

ЛОКАЛЬНЫЕ ОСЦИЛЛЯТОРНЫЕ СВОЙСТВА ДЕНДРИТНОЙ МЕМБРАНЫ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА: МОДЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Поступила 16.12.16

В гиппокампе часто локализуются очаги эпилептической активности, генерируемой в результате синхронизации периодических пачечных разрядов в нейронной сети. Используя модельный подход, мы исследовали возможность и биофизические условия возникновения локальных колебательных процессов в дендритах, обладающих потенциалзависимыми каналами (что характерно для пирамидных нейронов гиппокампа). Исследования были выполнены на компьютерной модели мембраны с активными проводимостями, присущими дендритам пирамидных нейронов области СА3. Как оказалось, подобный мембранный сегмент в условиях поступления тонических синаптических возбуждающих влияний может функционировать как локальный генератор стойкой деполяризации низкого или высокого уровня или как генератор колебаний мембранного потенциала (осциллятор). Каждому из таких режимов соответствует определенный диапазон интенсивности синаптического возбуждающего воздействия, причем с ростом температуры диапазон, в котором проявляются свойства осциллятора, сужается за счет расширения диапазона, в котором генерируется высокоуровневая стойкая деполяризация.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пирамидные нейроны гиппокампа, активные дендриты, локальный мембранный осциллятор, электрическое сопряжение, компьютерное моделирование.

ВВЕДЕНИЕ

Многие нейроны в ответ на деполяризацию, которая вызвана тонической активацией возбуждающих синапсов, распределенных на дендритах с активной мембраной, способны генерировать широкий репертуар паттернов импульсной активности в виде последовательных групп/пачек потенциалов действия (ПД) разной сложности [1–3]. При этом в асимметричных частях дендритного разветвления возникают синхронные или асинхронные периодические колебания мембранного потенциала. Эффекты, сходные с упомянутыми выше, были обнаружены и исследованы у модельных нейронов разных типов, обладающих подобными дендритами, в частности у пирамидных нейронов новой коры, нейронов Пуркинью мозжечка и мотонейронов [2]. Возможными источниками такой осцил-

ляторной активности нейрона могут быть аксо-соматическая триггерная зона, которая активируется соматопетальным током, поступающим от возбуждающих дендритных синапсов, и/или собственно дендриты, обладающие активной мембраной. Возможность второй альтернативы была показана на модели нейрона Пуркинью мозжечка. У такой модели тоническое синаптическое возбуждение дендритов, имеющих активную мембрану, вызывало асинхронные колебания мембранного потенциала (МП), причем это происходило и в случае, когда сома и аксон были пассивными (т. е. быстрые разрядные механизмы триггерной зоны были заблокированы) [4]. В подобной ситуации генерация сложных осцилляторных паттернов может быть результатом сопряжения локальных колебательных процессов в разных частях дендритного дерева между собой и их сопряжения с электрическими событиями в соме [5]. Задачу о сопряжении осцилляторных процессов в разных частях дендритного дерева и функциональных последствиях этого сопряжения для

¹ ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», Днепр (Украина).

Эл. почта: kaspirzhny@gmail.com (А. В. Каспиржний).

паттернов выходного разряда нейрона невозможно решить без выяснения возможности и условий возникновения локальных осцилляторных процессов в отдельных изолированных локусах дендритной мембраны, обладающей нелинейными электрическими свойствами. Из-за неизбежных существенных методических ограничений нейрофизиологического эксперимента практически единственным инструментом, который позволяет исследовать осцилляторные процессы в изолированных фрагментах мембраны дендрита, населенных потенциалзависимыми ионными каналами разных типов, является компьютерное моделирование.

В настоящей работе мы, используя биологически обоснованные компьютерные модели ионных каналов и их популяций, характерных для дендритов пирамидных нейронов гиппокампа, пытались выяснить, возможно ли возникновение локальных осцилляторных процессов в изолированном фрагменте дендритной мембраны, и если ответ на этот вопрос положителен, то каковы биофизические условия реализации подобной возможности.

Выбор именно пирамидных нейронов гиппокампа в качестве объекта моделирования обусловлен недостаточной изученностью данного аспекта осцилляторной активности у клеток этого типа, а также тем, что выяснение природы тонких структурозависимых особенностей осцилляторных процессов на субклеточном и клеточном уровнях важно для понимания процессов такого рода в гиппокампальных сетях в норме и при патологии (в частности, в случае развития эпилептиформной активности). Как известно, очаги эпилептической активности частот локализуются в гиппокампе.

