

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність проблеми.** Велика складність і різноманіття форм відрізняє нейрони – основні структурні і функціональні елементи нервової системи – від клітин всіх інших тканин організму. Форму нейрону в основному визначає його дендритне розгалуження, котре є основним місцем розташування синаптичних входів (близько 90% загальної чисельності) [Cullheim, 1978; Birinyi et al., 1992]. Дендритам, їх структурі здавна відводилася важлива роль у функціонуванні нервових клітин [Cajal, 1897, 1911, 1923], найголовніше у функції передачі сигналів (пасивної [Rall, 1959] або, пізніше, активної [Llinàs a. Nicholson, 1971; Llinàs a. Hess, 1976]) від численних дендритних синапсів (до  $10^4$  на одну клітину [Cullheim, 1978; Birinyi et al., 1992]) до тригерної зони в області соми. Саме там, згідно із домінуючими теоріями, формується вихідний сигнал нейрону [Granit et al., 1966]. В останні 10-15 років дослідження на детальних біофізичних моделях нейронів з використанням даних комп'ютерної реконструкції дендритних розгалужень наочно продемонстрували істотний вплив дендритної геометрії як на передачу синаптичних сигналів до соми [Bras et al. 1987, 1993; Korogod et al., 1994, 2000], так і на формування типу вихідних сигналів [Mainen a. Sejnowski, 1996; Fohlmeister a. Miller, 1997; Korogod a. Туць-Dumont, 2009]. Наявність цілих наборів різнотипних потенціалзалежних іонних каналів у дендритній мембрані нейронів різних відділів мозку, зокрема у пірамідних нейронах нової кори [Schwindt a. Crill, 1995; Stuart a. Sakmann, 1994; Crill, 1999] і гіпокампу [Magee a. Johnston, 1995], нейронах Пуркін'є мозочка [Llinàs a. Sugimori, 1980] та ін., породжує думку про те, що роль дендритів не обмежується їхньою участю у трансформованні вхідних сигналів у вихідні, а є істотним фактором активного формування власного патерну вихідної активності нейрона. Біофізичні механізми, які визначають роль геометрії дендритів нервових клітин у перетвореннях «вхід-вихід», вивчені ще недостатньо, а механізми, що лежать в основі згаданої патерн-формуючої ролі активних дендритів, до сьогодні практично не досліджувалися. Ці обставини і мотивували виконання даної дисертаційної роботи.

Активність ЦНС є нерозривною комбінацією процесів, які умовно класифікуються як викликані зовнішньою дією і власні (*intrinsic*). На клітинному рівні ці складові активності можуть бути виражені по-різному, залежно від функціонального призначення нейрону, його стану та інших чинників. Так, домінуючими процесами у нейронах сенсорних систем є викликані, а у клітинах-пейсмейкерах – власні. Абсолютне домінування процесів одного із згаданих типів нехарактерне для переважної більшості центральних нейронів, котрі, завдяки численным міжнейронним зв'язкам, утворюють складні мережі. Залежно від інтенсивності власних процесів клітини мережі по-різному відкликаються на сигнали, отримані через міжнейронні зв'язки. Це породжує проблему визначення

архітектурозалежних і елементозалежних особливостей нейронної активності як на клітинному, так і на мережевому рівні. Складні патерни імпульсної активності, характерні для центральних нейронів, згідно з домінуючою точкою зору розглядалися як результат саме міжнейронної взаємодії, складним чином організованої у просторі нейронної популяції (мережі) і часі. Необхідність перегляду таких уявлень, особливо щодо нейронів із складною геометрією дендритів і активними електричними властивостями дендритної мембрани, стала очевидною після роботи Майнена і Сейновського [Mainen a. Sejnowski, 1996], які на моделях різних типів неокортикальних нейронів з реконструйованими дендритними розгалуженнями продемонстрували істотну залежність патерну імпульсації на виході поодинокого нейрону від геометрії дендритного розгалуження останнього. Подальші роботи [Fohlmeister a. Miller, 1997, та ін.] розширили перелік прикладів такої залежності. Зазначені демонстрації, будучи в основному феноменологічними, поставили актуальну проблему розкриття закономірностей впливу нелінійних мембранних властивостей та складної структури нейронів, яка визначається їх дендритними розгалуженнями, на формування численних специфічних патернів вихідної імпульсації. Складовою частиною цієї загальної і багатогранної проблеми структурнофункціональної організації нейронів є проблема розкриття біофізичних механізмів, що лежать в основі згаданих вище закономірностей формування власної електричної активності нервових клітин – проблеми, без вирішення якої неможливо з'ясувати закономірності поєднання власних і викликаних електричних процесів у нейронах при генерації складних патернів вихідних сигналів; ці патерни у сучасній літературі дістали назву «нейронних кодів». Дана дисертаційна робота зосереджена саме на біофізичному аспекті цієї актуальної проблеми.

**Зв'язок з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана у Дніпропетровському відділенні Міжнародного центру молекулярної фізіології НАНУ за держбюджетними темами «Дослідження природи електричної мультистабільності нейронів» (держреєстраційний №0103U0033465), «Біофізичні механізми структурозалежності вихідного сигналу нейронів» (держреєстраційний №0104U002758), «Біофізичні механізми перебудови авторитмічної активності нейронів залежно від просторово-часової організації дії дендритних синапсів» (держреєстраційний №0104U002758), «Механізми формування активності нейронів і нейронних мереж гіпокампу під впливом тонічної активації дендритних хеморецепторів» (держреєстраційний №0110U000541). Частково робота виконувалася у науково-дослідній лабораторії біофізики і біоелектроніки Дніпропетровського національного університету за держбюджетними темами «Механізми сполучення електрогенезу і форми клітин нервової системи, що розвиваються» (держреєстраційний № 0199U001305), «Роль просторової організації кальцієвих каналів і депо у перетворенні сигналів у

нейронах» (держреєстраційний № 0105U000360), «Роль дендритів з нелінійною мембраною у формуванні нейронного коду» (держреєстраційний №0108U000626), а також у рамках міжнародного наукового співробітництва у Відділенні клітинної нейрокібернетики Національного центру наукових досліджень Франції (Марсель) та на кафедрі фізіології Бернського університету (Швейцарія).

**Мета і задачі дослідження.** *Мета* дисертаційної роботи – використовуючи методи математичного моделювання, з'ясувати біофізичні механізми і закономірності, котрі визначають вплив геометрії і активних мембранних властивостей дендритів на формування складних власних патернів електричної активності нейронів (нейронних кодів). Для досягнення даної мети вирішувалися наступні *задачі*:

1. Розробити моделі центральних нейронів різних типів (пірамідні нейрони нової кори, нейрони Пуркін'є мозочка, мотонейрони спинного мозку та стовбура головного мозку) з активними властивостями дендритної мембрани та складною геометрією дендритного розгалуження (як нативною, отриманою в результаті комп'ютерної реконструкції біологічних прижиттєво забарвлених клітин, так і модифікованою з використанням віртуальної дисекції окремих структурних елементів для конкретизації функціональної ролі останніх.

2. Визначити локальні стаціонарні і динамічні вольт-амперні характеристики (ВАХ) парціальних і сумарних струмів через іонні канали, притаманні дендритній мембрані нейронів різних типів; на основі таких ВАХ визначити кількість, тип і стабільність стаціонарних електричних станів, в яких може знаходитися нейрон, оцінити тривалість (час життя) динамічних станів дендритної мембрани.

3. З'ясувати закономірності електричної взаємодії між різними частинами дендритної структури нейрона та впливів цієї взаємодії на стаціонарні і динамічні електричні стани дендритного розгалуження в цілому та його складових частин.

4. Охарактеризувати просторово-часові патерни електричної активності у реконструйованих дендритних розгалуженнях модельних нейронів під час генерації на виході імпульсних послідовностей (нейронних кодів) різного типу і складності; на основі таких порівняльних досліджень визначити конкретні ролі, які відіграють у формуванні нейронних кодів тип ВАХ дендритної мембрани, складність, розмір (протяжність) та метрична асиметрія дендритного розгалуження.

*Об'єкт дослідження* – реконструйовані дендритні розгалуження прижиттєво забарвлених нейронів, математичні моделі нейронів та їх складових частин. *Предмет дослідження* – біофізичні механізми, котрі визначають впливи складної геометрії та нелінійних електричних властивостей мембрани дендритних розгалужень нейрона на формування складних паттернів його імпульсної активності. *Методи дослідження* –

математичне комп'ютерне моделювання електричних і фізико-хімічних процесів у нейронах; комп'ютерна реконструкція дендритних розгалужень прижиттєво забарвлених клітин; статична і динамічна фіксація потенціалу у конфігураціях «відокремлена ділянка мембрани» та «ціла клітина»; вимірювання ВАХ парціальних і сумарних мембранних струмів; методи наближення функцій.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше розкриті біофізичні механізми, котрі визначають генерацію власних складних (включно із стохастичними) патернів вихідних сигналів у нейронах із дендритами, що мають складну асиметричну геометрію галуження і нелінійні електричні мембранні властивості. Вперше виявлені загальні для нейронів різних типів (із специфічними дендритною геометрією та складом іонних каналів плазматичної мембрани) закономірності зв'язку між складністю і регулярністю часового патерну на виході клітини та інтенсивністю тонічного синаптичного збудження, однорідно розподіленого по дендритах. Продемонстрований загальний феномен генерації простих періодичних імпульсних патернів низької або високої частоти при, відповідно, низькій або високій інтенсивності згаданого збудження та генерації складних періодичних або аперіодичних (стохастичних) патернів при інтенсивності збудження у певному проміжному діапазоні, залежному від розміру дендритного розгалуження. Вперше визначені конкретні ролі розміру, метричної асиметрії і складності дендритного розгалуження, а також кінетичних властивостей іонних каналів, що населяють дендритну мембрану, у формуванні особливостей просторово-часових патернів електричної активності нейронів різних типів. Вперше виявлена тонка організація електричних станів збудливих мембран – показана можливість існування в них множини станів збудження, котрі відрізняються за рівнями, часом виникнення і тривалістю життя мембранної деполяризації, що має тенденцію до самопідримування.

**Практичне значення одержаних результатів.** Дана робота має фундаментальне теоретичне значення, оскільки вона розкриває біофізичну природу і закономірності генерації власних складних патернів вихідних сигналів – нейронних імпульсних кодів – у нейронах різних типів, що мають складну геометрію та нелінійні електричні властивості дендритів. Практичне значення результатів роботи пов'язане з можливістю їх використання у подальших дослідженнях відповідного напрямку та у навчальному процесі вищих навчальних закладів при підготовці фахівців із таких дисциплін, як біофізика, фізіологія і функціональна морфологія нервової системи, біологічна і медична кібернетика, нейрокомп'ютери та нейрообчислення, а також у суміжних галузях знання.

