

ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

УДК 577.352.5.57

К 65

КОПЫСОВА Ирина Леонидовна

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЕ СИНАПТИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ
В АНАТОМИЧЕСКИ И БИОФИЗИЧЕСКИ СЛОЖНЫХ НЕЙРОНАХ:
МОДЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

03.00.02 - "Биофизика"

05.13.16 - "Применение вычислительной техники,
математического моделирования и
математических методов в научных
исследованиях"

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Днепропетровск-1992



Робота виконана в інституті
біофізики і біоелектроніки
Красного Знамени державного

Науковий керівник - кандидат біологічних наук
Корогод С.М.

Офіційні опоненти - доктор біологічних наук
Котова А.Б.
доктор біологічних наук
Василенко Д.А.

Ведуча організація - Київський державний університет
ім. Т.Г.Шевченка

Захист состоится "...". 1992 г. в ... часов на
засіданні спеціалізованого ради Д 016.15.01 при Інституті
фізіології ім. А.А.Богомольця АН України по адресу:
252601, Київ, ул. Богомольця, 4.

С дисертацією можна ознайомитися в науковій бібліотеці
інститута.

Автореферат розослан "...". 1992 г.

Учений секретар
спеціалізованого ради
доктор біологічних наук

З.А.Сорокунь-Марина

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН УРСР

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. При исследованиях физиологических, морфологических и биофизических аспектов основы взаимодействия элементов нервной системы - синаптической активности возникает ряд проблем, связанных с микроскопическими размерами изучаемых объектов и их чрезвычайной сложностью. Значительные затруднения вызывают исследования одной и той же нейронной единицы на макро- и микроуровнях [Maxwell et al. 1984], а также дифференциация и изучение отдельных компонентов комплексных постсинаптических ответов [Crunelli, Leresche 1991; Steriade, Llinas 1988]. Это привело к необходимости дополнения натуральных экспериментов на реальных нейронах модельными исследованиями. Объекты таких исследований - модели нейронов гораздо более просты, но в то же время должны адекватно отражать основные свойства нейронов в плане генерации и пространственной передачи электрических ответов на синаптические воздействия [Rall, Segev 1987]. Использование для этих целей автономных программ моделирования отдельных конкретных нейронных структур [Barnwell, Cerimele 1972; Dodge, Cooley 1973; Jack 1979] и универсальных программ анализа электронных схем [Bunow et al. 1985; Lev-Tov et al. 1983; Sheperd, Brayton 1987] оказалось малоэффективным. В связи с этим встала задача развития автоматизированных систем научных исследований (АСНИ), специализированных в области биофизики, электрофизиологии и функциональной морфологии нейрона. Такие системы включают в себя программные средства (ПС) синтеза и исследования моделей анатомически и биофизически сложных нейронных структур, содержащих множество участков мембран различных типов, в том числе субсинаптических, то есть позволяют в значительной степени повысить соответствие модели реальному нейрону. Первым проблемно-ориентированным ПС такого класса стало ПС КРОНА (№50880001383 ГосФАП СССР) [Иванов Ю.Н. и др., 1989].

Заложенный в ПС КРОНА подход к моделированию синаптической активности в виде приложенных в тех или иных точках поляризующих токов [Rall, Rinzel 1973; Rinzel, Rall 1974] не позволяет воспроизводить и изучать в модельных экспериментах целый ряд наблюдаемых на реальных нейронах феноменов. Более близкая к реальности модель электрических процессов в субсинаптической мембране [Kocles 1961; Эклс 1966], согласно которой задаваемыми параметрами являются изменяющаяся во времени электропроводность субсинаптической мембраны и потенциал равновесия для постсинаптического тока, до

настоящего времени не применялась. Представляется, что использование подобного подхода к моделированию синенитических воздействий в ПС КРОНА способно кардинально повысить адекватность отражения в модельных исследованиях свойств нейронов и расширить класс решаемых с помощью этого ПС задач.

Модельные исследования предполагают синтез моделей с морфометрическими и биофизическими параметрами реальных нейронов и синаптических контактов. Однако, как правило, на одном нейроне измерение всей совокупности необходимых параметров проведено быть не может, поэтому в модельных экспериментах используют усредненные значения параметров, полученных на различных нейронах одного типа. Такой подход неизбежно приводит к некоторым неоднозначностям в получаемых результатах. В связи с этим возникает вопрос, каким образом и в какой степени тот или иной параметр влияет на картину электрических явлений в нейроне. Очевидно, что ответ на этот вопрос может быть получен с помощью вычислительных экспериментов, когда вариация входных параметров модели может осуществляться независимо и без принципиальных затруднений.

Ввиду невозможности одновременного исследования центрального нейрона позвоночных электрофизиологическими методами и наблюдения его структуры с помощью светового и электронного микроскопов модельный подход является незаменимым при решении таких достаточно часто возникающих структурно-функциональных задач, как определение локализации синаптических входов, ответственных за генерацию тех или иных типов постсинаптических ответов.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилась разработка адекватного инструмента моделирования постсинаптических процессов в анатомически и биофизически сложных нейронах и выяснение путем модельных исследований ряда аспектов пространственно-временного синаптического взаимодействия в нервных клетках.

