

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
В. Н. КАРАЗІНА

КАСПРЖНИЙ Антон Володимирович



УДК 577.352.56

**БІОФІЗИЧНИЙ МЕХАНІЗМ ТА ПАРАМЕТРИЧНА
ЧУТЛИВІСТЬ ЕЛЕКТРИЧНОЇ ПЕРЕДАЧІ У
ДЕНДРИТАХ НЕЙРОНІВ**

03.00.02 — біофізика

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Харків — 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Дніпропетровському національному університеті імені Олеся Гончара Міністерства освіти і науки молоді та спорту України.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Корогод Сергій Михайлович,
Міжнародний центр молекулярної фізіології
НАН України, керівник Дніпропетровського
відділення.

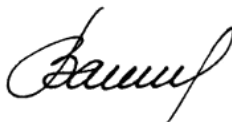
Офіційні опоненти: доктор фізико-математичних наук, старший
науковий співробітник
Баранник Євген Олександрович,
Харківський національний університет імені
В. Н. Каразіна, професор кафедри біологічної
та медичної фізики;
кандидат біологічних наук
Степанюк Андрій Русланович,
Інститут фізіології імені О. О. Богомольця
НАН України, науковий співробітник відділу
загальної фізіології нервової системи.

Захист відбудеться «14» вересня 2012 р. о 17 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022 м. Харків, майдан Свободи, 4.

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий «13» серпня 2012 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



Берест В. П.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Дендрити є основними приймачами сигналів, що надходять до нейрону, складаючи $\approx 90\%$ мембранної поверхні, де міститься приблизно такий же відсоток усіх синаптичних входів. Саме дендрити забезпечують первинне перетворення хімічних синаптичних сигналів у електричні та передачу електричних струмів і напруги до тригерної зони, де генеруються вихідні сигнали. Суттєва роль складної розгалуженої структури дендритів у процесах прийому вхідних сигналів, їх перетворення у вихідний сигнал – певну послідовність потенціалів дії – є вже загально визнаною. Проте, такий важливий і актуальний аспект цієї багатогранної проблеми, як параметрична чутливість електричних передавальних властивостей дендритів, до останнього часу практично не розглядався. Це стосується залежності передавальних властивостей як від електричних параметрів мембрани, так і від геометричних параметрів, що характеризують складну морфологічну структуру дендритів (кількість, довжина і діаметр віток, асиметрія галузження). Зазвичай, електричні передавальні характеристики дендритів визначаються з використанням математичних моделей, і модельні розрахунки безпосередньо залежать від зазначених параметрів, щодо яких завжди існує певна невизначеність через їх природну варіабельність та методичні обмеження їх експериментального вимірювання. Викладене вище визначає актуальність обраної теми дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами Дисертаційна робота виконувалась спочатку як частина здійснюваних у науково-дослідній лабораторії біофізики і біоелектроніки Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара досліджень за держбюджетними темами «Електро-геометричне сполучення у клітинах мозку з різною функціональною спеціалізацією (порівняльні модельні дослідження)» (номер держреєстрації 0199U001307), «Біофізичні механізми впливу наномікроскопічної та мікроскопічної структури нейронів на динаміку ефективності дендритних полів. (номер держреєстрації 0102U004410) та «Роль дендритів з нелінійною мембраною у формуванні нейронного коду» (номер держреєстрації 0108U000626), а далі - як частина робіт, здійснюваних у Дніпропетровському відділенні Міжнародного центру молеку-

лярної фізіології Національної академії наук України за держбюджетною темою «Механізми формування активності нейронів і нейронних мереж гіпокампу під впливом тонічної активації дендритних хеморецепторів» (номер держреєстрації 0110U000541). Частина роботи виконана у Відділенні клітинної нейрокібернетики Національного центру наукових досліджень Франції (м. Марсель) за підтримки Посольства Франції в Україні.

Мета і задачі дослідження: Мета дисертаційної роботи – вивчити, як у складних дендритах нейронів електричні передавальні властивості та їх параметрична чутливість залежать від особливостей дендритної морфології. Для досягнення даної мети були поставлені та вирішені такі **задачі:**

- Дослідити морфометричні характеристики дендритних галузень нейронів за даними їх комп'ютерної реконструкції та оцінити наявність і величину морфометричного шуму, пов'язаного з похибками вимірювання метричних параметрів та реконструкції.
- Дослідити електричні передавальні властивості реконструйованих дендритних розгалужень нейронів та за результатами цих досліджень розробити методикку та критерій електричного розрізнення метрично асиметричних гілок.
- Дослідити на моделях вплив біофізичних властивостей та метричних характеристик, зокрема метричної асиметрії, гілок дендритного галуження на параметричну чутливість пасивних електричних передавальних характеристик дендритів.
- Визначити вплив біофізичних параметрів та величини метричної асиметрії дендритних гілок, пов'язаної з різницею їх довжин і/або діаметрів, на просторове розрізнення дендритів за їх електричними передавальними характеристиками.
- Вивчити вплив стохастичної варіабельності довжини гілок дендритів на імовірність їх просторового розрізнення за електричними передавальними характеристиками.

Об'єкт дослідження – моделі дендритних кабелів, біфуркацій та складних розгалужених дендритів, побудованих за даними комп'ютерної реконструкції нейронів різних типів із пасивною клітинною мембраною.

Предмет дослідження – зв'язок між геометричними розмірами

дендритів та їх окремих віток (довжиною та діаметром) та відмінністю їх електричних передавальних властивостей.

Методи дослідження – використовувалися методи чисельного моделювання, чисельної обробки зображень, математичного аналізу, теорії автоматичного управління, математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів.

- Розроблено оригінальну комп'ютерну програму, яка забезпечує інтерактивну реконструкцію дендритних галужень з оцифрованих серійних зрізів мозку та дозволяє кількісно характеризувати присутній у даних реконструкції “морфометричний шум”, пов'язаний з невизначеністю і/або обмеженою точністю вимірювань геометричних параметрів.
- Розроблено оригінальну методику та програмний засіб, які дозволяють шляхом цифрової обробки зображень виявляти та кількісно характеризувати доменну організацію електричної структури складних дендритних розгалужень.
- В рамках пасивної кабельної теорії дендритів вперше отримані аналітичні вирази, що описують параметричну чутливість дендритних гілок різного розміру, як електричних передавальних систем з розподіленими входами та параметрами.
- З'ясовано біофізичний механізм впливу метричної асиметрії дендритних гілок, яка полягає у неоднаковості їх довжин, на неоднорідність їх електричних передавальних властивостей (електричну асиметрію) та вперше показано, що в основі цього впливу лежить різна параметрична чутливість передавальних характеристик асиметричних гілок.
- Запропоновано міру та критерій розрізнення метрично асиметричних гілок за їх передавальними характеристиками, що дозволяє поділяти дендритне галуження на функціонально відмінні домени та вперше визначені параметрична залежність такого поділу, умови та обмеження застосування згаданого критерію. На основі отриманих результатів дано визначення трьом функціональним станам дендритного галуження, які відрізняються провідністю дендритної мембрани.

