НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
ФІЗИКО-ТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
КАФЕДРА ПРИКЛАДНОЇ ФІЗИКИ

«На правах рукопису» «До захисту допущено»

УДК __612.843.114, 612.826.5____ Завідувач кафедри

_____ С.О. Воронов
(підпис) (ініціали, прізвище)

«___»_____2021 р.

Магістерська дисертація

зі спеціальності (спеціалізації) 105 «Прикладна фізика та наноматеріали»
(код та назва спеціальності)

на тему: Математичне моделювання синаптичної передачі між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла

Виконала: студентка 6 курсу, групи ФФ-91мн
(шифр групи)

Кришталь Анна Олександрівна
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Керівник: ст.н.с. відділу «Фізіології нейронних мереж» Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, к.б.н., Думанська Г. В.
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали) (підпис)

Консультант:
(назва розділу) (науковий ступінь, вчене звання, , прізвище, ініціали) (підпис)

Рецензент: н.с. відділу «Фізіології нейронних мереж» Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, к.б.н., Телька Марія Василівна
(посада, науковий ступінь, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали) (підпис)

Засвідчую, що у цій дипломній роботі немає запозичень з праць інших авторів без відповідних посилань.

Студент _____
(підпис)

Київ – 2021 року

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Фізико-технічний інститут
Кафедра прикладної фізики

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)
Спеціальність – 105 «Прикладна фізика та наноматеріали»
Освітньо-наукова програма «Прикладна фізика»

ЗАТВЕРДЖУЮ
В.о. завідувача кафедри
_____ Сергій ВОРОНОВ
«___»_____20__ р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студенту

Кришталь Анні Олександрівні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема проекту (роботи) Математичне моделювання синаптичної передачі між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла

керівник проекту (роботи) Думанська Ганна Валентинівна, ст.н.с., к.б.н.
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом по університету від «___»_____ 2021 р. №_____

2. Строк подання студентом проекту (роботи)_____травня 2021 р.

3. Об'єкт дослідження математична модель первинна кокультура дисоційованих клітин сітківки та нейронів ВЧТ.

4. Вихідні дані до проекту (роботи) теоретична та комп'ютерна модель синаптичної передачі між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла

5. Зміст (дипломної роботи) пояснювальної записки (перелік завдань, які потрібно розробити) Опрацювати літературні джерела стосовно існуючих моделей синаптичної передачі, обрати та оптимізувати математичну модель для досліджуваного випадку, програмно реалізувати модель короткочасної пластичності, оволодіти методами моделювання та аналізу функцій розподілу ймовірностей вивільнення синаптичних везикул за допомогою мови програмування Python в середовищі Jupyter Notebook.

6. Перелік графічного (ілюстративного) матеріалу (із зазначенням обов’язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо) презентація

7. Орієнтовний перелік публікацій 1. «Моделювання синаптичної передачі між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла». Матеріали XIX Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Теоретичні і прикладні проблеми фізики, математики та інформатики». 2021 р.

8. Дата видачі завдання _____

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проекту (роботи)	Строк виконання етапів проекту (роботи)	Примітка
1	Огляд існуючої літератури за тематикою дипломної роботи		
2	Написання літературного огляду		
3	Дослідження моделі		

	короткотривалої пластичності (КТП) для опису синхронного вивільнення нейротрансмітера		
4	Написання частини «Матеріали і методи дослідження»		
5	Підготовка статті на XVIV Всеукраїнську науково-практичну конференцію студентів, аспірантів та молодих вчених		
6	Комп'ютерна реалізація модифікованої моделі синхронного викиду нейротрансмітера в синаптичну щілину Маркрама і Цодикса з використанням мови програмування Python		
7	Написання основної частини магістерської роботи		
8	Написання висновків, підготовка доповіді та презентації		
9	Подання роботи до захисту		

Студент _____ А. О. Кришталь
(підпис) (ініціали, прізвище)

Науковий керівник _____ Г. В. Думанська
(підпис) (ініціали, прізвище)

РЕФЕРАТ

Робота на здобуття ступеня магістра складається зі вступу, огляду літературних даних, опису матеріалів та методів дослідження, викладення результатів дослідження, висновків та списку використаних джерел (46). Пояснювальна записка дипломної роботи за обсягом становить 80 сторінок, з них основної частини – 68 сторінок, містить 23 рисунка.

Темою роботи була обране математичне моделювання синаптичної передачі між гангліозними клітинами сітківки (ГКС) та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла (ВЧТ).

Актуальність теми. В наш час існує широкий спектр патологій, пов’язаних з дефектами синаптичної передачі в перших реле у шляхах аферентних зорових сигналів. А саме: проблеми з відтворенням адекватної картини простору, узгодженням рухів тіла та очей, а також синдром дефіциту уваги, дислексія і навіть аутизм.

Само тому вивчення цього типу нейропередачі є вкрай важливим для складання анамнезу та пошуку методів боротьби з цими захворюваннями.

Об’єктом досліджень стала математична модель первинна кокультура дисоційованих клітин сітківки та нейронів ВЧТ.

Предметами досліджень слугували властивості нейропередачі між ГКС та нейронами ВЧТ.

Метою роботи було створення адекватної моделі синаптичної передачі між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла в умовах сумісного культивування *in vitro*. Для досягнення мети були поставлені наступні задачі:

1. Вивчити характеристики синаптичної передачі та розглянути існуючі моделі.

2. Обрати адекватну модель та адаптувати її для даного типу синаптичного зв’язку.

3. Провести чисельну оцінку в середовищі програмування мови Python та створити відповідну комп’ютерну модель короткочасної синаптичної пластичності (КТП) між ГКС та нейронами ВЧТ.

4. Провести комп’ютерне моделювання для опису ймовірностей перебування у клітини у певному стані під час проходження потенціалу дії.

5. Оцінити доречність та правомірність отриманих результатів.

Для виконання поставлених задач були використані такі методи: методи статистичного аналізу результатів досліджень за допомогою мови програмування Python 3.9.5 в середовищі Jupyter Notebook.

У результаті виконання роботи були отримані наступні результати:

1. Обрано модель яка описує як динамічні так і статистичні характеристики синаптичної передачі.

2. Проведено адаптацію обраної моделі КТП Цодикса-Маркрама у поєднанні з біноміальним вивільненням нейротрансмітера для випадку досліджуваної кокультури.

3. За допомогою мови програмування Python створено відповідну комп'ютерну модель.

4. Прослідковано динамічну поведінку ймовірностей станів під час синаптичної передачі між ГКС та нейронами ВЧТ.

5. Підтверджено адекватність запропонованої моделі синаптичної передачі та її програмної реалізації.

Ключові слова*: верхнє чотиригорбикове тіло, гангліозні клітини сітківки, короткочасна пластичність, синаптична передача*

ABSTRACT

The master's degree final work consists of the introduction, literature review, materials and methods section, conclusions and bibliography (46 sources). There are 80 pages of the explanatory notes, including 68 pages of the main part, 23 figures.

The work subject was the Mathematical Modeling of Synaptic Transmission between Retinal Ganglion Cells (RGC) and Superior Colliculus Neurons (SC).

The actuality of the theme. Nowadays, there is a wide range of pathologies associated with synaptic transmission defects in the first relays in the pathways of afferent visual signals. Namely: problems with reproducing an adequate picture of space, coordination of body and eye movements, attention deficit syndrome, dyslexia and even autism.

That is why this type of neurotransmission study is significant for the anamnesis and treatment search for these diseases.

The researching object was a mathematical model of the primary culture of dissociated retinal cells and SC neurons.

The subjects of the study were the properties of neurotransmission between RGC and SC neurons.

The study aimed to create an adequate model of synaptic transmission between retinal ganglion cells and neurons of the upper quadriceps in the conditions of co-cultivation *in vitro*. The following tasks were set to achieve the goals:

1. To study the characteristics of synaptic transmission and to consider existing models.
2. Select an appropriate model and adapt it for this type of synaptic connection.
3. Conduct a numerical evaluation in the Python programming environment and create an appropriate computer model of short-term synaptic plasticity (STP) between RGC and SC neurons.

4. Conduct computer simulations to describe the probabilities of cells being in a particular state during the action potential.

5. Assess the relevance and legitimacy of the results obtained.

The following methods were used to perform the tasks: statistical analysis of research results using the Python 3.9.5 programming language in the Jupyter Notebook environment.

The following results were obtained during the research work:

1. A model describing both dynamic and statistical characteristics of synaptic transmission is chosen.

2. The selected Tsodyks-Markram model of STP combined with the binomial release of a neurotransmitter for the studied culture was adapted.

3. An appropriate computer model has been created using the Python programming language.

4. The dynamic behaviour of state probabilities during synaptic transmission between RGC and SC neurons was studied.

5. The adequacy of the proposed model of synaptic transmission and its software implementation is confirmed.

Keywords: *upper quadriceps, retinal ganglion cells, short-term plasticity, synaptic transmission*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ 12
ВСТУП 13
РОЗДІЛ 1 14
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ 14
1.1 Структура та функції сітківки 14
1.2 Характеристики гангліозних клітин сітківки 17
1.3 Характеристики верхнього чотиригорбикового тіла 19
1.4 Синаптична передача 21
1.4.1 Цикл везикул 25
1.5 Нейротрансмітери 27
1.5.1 Постсинаптична щільність 35
1.6 Синаптична передача між ГКС та нейронами ВЧТ 38
РОЗДІЛ 2 39
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ 39
2.1 Класична феноменологічна модель КТП 39
2.2 Моделювання динамічних синапсів 40
2.3 Стохастична передача 42
2.4 Короткочасна пластичність 43
2.4.1 Детерміновані моделі короткочасної пластичності 43
2.4.2 Стохастична короткочасна пластичність 47
2.4.3 Ретроградна сигналізация один із механізмів короткочасної пластичності синапсів 48
2.4.4 Пластичність синапсів і цитоскелету 52
2.5 Синаптичні постійні часу для АМПА, НМДА та ГАМК$_A$ 55
2.6 Методи дослідження 57
2.6.1 Методика «patch-clamp» у конфігурації «whole-cell» 57
РОЗДІЛ 3 60
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ 60

3.1 Моделювання синаптичної передачі in vitro 60

3.1.1 Комп’ютерне моделювання короткочасної потенціації 62

3.2 Чисельне моделювання ймовірностей переходів між станами під час синаптичної передачі 63

ВИСНОВКИ 64

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ 66

ДОДАТОК А. 73

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЧТ	верхнє чотиригорбикове тіло
ГКС	гангліозні клітини сітківки
КТП	короткочасна пластичність
КПС	клітини-попередники сітківки
АМПА	α-аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонат
НМДА	N-метил-D-аспартат
ГАМК	гамма-аміномасляна кислота
ЦНС	центральна нервова система
вЗПСС	викликаний збуджувальний постсинаптичний струм
вГПСС	викликаний гальмівний постсинаптичний струм
ПД	потенціал дії
МПС	мембранний потенціал спокою

ВСТУП

Синапси - це контакти між нейронами, які забезпечують передачу нервових сигналів. Розрізняють електричні та хімічні синапси. Останні більш розповсюджені в центральній нервовій системі (ЦНС). Саме моделюванню особливостей роботи хімічних синапсів присвячена дана робота.

У хімічних синапсах є невеликі контейнер-подібні об’єкти, які називаються везикулами. Вони наповнені нейромедіатором і вивільняють його з клітини під час синаптичної передачі. Цей процес життєво важливий для комунікації між нейронами. Однак, на сьогоднішній день, ще не розроблено жодної математичної моделі, яка б фактично враховувала різні стани заповнення везикул.

Однією з фундаментальних властивостей мозку є синаптична пластичність (збільшення або зменшення ефективності синаптичної передачі між нейронами у відповідь на нейрональную активність). Іншими словами, пластичність це процес посилення або ослаблення передачі синаптического сигналу. Ця властивість є важливою для формування і функціонування нейронних мереж, процесів запам'ятовування і навчання.

В даній роботі запропоновано оптимізовану математичну модель для моделювання синаптичної передачі в хімічних синапсах між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ

1.1 Структура та функції сітківки

Незважаючи на периферичне розташування, сітківка ока є частиною центральної нервової системи. Під час розвитку сітківка утворюється як евагінація проміжного мозку, зоровий пухирець, який піддається інвагінації, щоб сформувати зорову чашку. Внутрішня стінка зорової чашки дає початок сітківці, тоді як зовнішня стінка - пігментному епітелію сітківки. Цей епітелій - тонка меланінвмісна структура, яка зменшує зворотне розсіювання світла, що потрапляє в око; вона також відіграє важливу роль в регулюванні функціонування фоторецепторів, оновлюючи фотопігменти та фагоцитуючи диски фоторецепторів.

Відповідно до свого статусу повноцінної частини центральної нервової системи, сітківка містить складні нейронні схеми, які перетворюють градуйовану електричну активність фоторецепторів в потенціали дії. Вони передаються в центри головного мозку по зоровому нерву [1]. Хоча вона має ті самі типи функціональних елементів і нейромедіаторів, що зустрічаються в інших відділах центральної нервової системи, сітківка містить менше класів нейронів, і вони розташовані таким чином, що її було менш складно розгадати, ніж схеми в інших областях мозку. У сітківці є п’ять типів клітин: фоторецептори, біполярні клітини, гангліозні клітини, горизонтальні клітини та амакринні клітини. Клітинні тіла та відростки цих клітин формують шарами, при цьому клітинні тіла розташовані у внутрішньому ядерному, зовнішньому ядерному та гангліозному шарах клітин, а відростки та синаптичні контакти розташовані у внутрішньому та зовнішньому плексиформних шарах.

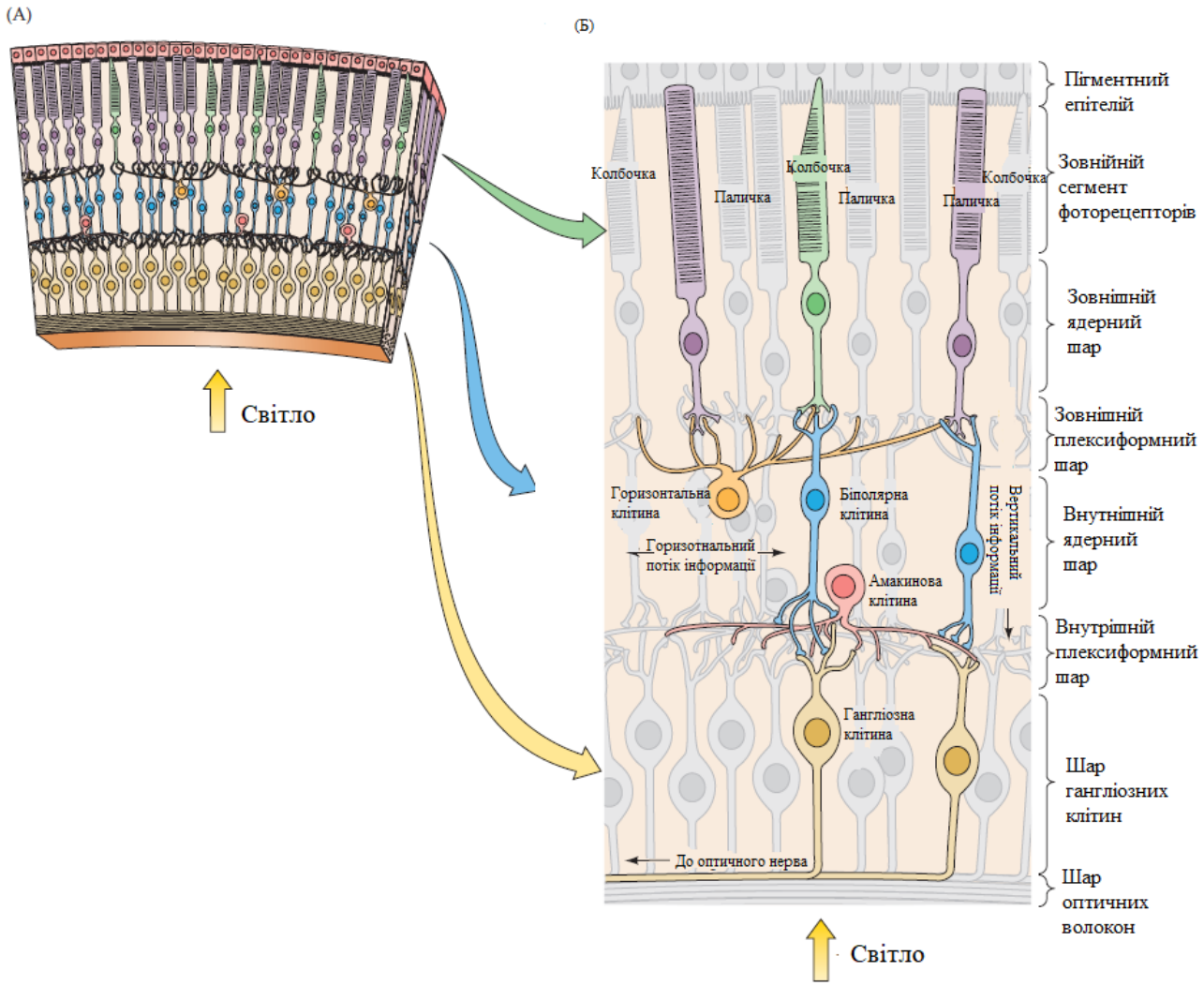

Рис.1.1. Будова сітківки. (А) Розріз сітківки, що показує загальне розташування шарів сітківки. (В) Схема основних нейронних зв'язків у сітківці. Тринейронний ланцюг - фоторецептор, біполярна клітина і гангліозна клітина - забезпечує прямий шлях передачі зорової інформації в мозок. Горизонтальні клітини та амакринні клітини опосередковують периферичні взаємодії у зовнішньому та внутрішньому плексиформних шарах відповідно. Терміни внутрішній та зовнішній позначають відносну відстань від центру ока (внутрішній - біля центру ока; зовнішній - від центру, або до пігментного епітелію). Адаптовано з [1].

Тринейронний ланцюг - фоторецепторна клітина до біполярної клітини до гангліозної клітини - це основний шлях інформаційного потоку від фоторецепторів до зорового нерва. У сітківці є два типи фоторецепторів: палички

та колбочки. Обидва типи мають зовнішній сегмент, що складається з плівчастих дисків, що містять світлочутливий зовнішній сегмент, розташований поруч з пігментним епітелієм, і внутрішній сегмент, що містить ядра клітин і дає початок синаптичним закінченням, що контактують з біполярними або горизонтальними клітинами (Рис.1.1). Поглинання світла фотопігментом у зовнішньому сегменті фоторецепторів ініціює каскад реакцій, що змінює мембранний потенціал рецептора, а отже і кількість нейромедіатора, що виділяється синапсами фоторецепторів. Синапси між терміналями фоторецепторів та біполярними клітинами (і горизонтальними клітинами) розташовані у зовнішньому плексиформному шарі; більш конкретно, клітинні тіла фоторецепторів складають зовнішній ядерний шар, тоді як клітинні тіла біполярних клітин лежать у внутрішньому ядерному шарі. Короткі аксональні відростки біполярних клітин по черзі створюють синаптичні контакти з дендритними відростками гангліозних клітин у внутрішньому плексиформному шарі. Значно більші аксони гангліозних клітин утворюють зоровий нерв, по якому передається інформація до центральної нервової системи.

Два інших типи нейронів сітківки, горизонтальні та амакринові клітини, клітинні тіла яких розташовані у внутрішньому ядерному шарі, мають відростки, обмежені відповідно зовнішнім та внутрішнім плексиформним шарами. Відростки горизонтальних клітин забезпечують периферичні взаємодії між фоторецепторами та біполярними клітинами, які підтримують чутливість зорової системи до контрасту яскравості в широкому діапазоні інтенсивності світла. Відростки амакринових клітин є постсинаптичними до терміналей аксонів біполярних клітин та пресинаптичними до дендритів гангліозних клітин. Вважається, що різні підкласи амакринових клітин мають різні функції. Різноманітність підтипів амакринових клітин ілюструє більш загальне правило, що, хоча існує лише п’ять основних типів клітин сітківки, всередині даного типу клітин може існувати значне різноманіття. Це різноманіття також притаманно і гангліозним клітинам сітківки та є основою для виділення шляхів, які паралельно передають

інформацію різного роду до вищих зорових центрів. На перший погляд, просторове розташування шарів сітківки здається протиінтуїтивним, оскільки промені світла повинні проходити через різні нечутливі до світла елементи сітківки, а також судинну сітку (яка широко розгалужується на внутрішній поверхні сітківки) до досягнення зовнішніх сегментів фоторецепторів, де відбувається процес поглинання фотонів. Причина цієї цікавої особливості організації сітківки криється в специфічних зв'язках, що існують між зовнішніми сегментами фоторецепторів, пігментним епітелієм та судинною оболонкою. Нагадаємо, що зовнішні сегменти містять перетинчасті диски, на яких розміщений світлочутливий фотопігмент та інші білки, що беруть участь у процесі трансдукції. Ці диски формуються поблизу внутрішнього сегмента фоторецептора і рухаються до кінчика зовнішнього сегмента, де вони вливаються. Пігментний епітелій відіграє важливу роль у видаленні старих рецепторних дисків, які змінюються кожні 12 днів у зовнішніх сегментах. Крім того, пігментний епітелій містить біохімічний механізм, необхідний для регенерації молекул фотопігменту після взаємодії з квантами світла. Нарешті, капіляри судинної оболонки, що лежать в основі пігментного епітелію, є основним джерелом живлення для фоторецепторів сітківки. Ці функціональні міркування пояснюють, чому сітківка має таку організацію і чому порушення нормальної передачі між пігментним епітелієм та фоторецепторами сітківки, такі як ті, що виникають при пігментному ретиніті, мають серйозні наслідки для зору.