В связи с поставленной целью в конкретные задачи исследования входило:

1. Разработать математическое и программное обеспечение моделирования фрагментов мембраны нейрона, содержащих неоднородные хемочувствительные субсинаптические участки, что позволит существенно расширить возможности проблемно-ориентированного ПС КРОНА.
2. Проверить работоспособность модифицированного ПС КРОНА, показав адекватность воспроизведения в вычислительных экспериментах известных процессов синаптического взаимодействия: простран-

ственной и (или) временной суммации, взаимодействия возбуждающих и тормозящих влияний, воздействия на ПСП поляризующих токов.

3. На основе вычислительных экспериментов сопоставить влияние вариации различных морфологических и биофизических параметров нейрона на пространственно-временные характеристики его постсинаптических реакций.

4. Выяснить с помощью вычислительных экспериментов вероятную локализацию синаптических входов, обеспечивающих длительные ТПСП (д-ТПСП) в пирамидных нейронах.

Научная новизна работы. Создан адекватный инструмент синтеза и исследования моделей постсинаптических процессов в биофизически и анатомически сложных нейронных структурах (ПС КРОНА, дополненное библиотекой прикладных программ (БП) СИНАПС), и показана возможность моделирования с его помощью таких связанных с синаптической активностью феноменов, как пространственная и (или) временная суммация множества синаптических воздействий, взаимодействие синаптических возбуждения и торможения, воздействие на постсинаптические ответы поляризующих токов, приложенных внутриклеточно. Получены оценки чувствительности характеристик постсинаптических ответов к варьированию таких морфометрических и биофизических параметров нейрона и синапса, как диаметры дендритных ветвей, удельное сопротивление мембран, сопротивление внутриклеточной среды, локализация синаптического входа, электропроводность хемочувствительных каналов субсинаптической мембраны, потенциал равновесия для постсинаптического тока. С помощью исследований, проведенных с использованием новой версии ПС КРОНА, установлено, что результаты электрофизиологических экспериментов по измерению потенциала реверсии д-ТПСП в пирамидных нейронах говорят о несомнительной локализации ответственных за генерацию таких ТПСП синапсов (с преимущественно калиевым типом электропроводности). Областью вероятной локализации таких синаптических входов являются участки апикальных дендритов, отстоящие от сомы на расстояние 80 мкм и имеющие протяженность до 400 мкм. Более дистальная локализация рассматриваемых синапсов представляется маловероятной.

Теоретическое и практическое значение работы. Включение БП СИНАПС в состав ПС КРОНА существенно расширяет возможности данного ПС в плане синтеза и исследования более близких к реальным моделям сложных нейронных структур с множественными синаптическими входами различных типов. Синтезированные таким образом модели могут быть

использованы для решения обширного класса задач, связанных с изучением процессов пространственно-временного взаимодействия множественных синаптических и поляризующих влияний на нейронах, в том числе с нелинейными свойствами мембраны. Новая версия ПС КРОНА является открытой для пополнения и в дальнейшем может быть расширена путем включения новых моделей субсинаптических мембран различных типов, например, с потенциалзависимой кинетикой ионных каналов субсинаптических мембран и с Ca^{2+} -чувствительными кальциевыми постсинаптическими ионными токами.

Модифицированное ПС КРОНА имеет широкие возможности применения в качестве компонента компьютерных обучающих комплексов для демонстрации и изучения основных электрофизиологических и биофизических феноменов, связанных с синаптической активностью нейронов.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Алгоритм преобразования модели локальных электрических процессов в кусочно-однородном фрагменте мембраны, содержащем множество участков субсинаптических мембран с хемочувствительными ионами каналами различных типов, в обобщенную модель локальных электрических процессов в мембране. Такое преобразование используется в ПС КРОНА для моделирования электрических процессов в анатомически и биофизически сложных нейронных структурах.

2. Инструмент для синтеза и исследования моделей близких к реальным сложных нейронных структур с множественными синаптическими воздействиями и возможностью вариации параметров, позволяющий исследовать такие феномены, как пространственная и (или) временная суммация множества синаптических воздействий, взаимодействие синаптических возбуждения и торможения, воздействие на ПСП поляризующих токов, приложенных внутриклеточно.

3. Положение о том, что регистрируемый потенциал реверсии ПСП определяется прежде всего локализацией синаптического входа и ионными механизмами постсинаптических токов. В случае наличия информации об одном из этих параметров возможна оценка с помощью модельных исследований второго параметра даже в случае некоторой неопределенности биофизических и морфологических параметров нейрона, возникающей при использовании в модельных исследованиях усредненных значений таких параметров для нейронов рассматриваемого типа.

4. Заключение о том, что результаты электрофизиологических экспериментов по измерению потенциала реверсии д-ПСП говорят о несоматической локализации ответственных за генерацию таких ПСП

синапсов. Областью вероятной локализации этих синаптических входов являются участки апикальных дендритов в пределах 80–480 мкм от сомы.

