

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
INFORMATIKOS FAKULTETAS

Ana Jakaitienė

# **Neuronų sąveikavimo procesų modeliavimas**

Magistro darbas

Darbo vadovas

prof. H. Pranevičius

Kaunas, 2007

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
INFORMATIKOS FAKULTETAS

Ana Jakaitienė

**Neuronų sąveikavimo procesų modeliavimas**

Magistro darbas

Recenzentas

2007-05-

doc. dr. P. Kanapeckas

Vadovas

2007-05-

prof. H. Pranevičius

Atliko

IFM-1/1 gr. Stud.  
Ana Jakaitienė

Kaunas, 2007

## **Santrumpų ir terminų žodynas**

**DEVS** – Discrete Events System Specification. Tai diskretinių sistemos įvykių modeliavimo formalizmas.

**Kalio kanalai** – membranos kanalai, kurie praleidžia tik  $K^+$  jonus abejomis kryptimis. Kanalai yra valdomi ir gali atsidaryti arba užsidaryti priklausomai nuo potencialų skirtumo tarp citoplazmos ir išorinės aplinkos. Turi inercinių savybių.

**Natrio kanalai** – membranos kanalai, kurie praleidžia tik  $Na^+$  jonus abejomis kryptimis. Nuo kalio kanalų skiriasi atidarantiu potencialu ir inercinėmis savybėmis.

**Natrio siurblys** – neurono ląstelės viduje, citoplazmoje, daugiausia  $K^+$  jonų, išorėje –  $Na^+$ . Aktyvus membraninis transportas, natrio siurblys, perneša  $K^+$  jonus į vidų, o  $Na^+$  į išorę.

**Nervinis impulsas (spaikas)** – sujaudinimo sklidimo aksonu nuo neurono ląstelės kūno iki aksono galo procesas.

**Neiromediatorius** – medžiaga, kurią išskiria presinapsinė neurono ląstelė į postsinapsinės ląstelės receptorių. Tai molekulinis tarpininkas skirtas informacijos perdavimui.

**Mikrovamzdeliai** – plonos atraminės struktūros, padeda neuronui išsaugoti nustatytą formą.

**Mitochondrijos** – aprūpina neurono ląstelę energija.

**PLA** – Piece-Linear Aggregate approach. Sistemų formalizavimo kalba pagrįsta atkarpomis tiesinių agregatų metodu.

**Plyšinė jungtis** – tarpląstelinių kanalų visuma jungianti kaimyninių ląstelių citoplazmas.

## SANTRAUKA

Šiame darbe nagrinėjamos struktūrinės funkcinės priklausomybės tarp neuronų, t.y. tarpląstelinės plyšinės jungties laidumo priklausomybė nuo įtampos. Analizuojami pereinamieji procesai, vykstantys tarpląstelinėse plyšinėse jungtyse ir paaiškinami tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų valdymo mechanizmai.

Darbe sukurtas tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų konceptualusis modelis. Užrašyta tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų modelio specifikacija naudojant atkarpomis tiesinį agregatų metodą (PLA).

Sukurta formali specifikacija buvo naudota kuriant tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų modelio imitacinę programą.

Atlikti eksperimentai parodantis, kad plyšinės jungties vartai gerai apsirašo naudojant perėjimų matricą ir kad šio modelio modeliavimo rezultatai adekvačiai sutampa su eksperimentiniais rezultatais, gautais vykdant neuronų tarpusavio sąveikavimo tyrimus Niujorko Alberto Einšteino medicinos kolegijoje.

# Modeling of neurons interaction proces

## SUMMARY

In this paper structure-functional relationships of neurons are analyzed, i.e. intercellular gap junction conduction dependence on voltage. Also transitional processes in intercellular gap junction are analyzed and control mechanisms of intercellular gap junction gates explained.

In this work intercellular gap junction gates conceptual model is created. The piece linear aggregate specification of this intercellular gap junction gates is created.

This formal specification is used for simulation program of transjunction gap junction gates model.

After some experiments carried out, was showed that transjunctional gap junction gates are correct defined by this transition matrix and this model results are adequate to experiment data, witch are obtained performing neuron interaction analyses in New York Albert Einstein medical college.

# Turinys

1. ĮVADAS .....	7
2. BIOLOGINIS NEURONAS .....	10
2.1. Biologinio neurono sandara .....	10
2.2. Nervinio impulso sklidimas .....	11
3. TARPLAŠTELIANĖS PLYŠINĖS JUNGTYS .....	13
3.1. Tarpląstelinių plyšinių jungčių struktūra .....	13
3.2. Tarpląstelinės plyšinių jungčių charakteristikos .....	14
4. TARPLAŠTELINIŲ PLYŠINIŲ JUNGČIŲ VARTŲ MODELIAVIMAS .....	16
4.1. Tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų matematinis modelio aprašymas .....	16
4.2. Determinuotas tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų valdymo modelis .....	19
4.3. Nepriklausomas tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų valdymo modelis .....	20
4.4. Nuoseklus vartų modelis vartų reguliavimui plyšinėse tarpląstelinėse jungtyse .....	21
5. PLA FORMALIZMAS .....	24
5.1. Atkarpomis tiesiniai agregatai .....	24
5.2. Agregatų funkcionavimo formalizavimas valdymo sekų metodu .....	27
5.3. Dinaminis PLA išplėtimas .....	30
6. PLA PANAUDOJIMAS TARPLAŠTELINIŲ PLYŠINIŲ JUNGČIŲ VARTŲ MODELIO SPECIFIKAVIMUI .....	34
6.1. Tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų konceptualusis modelis .....	34
6.2. Tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų agregatinis modelis .....	36
7. ESPERIMENTINĖ DALIS .....	44
8. IŠVADOS .....	47
9. LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	48
10. PRIEDAI .....	50
10.1. Įvairių koneksinų izoformų tarpląstelinių plyšinių jungčių kanalų eksperimentiniai duomenys .....	50

# 1. ĮVADAS

Biologinių neuroninių tinklų modeliavimas yra pagrįstas ir perspektyvus. Tačiau neuroninių tinklų tyrimui būtina turėti matematinius modelius – kiek biologinio neurono tiek biologinių neuroninių tinklų.

Žmogaus nervų sistema – labai sudėtingas neuronų tinklas. Pagrindinis šios sistemos elementas – smegenys, sudarytos iš beveik 1000 biologinių neuronų, tarpusavyje sujungtų potinkliais. Modeliuojant biologinius neuroninius tinklus labai svarbus pilnas bio-panašumas.

Projektuojant sistemas, tiesiog būtina sudaryti šių sistemų imitacinius modelius. Imitacinių modelių pagalba galima ištirti įvairius sistemos darbo scenarijus, atrasti ir ištaisyti klaidas. Tai padeda išvengti sistemos kritinių situacijų bei sumažina darbo kaštus. Dažnai reikia ne tik užtikrinti, kad sistemos modelis būtų teisingas, bet ir parinkti sistemos parametrus – laikmačiais nustatomas trukmės, informacijos perdavimo kanalų spartą ir t.t. Tam, kad detaliai ištirti sistemą, reikia formaliai apibrėžti kuriamos sistemos modelį. Priklausomai nuo modelio sudėtingumo bei reikalaujamo abstrakcijos lygmens galimi įvairūs modelio užrašymo būdai: išplėstiniai baigtiniai automatai, sąveikaujančių sistemų skaičiavimai, aibių teorija ir matematinė logika, atkarpomis tiesiniai agregatai ir pan.

Šiame darbe nagrinėjamos struktūrinės funkcinės priklausomybės tarp neuronų, o būtent tarpląstelinės plyšinės jungties laidumo priklausomybė nuo įtampos. Plyšinės jungtys – tarpląsteliniai kanalai, kurie sujungia gretimų ląstelių citoplazmą. Plyšinės jungtys leidžia sujungtoms ląstelėms perduoti elektrinius ir metabolinius signalus [2]. Buvo pripažinta, kad ląstelių komunikavimas per plyšines jungtis turi svarbų vaidmenį daugelyje psichologinių procesų, tokių kaip impulso sklidimas širdyje ir neuronuose, ląstelių aprūpinimas maistingomis medžiagomis, ląstelės struktūros formavimas ir reguliavimas jos augimo proceso metu.

Tarpląstelinės plyšinės jungtys skiriasi apjungtų į vieną pluoštą kanalų skaičiumi. Kanala sudaro du gretimų ląstelių puskanaliai (koneksonai) kurie savo ruožtu sudaryti iš šešių koneksinų (baltyminiai koneksono subvienetai). Priklausomai nuo koneksinų tipų skiriami homotipiniai ir heterotipiniai tarpląsteliniai kanalai. Bendra savybė būdinga visų koneksinų tipų kanalams tai kanalo vartų būsenos priklausomybė nuo įtampos. Jungties laidumas mažėja sudarius tarpląstelinės jungties potencialą. Homotipinių kanalų, sudarytų iš identiškų koneksinų tipų,

laidumo priklausomybė nuo įtampos simetrinė. Heterotipinių kanalų, sudarytų iš skirtingų koneksonų tipų, laidumo priklausomybė nuo įtampos asimetrinė. Skirtingų koneksonų tipų kanalai skiriasi savo charakteristikomis, tokiomis kaip elektrinis laidumas, skvarba, kanalų vartų jautrumas įtampai ir t.t.

Specifikavimo kalbų panaudojimas leidžia formalizuoti sistemas ir sukurti imitacinius modelius. Mūsų atveju reikalinga formalizavimo kalba, kuri tiktų realiame laike vykstančių procesų specifikavimui. Be to, ši kalba turi gerai aprašyti tiek tolydžiąsias tiek diskrečiąsias būsenų komponentes. Labiausiai paplitę ir atitinkantys nurodytus reikalavimus yra PLA (piece-linear aggregate approach) ir DEVS (discrete events system specification) formalizmai. Čia bus nagrinėjamas tik PLA – atkarpomis tiesinių agregatų metodas.

Teorinį agregatinio formalizavimo metodo pagrindą sudaro atkarpomis tiesinių Markovo procesų panaudojimas agregatų aprašymui. Agregatas – matematinė schema priklausanti automatų modelių klasei. Sistemos būsenai aprašyti naudojamos diskrečiosios ir tolydžiosios koordinatės. Laiko intervalais, kai nėra įėjimo signalų, tolydžiosios koordinatės kinta pagal tiesinį dėsnį. Valdymo sekos apibrėžiamos laiko tarpų kuriuo metu gali įvykti vidiniai įvykiai. Diskrečioji būsenos komponentė gali pakisti tik kai ateina įėjimo signalas arba kai tolydžioji koordinatė tampa lygi nuliui. Pagrindinis agregatinio metodo pranašumas tame, kad bendrosios formaliosios specifikacijos bazėje galima patikrinti ar specifikacija sudaryta teisingai bei galima sukurti sistemos imitacinius modelius.

Šio darbo tikslas išnagrinėti neuronų sąveikavimą per tarpląstelinius plyšinius sujungimus. Taip pat – išsiaiškinti, kaip priklauso tarpląstelinių plyšinių jungčių laidumas nuo įtampos, sukurti tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų konceptualų modelį, kuris būtų adekvatus neuroninių procesų sąveikavimo eksperimentinėms rezultatams. Eksperimentiniai rezultatai ir sąveikavimo koncepcijos yra pateiktos Ye Chen\_Izu ir kt. [3] mokslinėse publikacijose. Sukurtą konceptualų modelį formalizuoti panaudoti atkarpomis tiesinių agregatų metodą (PLA). Išnagrinėti ir įvertinti programinės realizacijos [8] rezultatų adekvatumą eksperimentiniams duomenims.

Antrame šio darbo skyriuje pateikta biologinio neurono sandara bei paaiškintas nervinių impulsų sklidimo procesas. Trečiame skyriuje apžvelgtos tarpląstelinės plyšinės jungtys, paaiškinta jų struktūra bei pagrindinės charakteristikos. Ketvirtame skyriuje aprašytas tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų matematinis modelis bei du vartų valdymo mechanizmai,



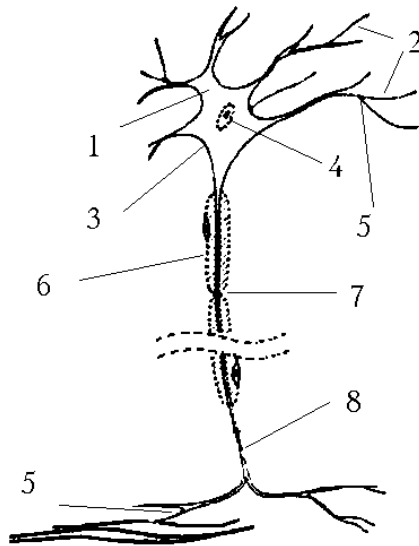
pateiktas nuoseklus vartų modelis vartų reguliavimui plyšinėse tarpląstelinėse jungtyse. Penktame šio darbo skyriuje apžvelgiamas atkarpomis tiesinių agregatų metodas bei aprašomas jo taikymas sistemų formalizavimui. Šeštame darbo skyriuje pateikiamas tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų konceptualusis modelis, aprašomos jo sudedamosios dalys, charakteristikos bei pateikiama modelio specifikacija panaudojant atkarpomis tiesinių agregatų metodą. Paskutinėje šio darbo dalyje aprašoma programinė modelio realizacija bei pateikiama realizacijos rezultatų analizė.