МЕТОДИКА

Вычислительные эксперименты были выполнены на построенной в программной среде «NEURON» [6] модели изолированного сегмента дендрита цилиндрической формы (длина 10, диаметр 3 мкм). Биофизические свойства мембраны такого сегмента соответствовали тем, которые ранее были описаны у дендритов пирамидного нейрона области CA3 гиппокампа крысы, [7] и представлены в открытой базе данных ModelDB (доступна под № 101629). Модельная мембрана включала в себя потенциалзависимые каналы, проводящие токи следующих типов: натриевый инактивирующийся, кальциевые N-, L- и T-типов, калиевые четырех типов (задержанно-

го выпрямления, мускариновый M-типа, быстро инактивирующийся A-типа и медленно инактивирующийся D-типа), неспецифический катионный, активируемый гиперполяризацией (ток h-типа), а также кальцийзависимые калиевые токи типов K_C и $K_{АНР}$. Динамику внутриклеточной концентрации Ca^{2+} описывали уравнением релаксации до базального уровня 50 нМ с постоянной времени 100 мс, что в упрощенном виде учитывало совместное действие кальциевых насосов и буферов, а также диффузию кальция из примембранного слоя вглубь цитозоля. Пассивные электрические параметры модели (удельное сопротивление цитоплазмы $R_a = 150 \text{ Ом}\cdot\text{см}$, удельная емкость мембраны $C_m = 1.41 \text{ мкФ}/\text{см}^2$) были такими же, как в работе Хемонда и соавт. [7]. Исследовали ответы дендритной мембраны на тоническое синаптическое возбуждение, которое моделировали путем внесения постоянной пассивной проводимости g_{SE} с деполяризационным потенциалом равновесия 0 мВ. Эксперименты повторяли при разных значениях температуры ($^{\circ}\text{C}$), являвшейся параметром температурного множителя в уравнениях потенциалзависимых скоростей активации и инактивации каналов [7].

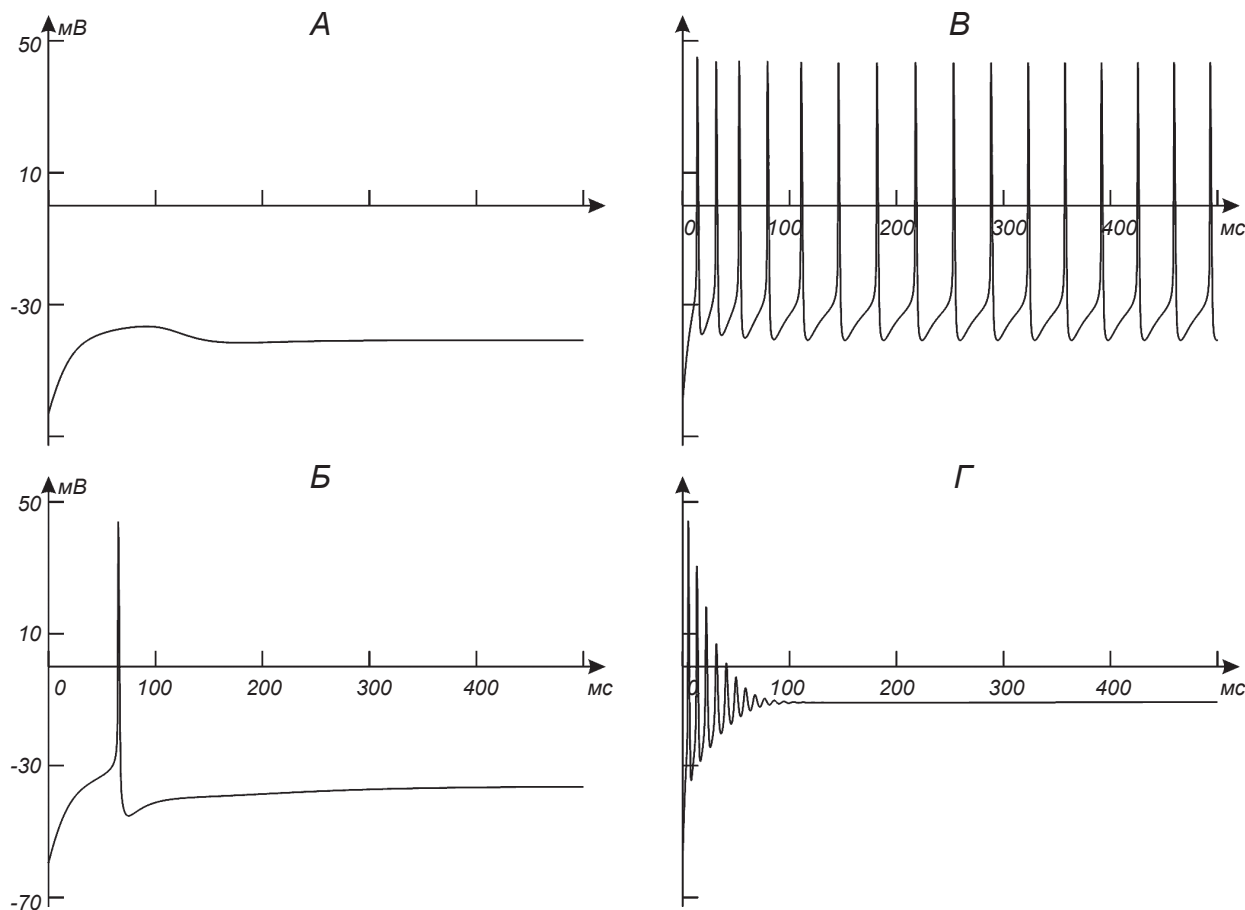
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тоническое синаптическое возбуждение в зависимости от его интенсивности вызывало в модели изолированного фрагмента дендритной мембраны установившиеся электрические процессы трех основных типов. Типичные примеры таких процессов приведены на рис. 1. Во-первых, могла возникать стойкая деполяризация низкого уровня (реакция типа I). Она устанавливалась после переходного процесса, имевшего вид локального ответа (реакция Ia) или одиночного ПД (Ib) (A и B соответственно). Такая реакция наблюдалась в условиях синаптических воздействий g_{SE} относительно низкой интенсивности. Реакция типа Ia возникала при наименьших значениях g_{SE} , а типа Ib – при несколько больших. Реакциями другого типа были установившиеся колебания МП в виде последовательности так называемых дендритных пиков (реакция типа II). Такая картина наблюдалась при синаптических воздействиях средней интенсивности (B). У этих колебаний с повышением интенсивности синаптических воздействий амплитуда уменьшалась, а частота – увеличивалась. Наконец, при высоких