Теоретичне і практичне значення одержаних результатів. Основне теоретичне значення одержаних результатів полягає у доповненні кабельної теорії дендритів теорією параметричної чутли-

вості передавальних характеристик дендритних кабелів.

Введені міра та критерій розрізнення дендритних гілок за їх електричними передавальними властивостями дозволяють визначити функціонально розрізнені області дендритного галуження, вивчати параметричну залежність такого поділу та визначати різні стани, у які дендритне галуження переходить через зміну питомого опору мембрани. Це має суттєве значення для теорії передавальних властивостей дендритного галуження.

Розроблені чисельні методи та програмні засоби можуть практично використовуватися для реконструкції дендритного галуження з серійних зрізів, аналізу отриманих даних щодо наявності в них морфометричного шуму та для визначення особливостей морфологічної структури нейронів на основі розрахунків електричної структури їх дендритів.

Отримані результати можуть бути використані у наукових дослідженнях та навчальному процесі у вузах при вивченні електричних процесів у морфологічно та біофізично складних нейронах з використанням математичних моделей.

Особистий внесок здобувача. Основні результати, що виносяться на захист, отримані автором самостійно. Зі статей, опублікованих у співавторстві, автором було розроблено програмний засіб реконструкції дендритних розгалужень; з його допомогою був проведений морфометричний аналіз реконструйованих нейронів та отримані кількісні характеристики «морфометричного шуму», який присутній у даних реконструкції [Kaspirzhny A.V. et al., 2002]. Автором зроблений систематичний аналіз функцій чутливості у застосуванні до типових кабельних моделей пасивних дендритів, на основі якого кількісно охарактеризована чутливість передавальних функцій дендритів до зміни мембранної провідності та їх залежність від геометрії дендритів [Korogod S.M., and Kaspirzhny A.V. 2008]. Автором проведений систематичний аналіз зв'язку між метричною та електричною асиметрією дендритів, на основі якого побудовані кількісні критерії розрізнення передавальних функцій метрично асиметричних дендритів, а також встановлені структуро-залежні діапазони значень мембранної провідності, у яких електрична асиметрія є найбільшою [Korogod SM, and Kaspirzhny AV 2011]. У статтях [Каспиржний А.В., 2008] та [Каспиржний А.В., 2009] всі результати отримані автором.

Апробація результатів дисертації. Результати дослідження доповідалися та обговорювалися на наукових конференціях різного рівня та семінарах: Міждержавна науково-методична конференція «Комп'ютерне моделювання» (Дніпродзержинськ, 2001 р.); EU-Thematic Network Neuroinformatics Workshop «Quantitative Neuroanatomy Tools» (Amsterdam, 2001); III з'їзд Українського біофізичного товариства (Львів, 2002 р.); III конференція Українського товариства нейронаук (Слов'янськ, 2005 р.); IV з'їзд Українського біофізичного товариства (Донецьк, 2006 р.); Міжнародна школа «Проблеми експериментальних, клінічних та теоретичних нейронаук» (Дніпропетровськ, 2008 р.); Міжнародна наукова конференція «Біофізичні механізми функціонування живих систем» (Львів, 2008 р.); VI міжнародна науково-технічна конференція «Актуальні питання теоретичної та прикладної біофізики, фізики та хімії» (Севастополь, 2010 р.); XI Международная конференция по бионике, биокibernетике и прикладной биофизике (Київ, 2010 р.); V Конгрес Українського товариства нейронаук (Київ, 2011 р.); міський біофізичний семінар Харківського відділення Українського біофізичного товариства (2007, 2010 рр.); міждержавний українсько-французький семінар, Дніпропетровський національний університет імені О. Гончара (2010 р.); семінар секції молекулярної фізіології Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України (2010 р.).

Публікації. Основні результати дисертації викладено у 13-ти наукових працях, у тому числі в 5 статтях у наукових фахових журналах та в 8 тезах доповідей на міжнародних та національних з'їздах та конференціях.

Структура та обсяг дисертації Дисертація складається зі вступу, шести основних розділів, висновків, списку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації складає 154 сторінки. Дисертація містить 29 рисунків, 2 таблиці. Список використаних джерел (включаючи список публікацій автора – 154 найменувань) займає 15 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність обраної теми, сформульовані мета і задачі дослідження, окреслено наукову новизну, теоретичну та практичну цінність отриманих результатів, наведено загальну

структуру дисертаційної роботи.

У розділі 1 Огляд літератури описані існуючі методи отримання даних про форму та розміри дендритного галуження нейронів, методи та параметри, за допомогою яких характеризується геометрія дендритних галужень, принципи побудови статистичних та імовірнісних моделей кінцевої форми такого галуження. Наведені відомості про механізми генерації та розповсюдження електричних сигналів уздовж дендритів. Описані основні електричні параметри та передавальні характеристики дендритів, як розподілених систем прийому та передавання сигналів, та методи фрагментації дендритного галуження за електричними станами та передавальними властивостями.

У розділі 2 Об'єкти та методи описані об'єкти морфометричних та модельних досліджень, розроблений програмний засіб реконструкції морфологічно складних дендритних розгалужень нейронів із серійних зрізів, інструменти та методи побудови моделей нейронів та їх частин, біофізичні властивості моделей та їх електричні параметри, методи обчислення передавальних характеристик нейронів, представлених функцією відносної ефективності передавання заряду, оригінальний метод та алгоритм виявлення доменної організації електричної структури складних дендритних розгалужень.

Для моделювання передавання струму у нейронах використані об'єкти двох типів. По перше – це реконструйовані дендритні розгалуження нейронів різних типів за даними, отриманими від авторів реконструкції та з вільно доступних баз даних у мережі Internet. Розглянуті реконструкції мотонейронів ядра відвідного нерву щура та спінальних мотонейронів жаби [Horcholle-Bossavit G., et al., 2000], спінальних мотонейронів дорослих кішок [Cullheim S., et al., 1987, Burke R.E., et al., 1992], та [Korogod S., et al., 2000], пірамідних нейронів гіпокампу щурів [Carnevale N.T. et al., 1997, Pyapali G.K. et al., 1998, Cannon R.C. et al., 1999], пірамідних нейронів нової кори [Contreras D. et al., 1997] та нейронів Пуркін'є кори мозочка дорослих морських свинок [Rapp M. at al., 1994] та [Vigot R. and Batini C., 1997, 1999] .