## 2. BIOLOGINIS NEURONAS

### 2.1. Biologinio neurono sandara

Kiekvieną neuroną sudaro (1 pav.):

- Ląstelės kūnas – soma, turi branduolį, mitochondrijas (aprūpina ląstelę energija)
- Dendritai – skaidulos, neurono ataugos kurios priima signalus iš kitų neuronų. Vidutiniškai vienas neuronas turi 5-15 stambių dendritų.
- Membrana – palaiko pastovia citoplazmos sudėtį ląstelės viduje bei nervinių impulsų laidumą.
- Citoplazma - plazmine membrana apgaubtas ląstelės turinys.
- Aksonas – ilga neurono atauga, perduodanti elektrinius signalus kitiems neuronams.
- Sinapsė - tai jungtis tarp dviejų neuronų. Dažniausios sinapsės tarp vieno neurono aksono ir kito neurono dendrito, bet būna ir kitokių sinapsių.
- Švano ląstelės – specifinės mielininės ląstelės, atsakingos už aksonų izoliavimą



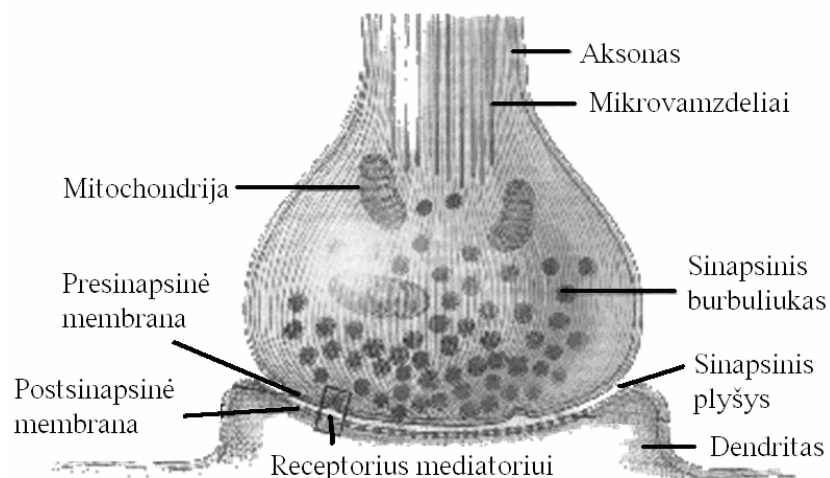
1 pav. Biologinis neuronas: 1 - soma, 2 - dendritai, 3 – membrana, 4 – branduolys, 5 – sinapsė,

6 – Švano ląstelės, 7 – Ranvje sąsmauka, 8 – aksonas

Vieno neurono aksonas sudaro sinapsinius ryšius su daugeliu kitų neuronų. Atsižvelgiant į neurono tipą, sinapsinių ryšių skaičius svyruoja nuo kelių šimtų iki kelių dešimties tūkstančių. Ląstelės branduolys sumuoja signalus, gautus iš dendritų ir daugybės sinapsių. Neuronas, gavęs pakankamai įvesties signalų, kurie stimuliuoja neuroną iki slenkstinio (threshold) lygio, išsiunčia impulsą savo aksonui. Tačiau jei įvesties signalai nepasiekia reikiamo slenkstinio lygio, jie greitai nuslopsta, taip ir nesukėlę jokių veiksmų.

## 2.2. Nervinio impulso sklidimas

Kontakto vietose neuronų ląstelių membranos nesusilieja, tarp jų visada yra nedidelis tarpas – sinapsinis plyšys (2 pav.).



2 pav. Sinapsinis perdavimas

Sinapsinio nervinio impulso sklidimo etapai:

- Nervinis impulsas pasiekia presinapsinę skaidulos dalį.
- Atsidaro kalcio kanalai,  $Ca^{++}$  patenka į presinapsinę citoplazmą.

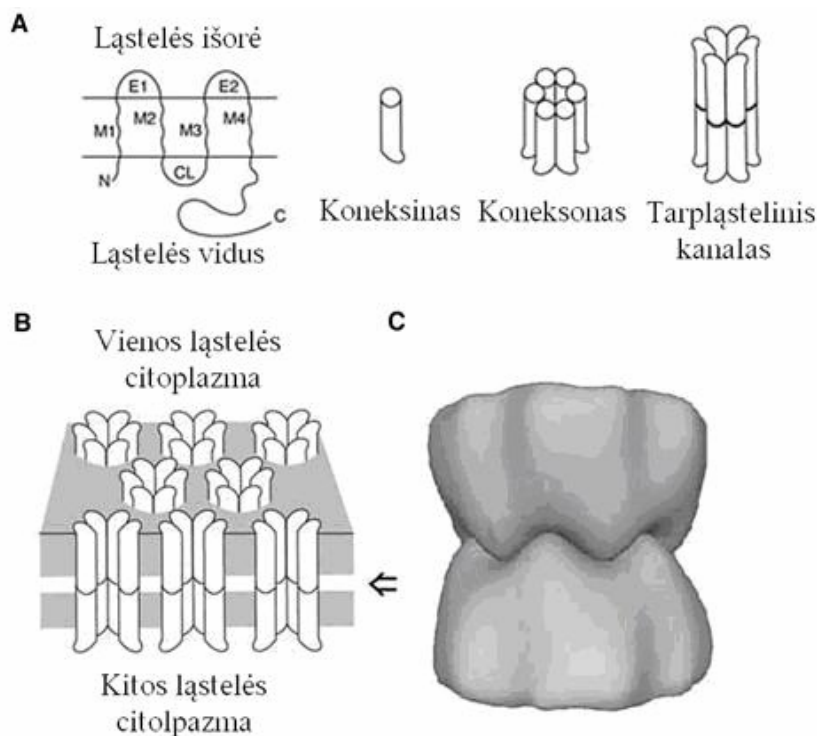
- Presinapsinėje citoplazmoje pastoviai yra didelis kiekis sinapsinių burbuliukų nešančių neiromediatorių. Neiromediatorius uždaro grandinę, vykdydamas cheminį informacijos perdavimą per sinapsinį plyšį. Dėl patekusių  $Ca^{++}$  jonų, presinapsinės citoplazmos burbuliukai sprogs, išpurškiant mediatorių į sinapsinį plyšį.
- Patekęs į plyšį mediatorius difunduoja į postsinapsinę plyšio pusę.
- Receptoriai, esantys postsinapsinėje plyšio pusėje pagauna mediatoriaus molekules.
- Padidėja kanalo laidumas  $Na^{+}$  ir  $K^{+}$  jonams abejomis kryptimis.

Kanalų atidarymas postsinapsinėje plyšio pusėje, iššaukia natrio jonų srautą į vidų, o kalio – į išorę. Atsiradusi joninė srovė sužadina nervinį impulsą, kuris sklinda toliau.

### 3. TARPLAŠTELIANĖS PLYŠINĖS JUNGTYS

#### 3.1. Tarpląstelinių plyšinių jungčių struktūra

Plyšinės jungtys – viena iš tarpląstelinio sujungimo rūšių [4]. Tai tankiai supakuoti agregatai nuo kelių iki  $10^5$  tarpląstelinių kanaliukų, kurie betarpiškai sujungia kaimyninių ląstelių citoplazmą. Plyšiniai sujungimai naudojami maksimaliam perdavimo greičiui, neuroninių impulsų sinchronizavimui bei perjungimui nuo vieno kelio į kitą. Kiekvienas plyšinės jungties kanalas sudarytas iš dviejų puskanalių (koneksonų), kurie savo ruožtu sudaryti iš šešių koneksinų (Cx). Koneksinai – tai baltymai, kurie formuoja plyšines tarpląstelines jungtis kontakte tarp kaimyninių ląstelių membranų. Iki šiol yra klonuota 21 skirtingų žmogaus koneksinų izoformų [11]. Koneksinai vadinami tapačiais, jeigu jie gali sudaryti funkcinis heterotipinius kanalus [9].



3 pav. Tarpląstelinio kanalo struktūra

Transmembraninė topologija koneksininių polipeptidų sudaro 4 membraniniai domenai (M1 – M4) (3 pav. A), viena citoplazminė (CL) ir dvi neląstelinės kilpos (E1 ir E2), bei N- ir C-galai nukreipti į ląstelės vidų. Membraniniai domenai M1-M4 supakuoti į  $\alpha$  spirales, sudaro vienetinį koneksininį subvienetą. Šie subvienetai ląstelės membranoje oligomerizuojasi į koneksoną, kuris susijungia su tokių pat kaimyninės ląstelės koneksonu formuodamas tarpląstelinį kanalą.

Plyšiniai sujungimai skiriasi tarpląstelinių kanalų, apjungtų į vieną pluoštą, skaičiumi (3 pav. B). Rodyklė nurodo tarpląstelinio plyšio padėtį.

(3 pav. C) Sąveikaujančių koneksonų sujungimo modelis. Modelis reikalauja vieno koneksono  $30^\circ$  rotacijos atžvilgiu kito koneksono.

Per plyšinius sujungimus gali praeiti neorganinės druskos, cukrus, aminorūgštis, nukleotidai, vitaminai ir kitos medžiagos, tačiau negali laisvai pereiti stambios proteino ir nukleininųjų rūgščių molekules. Tarpląstelinės plyšinės jungtys yra ypatingos dėl joninių kanalų ir sudaro unikalią sistemą, leidžiančią tyrinėti struktūrines funkcinės priklausomybes tarp proteino molekulių.

Skirtingų koneksinų izoformų kanalai skiriasi elektriniu laidumu, skvarba ir kanalų vartų jautrumu įtampai.

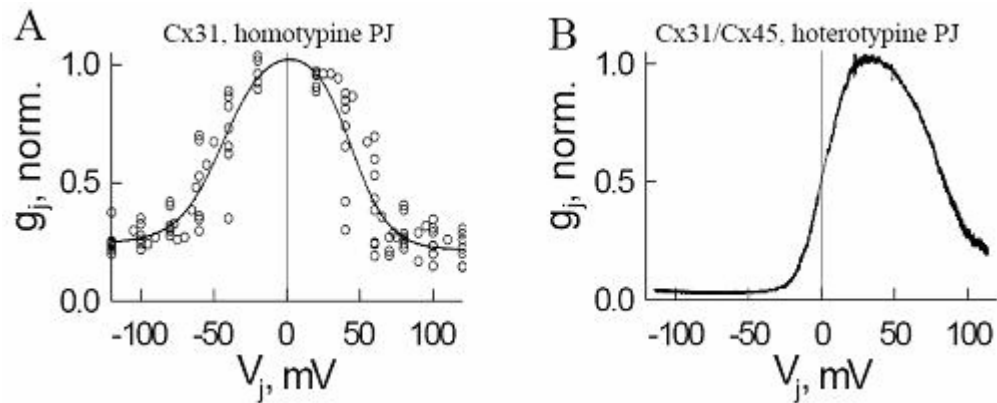
### 3.2. Tarpląstelinės plyšinių jungčių charakteristikos

Bet kurio tipo tarpląstelinė plyšinė jungtis charakterizuojama kanalo vartų būsenos priklausomybe nuo įtampos. Jungties laidumas mažėja sudarius tarpląstelinės jungties potencialą,  $V_j$ .

Yra skiriami homotipiniai ir heterotipiniai tarpląstelinių plyšinių jungčių kanalai. Homotipiniai kanalai, sudaryti iš dviejų identiškų koneksonų izotipų turi simetrinę struktūrą, tuo tarpu heterotipiniai kanalai, sudaryti iš dviejų skirtingų koneksonų izotipų turi asimetrinę struktūrą.

Todėl, homotipiniams kanalams, laidumo ( $G_j$ ) priklausomybė nuo tarpląstelinės įtampos ( $V_j$ ) yra simetriška  $V_j = 0$  atžvilgiu (4 pav. A). Heterotipinės plyšinės jungtys turi asimetrinę

$G_j/V_j$  priklausomybę (4 pav. B). Taip yra dėl skirtingo vartų jautrumo įtampai ir skirtingų atviros ir uždaros kanalo puskanalių būsenų laidumų.



4 pav. Plyšinių kanalų laidumo priklausomybė nuo  $V_j$ . A:  $G_j(V_j)$  priklausomybė matuota HeLa ląstelių poroje ekspresuojančioje Cx31. B:  $G_j(V_j)$  priklausomybė matuota jungtyje tarp HeLa ląstelės ekspresuojančios Cx31 ir HeLa ląstelės ekspresuojančios Cx45.

Manoma, kad kiekvienas puskanalis turi du skirtingus vartų valdymo mechanizmus: 1) ‘lėtas’, kuris uždaro PJ pilnai, ir 2) ‘greitas’, kuris perveda vartus į pereinamą būseną ar būsenas su liekamuoju laidumu [1]. Šiame modelyje mes nagrinėjome tikrai ‘greitus’ vartus. Mes skaitėme, kad kiekvienas puskanalis gali būti dviejose būsenose: atviroje su laidumu  $G_o$  ir uždarytoje su laidumu  $G_c$ . Vartų valdymo mechanizmai gali skirtis poliariškumu, tai yra vartai gali užsidaryti arba atsідaryti, jeigu citoplazmos pusėje potencialas didėja arba mažėja. Jeigu abiejų puskanalių vartai turi ta pati poliariškumą, tai su kiekvienu  $V_j$  nelygiu 0 vienas puskanalis atsідaro, o kitas užsidaro. Jeigu puskanalių vartai turi priešingą poliariškumą, vienas  $V_j$  poliariškumas atidarys abu puskanalius, o priešingas  $V_j$  potencialas uždarys abu puskanalius.

## 4. TARPLAŠTELINIŲ PLYŠINIŲ JUNGČIŲ VARTŲ MODELIAVIMAS

### 4.1. Tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų matematinis modelio aprašymas

Įvairių tipų koneksonų suporavimas ir molekulinė technika taikymas pakeičia kanalo proteino struktūrą, kas dažnai iššaukia tarpląstelinių plyšinių jungčių kanalų įtampos charakteristikų pakitimus. Tam, kad ištirti struktūrinę funkcinę priklausomybę, Spray, Harris ir Bennett [12] sukūrė kiekybinį (S-H-B) modelį kanalo įtampos priklausomybei gauti. Šiame modelyje Bolcmano funkcija buvo naudojama simetriškai įtampos priklausomybei charakterizuoti. Vėliau modelis buvo praplėstas ir aprašė asimetrines heterotipinių kanalų charakteristikas. Įprasta įtampos priklausomybės charakteristikas skaidyti į du segmentus pagal teigiamas ir neigiamas įtampos reikšmes arba ties įtampos laidumo piko reikšmę [5, 10]. Tuomet kiekvienam iš dviejų segmentų buvo pritaikoma Bolcmano funkcija. Homotipinių kanalų, kurie pilnai atidaryti prie  $V_j=0$  mV, atveju kiekvienas koneksonas įneša lygiai pusę į įtampos priklausomybės charakteristiką, todėl protinga būtų skaidyti ties  $V_j=0$  mV. Tačiau, kai dviejų koneksonų charakteristikos persidengia ir nei vienas koneksonas nėra pilnai praleidžiantis, negalima skaidyti ties  $V_j=0$  mV. Todėl heterotipinių kanalų charakteristikas sutarta skaidyti ties  $V_j$  laidumo piku. Be to, kai po išskaidymo kiekvienam segmentui pritaikoma Bolcmano funkcija, dviejų kreivių sujungimo pasėkoje atsiranda taškų, kurių pirmos eilės išvestinė yra netolydi, kas neatspindi fizinės realybės. Šis netolydumas parodo S-H-B modelio trūkumą taikant jį heterotipiniams kanalams.