**Особистий внесок здобувача.** Автор самостійно розробляла комп'ютерні моделі нейронів різних типів та методики обчислювальних експериментів; в частині, що стосується розподіленого тонічного

синаптичного збудження, удосконалила попередні моделі неокортикальних нейронів; самостійно проводила більшу частину обчислювальних експериментів, аналіз, обробку й узагальнення результатів. Деякі обчислювальні експерименти були проведені разом з іншими співавторами опублікованих робіт, д.б.н., проф. С. М. Корогодом, к.б.н. Т. С. Новородовською. Проф. С. М. Корогод також брав активну участь у розробці концепції роботи. В роботі використовувалося унікальне програмне забезпечення візуалізації результатів моделювання, створене с.н.с. В. І. Кукушкою.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення роботи доповідалися та обговорювалися на щорічних Зборах товариства нейронаук США (Нью-Орлеан, 2000; Сан-Дієго, 2010), на Європейських форумах нейронаук (Париж, 2002; Лісабон, 2004; Відень, 2006; Женева, 2008; Амстердам, 2010), конференції Французького товариства нейронаук «Мотонейрони в усіх станах» (Марсель, 2001), конгресі Міжнародної організації досліджень мозку (Прага, 2003), на міжнародному симпозиумі з аміотрофного латерального склерозу та мотонейронних хвороб (Орlando, 2010), на з'їздах Українського біофізичного товариства (Львів, 2002; Київ, 2003; Донецьк, 2006) та Українського товариства нейронаук (Донецьк, 2005; Київ, 2011), на семінарах Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця (2002-2012) та Відділення клітинної нейрокібернетики Національного центру наукових досліджень Франції (Марсель, 2004, 2005).

**Публікації.** За результатами роботи опубліковано 21 статтю у фахових вітчизняних та міжнародних журналах, а також тези 32 доповідей у матеріалах наукових форумів.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису методів дослідження, власних результатів та обговорення, заключних положень та висновків. Список використаних джерел включає 330 найменувань. Роботу викладено на 370 сторінках, ілюстровано однією таблицею та 91 рисунком.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### Матеріали і методи досліджень

**Загальна характеристика об'єктів досліджень.** Дослідження здійснені на створених у програмному середовищі NEURON [Hines, 1993; Carnevale a. Hines, 2001] комп'ютерних моделях нейронів з дендритними розгалуженнями, котрі були реконструйовані з використанням комп'ютеризованих мікроскопних систем, із препаратів прижиттєво забарвлених клітин. Це були пірамідні нейрони шару 5 (15 клітин, ідентифікатори C1-C15 у нашій базі даних реконструйованих клітин) і шару 3

(одна клітина, C16) нової кори, нейрони Пуркін'є мозочка (6 клітин, P1-P6), мотонейрони спинного мозку (клітини M1 і M2) та ядра відвідного нерву (*n. abducens*) стовбура головного мозку (клітини A1 і A2). Дані щодо цих клітин люб'язно надали партнери за програмами міжнародного наукового співробітництва М. Ларкум (кафедра фізіології Бернського університету – нейрони C1-C12), Е. Бра та Ж. Боссаві (Відділення клітинної нейрокібернетики Національного центру наукових досліджень Франції, Марсель, нейрони A1, A2 та P1), Ж. Дюран (лабораторія фізіопатології рухів Інституту нейронаук, Марсель, нейрони M1, M2). Клітини C13 і C14 реконструйовані особисто дисертантом протягом роботи у Бернському університеті. Решту відомостей щодо реконструйованих і описаних різними авторами клітин отримано з відкритих баз даних, зокрема щодо нейронів C15 і C16 [Mainen a. Sejnowski, 1996] – з ресурсу <http://senselab.med.yale.edu/ModelDB/> (номер доступу 2488); P2 і P3 [Roth a. Hausser, 2001] та P4-P6 [Rapp et al., 1994] – з ресурсу <http://www.dendrite.org/dendritica-1.0/batchback/data/cells>). Досліджували також спрощені одно- і багатокомпаратментні моделі структурних частин нейронів (ділянок мембрани, окремих дендритів, соми та аксону).

**Морфологія.** Структура кожного модельного нейрону включала в себе реконструйоване дендритне розгалуження та стандартизовані сому і аксон, що мали характерні для нейронів даного типу розміри. Оцифровані дендрити, представлені тривимірними образами і дендрограмами (наприклад рис. 1, А; рис. 4, A1-A4), морфометрично характеризували функціями складності та метричної асиметрії, обумовленої різницею довжин і/або діаметрів сестринських гілок, та маршрутів. *Функція складності* визначалася кількістю гілок, нарахованих на різних маршрутних відстанях від соми (рис. 1, Б; рис. 4, B1-B4). *Функція асиметрії* представлялася гістограмою розподілу довжин дендритних маршрутів, тобто маршрутних відстаней дендритних закінчень від соми (рис. 1, В; рис. 4, B1-B4).

**Біофізичні властивості.** Модельні нейрони кожного типу мали пасивні (лінійні) або активні (нелінійні) електричні властивості мембрани. *Пірамідні нейрони шарів 3 і 5 нової кори* мали однакові типи і розподіли потенціалзалежних мембранних провідностей, відповідно до описаних у літературі та використаних у попередніх моделях [Mainen a. Sejnowski, 1996]. Їх дендритна мембрана містила канали таких струмів: натрієвого швидкого, що інактивується [Mainen et al., 1995; Hamill et al., 1991], калієвого швидкого, що не інактивується [Mainen et al., 1995; Hamill et al., 1991], кальцієвого високопорогового, що інактивується [Reuveni et al., 1993], калієвого повільного, що не інактивується (мускаринового типу) [Gutfreund et al., 1995], калієвого  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного [Sloper a. Powell, 1978], а також струму пасивного витоку. Сомі і дендрити містили також механізм регуляції внутрішньоклітинної концентрації кальцію  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , що урахував надходження  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазму через канали й видалення цього іону з

примембранного шару цитоплазми (завдяки дії насосів і дифузії у глибинні шари цитозолу і т. п.). Вплив дендритних шипиків ураховували за допомогою масштабування мембранних параметрів коефіцієнтом, залежним від поверхневої щільності шипиків. У ряді обчислювальних експериментів дендритна мембрана включала в себе також незалежну від мембранного потенціалу провідність  $G_s$  глутаматергічного синаптичного струму (AMPA-типу ( $\alpha$ -аміно-3-гідроксил-5-метил-4-ізоксазол-пропионат), потенціал рівноваги 0 мВ). У нейронах Пуркін'є типи і розподіли мембранних провідностей були подібними до описаних [DeSchutter a. Bower, 1994; Miyasho et al., 2001]. Дендритна мембрана містила канали, що проводили такі струми: низькопорогові  $\text{Ca}^{2+}$ -струми двох типів, T і R [Llinàs et al., 1989],  $\text{Ca}^{2+}$ -струм, що не інактивується, P-типу [Llinàs et al., 1989], два типи низькопорогових калієвих струмів, що швидко (A) і повільно (D) інактивуються;  $\text{K}^+$ -струм затриманого випрямлення [Hirano a. Nagiawara, 1989; Yamada et al., 1989],  $\text{K}^+$ -струм такий, що не інактивується (мускаринового типу, [Gutfreund et al., 1995]),  $\text{Ca}^{2+}$ -залежні струми високо- і низькопорогові BK- і SK-типів [Latorre et al., 1989], а також струм пасивного витоку. Сома, аксонний пагорбок та початковий сегмент аксону, поряд із переліченими вище провідностями, містили також провідність калієвого струму затриманого випрямлення [DeSchutter a. Bower 1994; Miyasho et al., 2001]. Провідності мієлінізованого аксону, а також механізми регуляції внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  були подібними до таких у пірамідних нейронах (див. вище). Питомий опір цитоплазми  $R_i=250$  Ом·см був однорідним по всій клітині [Rapp, 1994]. Питома ємність мембрани була  $C_m=0,8$  мкФ/см<sup>2</sup> в сомі і дендритних гілках без шипиків або  $C_m=1,5$  мкФ/см<sup>2</sup> у гілках з шипиками [Shelton, 1985]. У пагорбку, початковому сегменті і у перетинах Ранв'є аксону питомі ємність і провідність мембрани були відповідно  $C_m=0,75$  мкФ/см<sup>2</sup> і  $G_m=0,033$  мСм/см<sup>2</sup>, а на мієлінізованих ділянках –  $C_m=0,04$  мкФ/см<sup>2</sup> і  $G_m=20$  мСм/см<sup>2</sup>, відповідно. У нейронів *n. abducens* мембрана соми мала провідності швидкого натрієвого струму, що інактивується, і калієвого струму затриманого випрямлення [Fohlmeister a. Miller, 1997; Magee, 1999], а також провідності «стійкого» натрієвого струму, що не інактивується [Gabrielaitis et al., 2011], низькопорогового кальцієвого струму, що інактивується, T-типу [Russier et al., 2003; Migliore a. Shepherd, 2002],  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного калієвого струму [Latorre et al., 1983] і струму пасивного витоку. Мембрана дендритів мала нелінійні електричні властивості завдяки наявності потенціалзалежної провідності  $G_s$  глутаматергічного синаптичного струму (НМДА-типу (N-метіл-D-аспартат), потенціал рівноваги 0 мВ) із переважаючим кальцієвим компонентом та кінетичними характеристиками, описаними раніше. Крім того, дендритна мембрана мала провідності  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного калієвого струму [Latorre et al., 1983] і струму пасивного витоку. Сома і дендрити також мали вищезгаданий механізм регуляції  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ . Біофізичні властивості мієлінізованого аксону були подібними до описаних

вище у нейронів інших типів. *Спинальні мотонейрони* мали типи і розподіли активних мембранних провідностей, подібні до описаних у літературі щодо мотонейронів кішки [El Basiouny a. Mushahwar, 2007], але модифіковані нами для моделей мотонейронів миші. Мембрана дендритів містила провідності кальцієвого низькопорогового струму (LVA-струму, [Reuveni et al., 1993]),  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного калієвого струму ВК-типу [Sloper a. Powell, 1978], а також струму пасивного витоку. Мембрана соми, пагорбку і початкового сегменту аксону мала потенціалзалежні провідності натрієвих струмів (швидкого і стійкого), калієвого струму затриманого випрямлення і струму пасивного витоку. Крім того, мембрана соми мала провідності кальцієвого струму N-типу і  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного калієвого струму. Сома і дендрити також мали механізм регуляції  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ . Цей механізм, а також електричні властивості мієлінізованого аксону були такими ж, як у вищезгаданих модельних нейронах інших типів. Питомі опір цитоплазми  $R_i = 80 \text{ Ом}\cdot\text{см}$  і ємність мембрани  $C_m = 1 \text{ мкФ}/\text{см}^2$  були однорідними по всій клітині (окрім мієлінізованих сегментів, де  $C_m = 0,04 \text{ мкФ}/\text{см}^2$ ). Усі струми описували кінетичними рівняннями типу рівнянь Ходжкіна-Хакслі, котрі інтегрували у часі з кроком 250 мкс. Пасивні мембранні властивості у моделей, на котрих досліджували електричну структуру, характеризувалися функцією відносної ефективності передачі струму  $T(x)$  (рис. 1, Г), розрахованою при різних значеннях питомої провідності дендритної мембрани  $G_m$ , котрі відповідали рівням активації іонних каналів. У таких моделях пасивна провідність мембрани  $G_m$  була однорідною всюди, і її величину варіювали у широкому діапазоні (див. нижче).