1.2 Характеристики гангліозних клітин сітківки

Гангліозні клітини сітківки - це вихідні нейрони сітківки, аксони яких утворюють зоровий нерв. Можна виділити два основних типи цих клітин за їх реакціями на світловий стимул. Стівен Каффлер, працюючи в Університеті Джона Хопкінса в 1950-х роках, започаткував цей підхід, характеризуючи реакції одиничних гангліозних клітин на сітківці кота [1]. Він виявив, що кожна

гангліозна клітина реагує на стимуляцію невеликої кругової ділянки сітківки, яка визначає рецептивне поле клітини. На основі цих відповідей Каффлер розрізняв два класи гангліозних клітин, з "ON"- і "OFF" - центром. Перший тип можна охарактеризувати суттєвим збільшенням частоти потенціації у відповідь на світловий стимул у центр рецептивного поля (Рис. 1.2. А), другий тип, навпаки, визначається зменшенням кількості або повною відсутністю потенціалів дії під час стимуляції (Рис. 1.2. Б). Якщо ж помістити темну пляму в середину рецептивного поля, можна побачити протилежну картину. Таким чином, ГКС з "ON" - центром збільшують швидкість потенціації при збільшенні яскравості в центрі рецептивного поля, а ГКС з "OFF" - центром - навпаки. ГКС обох типів містяться у сітківці приблизно в однаковій кількості.

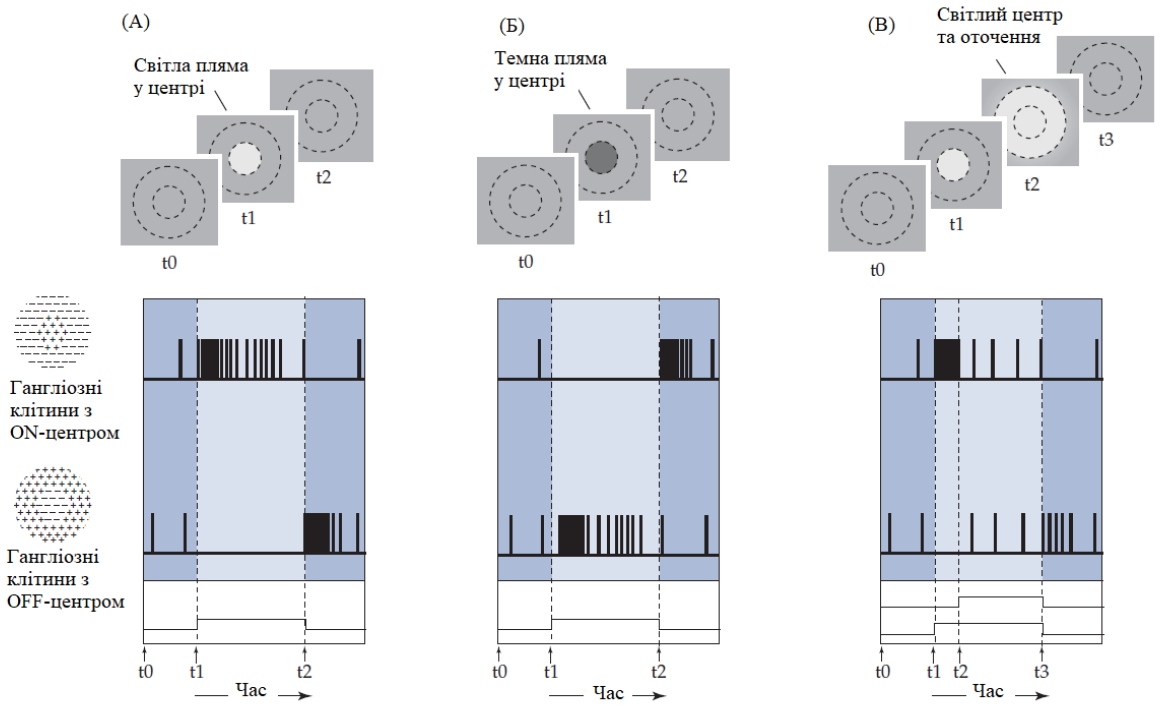

Рис.1.2. Відповіді ГКС з "ON"- і "OFF" - центром на стимуляцію різних частин їх рецептивних полей. Верхні панелі вказують часову послідовність змін стимулу. (А) Ефект від світлої плями у центрі рецептивного поля. (Б) Ефект від темної плями у центрі рецептивного поля. (В) Ефект від світлої плями в центрі з подальшим додаванням світла в оточення.

Обгрунтування наявності цих двох різних типів гангліозних клітин сітківки запропонував Пітер Шиллер та його колеги з Массачусетського технологічного інституту, які досліджували вплив фармакологічно інактивованих ГКС з "ON" - центром на здатність мавпи виявляти різноманітні зорові подразники. Після інактивації ГКС з "ON" - центром у тварин було виявлено дефіцит у їх здатності розрізняти стимул, яскравіший за оточення, однак, здатність бачити об’єкти, темніші за оточення, залишилася. Це свідчить про наявність двох висхідних шляхів передачі інформації про яскравість до мозку. Відповідно, можна виділити два основні типи ГКС [2].

1.3 Характеристики верхнього чотиригорбиково тіла

Існує декілька основних мішеней при передачі візуальної інформації від ГКС до вищих структур. Одна з цілей цих нейронів - це верхнє чотиригорбикове тіло, яке відповідає за координацію голови та очей [3]. ВЧТ - це парна багатошарова структура середнього мозку, в якій різниця між шарами дає підказку про взаємодію сенсорних та моторних карт з метою виконання певних рухів очей.

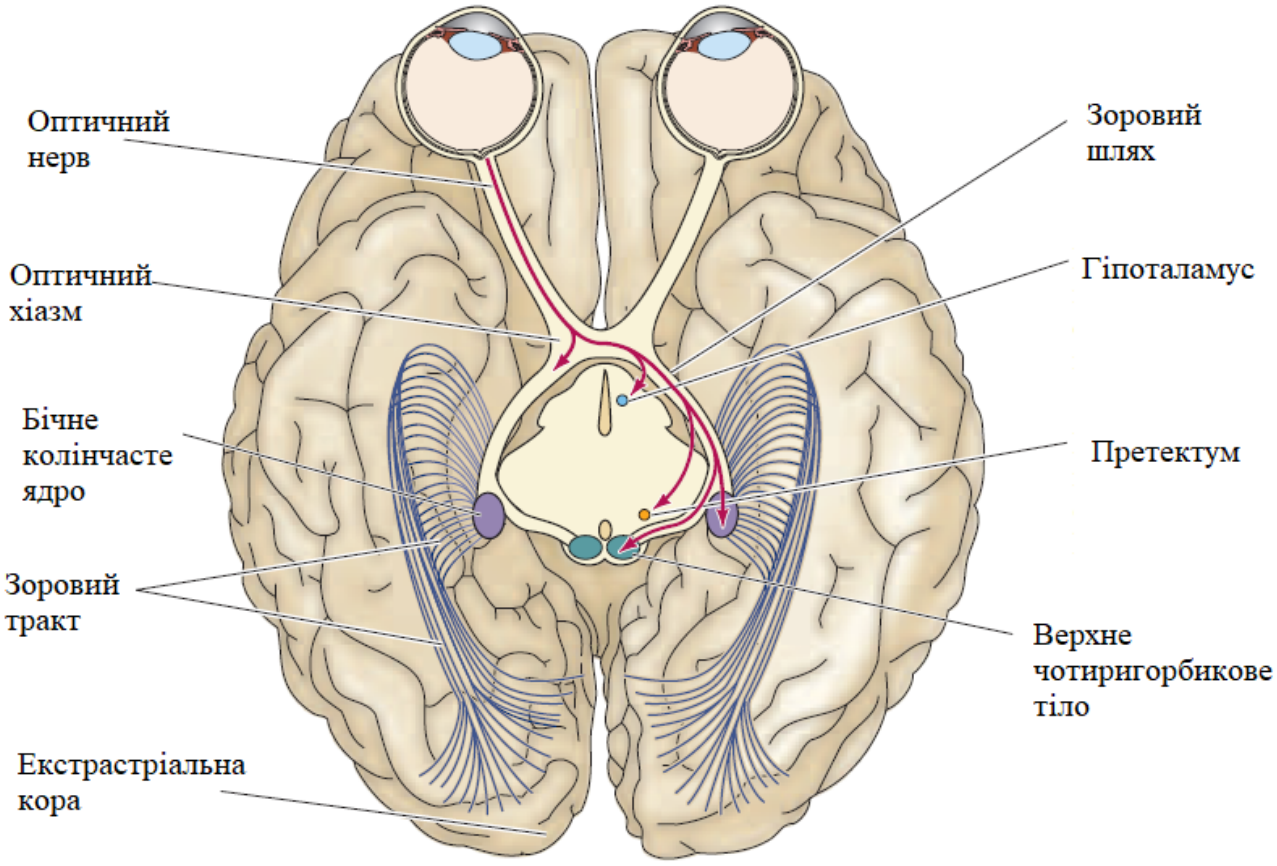

Рис.1.3. Зорові шляхи

Поверхневий або «візуальний» шар ВЧТ отримує вхідні дані від аксонів сітківки, які утворюють топографічну карту. Таким чином, нейрони в певній ділянці ВЧТ активізуються поданням зорових подразників в обмеженій зоні зорового простору. Ця активація призводить до генерації саккадних рухів [4], яка рухає око на величину, достатню для вирівнювання центральної ямки з зоною зорового простору, що забезпечувала стимуляцію.

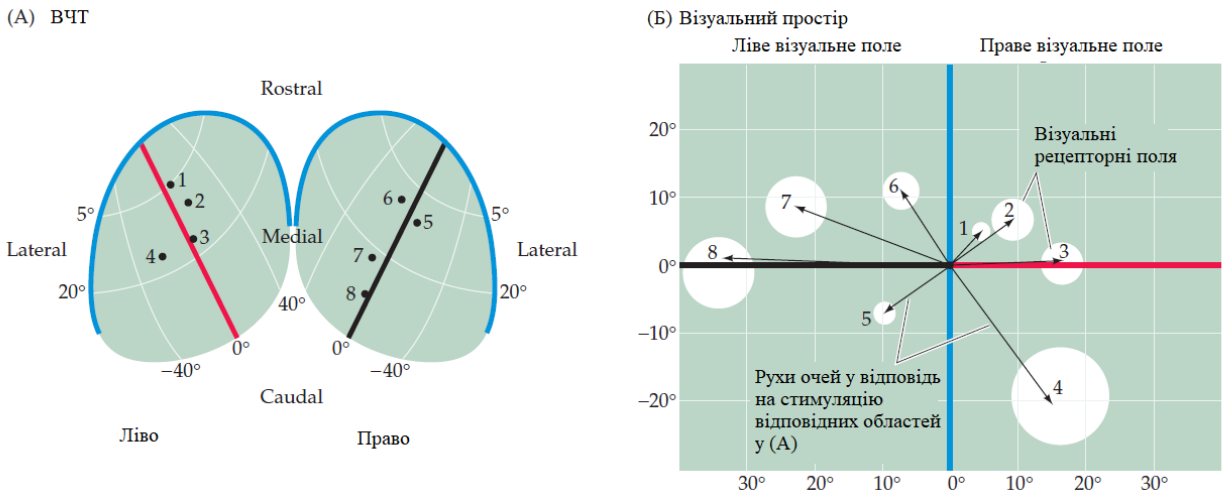

Рис.1.4. Докази сенсорної рухової трансформації, отримані в результаті електричного запису та стимуляції ВЧТ. (А) Поверхня ВЧТ, що ілюструє розташування восьми окремих місць електродів для реєстрації та стимуляції. (В) Карта візуального простору, що показує розташування сприйнятливих полів сайтів у (А) (білі кола), а також амплітуду та напрямок рухів очей, викликаних електричною стимуляцією цих ділянок (стрілки). У кожному випадку електрична стимуляція призводить до рухів очей, які вирівнюють центральну ямку з областю зорового простору, що відповідає рецептивному полю ділянки.

1.4 Синаптична передача

Синапс складноорганізована, спеціалізована структура, за допомогою якої здійснюється швидка і високовибіркова взаємодія між клітинами. Функціонування синапсів, зміни їх числа і ефективності лежать в основі сприйняття, обробки і закріплення інформації, в основі поведінки живих організмів [5].Фундаментальні механізми функціонування синапсів, а також молекулярні модулі, що формують ці структури, є висококонсерватівнимі серед організмів з різних еволюційних гілок, мають величезні відмінності в морфології, фізіології і складності організації. Для нормального функціонування синапсів в нервовій системі ссавців існує близько 2000 білків. Ключовими з них є рецептор-керовані і потенціал-залежні канали, а

також білки, які здійснюють точну колокалізацію необхідних синаптичних компонент в обмеженому просторі синапсу. Сила синаптичної передачі може бути модифікована завдяки різним чинникам, що включає специфічний характер активності. Пластичність збуджуючих синапсів безпосередньо пов'язана зі зміною актинового цитоскелета, активністю кальцій-кальмодулін-залежної кінази CaMKII і функціональних компонент дендритних шипиків. На молекулярному рівні ця регуляція може досягатися зміною локалізації синаптичних компонент, зворотньою посттрансляційною модифікацією (фосфорилюванням, лікозілірованіем) і ступенем експресії функціональних білків при зміні кінетики їх синтезу і деградації. Інтеграція цих процесів може призводити до тривалих змін ефективності синапсів, що лежать в основі пластичності і пам'яті.

Дослідження Кахала, Шеррингтона, їхніх сучасників і послідовників дали початок розуміння принципів організації нервової системи і різноманітності нейронів. Однак рівень складності і гармонійної багатокомпонентної організації синапсів активно досліджується останнім часом з розвитком молекулярних методів розшифровки повних геномів, з розвитком протеоміки напряму, який оцінює повні набори білків організмів. Виявилося, що пресинаптичний протеом миші (набір білків, що забезпечують формування та функцію пресинапса) містить кілька сот білків, а постсинаптичний ще складніше: в його склад входить, мабуть, близько 1500 білків. Незважаючи на те що молекулярна організація і механізми функціонування багатьох ключових синаптичних білків і їх комплексів досліджені досить глибоко, функції багатьох з них ще вимагають свого з'ясування.

До складу постсинаптичної мембрани входять різні класи білків і білкових модулів, включаючи іонні канали, рецептори, транспортери, адгезивні та цитоскелетних білки, кінази і фосфатази, «арматурні» білки і сигнальні молекули. Ключовими з них є рецептор-керовані і потенціалзалежні канали, а також білки, які здійснюють точну колокалізацію необхідних синаптичних компонент в обмеженому просторі синапсу.

Розглянемо більш докладно архітектуру і молекулярну організацію синапсів, грунтуючись в основному на прикладах збуджуючих синапсів. Хоча багато елементів молекулярного складу і морфологічної архітектури гальмівних синапсів відрізняються, загальні принципи, ідеї структурної організації цих молекулярних блоків є схожими [6].

На рис. 1.4 представлені схеми збуджувального синапсу. Нейромедіатор викидається з пресинаптичного закінчення аксона і взаємодіє зі специфічними рецепторами на поверхні мембрани постсинаптичного нейрона.

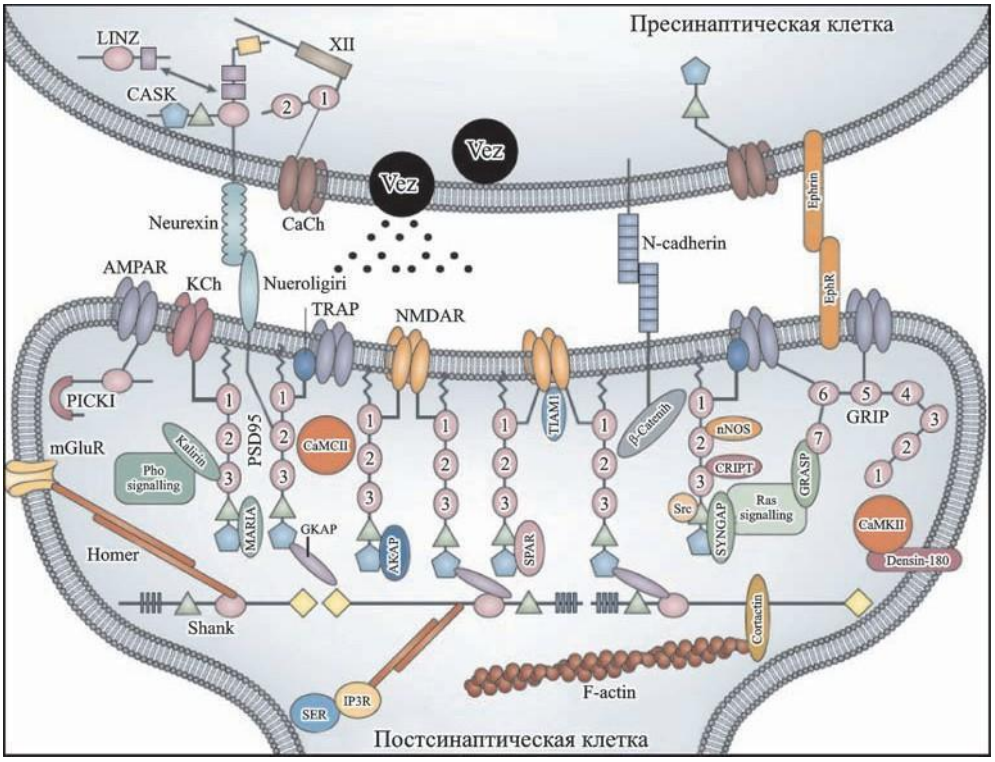

Рис.1.5. Схема організації синапсу і білок-білкових взаємодій в постсинаптичної щільності. Показані тільки основні класи білків. Положення пре- і постсинаптичні мембрани фіксоване за допомогою трансмембранних білків адгезії (Neurexin, Neuroligin, N-cadherin). Іонотропні глутаматні рецептори (AMPAR і NMDFAR), а також калієві канали (KCh) «поставлені на якір» на PDZ-містять «арматурні» білки (PSD-95 і GRIP). PDZ-домени (1,2,3 і т. Д.) Показані рожевим кольором. Ці білки розташовані точно під пресинаптичної мембраною, з якої везикули (Vez) викидають нейромедіатор (глутамат). Поза ПСП,

в пресинаптичної зоні мембрани, вбудовані метаботропні глутаматні рецептори (mGluR). Вони також «поставлені на якір» на «арматурний» білок HOMER, який в свою чергу взаємодіє з PDZ-доменом Shank білка, що має повторювані анкірівні домени і взаємодіє з актиновими філаментами (F-actin).

Типова структура хімічного синапсу виглядає наступним чином:

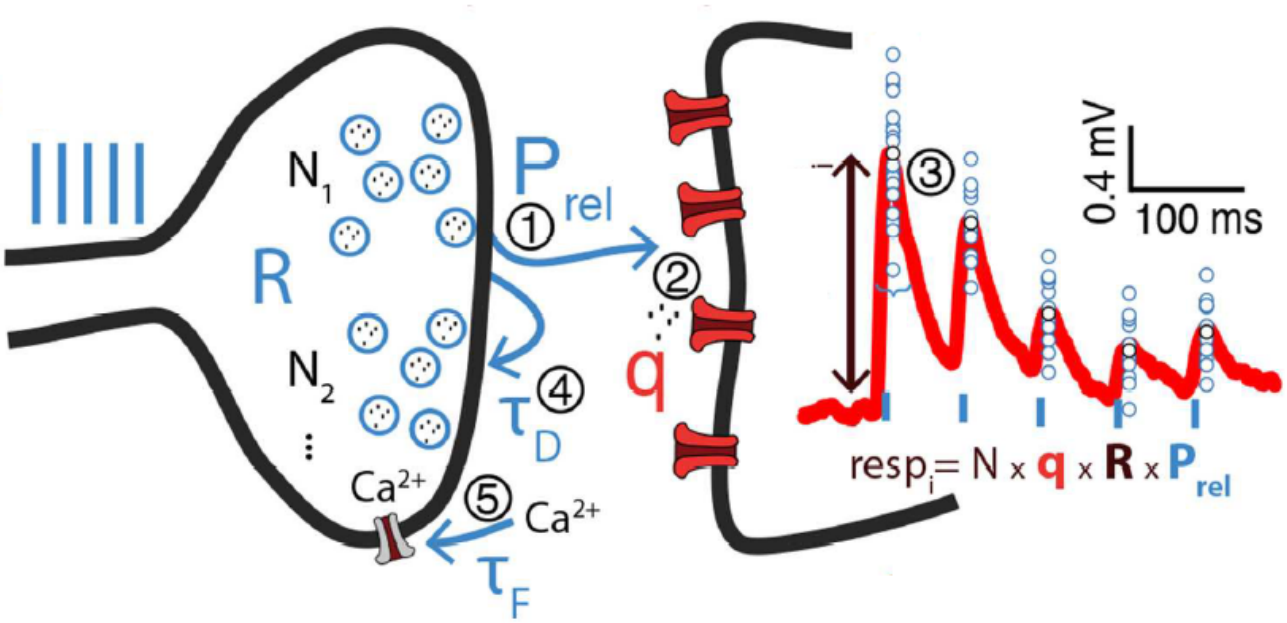

Рис.1.6. Структура хімічного синапсу

- Іонні канали та транспортери містяться в мембранах пре- та постсинаптичних нейронів.
- Синаптичні везикули - це своєрідні контейнери в пресинаптичній терміналі, які наповнюються нейромедіаторами. Зазвичай розрізняють везикули в резервному басейні та везикули біля активної зони, які готові до вивільнення.
- Синаптична щілина - це невеликий (20 нм) зазор між пре- та постсинаптичними нейронами.
- Посинаптичні рецептори - це білки в постсинаптичній мембрані. Тут відбувається зв’язування нейромедіатора із синаптичної щілини.