Vėliau, Vogel ir Weingart [14] pristatė detalų modelį, kuriame plyšinės jungties kanalas buvo aprašomas naudojant keturias būsenas. Šis modelis aprašė daug plyšinės jungties laidumo variantų. Jo matematinį modelį sudarė daugiau nei 13 laisvųjų parametrų. Todėl šis modelis neturėjo praktinio pritaikymo.

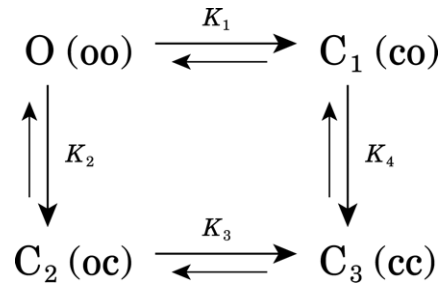
Ye Chen\_Izu, Alonso P. Moreno and Robert A. Spangler pristatė paprastą keturių būsenų modelį (5 pav.) abiejų kanalo koneksonų charakteristikų sujungimui. Šiame modelyje buvo priimtos prielaidos:

- Sistemos Gibso laisvos energijos termodinaminis pastovumas.
- Viena laidumo reikšmė ir viena likutinio laidumo reikšmė vienam kanalui.



- Supaprastinimas, tarus, kad kanalo puskanaliai yra priklausomi arba nepriklausomi [13].

Šis modelis duoda praktinį formalizmą apjungiant makroskopinių srovių eksperimentinius duomenis per visą įtampos reikšmių skalę, eliminuojant abiejų puskanalių duomenų išskaidymo bei sujungimo poreikį.



5 pav. Kanalo būsenų modelio schema

Čia  $K_i$  ( $i = 1, 2, 3, 4$ ) yra perėjimo procesų proporcingumo konstantos. Kanalas gali būti vienoje iš keturių galimų būsenų: 1)  $O(oo)$ , kurioje abu kanalo galai yra atidaryti, 2)  $C_1(co)$ , kurioje kanalo galas  $L$  yra uždarytas, o  $R$  - atidarytas, 3)  $C_2(oc)$ , kurioje kanalo galas  $L$  yra atidarytas, o  $R$  – uždarytas, 4)  $C_3(cc)$ , kurioje abu kanalo galai yra uždaryti.

Proporcingumo konstantos tarp būsenų gali būti išreikštos per įtampą  $V_j$ , arba tiesiog  $V$ , kaip Bolcmano sąryšiai:

$$K_1 = e^{A_1(-V-V_{01})}$$

$$K_2 = e^{A_2(V-V_{02})}$$

$$K_3 = e^{A_3(-V-V_{03})} \tag{1}$$

$$K_4 = e^{A_4(V-V_{04})}$$

Kur  $A_i$  – įtampos jautrumo koeficientas,  $V_{oi}$  puses maksimalaus laidumo įtampa. Įtampos  $V$  ženklas yra teigiamas skaičiuojant  $K_2$  bei  $K_4$  ir neigiamas skaičiuojant  $K_1$  bei  $K_3$ .

Pagal energijos išsaugojimo dėsnį:  $K_1 \cdot K_4 = K_2 \cdot K_3$ .

Įvertinus šiuos apribojimus, tikimybė, kad kanalas bus atidarytas ( $P_o$ ) gali būti apskaičiuota taip:

$$P_o = \frac{O}{O + C_1 + C_2 + C_3} = \frac{1}{1 + K_1 + K_2 + K_1 \cdot K_4} \quad (2)$$

Darant prielaidą, kad kanalas atvaizduoja vienetinio kanalo laidumo lygį  $O$  (open) būsenoje, sąryšis tarp plyšinės jungties kanalų laidumo ir nusistovėjusios būsenos  $P_o$  yra:

$$P_o = \frac{G_{ss} - G_{max}}{G_{max} - G_{min}} \quad (3)$$

Kur  $G_{max}$  – maksimalus laidumas,  $G_{ss}$  – nusistovėjusios būsenos laidumas, ir  $G_{min}$  – minimalus laidumas.

Po normalizavimo (3) sąryšis atrodo taip:

$$P_o = \frac{g_n - g_{res}}{g_{max} - g_{res}} \quad (4)$$

Čur  $g_n = G_{ss}/G_i$  – normalizuotas nusistovėjęs laidumas,  $g_{max} = G_{max}/G_i$  normalizuotas maksimalus laidumas, ir  $g_{res} = G_{min}/G_i$  normalizuotas likutinis laidumas.  $G_i$  pažymėtas pradinis arba momentinis laidumas. Pagal apibrėžimą,  $g_{max} \geq 1$  ir  $0 \leq g_{res} \leq 1$ . Jei pradinių momentu dalis plyšinės jungties kanalų yra uždaryti,  $G_i$  turi būti mažesnis už  $G_{max}$ . Dydis  $g_{res}$  atspindi likutinį uždarytos būsenos laidumą, kuriuo pasižymi daugelis ištirtų plyšinių jungčių.

(4) sąryšis po pertvarkymo atrodo taip:

$$g_n = g_{res} + (g_{max} - g_{res}) \cdot P_o \quad (5)$$

Aukščiau pateiktas traktavimas pagrįstas prielaida, kad plyšinės jungties kanalas turi viena atviros būsenos laidumą ir vieną likutinį laidumą. Sudėtingesnėje schemoje kiekvienas plyšinės jungties kanalo puskanalis turi po viena atviros būsenos laidumą ir po vieną likutinį laidumą. Tokiu būdu turime keturias laidumų reikšmes atitinkamai keturioms kinetinėms būsenoms [14].

#### 4.2. Determinuotas tarpląstelių plyšinių jungčių vartų valdymo modelis

Šiame modelyje priimamas supaprastinimas, kad jei vienas tarpląstelinės plyšinės jungties kanalo puskanalis (vartai) yra uždarytas tai kitas turi būti atidarytas. Tokių būdu, visa įtampa  $V_j$  krenta uždarytam kanalo puskanaliui. Šis supaprastinimas kartu su prielaida, kad jei nėra įtampos kritimo, tai kanalo puskanalio uždarymo tikimybė yra nykstamai maža. Iš to seka, kad  $K_3 = K_4 = 0$ . Tuomet:

$$P_e = \frac{1}{[1 + K_1 + K_2]} = 1 / [1 + e^{A_1(-V - V_{o1})} + e^{A_2(V - V_{o2})}] \quad (6)$$

Tokiu būdu gaunama lygtys aprašanti priklausomų vartų modelį:

$$g_n = g_{res} + \frac{g_{max} - g_{res}}{1 + e^{A_1(-V - V_{o1})} + e^{A_2(V - V_{o2})}} \quad (7)$$

(7) lygtis turi šešis laisvuosius parametrus:  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $V_{o1}$ ,  $V_{o2}$ ,  $g_{res}$ , ir  $g_{max}$ . Homotipinio kanalo atveju, kuri sudaro du identiškai koneksonai:  $A_1 = A_2$  ir  $V_{o1} = V_{o2}$ . Taigi laisvųjų parametru skaičius sumažėja iki keturių, ir turėsime:

$$g_n = g_{res} + \frac{g_{max} - g_{res}}{1 + e^{A(-V - V_o)} + e^{A(V - V_o)}} \quad (8)$$

### 4.3. Nepriklausomas tarplastelinių plyšinių jungčių vartų valdymo modelis

Šiame modelyje tarplastelinės plyšinės jungties kanalo puskanaliai yra nepriklausomi kas iššaukia įtampos pasiskirstymą tarp dviejų kanalo puskanalių. Taigi tikimybė, kad vienas kanalo puskanalis bus atidarytas nepriklauso nuo kito puskanalio būsenos. Todėl,  $K_1 = K_3$  ir  $K_2 = K_4$ . Įvertinus šias sąlygas:

$$P_0 = \frac{1}{(1+K_1) \cdot (1+K_2)} \quad (9)$$

$$= 1 / [1 + e^{A_1(-V - V_{o1})}] \cdot [1 + e^{A_2(V - V_{o2})}]$$

Tokiu būdu gaunama lygtis, aprašanti nepriklausomų vartų modelį:

$$g_n = g_{res} + \frac{g_{max} - g_{res}}{[1 + e^{A_1(-V - V_{o1})}] \cdot [1 + e^{A_2(V - V_{o2})}]} \quad (10)$$

(10) lygtis turi šešis laisvuosius parametrus,  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $V_{o1}$ ,  $V_{o2}$ ,  $g_{res}$ , ir  $g_{max}$ , aprašant heterotipinius kanalus. Homotipinių kanalų atveju, laisvųjų parametru skaičius sumažinamas iki trijų:

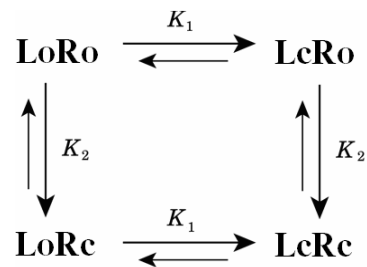
$$g_n = g_{res} + \frac{g_{max} - g_{res}}{[1 + e^{A(-V - V_o)}] \cdot [1 + e^{A(V - V_o)}]} \quad (11)$$

Homotipiniams kanalams, determinuoto ir nepriklausomo modelio lygtys dėl apribojimų  $A_1 = A_2$  and  $V_{o1} = V_{o2}$  turi simetriškumą įtampos atžvilgių  $g_n(V) = g_n(-V)$ . Šis simetriškumas modelio lygtyse atspindi homotipinių kanalų simetriškumą.

#### 4.4. Nuoseklus vartų modelis vartų reguliavimui plyšinėse tarpląstelinėse jungtyse

Šiame modelyje laikoma, kad kiekvienas kanalas sudarytas iš dviejų nepriklausomų puskanalių L ir R kuria gali būti dviejose būsenose: atidarytoje (o) ir uždarytoje (c) (6 pav.). Kiekvienas puskanalis gali nepriklausomai pereiti iš atviros į uždarytą būseną su perėjimo tikimybėmis  $P(L_{o \rightarrow c})$  ir  $P(R_{o \rightarrow c})$ .  $P(L_{c \rightarrow o})$  ir  $P(R_{c \rightarrow o})$  yra perėjimo tikimybės iš uždaros į atvirą būseną.

Kadangi puskanaliai yra nepriklausomi, tai  $K_1 = K_3$  ir  $K_2 = K_4$ . Kiekvieno puskanalio vartų būseną priklauso nuo jam krentančios įtampos  $V_L$  ir  $V_R$  atitinkamai. Tokių būdų bendra abiems vartams krentanti įtampa  $V_j = V_L + V_R$  valdo tarpląstelinės plyšinės jungties kanalą.  $V_L$  ir  $V_R$  priklauso nuo  $V_j$  bei puskanalių laidumų santykio, kuris savo ruožtu priklauso nuo vartų būsenos (oo, oc, co, cc).



6 pav. Nuoseklus vartų modelio būsenų schema

Bendras tarpląstelinės plyšinės jungties kanalo laidumas priklauso nuo kanalo puskanalių laidumų ir apskaičiuojamas taip:

$$G = \frac{G_L * G_R}{G_L + G_R}$$

Čia  $G_L$  - L puskanalio laidumas;

$G_R$  - R puskanalio laidumas.

Šie parametrai skaičiuojami sekančiai:

$G_L = G_{Lo}$ , jei puskanalis L yra atidarytas;

$G_L = G_{Lc}$ , jei puskanalis  $L$  yra uždarytas;

$G_R = G_{Ro}$ , jei puskanalis  $R$  yra atidarytas;

$G_R = G_{Rc}$ , jei puskanalis  $R$  yra uždarytas.

Čia  $G_{Lo}$  – laidumas atidaryto (open) puskanalio  $L$ ;

$G_{Ro}$  – Laidumas atidaryto (open) puskanalio  $R$ ;

$G_{Lc}$  – Laidumas uždaryto (closed) puskanalio  $L$ ;

$G_{Rc}$  – Laidumas uždaryto (closed) puskanalio  $R$ .

Tarpląstelinės plyšinės jungties kanalo puskanaliui krentanti įtampa, išreikšta per bendrą įtampą ir puskanalių laidumus:

$$V_L = \frac{V * \frac{1}{G_L}}{\frac{1}{G_L} + \frac{1}{G_R}} ; (L \text{ puskanaliui})$$

$$V_R = \frac{V * \frac{1}{G_R}}{\frac{1}{G_L} + \frac{1}{G_R}} ; (R \text{ puskanaliui})$$

Stacionarioje būsenoje:

$$L_c = K_1 \cdot L_o.$$

Per laiko vienetą  $\Delta T$  vidutiniškai  $n_{o \rightarrow c}$  kanalų pereis iš  $O$  būsenos į  $C$  būseną ir

$$n_{o \rightarrow c} = L_o \cdot \Delta T \cdot P(L_{o \rightarrow c}),$$

kur  $L_o$  yra atidarytų puskanalių skaičius.