**Характеристики електричних станів мембрани нейронів.** Електричні властивості іонних каналів, локалізованих у мембрані тих чи інших частин модельних нейронів, характеризували локальними ВАХ – стаціонарними (сВАХ) і динамічними (нестаціонарними, миттєвими – мВАХ). мВАХ будували, використовуючи протокол ступінчастої фіксації потенціалу. Для кожного моменту часу, відрахованого від початку східця, отримували пару значень фіксованої напруги і фіксуємого струму. Множина таких пар для різних значень напруги складала мВАХ для даного моменту, а сукупність мВАХ для послідовних моментів складала кінцеве сімейство динамічних ВАХ. Динамічні електричні стани мембрани відображали також діаграмами еволюції (динаміки) у часі точок нульового струму мВАХ, тобто мембранних потенціалів, при яких досягався баланс вхідних і вихідних іонних струмів. Такі точки на гілці позитивного нахилу мВАХ, характеризувалися як точки квазістійкого стану, а та з них, котра відповідала високій деполіаризації (*upstate*), розглядалася як індикатор збудженого стану, на якому зосереджували увагу.

**Передавальні електричні властивості дендритів** характеризували функцією відносної ефективності соматопетальної передачі струму  $T(x)$ , визначеної в роботі [Barrett a. Crill, 1974], та відповідною функцією



параметричної чутливості  $S(x)$ . З огляду на «реципрокність щодо напрямку передачі» (*directional reciprocity*) соматопетального затухання струму і соматофугального затухання напруги уздовж дендритів з пасивною мембраною [Carnevale a. Johnston 1982; Korogod, 1996], для визначення  $T(x)$  прикладали постійну напругу до соми і вимірювали стаціонарні мембранні потенціали уздовж дендритів на різних маршрутних відстанях  $x$  від соми ( $x=0$ ). Функцію  $T(x)$  обчислювали як відношення  $T(x)=(E(x)-E_r)/(E(0)-E_r)$ , де  $E(x)$  і  $E(0)$  – мембранні потенціали в точці  $x$  дендриту і в сомі відповідно;  $E_r$  – мембранний потенціал спокою, однаковий по усьому нейрону. Функція параметричної чутливості виду  $S(x)=dT(x;R_m)/dR_m$  характеризувала зміни передавальної функції дендритного розгалуження  $T(x)$ , спричинені змінами питомого опору (або питомої провідності  $G_m=1/R_m$ ) мембрани залежно від рівня активації іонних каналів. Параметричну чутливість передавальних властивостей розгалуження в цілому характеризували також середнім розходженням просторових профілів функції  $T(x)$  при різних значеннях  $G_m=1/R_m$  у певному діапазоні. Для кожної  $G_m$  в цьому діапазоні обчислювали різницю значень функції  $\Delta T(x)$  між парами точок, розташованих на однаковій відстані  $x$  від спільного вузла галузження (а отже й від соми), але на різних «сестринських» гілках, та отримували середнє значення цієї різниці  $\overline{\Delta T(x)}$  по множині усіх таких пар досліджуваного розгалуження (рис. 1, Г). Кінцевий результат представляли графіками залежності середньої різниці  $\overline{\Delta T(x)}$  від питомої провідності для усього дендритного розгалуження або його окремих частин (наприклад, для апікальних і базальних дендритів пірамідного нейрону – рис. 5, A5).

**Протоколи стимуляції при дослідженнях розрядних властивостей нейронів.** Використовували *електричні (командні напруги)* і *синаптичні (тонічна або фазична активація синапсів)* стимули. Протоколи стимуляції були подібними до звичайно використовуваних у електрофізіологічних експериментах. Це були прикладіння до соми прямокутних або трикутних (із рівнотривалими фазами зростання і спаду) поштовхів деполяризуючого струму. Здебільшого використовували просторово однорідну тонічну активацію збуджуючих синапсів, котру моделювали внесенням мембранної провідності  $G_s$ , підключеної до мембранної електрорушійної сили  $E_s=0$  мВ. Різним рівням такої активації відповідали певні значення  $G_s$ , постійні у часі і однорідні по всій мембранній поверхні дендритів. У разі фазичної активації синапсу певної локалізації внесена провідність змінювалася у часі як асиметрична дзвіноподібна так звана «альфа-функція» [Hines a. Carnevale, 2001]:  $g_s(t) = 0$ , якщо  $t < t_{act}$  або  $g_s(t) = g_{max} \cdot ((t - t_{act})/\tau_s) \cdot \exp(- (t - t_{act})/\tau_s)$ , якщо  $t \geq t_{act}$ , де  $g_{max}$  – максимальна (пікова) провідність, пропорційна інтенсивності синаптичної активації;  $t_{act}$  – час початку активації синапсу потенціалом дії,  $\tau_s$  – час досягнення пікового значення  $g_{max}$ .

**Інструмент моделювання – програмне середовище NEURON.** Усі використані моделі були нами побудовані і досліджені у програмному

середовищі NEURON [Hines, 1993; Hines a. Carnevale, 2001]. Розроблено або доповнено програмні модулі, що втілили моделі іонних струмів, а також спеціальні модулі забезпечення вищеописаних протоколів тонічної та/або «фазної» синаптичної активації множинними пресинаптичними імпульсами; обчислені мембранні потенціали, парціальні і сумарні провідності і струми, концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  та інші параметри і характеристики стану, котрі зокрема представляли графіками залежності від маршрутної відстані уздовж дендритів, або кодували кольором і наносили у вигляді просторових карт на дендрограму та/або тривимірне зображення реконструйованого дендритного розгалуження досліджуваного нейрону.

**Аналіз послідовностей потенціалів дії (ПД).** Послідовності ПД – патерни імпульсації або нейронні коди – визначали за моментами виникнення ПД на виході модельного нейрону. Сукупність різних патернів складала репертуар нейронної активності, і багатство цього репертуару визначалося кількістю різних типів патернів у ідентичних діапазонах інтенсивності синаптичної активації. Тип патерну характеризувався за ознаками періодичності або аперіодичності, складності і частоти. *Періодичний (регулярний)*, патерн складався з фрагментів (послідовностей елементарних подій – індивідуальних ПД і/або їх пачок), котрі повторювалися у однаковій послідовності з постійним періодом. В протилежному випадку патерн характеризувався як *аперіодичний (нерегулярний, стохастичний)*. *Складність* періодичного патерну визначалася кількістю елементарних подій у періодично повторюваній послідовності. Патерн характеризувався як *низькочастотний* або *високочастотний* залежно від частоти слідування елементарних подій.

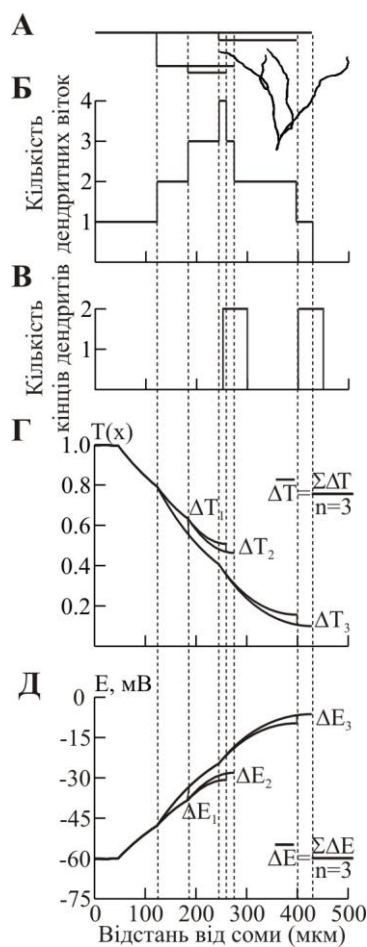


Рис. 1. Схема визначення морфометричних та електричних характеристик дендритів: реконструйований дендрит і його дендрограма (А), функції складності (Б) і метричної асиметрії (В), та показники електричної асиметрії,  $\bar{\Delta T}$  та  $\Delta \bar{E}$  – середні різниці функцій відносної ефективності передачі струму  $T(x)$  (Г) та значень мембранних потенціалів  $E(x)$  (Д), усереднені по усіх парах сестринських гілок.

## ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ

### Локальні і глобальні електричні стани мембрани дендритів

Відмінності популяцій іонних каналів між структурними частинами клітини даного типу і між відповідними частинами нейронів різних типів знаходили відбиток у характерних особливостях відповідних ВАХ, зокрема у точках нульового струму *sVAH* і *mVAH*, що визначають стабільні або квазістабільні електричні стани мембрани. У всіх досліджуваних нейронів *sVAH* *соматичної мембрани* були нелінійними з однією точкою нульового струму, що відповідала моностабільному стану спокою  $-65$ ,  $-60$ ,  $-75$  і  $-68$  мВ у мотонейронів *n. abducens*, спінальних мотонейронів, неокортикальних пірамідних нейронів і нейронів Пуркин'є, відповідно (рис. 2, А, 1-4), і мали усюди тільки позитивний нахил, окрім нейронів Пуркин'є. У останніх N-подібна *sVAH* мала ділянку негативного нахилу в діапазоні від  $-43$  до  $-39$  мВ (вставка на А). Також нелінійними були *sVAH* *дендритної мембрани* (рис. 2, Б і В).

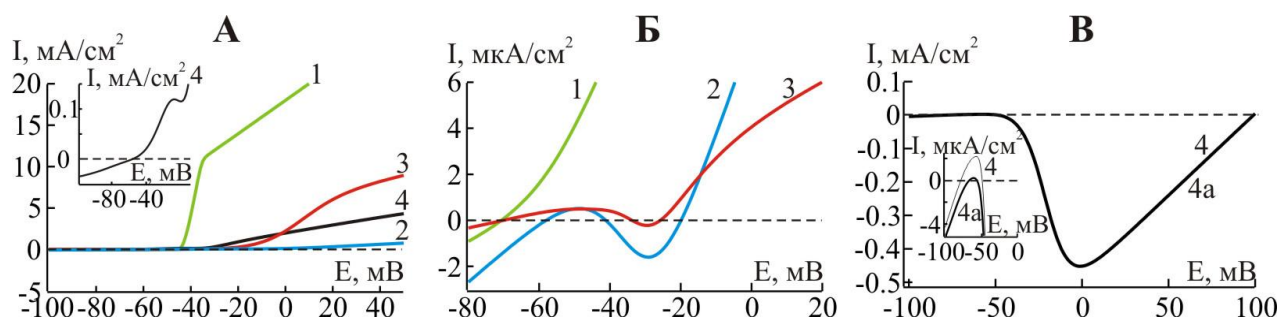


Рис. 2. Стаціонарні вольт-амперні характеристики (сВАХ) іонних каналів соми (А) і дендритів (Б, В) модельних мотонейронів ядра відвідного нерву (1), спінальних мотонейронів (2), пірамідних нейронів нової кори (3) і нейронів Пуркін'є мозочка (4). Для останніх на вставках до А і В, відповідно, наведені збільшені фрагменти сВАХ для повного (4) і скороченого (4а) наборів каналів. Абциса – мембранний потенціал,  $E$ ; ордината – густина трансмембранного струму  $I$ , на одиницю мембранної поверхні.

