - 1.5k_2 \tau(V_{\text{test}}) - 0.5k_3 \cdot \tau^2(V_{\text{test}}), \\
 k_1 &= \text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{test}}) - \text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{hold}}), \\
 k_2 &= -3\beta(V_{\text{test}}) \cdot \text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{hold}}) + \alpha(V_{\text{test}}) \cdot \text{st}P_{S_2}(V_{\text{hold}}), \\
 k_3 &= -4\beta(V_{\text{test}}) \alpha(V_{\text{test}}) \cdot \text{st}P_{S_2}(V_{\text{hold}}) + 4\alpha^2(V_{\text{test}}) \text{st}P_{S_1}(V_{\text{hold}}), \\
 \text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{test}}) &= \left[\frac{\alpha(V_{\text{test}})}{\alpha(V_{\text{test}}) + \beta(V_{\text{test}})} \right]^3.
 \end{aligned} \tag{10}$$

Аналогично результатам для $\text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{test}})$, получаемым при гипотезе о последовательном расположении воротных частиц в каналах (граф (1)), при параллельном расположении воротных частиц стационарные вероятности открытого состояния канала были бы такими же (см. (3), но увидеть участие в переходных процессах составляющих с разными степенями экспонент было бы сложнее.

Таким образом, если считать известными интенсивности переходов для одной воротной частицы, то полностью становятся известными все характерные свойства канала, имеющего k идентичных воротных частиц.

Мы предлагаем определять интенсивности переходов в два этапа.

На первом этапе из экспериментов по протоколам «Volt-Clamp» можно получить оценки параметров зависимости стационарных значений вероятностей открытия канала $\text{st}P_{\text{open}}(V)$ от потенциала. Пусть

$$m(V)^i = \text{st}P_{\text{open}}(V) = \left(\frac{\alpha(V)}{\alpha(V) + \beta(V)} \right)^i, \tag{11}$$

предполагая, что число воротных частиц в канале равно i .

Для уменьшения влияния погрешностей по полученным измерениям $\text{st}P_{\text{open}}(V)$ строится оценка $\tilde{m}$ с использованием аппроксимации функцией Больцмана в степени i :

$$\tilde{m}^i(V) = (1 + \exp((V - V_{1/2})/s))^{-i}. \tag{12}$$

При этом определяется степень i и соответствующие ей параметры функции Больцмана: сдвиг $V_{1/2}$, делитель s и степень i , минимизирующие сумму квадратов невязки в точках V_{test} . После этого во всех дальнейших вычислениях будем вместо $m(V)$ использовать приближение (12).

Второй этап использует априорную информацию о связях между стационарной вероятностью открытого состояния каждой воротной частицы и постоянной времени установления этой вероятности с интенсивностями входящего и выходящего потоков:

$$\frac{\alpha}{\beta} = \frac{m}{1-m}, \quad \tau = \frac{1}{\alpha + \beta}. \tag{13}$$

Если в результате экспериментов по протоколу «Volt-Clamp» известны значения вероятности открытия $m_e(V_{\text{test}})$ (экспериментальные данные будем обозначать индексом «е») и выполнено приближение (4) для определения $\tau_e(V_{\text{test}})$, то получим точечные оценки для интенсивностей:

$$\alpha_e(V_{\text{test}}) = \frac{\tilde{m}(V_{\text{test}})}{\tau_e(V_{\text{test}})}, \quad \beta_e(V_{\text{test}}) = \frac{1 - \tilde{m}(V_{\text{test}})}{\tau_e(V_{\text{test}})}. \tag{14}$$

Пусть по формулам (14) вычислены интенсивности для каждого значения потенциала $V = V_{\text{test}}$.

Зададим вид аналитического представления $\alpha(V)$ и $\beta(V)$:

$$\begin{aligned}
 \alpha(V) &= f^1(u) = u / (1 - e^{-u}), \text{ где } u = a_\alpha V + b_\alpha, \\
 \beta(V) &= f^2(u) = e^{-u}, \text{ где } u = a_\beta V + b_\beta.
 \end{aligned} \tag{15}$$

Задача аппроксимации $\alpha(V)$ и $\beta(V)$ сводится к поиску коэффициентов $a_\alpha, b_\alpha, a_\beta, b_\beta$ в выражениях (15). Для их определения мы используем квази-регулярный метод наименьших квадратов, предложенный В.И. Куриловым и описанный в приложении.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве примера использования предлагаемого способа получения оценок для интенсивностей $\alpha(V)$ и $\beta(V)$ переходов между состояниями в ионных каналах с несколькими воротными частицами воспользуемся результатами опытов, опубликованных в работе [7]. Мы остановились

Таблица 1.

1	Экспериментальные значения стационарной вероятности открытия активационной воротной частицы в канале I_{Kdr}														
	V_{test} , мВ	–85	–80	–75	–70	–65	–60	–55	–50	–40	–30	–20	0	10	20
	m_{exp}	0.025	0.065	0.087	0.15	0.27	0.43	0.6	0.73	0.85	0.96	0.99	0.995	1	1
2	Экспериментальные значения постоянной времени I_{Kdr}														
	V_{test} , мВ	–85	–80	–75	–70	–65	–55	–40	–30	–20	–10	0			
	τ_{exp} , мс	6	8.5	11	17	23	32	26	15	8.5	5.6	3			
3	Экспериментальные значения стационарной вероятности открытия отдельной активационной воротной частицы и постоянной времени в канале I_{Ka}														
	V_{test} , мВ	–70	–65	–60	–50	–45	–40	–35	–30	–25	0				
	n_{exp}	0.016	0.044	0.102	0.33	0.415	0.613	0.73	0.815	0.88	0.99				
	τ_e , мс	2.63	3.2	3.69	4.8	5.18	4.7	3.9	2.9	2.3	0.5				
4	Нормированные максимальные значения тока I_{Ka} при учете инактивации														
	V , мВ	–120	–110	–80	–70	–60	–40	–20							
	h_{exp}	0.9924	0.99016	0.9774	0.31317	0.0344	0.0027	0.0000163							
5	Постоянная времени инактивации тока I_{Ka} , зависящая от потенциала мембраны														
	V , мВ	–120	–110	–100	–80	–70	–60								
	τ_i , мс	4.3	11	70	280	153	44								

на этой работе, так как авторы приводят подробное описание условий проведения исследования потенциал-зависимых калиевых токов типа I_{Kdr} и I_{Ka} .