Розглянемо основні етапи синаптичної передачі:

1. Потенціал дії надходить в пресинаптичну термінаь.

2. Відкриття кальцієвих каналів пресинаптичної терміналі.
3. Іони кальцію надходять у клітину.
4. Іони кальцію зв'язуються з рецепторами, стимулюючи процес злиття везикул з мембраною. Цей процес називається екзоцитозом.
5. Нейротрансмітер із зв’язаних везикул потрапляють у синаптичну щілину.
6. Молекули нейротрансмітера дифундують до постсинаптичної клітини.
7. Злиття молекул з рецепторами постсинаптичної клітини, де вони затримуються деякий час і або викликають якусь реакцію, або видаляються із синаптичної щілини одним із трьох механізмів: розподіл, ферментативна деградація (яка використовується лише в холінергічні синапси) або зворотне захоплення.
8. Якщо нейромедіатор зв'язується з рецепторами в постсинаптичній мембрані, іонні канали в постсинаптичній мембрані відкриваються (прямо чи опосередковано). Це спричиняє потік іонів, що викликає постсинаптичний струм. Постсинаптичний струм в результаті змінює постсинаптичний потенціал.

Іноді везикули можуть спонтанно зливатися з мембраною, не викликаючи потенціал дії.

1.4.1 Цикл везикул

Везикули відіграють життєво важливу роль у синаптичній передачі. Наша модель також включає змінну для везикул, але ми не будемо чітко описувати такі процеси, як ендоцитоз везикул. Проте знання більше про ці процеси допомагає скласти повне уявлення про синаптичну передачу. Отже, ми розглянемо цикл везикул трохи детальніше. Основними кроками є:

1. Везикули з резервного басейну пересуваються до активної зони, звідки потім можуть бути легко вивільнені.

2. Готові до релізу везикули оснащені датчиками кальцію, що змушує їх зливатися з мембраною, якщо зв'язується достатня кількість іонів кальцію.

3. Якщо готова до вивільнення везикула зливається з мембраною, її вміст викидається в синаптичну щілину.

4. Злиття везикул з мембраною змушує мембрану рости.

5. Надмірна мембрана інвагінована (поясніть термін). Цей процес називається ендоцитозом.

6. Інвагінована мембрана перетворюється на нові везикули, які рухаються до резервного басейну.

У будь-який час везикули насичуються нейромедіаторами за допомогою активних транспортних механізмів.

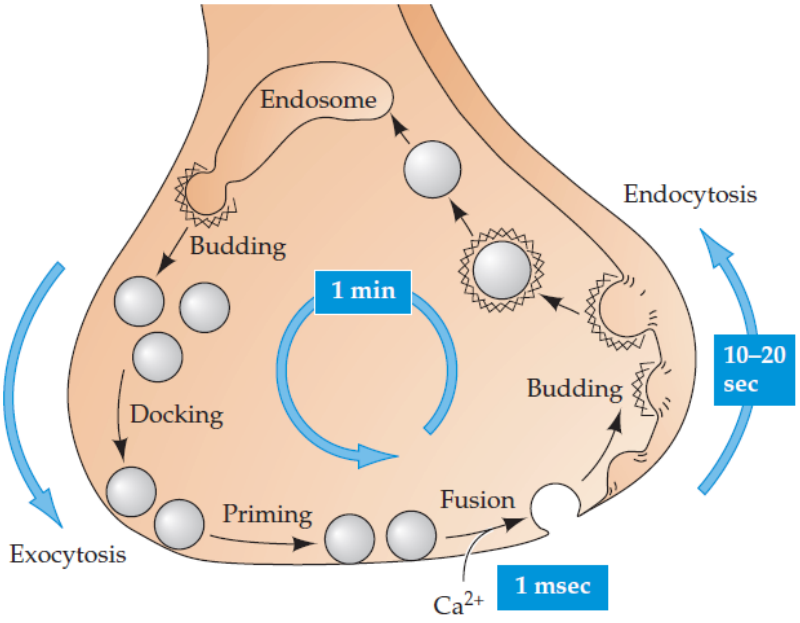

Рис.1.7. Схематичне зображення циклу везикул

У справжніх нейронах співіснують різні форми ендоцитозу [6]:

- У так званому ендоцитозі "поцілуй і біжи" закріплена везикула не зливається повністю з мембраною. Натомість, так званні пори

відкриваються на місці з’єднання мембрани та везикули приблизно на одну секунду, дозволяючи вмісту виходити в синаптичну щілину. Після цього пори знову закриваються і везикула знову легко вивільняється.

- В клатарин-опосередкованому ендоцитозі надмірна мембрана інвагінується і покривається білком клатрином. Таким чином, спочатку утворюються везикули, покриті клатрином. Клатрин потім розбирається з нових пухирців, перш ніж вони переміщаються до скупчення пухирців, і засипаються передавачами.
- У насипному ендоцитозі велика частина мембрани інвагінується латерально до активної зони. Ці інвагінації (приблизно в 4 рази більше розміру везикули) потім утворюють вакуолі (подібні до ендосом), які з часом перетворюються в синаптичні везикули.

1.4.2 Нейротрансмітери

Нейрони в мозку людини взаємодіють між собою, вивільняючи хімічні месенджери, які називаються нейромедіаторами. Зараз відома велика кількість нейромедіаторів. Нейромедіатори викликають постсинаптичні електричні реакції, зв'язуючись з представниками різноманітних груп білків, які називаються нейромедіаторними рецепторами. Існує два основних класи рецепторів: ті, у яких молекула рецептора також є іонним каналом, і ті, в яких рецептор та іонний канал є окремими молекулами. Перші називаються іонотропними рецепторами або лігандами іонними каналами і спричиняють швидкі постсинаптичні реакції, які зазвичай тривають лише кілька мілісекунд. Останні називаються метаботропними рецепторами, і вони спричиняють повільніші постсинаптичні ефекти, які можуть тривати набагато довше [7]. Аномалії функції нейромедіаторних систем сприяють виникненню широкого спектру неврологічних та психічних розладів. Як

результат, багато нейрофармакологічних методів лікування засновані на ліках, що впливають на вивільнення, зв’язування та/або видалення нейромедіаторів.

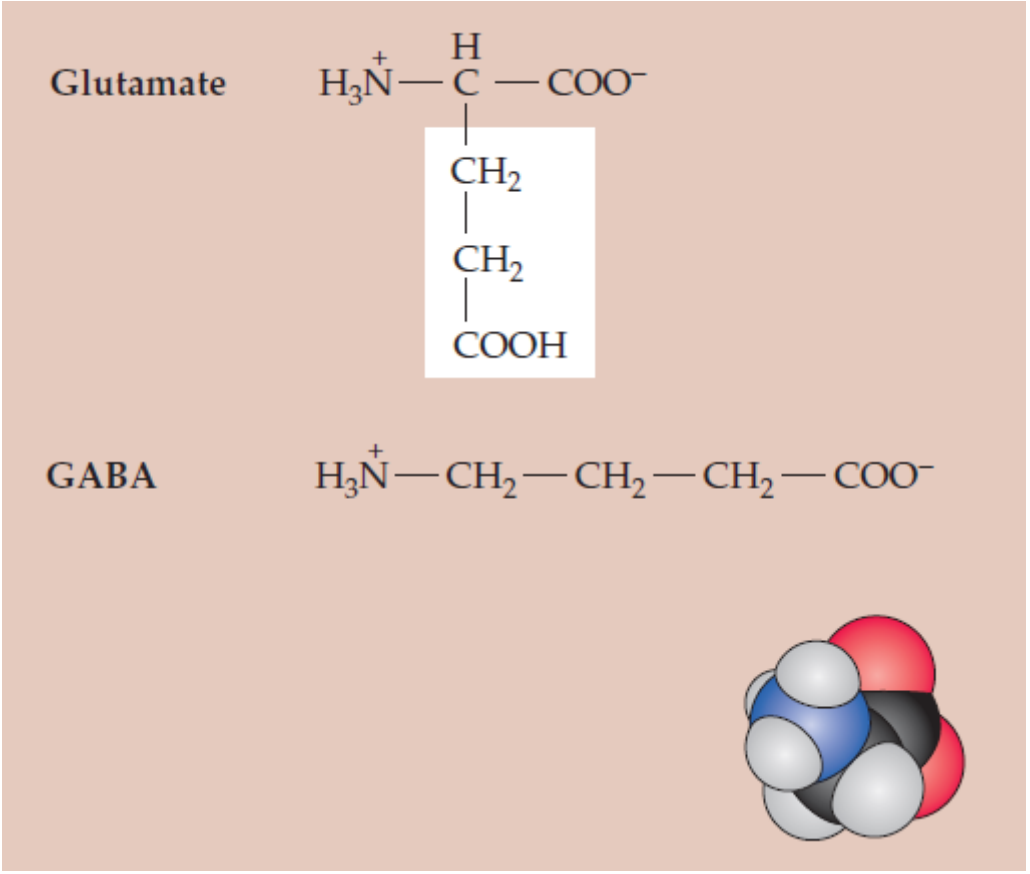

Рис.1.8. Амінокислоти які є нейротрансмітерами

Глутамат - найважливіший нейротрансмітер для нормальної роботи мозку. Майже вся збуджувальна нейропередача в центральній нервовій системі є глутаматергічною, і, за підрахунками, понад половина всіх синапсів мозку вивільняє цей агент. Глутамат відіграє особливо важливу роль у клінічній неврології, оскільки підвищені концентрації позаклітинного глутамату, що виділяються внаслідок нервової травми, є токсичними для нейронів. Глутамат - це амінокислота, яка не проникає через гематоенцефалічний бар’єр і тому повинна синтезуватися в нейронах з місцевих попередників [8]. Найпоширенішим попередником для синтезу глутамату є глутамін, який виділяється гліальними клітинами. Після вивільнення глутамін потрапляє в пресинаптичні терміналі і метаболізується до глутамату за допомогою мітохондріального ферменту

глутамінази. Глутамат також може бути синтезований шляхом трансамінування 2-оксоглутарата, проміжного продукту циклу трикарбонових кислот. Отже, частина глюкози, яка метаболізується нейронами, також може бути використана для синтезу глутамату. Глутамат, синтезований в пресинаптичній цитоплазмі, упаковується в синаптичні везикули транспортерами, що називається VGLUT. Виявлено принаймні три різні гени VGLUT. Після вивільнення глутамат виводиться із синаптичної щілини за допомогою збудливих амінокислотних транспортерів. Існує п’ять різних типів високоафінних транспортерів глутамату, деякі з яких присутні в гліальних клітинах, а інші в пресинаптичних терміналах. Глутамат, що поглинається гліальними клітинами, перетворюється в глутамін за допомогою ферменту глутаміну синтетази. Потім глутамін транспортується з гліальних клітин у нервові закінчення. Таким чином, синаптичні терміналі співпрацюють з гліальними клітинами, щоб підтримувати необхідний запас нейромедіатора. Ця загальна послідовність подій називається циклом глутамат-глутамін[9].

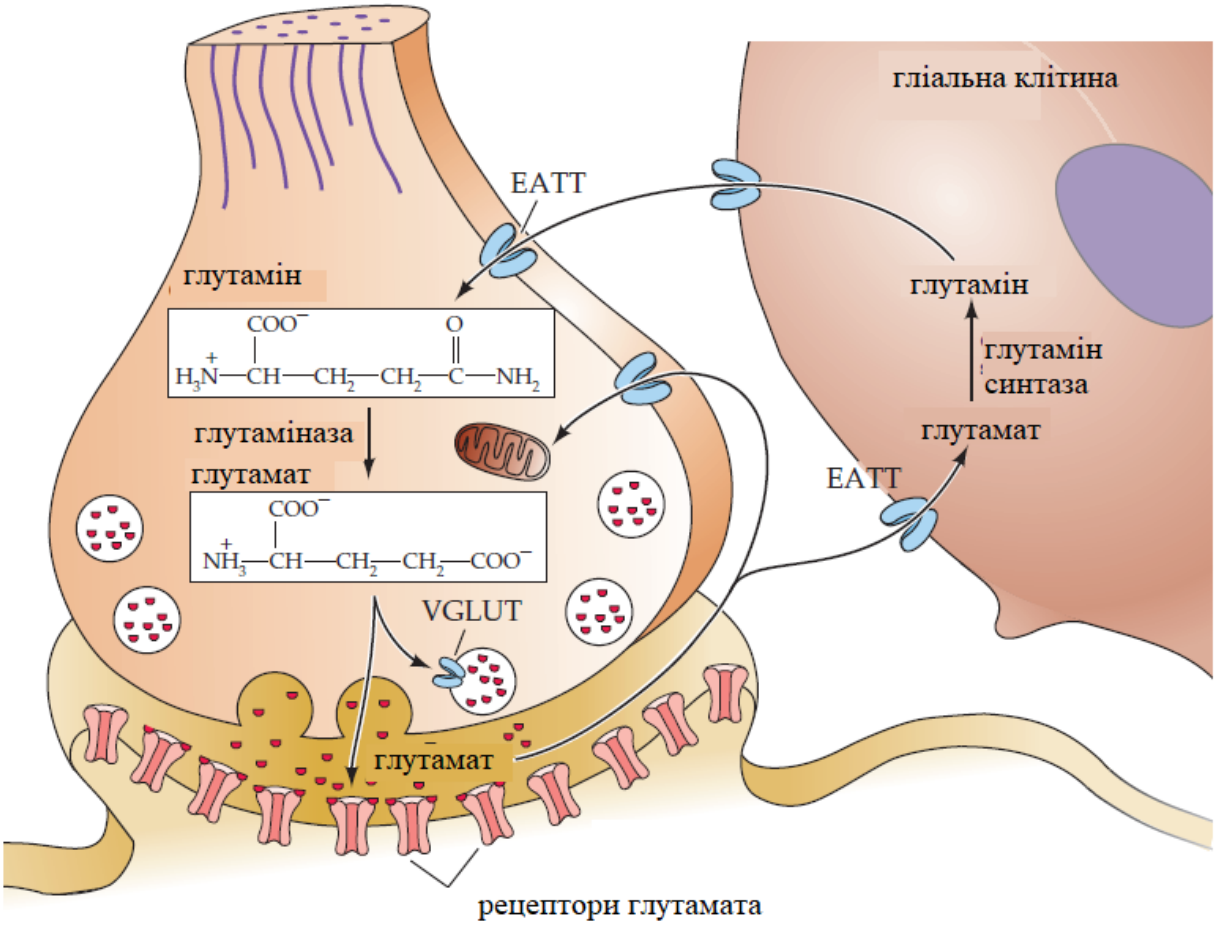

Рис.1.9. Синтез глутамата

Визначено кілька типів рецепторів глутамату. Три з них - це іонотропні рецептори, які називаються відповідно НМДА-рецепторами, АМПА-рецепторами та рецепторами каїнату. Ці рецептори глутамату названі на честь агоністів, які їх активують: НМДА (Н-метил-Д-аспартат), АМПА (α-аміно-3-гідроксил-5-метил-4-ізоксазол-пропіонат) та каїнова кислота. Усі іонотропні рецептори глутамату є неселективними катіонними каналами, подібними до ацетилхоліну, що дозволяють проходити Na^+ і K^+, а в деяких випадках і невеликій кількості Ca^{2+}. Отже, активація рецепторів АМПА, каїнату та НМДА завжди викликає збуджувальні постсинаптичні струми. Як і інші іонотропні рецептори, рецептори АМПА/каїнату та НМДА також утворюються з

об'єднання декількох білкових субодиниць, які можуть поєднуватися різними способами, утворюючи велику кількість ізоформ рецепторів.

Рецептори НМДА мають особливо цікаві властивості. Мабуть, найбільш значущим є той факт, що іонні канали рецепторів НМДА дозволяють надходження Ca^{2+} на додаток до одновалентних катіонів, таких як Na^{+} і K^{+}. Як результат, постсинаптичні потенціали, що опосередковуються НМДА-рецепторами, можуть збільшити концентрацію Ca^{2+} у постсинаптичному нейроні; тоді зміна концентрації Ca^{2+} може виступати в ролі другого месенджера для активації внутрішньоклітинних сигнальних каскадів. Інша ключова властивість полягає в тому, що вони пов'язують позаклітинний Mg^{2+}. При гіперполяризуючих мембранних потенціалах цей іон блокує пори рецепторного каналу НМДА. Однак деполяризація виштовхує Mg^{2+} з пор, дозволяючи іншим катіонам протікати. Ця властивість забезпечує основу для залежності напруги від струму, що протікає через рецептор, і означає, що рецептори НМДА пропускають катіони (особливо Ca^{2+}).

Більшість гальмівних синапсів у головному та спинному мозку використовують як нейромедіатори або γ-аміномасляну кислоту (ГАМК), або гліцин. Як і глутамат, ГАМК був ідентифікований в тканині мозку в 1950-х роках. Деталі його синтезу та деградації були розроблені незабаром після роботи Ернста Флорі та Юджина Робертса. Протягом цієї ери Девід Кертіс та Джеффрі Уоткінс вперше показали, що ГАМК може інгібувати проходження потенціалу дії в нейронах ссавців [10]. Подальші дослідження Едварда Кравіца та його колег встановили, що ГАМК служить інгібуючим нейромедіатором у нервово-м’язових синапсах омарів. Зараз відомо, що близько третини синапсів мозку використовують ГАМК як гальмівний нейромедіатор. ГАМК найчастіше зустрічається в локальних інтернейронах.

Переважним попередником для синтезу ГАМК є глюкоза, яка метаболізується до глутамату ферментами трикарбонової кислоти (піруват і

глутамін також можуть виступати як попередники). Фермент глутамінова кислота декарбоксилаза (ГКД), який міститься майже виключно в ГАМК-ергічних нейронах, каталізує перетворення глутамату в ГАМК. Для активності ГКД потрібен кофактор, піридоксальфосфат. Оскільки піридоксальфосфат походить від вітаміну В6, дефіцит В6 може призвести до зменшення синтезу ГАМК. Значення цього стало очевидним після катастрофічної серії смертей немовлят, пов’язаної з пропуском вітаміну В6 із суміші для немовлят. Ця нестача В6 призвела до значного зменшення вмісту ГАМК у мозку, а подальша втрата синаптичного гальмування спричинила напади, які в деяких випадках були смертельними. Після синтезу ГАМК він транспортується в синаптичні везикули за допомогою везикулярного інгібуючого транспортера амінокислот (VIATT).