По друге, це спрощені моделі типових елементів складного дендритного галуження – окремі вітки та їх біфуркації. Залежність ефективності передавання електричних сигналів від геометричних та

електричних параметрів вивчалася на асиметричній дендритній бі-фуркації, яка складена з двох віток які виходять зі спільної точки галуження, мають пасивну мембрану, однакові та однорідні діаметри та різну довжину. Вплив складності галуження на розрізнення передавальних властивостей дендритних маршрутів вивчався на моделях стохастичного асиметричного дерева. Ця модель є вибіркою обсягом $n = 20$ однорідних пасивних дендритів, що виходять із соми. Довжини віток є випадковими з рівномірним на інтервалі або нормальним розподілом.

Розглядалася побудована на основі кабельної теорії модель пасивної передачі електричних сигналів у дендритах. Ефективність передавання струму уздовж дендритних маршрутів характеризувалася функцією ефективності перенесення заряду [Barrett J.N., Crill W.E., 1974], яка розраховувалася за методом, використаним у [Korogod S., et al., 2000]. Електрична структура моделей будувалася, як дерево профілів функції ефективності передавання струму у сому від точкових джерел, розрахованих для кожної вітки галуження. Модельні розрахунки для реконструйованих дендритних галужень проведені за допомогою програми NEURON, а для спрощених моделей – за допомогою програми MatLab.

Розроблений метод виявлення та оцінки кількості добре розрізнених груп профілів електричної структури реконструйованих галужень базується на алгоритмі комп'ютерної сегментації растрових зображень за порогом сірого кольору.

У розділі 3 Виявлення ознак морфометричного шуму у даних реконструкції дендритних розгалужень наведено результати дослідження ознак морфометричного шуму у даних реконструкції дендритних розгалужень.

Рисунок 1 демонструє деякі прояви морфометричного шуму – факторів, які знижують точність даних про форму нейрону [Horcholle-Bossavit G., et al., 2000]. На рис. 1 а, та б зображені дві версії реконструкції спінального мотонейрону жаби, (позначені FLMN-B та FLMN-M у оригінальній статті), виконані різними операторами на різному обладнанні. Вони демонструють помітні відмінності (вказані стрілками), які є результатом різних рішень, що приймалися оператором у неоднозначних випадках при реконструкції галуження з серійних зрізів. Цей прояв морфологічного шуму вказує на неодно-

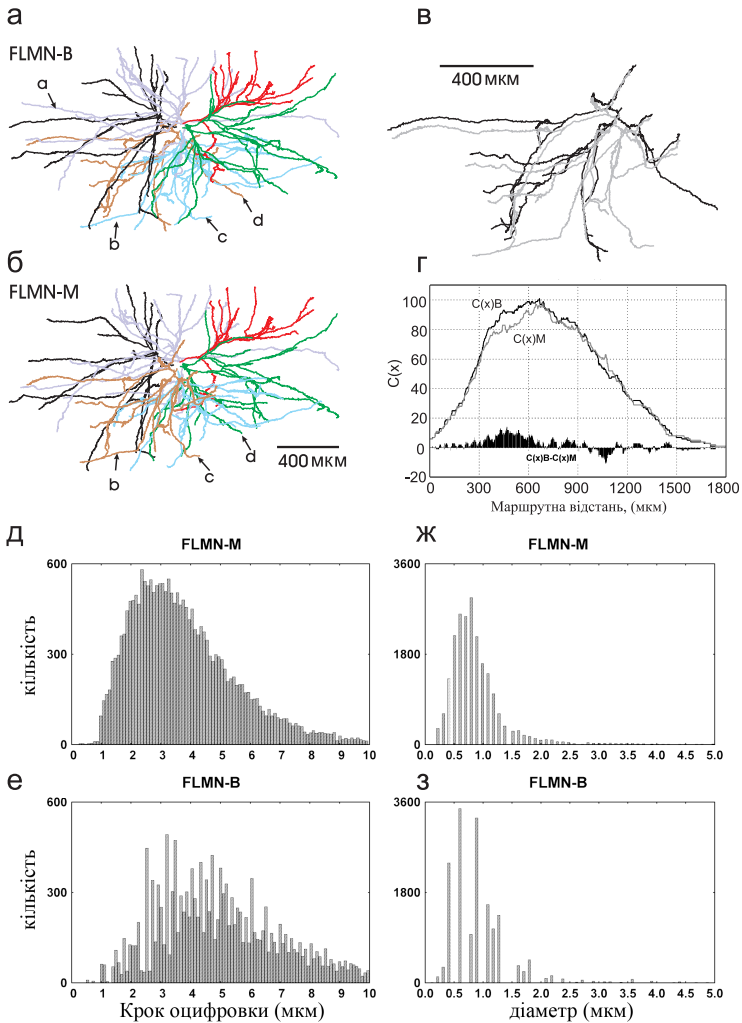


Рисунок 1. Дві версії реконструкції спінального мотонейрону жаби (а) та (б), порівняння версій реконструкції одного з дендритів (в) та функцій складності їх дендритного розгалуження (г). Гістограми розподілу величини кроків оцифровки (д та е), та значень діаметру дендритних гілок (ж та з) демонструють відмінності у якості двох версій реконструкції мотонейрону.

значність реконструкції топології дендритного галуження. На рис. 1 в окремо співставляються дві версії реконструкції одного з дендритів, які наочно демонструють топологічну відмінність. У роботі показано, що розрахована для різних версій реконструкції електрична структура є зручним інструментом виявлення топологічних відмінностей, особливо у ранніх порядках галуження дендрита. На рис. 1 г співставляються функції складності [Korogod S.M., et al., 2000], які показують, що найбільша топологічна відмінність двох версій реконструкції нейрону спостерігається у тій частині галуження, для якої характерна найбільша кількість дендритних маршрутів (тобто, найбільша складність галуження).

Рисунок 1 д та е показують гістограми розподілу величини кроків оцифровки, а рис. ж та з – гістограми значень діаметру всіх точок даних морфології цих реконструкцій нейрону. Ці гістограми характеризують якість отриманих морфологічних даних: чим менше і регулярніше величина кроку оцифровки, тим точніше та акуратніше оператор виконав процедуру збирання первинних даних про лінійні розміри дендритних гілок.

У будь-якому модельному дослідженні із застосуванням даних реконструкції геометрія дендритного галуження є фактором, який сильно впливає на результат моделювання. Таким чином, морфологічний шум може спотворити як результати моделювання, так і висновки, які з них робить дослідник. Тому у наступних розділах вивчається питання про те, наскільки сильно відмінність метричних параметрів дендритного галуження впливає на результати електричного моделювання у різних діапазонах біофізичних параметрів мембрани.