У мотонейронів *n. abducens* така сВАХ мала усюди позитивний нахил і єдину точку нульового струму (рис. 2, Б1), що відповідала моностабільному поодинокому стану спокою  $-70$  мВ. У решти типів нейронів такі сВАХ були N-подібними з трьома точками нульового струму – двома на гілках позитивного нахилу і однією на гілці негативного (криві 2 і 3 на рис. 2, Б та 4 і 4а на рис. 2, В), тобто стан таких клітин був бістабільним. Один стабільний стан був близьким до потенціалу спокою ( $-58$  мВ у спінальних мотонейронів,  $-70$  мВ у пірамідних нейронів і  $-67$  або  $-78$  мВ у нейронів Пуркін'є), а другий був станом високої деполяризації ( $-20$  мВ у спінальних мотонейронів,  $-26$  мВ у пірамідних нейронів і близько  $100$  мВ у нейронів Пуркін'є). У нейронів всіх типів нерівність стаціонарних стабільних станів мембрани соми і дендритів створювала передумови для виникнення струмів сполучення між цими частинами навіть за відсутності синаптичної активації. Наявність же ділянок негативного нахилу у бістабільних сВАХ дендритної мембрани була передумою для виникнення у дендритах електрогенних процесів, що самопідтримуються. Як показали діаграми еволюції у часі точок нульового струму динамічних мВАХ (рис. 3), стани високої деполяризації (збудження) дендритної мембрани у нейронів кожного типу були динамічними, з характерними часами виникнення і тривалості. Наприклад, дендритна мембрана спінальних мотонейронів, характеризувалася єдиним станом збудження, що виникав із затримкою близько  $75$  мс і, повільно зростаючи до  $200$ -ї мс, стабілізувався на рівні близько  $-20$  мВ (ланцюжок кіл на рис. 3, А1). Дендритна мембрана неокортикальних пірамідних нейронів характеризувалася єдиним збудженим станом, котрій швидко (практично миттєво) виникав і був відносно довгоживучим (повільно релаксуючим), із тривалістю життя близько  $15$  мс (кола на рис. 3, Б2). Складнішою виявилася динаміка електричних станів дендритної мембрани нейронів Пуркін'є.

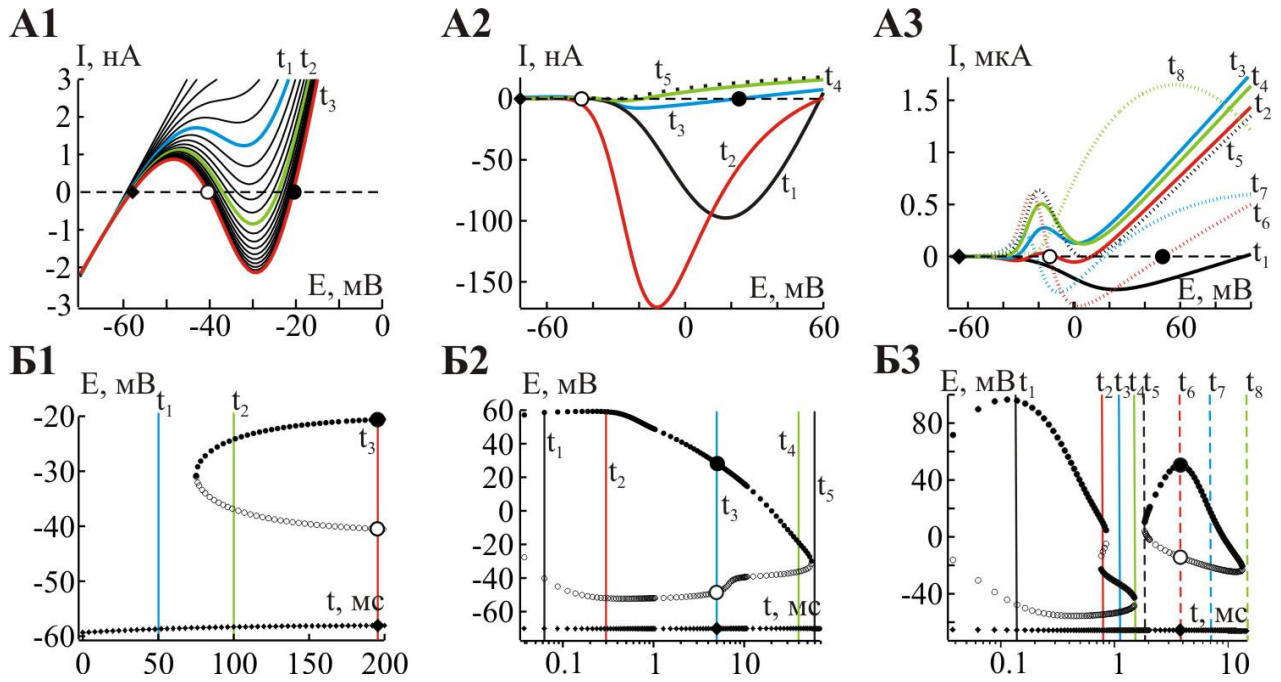


Рис. 3. Миттєві ВАХ (мВАХ) (А1-А3) та еволюція у часі їх точок нульового струму (Б1-Б3) як характеристики динамічних електричних станів дендритної мембрани модельних спінальних мотонейронів (А1, Б1), пірамідних нейронів (А2, Б2) та нейронів Пуркін'є (А3, Б3). А1-А3 – мембранний струм (ордината) у послідовні моменти часу після початку ступінчастої фіксації мембранного потенціалу на дискретних рівнях у певному діапазоні (абсциса). Б1-Б3 – мембранний потенціал (ордината) та моменти часу (абсциса) після початку його фіксації, коли струм дорівнював нулю; вертикальні лінії з'єднують точки нульового струму мВАХ, визначених у моменти часу  $t_x$  і відповідно маркованих на А1-А3. Ромби і кола – точки нульового струму на гілках позитивного нахилу мВАХ (стани спокою і високої деполяризації), кільця – точки на гілках негативного нахилу (нестійкі стани проміжної деполяризації).

Вона характеризувалася трьома станами збудження (підвищеної деполяризації – *upstates* – три ланцюжки кіл на рис. 3, Б3). З них два виникали швидко (у моменти  $< 0,03$  мс і  $0,76$  мс) і були короткотривалими (часи життя  $0,83$  мс і  $0,75$  мс). Третій стан утворювався пізніше (на  $1,84$  мс) і тривав довше ( $11,6$  мс). Отже, побудова мВАХ дозволила нам розкрити доволі тонку динамічну організацію збуджених електричних станів дендритної мембрани, населеної у нейронів різних типів різними за складом популяціями іонних каналів. Ці стани є квазістабільними (метастабільними), оскільки «компенсаторні» струми, що виникають при відхиленні мембранного потенціалу від значення нульового струму на мВАХ, нездатні забезпечити *необмежено* тривале підтримання (стабілізацію) мембранного потенціалу на даному рівні. Відтак можна говорити лише про *обмежено*

тривале перебування мембранного потенціалу в межах певного діапазону деполяризаційних значень; при цьому тривалість даного обмеженого відтинку часу визначає тривалість (час життя) збудженого стану мембрани.

Локальні ВАХ мембрани різних структурних частин нейрону (рис. 2 і 3) показали, що відмінності складу іонних каналів цих частин, обумовлюють різницю їх (мета)стабільних електричних станів, тобто мембранних потенціалів, при яких сумарний трансмембранний струм є нульовим. Ця різниця є причиною виникнення струмів сполучення між частинами клітини через провідні внутрішньо- і зовнішньоклітинне середовища. Тому стабілізація напруги на мембрані даного елемента встановлюється при рівності нулю алгебраїчної суми струмів сполучення і трансмембранного струму. Оскільки такий баланс у різних за складом каналів частинах нейрону встановлюється при різних значеннях локального трансмембранного потенціалу, просторовий розподіл мембранного потенціалу по структурі усього нейрону (тобто глобальний електричний стан) є неоднорідним. Приклад цього спостерігався у моделі мотонейрону *n. abducens*. Просторово однорідна тонічна активація глутаматергічних входів продукувала стійку деполяризацію, котра наростала вздовж дендрита у напрямку від соми. Завдяки НМДА-чутливому входному струмові локальна сВАХ дендритної мембрани ставала N-подібною із негативним нахилом у діапазоні від  $-40$  до  $-17,6$  мВ і позитивним за межами останнього. По усьому дендриту деполяризація перевищувала верхню межу цього діапазону, а тому проксимальні дендритні ділянки генерували вхідний струм більшої інтенсивності, ніж сильніше деполяризовані дистальні ділянки. Чим ближче до соми, тим більшим був приріст осьового струму дендритного осердя на одиницю довжини (внесок до загального соматопетального струму) даної ділянки дендриту. Тонічна коактивація гальмівних (гіперполяризаційних) соматичних синапсів зменшувала дендритну деполяризацію з  $-17,3$  до  $-37,7$  мВ на проксимальній ділянці і з  $-3,55$  до  $-8,6$  мВ на дистальній. Деполяризація цих ділянок опинялася у діапазонах негативного і позитивного нахилу локальної сВАХ. Відповідно, вхідний струм і його внесок до загального соматопетального струму із збільшенням відстані від соми зростали у проксимальній частині дендриту і зменшувалися у дистальній. Межа між цими частинами розташовувалася у місці, де напруга досягала  $-17,6$  мВ, тобто межі між ділянками негативного і позитивного нахилу сВАХ ( $\sim 300$  мкм від соми). Як результат, основне джерело збуджуючого струму зсувалося уздовж дендрита з найбільш проксимальної до серединної області, і цей зсув наростав із збільшенням інтенсивності коактивації гіперполяризуючих синапсів до критичного значення, при якому дендрит глобально переключався із стану високої деполяризації у гіперполяризаційний стан.

## Морфометричні та пасивні електричні передавальні характеристики реконструйованих дендритних розгалужень

Дендритні розгалуження досліджуваних типів нейронів істотно відрізнялися між собою як за мембранними властивостями, так і за геометрією. З'ясування особливостей дендритної геометрії було необхідним з огляду на те, що вона визначає морфологічний тип нейронів і структуру провідного осердя, яке передає струми сполучення між різними частинами нейрону. Виявлені типові геометричні особливості реконструйованих дендритних розгалужень показані на рис. 4.

Найбільший розмір (маршрутну протяжність)  $>1500$  мкм мали розгалуження у пірамідних нейронів шару 5 нової кори, в основному завдяки їх апікальним піддеревам (A1-B1); найменший – у клітин Пуркін'є, усе дерево яких простягалось лише на 250-350 мкм (A4-B4), подібно базальним дендритам пірамідних клітин. Розгалуження мотонейронів обох досліджуваних типів мали проміжні розміри, простягаючись на відстані  $\sim 600$  мкм. Найбільша складність розгалужень (близько 60 гілок) спостерігалася у спінальних мотонейронів на відстанях 200-300 мкм від соми (B1), пірамідних нейронів (B3) і нейронів Пуркін'є (B4), тобто в центральній, проксимальній (базальній) і дистальній частинах галузень у першому, другому і третьому випадках, відповідно. Розгалуження мотонейронів *n. abducens* (B2) були менш складними (20-30 гілок, як у апікальних піддеревах пірамідних клітин). Для розгалужень нейронів всіх типів характерною була метрична асиметрія, що визначалася в основному нерівністю протяжності сестринських гілок, а отже і маршрутів. Це наочно показує різноманіття гістограм розподілу маршрутних відстаней дендритних закінчень (B1-B4). Найбільш асиметричними були розгалуження пірамідних нейронів завдяки великій різниці у протяжності між базальними і косими та апікальними дендритами (B3). У решти типів нейронів абсолютний розкид довжин маршрутів був меншим, але з огляду на істотно меншу загальну протяжність (розміри) розгалужень, відносну асиметрію можна вважати досить вираженою.