Апробация работы. Основные положения и результаты работы докладывались, обсуждались и были одобрены на Всесоюзных конференциях "Применение вычислительной техники и математических методов в научных исследованиях" (Киев, 1986; Тернополь, 1987; Шацк, 1988; Тернополь, 1989); на собраниях Днепропетровского отделения Украинского физиологического общества (Днепропетровск, 1988–1992); на итоговых научных конференциях Днепропетровского госуниверситета (Днепропетровск, 1987–1992); на II Всесоюзном семинаре "Математические и вычислительные методы в биологии" (Пущино, 1987); на VIII Республиканской конференции "Бионика-89" (Кременчуг, 1989); на IX Всесоюзной конференции по нейрокибернетике (Ростов-на-Дону, 1989); на XIII съезде Украинского физиологического общества (Харьков, 1990); на собрании Физиологического Общества (Лондон, 1991); на 14-м съезде Европейской Ассоциации Нейронаук (Кембридж, 1991); на собрании участников Колледжа по нейрофизиологии (Триест, 1992).

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Она содержит 179 страниц машинописного текста, иллюстрирована одной таблицей и 26 рисунками. Список литературы состоит из 190 работ (20 отечественных и 170 зарубежных авторов).

СО Д Е Р Ж А Н И Е Р А Б О Т Ы

Математическое и программное обеспечения моделирования постсинаптических процессов в нейронах

Эквивалентная электрическая схема неоднородного (кусочно-однородного) фрагмента мембраны, содержащего пассивный участок и множество синаптических контактов различных типов и с различными временными параметрами активации, представляет собой две параллельно включенные электрические цепи. Первая цепь соответствует пассивному участку мембраны и содержит емкость c_m , электропроводность пассивной мембраны g_m и источник в.д.с., равной потенциалу покоя мембраны v_m . Вторая цепь представлена параллельно включенными участками, каждый из которых соответствует субсинаптической мембране одного синапса. При этом для каждого n -ого участка цепи, соответствующего n -ому синапсу, выполняются следующие известные положения. Тип синапса определяется в основном потенциа-

ом равновесия ПСТ v_n . На каждом n -ом участке цепи с момента времени $t_{n,0}$, равного сумме времен активации синапса и синаптической задержки, включается отличная от нуля электропроводность субсинаптической мембраны g_n , которая в общем случае может изменяться во времени. Величина этого параметра умножается на коэффициент w_n - вес синапса, зависящий от локальной плотности синаптических контактов, хемочувствительных ионных каналов в таких контактах или от действия химических нейромодуляторов, которые меняют электропроводность каждого канала. В случае активации n -ого синапса пачкой из m_n импульсов с межимпульсным интервалом Δt_n в цепь синапса включают m_n одинаковых участков. Каждый m -ый участок цепи n -ого синапса ($m=1, \dots, m_n$) замыкается в момент времени $t_{n,m} = t_{n,0} + \Delta t_n \cdot (m-1)$.

Для интеграции в состав ПС КРОНА модели такого неоднородного фрагмента мембраны нами были записаны следующие выражения преобразования описанной эквивалентной электрической схемы к обобщенной эквивалентной электрической схеме с параметрами g и u , являющейся базовой для алгоритма вычисления трансмембранных потенциалов вдоль сложных нейронных структур, используемого в ПС КРОНА (Корогод С.М. 1968). В момент времени τ :

$$g_n^T = g_m^T + g_n^T, \quad u^T = (g_m \cdot v_n + g_n^T \cdot u_n^T) / (g_m + g_n^T), \quad \text{где}$$

$$g_n^T = \sum_{m=1, \dots, m_n} w_n \cdot \sum_{m=1, \dots, m_n} g_{n,m}^T \cdot \tau - t_{n,m} - \tau_{n,m}, \quad u_n^T = \sum_{m=1, \dots, m_n} w_n \cdot \sum_{m=1, \dots, m_n} g_{n,m}^T \cdot \tau - t_{n,m} - \tau_{n,m} \cdot v_n / g_n^T$$

Для синтеза моделей синаптических контактов различных типов (с преимущественно натриевым, кальциевым и хлорным типами электропроводностей) и с различными временными параметрами их активации, а также для определения всех параметров, входящих в приведенные выражения и связанных с синаптической активностью, нами были разработаны программные модули, объединяемые в БПП СИНАПС.