интенсивностях тонического синаптического возбуждения развивалась стойкая деполяризация высокого уровня (реакция типа III). Ее уровень устанавливался после более или менее длительной последовательности затухающих колебаний (Γ).

В ходе детального исследования зависимости описанных выше реакций от интенсивности возбуждающего синаптического воздействия и температуры были обнаружены ряд особенностей, важных для формирования как электрической активности в дендритах, так и выходных сигналов нейрона в целом. Количественные характеристики зарегистрированных на модели установившихся

электрических процессов в активной дендритной мембране представлены на рис. 2. Фазовая диаграмма (A) характеризует диапазоны значений синаптической проводимости g_{SE} , в которых наблюдались реакции разных типов. Их примеры, приведенные на рис. 1, A – Γ , соответствуют одноименным точкам A – Γ на фазовой диаграмме рис. 2, A . Как следует из данной диаграммы, реакции I типа (стойкая деполяризация низкого уровня) соответствовали относительно узкому диапазону низких интенсивностей синаптического возбуждения, который незначительно расширялся с ростом температуры. И наоборот, диапазоны, соответствующие возникновению



Р и с. 1. Типичные примеры видов электрических ответов модельной мембраны при тоническом синаптическом возбуждении разной интенсивности.

Мембрана обладает ионными каналами, характерными для дендритов пирамидных нейронов области CA3 гиппокампа. A и B – стойкая деполяризация низкого уровня, устанавливающаяся после генерации локального ответа ($g_{SE} = 27,1$ мкСм/см²) или одиночного потенциала действия – ПД ($g_{SE} = 30,0$ мкСм/см²) соответственно. B – установившиеся колебания мембранного потенциала – МП ($g_{SE} = 100,0$ мкСм/см²) в виде последовательности дендритных пиков, которые следуют с частотой, пропорциональной интенсивности синаптического возбуждения. Γ – стойкая деполяризация высокого уровня, устанавливающаяся после генерации затухающих колебаний МП ($g_{SE} = 300,0$ мкСм/см²). Температура $t = 30$ °С для всех случаев.