При співставленні пірамідних нейронів і нейронів Пуркін'є наочно проявляються відмічені нами закономірності зв'язку між особливостями геометрії і електричних передавальних властивостей дендритних розгалужень, котрі у клітин цих типів значно відрізняються за розміром і метричною асиметрією. Типовим прикладом є зміни відносної ефективності соматопетальної передачі струму  $T(x)$  уздовж дендритів цих клітин при змінах питомої провідності мембрани  $G_m$  (рис. 5). У обох нейронів при низькій провідності  $G_m=1$  мкСм/см<sup>2</sup> ефективність передачі була близькою до максимальної,  $T(x)\approx 1$  (A1 і B1).

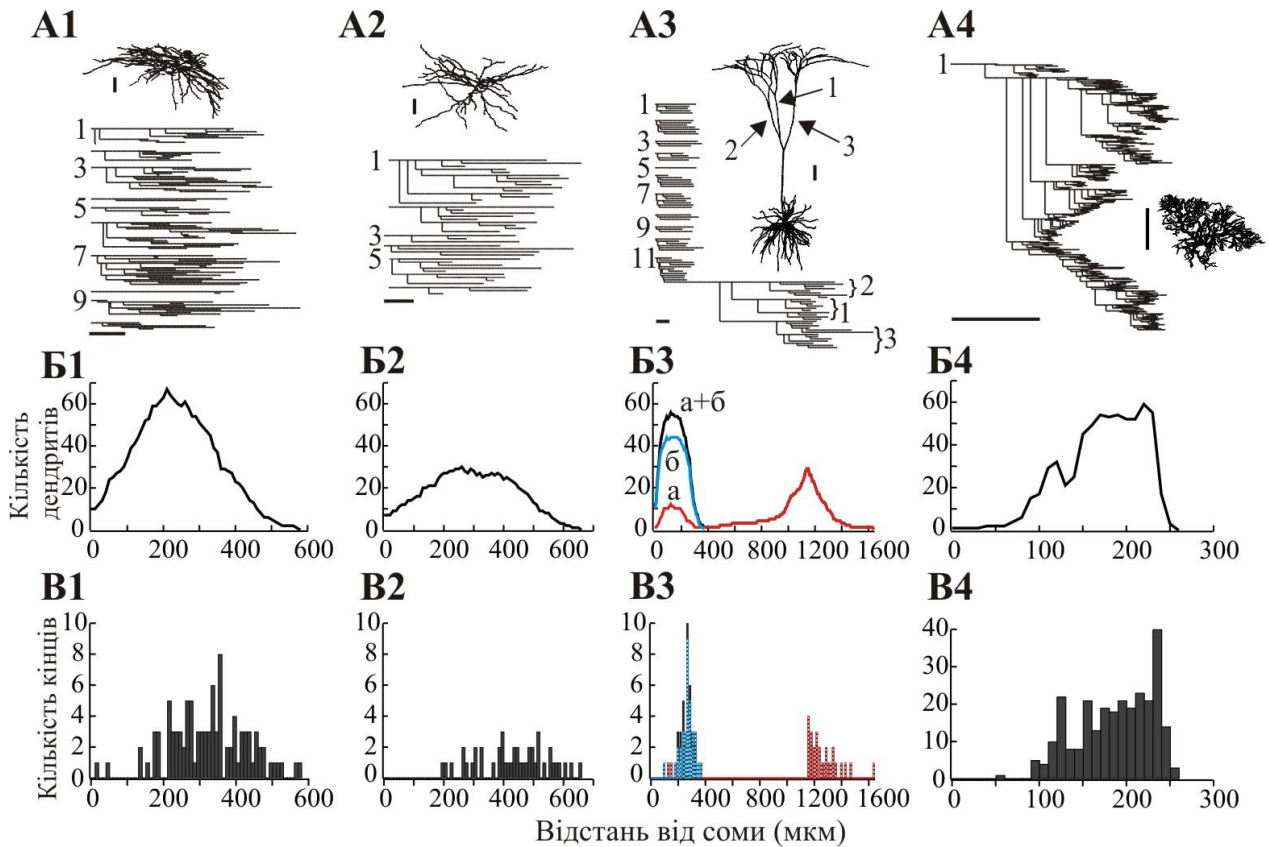
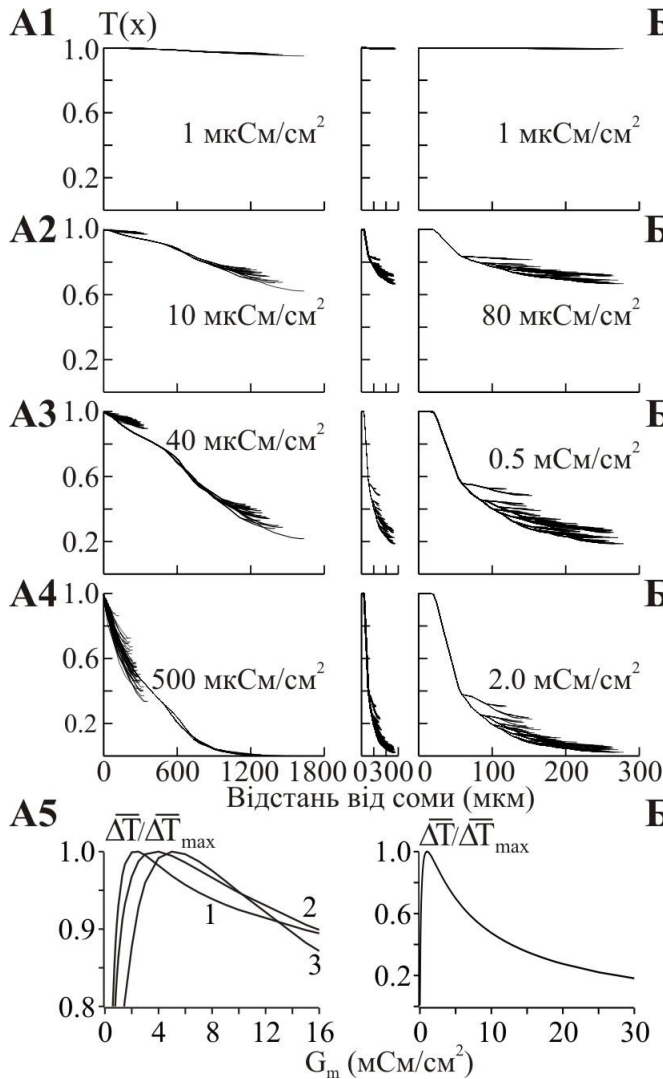


Рис. 4. Типові геометричні характеристики реконструйованих дендритних розгалужень мотонейронів спинного мозку (A1-B1) і ядра відвідного нерву (A2-B2), пірамідного нейрону шару 5 нової кори (A3-B3) та нейрону Пуркін'є (A4-B4). A1-A4 – реконструйовані зображення та дендрограми. B1-B4 – функції складності розгалуження, представлені кількістю дендритних гілок на даній маршрутній відстані від соми (мкм). V1-V4 – функції метричної асиметрії розгалуження, представлені гістограмою розподілу маршрутних відстаней дендритних кінців від соми (мкм; ширина біну 10 мкм). На B3-B3 графіки (a), (б) та (a+б) відповідають апікальному дендриту (11 на A3), базальним дендритам (1-10) та розгалуженню в цілому. Вертикальні і горизонтальні відрізки – калібрівка 100 мкм.

При збільшенні  $G_m$  ефективність  $T(x)$  знижувалась, причому неоднаково уздовж асиметричних маршрутів. Про це свідчить очевидне розшарування відповідних профілів  $T(x)$ . Слід відмитити, що максимальне розшарування електричних профілів у апікальному дереві пірамідного нейрону спостерігалось при  $G_m=40$  мкСм/см<sup>2</sup> (A3), а у дендритному розгалуженні нейрону Пуркін'є – при 500 мкСм/см<sup>2</sup>, тобто при понад порядок більшому значенні (B3).





**Б1** Рис. 5. Електричні передавальні характеристики дендритів пірамідного нейрону (см. рис. 4, А3-А4), (А1-А5) та нейрону Пуркін'є (Б1-Б5), в залежності від питомої провідності мембрани  $G_m$  (вказана на графіках). А1-А4, Б1-Б4 – відносна ефективність передачі струму уздовж дендритів  $T(x)$  (ордината) як функція маршрутної відстані від соми (абсциса). А5, Б5 – залежність нормованої середньої міжмаршрутної різниці  $T(x)$  ( $\overline{\Delta T(x)}/\overline{\Delta T(x)}_{max}$ , ордината) від провідності  $G_m$  (абсциса); лінії 2, 1 і 3 на А5 відповідають розгалуженню в цілому, його базальному і апікальному піддеревам.

Нанесення на тривимірне зображення реконструйованого дендритного розгалуження нейрону Пуркін'є карт кодованих кольором значень  $T(x)$  дозволило виявити піддерева, що відрізнялися високою (Н), середньою (М) і низькою (L) відносною ефективністю пасивної передачі соматопетального струму, причому ці піддерева галузилися у планарних секторах, що практично не перетиналися (див. нижче рис. 9, вставка угорі справа). У пірамідному нейроні при  $G_m=500$  мкСм/см<sup>2</sup> профілі, що відповідають апікальним піддеревам, знову практично зливались, але вже на низькому рівні, близькому до  $T(x)\approx 0$ , тоді як профілі базальних дендритів були розшаровані майже максимально (А4). Суттєві відрізнєння двох типів нейронів за рівнями мембранної провідності, при яких спостерігалось максимальне розрізнєння передавальної ефективності асиметричних маршрутів, підсумовані на рис. 5, А5 і Б5.

Таким чином, в нейронах обох типів виділялися три характерні діапазони  $G_m$ : нижній (1), у котрому всі профілі  $T(x)$  зближені на рівні високої відносної ефективності, верхній (2), у котрому всі профілі  $T(x)$  також зближені, але на рівні низької ефективності, та проміжний (3), у котрому профілі, що

відповідають асиметричним піддеревам, максимально розшаровані (розрізняються). Порівняно із великорозмірними галуженнями пірамідних нейронів, у малорозмірних галужень нейронів Пуркін'є границі названих діапазонів  $G_m$  були зсунуті у бік більших значень приблизно на порядок. Отже, електричні відмінності асиметричних дендритних піддерев є загальним досить «робустним» феноменом, вираженість якого залежить від асиметрії і розміру галуження, а також від діапазону значень мембранної провідності. Це слід ураховувати при аналізі структурозалежних динамічних електричних патернів, оскільки під час активності нейронів провідність мембрани, особливо такої із потенціалзалежними каналами, може варіювати у широкому діапазоні.