Характеризуя ток I_{Kdr} , так называемый «ток задержанного выпрямления», авторы работы [3] подтверждают общепринятую гипотезу, что калиевые ионные каналы типа I_{Kdr} содержат по две активационные воротные частицы. Влияние инактивационных частиц на времена приводимых записей тока (до 120 мс) из-за большой величины их постоянных времени можно пренебречь.

По приведенным в работе [7] графикам были получены значения максимальной проводимости и экспериментальной стационарной вероятности открытого состояния каналов. Применяв аппроксимацию (12) при $i = 2$ и объединив данные для режимов активации и деактивации тока получили значения $stm_{exp}(V_{test})$, представленные в табл. 1 (раздел 1). Аппроксимация была проведена с помощью алгоритма Левенберга (LMA), входящего в пакет программ pClamp. Параметры аппроксимации (12): $V_{1/2} = -58.12$ мВ и $s = 7.14$ мВ.

Затем для некоторых тестовых потенциалов были получены постоянные времена τ при использовании аппроксимации вероятности открытого состояния каналов формулой (7) и процедуры «экспоненциальная, кумулятивная вероятность» в пакете pClamp. Для режима активации мембраны $st_{open}(V_{hold} = -60 \text{ мВ}) = 0.185$, для режима деактивации $st_{open}(V_{hold} = -10 \text{ мВ}) = 1.0$. Объединив результаты вариантов активации и деактивации, мы получили ряд значений $\tau = \tau_e(V_{test})$, приведенных в табл. 1 (раздел 2).

При $V_{test} -50$ мВ и -60 мВ найденные нами в режимах активации и деактивации постоянные времена имели значимый разброс и были исключены из рассмотрения. При остальных тестовых потенциалах значения $\tau(V_{test})$ были сопоставимы с данными, приведенными на рис. 4в в работе [7], с учетом того, что авторы статьи приводят результаты для режима деактивации умноженными на два.

По экспериментальным данным $m_{exp}(V_{test})$ и $\tau_e(V_{test})$ были получены оценки интенсивностей $\alpha_e(V_{test})$ и $\beta_e(V_{test})$ по формулам (14). Модель для

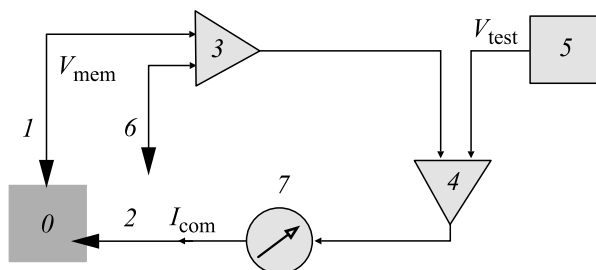


Рис. 1. Электрическая схема установки для проведения испытаний на гигантском аксоне кальмара в виде, приведенном в работе [1]. Генератором управляющих напряжений (5) создается тестовый потенциал. Электродом (1) измеряется V_m — потенциал мембраны клетки (0), который после инвертирования (3) подается на устройство сравнения (4), где вырабатывается ток пропорциональный разности потенциалов. Этот ток измеряется регистрирующим устройством (7) и поступает в клетку через электрод (2). (6) — Внеклеточный электрод — датчик нуля.

аппроксимации интенсивностей аналитическими функциями представлена формулами (15). Подбор величин параметров a_α , b_α , a_β , b_β проводили по алгоритму, последовательно минимизирующему невязки для каждой из двух интенсивностей квазирегулярным методом наименьших квадратов, описанным в приложении.

Объединив результаты случаев активации и деактивации, мы получили ряд значений τ , приведенных в табл. 1 (раздел 2).

При полученных значениях: $(a_\alpha, b_\alpha) = (0.0628, -2.163)$ и $(a_\beta, b_\beta) = (0.0872, 9.16)$ на рис. 2а,б построены графики интенсивностей, постоянной времени и вероятности открытого состояния для активационных воротных частиц в канале I_{Kdr} , из которых видно, что возможно единообразное описание постоянной времени переходных процессов изменения вероятностей для открытого