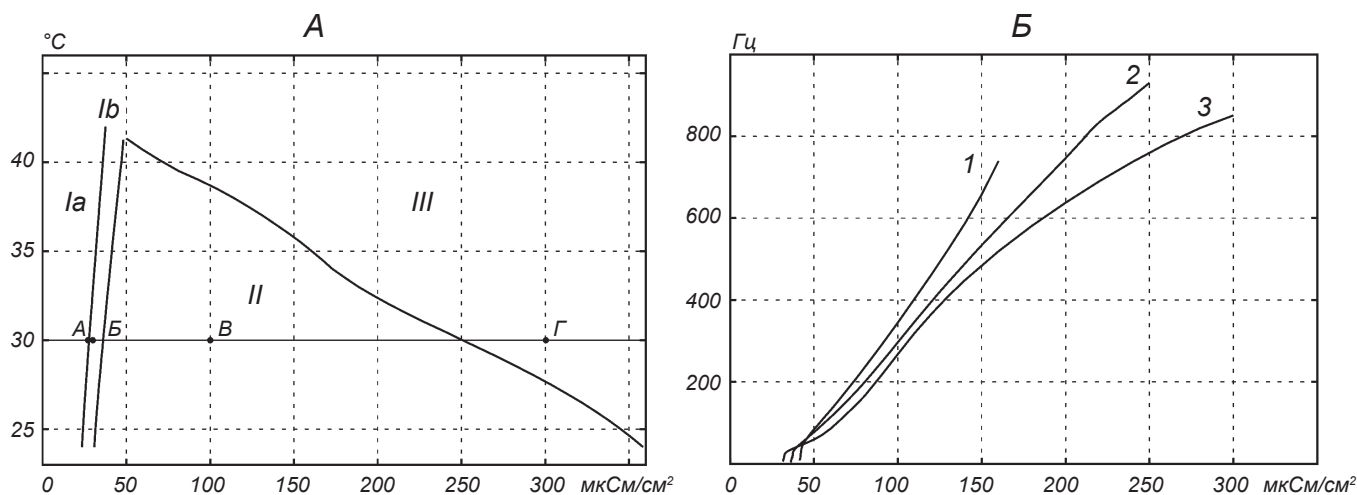
Р и с. 1. Типові приклади видів електричних відповідей модельної мембрани при тонічному синаптичному збудженні різної інтенсивності

реакций II и III типов (установившихся колебаний МП и стойкой деполяризации высокого уровня соответственно), были весьма широкими, причем соотношение этих диапазонов существенно зависело от температуры. С ростом температуры диапазон, соответствующий режиму стойкой деполяризации высокого уровня, расширялся за счет сужения диапазона, соответствующего режиму устойчивых колебаний МП. Это происходило вследствие того, что граничная величина синаптической проводимости, при которой режим устойчивых колебаний сменяется режимом высокой стойкой деполяризации, смещалась в область более низких значений. Еще одной особенностью являлось то, что в условиях высоких температур (в случае набора каналов, использованного в данной модели дендритной мембраны, это температуры свыше 42 °С) режим устойчивых колебаний исчезал и мембрана могла генерировать лишь стойкую деполяризацию либо низкого, либо высокого уровня.

В контексте настоящей работы особый интерес представляет режим устойчивых колебаний МП, поскольку именно он определяет возможность функционирования дендритных сегментов в качестве локальных осцилляторов. Такой режим от-

крывает перспективы дальнейших исследований условий и характеристик сопряжения подобных осцилляторов в целой структуре дендритного разветвления, а также может помочь выяснить роль подобной системы сопряженных осцилляторов в формировании периодических выходных сигналов нейрона. Количественные характеристики данного колебательного режима иллюстрируются графиками зависимости частоты установившихся колебаний от значений возбуждающей синаптической проводимости (рис. 2, Б). Графики 1, 2 и 3 были построены для трех значений температуры – 35, 30 и 25 °С соответственно. Как видно, эти зависимости характеризуются монотонным (близким к линейному при более высоких температурах) ростом частоты с увеличением интенсивности синаптического возбуждения, причем крутизна нарастания тем больше, чем выше температура.

Таким образом, результаты нашего исследования демонстрируют следующее. Изолированный фрагмент дендритной мембраны, населенной ионными каналами, которые характерны для дендритов пирамидных нейронов гиппокампа, действительно может функционировать в качестве генератора установившихся колебаний МП, т. е. в качестве



Р и с. 2. Зависимость паттернов электрической активности модельной мембраны от интенсивности тонического синаптического возбуждения (g_{se} , мкСм/см²) и температуры (t , °С).