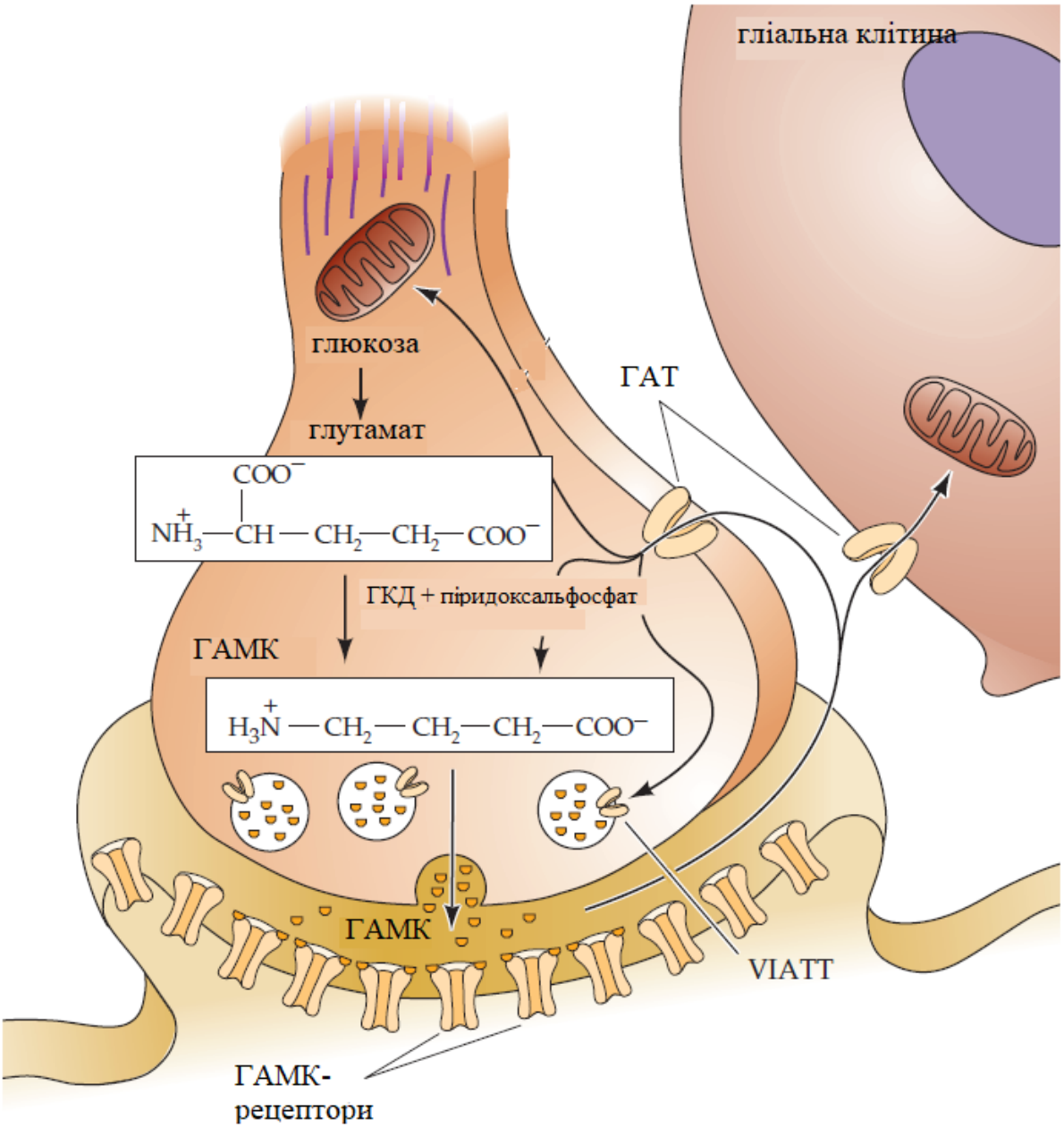

Рис.1.10. Синтез ГАМК

Механізм видалення ГАМК подібний до механізму глутамату: і нейрони, і глія містять високоафінні транспортери ГАМК, які називаються ГАТ (ідентифіковано кілька форм ГАТ). Зрештою більша частина ГАМК перетворюється на сукцинат, який метаболізується далі в циклі трикарбонової кислоти, який опосередковує клітинний синтез АТФ [11]. Ферменти, необхідні для цієї деградації, ГАМК-трансаміназа та бурштинова семіальдегіддегідрогеназа, є мітохондріальними ферментами. Інгібування розпаду ГАМК спричинює зростання

вмісту ГАМК у тканинах та активність гальмівних нейронів. Існують також інші шляхи деградації ГАМК. Найбільш вартий уваги з них результат виробництва γ-гідроксибутирату, похідного ГАМК, який зловживався як наркотик “фінікового зґвалтування”. Пероральне введення γ-гідроксибутирату може спричинити ейфорію, дефіцит пам’яті та непритомність. Імовірно, ці ефекти виникають внаслідок дії на ГАМК-ергічні синапси в ЦНС [12, 13]. Інгібуючі синапси, що використовують ГАМК як передавач, можуть виявляти три типи постсинаптичних рецепторів, які називаються $ГАМК_A$, $ГАМК_B$ та $ГАМК_C$. Рецептори $ГАМК_A$ та $ГАМК_C$ є іонотропними рецепторами, тоді як рецептори $ГАМК_B$ є метаботропними. Іонотропні рецептори ГАМК, як правило, гальмують, оскільки пов'язані з ними канали проникні для Cl^-, потік негативно заряджених хлорид-іонів інгібує постсинаптичні клітини, оскільки потенціал спокою Cl^- є більш негативним, ніж пороговий потенціал нейронів. Як і інші іонотропні рецептори, рецептори ГАМК - це пентамери, зібрані з комбінації п’яти типів субодиниць (α, β, γ, δ та ρ). В результаті цього різноманіття субодиниць, а також змінної стехіометрії субодиниць, функція рецепторів $ГАМК_A$ широко відрізняється серед типів нейронів. Препарати, які діють як агоністи або модулятори постсинаптичних рецепторів ГАМК, такі як бензодіазепіни та барбітурати, застосовуються клінічно для лікування епілепсії та є ефективними седативними та анестетиками. Сайти зв’язування ГАМК, барбітуратів, стероїдів та пікротоксину знаходяться в межах пори каналу. Інший сайт, який називається сайтом зв'язування бензодіазепінів, лежить поза порами і модулює активність каналу. Бензодіазепіни, такі як діазепам та хлордіазепоксид, є транквілізуючими (зменшуючими тривогу) препаратами, які підсилюють передачу GABAergic, зв'язуючись з α та δ субодиницями рецепторів $ГАМК_A$. Барбітурати, такі як фенобарбітал та пентобарбітал, є снодійними засобами, які зв’язуються з α та β субодиницями деяких рецепторів ГАМК і використовуються терапевтично для знеболення та контролю епілепсії. Інший препарат, який може змінити активність опосередкованих ГАМК гальмівних ланцюгів, - це алкоголь; принаймні деякі

аспекти поведінки в нетверезому стані викликані алкогольно-опосередкованими змінами в іонотропних рецепторах ГАМК [14].

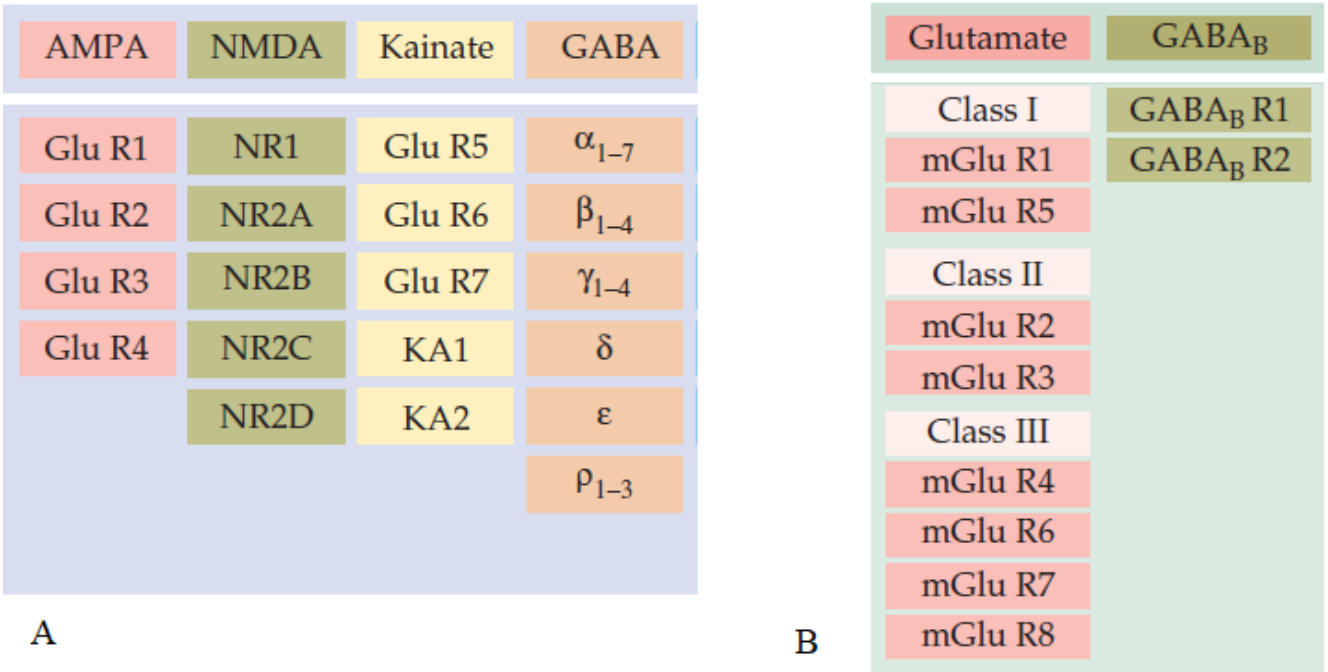

Рис. Типи рецепторів глутамата та ГАМК. (A) Іонотропні рецептори. (B) Метаботропні рецептори

1.4.3 Постсинаптична щільність

Архітектура і склад функціональних модулів синапсу має точну і доцільну організацію. Величезна кількість високоспеціалізованих компонент розташовується в певних мікродоменах і в результаті формується складний, молекулярний блок, який здійснює передачу міжклітинних сигналів (рис. 3). Пресинаптична область містить синаптичні везикули діаметром приблизно 40 нм. Вони знаходяться в області потовщення пресинаптичної мембрани: активної зони, в якій відбувається екзоцитоз везикул, що містять нейромедіатор.

Пре-і постсинаптичні області розділені щілиною шириною 20 - 25 нм. Точно під активною зоною знаходиться постсинаптична мембрана, білки екстрасінаптічної адгезії і внутрішньоклітинні постсинаптичні компоненти, що

формують складноорганізований багатокомпонентний білковий мікродомен, який називається постсинаптичною щільністю (ПСЩ, PSD postsynaptic density). На електронно-мікроскопічних фотографіях ця структура являє собою диск шириною 200 800 нм, (в середньому 300 400 нм) і товщиною 30 50 нм.

ПСЩ виконує широкий спектр спеціалізованих функцій, пов'язаних з прийомом, обробкою і регуляцією постсинаптичних сигналів, а також модифікацією розмірів і морфології шипиків. У формування ПСЩ і виконання цим клітинним мікродоменом специфічних завдань залучено величезну кількість білків. Наприклад, в препаратах мозку миші, що містять кору, середній мозок, мозжечек і гіпокамп, було ідентифіковано від 700 до понад 1500 різних білків, які, ймовірно, є компонентами ПСЩ. Малоймовірно, що один синапс може містити всі ці білки. Синапси навіть одного класу є гетерогенними утвореннями і, мабуть, кожен синапс містить частину цих білків, необхідних для його специфічного функціонування. У будь-якому випадку очевидно, що ПСЩ є одним з найбільш складних функціональних мікродоменов еукаріотичної клітини. У «ключовий комплекс» ПСЩ входить близько 120 білків. Багато з них були ідентифіковано і проаналізовано раніше в електрофізіологічних, біохімічних, іммуноцітологічних і молекулярно-біологічних дослідженнях. Вони включають іонотропні (АМПА, НМДА) і метаботропні (mGluRs) рецептори і калієві канали. Серед них також кальцій-калмодулін-залежна протеїнкіназа II (CaMKII), синаптичний Ras GTPase-активований білок I (SYNGAP I), актин і десятки інших макромолекул, необхідних для функціонування синапсу (рис. 3). Вони класифіковані в кілька категорій: мембранні рецептори; макромолекули клітинної адгезії; сигнальні білки, що включають кінази, фосфатази і їх регулятори; «арматурні» білки (scaffold proteins); білки цитоскелету і мембранного транспорту. Багато з цих білків кодуються генами, порушення яких викликає хвороби і відхилення від норми поведінки. Координоване функціонування різних компонент комплексу ПСЩ регулюється як всередині постсинапса, так і зовні взаємодією з пресинаптичними нейронами. На молекулярному рівні ця регуляція може

досягатися зміною локалізації білків зворотньою посттрансляционною модифікацією, тобто фосфорилюванням, глікозилюванням, і зміною експресії функціональних білків при зміні кінетики їх синтезу і деградації. Інтеграція цих процесів може приводити до тривалих змін ефективності синапсів, що лежать в основі пластичності і пам'яті. Наприклад, щільність рецепторів НМДА має тенденцію до зростання в напрямку до центру постсинаптичної області, в той час як рецептори АМПА розташовані більш гомогенно і їх кількість різко падає тільки на кордоні ПСЩ.

Як правило, метаботропні глутаматні рецептори обрамляють територію активного синапсу, створюючи як би «кільцеву дорогу» навколо ПСЩ. Такий характер розподілу передбачає, що різні типи глутаматних рецепторів використовують різні молекулярні модулі для заякорювання в зоні синапсу. У плані структурної організації постсинаптична щільність яляется мережею білкових філаментів і білкових модулів, що представляють собою ансамблі з великого числа білків, які специфічно взаємодіють один з одним [15].

Дуже важливими з них є «арматурні» білки (scaffold proteins), макромолекули, які мають спеціалізовані модулі (наприклад, PDZ домени) для взаємодії з певними білками і, таким чином, представляють собою каркас, на якому будується «будівля» ПСП. Наприклад, «арматурний» білок PSD-95 має три PDZ домена, які специфічно «заякорюють» NMDA-рецептори, калієві канали і низку інших молекул, забезпечуючи їх колокалізацію. PSD-95 відноситься до сімейства багатодомених мембранних білків, відомих як мембран-асоційовані гомологи гуанілаткінази (MAGuKs). В цілому вони представляють так званий MASC комплекс (MAGuK Associated Signalling Complex). «Арматурними» білками є також GKAP, SAP97, Shank і Homer. «Арматурні» білки забезпечують вбудовування різних підтипів глутаматних рецепторів в певні ділянки постсинаптичної мембрани, регуляцію їх відносної кількості і щільності, вбудовування та інтрерналізацію і ряд інших функцій. Регульоване вбудовування глутаматних рецепторів в постсинаптическую мембрану або їх інтерналізація в

зоні ПСЩ служать важливим механізмом, що забезпечує пластичність синапсу і нервової системи в цілому. Кількість «арматурних» білків в постсинаптичної щільності значно перевищує число глутаматних рецепторів. Наприклад, в збудливих синапсах мозку ссавців є в середньому близько 20 НМДА-рецепторів. Їх кількість приблизна фіксована. Число АМПА-рецепторів в постсинаптичній мембрані сильно варіює в межах 1 200 рецепторів на синапс. Типова ПСП містить 300 600 MAGUK білків і приблизно 150 інших компонент, включаючи Shank білки, анкирином і інші молекули, що містять SH3 домени. Таким чином, архітектура ПСЩ нагадує багатоповерховий будинок, в якому на верхньому поверсі знаходяться постсинаптичні рецептори, іонні канали, молекули синаптичної адгезії і інші трансмембранні білки. Наступні поверхи формують «арматурні», сигнальні, цитоскелетні і інші білки .

Мабуть, така організація та кількісне співвідношення білкових компонент потенційно забезпечують структурну базу для фізіологічної регуляції ефективності синаптичної передачі через модифікацію числа рецепторів глутамату та функціональних мікромодулів, що забезпечують короткочасну і тривалу пластичність синапсів.

1.4.3 Синаптична передача між ГКС та нейронами ВЧТ

Дослідження в області електрофізіології та імуноцитохімії показали наявність збуджувальних і гальмівних синаптичних контактів між ГКС та нейронами ВЧТ [16, 17, 18]. Збуджувальна нейропередача опосередкована вивільненням глутамата та активацією НМДА- та АМПА- рецепторів на постсинаптичній клітині. Окрім цього було визначено наявність ГАМК-ергічної нейропередачі між цими типами нейронів. Гальмівна синаптична передача опосередковується активацією $ГАМК_A$ постсинаптичних рецепторів [19].

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Класична феноменологічна модель КТП

Класична феноменологічна модель для опису короткочасної динаміки синаптичних струмів синхронного вивільнення нейромедіатора була запропонована Маркрамом та Цодиксом (1996) [20]. Ця модель постулює басейн везикул, що вивільнюються, та динамічну зміну ймовірності вивільнення (наприклад, залежно від зміни концентрації Ca^{2+}). Нехай u позначає ймовірність вивільнення та x кількість нейромедіаторів, що містяться в легко вивільнюваних везикулах. Кожен пресинаптичний потенціал дії стимулює поточну частку u(t) везикул, щоб вивільнити нейромедіатори, що згодом викликає постсинаптичну зміну напруги. Динаміка u і x наведена Цодиксом і Ву (2013) [21, 22],

$$\begin{aligned} \frac{du(t)}{dt} &= -\frac{u(t)}{\tau_f} + U[1-u(t)]\sum_m \delta(t-t_m) \\ \frac{dx(t)}{dt} &= \frac{X_F - x(t)}{\tau_d} - q(t) \\ q(t) &= u(t_+)x(t_-)\sum_m \delta(t-t_m) \end{aligned} \tag{1}$$

де t_m позначає момент надходження m-го спайка, а $\delta()$ - дельта-функція Дірака. Зауважимо, що порівняно з оригінальною моделлю Маркрама та Цодикса (1996),тут для зручності змінено визначення змінної x як кількість доступного нейромедіатора, а не частка доступних нейромедіаторів. Крім того, U позначає приріст u за рахунок надходження потенціалу дії. Постійна часу τ_f контролює швидкість спаду u, а τ_d - швидкість поповнення везикул. X_F - загальна сума кількість нейромедіаторів у всіх везикулах в активній зоні, коли всі везикули поповнюються. Поняття t_+ і t_- вказують, відповідно, моменти безпосередньо після і до приходу потенціалу дії. q (t) - швидкість вивільнення нейромедіатора в даний

момент часу t. Відповідно до процесу синхронного вивільнення, цей випуск нейромедіаторів зафіксований на час до надходження пресинаптичного спайка (дельта-функція у рівнянні 1).

2.2 Моделювання динамічних синапсів

Багато біофізичних механізмів, що описують синаптичну передачу, є залежними. Наприклад, залишкові підвищення концентрації пресинаптичного кальцію, які зумовлені попереднім потенціалом дії, можуть збільшити ймовірність подальшого вивільнення нейротрансмітера [23]. Збільшення синаптичної реакції на послідовні подразники називається потенціацією. З іншого боку, виснаження бассейну легко вивільних везикул може спричинити зменшення синаптичної реакції на послідовні подразники, які називаються короткочасною синаптичною депресією (щоб відрізнити її від довготривалої синаптичної депресії, ДТД, аналог довготривалої потенціації, ДТП). Пригнічення та підсилення синаптичних відповідей можуть також мати постсинаптичні компоненти. Кумулятивна десенсибілізація постсинаптичних рецепторів може сприяти синаптичній депресії, тоді як збільшена заповнюваність транспортерів може призвести до тривалої присутності молекул нейромедіатора у синаптичній щілині та підсиленням синаптичних реакцій.

Короткочасна синаптична пластичність є головним фактором, що визначає динаміку нейронної мережі [24, 25]. Вона може забезпечувати контроль, лежати в основі механізмів адаптації та виявлення перехідних процесів і являти собою форму короткочасної пам'яті. Характеристики короткочасної синаптичної пластичності залежать від (і можуть бути використані для визначення) типу синаптичного зв’язку в нейронному ланцюзі. Існує велика кількість функціональних наслідків короткої синаптичної динаміки, а саме: часова фільтрація, адаптація припотенціації, декореляція вхідних даних, робоча пам'ять та адаптивна візуальна обробка.

Константи амплітуди та часу синаптичної депресії та потенціації, які можна визначити експериментально, використовуючи шлейфи синаптичних стимулів, є вільними параметрами простих феноменологічних моделей короткочасної синаптичної пластичності. Ці моделі є добрим наближенням короткочасної динаміки багатьох типів синапсів і можуть бути ефективно реалізовані. Ми представляємо тут модель Цодикса та Маркрама. У цій моделі "ресурси" синапсу, що забезпечують синаптичний струм або провідність, можуть існувати в одному з трьох станів: відновлений або спокійний стан із заповненням x; активний або провідний стан, y; і неактивний стан, z. У будь-який момент часу:

$$x + y + z = 1 \tag{2}$$

Четверта змінна стану, u, описує „використання” синаптичних ресурсів у відповідь на потенціал дії пресинаптичної клітини, що надходить у момент $t = t_0$. Його динаміка задається:

$$\frac{du}{dt} = -\frac{u}{\tau_f} + U(1-u)\delta(t-t_0) \tag{3}$$

тож u збільшується на $U(1-u)$ з кожним потенціалом дії і спадає до нуля з постійною часу τ_f. Це u керує динамікою інших трьох змінних стану відповідно до

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= \frac{z}{\tau_r} - ux\delta(t-t_0) \\ \frac{dy}{dt} &= -\frac{y}{\tau_d} + ux\delta(t-t_0) \\ \frac{dz}{dt} &= \frac{y}{\tau_d} - \frac{z}{\tau_r} \end{aligned} \tag{4}$$

де - це τ_r постійна часу відновлення після депресії, а τ_d - постійна часу затухання синаптичного струму або провідності, яка пропорційна y.

Типові спостережувані постійні часу для відновлення становлять від 100 до 1000 мс *in vitro* [26]. Однак постійні часу та величина синаптичної депресії *in vivo* чітко не встановлені. З фоновою активністю синапси вже можуть перебувати в

депресивному стані до початку стимуляції, роблячи депресію менш вираженою, ніж при дослідженні зрізу, для якого фонова активність зазвичай відсутня. Крім того, також відомо, що синаптична депресія також залежить від типу конкретного синаптичного зв'язку та області мозку. Запропоновано також моделі з кратними часовими константами та біофізичні моделі [27].