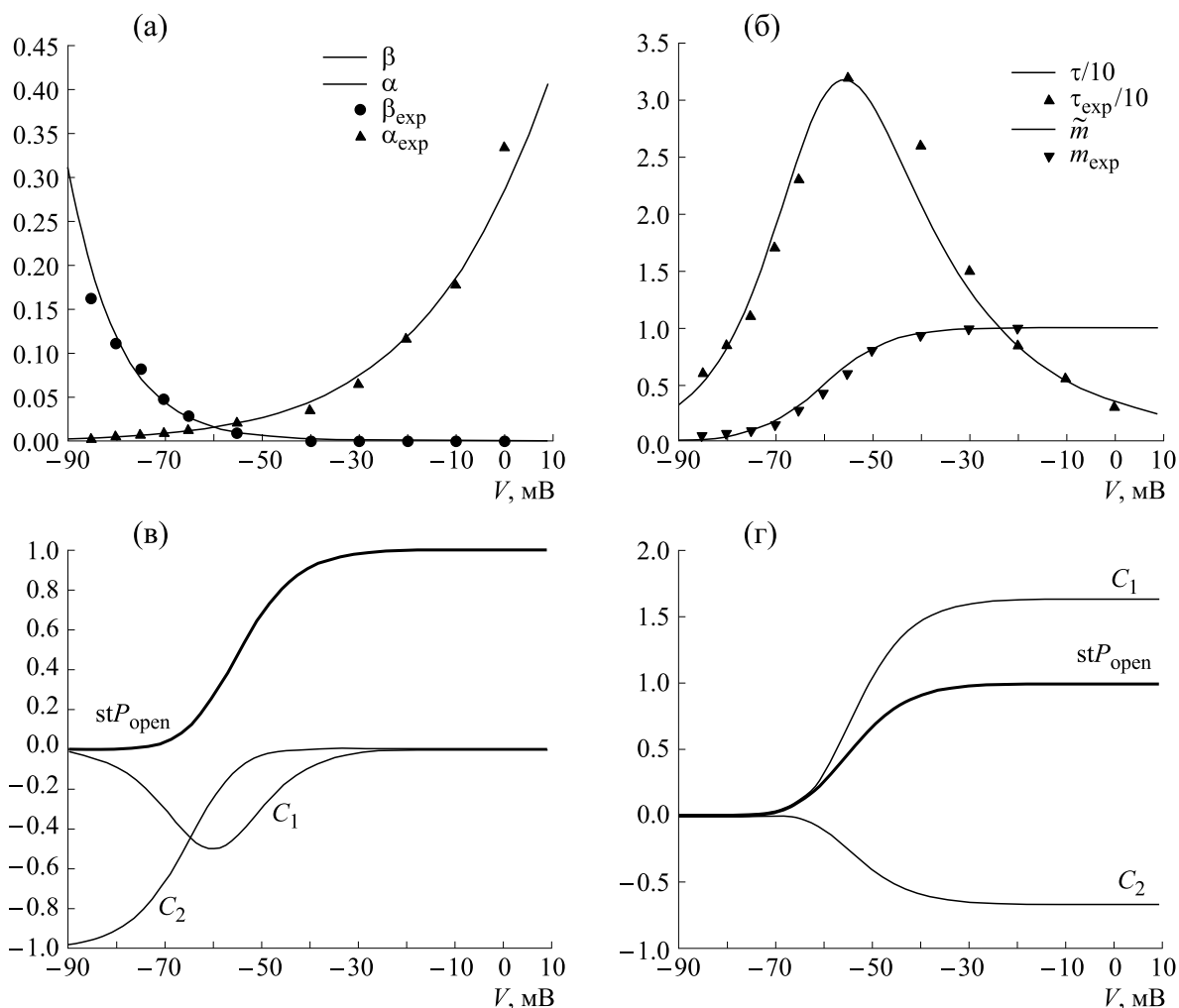


Рис. 2. (а) — Результат аппроксимации интенсивностей для активационных воротных частиц в канале I_{Kdr} формулами (14); (б) — постоянная времени и вероятность открытого состояния канала I_{Kdr} , вычисленные с использованием полученных интенсивностей; (в) и (г) — зависимости от тестового потенциала коэффициентов $C_1(V_{test})$ и $C_2(V_{test})$.

состояния ионного канала во всем диапазоне тестовых потенциалов. На рис. 2в,г показано, как изменяются константы C_1 и C_2 в формуле (7) в зависимости от тестового потенциала в режимах активации и деактивации. Из формулы (7) видно, что при больших значениях времени вероятность открытого состояния каждого канала равна

$$stP_{open}(V_{test}) = stP_{open}(V_{hold}) + C_1 + C_2,$$

а в течение всего переходного процесса C_1 и C_2 определяют относительный вклад членов с показателями экспонент τ и $\tau/2$. Оказывается, что в режиме деактивации C_1 и C_2 отрицательны и это создает впечатление более быстрого переходного процесса. Особенно это заметно при тестовых потенциалах ниже -60 мВ, когда C_2 становится по абсолютной величине больше, чем C_1 .

Дополнительно рассмотрим приводимые в той же статье результаты определения характеристик быстро активирующегося и обладающего заметной инактивацией калиевого тока I_{Ka} . Традиционно считается, что каналы этого тока включают по три одинаковых активационных частицы и по одной инактивационной. Активация имеет сходные параметры в мембранах многих исследованных клеток. Инактивация же может проходить по-разному. Результаты авторов работы [7] показывают, что все каналы I_{Ka} в мембранах волосковых клеток саккулюса лягушки имеют одинаковые активационные частицы, но у одной части каналов постоянная времени инактивации зави-

сит от потенциала, а в другой части постоянная времени инактивации неизменна и равна 74 мс, т.е. не зависит от потенциала. Однако стационарные значения вероятности открытого состояния у всех инактивационных ворот одинаковы.

Для этого тока определение параметров интенсивностей для активационных и инактивационных воротных частиц можно проводить независимо, так как их постоянные времени различаются на один-два порядка. Поэтому можно назначить переключения управляющего потенциала в испытаниях «Volt-Clamp» таким образом, что на одном отрезке времени регистрируемый ток изменяется под действием активации, а на другом отрезке — под действием инактивации.