### **Залежні від структури і мембранних властивостей дендритів особливості електричної активності нейронів**

Прикладення деполяризуючих струмів до соми або тонічна активація однорідно розподілених на дендритах збуджуючих синапсів, застосовані до нейронів різних типів, дозволили виявити загальні риси і особливості перетворення цих вхідних сигналів у патерни вихідного розряду ПД. У нейронів всіх типів патерни, генеровані у відповідь на деполяризуючі струми різної сили і інтенсивності, були простішими і менш різноманітними, ніж такі у відповідь на синаптичну дію різної інтенсивності. Типові приклади представлені на рис. 6 і 7. Так, мотонейрон *n. abducens* перетворював вплив струму у найпростіший патерн у вигляді безперервного розряду ПД з постійними міжімпульсними інтервалами (МІІ), тим меншими, чим меншим був струм (рис. 6, А). Перетворення «струм-частота» ПД (рис. 7, А) і «струм-МІІ» (рис. 7, Б) добре апроксимувалися відповідно логарифмічною і зворотною логарифмічною залежностями. Це вважається [Koch, 1999] притаманним нейронам з тригерною зоною, типу «інтегратор з витоком» (*leaky integrate-and-fire neuron*). Ці наші результати узгоджуються з даними натурних експериментів на нейронах такого ж типу у щурів [Durand, 1989]. Цей же модельний нейрон генерував прості патерни з майже постійними МІІ (довшими або коротшими) тільки при низькій ( $G_s=3..5$  мСм/см<sup>2</sup>) або високій ( $G_s=15$  мСм/см<sup>2</sup>) інтенсивностях синаптичної активації дендритів, тоді як при проміжних  $G_s$  (напр. при 6..11 мСм/см<sup>2</sup>) виникали складні різноманітні патерни (рис. 6, Б).

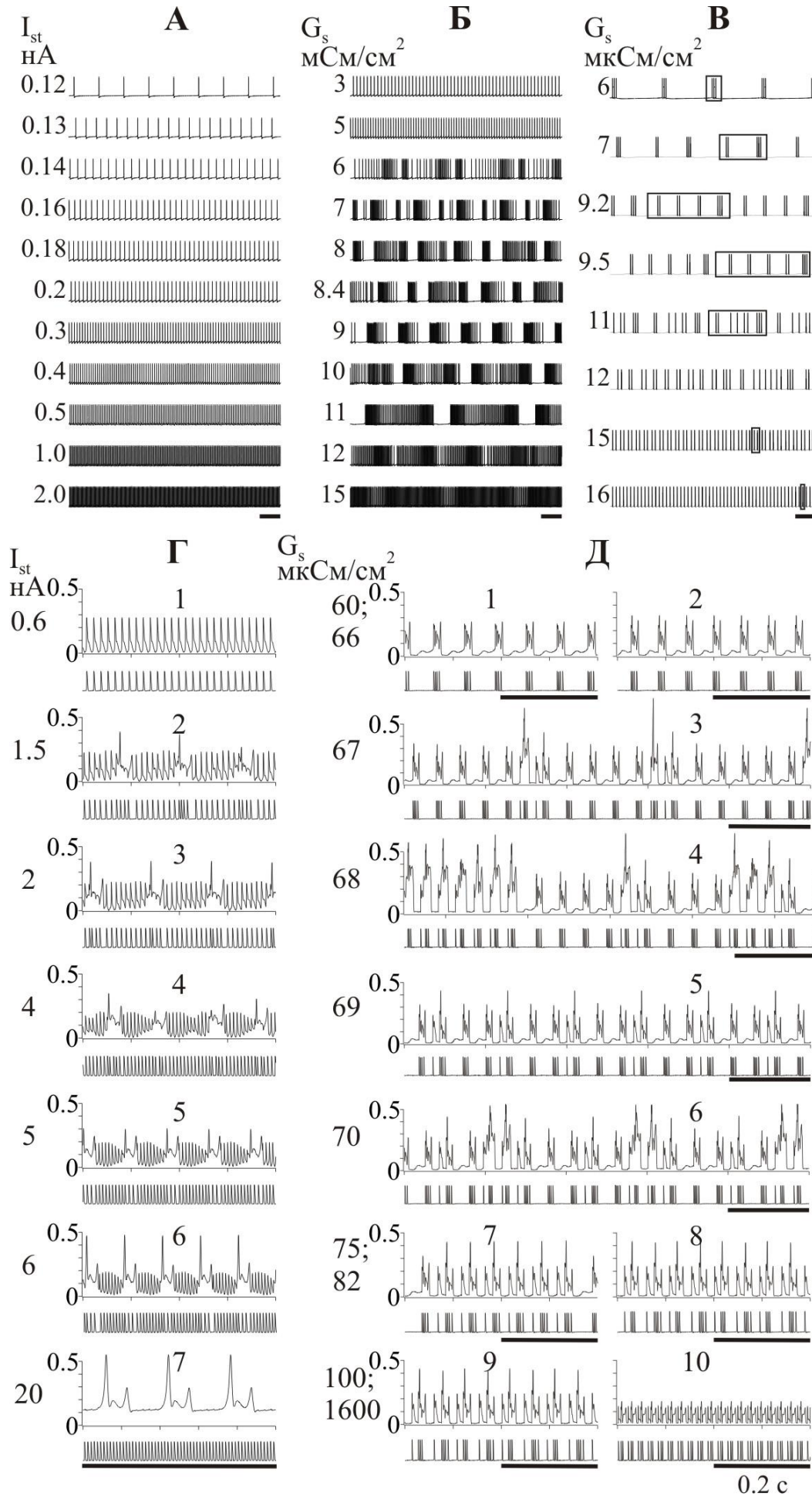


Рис. 6. Патерни розрядів потенціалів дії (ПД) на виході мотонейрону *n. abducens* (А, Б), неокортикального пірамідного нейрона шару 5 (В) та нейрона Пуркін'є (Г, Д), викликаних прикладенням до семи постійним деполаризуючим струмом (А, Г, нижні записи) або однорідною тонічною активацією дендритних збуджуючих синапсів (Б, В, Д). Інтенсивність струму  $I_{st}$  і питома синаптична провідність мембрани  $G_s$  (міра інтенсивності збудження) вказані зліва від записів. Калібровка часу 0,2 с. Г, Д, верхні записи – середня різниця потенціалів  $\Delta E$  між рівновіддаленими точками сестринських гілок (усереднення по  $n = 239$  парам, див. рис. 1Д).

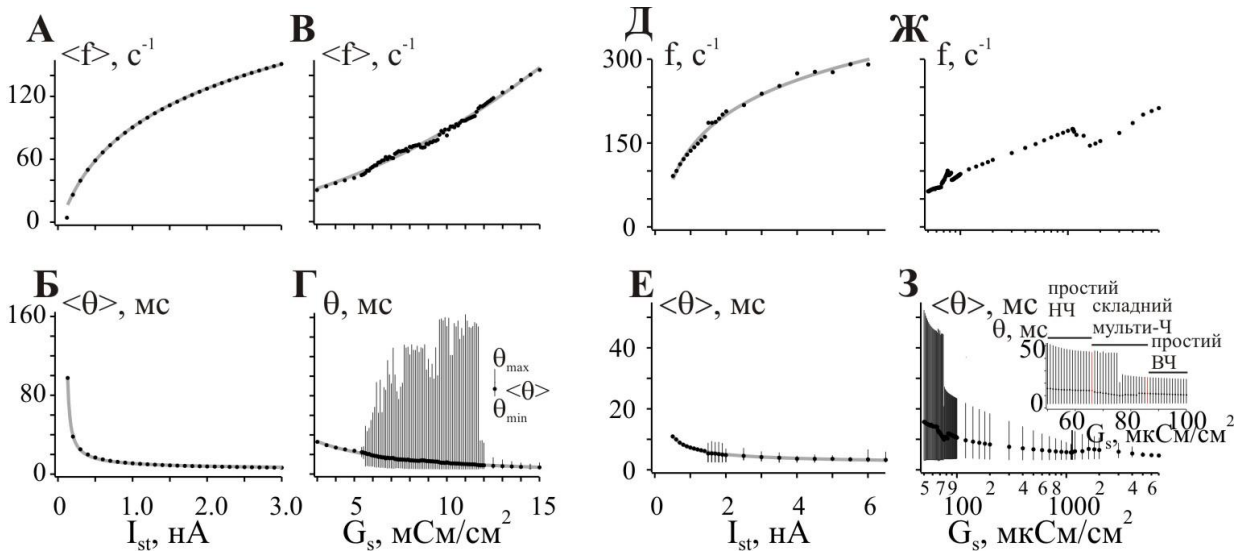


Рис. 7. Перетворення зовнішніх впливів у патерни розряду на виході нейронів ядра відвідного нерву (А-Г) та Пуркін'є (Д-Ж).

Ефекти постійного деполяризуючого струму, прикладеного до соми (А, Б, Д, Е) або тонічної активації глутаматергічних синапсів, однорідно розподілених на дендритах (В, Г, Ж, З) кількісно характеризувалися середніми міжімпульсними інтервалами (МІ)  $\langle \theta \rangle$  (Б, Е, З, ордината) і середньою частотою імпульсації  $\langle f \rangle = 1/\langle \theta \rangle$  (А, В, Ж, Д, ордината). Міра синаптичної інтенсивності – питома синаптична провідність  $G_s$  дендритної мембрани (абсциса на В, Г, Ж, З). Перетворення – «струм-частота» ( $f-I$ ) (А, Д); «струм–МІ» ( $\theta-I$ ) (Б, Е); «синаптична інтенсивність–частота» ( $f-G_s$ ) (В, Ж); «синаптична інтенсивність–МІ» ( $\theta-G_s$ ) (Г, З). На Г, Е, З точки, нижні і верхні кінці вертикальних відрізків – середні  $\langle \theta \rangle$ , мінімальні  $\theta_{\min}$  і максимальні  $\theta_{\max}$  МІ, відповідно. Неперервні лінії – наближуючі функції (описані в тексті).

Залежність «синаптична інтенсивність–частота» була поліноміальною (рис. 7, В), а її обернена, раціональна функція, описувала залежність «синаптична інтенсивність–МІ» (рис. 7, Г). У пірамідному нейроні (рис. 6, В) прості низько- або високочастотні патерни спостерігалися також при низькій (напр.  $G_s=6$  мкСм/см<sup>2</sup>) або високій (16 мкСм/см<sup>2</sup>) інтенсивності синаптичної дії, а складні різноманітні середньочастотні патерни – при проміжних  $G_s$  (7..15 мкСм/см<sup>2</sup>). Таким загальним закономірностям відповідали і патерни на виході нейрону Пуркін'є (рис. 6, Г, Д). Іншою загальною закономірністю для нейронів різних типів був перехід складних періодичних патернів у аперіодичні (стохастичні) при певних проміжних значеннях, наприклад у мотонейроні *n. abducens* – при  $G_s=8,4$  мкСм/см<sup>2</sup> (рис. 6, Б), у пірамідному нейроні – при 8,4 мкСм/см<sup>2</sup> (рис. 6, В), у нейроні Пуркін'є – при 68 мкСм/см<sup>2</sup> (рис. 6, Д). Особливістю, властивою нейронам різних типів, була залежна від структури розгалужень дендритів відмінність діапазонів інтенсивності вхідної синаптичної дії, яким відповідали найскладніші та різноманітні

вихідні патерни. У нейронах Пуркін'є з найменшими за розмірами дендритними розгалуженнями (у порівнянні з іншими дослідженими нейронами) відповідні  $G_s$  були приблизно на порядок більшими, ніж у пірамідних нейронів з найпротяжнішими дендритами і у мотонейронів *n. abducens* з дендритами середньої протяжності (порівн. рис. 6, Д, В і Б).