2.3 Стохастична передача

Синаптична передача за своєю суттю є стохастичною.. Якщо розглянути цей процес з квантової точки зору, то відбувається вивільнення квантів нейромедіатору з везикул у синаптичну щілину з N місць вивільнення з імовірністю P_{rel}. Після вивільнення нейромедіатори зв’язуються з постсинаптичними рецепторами, викликаючи постсинаптичну відповідь із середньою квантовою амплітудою q. Для опису цих трьох аспектів часто використовується біноміальна модель (кількість ділянок викиду N, ймовірність вивільнення P_{rel} та середня квантова амплітуда q). У цій моделі середнє піку постсинаптичних відповідей задається $\mu = qNP_{rel}$, а їх дисперсія - $\sigma^2 = q^2NP_{rel}(1 - P_{rel})$. За всю історію дослідження стохастичної передачі було запропоновано декілька методів, заснованих на біноміальній моделі вивільнення, для виведення параметрів синаптичної передачі. Простий метод покладається виключно на використання середнього значення та дисперсії для отримання оцінок як q, так і P_{rel} шляхом перестановки доданків як $\hat{q} = \frac{\sigma^2}{\mu} + \frac{\mu}{N}$ і $\hat{P}_{rel} = \frac{\mu}{N\hat{q}}$ з урахуванням, що відома кількість місць вивільнення N. Існує більш просунутий метод, який також базується на біноміальній млделі. Це техніка, яка спирається на запис постсинаптичних відповідей за різної вірогідності вивільнення, яку типово встановлюють експериментально шляхом варіювання концентрації позаклітинного кальцію.

Зв’язок між дисперсією та середнім значенням при різних ймовірностях вивільнення апроксимується до параболічної функції, заданої біноміальною моделлю. Оскільки цей метод залежить від точної оцінки середнього та дисперсії постсинаптичних відповідей, він вимагає відносно тривалих та стабільних електрофізіологічних записів.

Однак, використання біноміальної моделі є недоречним за певних умов, а саме: за наявності високого рівня шуму може бути неможливо надійно розділити множинні піки постсинаптичних відповідей. Крім того, методи, описані вище, також покладаються на точкові оцінки, які можуть призвести до неточних висновків через кореляцію параметрів.

2.3 Короткочасна пластичність

Посинаптичні відповіді – динамічні. Пікова амплітуда залежить не тільки від квантових параметрів, але і від попередньої активності. Якщо пресинаптичний нейрон спрацьовує швидко, то звільнені везикули не отримують достатньо часу для переробки, що призводить до зменшення кількості везикул, доступних для вивільнення. Як наслідок, синаптичні реакції стають слабшими, також відомими як короткочасна депресія, і такі показники відновлення часто моделюються з експоненціальним показником з постійною τ_d. У той же час рівень пресинаптичного кальцію може зростати з кожним послідовним стрибком, що може призвести до збільшення постсинаптичної реакції, а не до зменшення - це відоме як короткочасна потенціація.

2.3.1 Детерміновані моделі короткочасної пластичності

Запропоновано ряд детермінованих короткотермінових моделей пластичності, що характеризують динамічні властивості синаптичної передачі. Ці

моделі відносно добре фіксують дані КТП, і, отже, можуть дозволити нам розкрити, як КТП може регулюватися в різних умовах.

Параметри цих моделей зазвичай підганяють за допомогою оптимізації методом найменших квадратів для отримання єдиного набору параметрів (точкових оцінок), де метою є знайти найкращий (або принаймні хороший) набір параметрів, який фіксує даний експериментальний набір даних.

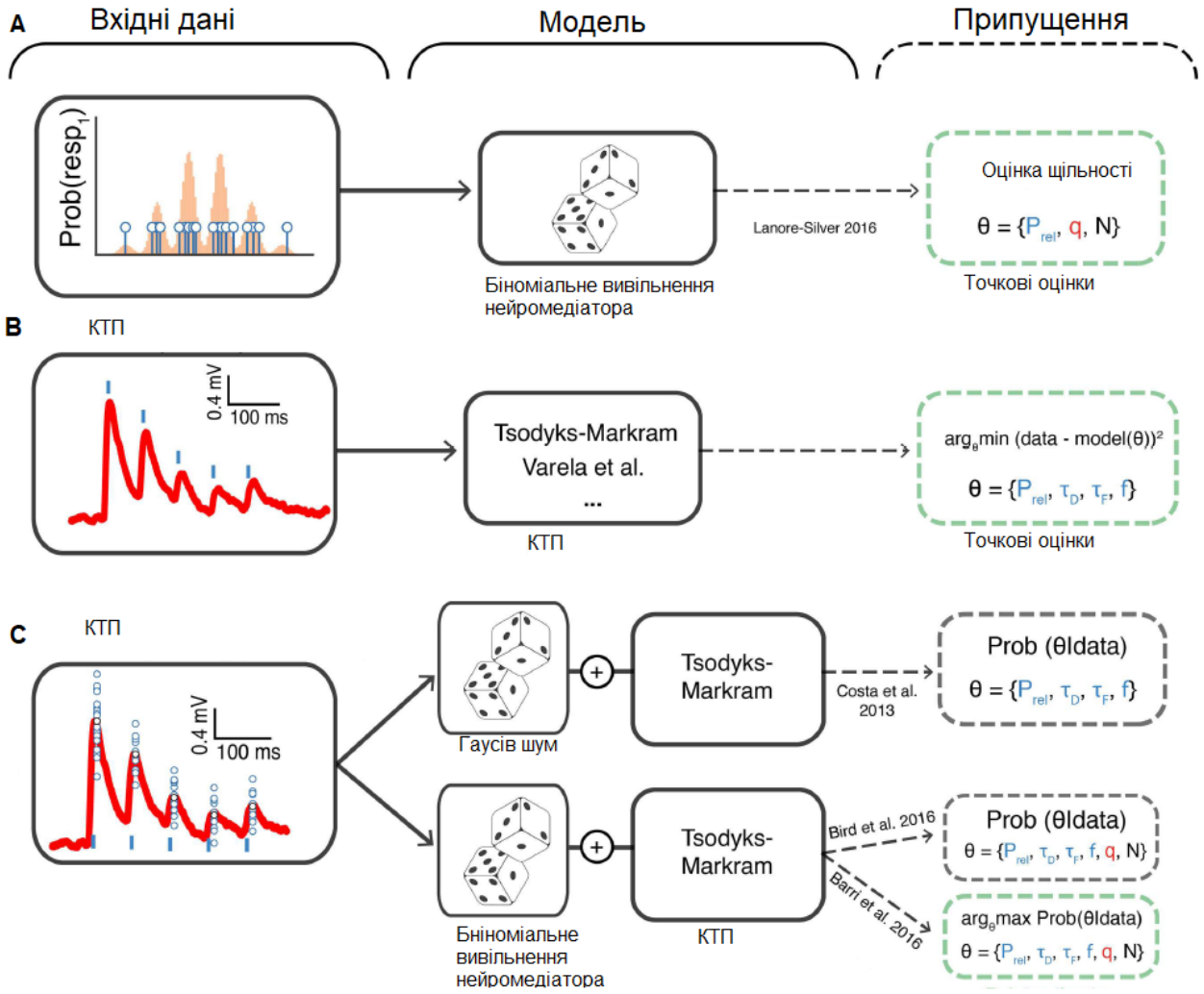

Рис.2.1. Різні підходи до модельного висновку про синаптичну передачу. Різні методи організовані на основі типу експериментальних даних, до яких вони застосовуються (перший стовпець), передбачуваної моделі (другий стовпець) та методу виведення параметрів (третій стовпець; штрихові зелені та сірі поля вказують оцінку балів та повні імовірнісний умовивід відповідно). (A) Методи, що використовують мінливість перших постсинаптичних відповідей для виведення

статистики біноміального вивільнення. (B) Методи, які покладаються на множинні усереднені відповіді, щоб відповідати моделям короткочасної пластичності (STP), які зазвичай відкидають статистику біноміального вивільнення. (C) Методи, що безпосередньо враховують як мінливість, так і множинні синаптичні відповіді, використовуючи теорію ймовірностей для виведення параметрів синаптичної передачі. Тут досліджено два варіанти: (i) байєсівський каркас, де гауссівський шум використовується для моделювання мінливості синаптичної реакції [13] та (ii) каркас, в якому чітко розглядаються статистичні дані про біноміальні викиди ([28];[29]). Пізніше було досліджено з використанням двох варіантів: повного висновку (з використанням вибірки, [28]) та методів оптимізації ([29]).

Адаптовано з [5].

Однак оцінка параметрів моделей КТП є складною. Подібно до проблем, висвітлених вище для біноміальних моделей, у більшості моделей КТП різні набори параметрів дають вихідні дані, які однаково добре відповідають спостережуваній данимінці. Існування цих численних правдоподібних рішень відкриває проблеми, якщо покладатися на точкові оцінки, щоб зробити висновки про основні біологічні механізми. Тому важливо також враховувати невизначеність оцінки параметрів. На відміну від підходів до одноточкових оцінок, повний імовірнісний висновок, природно, фіксує невизначеність параметрів, що дає можливість більш повного порівняння моделі (наприклад, інформаційний критерій Акаїке, інформаційний критерій Байєса або фактор Байєса). Це також можна отримати, в принципі, використовуючи аналіз чутливості або перехресної перевірки при використанні стандартних методів підгонки, але, як зазначено на малюнку, ці методи можуть не забезпечити повного зображення параметра ландшафту.

Однією з форм імовірнісного висновку є повний байєсівський висновок, де, подібно до підходу байєсівського аналізу, прагнуть отримати первинний розподіл параметрів КТП, враховуючи експериментально спостережувані дані.

У роботі [29] автори змоделювали середні реакції постсинаптичного піку, використовуючи модель КТП Цодикса-Маркрама, щоб врахувати динамічні властивості синапсу. Модель КТП - це загальновживана модель, побудована навколо синаптичної динаміки, обговореної вище. Для того, щоб зафіксувати мінливість синаптичних реакцій використовували апроксимацію Гауса як вірогідність та плоский (неінформативний) пріоритет з розумними межами параметрів. Точно розрахувати задню частину часто важко вирішити через складні ймовірності та невідступні нормуючі константи. Натомість Коста отримали первісний розподіл P (θ | D) шляхом вибірки з використанням алгоритму Маркова Ланцюга Монте-Карло (МЛМК). Методи МЛМК покладаються на побудову ланцюга Маркова, який повинен сходитися до бажаного розподілу ймовірностей в рівновазі (тобто, після досить тривалих спостережень).

Цей метод був використаний для вивчення невизначеності параметрів, заданих наборами даних, отриманими за допомогою загальних експериментальних протоколів, які, як правило, базуються на регулярних колосових поїздах. Задні розподіли показали, що деякі параметри моделей STP Цодикса-Маркрама були погано обмежені такими експериментальними протоколами. Це спостереження призвело до пропозиції нових та нерегулярних експериментальних протоколів, які охоплюють ширший діапазон частот стимуляції та призводять до істотно зниженої невизначеності щодо значень параметрів. Такі протоколи не тільки призводять до зменшення невизначеності, але їх також легше застосовувати в реалістичних та природних умовах [30].

Крім того, отримання заднього розподілу допомагає зрозуміти залежності між параметрами, що не є простим при використанні традиційних методів підгонки. Наприклад, у [31], автори використовували метод МЛМК для отримання заднього розподілу за параметрами, що дозволяє авторам виділити два сильно корельовані параметри. Важливо, що ідентифікація цієї кореляції призвела до репараметризації моделі, яка покращила умовивід параметрів. Отже, отримання початкового розподілу дозволяє охарактеризувати невизначеність та дослідити

можливі залежності між параметрами. Такі методи МЛМК відносно ефективні, якщо модель може бути ефективно обчислена (до декількох секунд), а кількість параметрів КТП залишається відносно низькою (менше декількох десятків).

2.3.2 Стохастична короткочасна пластичність

Є два важливі обмеження покладанні на детерміновані моделі КТП. По-перше, оптимізація залежить від точної оцінки середніх синаптичних відповідей. Як зазначалося вище, для цього потрібна велика кількість випробувань, що є складною експериментальною задачею [32]. По-друге, враховуючи лише середні показники, ці методи ігнорують кореляцію між постсинаптичними піками, проте ця кореляція може надати цінну інформацію для точного опису синаптичних властивостей. Кілька недавніх досліджень представили методи, які враховують це. Вони дозволяють отримувати як квантові, так і динамічні параметри синаптичної передачі з послідовностей постсинаптичних відповідей без необхідності усереднення. У цих дослідженнях були застосовані стохастичні моделі синаптичної передачі шляхом поєднання феноменологічних моделей КТП Цодикса-Маркрама з біноміальними моделями везикулярного вивільнення та поповнення [33, 34].

Ймовірність вивільнення везикул визначається за моделлю Цодикса-Маркрама, а ймовірність поповнення - процесом Пуассона, керованого параметром постійної часу депресії τ_D. Квантовий розмір постсинаптичної відповіді, викликаної кожною везикулою, може бути апроксимований або гамма розподілом у Bird et al. (2016), або зворотним розподілом Гауса у Barri et al. (2016), а загальна амплітуда моделюється як лінійна комбінація цих розподілів. Вибір цих розподілів мотивований тим, що розподіл квантової амплітуди є позитивний нахил, який неможливо охопити гаусовим розподілом.

2.3.3 Ретроградна сигналізация один із механізмів короткочасної пластичності синапсів

Важливою формою короткочасної пластичності є швидка регуляція ефективності синаптичної передачі, яка здійснюється шляхом ретроградної сигналізації. Термін «ретроградна сигналізація» означає явища, в основі яких лежить механізм зворотного зв'язку: зміни в постсинаптичному нейроні індукують вироблення сигналу, який передається назад (ретроградно) на пресинапс і викликає зміни ефективності його роботи. Таким чином, ретроградна сигналізація являє собою інструмент, за допомогою якого постсинаптичні нейрони забезпечують ефективний контроль над сигналами від пресинапсу. У збуджених і інгібіторних синапсах нервової системи хребетних один з основних принципів ретроградної синаптичної модуляції здійснюється через ендогенну канабіноїдну систему. В експериментах на клітинах Пуркіньє зрізів мозочка, а потім на пірамідних нейронах поля CA1 зрізів гіпокампу було показано, що деполяризація постсинаптичного нейрона викликає зворотнє пригнічення ГАМК-ергічних синаптичних сигналів, що триває протягом декількох десятків секунд. Подальший аналіз встановив три важливих властивості DSI: а) індукується постсинаптично; б) запускається в результаті підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} в постсинаптичному нейроні і в) проявляється як придушення викиду нейромедіатора з пресинаптичних закінчень. Передбачалося, що в основі явища DSI лежить ретроградний фактор, який виробляється в постсинаптичному нейроні у відповідь на підвищення Ca^{2+}. Кілька лабораторій навели докази, що Ca^{2+} -індуціруемим ретроградним фактором, що виділяється з постсинаптических нейронів, є ендоканнабіноіди ендогенно продуктовані молекули похідні арахідонової кислоти. В даний час передбачається існування декількох ендоканнабіноідов, однак найбільш строго доведеними і вивченими є два:

анандамід (АНА) і 2-арахідоноілгліцерін (2-АГ). У центральній нервовій системі ссавців, мабуть, найбільш функціонально поширеним є 2-АГ. Встановлено, що основним биосинтетическим ферментом 2-АГ є диацилглицерол ліпаза-альфа (DGL-б). Передбачається наступний ланцюжок подій, що призводять до ретроградної модуляції викиду нейромедіатора з пресинаптичного закінчення. Підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} в деполярізованому постсинаптичному нейроні призводить до синтезу ендоканнабіноідов, їх виходу з пресинаптичної мембрани, дифузії через синаптичну щілину і подальшої активації канабіноїдних рецепторів, розташованих на пресинаптичної мембрани (рис. 4). Активація цих канабіноїдних рецепторів веде до зменшення зростання концентрації Ca^{2+}, яке стимулюється, в пресинаптическом закінченні і в кінцевому підсумку до зменшення викиду нейромедіатора. Розглянемо два типи канабіноїдних рецепторів (КР1 і КР2). Вони належать до G-білок пов'язаних рецепторів. У клітинах центральної нервової системи виявлені в основному КР1, які експресуються переважно на пресинаптичних аксоних закінченнях. Кількісні оцінки числа цих рецепторів: пресинаптичні термінали ГАМК-ергічних синапсів гіпокампу містять до 450 канабіноїдних рецепторів.

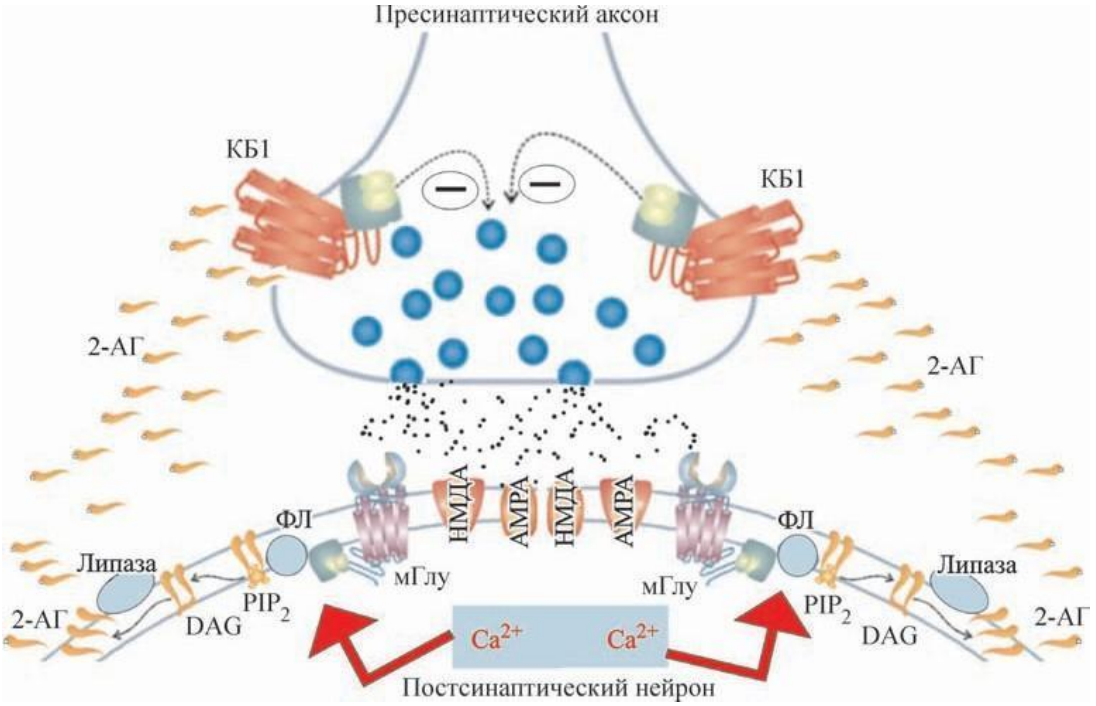

Рис.2.2. Схема ретроградної модуляції синаптичної передачі в глутуматергічному синапсі.

Глутамат, який виділяється з постсинаптичного аксона, активує рецептори на постсинаптичні мембрані, включаючи розташовані в постсинаптичної області метаботропні глутаматні рецептори (МЛУ). Це стимулює через G-альфа субодиниці активацію фосфоліпази С (ФО) та подальше зростання виникнення діацілгліцерола (DAG), який конвертується діацілгліцеролліпазой (Ліпаза) в 2-АГ. 2-АГ, який утворився, досягає постсинаптичної мембрани і взаємодіє з канабіноїдними рецепторами (КБ1). Постсинаптичний Ca^{2+} також може стимулювати виробництво 2-АГ стимуляцією фосфоліпази С (ФО) або іншими шляхами. Зростання Ca^{2+} може здійснюватися при активації кальцієвих каналів або НМДА-рецепторів. На постсинаптичній мембрані КБ1 рецептори інгібують аденілатциклазу і пригнічують активність протеїн кінази А. В результаті стимульоване зростання Ca^{2+} в пресинаптичному закінченні зменшується і відзначається зниження викидів квантів нейромедіатора.

Молекулярна архітектура, що лежить в основі цього механізму, виявилася висококонсервативною в різних типах синапсів. Гальмування синаптичної передачі, яке ретроградно индуцирують ендоканнабіноіди, було показано для ГАМК-ергічних, глутаматергіческіх і гліцинергічними синапсів. Таким чином, цей вид синаптичної пластичності - поширене явище в нервовій системі хребетних. Ендоканнабіноіди синтезуються в стимульованих нейронах «за потребою» («on demand») і за принципом негативного зворотного зв'язку виконують захисну функцію від сверхактівацiі викиду нейромедіатора з ресінаптіческого закінчення і сильного зростання активності синапсу. Дослідження дозволили виявити зв'язок між мікродоменною організацією дендритних шипиків і ретроградної модуляцією синаптичної передачі. Виявилося, що важливу роль в ретроградній сигналізації грають метаботропні глутаматні рецептори (мГлуР) і диацилглицерол ліпаза. Як уже зазначалося, мГлуР на відміну від АМПА і НМДА розташовуються пересинаптично, тобто поза зоною ПСП. Кількісні нейроанатомичні

спостереження показали, що метаботропні глутаматні рецептори першого типу (мГлу1) і диацилглицерол ліпаза проявляють закономірну постсинаптичну колокалізацію.