Per tą patį laiką  $n_{c \rightarrow o}$  kanalų pereis iš  $C$  būsenos į  $O$  būseną ir

$$n_{c \rightarrow o} = L_c \cdot \Delta T \cdot P(L_{c \rightarrow o}),$$

kur  $L_c$  yra uždarytų puskanalių skaičius.

Kadangi  $n_{o \rightarrow c} = n_{c \rightarrow o}$ , todėl seka, kad

$$P(L_{c \rightarrow o}) = P(L_{o \rightarrow c}) / K_1.$$

Įvedamas pažymėjimas:

$$P(L_{c \rightarrow o}) + P(L_{o \rightarrow c}) = \kappa,$$

kur  $\kappa$  yra tikimybė, kad  $N \cdot \kappa$  kanalų pakeičia būseną kai  $K_1 = I$ .  $I - \kappa$  yra tikimybė, kad kanalai išlieka toje pačioje būsenoje. Tuomet

$$P(L_{c \rightarrow o}) \cdot K_1 + P(L_{c \rightarrow o}) = \kappa;$$

$$P(L_{c \rightarrow o}) = \kappa / (1 + K_1);$$

$$P(L_{o \rightarrow c}) = \kappa \cdot K_1 / (1 + K_1)$$

1 Lentelė. Perėjimo tikimybės

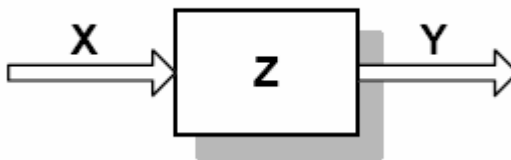
Puskanalis	$P(o \rightarrow c)$ užsidaro	$P(o \rightarrow o)$ lieka atidarytas	$P(c \rightarrow o)$ atsidaro	$P(c \rightarrow c)$ lieka uždarytas
L	$\kappa \cdot K_1 / (1 + K_1)$	$1 - P(L_{o \rightarrow c})$	$P(L_{c \rightarrow o}) = \kappa / (1 + K_1)$	$1 - P(L_{c \rightarrow o})$
R	$\kappa \cdot K_2 / (1 + K_2)$	$1 - P(R_{o \rightarrow c})$	$P(R_{c \rightarrow o}) = \kappa / (1 + K_2)$	$1 - P(R_{c \rightarrow o})$

## 5. PLA FORMALIZMAS

### 5.1. Atkarpomis tiesiniai agregatai

PLA yra viena iš formalizavimo kalbų, leidžiančių aprašyti sistemas [7]. Sistema aprašoma kaip automatai su tam tikrais jų išplėtimais, tokiais kaip įėjimų, išėjimų signalai, įėjimų signalų apdorojimo funkcijos, funkcijos nustatančius išėjimus. Remiantis sudarytu modeliu galima atlikti aprašytos sistemos modeliavimą, jos specifikacijos validavimą ir verifikavimą.

Agregatiniame sistemos specifikavimo požiūryje sistema atvaizduojama kaip tarpusavyje sąveikaujančių atkarpomis tiesinių agregatų (angl. *piece-linear aggregate* - PLA) aibė [7]. PLA suprantamas kaip objektas su apibrėžtų būsenų aibe  $Z$ , įėjimo signalų  $X$  ir išėjimo signalų  $Y$  aibėmis (7 pav.).



7 pav. PLA objektas

$$X = \{x_1, x_2, \dots\}$$

$$Y = \{y_1, y_2, \dots\}$$

$$Z = \{z_1, z_2, \dots\}$$

Agregato funkcionavimas analizuojamas laiko momentų aibėje  $t \in T$ . Būsena  $z \in Z$ , įėjimo signalas  $x \in X$  ir išėjimo signalas  $y \in Y$  laikomi laikinėmis funkcijomis. Be šių aibių taip pat turi būti apibrėžti perėjimo  $H$  ir išėjimo  $G$  operatoriai.

Atkarpomis tiesinio agregato būsena  $z \in Z$  kiekvienu laiko momentu atitinka atkarpomis tiesinio Markovo proceso būseną:

$$x(t) = (v(t), z_v(t)),$$

kur  $v(t)$  yra diskrečioji būsenos dedamoji, įgyjanti reikšmes iš baigtinių reikšmių aibės; ir



$z_v(t)$  yra tolydžioji būsenos dedamoji, susidedanti iš  $z_{v1}(t), z_{v2}(t), \dots, z_{vk}(t)$  koordinatų. Ši komponentė nusako, kada įvyks įvykis, galintis keisti agregato būseną.

Agregato būseną gali keisti tiksliai dėl dviejų priežasčių: kai į agregatą ateina įėjimo signalas arba tolydinė komponentė pasiekia apibrėžtą reikšmę. Įėjimo signalo priėmimo faktas vadinamas išoriniu įvykiu. Nesant įėjimo signalams, agregato būseną kinta pagal tokią priklausomybę:

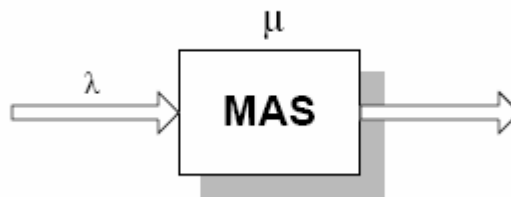
$$v(t) = const,$$

$$\frac{dz_v(t)}{dt} = -\alpha_v,$$

kur  $\alpha_v = (\alpha_{v1}, \alpha_{v2}, \dots, \alpha_{vk})$  pastovus vektorius.

Tuo atveju, kai negali įvykti kažkoks įvykis, atitinkama tolydinės būsenos dedamosios reikšmė yra begalybė.

Kaip atkarpomis tiesinio agregato pavyzdys pateikiama vieno kanalo masinio aptarnavimo sistema (MAS) (8 pav.).



8 pav. MAS agregatas

$\lambda$  – paraiškų atėjimo į MAS intensyvumas;

$\mu$  – paraiškų aptarnavimo intensyvumas;

Agregatų būsenos aprašomos taip:

$$z(t) = (v(t), z_{v1}(t), z_{v2}(t)),$$

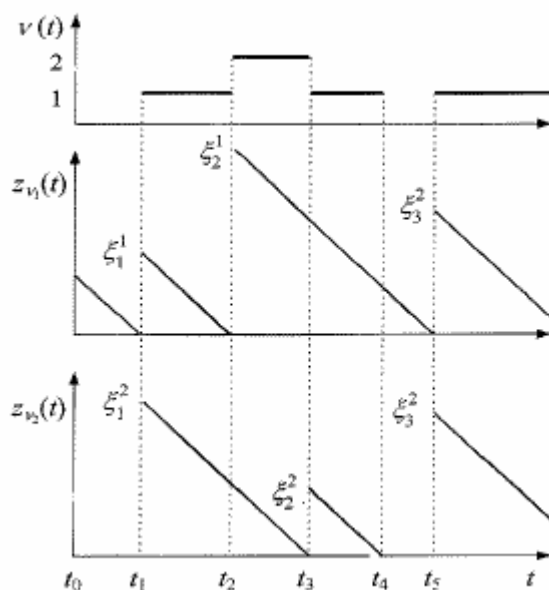
kur  $\nu(t)$  - paraiškų skaičius sistemoje laiko momentu  $t$ ;

$z_{\nu_1}(t)$  - laiko tarpas, po kurio į sistemą ateis nauja paraiška;

$$z_{\nu_2}(t) = \begin{cases} 0, & \text{jei } \nu(t) = 0, \\ > 0, & \text{jei } \nu(t) \neq 0; \end{cases}$$

$z_{\nu_2}(t)$  - laiko tarpas, po kurio baigsis paraiškos aptarnavimas.

Koordinačių  $\nu(t)$ ,  $z_{\nu_1}(t)$ ,  $z_{\nu_2}(t)$  kitimas laike parodytas paveiksle (9 pav.). Paraiškos ateina į sistemą laiko momentais  $t_1$ ,  $t_2$  ir  $t_5$ . Laiko momentais  $t_3$  ir  $t_4$  baigiasi paraiškų aptarnavimas.



9 pav. MAS agregato koordinatinių kitimas laike

Funkcijos  $z_{\nu_1}(t)$  pokytis kiekviename trūkio taške apibrėžia laiko tarpą, po kurio į sistemą ateis nauja paraiška. Funkcijos  $z_{\nu_2}(t)$  pokytis kiekviename trūkio taške apibrėžia laiko tarpą, po

kurio baigsis paraiškos aptarnavimas.

Koordinatų  $z_{v_1}(t)$  ir  $z_{v_2}(t)$  kitimas laiko intervale  $[t_m, t_{m+1}]$  (čia  $m=0,1,2,\dots$ ) aprašomas lygtimi

$$\frac{dz_{v_i}(t)}{dt} = -1, i = \overline{1,2}.$$

Tam tikruose laiko tarpuose koordinatė  $z_{v_2}(t)$  yra lygi nuliui ir tai reiškia, kad čia aptarnaujantis įrenginys yra laisvas.

Laiko momentais, kada koordinatės  $z_{v_1}(t)$  ir  $z_{v_2}(t)$  įgyja nulines reikšmes, pasikeičia sistemos būsena.

## 5.2. Agregatų funkcionavimo formalizavimas valdymo sekų metodu

Tarkim, kad agregatas yra sistema, turinti  $N$  įėjimų bei  $M$  išėjimo sąveikos taškų (ST) (10 pav.):



10 pav. Agregato schema

Įėjimo signalai  $x_1, x_2, \dots, x_N \in X$  siunčiami į įėjimo ST. Signalai  $x_i \in X, i = \overline{1,N}$  vadinami elementariaisiais signalais, o aibė  $X_i$  vadinama elementariųjų signalų aibe. Bendru atveju elementarusis signalas yra vektorius, t.y.  $x_i = \{x_i^1, x_i^2, \dots, x_i^{r_i}\}$ , be to, šio vektoriaus koordinatų reikšmės priklauso atitinkamai aibei, t.y.  $x_i^j \in X_i^j, j = \overline{1,r_i}$ .

Tokiu būdu į  $i$ -tąjį ST ateinančių elementariųjų signalų aibė:

$$X_i = X_i^1 \times X_i^2 \times \dots \times X_i^{s_i}, \quad i = \overline{1, N}$$

Agregatų įėjimo signalų aibė yra lygi aibių  $X_i$  sąjungai, t.y.

$$X = \bigcup_{i=1}^N X_i$$

Analogiškai apibrėžiama išėjimo signalų aibė:

$$Y = \{y_1, y_2, \dots, y_M\},$$

$$y_l = \{y_l^1, y_l^2, \dots, y_l^{s_l}\} \in Y_l,$$

$$y_l^k \in Y_l^k, \quad l = \overline{1, M}, \quad k = \overline{1, s_l}.$$

Elementariųjų signalų aibė, išeinanti iš  $l$ -ojo ST, yra lygi:

$$Y_l = Y_l^1 \times Y_l^2 \times \dots \times Y_l^{s_l}, \quad l = \overline{1, M}.$$

Agregato išėjimo signalų aibė:

$$Y = \bigcup_{l=1}^M Y_l.$$

Agregato funkcionavimas nagrinėjamas diskrečiais laiko momentais  $T = \{t_0, t_1, \dots, t_m, \dots\}$ , kurias gali įvykti vienas ar keletą įvykių, iššaukiančių agregato būsenos pasikeitimą. Agregato įvykių aibė  $E$  susideda iš dviejų poaibių:  $E = E' \cup E''$ . Aibę  $E' = \{e_1', e_2', \dots, e_N'\}$  sudaro įvykiai, kurie įvyksta dėl įėjimo signalų atėjimo. Tarp aibių  $X$  ir  $E'$  elementų yra funkcinis ryšys. Poaibis  $E'' = \{e_1'', e_2'', \dots, e_f''\}$  yra vadinamas vidinių įvykių poaibiu; čia  $e_j'' = \{e_{ij}'', j = 1, 2, \dots\}$ ,  $i = \overline{1, f}$ , yra agregato vidiniai įvykiai,  $f$  – operacijų, kurios gali įvykti agregate, skaičius. Aibės  $E''$  įvykiai fiksuoja operacijų pabaigą.

Laiko momentų aibė  $T$  susideda iš dviejų poaibių:

$$T = T' \cup T'';$$

Čia  $T'$  – laiko momentų poaibis, kurį sudaro laiko momentai, kada ateina įėjimo signalai,  $T''$  – vidinių įvykių laiko momentai.

Kiekvienam vidiniam įvykiui  $e_i \in E''$  priskiriama valdymo seka, t.y.

$$e_i'' \mapsto \{\xi_j^{(i)}\}, j = \overline{1, \infty};$$

čia  $\xi_j^{(i)}$  - operacijos trukmė, kuriai pasibaigus įvyksta vidinis įvykis.

Taip pat nurodoma skaitiklių aibė:

$$\{r(e_i'', t_m)\}, i = \overline{1, f};$$

čia  $r(e_i'', t_m)$  -  $e_i''$  įvykių skaičius laiko tarpe  $[t, t_m]$ .

Tam, kad būtų galima apibrėžti operacijų pradžios ir pabaigos momentus, naudojamos valdymo sumų aibės:

$$\{s(e_i'', t_m)\}, \{w(e_i'', t_m)\}, i = \overline{1, f};$$

čia  $s(e_i'', t_m)$  - operacijos pradžios momentas, po kurio įvyksta  $e_i''$  įvykis;

$w(e_i'', t_m)$  - operacijos pabaigos momentas.

Neprioritetinių operacijų atveju valdymo suma  $w(e_i'', t_m)$  apibrėžiama taip:

$$w(e_i'', t_m) = \begin{cases} s(e_i'', t_m) + \xi_{\kappa(e_i'', t_m)+1}, & \text{jei laiko momentu } t_m \text{ vyksta operacija,} \\ & \text{kuriai pasibaigus įvyks įvykis } e_i'', \\ \infty, & \text{priešingu atveju} \end{cases}$$

Begalybės simbolis vartojamas, kai reikia pažymėti, jog operacijos pabaigos momentas yra nežinomas.