З огляду на приблизно такий же порядок відмінностей між дендритними галуженнями тих самих типів нейронів щодо діапазонів мембранної провідності, у яких були виявлені найменші і найбільші просторові неоднорідності відносної ефективності  $T(x)$  пасивної передачі струму уздовж асиметричних маршрутів (рис. 5), більш детально був досліджений зв'язок між складністю вихідних патернів та просторовою неоднорідністю електричних станів дендритної мембрани. Характерні приклади виявленого зв'язку представлені на рис. 8-10.

Виявилось, що чередування пачок і межпачкових інтервалів досить чітко приурочені до переходів дендритного розгалуження між станами високої і низької деполяризації (*upstate* і *downstate*). Це відбувалося так же, як у випадку низькоінтенсивної ( $G_s=5$  мСм/см<sup>2</sup>) тонічної синаптичної активації дендритів мотонейрону *n. abducens* (рис. 8, А, Б). Різним за композицією пачкам відповідало перебування у різних станах певних складових частин дендритів (груп гілок і маршрутів) дендритного розгалуження. Це наочно показує приклад активності того ж нейрону при одному з проміжних значень синаптичної інтенсивності  $G_s=8,4$  мСм/см<sup>2</sup> (рис. 8, В-Е). Особливістю патерну високочастотної періодичної імпульсації при високоінтенсивній синаптичній дії (напр.  $G_s=50$  мСм/см<sup>2</sup>) було те, що обширні центральна і дистальна частини розгалуження постійно знаходилися у стані високої деполяризації, стаючи по суті джерелом постійного деполяризуючого струму, «стікаючого» до тригерної зони (рис. 8, Ж, З). Цим обумовлена велика подібність реакцій на таку синаптичну дію до відповідей на високоінтенсивний деполяризуючий струм, прикладений від зовнішнього генератора безпосередньо до соми (порівн., наприклад, нижні записи на рис. 6, А і Б). Описані закономірності детальніше і наочніше ілюструються на прикладі нейронів Пуркін'є, планарне дендритне розгалуження яких дозволяє отримати найлегше для спостереження просторові карти динамічних електричних процесів у дендритах (рис. 9 і 10).

Просторова неоднорідність потенціалу дендритної мембрани є біофізичною передумовою для електричних зв'язків у дендритах за допомогою струмів, що течуть від більш деполяризованих до менш деполяризованих або гіперполяризованих областей, тобто у напрямку падіння напруги. Оскільки використовуваний нами показник просторової неоднорідності ( $\Delta E$ ), як вже було виявлено, варіював від патерну до патерну, ми далі вивчали, як зміни міждендритних електричних зв'язків впливають на струм до аксосоматичної тригерної зони та на генерацію вихідних патернів.

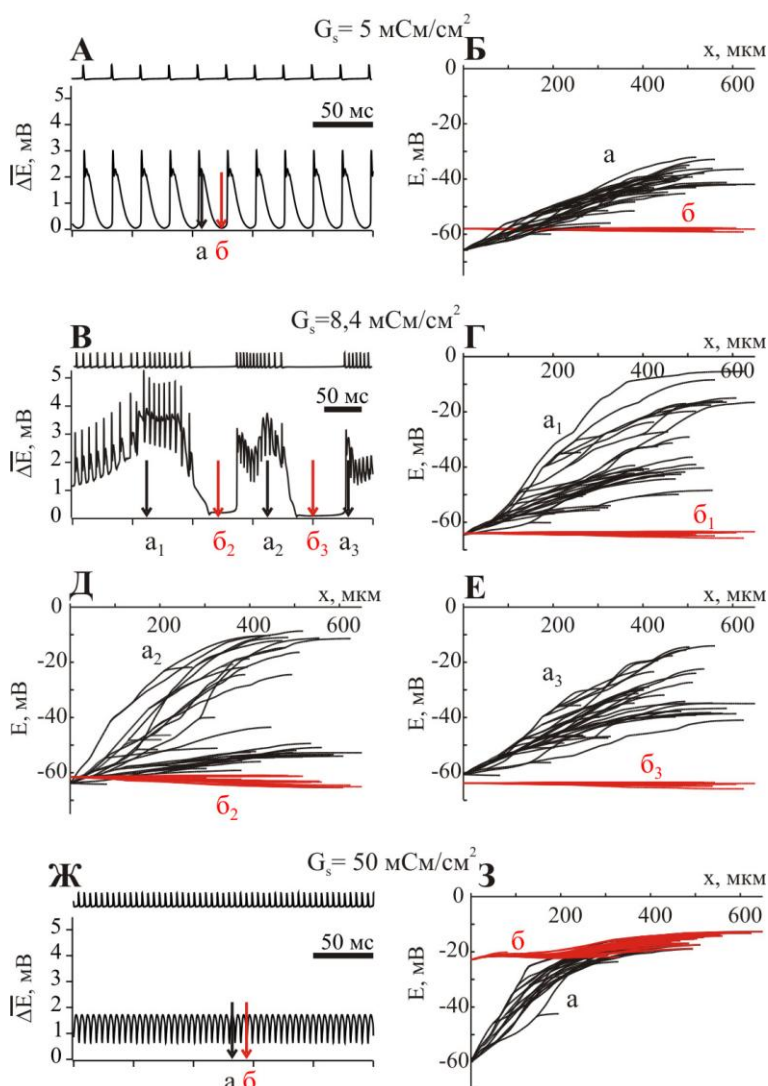


Рис. 8. Зміни складності вихідних патернів і неоднорідності відповідних просторових електричних станів дендритного розгалуження мотонейрону *n. abducens* при зміні інтенсивності однорідного тонічного синаптичного збудження, що визначалося питомою синаптичною провідністю  $G_s$  (вказана над графіками). А, В, Ж – фрагменти вихідного розряду (угорі) і відповідні їм зміни середньої різниці мембранних потенціалів  $\bar{\Delta E}$  між еквідистантними точками усіх пар ( $n=37$ ) сестринських гілок (унизу). Стрілки  $a^*$ ,  $b^*$  вказують моменти часу найбільших або найменших значень  $\bar{\Delta E}$ , яким відповідають показані на Б, Г-Е і З сімейства  $a^*$ ,  $b^*$  графіків мембранного потенціалу  $E$  як функції маршрутної відстані від соми  $x$ . Горизонтальні відрізки – калібровка часу 50 мс.

Графіки мембранних потенціалів (зображені як залежності від маршрутної відстані від соми і/або у вигляді карт, нанесених на зображення дендритного розгалуження) показали, що прикладені до соми деполяризуючі струми і розподілені по дендритах тонічні синаптичні впливи перетворюються у вихідні розряди (кодуються) різним чином через істотні відмінності внутрішньодендритної і міждендритної передачі сигналів. Рис. 9 і 10 ілюструють такі перетворення (види кодування) трьома типовими прикладами, що спостерігалися при низькій, проміжній і високій інтенсивності вхідної дії (ряди 1, 2 і 3, відповідно), представлені електричною активністю у певному інтервалі часу (панелі у колонці А), і знімками (кадрами) дендритного розподілу мембранного потенціалу,

зробленими у вказані моменти часу (панелі в колонці Б). Кожний приклад ілюструється (колонка А) одночасно зареєстрованими змінами  $\Delta E$  (верхній запис) і мембранного потенціалу у п'яти точках (нижні записи), а саме на сомі, дистальному кінці аксону і трьох дендритних піддеревах, обраних відповідно до їх високої (Н), середньої (М) і низької (L) відносної ефективності пасивної передачі соматопетального струму (див. рис. 5, Б1-Б5, рис. 9, вставка угорі справа). Точки М і L були рівновіддалені (~250 мкм), а точка Н локалізувалася у найвіддаленішій частині вискоефективного піддерева (~125 мкм) від соми. Названі маршрутні профілі і карти мембранного потенціалу представляли собою зображення миттєвих електричних станів усього дендритного розгалуження.

**Електричні стани і перетворення прикладених до соми струмів.** Були ідентифіковані три типи перетворень, сполучених із просторовою неоднорідністю дендритних потенціалів і часовим вихідним патерном при низькій, проміжній і високій інтенсивності стимулюючого струму. Тип 1 відповідав низькоінтенсивним струмам (зокрема  $I_{st} = 0,6$  нА, рис. 9, ряд 1), котрі продукували неперервний розряд ПД в аксоні і одночасні швидкі підвищення  $\Delta E$  у дендритах (А, нижній і верхній записи). В інтервалах між імпульсами мембранний потенціал в дендритах був просторово однорідним, близьким до потенціалу спокою  $-60$  мВ (на панелях а і б). ПД ініціювався в тригерній зоні (рис. 9, А, нижня чорна лінія) і досягав дистального кінця аксону (сіра лінія). Соматичні ПД також розповсюджувалися у дендрити, але із затуханням, продукуючи там короткочасну просторово неоднорідну деполяризацію. Остання затухала із зростанням маршрутної відстані від соми (панелі а і б) прогресивно крутіше у електрично високо-, середньо- і низькоефективних піддеревах, на що також вказували прогресивно нижчі транзйєнти потенціалу у точках Н, М, і L (червона, синя і зелена лінії на рис. 9, А1). Короткочасна і просторово неоднорідна деполяризація вказує на те, що дендрити не чинили впливу на патерн вихідного розряду, котрий визначався розрядними властивостями тригерної зони. Тип 2 був характерний для струмів середньої інтенсивності (зокрема  $I_{st} = 2$  нА, рис. 9, ряд 2), при якій мали місце переходи між просторово однорідним потенціалом спокою (як при типі 1) і неоднорідним, тривалішим (~20 мс) станом високої деполяризації (панелі а і б, рис. 9, Б). Ці деполяризаційні плато ініціювалися у дендритах з періодичністю одне плато на 10-12 піків (або у межах 60 мс). Вказані транзйєнти були зсунуті по фазі, послідовно охоплюючи піддерева Н, М і L (червона, синя і зелена лінії на рис. 9, А2).