У розділі 4 Особливості електричної структури нейронів, виявлені методом цифрової обробки зображень описується оригінальний метод виявлення особливостей електричної структури нейронів, оснований на методах цифрової обробки зображень. Електрична структура нейрону побудована у вигляді дерева профілів функції $T(x; R_m)$, яка показує, яка частина інжектваного у точці x дендриту електричного заряду досягає соми завдяки пасивному переносу осьовим струмом, розрахованих для кожного дендритного маршруту для різних значень питомого опору мембрани R_m у програмі NEURON. Розроблений метод вирішує задачу виділення

та підрахунку кількості груп профілів електричної структури (які відповідають маршрутам дендритного галуження) з великою внутрішньогруповою близькістю та міжгруповою відмінністю передавальних властивостей. Поріг розрізнення груп профілів запропоновано пов'язати з роздільною можливістю методу порівняння гілок дендрита за ефективністю передачі струму. Запропонований метод сегментації зображення електричної структури нейронів – це моделювання процесу візуального виділення груп щільно розташованих електротонічних профілів.

Електрична структура розглянутих пірамідних нейронів розрахована для різних значень R_m , демонструє характерні закономірності: електрична неоднорідність для довгих гілок апікального дендрита є найбільшою при великому R_m , зменшення питомого опору мембрани зменшує електричну відмінність між гілками. Для коротшого дерева базальних дендритів електрична неоднорідність стає найбільшою при середньому значенні R_m , а при його збільшенні або зменшенні ефективність передачі струму від еквідистантних точок різних базальних маршрутів явно вирівнюється.

На прикладі нейрона n400 розроблений метод сегментації електричної структури дозволив виділити 7 груп профілів при середньому R_m , 4 групи при малому та 2 – при великому R_m . Це кількісно демонструє, що збільшення або зменшення R_m веде до зменшення електричної неоднорідності дендритного галуження, а отже, до ущільнення електричної структури. Результат даного аналізу – підрахунок кількості груп електротонічних профілів може бути використаний при прийнятті рішення щодо кількості функціонально виділених субодиниць або кластерів при вирішенні задачі фрагментації дендритного галуження.

Ще один важливий результат пов'язаний із процедурою пошуку найбільш прийняттого набору параметрів алгоритму: ця процедура дозволяє кількісно оцінити розрізнявальну можливість, за якої виявляється кластерний характер електричної структури цього нейрону. Наприклад, для нейрону n400 при $R_m = 30 \text{ кОм} \cdot \text{см}^2$ оптимальне розрізнення груп профілів досягалося при висоті комірок розбиття $H = 9$ пікселів. При розмірах усього зображення 800×600 пікселів і розмаху електричної структури по вертикалі від 0 до 1, ціна одного пікселя зображення по вертикалі дорівнює $1/600 = 0,00167$ за

шкалою ефективності передачі струму. Це число дозволяє оцінити роздільну здатність за ефективністю передачі струму $\Delta T = 0,015$ (1,5%), якої достатньо для виявлення кластерного характеру електричної структури.

У розділі 5 Параметрична чутливість розподілених передавальних властивостей дендритів виводяться функції чутливості до зміни питомого опору мембрани ефективності передавання струму для пасивного однорідного дендритного кабелю з різними граничними умовами. Дендрит розглядався, як електрична передавальна система із розподіленими параметрами. Згідно до теорії автоматичного управління, такі системи описуються передавальною функцією та функціями параметричної чутливості. Отримані у цій роботі вирази для функцій чутливості та дослідження їх залежності від геометричних (довжина та діаметр) та електричних параметрів моделі є важливим доповненням до пасивної кабельної теорії передавання електричних сигналів у дендритах.

Досліджувалася чутливість функції ефективності передавання струму $T(x)$ до зміни R_m , оскільки питомий опір мембрани є таким параметром, що найбільш сильно варіює та найменш точно визначений. Чутливість $T(x; R_m)$ до R_m є позиційно-залежною функцією і визначається похідною першого порядку функції за параметром, який варіює:

$$S(x; R_m) = \frac{\partial T}{\partial R_m} = \frac{\partial T}{\partial \lambda} \cdot \frac{\partial \lambda}{\partial R_m},$$

де λ – електротонічна стала довжини дендриту.

Функції чутливості $S(x; R_m)$ показані на рис. 2 для однорідного пасивного необмеженого дендриту (**а**) та обмеженого дендриту довжиною $\ell = 800$ мкм з граничними умовами відкритого кінця (**б**) або запечатаного кінця (**в**). $S(x; R_m)$ представлена картою ізоліній у площині змінних $\{x; R_m\}$. Ізолінії формують сімейство замкнених кривих (для обмеженого дендриту із запечатаним кінцем є як замкнені, так і розімкнені ізолінії).

Горизонтальні та вертикальні дотичні до ізоліній визначають координати частинних максимумів функції чутливості першого порядку. Положення цих частинних максимумів на рис. 2 показані пунктирними лініями A та B відповідно. Для моделі необмеженого дендриту та за обох граничних умов було досліджено співвідношення

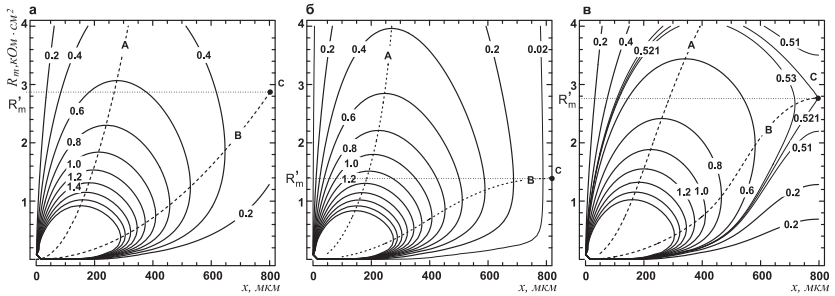


Рисунок 2. Карти ізоліній функції чутливості для нескінченного (а) та обмеженого (б та в) однорідного пасивного дендриту.

між x та R_m^* уздовж ліній A та B . Було виявлено, що для кожної моделі для будь-якої ненульової маршрутної відстані максимальна чутливість досягається при певному єдиному значенні R_m^* , а для будь-якого ненульового та кінцевого значення R_m максимальна чутливість досягається лише у одній точці уздовж дендриту. Чим далі від початку розташована точка дендриту, тим при більшому R_m чутливість стає максимальною. Відповідно, чим більше значення R_m , тим далі від початку дендрита чутливість стає максимальною. Замкнена петлеподібна форма ізоліній означає, що уздовж обох координатних вісей функція чутливості двічі приймає одне й теж саме значення при меншому та більшому значенні обраного параметру. Це означає дзвоноподібну форму кривої чутливості уздовж обох координатних вісей.