Pateiktas valdymo sumos apibrėžimas vartojamas sudarant imitacinius modelius. Kai agregatinis modelis naudojamas sistemoms formalizuoti ir sistemos funkcionavimo teisingumui analizuoti, valdymo suma apibrėžiama supaprastintai:

$$w(e_i'', t_m) = \begin{cases} < \infty, & \text{jei laiko momentu } t_m \text{ vyksta operacija,} \\ & \text{kuriai pasibaigus įvyks įvykis } e_i'', \\ \infty, & \text{priešingu atveju} \end{cases}$$

Įvedus valdymo sumas, agregato būsenos tolydžioji dedamoji įgauna pavidalą:

$$z_v(t_m) = \{w(e_1'', t_m), w(e_2'', t_m), \dots, w(e_f'', t_m)\}.$$

Tolydžiosios dedamosios koordinatės apibrėžia laiko momentus, kada agregate galimi įvykiai. Be to, visada  $w(e_i'', t_m) \geq t_m$ .

Agregato būseną  $z(t_m)$  kinta diskrečiais laiko momentais  $t_m, m=1, 2, \dots$ , ir išlieka pastovi laiko tarpuose  $[t_m, t_{m+1}), m=1, 2, \dots$ ; čia  $t_0$  – pradinis sistemos funkcionavimo momentas.

Žinant agregato būseną  $z(t_m), m=1, 2, \dots$ , laiko momentais  $t_{m+1}$ , kai įvyksta kitas įvykis apskaičiuojamas taip:

$$t_{m+1} = \min_i \{w(e_i'', t_m)\}, 1 \leq i \leq f.$$

Operatorius  $H$  apibrėžia naują agregato būseną:

$$z(t_{m+1}) = H[z(t_m, e_i)], e_i \in E' \cup E''.$$

Operatoriaus  $G$  apibrėžia išėjimo signalus:

$$y = G[z(t_m, e_i)], e_i \in E' \cup E'', y \in Y.$$

Sutrumpintai perėjimo ir išėjimo operatoriai žymimi  $H(e_i)$  ir  $G(e_i)$

### 5.3. Dinaminis PLA išplėtimas

Dinaminių sistemų specifikavimui buvo pasiūlytas dinaminis PLA išplėtimas [6]. Dinaminis PLA išplėtimas reikalauja apibrėžti sistemos modelį, kuris kistų laike. Aibė  $A$  atspindi sistemos modelio struktūrą tam tikru laiko momentu. Aibes  $A_t$  elementai -  $t$  laiko momentu sistemą sudarantys agregatai.

Sujungimų matricą  $M$  su indeksu  $t$  - atspindi sujungimus tarp sistemos agregatų laiko momentu  $t$ .

Modifikuotas sistemos agregato aprašymo būdas:

- 1). Aibė H su indeksu t - parodo agregato H operatorių aibę laiko momentu t, ir operacijos su ja, kurios pašalina arba įtraukia naujus H operatorius į šią aibę.
- 2). Aibė G su indeksu t - parodo agregato G operatorių aibę laiko momentu t, ir operacijos su ja, kurios pašalina arba įtraukia naujus G operatorius į šią aibę.

Praplėstos agregato specifikacijos galimai veiksmai:

- 1). Naujo agregato į sistemos modelį įtraukimas

$$A_{t-1} = A_t \cup \{ A_{\text{naujas}} \} \text{ įtraukiamas agregatas } A_{\text{naujas}} \text{ į modelį.}$$

Įtraukus naują agregatą, jo pradinė būseną nustatoma pagal jame apibrėžtus parametrus (8 punktas)

- 2). Agregato iš sistemos pašalinimas

$$A_{t-1} = A_t - \{ A_{\text{senas}} \} \text{ pašalinamas } A_{\text{senas}} \text{ agregatas iš sistemos modelio.}$$

- 3). Naujo įėjimo agregate sukūrimas

$$X_{t+1} = X_t \cup \{ x_{\text{naujas}} \} \text{ įtraukiamas } x_{\text{naujas}} \text{ įėjimas į agregatą.}$$

- 4). Įėjimo agregate pašalinimas

$$X_{t+1} = X_t - \{ x_{\text{senas}} \} \text{ pašalinamas } x_{\text{senas}} \text{ įėjimas iš agregato.}$$

- 5). Naujo išėjimo agregate sukūrimas

$$Y_{t+1} = Y_t \cup \{ y_{\text{naujas}} \} \text{ įtraukiamas } y_{\text{naujas}} \text{ išėjimas į agregatą.}$$

- 6). Išėjimo agregate pašalinimas

$$Y_{t+1} = Y_t - \{ y_{\text{senas}} \} \text{ pašalinamas } y_{\text{senas}} \text{ išėjimas iš agregato.}$$

- 7). Naujo ryšio tarp agregatų sukūrimas.

$M_{t+1} = M_t \cup \{ 5, A_{i\text{is}}, y_{i\text{is}}, A_i, x_i \}$  sukuriamas sujungimas (kanalas 5) tarp  $A_{i\text{is}}$  agregato  $y_{i\text{is}}$  išėjimo ir  $A_i$  agregato  $x_i$  įėjimo.

Pateikiama visa naujai įtraukiama eilutė į matricą M, kurioje nurodomas sujungimas tarp agregatų.

- 8). Ryšio tarp agregatų pašalinimas.

$M_{t+1} = M_t - \{ 5, A_{i\bar{s}}, y_{i\bar{s}}, A_i, x_i \}$  pašalinamas sujungimas (kanalas 5) tarp  $A_{i\bar{s}}$  agregato  $y_{i\bar{s}}$  išėjimo ir  $A_i$  agregato  $x_i$  įėjimo.

Pateikiama visa šalinama eilutė iš matricos M.

9). G, H operatorių įvykių apdorojimo agregate sukūrimas.

$H_{t+1} = H_t \cup \{ H(e'_{naujas}) \}$  įtraukiamas H operatorius, kuris apdoroja  $e'_{naujas}$  įvykį.

$G_{t+1} = G_t \cup \{ G(e'_{naujas}) \}$  įtraukiamas G operatorius, kuris apdoroja  $e'_{naujas}$  įvykį.

Įtraukiami G, H operatoriai turi būti iš anksto aprašyti agregato specifikacijoje, bet neįtraukti į H ir G pradines aibes, o įtraukiami specifikacijos logikoje apibrėžianti kitus H operatorius.

Agregato G, H operatoriai būna susiję su atitinkamais vidiniais ir išoriniais įvykiais. Galimybė modifikuoti šių įvykių aibę įtakoja ir G, H operatorių aibę. T.y., įtraukus išorinį ar vidinį įvykius į G, H aibes, reikia įtraukti su tais įvykiais susijusius operatorius.

10). G, H operatorių įvykių apdorojimo agregate pašalinimas.

$H_{t+1} = H_t - \{ H(e'_{senas}) \}$  pašalinamas H operatorius, kuris apdoroja  $e'_{senas}$  įvykį.

$G_{t+1} = G_t - \{ G(e'_{senas}) \}$  pašalinamas G operatorius, kuris apdoroja  $e'_{senas}$  įvykį.

Agregato G, H operatoriai būna susiję su atitinkamais vidiniais ir išoriniais įvykiais. Galimybė modifikuoti šių įvykių aibę įtakoja ir G, H operatorių aibę. T.y., pašalinus išorinį ar vidinį įvykius iš G, H aibių, reikia pašalinti su tuo įvykių susijusius operatorius.

11). Vidinių įvykių agregate sukūrimas

$E''_{t+1} = E''_t \cup \{ e''_{naujas} \}$  įtraukiamas  $e''_{naujas}$  vidinis įvykis.

12). Vidinių įvykių agregate pašalinimas

$E''_{t+1} = E''_t - \{ e''_{senas} \}$  pašalinamas  $e''_{senas}$  vidinis įvykis.

13). Išorinių įvykių agregate sukūrimas

$E'_{t+1} = E'_t \cup \{ e'_{naujas} \}$  įtraukiamas  $e'_{naujas}$  išorinis įvykis.

Išorinių įvykių sukūrimas įtakojamas įėjimų į agregatą įtraukimo, tad jei specifikacijoje nurodome, kad sukuriame naują įėjimą, tuo pačiu nurodome, kad įtraukiame ir naują atitinkamą



išorinį įvykį.

14). Išorinių įvykių agregate pašalinimas

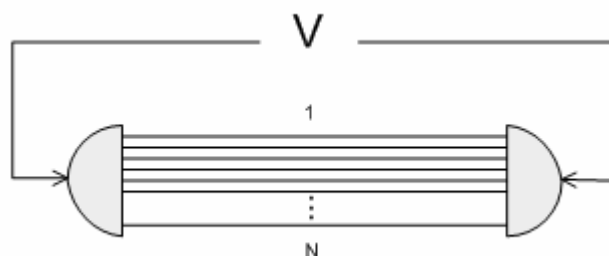
$E'_{t+1} = E'_t - \{ e'_{senas} \}$  pašalinamas  $e'_{senas}$  išorinis įvykis.

Išorinių įvykių pašalinimas taip pat įtakojamas agregato įėjimo pašalinimo, tad, pašalinus įėjimą, reikia pašalinti ir atitinkamą išorinį įvykį.

## 6. PLA PANAUDOJIMAS TARPLAŠTELINIŲ PLYŠINIŲ JUNGČIŲ VARTŲ MODELIO SPECIFIKAVIMUI

### 6.1. Tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų konceptualusis modelis

Tarpląstelinė plyšinė jungtis sudaryta iš  $N$  kanalų (11 pav.). Paduodama įtampa  $V$  kinta nuo  $V_{min}$  iki  $V_{max}$  žingsniu  $V_{step}$ .



11 pav. Plyšinės jungties struktūrinė schema

Keičiantis įtampai apskaičiuojamas jungties laidumas  $g$ . Žemiau aprašytas modeliavimo algoritmas.

```
for  $j = V_{min}$  to  $V_{max}$ ,  $V_{step}$ 
```

```
1). Pridedama 0 mV įtampa
```

```
// Nusistovėjimas į pradinę būseną //
```

```
for  $i = 1$  to  $T_o$ 
```

```
// Perskaičiuojamos kanalų būsenos //
```

```
2). Pridedama  $V_j$  mV įtampa
```

```
// Nusistovėjimas į sekančias būsenas //
```

```
for  $i = 1$  to  $T_V$ 
```

```
// Perskaičiuojamos kanalų būsenos //
```

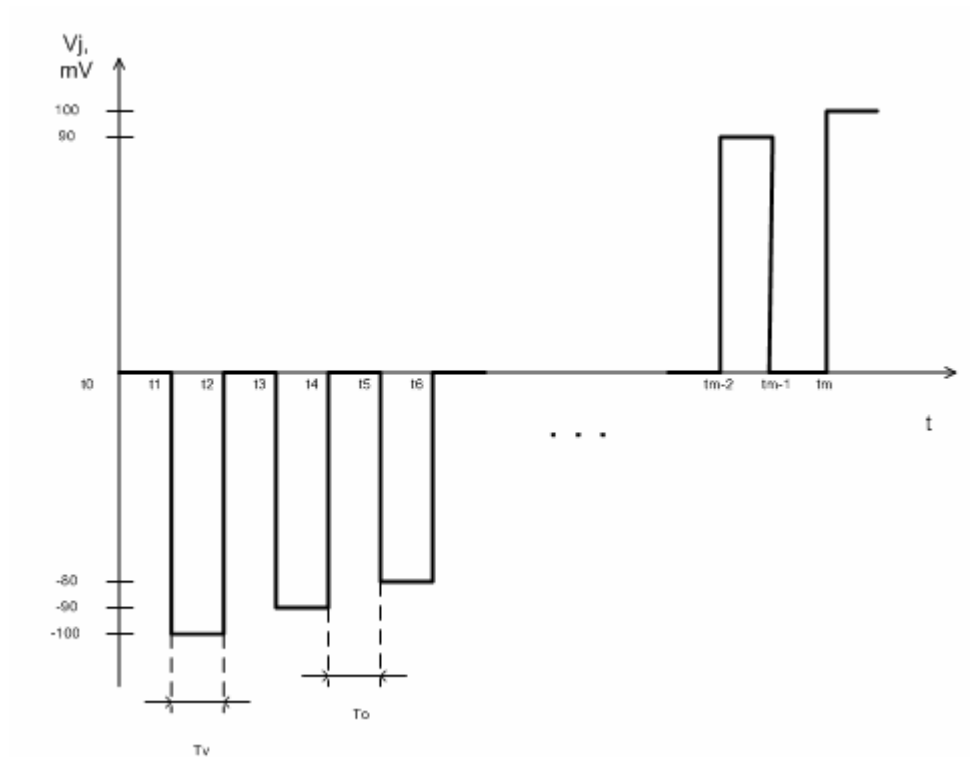
3).  $g = 0$ ;

for  $i = 0$  to  $N$

$g = g + G_i$ ;

$g = g / N$ ;

Paduodama  $0\text{ mV}$  įtampa. Plyšinės jungties kanalai nusistovi į pradinę būseną per laiką  $T_0$  (12 pav.). Paduodama  $V_j\text{ mV}$  įtampa. Plyšinės jungties kanalai nusistovi į sekančias būsenas per laiką  $T_V$ .

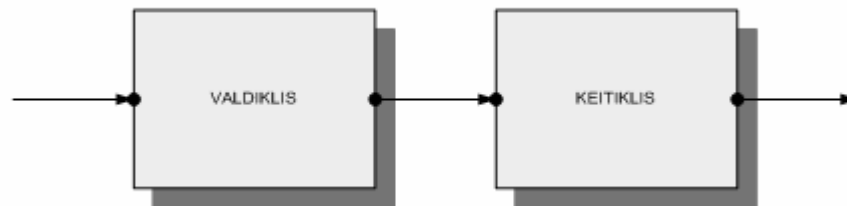


12 pav. Įtampos poveikio priklausomybė nuo laiko

Į tarpląstelių plyšinių jungčių vartų modelį galima žiūrėti kaip į vienkanalę aptarnavimo sistemą, kurioje aptarnaujama  $T = T_0 + T_V$  trukmės laiko tarpais.