В таких модулях для всех типов синаптических контактов значение электропроводности субсинаптической мембраны при одиночной активации синапса в текущий момент времени определяется из следующего выражения [Palloniuz, Liles 1977]:

$$g_n(t) = \frac{A \cdot \alpha}{\sqrt{\pi \cdot t^3}} \cdot \exp\left(-t - \frac{\alpha^2}{4 \cdot t}\right)$$

, где t - время с момента активации синапса, α - параметр, определяющий время максимума функции $g_n(t)$ (в описываемых модулях $\alpha=3,5$). A - параметр, определяющий максимальное значение электропроводности, вносимой при активации одиночного синапса соответ-

ствующего типа. Значения этого параметра для различных типов синапсов подобраны таким образом, что максимальная электропроводность, соответствующая активации синапса единичного веса, имеет следующие значения: 1,4 нС для Na^+ -синапса, 2 нС для K^+ -синапса и 4 нС для Cl^- -синапса. Порядок этих величин совпадает с электропроводностью, вносимой при активации одиночного синаптического бутона на мотонейронах спинного мозга кошки и обеспечивающей генерацию ВПСИ амплитудой 100 мкВ [Finkel, Redman 1983; Kuno, Miyahara 1969]. Значения потенциалов равновесия для Na^+ , K^+ и Cl^- принимаются равными соответственно 95, -30 и -20 мВ (относительно потенциала покоя $E_m = -60$ мВ) [Шаповалов А.М. 1979; Эклс 1966; Krnjevic et al. 1971].

Единство интерфейса модулей БПН СИНАПС с модулями определения электрических параметров одиночных фрагментов мембран ПС КРОНА позволило осуществить интеграцию БПН СИНАПС в состав ПС КРОНА. Модифицированное таким образом ПС КРОНА предоставляет широкие возможности синтеза и исследования близких к реальным нейронам моделей анатомически и биофизически сложных структур с множественными синаптическими входами различных типов и с различными временными параметрами. Представление субсинаптических участков мембран в виде эквивалентных электрических схем с электропроводностями ионных каналов и источниками э.д.с. значительно повышает адекватность новой версии ПС КРОНА в плане моделирования постсинаптических процессов, кардинально приближая принцип описания синаптического действия к наблюдаемому в условиях реального экспериментального исследования.

Проверка адекватности воспроизведения процессов синаптического взаимодействия в вычислительных экспериментах

Проведенные вычислительные эксперименты по проверке адекватности новой версии ПС КРОНА показали, что возможно воспроизведение с помощью полученного ПС таких характерных для синаптической активности нейронов электрофизиологических процессов, как пространственная и (или) временная суммация воздействий от различных синаптических входов, взаимодействие синаптических влияний различной направленности (возбуждающих и тормозящих), взаимодействие ПС с поляризуемыми воздействиями. При этом, комбинируя различные синаптические воздействия, возможно получить в вычислительных экспериментах постсинаптические ответы, воспроизводящие основные феномены, которые наблюдаются при синаптической активности и

реальных нейронах, а именно: допороговый ВПСР, ТПСР, надпороговый ВПСР, приводящий к генерации ПД, надпороговый ВПСР с генерацией пика, после которого следует ТПСР, и ВПСР, прерываемый ТПСР. Получаемые в вычислительных экспериментах постсинаптические ответы адекватно воспроизводят такие свойства ответов реальных нейронов, как: зависимость их формы и амплитуды от локализации синаптических входов, ионных механизмов и величин электропроводности субсинаптической мембраны; зависимость их от взаимного расположения синаптических входов на дендритном дереве; чувствительность постсинаптических реакций к действию поляризующего тока - изменение амплитуды ПСР, а при переходе уровня мембранного потенциала в точку локализации синапса уровня потенциала равновесия для ПСР - реверсия ПСР.

Исследование влияния вариации параметров нейрона и синаптических соединений на характеристики постсинаптических реакций

Присущая ПС КРОНА, дополненному БП СИЧАПС, возможность контроля всех параметров модели позволила использовать его для решения задачи о влиянии вариации различных морфометрических и биофизических параметров нейрона и синапса на такие регистрируемые характеристики ПСР, как наклон графика зависимости его амплитуды от уровня мембранного потенциала (МП) ($V_{rev}(E_p)$) и точку пересечения такого графика с осью абсцисс (потенциал реверсии ПСР E_{rev}). Построение графика $V_{rev}(E_p)$ широко используется в электрофизиологических экспериментах на реальных нейронах, так как он отражает множество свойств синаптической активности. Полагают, что наклон такого графика характеризует изменение электропроводности субсинаптической мембраны, а E_{rev} - ионные механизмы ПСР [Шаповалов А.И. 1973, Calvin 1969, Eccles 1961]. При этом отмечается, что осуществление устойчивого внутриклеточного отведения потенциалов отдельного нейрона наиболее вероятно при проколе клетки микроэлектродом в области сомы, и при таком расположении электрода в случае несимметричной локализации синапса график зависимости $V_{rev}(E_p)$ дает информацию о регистрируемых, а не об истинных значениях изменения электропроводности мембраны и потенциала реверсии.