Усі розглянуті моделі дендритів демонструють схожий характер локальної зміни чутливості на різних маршрутних відстанях від соми x : існує два діапазону значень R_m , менший $[0, R_m^*]$ та більший (R_m^*, ∞) . Збільшення R_m у меншому діапазоні призводить до збільшення чутливості, а у більшому – до зменшення. Чутливість $S(x; R_m)$ також залежить від діаметра D та питомого опору цитоплазми R_i , тому було досліджено, як значення цих параметрів впливає на функцію чутливості. Було показано, що зміна діаметру та питомого опору мембрани характерним чином спотворюють карту ізоліній функції чутливості, але не впливають на її загальний вигляд та описані

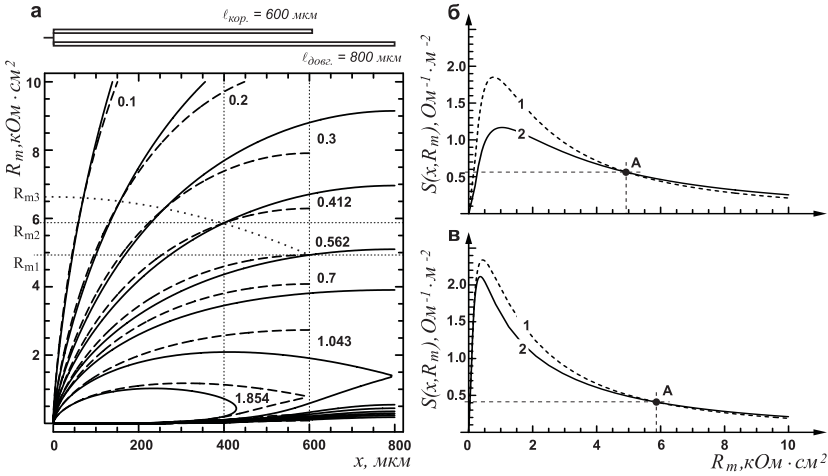


Рисунок 3. а: Функція чутливості для моделі асиметричного дендритного галуження (показана зверху). б, в: Локальна зміна чутливості у точках на маршрутній відстані 600 (рис. б) та 400 мкм (рис. в) для короткої (штрихові лінії 1) та довгої (суцільні лінії 2) гілок.

раніше властивості – змінюються лише конкретні значення.

Типовим явищем для реальних дендритів є кабель, що звужується. Вплив цього фактору на спотворення форми ізольованої чутливості вивчено на моделі дендриту, що експоненційно звужується. Було показано, що ізольовані зберігають свою характерну петлеподібну форму, але зменшення діаметру дендриту призводить до того, що відповідні локальні максимуми чутливості, порівняно із однорідним дендритом, досягаються при меншому R_m для кожної точки на маршруті та ближче до соми при будь-якому R_m .

Вплив довжини дендриту на маршрутні та локальні зміни чутливості передавальної характеристики до варіації питомого опору мембрани вивчено на моделі асиметричного дендритного галуження. Модель (показана зверху на рис: 3, а) складається з двох однорідних пасивних дендритних гілок однакового діаметру ($D = 2$ мкм) та різної довжини ($\ell_{кор.} = 600$ та $\ell_{довг.} = 800$ мкм). На рис: 3, а показані

сімейства ізоліній функції чутливості для цього дендриту. Значення $S(x; R_m)$ вказані у $\text{Om}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ навпроти відповідних ізоліній. Сімейство ізоліній для короткої гілки показане штриховими, а для довгої – суцільними лініями. Кожна пара ізоліній низького рівня (для розглянутої моделі відповідають чутливості $0 < S < 0,562 \text{Om}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) перетинаються у єдиній точці.

Відповідні особливості поведінки функції чутливості для гілок різної довжини показані на графіках локальної зміни чутливості у залежності від питомого опору мембрани для двох різних еквідистантних точок моделі асиметричного дендритного галуження (рис. 3, б та в). Дві пари кривих локальної залежності чутливості від R_m побудовані для пари еквідистантних точок на маршрутній відстані ($x = \ell_{\text{кор.}} = 600 \text{ мкм}$) – рис. 3, б, та для більш проксимальної пари точок ($x = 400 \text{ мкм}$) – рис. 3, в. Для точки, яка належить довгій гілці максимальна чутливість ефективності передавання струму менша, що відповідає результатам дослідження моделі однорідного дендриту із різними кінцевими провідностями витоку. Кожна пара кривих залежності чутливості $S(x; R_m)$ від R_m у еквідистантних точках перетинається у єдиній точці (точка А на рис. 3, б та в) при певному значенні питомого опору мембрани. Точка перетину ділить весь діапазон значень питомого опору мембрани R_m на два піддіапазони – нижній та верхній. У нижньому піддіапазоні значень $R_m < R_m(A)$, чутливість ефективності передавання струму до варіації R_m короткої гілки перевищує чутливість довгої для еквідистантних точок. Таке співвідношення змінюється на протилежне у верхньому піддіапазоні $R_m > R_m(A)$.

Ця властивість ізоліній визначає відношення кривих локальної залежності чутливості для короткого та довгого дендритів від R_m . На будь-якій маршрутній відстані x відповідні дзвоноподібні криві локальної залежності чутливості будуть перетинатися у єдиній точці (точка А на рис. 3, б та в), яка відповідає певному значенню R_m . Для меншого R_m чутливість короткої гілки буде більшою, а для більшого R_m – меншою, ніж для довгої гілки. Ця властивість функції чутливості далі пояснює, як метрична асиметрія дендритного галуження впливає на електротонічну відмінність гілок у різних діапазонах параметрів моделі.

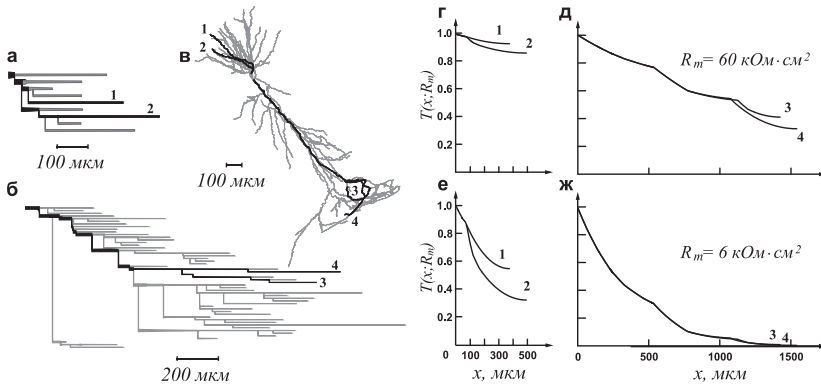


Рисунок 4. Електрична асиметрія реконструйованого дендритного галуження пірамідного нейрону. На дендрограмах одного з базальних (а) та апікального дендриту (б) та на зображенні реконструйованого нейрону (в) товстими лініями виділені пари дендритних маршрутів, для яких розраховані функції ефективності пасивного передавання струму $T(x; R_m)$, представлені, відповідно, на графіках (г) та (е), (д) та (ж).