## 6.2. Tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų agregatinis modelis

Nagrinėjamą sistemą galima išskaidyti į du agregatus VALDIKLIS ir KEITIKLIS (13 pav.)



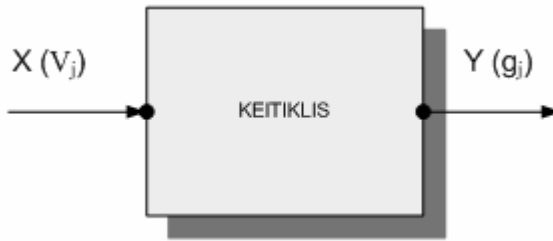
13 pav. Sistemos agregatinė schema

Agregatas VALDIKLIS (14 pav.) skiriamas įtampos reikšmės skaičiavimui. Šis agregatas neturi įėjimo signalų ir išorinių įvykių. Jo išėjimo signalas – įtampos reikšmė  $V_j$  konkrečiu laiko momentu.



14 pav. Agregatas VALDIKLIS

Apskaičiuota įtampos reikšmė  $T = T_0 + T_V$  trukmės laiko tarpais paduodama į agregatą KEITIKLIS (15 pav.) kaip įėjimo signalas.



15 pav. Agregatas KEITIKLIS

Agregatas KEITIKLIS turi dvi vidines būsenas. Gavęs įėjimo signalą (įtampos reikšmę  $V_j$ ), jis pereina į pirmą vidinę būseną, kurioje vykdomas tarpląstelinės plyšinės jungties kanalų būsenų nusistovėjimas į pradinę būseną prie nulinės įtampos. Pasibaigus laiko tarpui  $T_0$ , agregatas pereina į antrą vidinę būseną, kurioje vykdomas tarpląstelinės plyšinės jungties kanalų būsenų perėjimas į sekancias būsenas prie įtampos  $V_j$ . Pasibaigus laiko tarpui  $T_V$ , agregatas išduoda išėjimo signalą – apskaičiuotą tarpląstelinės plyšinės jungties laidumo reikšmę  $g$ .

#### Agregato VALDIKLIS aprašymas

1). Įėjimo signalų aibė:

$$X = \emptyset.$$

2). Išėjimo signalų aibė:

$$Y = \{y_1\};$$

kur:  $y_1$  - perduodama agregatui KEITIKLIS įtampos reikšmė.

3). Išorinių įvykių aibė:

$$E' = \emptyset.$$

4). Vidinių įvykių aibė:

$$E'' = \{e_1''\};$$

kur:  $e_1''$  - baigėsi laikmačiu nustatytas poveikis.

5). Valdymo sekos

$$e_1'' \mapsto \{\xi_1\};$$

kur:  $\xi_1 = const$  - laikmačiu nustatyta trukmė.

6). Diskrečioji agregato būsenos dedamoji:

$$v(t_m) = \{V(t_m)\};$$

kur:  $V(t_m)$  – įtampa laiko momentu  $t_m$ .

7). Tolydžioji agregato būsenos dedamoji:

$$z_v(t_m) = \{w(e_1'', t_m)\},$$

kur:  $w(e_1'', t_m)$  - laikmačiu nustatytos trukmės pabaigos momentas.

8). Parametrai:

$V_{min}$  – minimali įtampos reikšmė;

$V_{max}$  – maksimali įtampos reikšmė;

$V_{step}$  – įtampos keitimo žingsnis;

9). Pradinė agregato būseną:

$$z(t_0) = \{V_{min}, t_0 + \xi_1\}.$$

10). Perėjimo ir išėjimo operatoriai:

$H(e_1'')$ : / baigėsi laikmačiu nustatytas laikas /

*if*  $(V(t_m) + V_{step}) \leq V_{max}$  *then*

$$V(t_{m+1}) = V(t_m) + V_{step};$$

$$w(e_1', t_{m+1}) = t_m + \xi_1;$$

$G(e_1')$ :

$$y_1 = V(t_m);$$

## Agregato KEITIKLIS aprašymas

1). Įėjimo signalų aibė:

$$X = \{x_1\};$$

kur:  $x_1$  - įtampos reikšmė, gaunama iš agregato VALDIKLIS.

2). Išėjimo signalų aibė:

$$Y = \{y_1\};$$

kur:  $y_1$  - kanalo laidumo reikšmė prie paduotos įtampos  $x_1$ .

3). Išorinių įvykių aibė:

$$E' = \{e'_1\};$$

kur:  $e'_1$  - priimtas signalas  $x_1$  (gauta įtampos reikšmė).

4). Vidinių įvykių aibė:

$$E'' = \{e''_1, e''_2\};$$

kur:  $e''_1$  - pasibaigė nusistovėjimo įtampos poveikis;

$e''_2$  - pasibaigė įėjimo įtampos poveikis.

5). Valdymo sekos

$$e''_1 \mapsto \{\xi_1\};$$

$$e''_2 \mapsto \{\xi_2\};$$

kur:  $\xi_1 = const$  - nustatyta nusistovėjimo įtampos poveikio trukmė

$\xi_2 = const$  - nustatyta įėjimo įtampos poveikio trukmė

6). Diskrečioji agregato būsenos dedamoji:

$$v(t_m) = \{g(t_m), S_i(t_m), i = \overline{1, N}\},$$

kur:

$g(t_m)$  – kanalo laidumo reikšmė;

$S_i(t_m), i = \overline{1, N}$  – kanalų būsenos iš aibės  $\{oo, co, oc, cc\}$ ,

kur:  $oo$  – būseną, kai abu puskanaliai atidaryti;

$co$  – būseną, kai puskanalis L atidarytas, o puskanalis R uždarytas;

$oc$  – būseną, kai puskanalis L uždarytas, o puskanalis R atidarytas;

$cc$  – būseną, kai abu puskanaliai uždaryti.

7). Tolydžioji agregato būsenos dedamoji:

$$z_v(t_m) = \{w(e_1'', t_m), w(e_2'', t_m)\},$$

kur:  $w(e_1'', t_m)$  - nusistovėjimo įtampos poveikio pabaigos momentas;

$w(e_2'', t_m)$  - įėjimo įtampos poveikio pabaigos momentas.

8). Parametrai:

$A_L$  – jautrumo įtampai koeficientas L puskanalio;

$A_R$  – jautrumo įtampai koeficientas R puskanalio;

$V_{OL}$  – įtampa, prie kurios L puskanalio laidumas sumažėja dvigubai;

$V_{OR}$  – įtampa, prie kurios R puskanalio laidumas sumažėja dvigubai;

$G_{Lo}$  – laidumas atidaryto (open) puskanalio L;

$G_{Ro}$  – laidumas atidaryto (open) puskanalio R;

$G_{Lc}$  – laidumas uždaryto (close) puskanalio L;

$G_{Rc}$  – laidumas uždaryto (close) puskanalio R;

$con$  - konstanta reguliuojanti būsenų pasikeitimo skaičių per diskretinį laiko periodą;

$N$  – kanalų skaičius;

$RND(I)$  – atsitiktinė reikšmė tolygiai pasiskirsčiusi intervale  $[0,1]$ ;

$V$  – įtampos reikšmė.

9). Pradinė agregato būseną:



$$z(t_0) = \{0, S_i(t_0) = oo, i = \overline{1, N}, \infty, \infty\};$$

10). Perėjimo ir išėjimo operatoriai:

$$H(e'_1): \text{ / priimtas signalas } x_1 \text{ /}$$

$$V=0;$$

// perskaičiuoti plyšinės jungties kanalų būsenas prie  $V=0$  mV įtampos //

$$H(e''_1): \text{ / baigėsi būsenų nusistovėjimui skirtas laikas /}$$

$$V=x_1;$$

// perskaičiuoti plyšinės jungties kanalų būsenas prie  $V=x_1$  mV įtampos //

$$w(e''_1, t_{m+1}) = \infty;$$

$$w(e''_2, t_{m+1}) = t_m + \xi_1;$$

$$H(e''_2): \text{ / baigėsi būsenų pasikeitimui skirtas laikas /}$$

$$w(e''_2, t_{m+1}) = t_m + \xi_1 + \xi_2;$$

$$G(e''_2):$$

$$y_1 = g / N;$$

11). Plyšinės jungties kanalų būsenų perskaičiavimas:

$$K_1 = e^{(A_L \cdot (-V - V_{ol}))};$$

$$K_2 = e^{(A_R \cdot (-V - V_{or}))};$$

$$L_{oc} = con \cdot (1 + K_1) / 2;$$

$$L_{oo} = 1 - L_{oc};$$

$$L_{co} = con \cdot (1 + K_1) / (2 \cdot K_1);$$

$$L_{cc} = 1 - L_{co};$$

$$R_{oc} = con \cdot (1 + K_2) / 2;$$

$$R_{oo} = 1 - R_{oc};$$

$$R_{co} = con \cdot (1 + K_2) / (2 \cdot K_2);$$

$$R_{cc} = 1 - R_{co};$$

$$g = 0, i = \overline{1, N};$$

if  $x_i(t_m) = oo$  then

$$P_{oo} = L_{oo} \cdot R_{oo};$$

$$P_{co} = L_{oc} \cdot R_{oo};$$

$$P_{oc} = L_{oo} \cdot R_{oc};$$

$$P_{cc} = L_{oc} \cdot R_{oc};$$

else if  $x_i(t_m) = co$  then

$$P_{oo} = L_{co} \cdot R_{oo};$$

$$P_{co} = L_{cc} \cdot R_{oo};$$

$$P_{oc} = L_{co} \cdot R_{oc};$$

$$P_{cc} = L_{cc} \cdot R_{oc};$$

else if  $x_i(t_m) = oc$  then

$$P_{oo} = L_{oo} \cdot R_{co};$$

$$P_{co} = L_{oc} \cdot R_{co};$$

$$P_{oc} = L_{oo} \cdot R_{cc};$$

$$P_{cc} = L_{oc} \cdot R_{cc};$$

else

$$P_{oo} = L_{co} \cdot R_{co};$$

$$P_{co} = L_{cc} \cdot R_{co};$$

$$P_{oc} = L_{co} \cdot R_{cc};$$

$$P_{cc} = L_{cc} \cdot R_{cc};$$

fi

fi

fi

```

p = Poo;
r = RND(1);
if r ≤ p then
    Si(tm+1) = oo;
    gg = (GLo · GRo) / (GLo + GRo);
else
    p = p + Pco;
    if r ≤ p then
        Si(tm+1) = co;
        gg = (GLc · GRo) / (GLc + GRo);
    else
        p = p + Poc;
        if r ≤ p then
            Si(tm+1) = oc;
            gg = (GLo · GRc) / (GLo + GRc);
        else
            p = p + Pcc;
            if r ≤ p then
                Si(tm+1) = cc;
                gg = (GLc · GRc) / (GLc + GRc);
            fi
        fi
    fi
fi
g = g + gg;

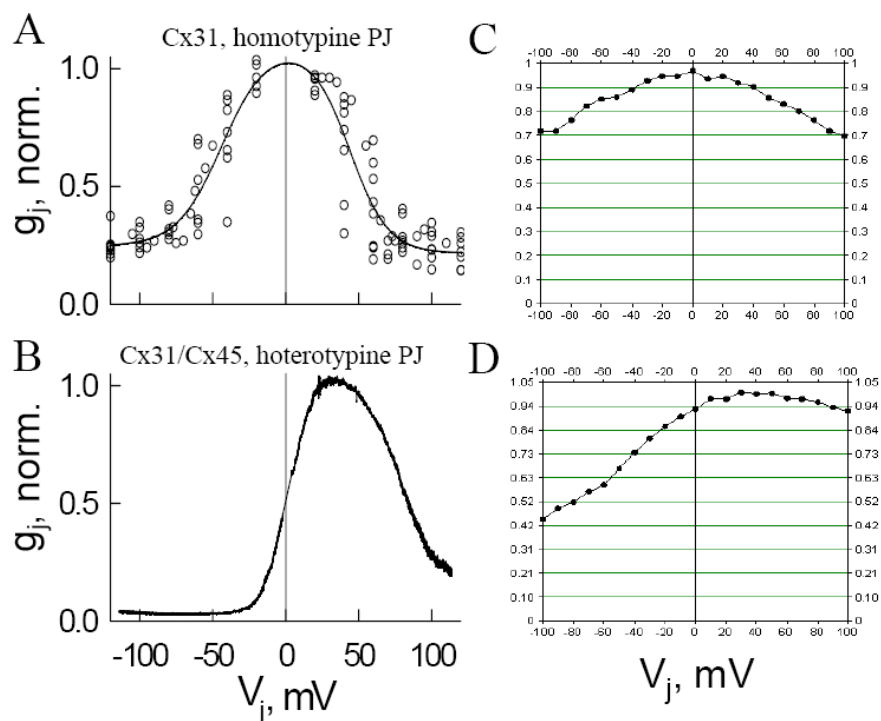
```

## 7. ESPERIMENTINĖ DALIS

Pagal nuoseklų vartų modelį vartų reguliavimui plyšinėse tarpląstelinėse jungtyse buvo sukūrta programinė imitacinio modelio realizacija [8].

Modelis buvo naudojamas tam, kad palyginti vartų jautrumą įtampai su eksperimentiniais duomenimis, kur  $G_j(V_j)$  charakteristikos buvo matuotos homotipinėse ir heterotipinėse plyšinėse jungtyse tarp HeLa ląstelių ekspresuojančių Cx31 ir Cx45.

Buvo tikrinama hipotezę teigianti, jog homotipinės jungties modelyje aproksimuoti parametrai gali nusakyti heterotipinės jungties  $G_j(V_j)$  priklausomybę.