Вычисления проводили на нейронной структуре, включающей в себя участок аксона, сому, состоящую из трех однородных сегментов, и дендритное дерево, представленное в виде неоднородного эквивалентного цилиндра из трех однородных сегментов. Были установлены следующие значения (мкм) длин и диаметров различных элементов нейронной структуры: аксон - 100, 21 сегменты сомы - I - 5, 12, II -

10, 14, III - 5 12; сегменты эквивалентного цилиндра: I - 95, 2, II - 95, 1.5, III - 90, 1. Мембрану аксона и двух сегментов сомы считали электровозбудимой типа Ходжкина-Хаксли, мембрану остальных участков структуры - пассивной ($r_m = 1 \text{ км.см}^2$). r_1 принимали равным 100 Ом.см. С целью исключения возможности генерации ПД и усложнения получаемой картины нами рассматривалось тормозящее синаптическое действие с потенциалом равновесия ПСТ $E_{\text{с}} = -70 \text{ мВ}$. Значение максимальной вносимой электропроводности субсинаптической мембраны $g_{\text{с}}$ равнялось 120 нС. Указанные значения параметров характерны для реальных нейронов [Экклс 1966, Iggo et al. 1988, Rall 1977] и составляли стандартный набор. Рассматривали пять положений синапса - на расстояниях 5, 100, 140, 195 и 220 мкм от сомы.

Вычислительные эксперименты проводили при различных диаметрах эквивалентного цилиндра дендрита; различных значениях биофизических параметров - r_m изменяли от 1 до 3 км.см² с шагом 0,5 км.см², r_1 - от 50 до 150 Ом.см с шагом 25 Ом.см; при различных параметрах синаптического воздействия - $g_{\text{с}}$ изменяли от 64 до 192 нС с шагом 32 нС, $E_{\text{с}}$ - -60 до -80 мВ с шагом 10 мВ. Каждый из исследуемых параметров варьировали, зафиксировав остальные равными соответствующим значениям из указанного стандартного набора.

Для построения каждого графика $V_{\text{рсп}}(E_{\text{р}})$ вычислили амплитуды ПСП при трех уровнях МП: при потенциале покоя -60 мВ, при гиперполяризации и деполаризации мембраны. Смещение МП производили путем пропускания через сому поляризующих токов. Активацию синапса производили после установления стационарного уровня МП. Регистрацию осуществляли в третьем сегменте сомы.

Проведенные модельные исследования показали следующие закономерности. Совокупность значений амплитуд ПСП при различных уровнях МП, или наклон графика $V_{\text{рсп}}(E_{\text{р}})$, определяется в основном локализацией синаптического входа на дендритном дереве. Увеличение расстояния синапса от сомы в три раза приводит к уменьшению амплитуды ПСП на 70%. Для проксимальных синапсов характерна высокая чувствительность наклона рассматриваемого графика к вариации дендритных диаметров и такого параметра синаптического воздействия, как $g_{\text{с}}$ (увеличение дендритных диаметров и $g_{\text{с}}$ в три раза приводило соответственно к уменьшению и увеличению наклона графика на 25 и 24%). В то же время отмечается гораздо меньшая чувствительность к таким биофизическим параметрам нейрона, как r_m и r_1 (увеличение их значений в три раза приводило к увеличению наклона графика

соответственно на 3 и 9%). В случае дистальной локализации синапса чувствительность наклона графика $v_{rev}(E_p)$ к изменению всех морфометрических и биофизических параметров невелика и не превышает 15% при трехкратном увеличении каждого из исследуемых параметров.

Значение E_{rev} наиболее чувствительно к изменению локализации синаптического входа и ионных механизмов ПСТ (то есть E_p) и практически не зависит от g_p . Зависимость E_{rev} от диаметров дендритов, r_m и r_i имеет место только в случае дистальной локализации синапсов и носит гораздо менее выраженный характер, чем зависимость E_{rev} от удаленности синапса и E_p .

Определение локализации синаптических входов, обеспечивающих генерацию д-ТПСП в пирамидных нейронах.

Полученные результаты были использованы при решении задачи об определении области локализации синапсов с преимущественно какием типом электропроводности, ответственных за генерацию так называемых медленных, или длительных ТПСИ (д-ТПСП). Такие ТПСИ были обнаружены в ряде отделов центральной нервной системы (в нейронах дорсо-латерального колленчатого ядра [Crunelli, Naby 1988; Hirsch, Burnod 1987], пириформной коры [Hoffman, Haberly 1989, Satou et al. 1982], гиппокампа [Alger 1984, Thompson, Gähwiler 1989, Wimpsey et al. 1990], таламуса [Soltesz et al. 1991]). Ряд авторов [Satou et al. 1982], учитывая небольшую амплитуду д-ТПСП [Crunelli, Naby 1988], его низкую чувствительность к поляризующему току [Satou et al. 1982] и небольшую величину сопровождающего его увеличения входной электропроводности [Wilson 1989], полагает, что синапсы, ответственные за д-ТПСП, располагаются на дистальных участках апикальных дендритов. К выводу о дендритной локализации д-ТПСП-синапсов пришли и другие авторы [Hirsch, Burnod 1987; Tseng, Haberly 1988], основываясь на различии наклона полулогарифмических графиков зависимости потенциала реверсии д-ТПСП от $[K^+]_o$, полученных в эксперименте и рассчитанных на основании уравнения Нернста. Наша задача состояла в определении области вероятной локализации упомянутых синапсов, основываясь на данных натуральных экспериментов по измерению потенциала реверсии д-ТПСП E_{rev} .