Покажем это на примере опытов, описанных в цитируемой работе [7], где на рис. 5 приводятся результаты активационного протокола для тока I_{Ka} . Волосковые клетки сначала долгое время удерживались на потенциале -10 мВ, при котором оба калиевые тока были полностью инактивированы. Затем потенциал удерживался в течение 100 мс на значении -100 мВ, при котором за это время инактивация I_{Ka} может восстановиться до единицы, а I_{Kdr} остается инактивированным. Затем включаются деполяризующие потенциалы из диапазона $(-80 \dots +30)$ мВ, действующие больше одной секунды. При этом протоколе было зарегистрировано семейство компенсирующих токов, демонстрирующих высокую степень инактивации

$$I(t) = G_{max} \cdot (V_{test} - E_K) \cdot P_{open}^{ac}(V_{test}) \cdot P_{open}^{in}(V_{test}). \quad (16)$$

Допустим, что на начальном этапе действия деполяризующего напряжения (от 0 до t_{max}) вероятность активации t вырастает до своего максимального значения $stP_{open}^{ac}(V_{test}) = (stm)^3$ и затем остается постоянной, а вероятность инактивации

до момента $t = t_{max}$ не успевает значительно измениться, то есть $P_{open}^{in} = 1$ (как при $t = 0$ (когда $V_{hold} = -100$ мВ). При этом значения максимумов тока для каждого V_{test} равны:

$$\max I(t) = G_{max} \cdot (V_{test} - E_K) \cdot stP_{open}^{ac}(V_{test}). \quad (17)$$

Действуя в порядке, описанном подробно для тока I_{Kdr} , мы на отрезке времени $(0 - t_{max})$ выполнили аппроксимацию согласно формуле (10) и получили для $i = 3$ точечные значения $m_e(V_{test})$, представленные в табл. 1 (раздел 3), для которых по формулам (14) были определены экспериментальные значения $\alpha_e(V_{test})$ и $\beta_e(V_{test})$ и получено их приближенное формульное описание (14) с коэффициентами $(a_\alpha, b_\alpha) = (0.0492, 0.0111)$ и $(a_\beta, b_\beta) = (4.383, 1.1439)$.

На рис. 3а,б показаны результаты вычислений интенсивностей, постоянной времени и вероятности открытого состояния для активационных воротных частиц в канале I_{Ka} . На рис. 3в,г показано, как изменяются константы C_1 , C_2 и C_3 в формуле (10) в зависимости от тестового потенциала в режимах активации и деактивации. Из формулы (10) видно, что при больших значениях времени вероятность открытого состояния каждого канала равна

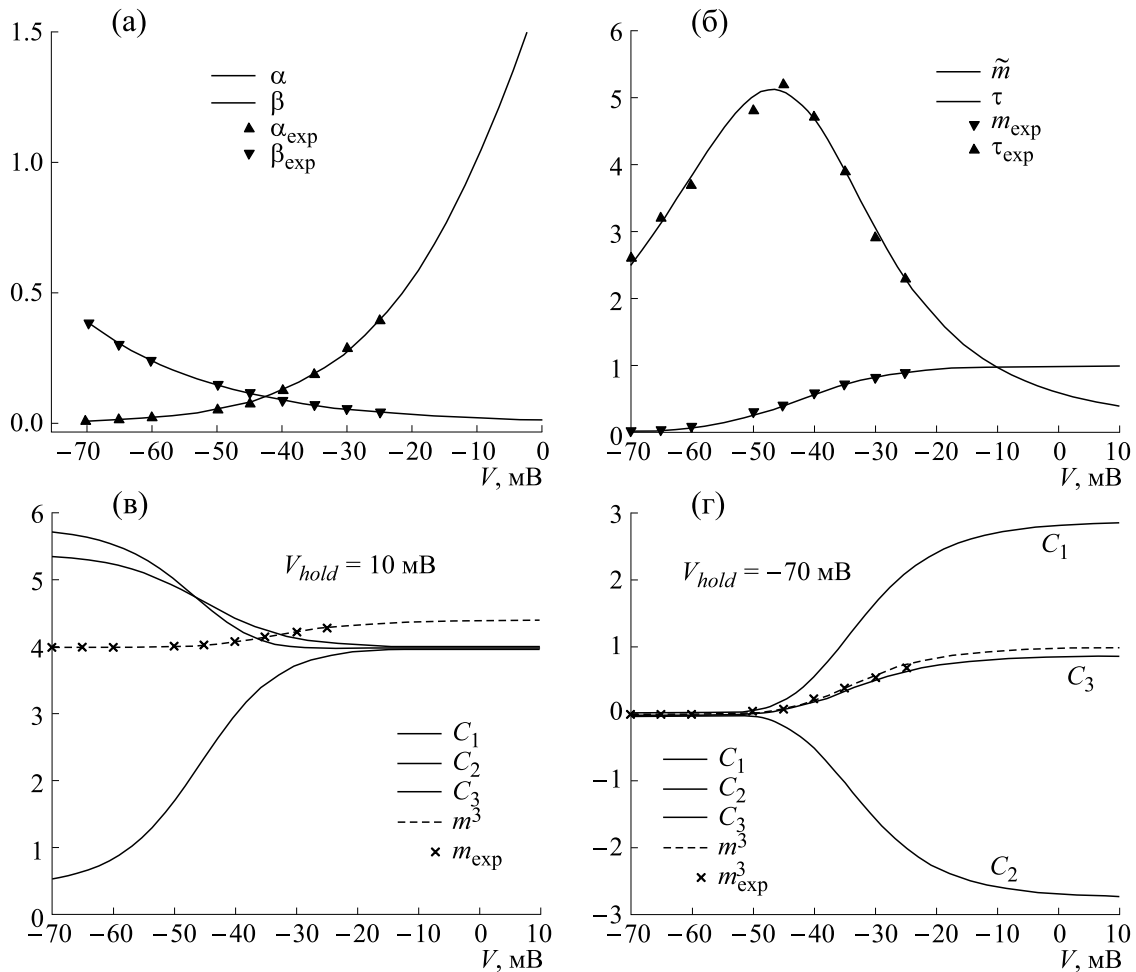


Рис. 3. (а) – Результат аппроксимации интенсивностей для активационных воротных частиц в канале I_{Ka} формулами (15) при $(a_\alpha, b_\alpha) = (0.0492, 0.0111)$ и $(a_\beta, b_\beta) = (4.383, 1.1439)$. (б) – Вычисленные с использованием полученных интенсивностей зависимости постоянной времени и вероятности открытого состояния канала I_{Ka} (параметры функции Больцмана $s = 7.425$, $V_{1/2} = -42.13$ мВ) от V . (в) и (г) – Для режимов активации ($V_{\text{hold}} = -70$ мВ) и деактивации ($V_{\text{hold}} = 10$ мВ) построены зависимости от тестового потенциала коэффициентов C_1 , C_2 и C_3 формулы (10) для представления тока в виде (4).