16 pav. Plyšinių kanalų laidumo priklausomybė nuo  $V_j$ . (A)  $G_j(V_j)$  priklausomybė matuota HeLa ląstelių poroje ekspresuojančioje Cx31. (B)  $G_j(V_j)$  priklausomybė matuota jungtyje tarp HeLa ląstelių ekspresuojančios Cx31 ir HeLa ląstelių ekspresuojančios Cx45. (C)  $G_j(V_j)$  imitacijos priklausomybė pagal 2 lentelės modelio parametrus. (D)  $G_j(V_j)$  imitacijos priklausomybė pagal 2 lentelės modelio parametrus

Aprašytas modelis imituoja plyšines tarpląstelines jungtis sudarytas iš pasirinkto skaičiaus (1-1000000) PJ kanalų. Kiekvienas kanalas gali būti vienoje iš keturių galimų būsenų su perėjimo konstantomis tarp būsenų. Jungties parametrai apibūdinami:  $A_A$ ,  $A_B$ ,  $V_{OA}$ ,  $V_{OB}$ . Homotipiniuose kanaluose  $A_A = A_B$  ir  $V_{OA} = V_{OB}$ . Perėjimų dažnis buvo 1/1000 kanalų per 1 ms. Laikas pasiekti stacionarinei būsenai buvo prilyginta 1000 ms (1000 ciklų).

Imitacijos sistema leido modeliuoti nuo 1 iki 1000000 kanalų su 4 būsenomis ir jungties parametrais:  $A_A$ ,  $A_B$ ,  $V_{OA}$ ,  $V_{OB}$ . Gauti rezultatai modeliuojant  $G_j(t)$  kitimo ir  $G_j(V_j)$  priklausomybė buvo panašūs į eksperimentinius duomenis iliustruotus Pav. 16 A ir 16 B ir anksčiau aprašytus [3]. Žemiau yra pateikti imitacijos ir eksperimentų palyginimas (žiūr. 16 pav). Lentelėje 2 yra nurodyti imitacijose naudojami parametrai.

2 Lentelė: Imitacinio modelio parametrai

Įvedimo parametrai	Parametro paaiškinimas	1 imitacija	2 imitacija
$V_{\max}$	Maksimali įtampa	100	100
$V_{\min}$	Minimali įtampa	-100	-100
$\Delta V$	Įtampos keitimo žingsnis	10	10
$T_0$	Nusistovėjimo laikas	1000	1000
$T(v)$	Vykdyimo laikas	1000	1000
$A_A$	Jautrumo įtampai koeficientas A puskanalio	0.088	0.058
$A_B$	Jautrumo įtampai koeficientas B puskanalio	0.027	0.058
$V_{OA}$	Įtampa prie kurios A puskanalio laidumas sumažėja dvigubai	22.3	61.3
$V_{OB}$	Įtampa prie kurios B puskanalio laidumas sumažėja dvigubai	125.3	61.3
$G_{Ao}$	Laidumas atidaryto A puskanalio	2.1	2
$G_{Bo}$	Laidumas atidaryto B puskanalio	2.1	2
$G_{Ac}$	Laidumas uždaryto A puskanalio	0.5	0.35
$G_{Bc}$	Laidumas uždaryto B puskanalio	0.5	0.35
$\kappa$	Konstanta, reguliuojanti būsenų pasikeitimo skaičių per diskretinį laiko periodą	0.001	0.001
N	Kanalų skaičius	300	300

Duomenys rodo jog eksperimento ir imitacijos rezultatai yra panašūs. Pastebimi skirtumai galėjo būti apspręsti netiksliai užduoti parametrai. Kad sumažinti  $G_j/V_j$  priklausomybes variacija ir neprailginti skaičiavimo laiko buvo modeliuojama 300 kanalų.  $A_A, A_B, V_{OA}, V_{OB}$  parametrai buvo paimti iš Chen-Izu ir kt. publikacijos [3, priedas 9.1].

Imitacinis modeliavimas aproksimuoja eksperimentinius duomenis ir gali įvertinti heterotipinių PJ vartų priklausomybes nuo įtampos reguliacija remiantis homotipinių PJ savybėmis.

Aprašant vartų sąveika plyšineje jungtyje atsižvelgta į įtampos persiskirstymo kanale priklausomai nuo puskanalių laidumų atviroje arba uždaroje būsenose. Tai realizuojama imitaciniame modelyje, bet būtų sudėtinga ar neįmanoma aprašyti analitiniame modelyje. Imitacinis modelis leido aprašyti bendresnį vartų sąveikos variantą, pagrįsta įtampos persiskirstymu, nei [3].

Modeliavimo rezultatai atkartojo eksperimentine stacionarine PJ-ies laidumo priklausomybe nuo tarpląstelinio potencialo  $G_j(V_j)$ . HeLa ląstelėse ekspresuojančiose koneksiną 31 ir 45.

## 8. IŠVADOS

Šiame darbe buvo išnagrinėtas neuronų sąveikavimas per tarpląstelinius plyšinius sujungimus. Pagal literaturoje pateiktus eksperimentinius duomenis nustatyta, kad tarpląstelių plyšinių jungčių laidumas mažėja didinant tarpląstelinės jungties potencialą.

PLA formalizmas leido sukurti tarpląstelių plyšinių jungčių vartų formalų modelį, kuris buvo panaudotas kuriant šio modelio programą.

Eksperimentai parodė, kad plyšinės jungties vartai gerai apsirašo naudojant perėjimų matricą ir kad šio modelio modeliavimo rezultatai adekvačiai sutampa su eksperimentiniais rezultatais, gautais vykdant neuronų tarpusavio sąveikavimo tyrimus Niujorko Alberto Einšteino medicinos kolegijoje.

Šis modelis gali nusakyti kiek heterotipinių kanalų tiek homotipinių kanalų charakteristikas.

## 9. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Bukauskas FF, Angele AB, Verselis VK, Bennett MV. Coupling asymmetry of heterotypic connexin 45/ connexin 43-EGFP gap junctions: properties of fast and slow gating mechanisms. 2002.
2. Harris A. L. Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap. *Q. Rev. Biophys.* 34:325-427. 2001.
3. Ye Chen-Izu, Alonso P. Moreno, Robert A. Spangler. Opposing gates model for voltage gating of gap junction channels. 2001.
4. Yeager, et al, 1998. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8: 517-524; Unger et al, 1999. *Science* 283: 1176-1180.
5. Moreno, AP, Fishman GI, Beyer EC, and Spray DC. Voltage-dependent gating and single channel analysis of heterotypic gap junction channels formed of Cx45 and Cx43. *Prog Cell Res* 4: 405-408, 1995.
6. Packevičius Š., Kazla A., Pranevičius H. PLA specifikacijų išplėtimas dinaminių sistemų formalizavimui. 2006.
7. Pranevičius H. Kompiuterinių tinklų protokolų formalusis specifikavimas ir analizė: agregatinis metodas. *Technologija*, Kaunas. 2005. ISBN 9955-09-560-1.
8. Pranevičius M., Bukauskas F., Pranevičius H., Paulauskas N. Imitacinis tarpląstelinių plyšinių jungčių vartų modeliavimas. 2007.
9. Rackauskas M, Kreuzberg MM, Pranevicius M, Willecke K, Verselis VK, Bukauskas FF. Gating properties of heterotypic gap junction channels formed of connexins 40, 43 and 45. 2006.
10. Rubin, JB, Verselis VK, Bennett MV, and Bargiello TA. Molecular analysis of voltage dependence of heterotypic gap junctions formed by connexins 26 and 32. *Biophys J* 62: 183-195, 1992.
11. Sohl G., and K. Willecke Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc. Res.* 62(2):228-32. 2004.



12. Spray, DC, Harris AL, and Bennett MV. Equilibrium properties of a voltage-dependent junctional conductance. *J Gen Physiol* 77: 77-93, 1981.
13. Spray, DC, White RL, Campos de Carvalho A, Harris AL, and Bennett MLV Gating of gap junction channels. *Biophys J* 45: 219-230, 1984
14. Vogel, R, and Weingart R. Mathematical model of vertebrate gap junctions derived from electrical measurements on homotypic and heterotypic channels. *J Physiol (Lond)* 510: 177-189, 1998

## 10. PRIEDAI

### 10.1. Įvairių koneksinų izoformų tarplastelinių plyšinių jungčių kanalų eksperimentiniai duomenys.

Connexon Pairing (CxL/CxR)	Gate <sub>-V</sub>		Gate <sub>+V</sub>			Gate CxL		Gate CxR		Polarity (CxL/CxR)		
	$A_{1,1}$ mV <sup>-1</sup>	$V_{o1,1}$ mV	$A_{2,1}$ mV <sup>-1</sup>	$V_{o2,1}$ mV	$g_{res}$	$g_{max}$	$P_{o,i}$	$Q_e$	$U_o$ , meV		$Q_e$	$U_o$ , meV
Homotypic Cx30/Cx30	0.116	41.5	0.116	41.5	0.25	1.00	1.0	3.0	125	3.0	125	+
Homotypic Cx32/Cx32	0.114	56.0	0.114	56.0	0.31	1.00	1.0	-2.9	165	2.9	165	-
Heterotypic Cx30/Cx32	0.106	59.0	Masked	Masked	0.38	1.00	1.0	Masked	Masked	2.7	161	+/-
Docking $\Delta$ Cx30/ $\Delta$ Cx32								Masked	Masked	0.2	-4	
Homotypic Cx40/Cx40	0.309	34.6	0.309	34.6	0.20	1.00	1.0	8.0	276	8.0	276	+
Homotypic Cx37/Cx37	0.259	16.5	0.259	16.5	0.26	1.07	0.9	6.7	110	6.7	110	+
Heterotypic Cx40/Cx37	0.407	26.3	0.245	19.5	0.28	1.02	1.0	10.5	277	6.3	124	+/+
Docking $\Delta$ Cx40/ $\Delta$ Cx37								2.5	1	0.4	13	
Homotypic Cx43/Cx43	0.058	61.3	0.058	61.3	0.29	1.00	1.0	-1.5	92	1.5	92	-
Homotypic Cx45/Cx45	0.110	10.2	0.110	10.2	0.06	1.56	0.6	-2.8	29	2.8	29	-
Heterotypic Cx43/Cx45	0.088	22.3	0.027	125.3	0.04	1.03	1.0	-0.7	89	2.3	51	-/-
Docking $\Delta$ Cx43/ $\Delta$ Cx45								0.8	-3	0.6	22	
Homotypic Cx30/Cx30	0.116	41.5	0.116	41.5	0.25	1.00	1.0	3.0	125	3.0	125	+
Homotypic Cx26/Cx26	0.101	95.2	0.101	95.2	0.11	1.00	1.0	2.6	248	2.6	248	+
Heterotypic	0.153	59.8	N/D	N/D	0.28	1.06	0.9	3.9	236	N/D	N/D	+/+

Cx30/Cx26												
Docking $\Delta$												
Cx30/ $\Delta$ Cx26								0.9	111	N/D	N/D	
Homotypic												
Cx26/Cx26	0.101	95.2	0.101	95.2	0.11	1.00	1.0	2.6	248	2.6	248	+
Homotypic												
Cx30.3 $\beta$												
/Cx30.3 $\beta$	0.062	79.6	0.062	79.6	0.15	1.00	1.0	1.6	129	1.6	129	+
Heterotypic												
Cx26/Cx30.3 $\beta$	0.161	74.5	0.096	58.9	0.15	1.00	1.0	4.2	310	2.5	146	+/+
Docking $\Delta$												
Cx26/ $\Delta$												
Cx30.3 $\beta$								1.6	62	0.9	18	
Homotypic												
Cx26/Cx26	0.101	95.2	0.101	95.2	0.11	1.00	1.0	2.6	248	2.6	248	+
Homotypic												
Cx50/Cx50	0.199	25.2	0.199	25.2	0.12	1.04	1.0	5.2	130	5.2	130	+
Heterotypic												
Cx26/Cx50	0.160	58.2	0.166	48.2	0.19	1.00	1.0	4.1	241	4.3	207	+/+
Docking $\Delta$												
Cx26/ $\Delta$ Cx50												
								1.5	-7	0.9	77	

Patvirtinu, kad straipsnis „*PLA specification of intercellular gap junction gates model*“ buvo priimtas į doktorantų vasaros mokyklos, kurios tema „Formalūs sistemų analizės metodai informatikoje“, leidinį.

Mokyklos vadovas    prof. H. Pranevičius

# PLA specification of intercellular gap junction gates model

Ana Jakaitienė, Nerijus Paulauskas, supervisor Prof.habil.Dr Henrikas Pranevičius

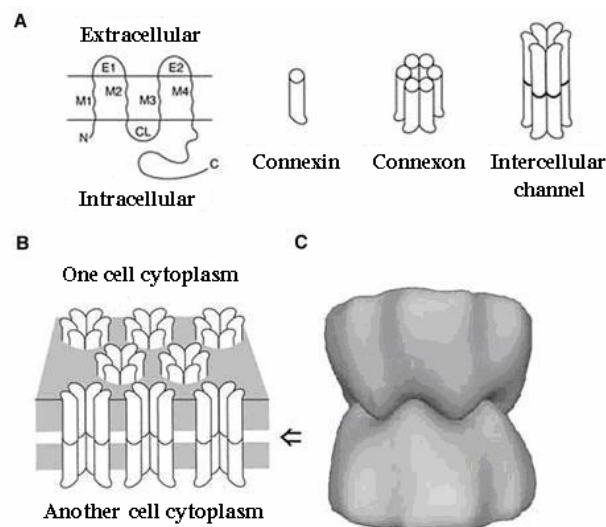
*Kaunas University of Technology, Faculty of Informatics*

*Studentų str. 50, LT - 51368 Kaunas*

Formal specification of the intercellular gap junction gates model was created. Piece-linear aggregative method was used for the specification. Program realization of this model was created as well. This imitation was based on Ye Chen-Izu, Alonso P. Moreno and Robert A. Spangler [6] model, but new consideration was used: each gate state is depending on its own fall voltage. This model can be used to define heterotypic gap junction channel voltage-gating profile according to corresponding homotypic gap junction characteristics.