А – фазовая диаграмма паттернов активности мембраны в зависимости от соотношения синаптической проводимости (ось абсцисс) и температуры (ось ординат). Сплошными линиями обозначены границы раздела областей Ia, Ib, II и III, в каждой из которых соотношения параметров соответствуют определённому паттерну. Типичные примеры паттернов приведены на рис. 1, А, Б, В и Г соответственно (точки А, Б, В и Г диаграммы соответствуют одноимённым фрагментам рис. 1). Б – зависимость частоты установившихся колебаний мембранного потенциала (область II на А) от значений g_{se} и температуры t ° при разных температурах – 35, 30 и 25 °С (линии 1, 2 и 3 соответственно).

Р и с. 2. Залежність патернів електричної активності модельної мембрани від інтенсивності тонічного синаптичного збудження g_{se} і температури t °.

локального электрического осциллятора. Этот режим локального дендритного осциллятора (один из трех возможных) может служить биофизической основой проявления осцилляторных или резонаторных свойств у дендритного разветвления в целом (см. обзоры [8, 9]). В данном случае паттерны колебательной импульсной активности в дендритах могут определять формирование периодических выходных сигналов нейрона на основе сопряжения активности распределенных дендритных осцилляторов и триггерной зоны нейрона. Кроме того, дендритный фрагмент может функционировать в качестве локального генератора, продуцирующего стойкую деполяризацию низкого или высокого уровня. В этих случаях триггерная зона оказывается сопряженной не с источником электрических колебаний, имеющих определенный паттерн, а с источником установившегося деполяризующего тока; таким образом, роль триггерной зоны в формировании паттерна выходного сигнала становится определяющей. Переключения локального дендритного генератора из одного установившегося режима в другой определяются интенсивностью тонического синаптического возбуждения, причем конкретные уровни интенсивности, при которых происходят подобные переключения, существенно зависят от температуры.

Представленные выше результаты получены на модели фрагмента дендритной мембраны с активными проводимостями, описанными для пирамидного нейрона области CA3 гиппокампа [7]. Однако эти результаты могут рассматриваться и в более широком аспекте, поскольку подобные активные мембранные механизмы обнаружены и у дендритов нейронов других типов [8, 9]. Если дендритные сегменты (ветви, поддережья) приобретают свойства генератора собственных колебаний, то составленное из них протяженное (к тому же асимметрично разветвленное) дендритное дерево может стать системой множества сопряженных элементарных осцилляторов. Фактором сопряжения при этом является осевой ток, текущий по дендритному сердечнику от более деполяризованных участков дендрита к менее деполяризованным.

Как оказалось, существенным фактором, влияющим на режимы функционирования дендритного мембранного генератора электрической активности, является температура. Это влияние четко проявлялось даже в условиях использования данной весьма упрощенной модели мембраны, в которой отсутствовали каналы специфической термочув-

ствительности (такие, как каналы семейства TRP). Аспект температурной зависимости осцилляторных свойств пирамидных нейронов гиппокампа и, в частности, их дендритов приобретает особый интерес в свете данных о гипотермическом подавлении периодической пачечной активности гранулярных нейронов зубчатой извилины [10, 11]. Гранулярные нейроны образуют с пирамидными нейронами областей CA3 и CA1 гиппокампа характерные трехсинаптические цепи [12]. Гиппокамп же является структурой, в которой весьма часто локализируются очаги эпилептиформной активности. Формированию такой активности способствует синхронизация периодических пачечных разрядов нейронов [13, 14]. В этом плане выяснение закономерностей формирования и температурной зависимости периодической активности пирамидных нейронов гиппокампа может быть важным шагом на пути к раскрытию биофизических механизмов терапевтического действия гипотермии, которая успешно используется для подавления очагов эпилепсии, не поддающейся фармакологическому лечению [15].

Автор статьи выражает глубокую благодарность докт. биол. наук проф. С. М. Корогоду за ценные замечания и помощь в обсуждении и написании данной статьи.

Настоящее исследование не было связано с какими-либо экспериментами на животных или тестах с участием людей; ввиду этого подтверждения соответствия существующим этическим стандартам в данном аспекте не требуется.

Автор – А. В. Каспиржний – подтверждает отсутствие конфликтов любого рода, касающихся коммерческих или финансовых отношений, а также отношений с организациями или лицами, которые каким-либо образом могли быть связаны с работой.