У розділі 6 Зв'язок між метричною асиметрією та міжмаршрутною неоднорідністю пасивної електричної передачі дендритного галуження за допомогою передавальних функцій та досліджених у цій роботі функцій чутливості вивчався зв'язок між метричною асиметрією та міжмаршрутною неоднорідністю пасивного передавання електричних сигналів дендритним галуженням – електричною асиметрією.

Рисунок 4 демонструє походження задачі, яка вирішується у цьому розділі дисертаційної роботи, на прикладі морфологічної та електричної структур реконструйованого дендритного галуження пірамідного нейрону області CA1 гіпокампу щура. Дендрограми одного типового базального дендриту (а) та всього апікального дендриту (б) демонструють метричну асиметрію сестринських гілок та маршрутів, утворених послідовністю гілок від початку дендриту до термінальної точки, яка полягає у різниці їх фізичних довжин. Як ден-

дрограми (рис. 4, а та б), так і проекція тривимірного зображення дендритного галуження (рис. 4, в) демонструють значну відмінність у розмірах між базальним та апікальним дендритами.

Для ілюстрації відносин між розмірами, метричною асиметрією та мембранною провідністю дендритів з одного боку та їх електричними передавальними властивостями з іншого, обрано типові структурні елементи: асиметрично розгалужені маршрути базального (рис. 4, в, широкі лінії 1 та 2) та апікального (лінії 3 та 4) дендритів. Різниця довжин між базальними маршрутами приблизно дорівнювала різниці довжин апікальних маршрутів. Профілі $T(x)$ уздовж асиметричних маршрутів розходяться, різниця між ними залежить від R_m по-різному для пар маршрутів різної довжини. Найбільше розходження профілів для довших апікальних маршрутів (рис. 4, д) при $R_m = 60,0 \text{ кОм} \cdot \text{см}^2$, а для втричі коротших базальних (рис. 4, е) – при вдесятеро меншому значенні $R_m = 6,0 \text{ кОм} \cdot \text{см}^2$.

Характерні структурні особливості реконструйованих дендритів відтворені на моделях метрично асиметричної біфуркації, яка складена з пари гілок різної довжини (рис. 5, б,г).

У всіх випадках зменшення R_m веде до зменшення $T(x; R_m)$. Для кожної біфуркації різниця передавальних властивостей між сестринськими гілками зі зменшенням R_m змінювалася однаково: сестринські маршрутні профілі $T(x; R_m)$ спочатку розходяться, а потім зходяться. Найбільша різниця у $T(x; R_m)$ завжди мала місце на маршрутній відстані, яка дорівнює довжині коротшої гілки $x = \ell_1$. Чим більший розмір біфуркації, тим більше значення R_m , при якому розходження профілів $T(x; R_m)$ максимальне.

Зміна R_m приводить до зміщення положення межі $x_T(R_m)$, яка відокремлює області (або домени) гілок дендритів залежно від того, чи різниця $\Delta T(x; R_m)$ перевищує критерій δ_T , чи ні. Викликана змінами R_m реконфігурація електричних структур біфуркацій, представлених профілями $T(x; R_m)$ на рис. 5, а та в, пояснюється властивостями їх функцій чутливості $S(x; R_m)$. Функції $S(x; R_m)$ побудовані для дистальних еквідистантних ділянок сестринських гілок для короткої і для довгої біфуркацій при варіації R_m . У кожному випадку крива чутливості для короткої гілки (сіра), розташована вище або нижче кривої, для довгої гілки (чорна) залежно від значення R_m більше або менше певного, залежного від розміру біфуркації,

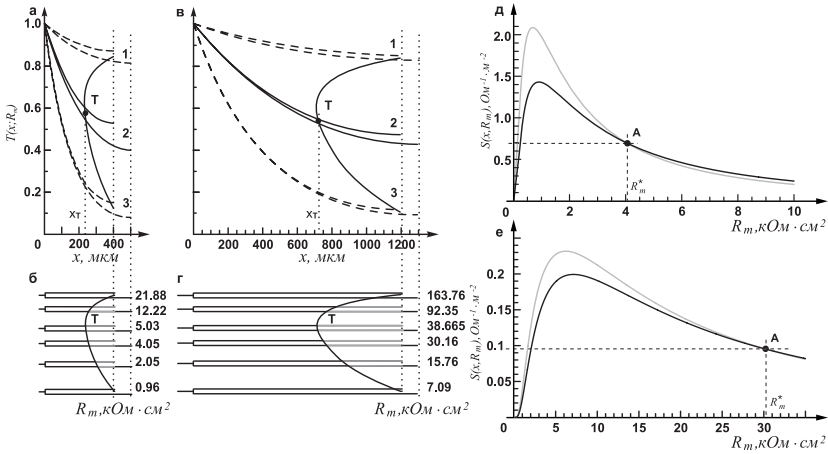


Рисунок 5. Модель асиметричної дендритної біфуркації з різною довжиною гілок та однаковою абсолютною метричною асиметрією. (а, в) – профілі функції $T(x; R_m)$ для різних значень R_m . (б, г) – дендрограми моделей. Лінії “Т” показують, як змінюється положення межі x_T між доменами біфуркації, у межах яких, згідно з критерієм, гілки електрично розрізнені (дистальний домен) та не розрізнені (проксимальний домен). (д, е) – локальна залежність чутливості $S(x; R_m)$ для еквідистантних точок короткої (сіра лінія) та довгої (чорна лінія) першої та другої моделей, відповідно.

значення R_m^* (А). Точка перетину $S(x; R_m)$ для еквідистантних ділянок на сестринських гілках визначає значення R_m^* за якого досягається найбільша для даної біфуркації електрична асиметрія.

Максимальна електрична асиметрія використана як міра для порівняння гілок за їх передавальними властивостями. Критерієм електричного розрізнення обрана величина δ_T , яка дорівнює половині максимальної електричної асиметрії. За цим критерієм біфуркація розділена на проксимальний і дистальний домени, у межах яких електрична асиметрія менша та більша за критерій і гілки вважаються електрично подібними та розрізненими. Значення маршрутною координати, на якій $\Delta T(x; R_m) = \delta_T$, назване межею розрізнення. Лінія

“Т” на рис. 5, а-г показує, зміщення межі розрізнення уздовж дендритної біфуркації при зміні R_m .