## 1. Introduction

Gap junctions are intercellular channels that directly link the cytoplasm of adjacent cells. Cell-cell communication via gap junctions has been recognized to play important roles in many physiological processes, such as impulse propagation in the heart and neurons, nutrient supply in the lens, pattern formation during development, and regulation of cell growth and transformation. The gap junction channels also provide a unique system for the study of structure-function relationships of protein molecules, because their structure is unique among ion channels. A gap junction channel is composed of two connexons that protrude from two neighboring cells and dock with each other via their extracellular loops. Each connexon is made of 6 connexin subunits, of which 21 different isoforms have been identified and cloned [5].

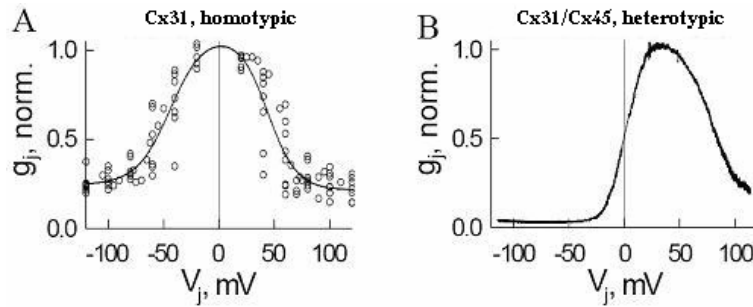


**Figure1. Structure of the intercellular gap junction. A: The transmembrane topology of a generic connexin polypeptide  
B: Gap junctions C: Model of the docking interactions between interacting connexons**

The transmembrane topology of a generic connexin polypeptide (Figure 1, A) creates four membrane domains (M1–M4), one cytoplasmic (CL) and two extracellular (E1 and E2) loops, and the N- and C-termini face the cytoplasm. Fourier microscopy shows that M1–M4 are packed  $\alpha$  helices, creating a single connexin subunit. These subunits oligomerize into a connexon within the membrane of a single cell, which docks with a counterpart in an adjacent cell to form the intercellular channel. Gap junctions (Figure 1, B) are variable numbers of intercellular channels clustered at close appositions of the plasma membranes of two cells, leaving a 3-nm 'intercellular gap' and forming axial channels connecting the cytoplasms of the cells. The shaded planes represent the lipid bilayers. Arrow - intercellular space. Model of the docking interactions between interacting connexons (Figure 1, C) is based on a three-dimensional image reconstruction using data obtained from Fourier microscopy of rat liver connexons. The six

protruding peaks on the extracellular surface of one connexon fit into the six valleys on the extracellular surface of the other connexon, forming a tight seal. The model requires a 30° rotation of one connexon with respect to its docking partner

Each connexin forms channels with distinctive properties, including single-channel conductance, channel permeability, gating response to pH, and voltage-sensitive gating. Gap junction voltage gating is the most extensively characterized fingerprint for channels made of various connexin types. Because the two connexons that constitute a gap junction are oriented as mirror images of each other in an intact channel, a homotypic channel made of two identical connexons has a symmetrical structure, whereas a heterotypic channel made of two different connexons has an asymmetric structure. Consequently, the channel voltage-gating profile, which is the relationship between channel conductance ( $G_j$ ) and transjunctional voltage ( $V_j$ ), is largely symmetrical for homotypic channels (Figure 2, A) across positive and negative voltage ranges but asymmetric for heterotypic channels (Figure 2, B). This occurs due to different voltage sensitivity coefficients and different open ( $G_o$ ) and close ( $G_c$ ) gates states conductance's.



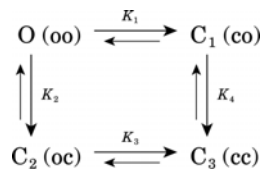
**Figure 2. Relationship between channel conductance ( $G_j$ ) and transjunctional voltage ( $V_j$ ).**  
**A: For Cx31 homotypic channel. B: For Cx31/Cx45 heterotypic channel.**

Supposedly each sub channel has two different gates control mechanisms [1]: fast and slow gating mechanisms. Slow mechanism of gates control fully closes gap junction. Fast mechanism of gates control transfers gates to transitional state with residual conductance. We analysed only ‘fast’ gates in this model. Each gate can have two states: opened state with  $G_o$  conductance and closed state with  $G_c$  conductance. Gates control mechanisms can differ by its polarity, i.e. gates can close up or open up if potential of cytoplasm rises or falls. If both gates have the same polarity, with each  $V_j$  unequal to zero, one gate closes and another opens. If gates have opposing polarity, one  $V_j$  polarity will open both gates and the opposite one will close both gates.

## 2. Description of model

Alterations in channel protein structure, by molecular techniques or by pairing connexons in various combinations, often lead to changes in the channel voltage gating. To study the structure-function relationship, Ye Chen\_Izu, Alonso P. Moreno and Robert A. Spangler present simple four-state model. This model allows studying of structure-function dependence and obtains quantitative characterized homotypic and heterotypic gap junction dependence from voltage.

The schematic presentation of the model is shown as follows



**Figure 3. Gap junction channel states model**

where  $K_i$  ( $i = 1, 2, 3, 4$ ) is the equilibrium constant for each of the transition processes, with the forward transition taken in the direction indicated by the long arrows. A channel can occupy one of the four possible states: 1)  $O(oo)$ , in

which both gates are open, 2)  $C_1(co)$ , in which gate  $L$  is closed and gate  $R$  is open, 3)  $C_2(oc)$ , in which gate  $L$  is open and gate  $R$  is closed, and 4)  $C_3(cc)$ , in which both gates are closed.

It is considered, that each gates state depends on its corresponding fall voltage  $V_L$  or  $V_R$ . Thus, the total voltage that affects gap junction channel is  $V_j = V_L + V_R$ . Figure 3 represents gap junction channel states model. Each channel consists of two gates -  $L$  and  $R$ , each of which operates independently and can have either opened or closed state.

Intercellular gap junction consists of  $N \gg 1$  channels. During one modeling step (conditionally equated to 1 ms) each gate can independently switch from opened state to closed state with probabilities  $P(L_{o \rightarrow c})$  or  $P(R_{o \rightarrow c})$ .  $P(L_{c \rightarrow o})$  and  $P(R_{c \rightarrow o})$  are transition probabilities from opened to closed state.

Used Parameters:

$V_{max}$	– maximum voltage
$V_{min}$	– minimum voltage
$\Delta V_{step}$	– voltage increments step
$T_0$	– steady-state time
$T_v$	– execution time
$A_L$	– voltage sensitivity coefficient of $L$ gate
$A_R$	– voltage sensitivity coefficient of $R$ gate
$V_L$	– voltage of $L$ gate
$V_R$	– voltage of $R$ gate
$V$	– total channel voltage
$\kappa$	– constant controls states switching number in discrete time
$N$	– number of channels

The following parameters depend on the current gates state and are calculated like this:

$G_L = G_{Lo}$ , if gate  $L$  is open.  
 $G_L = G_{Lc}$ , if gate  $L$  is close.  
 $G_R = G_{Ro}$ , if gate  $R$  is open.  
 $G_R = G_{Rc}$ , if gate  $R$  is close.

$$V_L = \frac{V * \frac{1}{G_L}}{\frac{1}{G_L} + \frac{1}{G_R}}; V_R = \frac{V * \frac{1}{G_R}}{\frac{1}{G_L} + \frac{1}{G_R}}; G = \frac{G_L * G_R}{G_L + G_R}; V = V_L + V_R;$$

The voltage through gap junction channel is increments from  $V_{min}$  to  $V_{max}$  by  $\Delta V_{step}$  step.

At the stationary state  $L_c = K_1 * L_o$ . During the time  $\Delta T$ , averagely  $n_{o \rightarrow c}$  channels will move from the opened state to the closed state.  $n_{o \rightarrow c} = L_o * \Delta T * P(L_{o \rightarrow c})$ , where  $L_o$  is the number of the opened half-channels. During the same time,  $n_{c \rightarrow o}$  channels will move from the closed state to the opened state.  $n_{c \rightarrow o} = L_c * \Delta T * P(L_{c \rightarrow o})$ , where  $L_c$  is the number of the closed half-channels.

$$n_{o \rightarrow c} = n_{c \rightarrow o}, \text{ therefore } P(L_{c \rightarrow o}) = P(L_{o \rightarrow c}) / K_1.$$

Let us suppose that  $P(L_{c \rightarrow o}) + P(L_{o \rightarrow c}) = \kappa$ .

$\kappa$  is the probability that  $N * \kappa$  number of channels change their states, when  $K_1 = 1$ .  $1 - \kappa$  is the probability that the channels stay at the same states.

$$\text{Then, } P(L_{c \rightarrow o}) * K_1 + P(L_{c \rightarrow o}) = \kappa, \quad P(L_{c \rightarrow o}) = \kappa / (1 + K_1), \quad P(L_{o \rightarrow c}) = \kappa * K_1 / (1 + K_1)$$

**Table 1 . The probabilities of moving**

Half-channel	P(o→c) closes	P(o→o) stays opened	P(c→o) opens	P(c→c) stays closed
L	$\kappa * K_1 / (1 + K_1)$	$1 - P(Lo \rightarrow c)$	$P(Lc \rightarrow o) = \kappa / (1 + K_1)$	$1 - P(Lc \rightarrow o)$
R	$\kappa * K_2 / (1 + K_2)$	$1 - P(Ro \rightarrow c)$	$P(Rc \rightarrow o) = \kappa / (1 + K_2)$	$1 - P(Rc \rightarrow o)$

### **3. Model specification**

Piece-linear aggregative method [3] was used for the specification.



1). Set of input signals

$$X = \{x_1\};$$

where:  $x_1$  - voltage value

2). Set of output signals

$$Y = \{y_1\};$$

where:  $y_1$  - gap junction channel conductance value

3). Set of external events

$$E' = \{e'_1\};$$

where:  $e'_1$  - moment of a voltage value ( $x_1$ ) arrival;

4). Set of internal events

$$E'' = \{e''_1, e''_2\};$$

where:  $e''_1$  - end of steady-state voltage impact

$e''_2$  - end of input voltage impact

5). Controlling sequences for the events are introduced

$$e''_1 \mapsto \{\xi_1\};$$

$$e''_2 \mapsto \{\xi_2\};$$

where:  $\xi_1$  - duration of an steady-state voltage impact

$\xi_2$  - duration of an input voltage impact

6). Discrete component of an aggregate state

$$v(t_m) = \{A_L, A_R, V_{OL}, V_{OR}, G_{LO}, G_{LC}, G_{RO}, G_{RC}, con, N, g(t_m), S_i(t_m), i = \overline{1, N}\};$$

where:  $A_L$  - voltage sensitivity coefficient of L gate

$A_R$  - voltage sensitivity coefficient of R gate

$V_{OL}$  - voltage for half-maximum conductance of L gate

$V_{OR}$  - voltage for half-maximum conductance of R gate

$G_{Lo}$  - conductance of open gate L

$G_{Ro}$  - conductance of open gate R

$G_{Lc}$  - conductance of close gate L

$G_{Rc}$  - conductance of close gate R

$con$  - constant controls states switching number in discrete time

$N$  - number of channels

$g(t_m)$  - channel conductance value

$S_i(t_m), i = \overline{1, N}$  - channels states values from set

$\{oo, co, oc, cc\}$

where:  $oo$  - state, then L and R gates are opened

$co$  - state, then L gate is opened and R gate are closed

$oc$  - state, then L gate is closed and R gate are opened

$cc$  - state, then L and R gates are closed

7). Continuous component of an aggregate state

$$z_v(t_m) = \{w(e''_1, t_m), w(e''_2, t_m)\};$$

where:  $w(e''_1, t_m)$  - moment of end of steady-state voltage impact

$w(e''_2, t_m)$  - moment of end of input voltage impact

8). Parameters

$RND(I)$  - random value from interval  $[0,1]$ ;

$V$  - voltage value;

9). Initial aggregate state

$$z(t_0) = \{0.116, 0.116, 41.5, 41.5, 2, 2, 0.25, 0.25,$$

$$0.001, 30, 0, S_i(t_0) = oo, i = \overline{1, N}, \infty, \infty\};$$

10). Transfer and output operators

$H(e'_1)$ : (signal  $x_1$  has arrived)

$$V=0;$$

// recalculate states of the gates with  $V=0$  //

$H(e''_1)$ : (end of steady-state time have occurred)

$$V=x_1;$$

// recalculate states of the gates with  $V=x_1$  //

$$w(e''_1, t_{m+1}) = \infty;$$

$$w(e''_2, t_{m+1}) = t_m + \xi_1;$$

$H(e''_2)$ : (end of state switching time have occurred)

$$w(e''_2, t_{m+1}) = t_m + \xi_1 + \xi_2;$$

$G(e''_2)$ :

$$y_1 = g;$$

## 4. Conclusions

This article analyses model of intercellular gap junction channels voltage gating. Formal specification of the intercellular gap junction gates model was created. Piece-linear aggregative method is very suitable for the specification of similar models, because it allowing descript objects, witch variations depends from the time. This specification gives theoretical model for program realization.

## References

- [1] **Bukauskas FF, Angele AB, Verselis VK, Bennett MV.** Coupling asymmetry of heterotypic connexin 45/ connexin 43-EGFP gap junctions: properties of fast and slow gating mechanisms. 2002.
- [2] **Harris A. L.** Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap. *Q. Rev. Biophys.* 34:325-427. 2001.
- [3] **Pranevičius H.** Kompiuterinių tinklų protokolų formalusis specifikuavimas ir analizė: agregatinis metodas. *Technologija*, Kaunas. 2005. ISBN 9955-09-560-1.
- [4] **Rackauskas M, Kreuzberg MM, Pranevicius M, Willecke K, Verselis VK, Bukauskas FF.** Gating properties of heterotypic gap junction channels formed of connexins 40, 43 and 45. 2006.
- [5] **Sohl G., and K. Willecke** Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovasc. Res.* 62(2):228-32. 2004.
- [6] **Ye Chen-Izu, Alonso P. Moreno, Robert A. Spangler.** Opposing gates model for voltage gating of gap junction channels. 2001.