Обидва білка знаходяться пересинаптично в районі приблизно 100 нанометрової зони навколо постсинаптичної щільності. Більш того, обидва білка мають домени взаємодії з одним і тим же «арматурним» білком - HOMER. Ці дані дозволили припустити наступний сценарій ретроградної модуляції ендоканнабіноідов). Глутамат, який дифундує після виділення з пресинаптичного закінчення, взаємодіє з рецепторами, які через G-білкову систему активують діацілгліцеролліпазу і стимулюють синтез 2-АГ. Ендоканнабіноід, який синтезується таким чином, перетинає синаптичну щілину і взаємодіє з пресинаптичними КБ1-рецепторами. Їх активація викликає зменшення входу Ca^{2+}, який стимулюється, в пресинаптичне закінчення і зменшення везикулярного викиду нейромедіатора.

2.3.4 Пластичність синапсів і цитоскелету

Дослідження фізіології збудливих синапсів виявили дивовижну рухливість глутаматних рецепторів. Крім механізму вбудовування та інтерналізації глутаматних рецепторів в останні роки були виявлені швидкі латеральні обміни AMPA-рецепторами між областю ПСП і внесінаптичною зоною. Виявилося, що швидкість латеральної рухливості корелює з локальної активністю роботи синапсу. Було показано, що короткочасне різке підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca2 + (uncaging) зменшує латеральну рухливість екстрасінаптіческіх AMPA-рецепторів, в той час як зниження внутрішньоклітинної концентація Ca2 + (хілатірованіе) призводить до зростання рухливості. Більш того, було показано, що фармакологічні стимули, які імітують тривалу потенціацію, зменшують швидкість латеральної дифузії, а стимули, що викликають тривалу депресію, призводять до збільшення рухливості рецепторів в синаптичної зоні. Передбачається, що Ca^{2+}

-залежна зміна стану цитоскелета в дендритах і шипики є одним з ключових факторів, що впливають на латеральну рухливість рецепторів.

Основним цитоскелетним білком в дендритних шипіках є актин. Він виконує дві важливі функції: як основний каркас механічної стабільності шипиків і як «арматурний» білок, до якого «заякорюють» багато інших білків ПСП. Актин існує в двох формах, які перебувають в динамічній рівновазі: G-актин мономерна лобулярная форма і F-актин філаменти, що складаються з різного числа мономерів актину. Ця рівновага модулюється декількома актин-зв'язуючими білками. Деякі з них, наприклад коффілін (coffilin), стимулюють деполимеризацию F-актину; інші, наприклад профілін (profilin), сприяють полімеризації, подовженню актиновых филаментов. Передбачається, що структура шипиків залежить від стану актину і регулюється завдяки координованої активності актин-зв'язуючих білків.

Підставою для цих припущень є результати робіт, виконаних за допомогою вдосконалених методів флуоресцентної мікроскопії, особливо двофотонної, в поєднанні з використанням генетично кодованих флуоресцентних зондів. Вони дозволили візуалізувати процеси морфологічних змін дендритних шипиків в живій тканині в реальному процесі часу. Було виявлено, що в залежності від характеру стимуляції індивідуальні синапси можуть змінювати морфологію і посилювати або зменшувати силу синаптичної передачі за періоди часу від секунд до десятків годин. Було показано, що стимуляція, що викликає тривалу потенціацію, призводить до збільшення обсягу головки шипиків, і це супроводжується підвищенням формування актиновых филаментов (рис. 3).

Протокол, що викликає тривалу потенціацію локально в районі одного дендритного шипика, приводив швидкого збільшення його обсягу (за 20 с), який досягав максимуму приблизно за 60 с (рис. 3, А). Зміна розмірів шипиків зберігалася як мінімум протягом години. Більш того, було показано, що руйнування актиновых филаментов деполімеризовани агентами запобігає рухливості шипиків і експресії тривалої потенціації, хоча не блокує короткочасну потенціацію. Прямий доказ залучення актинового цитоскелету в синаптичну

пластичність було отримано за допомогою флуоресцентного аналізу, що дозволяє візуалізувати F-актин / G-рівновагу. Було показано, що локальна тетанічна стимуляція (протокол тривалої потенціації) викликає швидкий зсув рівноваги в бік F-актину, що супроводжується збільшенням головки шипика. І навпаки, протокол, що викликає тривалу депресію, приводив до зрушення рівноваги в бік G-актину. Ці дослідження дають підставу припускати, що актиновий цитоскелет є необхідним як для функціональної, так і для структурної довготривалої пластичності синапсу. Серед багатьох молекул, залучених в синаптичну активність, одним з найбільш важливих компонентів тривалої потенціації є кальцій-калмодулін-залежна кіназа CaMKII. Виявилося, що інгібування цієї серин-треонінової кінази блокує тривалу потенціацію, а ін'єкція її активної форми призводить до збільшення синаптичних відповідей, що генеруються через АМПА-рецептори, і викликає оклюзію тривалої потенціації. CaMKII також залучена в структурну пластичність шипиків. Вхід Ca^{2+} через НМДА-канали та CaMKII викликали тривалу фазу збільшення розмірів шипиків. У той же час низькочастотна стимуляція, що викликає тривалу депресію синаптичної передачі, приводила до зменшення обсягу шипиків. Було також показано, що інгібітори CaMKII запобігають індуктованому глутаматом збільшенню дендритних шипиків, і цей процес походить внаслідок регуляції CaMKII стану актинового цитоскелету. Таким чином, фізіологічно пластичність збуджуючих синапсів безпосередньо пов'язана з морфогенезом, зміною актинового цитоскелета і функціональним станом дендритних шипиків.

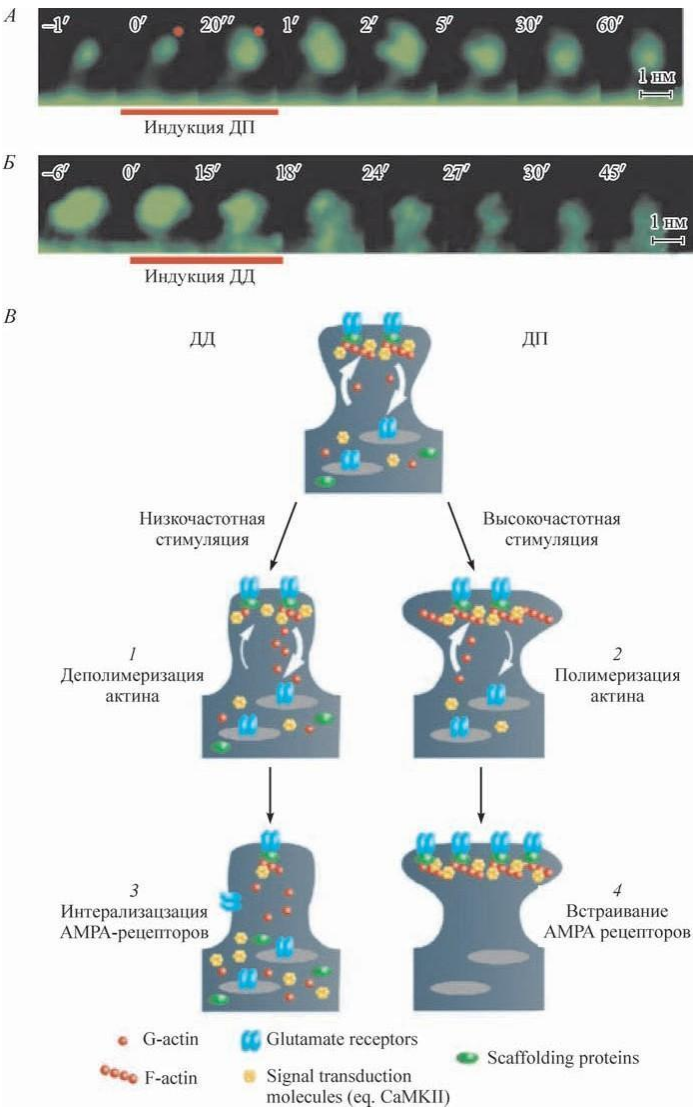

Рис.2.3. Цитоскелет і структурна пластичність дендритних шипиків.

А, Б візуалізація GFP-актину в дендритах за допомогою 2-фотонної мікроскопії. Дендритні шипики збільшуються в розмірах при протоколі тривалої потенціації (А) і зменшуються в розмірах при протоколі тривалої депресії (Б); У схема основних перетворень при тривалій потенціації і депресії.

Короткочасна високочастотна стимуляція (протокол тривалої потенціації) викликає зсув рівноваги в бік F-активна (праворуч). Збільшення актиновых филаментов призводить до збільшення розмірів шипика (2), зростанню числа місць для взаємодії з іншими білками, в будові нових рецепторів в постсинаптичесну мембрану і підвищенню структурної організації компонент ПСП (4). Навпаки, тривала низькочастотна стимуляція (протокол тривалої депресії) призводить до зсуву рівноваги в бік G-актину (зліва). При цьому

відбувається деполимеризация актиновых филаментов, зменшення розмірів шипиків (1), зменшення числа АМПА-рецепторів в постсинаптичні мембрані (3) і зниження структурної організації компонент ПСП.

2.4. Синаптичні постійні часу для АМПА, НМДА та ГАМК$_A$

Константи часу синаптичної провідності сильно варіюються серед типів синапсів. Однак можна виділити деякі загальні тенденції та типові значення. По-перше, синаптична кінетика має тенденцію до прискорення під час еволюції в часі. По-друге, вона стає значно швидшою із збільшенням температури. Це особливо важливо, оскільки температура залежить від різних процесів, що беруть участь у синаптичній передачі (дифузія нейротрансмітера, кінетика рецепторів, одноканальна провідність тощо). За аналогією з потенціал-керованими каналами, температурну залежність можна апроксимувати коефіцієнтом Q_{10}, який описує прискорення з кожними 10 градусами підвищення температури.

$$Q_{10} = \left(\frac{R_2}{R_1}\right)^{10/(T_2 - T_1)} \tag{5}$$

де R - це швидкість проходження реакції для станів 1 та 2. T - температура в станах 1 та 2.

Зокрема, температурна залежність синаптичної кінетики, як правило, крута, з Q_{10} близько 2–3. Подальше ускладнення виникає через те, що Q10 різних переходів на діаграмі стану може змінюватися, так що рівномірне масштабування всіх констант часу не є доцільним.

Опосередковані рецепторами АМПА збуджувальні постпинаптичні струми при глутаматергічних синапсах є одними з найшвидших синаптичних струмів, але оскільки різні типи нейронів експресують різні підтипи АМПА-рецепторів, спостерігається ряд констант часу. Найшвидші збуджувальні постпинаптичні

струми, опосередковані рецепторами АМРА, виявлені в слуховій системі, де τ_d = 0,18 мс у мозку ядрі курчат. Збуджуючі синапси на інтернейрони в корі та гіпокампі також, як правило, мають швидкий компонент АМПА (τ_r = 0,25 мс та τ_d = 0,77 мс). Синапси на пірамідальних нейронах, як правило, мають більш повільні компоненти АМПА (τ_r = 0,2 мс і τ_d = 1,7 мс у пірамідальних нейронах неокортикального шару 5).

Опосередкований рецептором НМДА компонент збуджувального постпинаптичного струму, як правило, на порядок повільніший, ніж опосередкований рецептором АМПА компонент. Повільна швидкість зв'язування глутамату з рецептора НМДА робить НМДА більш чутливим до глутамату і змушує глутамат довше перебувати на рецепторі, збільшуючи час відкритого стану каналу. Константи часу спадання при майже фізіологічній температурі коливаються від 19 мс до 26 мс і до 89 мс у пірамідних клітинах. Подібним чином час зростання для НМДА, який становить близько 2 мс, є повільнішим, ніж час зростання АМПА. Зворотній потенціал як опосередкованих рецепторами АМПА, так і НМДА, як правило, становить близько 0 мВ у фізіологічних умовах.

Синапси часто містять як рецепторами АМПА, так і НМДА у певному співвідношенні. Однак існують також синапси, що містять лише рецептори НМДА, так звані "мовчазні" синапси. Вони мають незначний синаптичний струм або потенціал спокою, оскільки рецептори НМДА блокуються магнієм. Кілька типів синапсів - це синапси, що містять лише рецептори АМПА під час розвитку.

Гальмівні постсинаптичні струми, опосередковані рецепторами $ГАМК_A$, як правило, спадають повільніше, ніж відповідні струми для АМПА. Зворотні потенціали опосередкованих рецептором $ГАМК_A$ провідностей змінюються з розвитком та активністю.

Експериментально точне вимірювання синаптичних струмів і констант часу є складним, оскільки напругу в дендритах важко контролювати, що призводить до завищення констант часу наростання і затухання синаптичної провідності в

дистальних дендритних місцях. Тому слід подбати про те, щоб мінімізувати це шляхом оптимізації умов запису з невеликих (тобто, електрично компактних) комірок, або використання технік аналізу, що забезпечують неупереджену оцінку постійної часу затухання синаптичної провідності.

2.5 Методи дослідження

2.5.1 Методика «patch-clamp» у конфігурації «whole-cell»

Метод «patch-clamp» є універсальним електрофізіологічним інструментом для вивчення поведінки іонних каналів. Кожна клітина має іонні канали, але найпопулярніші клітини, які досліджують за допомогою цієї методики, включають нейрони, м’язові волокна, кардіоміоцити та ооцити, що надмірно експресують одиночні іонні канали. Для оцінки провідності одиночного іонного каналу мікроелектрод утворює з клітинною мембраною контакт з високим опором, а ділянка клітинної мембрани, що містить іонний канал, видаляється. Як варіант, поки мікроелектрод герметично прилягає до клітинної мембрани, мембрана клітини на місці контакту може бути розірвана, що забезпечує електроду доступ до всієї клітини. Подальший протокол дій залежить від режиму в якому працює установка. Існує два основні режими в конфігурації «whole-cell». Режими фіксації струму та потенціалу. Протоколи відрізняються лише на етапі електричної стимуляції клітини. За першої конфігурації подається струм і вимірюється напруга, за другої - навпаки. Ці методи дозволяють дослідникам зрозуміти, як іонні канали поводяться як у нормальному, так і в патологічному стані, і як різні препарати, іони або інші аналіти можуть модифікувати ці умови.

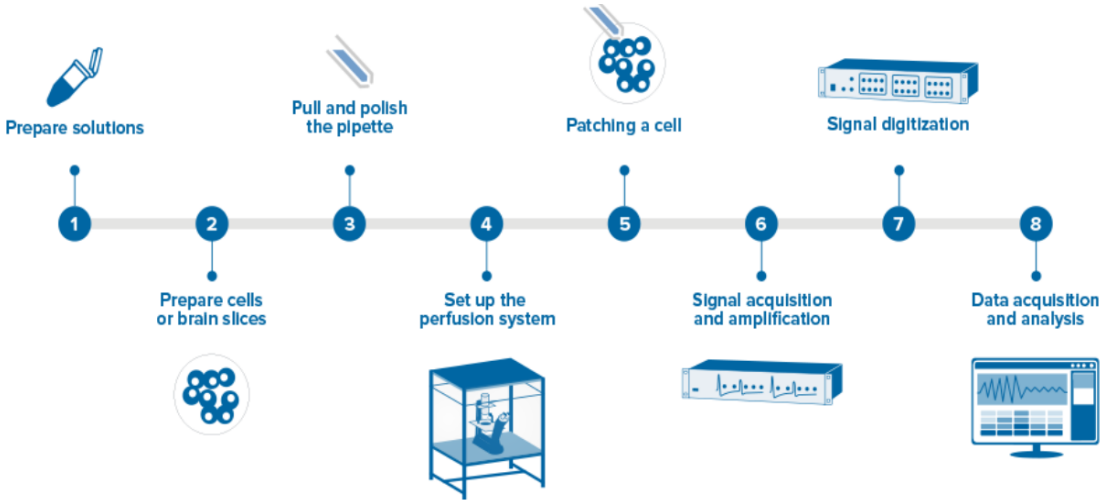

Рис.2.4. Схематичне зображення методу

1. Підготовка внутрішньо- та зовнішньоклітинного розчинів. Регулювання осмолярністі та значення pH.

2. Підготовка досліджувальних зразків, таких як: культивовані клітини, ізольовані нейрони, зрізи мозку або цілі тварин.

3. Витягування піпетки та підготовка реєструючого електрода.

4. Налаштування системи перфузії та програмного забезпечення для збору даних.

5. Створення контакту з клітиною за допомогою маніпулятора, щоб торкнутися піпеткою клітинної мембрани. Перевірка, за допомогою установи, встановлення гігаомного контакту з клітиною.

6. Запис та підсилення сигналу - сигнал буде підсилюватися. Для досягнення найкращих результатів необхідно переконатися, що використовується правильний тип підсилювача для досліджень.

7. Оцифровка сигналу. Потім аналоговий сигнал оцифровується, щоб сигнал можна було проаналізувати.

8. Збір та аналіз даних. За допомогою програми pCLAMP 11 Software Suite можна запрограмувати довші та складніші протоколи для швидшого аналізу даних та точних вимірювань.

Техніка затискання цільної клітини включає скляну мікропіпетку, що утворює щільне ущільнення гігаом (ГΩ) з клітинною мембраною. Ця мікропіпетка містить срібний дріт, поміщений в розчин електроліту для проведення іонів. Ділянка мембрани згодом розривається прекладенням негативного опору, так що скляна мікропіпетка забезпечує низький опір доступу до цілої клітини, що дозволяє досліднику контролювати трансмембранну напругу і оцінювати суму всіх струмів через мембранний іон канал.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Моделювання синаптичної передачі *in vitro*

Використовуючи Jupyter Notebook 6.4.0 на мові програмування python було змодельовано динаміку синаптичної передачі між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла.

Для побудови графіка ймовірності використовувалася формула (4) з взятими з експериментальної бази відділу «Фізіології нейронних мереж» Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця постійними часу спаду та зростання для АМПА, НМДА та ГАМК струмів. Ці значення відповідно становили: АМПА ($\tau_{зр}$ = 1,7 мс, $\tau_{сп}$ = 3,6 мс), НМДА ($\tau_{зр}$ = 4,6 мс, $\tau_{сп}$ = 45,2 мс), ГАМК ($\tau_{зр}$ = 4,3 мс, $\tau_{сп}$ = 48,3 мс). Отримані результати моделювання представлені на рис.3.1, 3.2, 3.3.

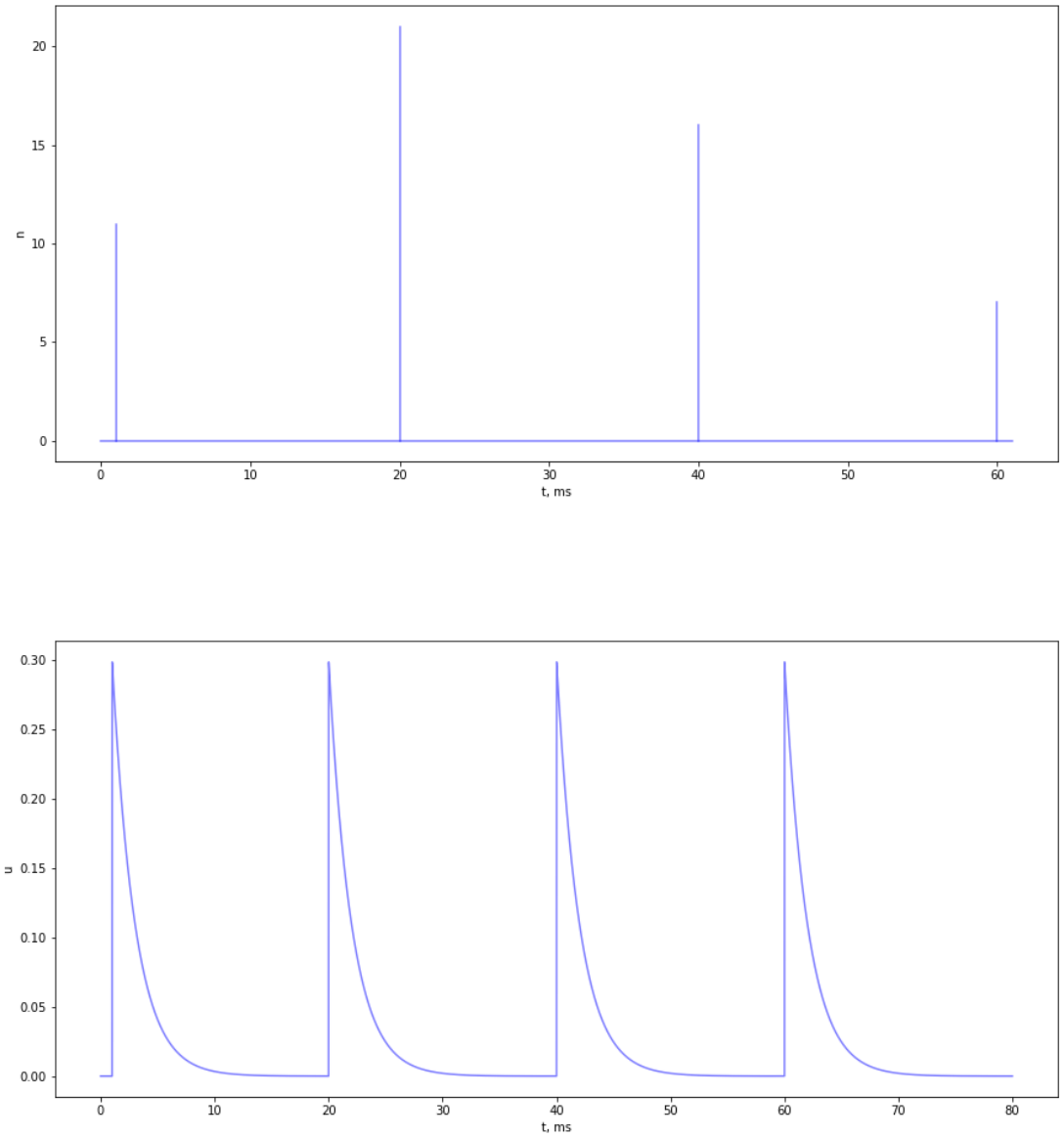

Рис.3.1. Чисельне моделювання моделі КТП. Проміжок складається з 4 потенціалів дії. (Верхній графік) Кількість вивільнених везикул відповідно до біноміального розподілу. (Нижній графік) Динаміка ймовірності вивільнення для АМПА струмів.