Для кожної асиметричної біфуркації можна визначити діапазон $[R_{m1}, R_{m2}]$, у якому гілки мають електрично розрізнювані домени, якщо $R_m \in [R_{m1}, R_{m2}]$ та не мають – за його межами. Отримані результати дозволили визначити три *стани провідності* дендритів [Destexhe A., et al., 2003]. Стан визначено як 1) стан високої провідності, якщо $R_m < R_{m1}$; 2) стан середньої провідності, якщо $R_m \in [R_{m1}, R_{m2}]$; 3) стан низької провідності, якщо $R_m > R_{m2}$. Також вивчено, як ΔT_{max} та R_m^* залежать від розмірів біфуркації та її метричної асиметрії.

Критерій електричної асиметрії поширено для складних реконструйованих дендритних галузень. Показано, що стан середньої провідності досягається у різних діапазонах R_m для базальних та апікального дендритів пірамідного нейрону. Вивчено, наскільки фактор стохастично складної дендритної геометрії впливає на розрізнення гілок та груп гілок за $T(x; R_m)$. Отримані результати дозволяють оцінити, як і наскільки морфологічний шум у даних реконструкції може впливати на результати моделювання.

ВИСНОВКИ

- 1) У нейронах геометрія, зокрема метрична асиметрія закономірно впливає на електричні передавальні властивості дендритів як розгалуженої системи з розподіленими параметрами, котра забезпечує прийом і передачу до тригерної зони сигналів від розподілених синаптичних входів. Зручною для біофізичного аналізу формою передавальної характеристики дендритів є функція відносної ефективності пасивної поздовжньої передачі струму, область значень якої від 0 (повна втрата струму через виток) до 1 (повна відсутність витоку і втрат) визначається електропровідністю дендритної мембрани.
- 2) Отримані у рамках лінійної кабельної теорії дендритів залежні від їх геометрії функції параметричної чутливості вичерпно описують зміни зазначеної передавальної функції, спричинені змінами провідності (опору) дендритної мембрани залежно від інтенсивності вхідних синаптичних сигналів.
- 3) За будь-яких граничних умов і у широких, біологічно обґрун-

тованих діапазонах значень геометричних та електричних параметрів функції чутливості мають однаковий характер, який вказує на те, що чутливість передавальних функцій до зміни мембранної провідності є малою на краях і великою в середині діапазону значень цього параметру, характерних для біологічних нейронів. Для дендритної вітки будь-якого розміру при певному значенні питомої провідності (опору) мембрани функція чутливості досягає максимуму, величина якого зменшується з віддаленням від кореня дендриту - тригерної зони. Це характеристичне значення провідності тим менше (опору - більше), чим більше довжина і/або діаметр вітки.

- 4) Наслідком зазначених особливостей структуро-залежності функцій параметричної чутливості є те, що для будь-якої пари різних за довжиною і/або діаметром (метрично асиметричних) сестринських віток максимуми чутливості мають місце при різних значеннях мембранної провідності. Відповідно до цієї закономірності, між рівновіддаленими від тригерної зони точками сестринських віток виникає різниця у ефективності передачі струму, і ця різниця (а) більш велика при більшій метричній асиметрії віток; (б) максимальна при певному характеристичному для даної структури значенні провідності (опору) мембрани і зменшується при нижчих або вищих, ніж характеристичне, значеннях.
- 5) Максимальна різниця у ефективності передачі струму - максимальна електрична асиметрія, будучи унікальною для даної структури величиною, є основою для побудови кількісних оцінок (критеріїв) електричного розрізнення пар метрично асиметричних віток дендритного галузження. Зокрема, певна частка зазначеної максимальної різниці є зручним для порівняння передавальних властивостей дендритів критерієм, відповідно до якого рівновіддалені від тригерної зони ділянки метрично асиметричних віток за ефективністю передачі струму розрізняються суттєво чи несуттєво, якщо наявна між ними різниця ефективності, перевищує або не перевищує певну частку максимуму, відповідно.
- 6) Маршрутна відстань від тригерної зони ділянок метрично асиметричних віток, для яких електрична асиметрія дорівнює кри-

терію електричного розрізнення, визначає межу між областями дендритного розгалуження, до яких належать вітки, котрі є електрично розрізненими або нерозрізненими. Розмір (протяжність) області, у межах якої вітки можуть бути електрично розрізнені, досягає максимуму при певному значенні провідності (опору) мембрани та зменшується при збільшенні або зменшенні цього параметру.

- 7) Застосування означеного критерію електричного розрізнення метрично асиметричних віток дозволило визначити три функціональні стани дендритного галузження, а саме стани високої та низької провідності, у яких вітки електрично не розрізняються по усій їх довжині, та стан проміжної провідності, у якому вітки розрізняються в межах певної дистальної області.
- 8) Стохастична геометрія дендритів, характерна для природних нейронів, визначає стохастичний характер межі між областями розгалуження, що складаються з електрично розрізнених та нерозрізнених віток, а отже й стохастичний характер діапазону значень опору мембрани, які відповідають стану проміжної провідності. Характерно, що довірчий інтервал зазначеної межі є найвужчим у стані проміжної провідності та розширюється при зростанні (в більшій мірі), та зменшенні (у меншій мірі) мембранної провідності.

Список робіт, опублікованих за темою дисертації:

1. Korogod S. M. Parameter sensitivity of distributed transfer properties of neuronal dendrites: a passive cable approximation / S. M. Korogod, A. V. Kaspirzhny // *Biol. Cybern.* – 2008. – Vol. 98, No. 2. – P. 87-100.
2. Korogod S. M. Spatial heterogeneity of passive electrical transfer properties of neuronal dendrites due to their metrical asymmetry / S. M. Korogod, A. V. Kaspirzhny // *Biol. Cybern.* – 2011. – Vol. 105, No. 5-6. – P. 305-317.
3. Kaspirzhny A. V. Neuronal morphology data bases: morphological noise and assesment of data quality / A. V. Kaspirzhny, P. Gogan, G. Horcholle-Bossavit, S. Tyč-Dumont // *Network: Comput. Neural Syst.* – 2002. – Vol. 13. – P. 357-380.
4. Каспиржный А. В., Особенности электрической структуры нейронных выявлены методом цифровой обработки изображений /