При решении этой задачи мы исходили из полученных нами и упомянутых выше данных о том, что значение E_{rev} в основном определяется локализацией синаптического входа на дендритном дереве и потенциалом равновесия ПСТ, поэтому при известных значениях E_{rev} и E_p может быть выполнена оценка удаленности

синапса от точки отведения (то есть от сомы). Так как в основе д-ТПСП лежит увеличение электропроводности мембраны по отношению к ионам калия, то значение E_n может быть определено из уравнения Нернста как калиевый равновесный потенциал E_K . Логично предположить, что если сместить МП сомы моделируемого нейрона до наблюдаемого в натурном эксперименте уровня реверсии д-ТПСП и рассчитать распределение электротона вдоль дендритов, то можно определить участки, на которых электротонический потенциал равен фактическому потенциалу реверсии д-ТПСП, то есть равен E_K . Эти участки и можно считать местами расположения рассматриваемых синапсов.

Нами были использованы данные двух натуральных экспериментов по измерению потенциала реверсии д-ТПСП. В одном случае эта величина равнялась $-106,5$ мВ (пирамидные нейроны области CA1 гиппокампа крысы с потенциалом покоя -73 мВ при $t=21^\circ\text{C}$ и $[K^+]_o = 3,0$ ммоль/л) [Alger 1984]. В другом аналогичном опыте на пирамидных нейронах пириформной коры крысы с потенциалом покоя $-73,6$ мВ при $t=31^\circ\text{C}$ и $[K^+]_o = 4,5$ ммоль/л E_{rev} равнялся $-103,0$ мВ [Tseng, Haberly 1986].

Первоначально были выполнены серия вычислительных экспериментов на нейронной структуре, приведенной в литературе и соответствующей пирамидным нейронам зоны CA1 гиппокампа морской свиньи [Turner, Schwartzkroin 1980]. В вычислительных экспериментах рассматривали часть такого нейрона, включающую в себя сому высотой и диаметром 20 мкм, семь ветвей апикального дендрита со следующими диаметрами: основной ствол - 6 мкм, ветви II-го порядка - 5 мкм, III-го порядка - 2 мкм, и участок аксона (рис. 1, А).

Рассчитанные установившиеся распределения электротона вдоль последовательных ветвей моделируемой нейронной структуры, полученные для данных первого натурального эксперимента при $\rho_m = 3$ Ом·см² [Turner, Schwartzkroin 1980] и $\rho_a = 100$ Ом·см [Hall 1977], представлены на рис. 1, Б. Судя по наблюдаемой точке пересечения кривой распределения электротона с уровнем E_n , рассчитанным при $[K^+]_i = 130$ ммоль/л [Harvey et al. 1974], синапсы с калиевой проводимостью могли бы располагаться на расстоянии 200 мкм от сомы. Аналогичные расчеты, выполненные на той же структуре, однако с набором данных из второго натурального эксперимента, приводили к локализации синапсов на расстоянии 340 мкм от сомы. Обобщая результаты, область локализации синапсов можно считать участок апикального дендрита в пределах $200-340$ мкм от сомы (рис. 1, В).

Отсутствие полной определенности морфометрических и

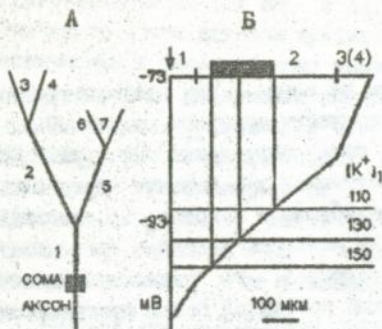


Рис. 1. А - моделируемая нейронная структура, соответствующая пирамидному нейрону зоны $С_{11}$ гиппокампа. Б - определение участков (выделены штриховкой) локализации K^+ -синапсов по распределению вдоль дендритных ветвей 1-2-3 (4) электротона и по уровням E_K (горизонтальные линии с указанными в ммоль/л значениями $[K^+]_i$). Стрелка - точка приложения гиперполяризующего тока (в области сомы). Вертикальные штрихи - границы ветвей.

биофизических параметров реальных нейронов, исследовавшихся в базовых натуральных экспериментах, делает необходимым учет различных комбинаций возможных значений таких параметров. Поэтому были проведены четыре серии дополнительных исследований с введением диапазонов вариабельности исходных параметров.