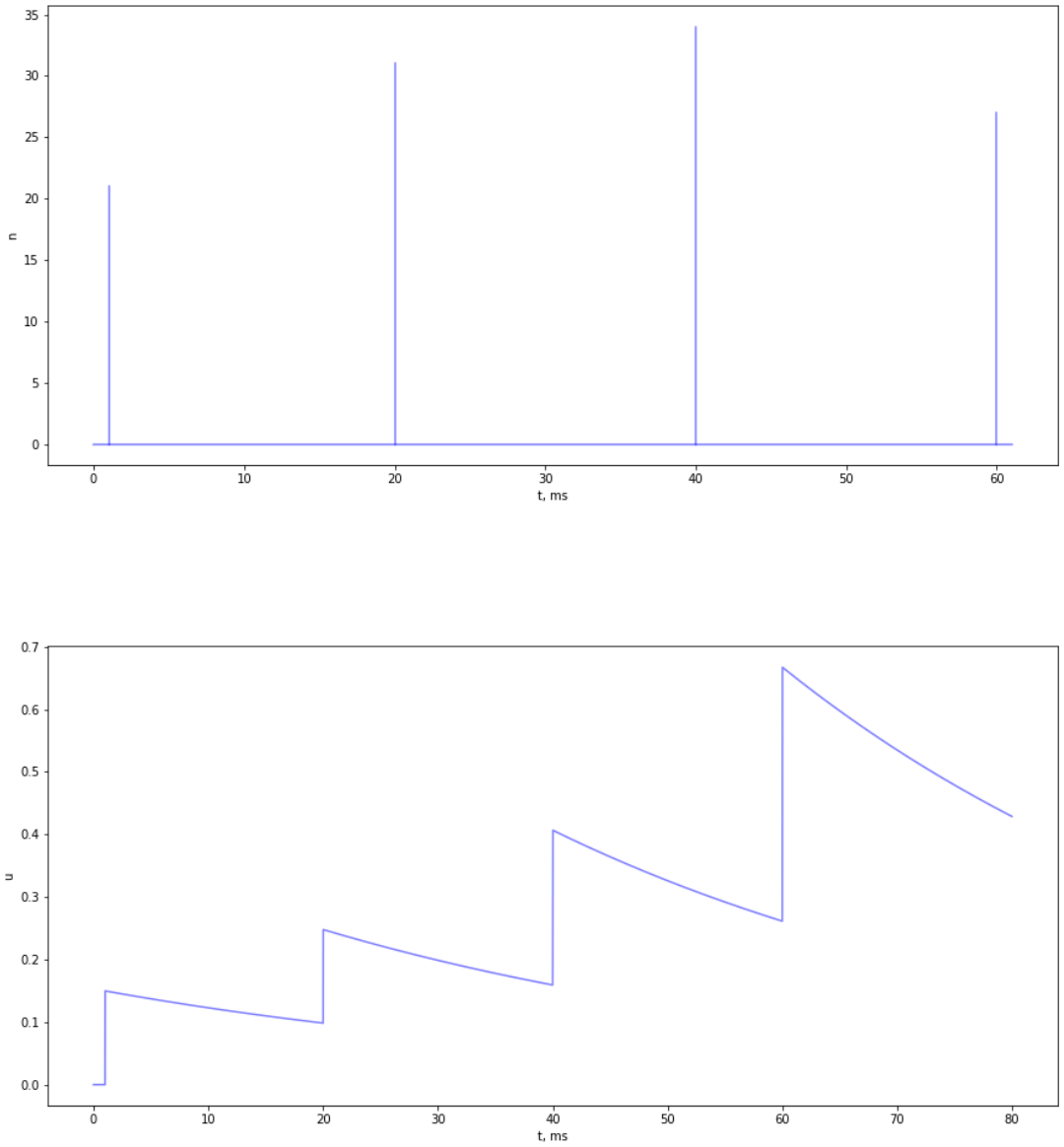

Рис.3.2. Чисельне моделювання моделі КТП. Проміжок складається з 4 потенціалів дії. (Верхній графік) Кількість вивільнених везикул відповідно до біноміального розподілу. (Нижній графік) Динаміка ймовірності вивільнення для НМДА струмів.

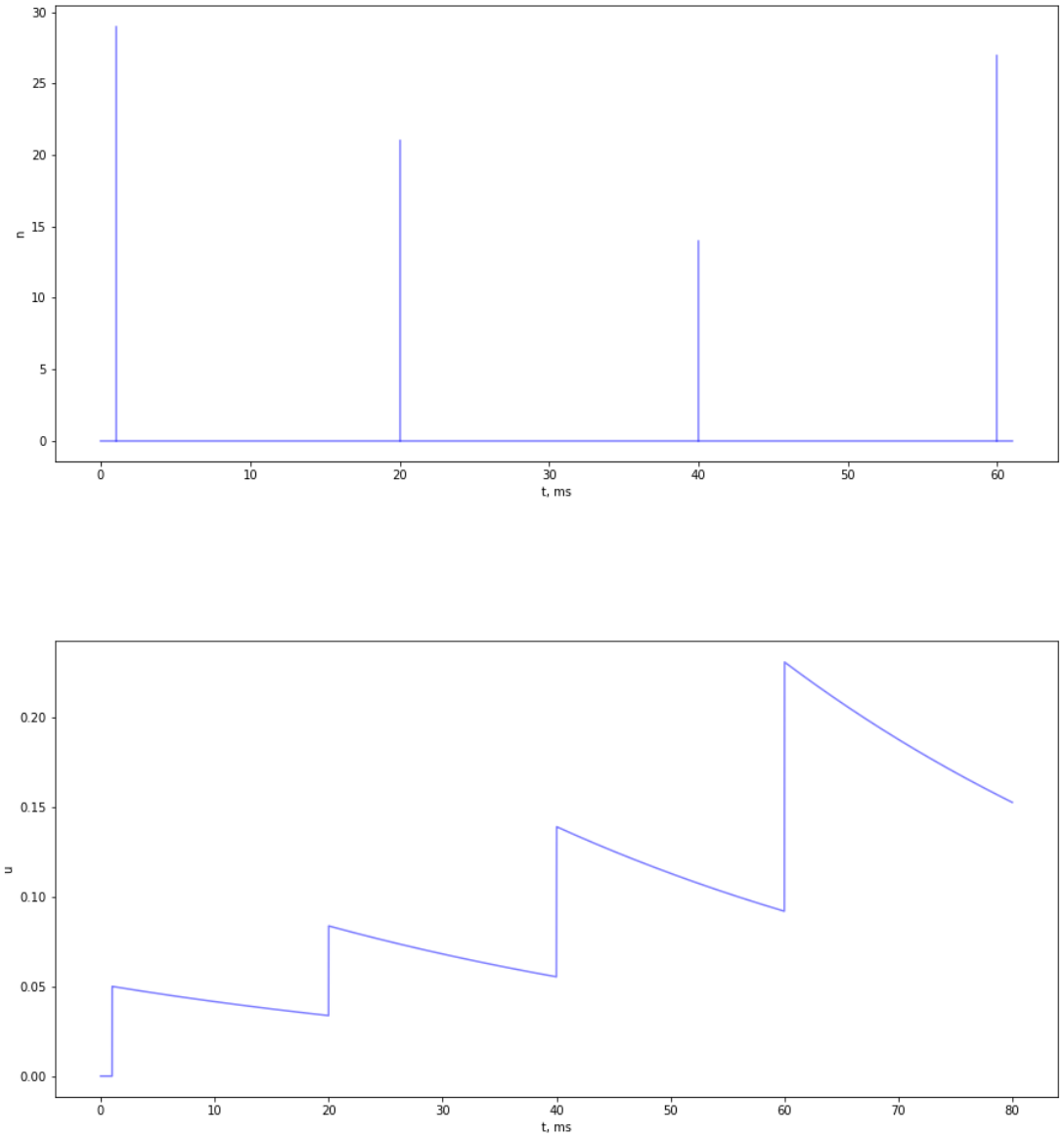

Рис.3.3. Чисельне моделювання моделі КТП. Проміжок складається з 4 потенціалів дії. (Верхній графік) Кількість вивільнених везикул відповідно до біноміального розподілу. (Нижній графік) Динаміка ймовірності вивільнення для ГАМК струмів.

Для кількісного опису обраної моделі короткочасної пластичності (КТП Цодикса-Маркрама та біноміальне вивільнення) було запрограмовано рівняння (3) для опису динаміки зміни ймовірності вивільнення нейромедіатору впродовж

експерименту, та кількість сайтів вивільнення, яка є одним з параметрів біноміальної моделі.

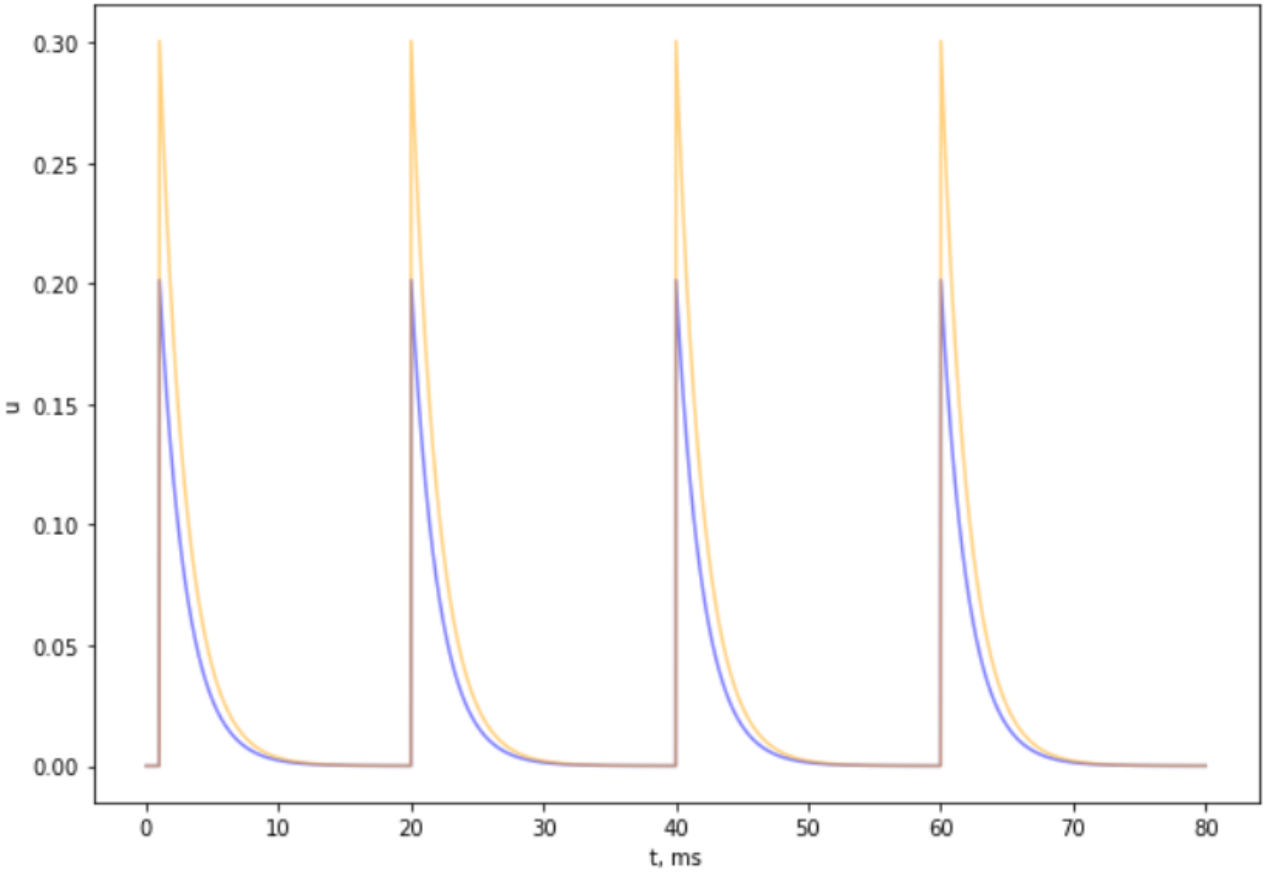

Рис.3.4. Динаміка ймовірності вивільнення для АМПА струмів для двох значень U (0,3 - жовтий та 0,25 - синій).

Програмній код було написано на мові програмування python з використанням таких пакетів як: matplotlib, numpy, scipy, тощо. Потенціали дії надходили у 1, 20, 40 та 60 мс.

Розв’язок диференціальних рівнянь відбувався за допомогою функції odeint із завчасно заданими початковими умовами.

Код подано в Додатку 1.

3.1.1. Комп’ютерне моделювання короткочасної потенціації

Проведено комп’ютерне моделювання короткочасної потенціації при збуджувальній нейропередачі між гангліозними клітинами сітківки та нейронами верхнього чотиригорбикового тіла опосередкованій вивільненням глутамата та активацією НМДА- та АМПА- рецепторів на постсинаптичній клітині.

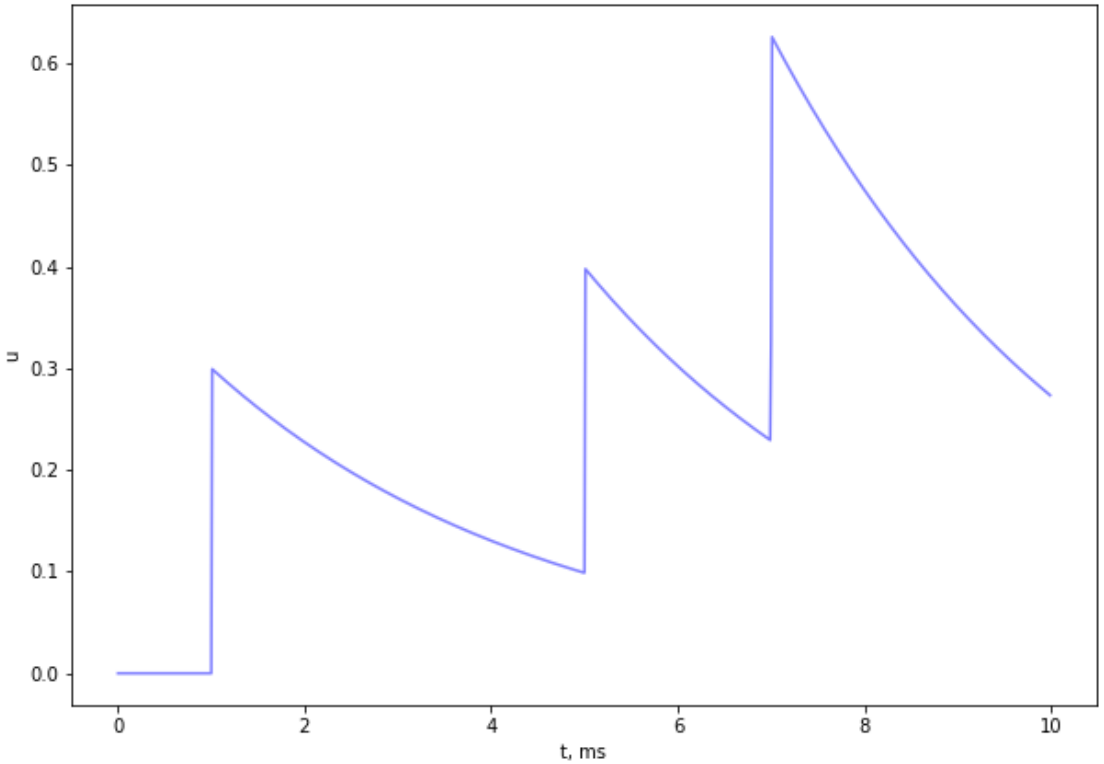

Рис.3.5. Чисельне моделювання короткочасної потенціації для АМПА струму. Динамічна зміна у часі ймовірності вивільнення

Потенціали дії надходили до клітини у моменти часу t = 1; 5; 7 мс. Код подано в Додатку 1.

На графіку можно чітко побачити збільшення результуючої амплітуди ймовірності. Це пояснюється тим, що, після надходження потенціалу дії, клітині необхідний певний час для відновлення і якщо подати стимуляцію раніше, ніж закінчиться рефрактерний період, відбудеться підсилення потенціалу дії. варто зазначити, що амплітуда окремого потенціалу дії є сталою величиною для кожної

окремої клітини. Це було змодельовано за рахунок збільшення частоти потенціації.

3.2 Чисельне моделювання ймовірностей переходів між станами під час синаптичної передачі

Сумарна ймовірність знаходження в якомусь з цих станів завжди дорівнює 1, але окремі ймовірності мають часову залежність. При проходженні потенціалу дії ймовірність активного стану дорівнює 1, а інші дві зануляються. Якщо ж запаси нейромедіатора повністю відновлені, і клітини не мають спонтанної активності, то ймовірність перебування в стані спокою прямує до 1, а відповідно ймовірності активного та інактивованого станів - до 0. Це можно побачити на рис.3.6 - 3.8 для АМПА, НМДА та ГАМК струмів.

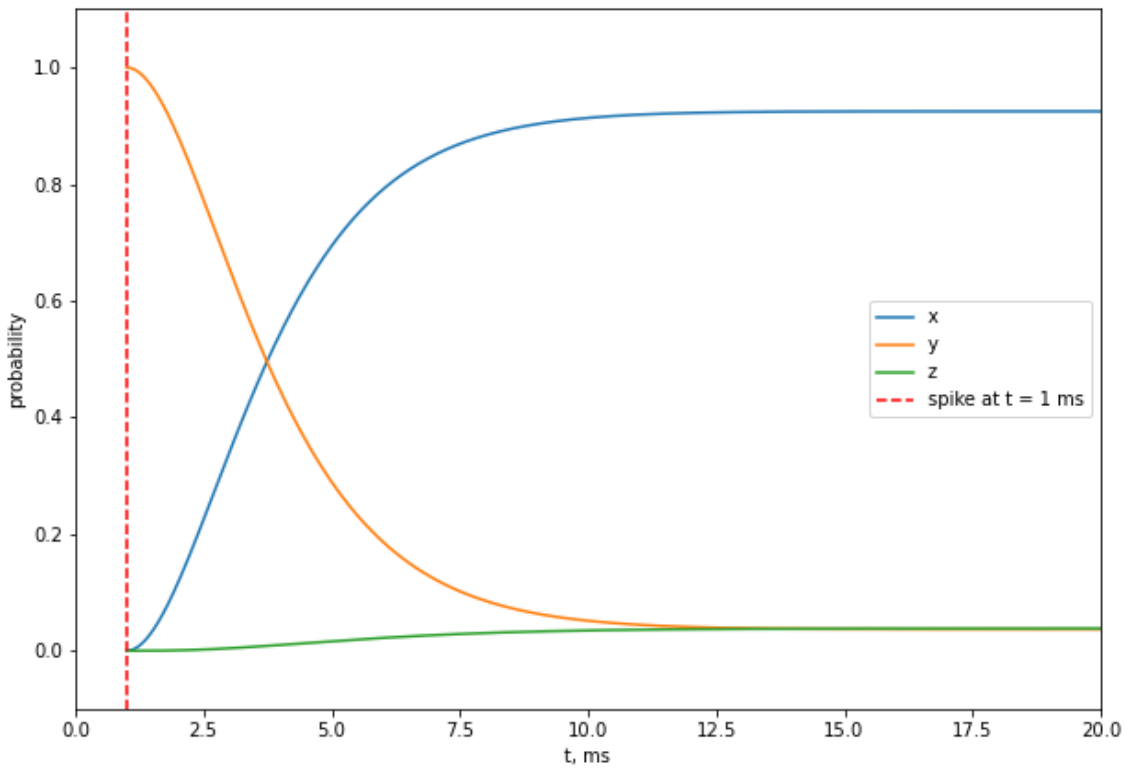

Рис.3.6. Чисельне моделювання синаптичної передачі. Ймовірності переходів між активним, інактивованим станами та станом спокою для АМПА струму.