$$\text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{test}}) = \text{st}P_{\text{open}}(V_{\text{hold}}) + C_1 + C_2 + C_3,$$

а в течение всего переходного процесса C_1 , C_2 и C_3 определяют относительный вклад в переходный процесс членов с показателями экспонент τ , $\tau/2$, $\tau/3$.

На рис. 4 приведены графики изменения во времени трех составляющих, входящих в выражения для вероятности открытия P_{open} активационных ворот I_{Ka} в режимах активации (переход от -70 мВ к -40 мВ, рис. 4а) и деактивации (переход от 0 мВ к -40 мВ, рис. 4б). Постоянная времени в обоих случаях равна 4.657 мс, а переходные процессы выглядят различно. Особенно хорошо это видно на рис. 4в, где они показаны в общем масштабе на оси ординат.

Для определения интенсивностей инактивационной воротной частицы в каналах I_{Ka} , зависящих от потенциала мембраны, нужно разделить каждое значение $I(t)$ (формула (16)) на его максимум (формула (17)) чтобы получить зависимости $P_{\text{open}}^{\text{in}}(t)|_{V=V_{\text{test}}}$. Установившиеся значения $P_{\text{open}}^{\text{in}}(t)|_{V=V_{\text{test}}}$ соответствуют стационарной вероятности открытого состояния инактивационной воротной частицы, обозначенной в таблице как

$$h_{\text{exp}}(V_{\text{test}}) = \text{st}P_{\text{open}}^{\text{in}}(V_{\text{test}}) = \frac{1}{1 + \exp\left(\left(V_{1/2}^{\text{in}} - V_{\text{test}}\right) / s^{\text{in}}\right)},$$

которую аппроксимируем функцией Больцмана с параметрами $s = -4.4413$, $V_{1/2} = -88.304$.