Первая серия была посвящена варьированию морфометрических параметров нейронов. Были исследованы еще два варианта структуры дендритного дерева - с дендритными диаметрами, уменьшенными и увеличенными по сравнению с исходными в 1,5 раза. Варьирование диаметров ветвей дендритного дерева при постоянстве геометрических коэффициентов Ролла оказало незначительное влияние на получаемые результаты, расширив искомую область до 180-350 мкм от сомы. Дополнительно были выполнены вычислительные эксперименты, в которых использовали морфометрические параметры, измеренные по фотоизображениям двух кортикальных нейронов, любезно предоставленных сотрудниками Института физиологии им. А.А.Богомольца Академии наук Украины. Первая из этих единиц - пирамидный нейрон сенсомоторной коры, идентифицированный электрофизиологически при помощи внутриклеточного отведения и окрашенный путем ионофоретической инъекции пероксидазы хрена через микроэлектрод (Ю.А.Гончар, В.Ф.Прокопенко). Второй нейрон являлся пирамидной клеткой пириформной коры, маркированной пероксидазой хрена после введения данного фермента в гипоталамус (В.К.Березовский, Т.Г.Кебкало). У обеих клеток было достаточно детально маркировано дендритное дерево

(ветви до 3-5-го порядков, апикальные дендриты прослеживались до III или даже II слоя). Морфометрирование данных нейронов показало, что это относительно некрупные пирамидные клетки (высота сомы 50 и 30, поперечник - 22,5 и 17 мкм соответственно), и позволило установить подробные параметры дендритов. При моделировании рассматривались структуры, состоящие из сомы, аксона и 13 дендритных ветвей в первом и 5-во втором случае. Включение в рассмотрение этих реальных нейронных структур указало на практически идентичную область предполагаемой локализации исследуемых синапсов.

Вторая серия экспериментов была посвящена решению поставленной задачи при варьировании параметра $[K^+]_i$ от 110 до 150 ммоль/л, приводящем к соответствующему изменению E_K . Из рис. 1, Б видно, что искомая область, определенная для пирамидного нейрона зоны CA1 гиппокампа, находится на расстоянии 300 мкм от сомы при $[K^+]_i = 110$ ммоль/л и 120 мкм при $[K^+]_i = 150$ ммоль/л. Вычисления для других нейронных структур с учетом всего диапазона возможных значений $[K^+]_i$ показали, что область вероятной локализации K^+ -синапсов можно считать участок апикального дендрита на расстоянии 100-460 мкм от сомы. Было отмечено, что варьирование значений $[K^+]_i$ существенно влияет на получаемые результаты и в ряде случаев изменение этого параметра на 10 ммоль/л может привести к смещению вычисляемой точки локализации синапсов на 70 мкм.

Вычислительные эксперименты третьей серии проводили для двух значений r_m - 1 и 6 Ом·см², лежащих на границах диапазона возможных значений этих параметров для пирамидных нейронов [Lux, Pollen 1966]. Вариация r_m привела к смещению нижней границы области вероятной локализации изучаемых синапсов до 80 мкм от сомы, а верхней границы - до 470 мкм от сомы.

В четвертой серии экспериментов рассматривали в дополнение к исследованному в предыдущих экспериментах значению r_i в 100 Ом·см еще одно из граничных значений диапазона вариации этого параметра, равное 50 Ом·см [Turner, Schwartzkroin 1980]. Уменьшение значения r_i до 50 Ом·см привело к расширению границы искомой области в дистальном направлении до 480 мкм от сомы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новая версия ПС КРОНА, дополненного БП СИНАПС, делает возможным расчет трансмембранных потенциалов вдоль анатомически и биофизически сложных нейронных структур с множественными синаптическими воздействиями различных типов и с различными временами

активации. Расчеты выполняются с достаточно высоким пространственным разрешением, что обеспечивает возможность одновременного наблюдения мембранных потенциалов в различных точках структуры, в том числе тех, которые недоступны для отведения в натуральных экспериментах на реальных нейронах.

Возможность контроля всех параметров модели позволила решить с помощью новой версии ПС КРОНА задачу о влиянии вариации различных морфометрических и биофизических параметров нейрона и синапса на свойства постсинаптических ответов и открывает широкие перспективы в плане исследования взаимосвязи между структурной организацией и функциями нейронов.

Анализируя с помощью новой версии ПС КРОНА данные натуральных экспериментов по измерению потенциала реверсии д-ТПСП, нами была решена конкретная структурно-функциональная задача об области вероятной локализации вызывающих д-ТПСП синаптических входов, что свидетельствует о достаточно обширных эвристических возможностях полученного ПС. В условиях неполной определенности параметров исследованных в натуральных экспериментах нейронов удалось получить только оценку границ такой области. Следующим шагом может быть установление наиболее вероятной локализации синаптических входов и плотности вероятности их распределения в пределах этой области.

Для решения подобных задач было бы очень важно знать полученные в натуральных экспериментах статистические характеристики распределений значений морфометрических и биофизических параметров нейронов, от которых зависит результаты моделирования. Особый интерес в этом плане представляют результаты трехмерной компьютерной реконструкции отдельных нейронов различных отделов центральной нервной системы. В связи с этим одним из важнейших направлений дальнейшего развития ПС КРОНА является сопряжение его с системами трехмерной реконструкции нейронов по серийным срезам.