- А. В. Каспиржний // Біофізичний вісник. – 2007. – Т. 19, №2. – С. 80-86.
5. Каспиржний А. В., Влияние случайного сарактера слины ветвей дендритов на пассивную электрическую структуру нейронов: модельное исследование / А. В. Каспиржний // Біофізичний вісник. – 2009. – Т. 22, №1. – С. 68-79.
 6. Каспиржний А. В. Програма реконструкції оцифрованих нейронів / А. В. Каспиржний // «Комп'ютерне моделювання»: збірник тез Міждержавної науково-методичної конференції, 25-27 квітня 2001 р., Дніпродзержинськ. – Дніпродзержинськ, 2001. – С. 161-162.
 7. Каспиржний А. В. Дослідження зв'язку між стохастичними властивостями геометричної та електротонічної структури дендритів / А. В. Каспиржний, С. М. Корогод // збірник тез III з'їзду Українського біофізичного товариства, 8-11 жовтня 2002 р., Львів. – Львів, 2002. – С. 169.
 8. Каспиржний А. В. Електротонічна архітектура виявляє особливості морфології дендритних розгалужень: модельне дослідження реконструйованих нейронів / А. В. Каспиржний // збірник тез III конференції Українського товариства нейронаук (з міжнародною участю), присвяченої 75-річчю Донецького державного медичного університету імені М. Горького, 24-26 травня 2005 р., Слов'янськ. – Донецьк, 2005. – Т. 1, №1, Додаток. – С. 48-49.
 9. Каспиржний А. В. Виявлення особливостей електротонічної архітектури нейронів методами цифрової обробки зображень / А. В. Каспиржний // збірник тез IV з'їзду Українського біофізичного товариства, 19-21 грудня 2006 р., Донецьк. – Донецьк, 2006. – С. 389-391.
 10. Каспиржний А. В. Модельне дослідження впливу стохастичного характеру дендритного галуження нейронів на їх електротонічну структуру», Міжнародна наукова конференція / А. В. Каспиржний // Біофізичні механізми функціонування живих систем : збірник тез Міжнародної наукової конференції, присвяченої 70-річчю з дня народження проф. О.А. Гойди, 16-18 жовтня 2008 р., Львів. – Львів, 2008. – С. 72.

11. Каспиржний А. В. Пространственная неоднородность пассивных электрических передаточных свойств дендритов нейронов, обусловленная их метрической асимметрией / А. В. Каспиржний // Актуальні питання теоретичної та прикладної біофізики, фізики та хімії» БФФХ-2010 : збірник тез VI міжнародної науково-технічної конференції, 26–30 квітня 2010 р., Севастополь. – Севастополь, 2010. – Т. 2. – С. 76-78.
12. Каспиржний А. В. Зв'язок між метричною асиметрією та відмінністю електричних передавальних властивостей дендритів нейронів: модельне дослідження / А. В. Каспиржний // збірник тез XI Международной конференции по бионике, биокибернетике и прикладной биофизике, 4–6 листопада 2010 р., Київ. – Київ, 2010. – С. 46-47.
13. Каспиржний А. В. Дослідження залежності неоднорідності електричних передавальних властивостей дендритів реконструйованого пірамідного нейрону від питомого опору мембрани / А. В. Каспиржний // збірник тез V конгресу Українського товариства нейронаук, 6–10 червня 2011 р., Київ. – Київ, 2011. – С. 83-84.

АНОТАЦІЯ

Каспиржний А. В. Біофізичний механізм та параметрична чутливість електричної передачі у дендритах нейронів. — на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 — біофізика. — Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, 2012.

Дисертація присвячена дослідженню зв'язку між передачею електричних сигналів у дендритах нейронів та структурою дендритного галуження, зокрема, впливу чутливості структуро-залежних пассивних передавальних характеристик дендритів до змін мембранної провідності. Досліджувалися спрощені моделі поодиноких кабелів, дендритних біфуркацій та комп'ютерні реконструкції дендритного галуження різних нейронів. Запропоновано оригінальний метод виявлення та оцінювання кількості щільних груп гілок дендриту зі східними внутрішньогруповими та відмінними міжгруповими електри-

чними передавальними властивостями. Вперше детально досліджено параметричну чутливість дендритних гілок різних розмірів, як електричних передавальних систем з розподіленими входами та параметрами. Функції чутливості використано для розкриття біофізичного механізму, котрий лежить в основі розрізнення гілок дендритного галуження за їх електричними передавальними властивостями.

Ключові слова: нейрони, дендрити, реконструкція, кабельна теорія, передавальні функції, метрична асиметрія, електрична асиметрія, параметрична чутливість, стан провідності, моделювання.

АННОТАЦІЯ

Каспиржний А. В. Биофизический механизм и параметрическая чувствительность электрической передачи в дендритах нейронов. — На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.00.02—биофизика. — Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харьков, 2012.

Диссертация посвящена исследованию связи между передачей электрических сигналов в дендритах нейронов и структурой дендритного ветвления, в частности, влияния чувствительности структурозависимых пассивных передаточных характеристик дендритов к изменениям мембранной проводимости. Исследовались упрощенные модели одиночных кабелей, простых дендритных бифуркаций и компьютерные реконструкции дендритного ветвления различных нейронов. Предложен оригинальный метод выявления и оценки количества плотных групп ветвей дендритов со сходными внутригрупповыми и отличными межгрупповыми электрическими передаточными свойствами. Впервые детально исследована параметрическая чувствительность дендритных веток различных размеров, как электрических передаточных систем с распределенными входами и параметрами. Функции чувствительности использованы для раскрытия биофизического механизма, лежащего в основе различения ветвей дендритного ветвления по их электрическим передаточным свойствам.

Ключевые слова: нейроны, дендриты, реконструкция, кабельная теория, передаточные функции, метрическая асимметрия, электри-

ческая асимметрия, параметрическая чувствительность, состояние проводимости, моделирование.

SUMMARY

Kaspirzhny A. V. Biophysical mechanism and parametric sensitivity of the electrical transmission in the neuronal dendrites. — Manuscript.

Thesis for a candidate degree by speciality 03.00.02 — Biophysics. — V. N. Karasin Kharkiv National University, Kharkiv, 2012

The thesis is devoted to research the relationship between the transfer of electrical signals in the dendrites of neurons and dendritic branching structure, in particular, the influence of the sensitivity of structure-dependent passive transfer characteristics of the dendrites to changes in membrane conductance. Simulations were performed with a simplified model of single cables, simple dendritic bifurcations and computer reconstructions of dendritic branching of different neurons. The original method of identifying and estimating the number of the dense groups of dendritic branches with the in-group similarity and between-group difference in electrical transfer properties was proposed. For the first time the parametric sensitivity of the dendritic branches of various sizes, as the electric transmission systems with distributed inputs and parameters was investigated. Sensitivity function was used for the disclosure of the biophysical mechanism underlying the differentiation of dendritic branches of the bifurcation in their electric transfer properties.

Key words: neurons, dendrites, reconstruction, cable theory, transfer function, metrical asymmetry, electrical asymmetry, parameter sensitivity, conductance state, modeling.

Підписано до друку 10.08.2012. Формат $60 \times 90^{1/16}$. Папір друкарський. Друк плоский. Гарнітура Times New Roman. Умовн. друк. арк. 1,0. Замовлення № . Тираж 100 примірників.

49050, м. Дніпропетровськ, вул. Наукова, 5. Друкарня ДНУ.