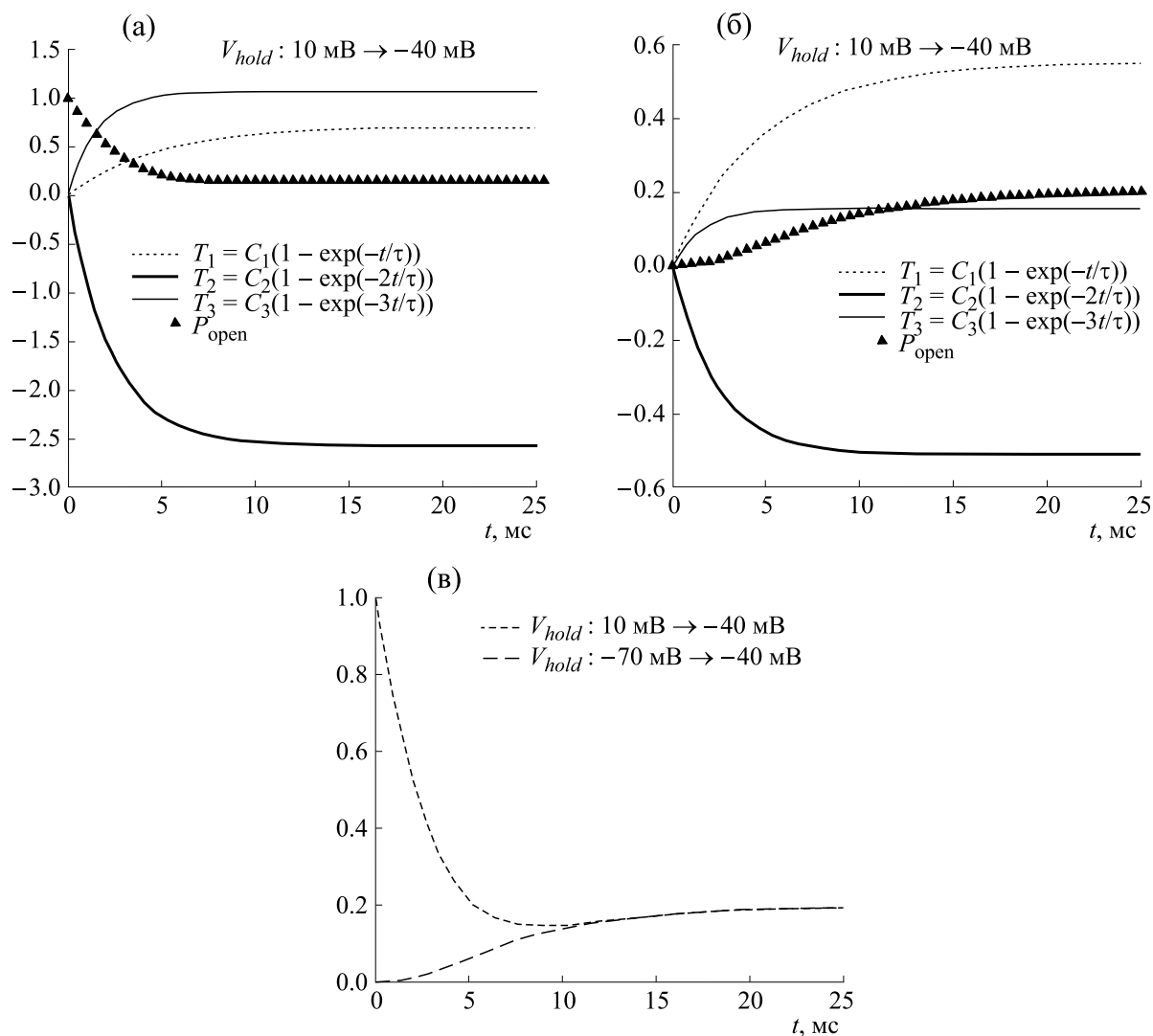


Рис. 4. Изменение во времени трех составляющих с постоянными времени τ , $\tau/2$ и $\tau/3$, входящих в P_{open} I_{Ka} : (а) — активация, (б) — деактивация, (в) — сравнение изменения вероятности открытого состояния каналов для случаев (а) и (б).

Если принять гипотезу о разделении каналов I_{Ka} по виду инактивации на две группы с долями от общего числа W_1 и $W_2 = 1 - W_1$, то аппрокси-

мацию графиков тока для определения $\tau_1(V_{test})$ нужно проводить по формуле

$$P_{open}^{in}(t'')(V = V_{test}) = sth_{test} + (-sth_{test} + sth_{hold}) \cdot [W_1 e^{-t''/\tau_1} + W_2 e^{-t''/74}],$$

$$P_{open}^{in}(t)(V = V_{test}) = h_{test} + (-h_{test} + h_{hold}) \cdot [W_1 e^{-t/\tau_1} + W_2 e^{-t/74}],$$

где $t'' = t - t_{max}$ и sth_{test} — значения нормированного тока, аппроксимированные функцией Больцмана, значения W_1 и W_2 определяются дополнительными экспериментами, а через sth_{hold} обозначено значение тока в начальный для аппроксимации момент времени t_{max} . Численные

результаты аппроксимации представлены в табл. 1 (раздел 5).

На основании данных табл. 1 (раздел 5) аналогично предыдущим примерам определяли $\alpha_e(V_{test})$ и $\beta_e(V_{test})$, полученные при аппроксимации формулами (14) коэффициенты равнялись:

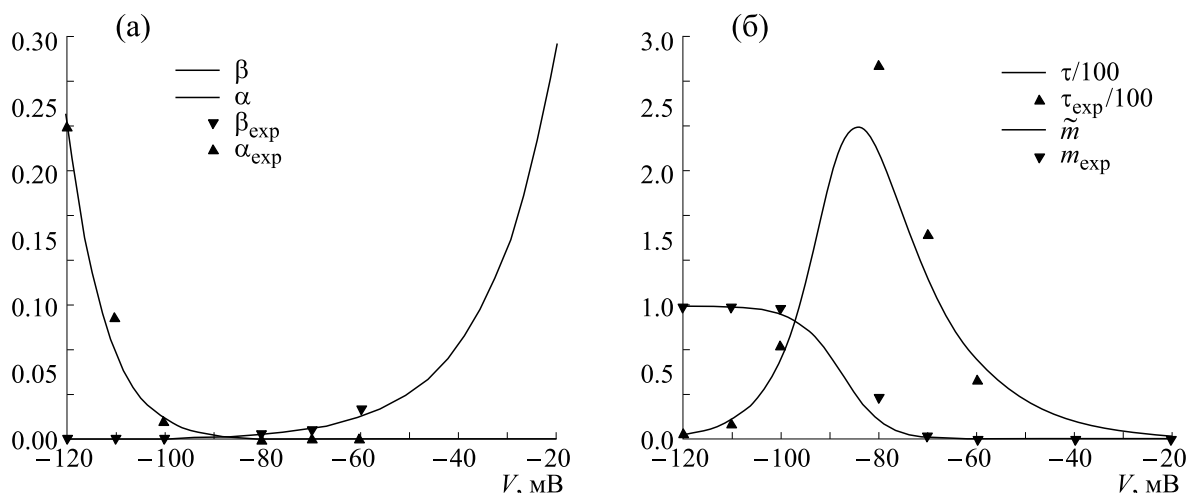


Рис. 5. (а) — Интенсивности и стационарная вероятность открытого состояния I_{Ka} ; (б) — постоянные времени инактивации I_{Ka} .

$(a_\alpha, b_\alpha) = (-0.0718, -0.1797)$ и $(a_\beta, b_\beta) = (-0.2166, -23.94)$.

Графики интенсивностей, стационарной вероятности открытого состояния и постоянной времени соответствующие этим коэффициентам показаны на рис. 5.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ функционирования ионных каналов с помощью их описания как марковских процессов позволяет выбрать параметры для протоколов «Volt-Clamp» и объяснить некоторые значительные разногласия при определении постоянных времени отдельных воротных частиц.

Ходжкин и Хаксли определяли интенсивности переходов для одной воротной частицы, выбрав вид их аналитического представления. При вычислениях они использовали записи токов по протоколам, соответствующим режимам активации токов, указав, что деактивация происходит по простой экспоненте. Подробного анализа деактивации они не приводят. Возможно, для нейрона эти режимы менее заметны, чем режимы активации. Однако, для описания мембранного потенциала волосковых клеток вестибулярных органов существенным является описание их функционирования в области потенциала покоя. В этом диапазоне постоянные времени максимальны, а их восстановление из опытных данных затруднено из-за малых амплитуд тока. Поэтому именно при режимах деактивации удастся полу-

чить надежные оценки параметров токов при потенциалах ниже потенциала покоя клетки.