ВЫВОДЫ

1. Получены выражения, позволяющие преобразовать параметры эквивалентной электрической схемы неоднородного фрагмента, содержащего участки хемочувствительных субсинаптических мембран, в параметры обобщенной электрической схемы. Разработка соответствующих алгоритмов позволила создать БПП СИНАПС, которая интегрируется в состав ПС КРОНА синтеза моделей сложных нейронов.

2. Модификация ПС КРОНА путем включения в его состав БПП СИНАПС значительно приближает свойства моделируемого нейронного

объекта к свойствам реального нейрона, поскольку позволяет использовать в качестве задаваемых параметров вносимую электропроводность субсинаптической мембраны и потенциал равновесия для ПСП.

3. Модифицированное ПС КРОНА позволяет адекватно воспроизводить в модельных экспериментах такие явления, как пространственная и (или) временная суммация множества синаптических воздействий, взаимодействие синаптических возбуждения и торможения, воздействие на ПСП приложенных внутриклеточно поляризующих токов.

4. Новая версия ПС КРОНА позволила исследовать зависимость совокупности амплитуд ПСП при различных уровнях мембранного потенциала от таких морфометрических и биофизических параметров нейрона и синаптического контакта, как диаметры дендритных ветвей, сопротивления мембраны нейрона и внутриклеточной среды, локализация синаптического входа, вносимая электропроводность субсинаптической мембраны и потенциал равновесия для ПСП.

5. В результате проведенных модельных исследований показана наибольшая чувствительность совокупности амплитуд ПСП при различных уровнях мембранного потенциала к вариации таких параметров, как удаленность синаптического входа от сомы нейрона и вносимая электропроводность субсинаптической мембраны, и наименьшая чувствительность к вариации удельного сопротивления мембраны.

6. Данные вычислительных экспериментов указывают на то, что регистрируемый потенциал реверсим ПСП в основном определяется локализацией синаптического входа и ионными механизмами постсинаптических токов и в существенно меньшей мере зависит от других морфометрических и биофизических параметров нейрона и синапса.

7. Модельные исследования вопроса о локализации синапсов, обуславливающих д-ТПСП калиевой природы в пирамидных нейронах гиппокампа и коры, показывают, что данная группа синапсов имеет неспецифическую локализацию (равноложена на дендритах не ближе, чем на расстоянии во мкм от сомы). В то же время маловероятна локализация таких синапсов на расстоянии более 480 мкм от сомы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1) Иванов Ю.Н., Копысова И.Л., Корогод С.М. Пакет прикладных программ для моделирования электрических процессов в разветвленных кабельных структурах. В кн: Применение вычислительной техники и математических методов в научных исследованиях, Киев:1986, С. 104.
- 2) Иванов Ю.Н., Копысова И.Л., Корогод С.М. Система и исследование моделей разветвленных мембранных структур. В кн: VI Всесоюзный

семинар "Математические и вычислительные методы в биологии", Пушкино, ИЦМ АН СССР, 1987, С.85.

3) Копысова И.Л., Корогод С.М. Программное средство для синтеза и исследования моделей многослойных мембранных структур. В кн: Применение вычислительной техники и математических методов в научных исследованиях, Киев: 1989, С.123-124.

4) Иванов Ю.Н., Копысова И.Л., Корогод С.М. Синтез и исследование моделей разветвленных мембранных структур // Алгоритмы и программы - 1989, №.-С.6-7.

5) Иванов Ю.Н., Копысова И.Л., Корогод С.М. Программные средства для моделирования процессов в анатомически и биофизически сложных нейронах. В кн: VIII Республиканская конференция "Бионика-89", Киев: 1989, С.31.

6) Копысова И.Л. Моделирование пространственно-временной картины синаптических процессов в нейроне с разветвленным дендритным деревом. - Там же, С.45.

7) Копысова И.Л. и др. Программные средства синтеза моделей для АСНИ в области нейронаук. В кн: Проблемы нейрокибернетики, Ростов-Дон: 1989, С.355-356.

8) Копысова И.Л. и др. Исследование неоднородных фрагментов мембран с помощью проблемно-ориентированных программных средств. В кн: Применение вычислительной техники и математических методов в научных исследованиях, Киев: 1989, С.127-128.

9) Копысова И.Л., Корогод С.М., Яновский Е.Ш. Вероятная локализация синаптических входов, вызывающих генерацию длительных ТПСП в пирамидных нейронах: модельные исследования // Нейрофизиология-Т.23, №6. С.738-745.

10) Steedman W.M., Kopysova I.L., Korogod S.M. Postsynaptic responses of neurones in lamina II of the lumbar spinal cord in the anaesthetized cat: computer study / Proceedings of the Physiol. Soc. University College London Meeting, 1991, 81P.

11) Kopysova I.L. et al. Application of neuroscience oriented simulation software program to studies of synaptic interactions in anatomically and biophysically complex neurons / J. Physiol., 1991, 438, 286P.

12) Kopysova I.L., Korogod S.M., Steedman W.M. Estimation of location and equilibrium potential of synaptic action on the neurones: computer simulation studies / Eur.J.Neuroscience, 1991, Suppl. №. P.203

468050

AB 25.965

AB 25.965