А. В. Каспиржний¹

ЛОКАЛЬНІ ОСЦИЛЯТОРНІ ВЛАСТИВОСТІ
ДЕНДРИТНОЇ МЕМБРАНИ ПІРАМІДНИХ НЕЙРОНІВ
ГІПОКАМПА: МОДЕЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

¹ ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
Дніпро (Україна).

Резюме

У гіпокампі часто локалізуються осередки епілептичної активності, генерованої в результаті синхронізації періодичних пачкових розрядів у нейронній мережі. Використовуючи

модельний підхід, ми досліджували можливість і біофізичні умови виникнення локальних коливальних процесів у дендритах, які мають потенціалзалежні канали (що характерно для пірамідних нейронів гіпокампа). Дослідження були виконані на комп'ютерній моделі мембрани з активними провідностями, властивими дендритам пірамідних нейронів ділянки CA3. Як виявилось, подібний мембранний сегмент в умовах надходження тонічних синаптичних збуджуючих впливів може функціонувати як локальний генератор стійкої деполяризації низького чи високого рівня або як генератор коливань мембранного потенціалу (осцилятор). Кожному з таких режимів відповідає певний діапазон інтенсивності синаптичного збуджуючого впливу, причому з ростом температури діапазон, в якому проявляються властивості осцилятора, звужується за рахунок розширення діапазону, в якому генерується високорівнева стійка деполяризація.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. M. Rudolph and A. Destexhe, "The discharge variability of neocortical neurons during high-conductance states," *Neuroscience*, **119** (3), 855-873 (2003).
2. S. M. Korogod and S. Tyč-Dumont, *Electrical Dynamics of the Dendritic Space*, Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York, Melbourne, et al. (2009).
3. I. B. Kulagina, A. V. Kaspirzhny, and S. M. Korogod, "Organization of activity of hippocampal pyramidal neurons under coactivation of dendritic glutamate- and GABA-sensitive receptors: a simulation study," *Neurophysiology*, **46**, No. 2, 99-107 (2014).
4. I. B. Kulagina, S. M. Korogod, G. Horcholle-Bossavitt, et al., "The electro-dynamics of the dendritic space in Purkinje cells of the cerebellum," *Arch. Ital. Biol.*, **145**, Nos. 3/4, 211-233 (2007).
5. M. W. H. Remme, M. Lengyel, and B. S. Gutkin, "The role of ongoing dendritic oscillations in single-neuron dynamics," *PLoS Comput. Biol.*, **5**, No. 9, e1000493 (2009).
6. N. T. Carnevale and M. L. Hines, *The NEURON Book*, Cambridge Univ. Press, Cambridge (2006).
7. P. Hemond, D. Epstein, A. Boley, et al., "Distinct classes of pyramidal cells exhibit mutually exclusive firing patterns in hippocampal area CA3b," *Hippocampus*, **18**, No. 4, 411-424 (2008).
8. R. R. Llinás, "Intrinsic electrical properties of mammalian neurons and CNS function: a historical perspective," *Front. Cell Neurosci.*, **8**, 320 (2014).
9. A. Das, R. K. Rathour, and R. Narayanan, "Strings on a violin: location dependence of frequency tuning in active dendrites," *Front. Cell Neurosci.*, **11**, 72 (2017).
10. S. M. Korogod and L. E. Demianenko, "Temperature deactivation of depolarizing TRP-current as a mechanism of neuronal activity inhibition during hypothermia," *Neurophysiology*, **48**, Nos. 5/6, 406-414 (2016).
11. L. E. Demianenko, E. P. Poddubnaya, I. A. Makedonsky, et al., "Hypothermic suppression of epileptiform bursting activity of a hippocampal granule neuron possessing thermosensitive TRP channels (a model study: biophysical and clinical aspects)," *Neurophysiology*, **49**, No. 1, 8-18 (2017).
12. D. G. Amaral, "Emerging principles of intrinsic hippocampal organization," *Current Opin. Neurobiol.*, **3**, No. 2, 225-229 (1993).
13. D. A. McCormick and D. Contreras, "On the cellular and network bases of epileptic seizures," *Annu. Rev. Physiol.*, **63**, 815-846 (2001).
14. R. K. S. Wong, R. Miles, and R. D. Traub, "Local circuit interactions in synchronization of cortical neurones," *J. Exp. Biol.*, **112**, No. 1, 169-178 (1984).
15. G. K. Motamedi, R. P. Lesser, and S. Vicini, "Therapeutic brain hypothermia, its mechanisms of action, and its prospects as a treatment for epilepsy," *Epilepsia*, **54**, No. 6, 959-970 (2013).