Основная рекомендация: при выборе длительности интервала записи траекторий тока в режиме «Volt-Clamp»: нужно ориентироваться на длительность переходных процессов при потенциалах близких к потенциалу покоя клетки, причем для этого диапазона потенциалов особенно полезно определять постоянную времени по оконечному отрезку записей, так как на этой части траекторий остается только составляющая с самым большим значением постоянной времени τ . Затем, используя эту оценку τ , можно выяснить присутствуют ли составляющие с постоянными времени, близкими к $\tau/2$, $\tau/3$ и т.д. на начальном отрезке траекторий тока. Наличие таких составляющих покажет, каким должно быть принято число однотипных воротных частиц при описании канала. Если же быстрые составляющие имеют постоянные времени, далекие от $\tau/2$, $\tau/3$..., то можно предположить, что воротные частицы в канале неоднородны. В этом случае модель для аппроксимации траекторий тока можно получить, решая уравнения Колмогорова (2) в общем виде.

Наш анализ также показал, что в протоколы испытаний необходимо включать варианты деактивации мембраны на гиперполяризованные потенциалы, т.к. только при этих условиях можно определить τ для диапазона, где устанавливается $P_{open}(V_{test}) \ll 1$.

Обычно для проведения аппроксимации траекторий тока необходимо указывать начальные

величины параметров приближения. Для этого можно воспользоваться найденными при известных интенсивностях $\alpha_e(V_{\text{test}})$ и $\beta_e(V_{\text{test}})$ значениями амплитуд переходных процессов $C_1, C_2, \dots$ для каналов со сходными свойствами. Особенно это поможет в случаях, когда C_1 и C_2 имеют разные знаки и близки по абсолютной величине.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что процессы активации и деактивации воротных частиц описываются уравнения Колмогорова (2). Постоянные решения уравнений (2) и интенсивности переходов воротных частиц могут быть определены квазирегулярным методом наименьших квадратов.

Приведенная модель функционирования ионных каналов (2) в виде системы обыкновенных дифференциальных уравнений Колмогорова позволяет определять входящие в нее микропараметры с помощью макроизмерений токов от всей клетки. Такими микропараметрами являются интенсивности потоков событий управляющих переключениями состояний гипотетических воротных частиц в потенциал зависимых ионных каналах. Поэтому описанная модель имеет тип «скоростной» модели и лишь уточняет некоторые положения модели Ходжкина–Хаксли [1]. Знание аналитической зависимости интенсивностей потоков от потенциала позволит описывать процесс функционирования волосковой клетки при произвольных движениях головы животного, что актуально для вестибулярных исследований, создания вестибулярных протезов и корректоров.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Квазирегулярный метод наименьших квадратов.

Рассмотрим общую задачу: пусть имеются наблюдения $y_1, \dots, y_n$, соответствующие значениям функции $f(ax + b)$ с параметрами (a, b) в точках $x_1, \dots, x_n$, и эти наблюдения сопровождаются отклонениями

$$\varepsilon_i = y_i - f(ax_i + b), i = 0, \dots, n.$$

Ставится задача нахождения оптимальных значений (a_0, b_0) для пары (a, b) , обеспечивающих минимум сумме квадратов отклонений $\sum_{i=1}^n \varepsilon_i^2$,

что формально записывается следующим образом:

$$(a_0, b_0) = \underset{(a,b)}{\operatorname{argmin}} \sum_{i=0}^n \varepsilon_i^2. \quad (18)$$

Случай линейной функции. Задачи минимизации (18) для линейной функции $f(u) = u$ сводится к регулярному методу наименьших квадратов. Оптимальные значения (a_0, b_0) определяются из следующих выражений:

$$y = f(u), u = a_0 x + b_0, \quad (19)$$

$$a_0 = \operatorname{cov}(y, u) / \operatorname{cov}(u, u), b_0 = E(y) - a_0 E(u), \quad (20)$$

где ковариация $\operatorname{cov}(z_1, z_2)$ двух величин z_1 и z_2 и математическое ожидание $E(z)$ величины z определяется по формулам:

$$\operatorname{cov}(z_1, z_2) = E(z_1 z_2) - E(z_1) E(z_2), E(z) = \frac{1}{n} \sum_{i=0}^n z_i.$$

Случай нелинейной функции. Если функция $f(u)$ не является линейной функцией, то задача нахождения оптимальных значений (a_0, b_0) параметров (a, b) усложняется. Для случая, когда функция $f(u)$ монотонная и гладкая, может быть применен квазирегулярный метод наименьших квадратов, позволяющий находить квазиоптимальные значения параметров (a, b) . Поиск решения задачи (18) заменяется нахождением значений:

$$(\dot{a}_0, \dot{b}_0) = \underset{(a,b)}{\operatorname{argmin}} \sum_{i=0}^n (f^{-1}(y_i) - (ax_i + b))^2. \quad (21)$$

Задача (21) решается регулярным методом наименьших квадратов (20) при условии, что мы умеем находить значения обратной функции $f^{-1}(y)$ [4].

Оценка погрешности квазирегулярного метода. Проведем оценку погрешности предлагаемого квазирегулярного метода наименьших квадратов. Для этого совершим ряд формальных шагов.

С учетом обозначений (19) имеем:

$$f^{-1}(z) = u = \dot{a}_0 x + \dot{b}_0,$$

$$y = f(a_0 x + b_0) = f(\dot{a}_0 x + \dot{b}_0) + \varepsilon = z + \varepsilon.$$

Тогда справедливо с точностью до членов второго порядка малости:

$$f^{-1}(y) = f^{-1}(z + \varepsilon) = f^{-1}(z) + \frac{df^{-1}(z)}{dz} \varepsilon = f^{-1}(z) + \frac{\varepsilon / \frac{df(u)}{du} \Big|_{u=f^{-1}(z)}}{1}. \quad (22)$$

Используя выражение (22), можем переписать задачу (18) в виде:

$$(a_o, b_o) = \operatorname{argmin}_{(a,b)} \sum_{i=0}^n \frac{\varepsilon_i^2}{\left| \frac{df(u)}{du} \right|_{u=ax_i+b}}. \quad (23)$$

Выражения (18) и (23) отличаются тем меньше, чем меньше отличаются значения производной $\left| \frac{df(u)}{du} \right|_{u=ax_i+b}$ для разных точек x_i . Отметим, что свойства монотонности и гладкости функции $y = f(u)$ являются существенными для применимости к этой функции квазирегулярного метода наименьших квадратов. Так, свойство монотонности обеспечивает существование обратной функции $f^{-1}(y)$. Гладкость $f(u)$ необходима для получения оценки (23).