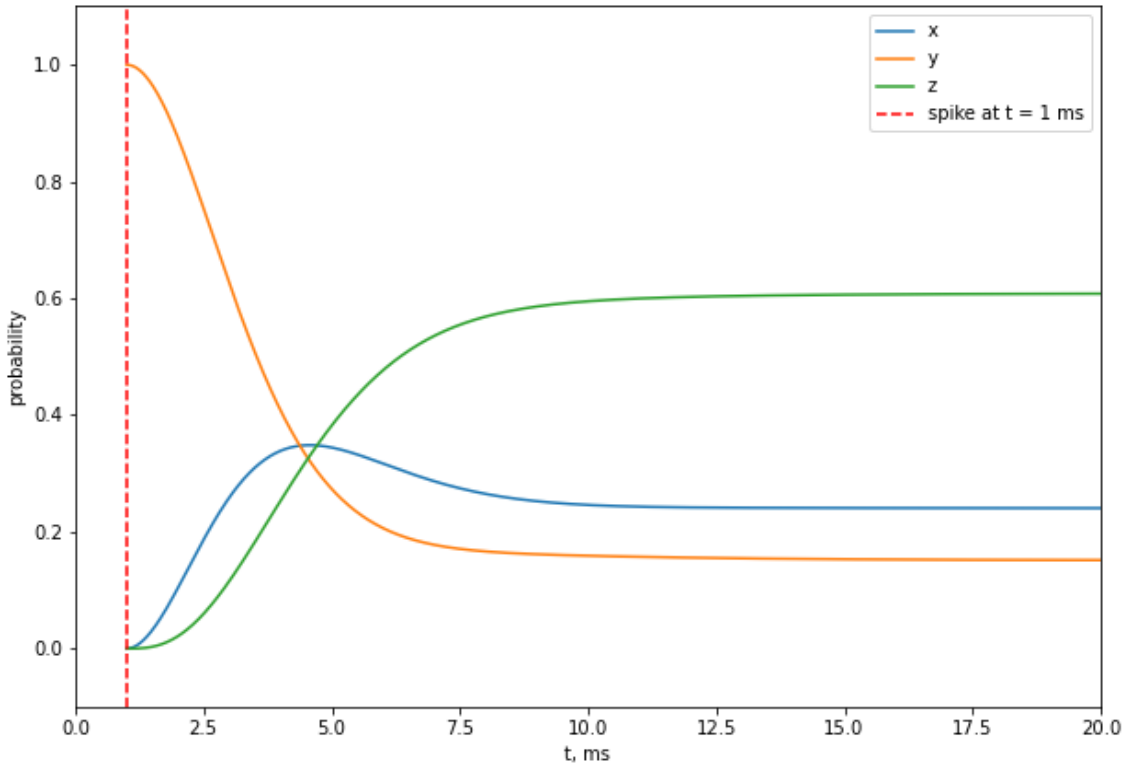

Рис.3.6. Чисельне моделювання синаптичної передачі. Ймовірності переходів між активним, інактивованим станами та станом спокою для НМДА струму.

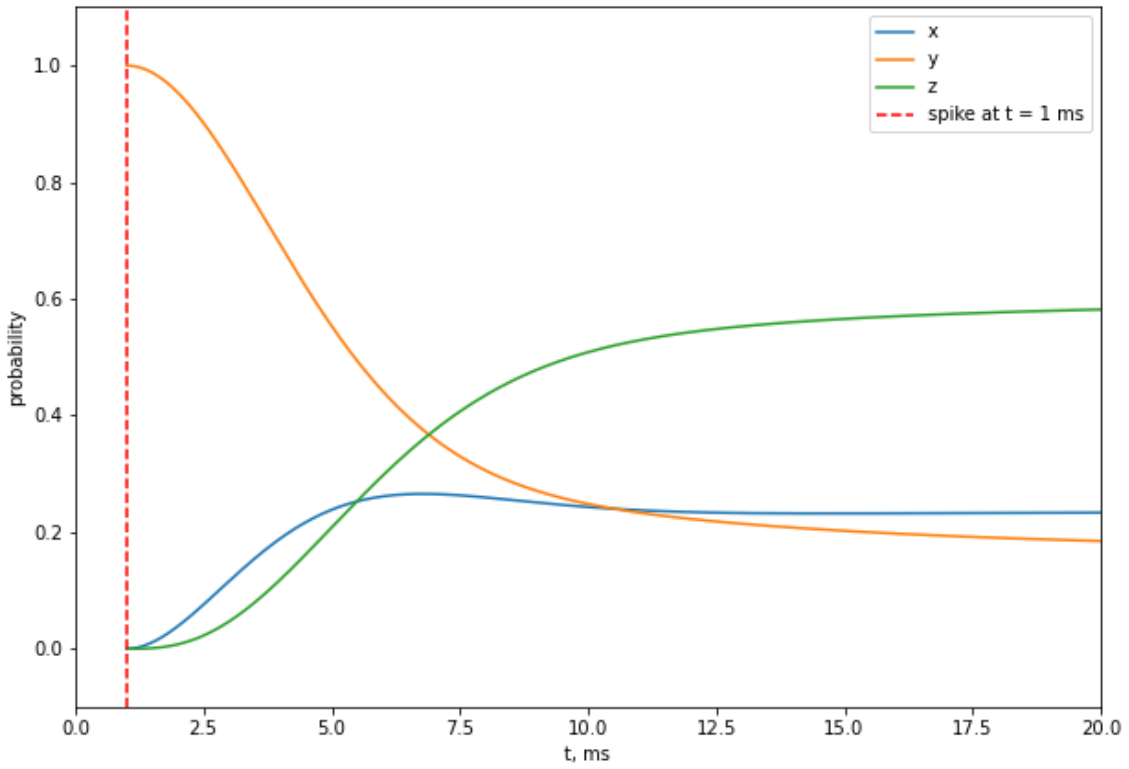

Рис.3.7. Чисельне моделювання синаптичної передачі. Ймовірності переходів між активним, інактивованим станами та станом спокою для ГАМК струму.

Код подано в Додатку 1.

ВИСНОВКИ

В магістерській роботі з використанням даних електрофізіологічних досліджень окремих кокультивованих пар гангліозних клітин сітківки (ГКС) та нейронів верхнього чотиригорбикового тіла (ВЧТ), які були зареєстровані керівником наукової роботи Думанською Г. В. раніше, проведено математичне моделювання синаптичної передачі між цими типами нейронів.

1. Досліджено існуючі моделі для феноменологічного опису основних механізмів синаптичної передачі та обрано оптимальну для досліджуваного випадку.

2. Висвітлено, що безперечною перевагою даної моделі є отримання функції розподілу ймовірності, як основної динамічної характеристики синаптичної передачі, шляхом поєднання феноменологічних моделей КТП Цодикса-Маркрама з біноміальними моделями везикулярного вивільнення та поповнення.

3. Обрану модель було оптимізовано для опису короткочасної пластичності та квантового вивільнення збуджувальних і гальмівних нейромедіаторів саме для синаптичного контакту між ГКС та нейронами ВЧТ.

4. Отримано наступні результати:

   - Створено авторську програмну реалізацію оптимізованої моделі КТП Цодикса-Маркрама та біноміального вивільнення нейротрансмітера, що описує динаміку синаптичної передачі між ГКС та нейронами ВЧТ.

- Отримано неперервну динаміку зміни ймовірності вивільнення збуджувальних і гальмівних нейромедіаторів впродовж експерименту, та кількості сайтів вивільнення.

- Кількісно та якісно оцінено ймовірності переходів між активним, інактивованим станами та станом спокою в процесі синаптичної передачі.

- Проаналізовано характер динаміки станів активності синапсів: при проходженні потенціалу дії ймовірність активного стану дорівнює 1, а інші дві зануляються. І навпаки, якщо запаси нейромедіатора повністю відновлені, і клітини не мають спонтанної активності, то ймовірність перебування в стані спокою прямує до 1, а відповідно ймовірності активного та інактивованого станів - до 0.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Purves, D., 2019. Neuroscience. 3rd ed. pp.229-283.

2. Gilbert, S. and Barresi, M., 2018. Developmental biology. New York, NY: Oxford University Press, pp.402-423.

3. Ito, S. and Feldheim, D., 2018. The Mouse Superior Colliculus: An Emerging Model for Studying Circuit Formation and Function. Frontiers in Neural Circuits, 12.

4. Hessels, R., Niehorster, D., Nyström, M., Andersson, R. and Hooge, I., 2018. Is the eye-movement field confused about fixations and saccades? A survey among 124 researchers. Royal Society Open Science, 5(8), p.180502.

5. Bykowska, O., Gontier, C., Sax, A., Jia, D., Montero, M., Bird, A., Houghton, C., Pfister, J. and Costa, R., 2019. Model-Based Inference of Synaptic Transmission. Frontiers in Synaptic Neuroscience, 11.

6. Биофизика одиночного синапса : Моногр. / Н. С. Веселовский, С. А. Федулова, П. Г. Костюк. - К. : Наук. думка, 2004. - 118 с. - (Проект "Наук. кн."). - Библиогр.: с. 97-114 - рус.

7. Stricker, C. and Redman, S., 1994. Statistical models of synaptic transmission evaluated using the expectation-maximization algorithm. Biophysical Journal, 67(2), pp.656-670.

8. Костюк П. Г., Зима В. Л., Магура Ш. С., Мірошниченко М. С., Шуба М. Ф. Біофізика. Київ: Обереги. с. 544. ISBN 966-513-021-81 с.

9. Melkonian, D., 1990. Mathematical theory of chemical synaptic transmission. Biological Cybernetics, 62(6), pp.539-548.

10. Wu, S., 2004. Contribution of AMPA, NMDA, and GABAA Receptors to Temporal Pattern of Postsynaptic Responses in the Inferior Colliculus of the Rat. Journal of Neuroscience, 24(19), pp.4625-4634.

11. Blandfort, P., Krumke, S. and Surulescu, C., 2015. Mathematical Modeling of Synaptic Transmission at Chemical Synapses.

12. Rolls, E., 1990. Methods in neuronal modeling: From synapses to networks. Biological Psychology, 31(1), p.101.

13. Costa, R., Sjöström, P. and van Rossum, M., 2013. Probabilistic inference of short-term synaptic plasticity in neocortical microcircuits. Frontiers in Computational Neuroscience, 7.

14. Jiang, M., Zhu, J., Liu, Y., Yang, M., Tian, C., Jiang, S., Wang, Y., Guo, H., Wang, K. and Shu, Y., 2012. Enhancement of Asynchronous Release from Fast-Spiking Interneuron in Human and Rat Epileptic Neocortex. PLoS Biology, 10(5), p.e1001324.

15. Dayan, P. and Abbott, L.F. (2009). Theoretical neuroscience : computational and mathematical modeling of neural systems. Cambridge, Mass.: Mit Press.

16. Izhikevich, E.M. (2010). Dynamical systems in neuroscience : the geometry of excitability and bursting. Cambridge (Ma) ; London: The Mit Press, , Cop.

17. Piyoosh Tyagi (2019). Neuronal dynamics. New Delhi, India: Random Publications.

18. DUMANS'KA, H.V., RYKHAL'S'KYĬ, O.V. and VESELOVS'KYĬ, M.S. (2014). Characteristics of quantal release of glutamate and GABA in synapses between retinal ganglion cells and superior colliculus neurons in coculture. Fiziolohichnyĭ zhurnal, 60(1), pp.3–10.

19. Думанська, Г.В., (2016), СИНАПТИЧНА ПЕРЕДАЧА МІЖ ГАНГЛІОЗНИМИ КЛІТИНАМИ СІТКІВКИ ТА НЕЙРОНАМИ COLLICULUS SUPERIOR В КОКУЛЬТУРІ В НОРМІ ТА ПРИ ГІПОКСІЇ, дисертаційна робота.

20. Markram, H. and Tsodyks, M. (1996). Redistribution of synaptic efficacy between neocortical pyramidal neurons. Nature, 382(6594), pp.807–810.

21. Wang, T., Yin, L., Zou, X., Shu, Y., Rasch, M.J. and Wu, S. (2016). A Phenomenological Synapse Model for Asynchronous Neurotransmitter Release. Frontiers in Computational Neuroscience, 9.

22. Tsodyks, M. and Wu, S. (2013). Short-term synaptic plasticity. Scholarpedia, 8(10), p.3153.

23. Goetz, L., Roth, A. and Häusser, M. (2015). Dendritic Inhibitory Synapses Punch above Their Weight. Neuron, 87(3), pp.465–468.

24. Pan, B. and Zucker, R.S. (2009). A General Model of Synaptic Transmission and Short-Term Plasticity. Neuron, 62(4), pp.539–554. .

25. Destexhe, A., Mainen, Z.F. and Sejnowski, T.J. (1994). Synthesis of models for excitable membranes, synaptic transmission and neuromodulation using a common kinetic formalism. Journal of Computational Neuroscience, 1(3), pp.195–230.

26. Silberberg, G., Grillner, S., LeBeau, F.E.N., Maex, R. and Markram, H. (2005). Synaptic pathways in neural microcircuits. Trends in Neurosciences, 28(10), pp.541–551.

27. Südhof, T.C. (2004). THE SYNAPTIC VESICLE CYCLE. Annual Review of Neuroscience, 27(1), pp.509–547.

28. Bird, A.D., Wall, M.J. and Richardson, M.J.E. (2016). Bayesian Inference of Synaptic Quantal Parameters from Correlated Vesicle Release. Frontiers in Computational Neuroscience, 10.

29. Barri, A., Wang, Y., Hansel, D., and Mongillo, G. (2016). Quantifying repetitive transmission at chemical synapses: a generative-model approach. eNeuro 3:ENEURO.0113-15.2016. 113–115. doi: 10.1523/ENEURO.0113- 15.2016

30. Hastings, W. K. (1970). Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. Biometrika 57, 97–109. doi: 10.1093/biomet/57.1.97.

31. Kuno, M., and Weakly, J. N. (1972). Quantal components of the inhibitory synaptic potential in spinal mononeurones of the cat. J. Physiol. 224, 287–303. doi: 10.1113/jphysiol.1972.sp009895

32. Otis, T., Zhang, S., and Trussel, L. O. (1996). Direct measurement of AMPA receptor desensitization induced by glutamatergic synaptic transmission. J. Neurosci. 16, 7496–7504.

33. Stein, R. B. (1965). A theoretical analysis of neuronal variability. Biophys. J. 5, 173–194. doi: 10.1016/S0006-3495(65)86709-1.

34. Varela, J. A., Sen, K., Gibson, J., Fost, J., Abbott, L. F., and Nelson, S. B. (1997). A quantitative description of short-term plasticity at excitatory synapses in layer 2/3 of rat primary visual cortex. J. Neurosci. 17, 7926–7940.

35. Wang, L., and Kaczmarek, L. (1998). High-frequency firing helps replenish the readily releasable pool of synaptic vesicles. Nature 394, 384–388. doi: 10.1038/28645.

36. Zucker, R. S., and Regehr, W. G. (2002). Short-term synaptic plasticity. Annu. Rev. Physiol. 64, 355–405. doi: 10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547.

37. Jones, M. V., and Westbrook, G. L. (1996). The impact of receptor desensitization on fast synaptic transmission. Trends Neurosci. 19, 96–101. doi: 10.1016/S0166-2236(96)80037-3.

38. Kuno, M. (1971). Quantum aspects of central and ganglionic synaptic transmission in vertebrates. Physiol. Rev. 51, 647–678.

39. Otis, T., Zhang, S., and Trussel, L. O. (1996). Direct measurement of AMPA receptor desensitization induced by glutamatergic synaptic transmission. J. Neurosci. 16, 7496–7504.

40. А. О. Кришталь, а, Г. В. Думанська, М. С. Веселовський, МОДЕЛЮВАННЯ СИНАПТИЧНОЇ ПЕРЕДАЧІ МІЖ ГАНГЛІОЗНИМИ КЛІТИНАМИ СІТКІВКИ ТА НЕЙРОНАМИ ВЕРХНЬОГО ЧОТИРИГОРБИКОВОГО ТІЛА, Теоретичні і прикладні проблеми фізики, математики та інформатики: матеріли XX Всеукраїнської наук.-практ. конференції студентів, аспірантів та молодих вчених. – Київ: «Політехніка», 25-26 квіт. 2021 р.

41. Dumanskaya, G. V. et al. Short-Term Plasticity Of Glutamatergic And GABA-Ergic Synaptic Transmission Between Co-Cultured Retinal Ganglion Cells And Superior Colliculus Neurons // Neurophysiology. — 2014 — vol 46, no. 4 — P. 308–316 — doi:10.1007/s11062-014-9449-y.

42. Abbott, L. F. (1997). Synaptic depression and cortical gain control. Science 275, 221–224. doi: 10.1126/science.275.5297.221

43. Veselovsky N. S. Biophysics of a single synapse / N. S. Veselovsky, S. A. Fedulova, P. G. Kostyuk. − Kiev: Naukova Dumka, 2004. − P. 7-14.

44. Bird, A. D. (2016). Temporal and Spatial Factors Affecting Synaptic Transmission in Cortex. Ph.D. Thesis, University of Warwick.

45. L. Nowak, P. Bregestovski, P. Ascher, A. Herbet, A. Prochiantz, Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones, Nature. − 1984. − num 307, P. 462−465.

46. B. Walmsley, F. R. Edwards, D. J. Tracey, The probabilistic nature of synaptic transmission at a mammalian excitatory central synapse, J. Neuroscie. – 1987. − num 7(4), P. 1037−1046.

ДОДАТОК А.

Код до пункту 3.1

Код в Ipython Notebook:

```
def du_dt(u,t):
    tol = 0.01
    if math.isclose(t, ts[0], abs_tol=tol) or math.isclose(t, ts[1], abs_tol=tol) or math.isclose(t, ts[2], abs_tol=tol) or math.isclose(t, ts[3], abs_tol=tol):
        return -u/tau_sr + U_sr*(1-u)
    else:
        return -u/tau_sr


def solver():
    u0 = 0
    u1 = odeint(du_dt, u0, t1)
    u0 = u1[-1] + u0


    u2 = odeint(du_dt, u0, t2)
    u0 = u2[-1] + u0


    u3 = odeint(du_dt, u0, t3)
    u0 = u3[-1] + u0
```

```
u4 = odeint(du_dt, u0, t4)
u0 = u4[-1] + u0

u5 = odeint(du_dt, u0, t5)

t = np.concatenate((t1, t2, t3, t4, t5))
u = np.concatenate((u1*100, u2*100, u3*100, u4*100, u5*100)) #/*100%
plt.figure(figsize=(15, 7))
plt.plot(t, u,color = 'blue', alpha = 0.5)
plt.xlabel('t, ms')
plt.ylabel('u')
```

Код до пункту 3.1.1

Код в Ipython Notebook:

```
# Numerical simulation of the SAR-model
# Dynamics of the release probability of synchronous release
t1 = np.arange(0, 1,0.01)
t2 = np.arange(1, 5, 0.01)
t3 = np.arange(5, 7, 0.01)
t4 = np.arange(7, 10, 0.01)
ts = [1, 5, 7] #/pulses (spikes)
```

```
def du_dt(u,t):
    tol = 0.01
    if math.isclose(t, ts[0], abs_tol=tol) or math.isclose(t, ts[1], abs_tol=tol) or
math.isclose(t, ts[2], abs_tol=tol):
        return -u/tau_f + U*(1-u)
    else:
        return -u/tau_f


def solver():
    u0 = 0
    u1 = odeint(du_dt, u0, t1)
    u0 = u1[-1] + u0


    u2 = odeint(du_dt, u0, t2)
    u0 = u2[-1] + u0


    u3 = odeint(du_dt, u0, t3)
    u0 = u3[-1] + u0


    u4 = odeint(du_dt, u0, t4)


    t = np.concatenate((t1, t2, t3, t4))
```

```
    u = np.concatenate((u1*100, u2*100, u3*100, u4*100))
    plt.figure(figsize=(10, 7))
    plt.plot(t, u,color = 'blue', alpha = 0.5)
    plt.xlabel('t, ms')
    plt.ylabel('u')
    plt.savefig('ar_')
    plt.show()
```

Код до пункту 3.2

```
def model(k,t):
    dudt = -k[0]/(tau_f) + U*(1-k[0])
    dxdt = k[3]/(tau_r) - k[0]*k[1]
    dydt = -k[2]/(tau_d) +  k[0]*k[1]
    dzdt = k[2]/(tau_d) -  k[3]/(tau_r)
    dkdt = [dudt,dxdt,dydt,dzdt]
    return dkdt

y = np.arange(-1,2,0.1)
x = y*0 + 1
x0 = 1
y0 = 0
z0 = 0
z0 = [u0,x0, y0,z0]
t = np.concatenate((t1, t2, t3, t4, t5))
z = odeint(model, z0, t2)

plt.figure(figsize=(10, 7))
```

```
plt.axis([0,20,-0.1,1.1])
plt.plot(t2,z[:,2], label='x')
plt.plot(t2,z[:,1],label='y')
plt.plot(t2,z[:,3], label='z')
plt.plot(x, y, '--r', label='spike at t = 1 ms')
plt.ylabel('probability')
plt.xlabel('t, ms')
plt.legend()

plt.show()
```