Применение квазирегулярного метода наименьших квадратов. Применим описанный метод к задаче описания проводимости ионных каналов. Нам необходимо оценить значения параметров из уравнения (12):

$$\tilde{\alpha} = f_1(u_1) = u_1 / (1 - e^{-u_1}), \text{ где } u_1 = a_\alpha V + b_\alpha,$$

$$\tilde{\beta} = f_2(u_2) = e^{-u_2}, \text{ где } u_2 = a_\beta V + b_\beta.$$

$$\text{Как и ранее, } \alpha_e(V) = \frac{m(V)}{\tau_e(V)} \text{ и } \beta_e(V) = \frac{1 - m(V)}{\tau_e(V)}.$$

В качестве критерия согласования берем минимум невязки:

$$\sum_{i=0}^m (\tau_e(V) - \tilde{\tau}_e(V))^2 \rightarrow \min. \quad (24)$$

Поиск обратной функции для $f_2(u)$ не представляется сложным:

$$f_2^{-1}(y) = -\ln(y).$$

Для обратной функции $f_1(u)$ выражения в элементарных функциях не существует. Для поиска значений обратной функции можно воспользоваться методом касательных, так как наша функция гладкая. Можно найти, что обратная для $f_1(u)$ функция имеет выражение через функцию Ламберта:

$$f_1^{-1}(y) = y + W(-ye^{-y}),$$

где $W(z)$ — функция Ламберта, определяемая как решение уравнения

$$z = W(z)e^{W(z)}.$$

Решение данного уравнения реализовано в открытых и проприетарных пакетах. В данном слу-

чае использовались решения пакета Matlab[®]. Решение данного уравнения имеет несколько ветвей. В данной задаче выбирается действительное решение, удовлетворяющее свойству обратного, к заданной функции на рассматриваемом множестве значений.

Задача (24) может быть разделена на две, относительно функций α и β . Таким образом, проблема сводится к последовательному поиску значений параметров (a_α, b_α) , минимизирующих невязку

$$\varepsilon_\alpha = \sum_{i=0}^n (\tilde{\alpha}(V_i) - \alpha_e(V_i))^2,$$

и параметров (a_β, b_β) —

$$\varepsilon_\beta = \sum_{i=0}^n (\tilde{\beta}(V_i) - \beta_e(V_i))^2.$$

В силу непрерывности функций (11) и (13), минимизируя выражения (25) и (26), мы будем решать задачу (24).

К решению каждой из задач (25) и (26) применим квазирегулярный метод наименьших квадратов, в силу монотонности и гладкости функций $\alpha(V)$ и $\beta(V)$.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ имени М.В. Ломоносова «Математические методы анализа сложных систем».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. L. Hodgkin and A.F. Huxley, J. Physiol., **17**, 500 (1952).
2. J. L. Carvalho-de-Souza, A. Saponaro, C. Bassetto Jr, et al., Adv. Physics, **10** (7), 1 (2022).
3. B. Hille, *Ionic channels of excitable membranes*, 3rd ed. (Sunderland, MA, 2021).
4. Н. Р. Дрейпер и Г. Смит, *Прикладной регрессионный анализ* (Диалектика, М., 2007).

5. А. Б. Рубин, Биофизика (Изд-во МГУ, М., 2004).
6. Е. С. Вентцель и Л. А. Овчаров, *Теория случайных процессов и ее инженерные приложения* (Наука, М., 1991).
7. L. Catacuzzeno, B. Fioretti, and F. Franciolini, *J. Neurophysiol.*, **90**, 3688 (2003).
8. S. Lee, A. Banerjee, and R. MacKinnon, *PLoS Biol.*, **7** (7), 1 (2009).

On the Use of Kolmogorov Equations for Determining Ion Channels Characteristics

A.P. Kruchinina* and N.V. Kulikovskaya**

*Faculty of Mechanics and Mathematics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow, 119912 Russia

The paper proposes a method for determination of the dynamic properties of conduction within voltage-gated ion channels with several sequentially located energy barriers named gate particles using a theory of Markov random processes in continuous time and with a discrete state space. The number of states was taken equal to the number of energy barriers in the channel plus one. If the hypothesis that random flows switching gate particles between an open and a closed are Poisson process, is true, then mathematical description of the system's state of similar channels can be a system of Kolmogorov linear differential equations for state probabilities. Using this model and based on Volt-Clamp test results, published in open access journals, it is possible to find out how fixed values of membrane potential depend on the intensities of Poisson process for different types of potassium channels. Function parameters, that describe the intensity of ion transition across the channel, in the Kolmogorov equation can be restored using the generalized least squares method. This paper contains the examples of determining the intensities of transitions for two types of voltage-dependent potassium channels known as «delayed rectifier potassium channels» (IKdr, two identical activation gate particles) and channels with fast activation and inactivation processes (IKa, three identical activation and one inactivation gate particles). It is shown that channel activation and deactivation is described by solving the general Kolmogorov equation.

Keywords: events flow intensity, Kolmogorov equations, ion currents, VOLT-CLAMP protocol, least squares method