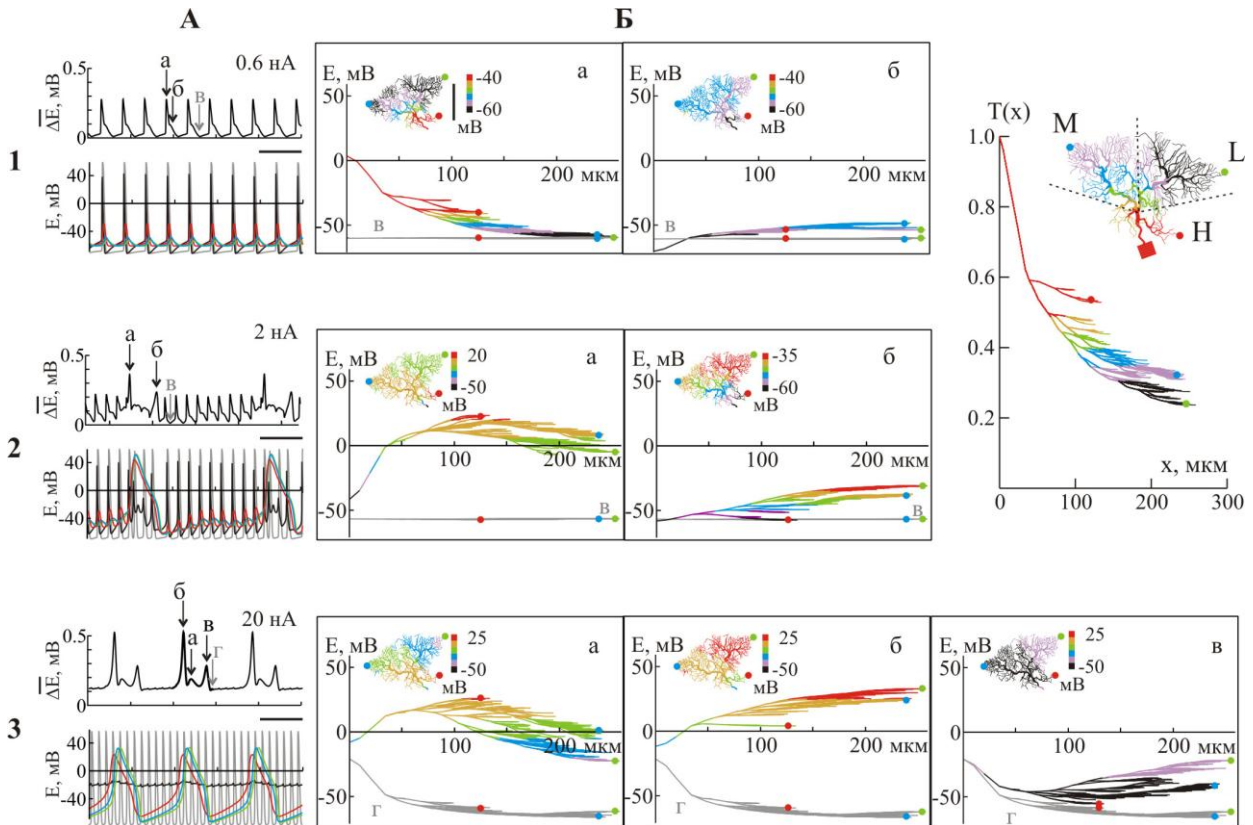


Рис. 9. Електричні стани дендритних областей нейрону Пуркін'є під час генерації імпульсних патернів при різній інтенсивності прикладеного до соми постійного деполяризуючого струму  $I_{st}$  (вказані у нА в рядах 1-3). А – зміни у часі (калібровки 20 мс) середньої різниці потенціалів  $\Delta\bar{E}$  між рівновіддаленими точками сестринських віток (верхні записи) і мембранного потенціалу  $E$  (нижні записи) на дистальному кінці аксону (сіра лінія), в сомі (чорна лінія) і у трьох точках, розташованих на дендритах з високою (Н), середньою (М) і низькою (L) ефективністю електричної передачі (червона, синя і зелена лінії), що позначені відповідними кольорами й показані на вставках у кожній панелі *a-в* на Б. Вставка угорі справа – розгалуження у збільшеному масштабі з тими ж точками Н, М і L, та кодованими кольорами рівнями ефективності пасивної передачі струму  $T(x)$ , що відповідають показаним на рис. 5, Б3 (штрихові лінії розділяють сектори галушення Н-, М- і L-дендритів). Стрілки на записах А вказують моменти часу, котрим відповідають панелі *a-в* на Б. Панелі *a-в* – мембранний потенціал,  $E$  (ордината) на різних маршрутних відстанях  $x$  (абсциса) від сомі ( $x=0$ ) вздовж усіх дендритних маршрутів. Потенціали  $E$ , кодовані шестиколірною палітрою, нанесені також у вигляді карти на реконструйоване дендритне розгалуження (вставка угорі зліва). Для кожного  $I_{st}$  «відліковий» електричний стан показано сімейством сірих дендритних маршрутних профілів ( $v$  або  $z$ ), що відповідають мінімуму  $\Delta\bar{E}$ , вказаному стрілкою ( $v$  або  $z$ , верхні записи, колонка А).



Такі залежні від локалізації фазові зсуви були причиною того, що найбільша загальна неоднорідність  $\Delta E$  (рис. 9, А2, верхній запис) досягалася на найбільш швидкій висхідній фазі плато дендритної деполяризації (нижні кольорові лінії там же). Ця швидко наростаюча довготривала дендритна деполяризація впливала на сому (нижня чорна лінія там же), де вона продукувала аномальний пік, що накладався на періодичний патерн, з коротким МП після попереднього ПД; далі ж викликала рефрактерність, що подовжувала інтервал до наступного ПД, що генерувався на її низхідній фазі. Такі збурення МП періодичними дендритними деполяризаційними плато індукували періодичність у патерні вихідної імпульсації через періодичні «паузи». Тип 3 мав місце при високоінтенсивних струмах ( $I_{st} \geq 2$  нА), котрі викликали безперервний високочастотний вихідний розряд і низькочастотні періодичні підвищення  $\Delta E$  (рис. 9, А3). У сомі спостерігалася стійка деполяризація (*upstate*) до рівня  $-15$  мВ (нижня чорна лінія), результатом якої була інактивнація соматичного транз'єнтного натрієвого струму і зміщення ініціації ПД у більш віддалені від соми частини аксону. Ця стійка деполяризація викликала швидкий розряд в аксоні (нижня сіра лінія) і повільні осциляторні плато деполяризації у дендритах (нижні кольорові лінії). При цьому усе дендритне дерево, за виключенням його найпроксимальнішого сегменту, демонструвало періодичні переходи між станом, близьким до потенціалу спокою ( $-55 \dots -65$  мВ) і станом високої деполяризації (панелі *a-v* рис. 9, Б3). Ці переходи та їх фазові зсуви у різних піддеревах склали основу для невисоких (але ненульових) дендритних  $\Delta E$  у цьому стані (верхній запис на рис. 9, А3). Таким чином, вихідні часові патерни (коди), генеровані при високих інтенсивностях струму в випадку перетворення 3-го типу, визначаються виключно мембранними властивостями аксону, котрий стає електрично відключеним від активних дендритів завдяки наявності стійко деполяризованої соми.

Отже, аксосоматична тригерна зона і дендритне розгалуження, завдяки їх істотно різним мембранним властивостям поводять себе як, відповідно, низькопороговий високочастотний і високопороговий низькочастотний електричні осцилятори. Вони перетворюють надпороговий струм у свої «власні» коливання із різними залежними від інтенсивності частотами. Ці осцилятори є електрично сполученими, і вихідний патерн (код) клітини в цілому, що передається аксоном, залежить від відносної «сили» цього сполучення. Це сполучення залежить від інтенсивності струму і зникає при великих струмах. Тоді стійка деполяризація соми вибудовує нездоланно високий потенціальний бар'єр, що запобігає протіканню струмів сполучення між двома вказаними осциляторами.

**Електричні стани і перетворення тонічного синаптичного збудження дендритів.** Біофізичну основу іншого, ніж у випадку струмів, типу перетворення синаптичних вхідних сигналів, складають дві властивості, притамані умовам синаптичного збудження. По-перше, аксосоматичний

осцилятор приводиться у дію за відсутності зовнішнього струму тільки струмом, джерелом якого є синаптично збуджене дендритне розгалуження. По-друге, ефект синаптичної активації є двояким, вольтаїчним (зменшення трансмембранної різниці потенціалів) і резистивним (збільшення мембранної провідності). Останнє є критично важливим для внутрішньодендритних зв'язків, оскільки передача струму є характеристично чутливою до мембранної провідності (див. рис. 5, а також [Korogod a. Kaspirzhny, 2008, 2011]). Наступні три приклади, обчислені для  $G_s = 66 \text{ мкСм/см}^2$ ,  $68 \text{ мкСм/см}^2$  і  $1,6 \text{ мСм/см}^2$ , ілюструють відповідні електричні зв'язки у клітині (рис. 10, ряди 1, 2 і 3), типові для перетворень синаптичного збудження низької, проміжної і високої інтенсивності. Загальною рисою усіх прикладів була наявність тривалої високоамплітудної платоподібної деполяризації, осцилюючої з відносно низькою частотою (нижні кольорові лінії на рис. 10, колонка А, ряди 1, 2 і 3). Така деполяризація була подібною до тієї, що спостерігалася у дендритах в умовах дії прикладеного до соми струму. Тип 1 перетворення низькоінтенсивної синаптичної дії у просту низькочастотну активність – періодичні квадруплети ПД – спостерігався при  $G_s = 66 \text{ мкСм/см}^2$  (рис. 10, ряд 1) і мав такі примітні особливості. Під час інтервалів між пачками (стрілка, верхній запис А і графіки на панелях Б) дендрити перебували у стані, що характеризувався майже однорідним мембранним потенціалом, близьким до потенціалу спокою. Повільно зростаюча дендритна деполяризація (із швидкістю у піддереві Н, дещо більшою за швидкість у піддеревах L і М) призводила до швидкого переходу усього розгалуження у стан високої деполяризації (*upstate*) з наступною повільною релаксацією протягом  $\sim 20$  мс і швидким поверненням у нижній стан – *downstate* (кольорові лінії на А). Ця дендритна плато-деполяризація запускала генерацію чотирьохімпульсної пачки у аксосоматичній тригерній зоні (чорна і сіра лінії). Перші два імпульси розташовувалися на висхідній фазі і вершині плато, а наступні два – на повільній фазі спаду. Підвищення  $\Delta E$  протягом цього плато зумовлювалося головним чином різницею потенціалів між більш деполяризованими дистальними і менш деполяризованими проксимальними областями у стані високої деполяризації (*upstate*). Переважаючий соматопетальний напрям падіння напруги по усьому розгалуженню (за виключенням найдистальнішою частини піддерева L, панель а) показує, що синаптичний струм ефективно «збирається» розгалуженням і передається у сому при 1-му типі перетворення (кодування).

Високоінтенсивні вхідні синаптичні впливи також перетворювалися у прості періодичні пачки ПД, як було описано вище для  $G_s = 1,6 \text{ мСм/см}^2$  (рис. 6, Д, 10; рис. 10, ряд 3). У цьому випадку просторово однорідний потенціал у проміжуток часу між пачками був зсунутий у бік деполяризації до 50 мВ (порівн. графіки на Б, 3 і 1). Результатом переходів між станами низької і високої деполяризації (*downstate* і *upstate*) були періодичні деполяризаційні плато, але нижчої амплітуди, меншої тривалості і з коротшими інтервалами

повторення (порівн. нижні кольорові лінії на 1 і 2 в колонці А), ніж при перетворенні типу 1. Ця слабкіша деполяризація запускала генерацію тільки двох піків, на висхідній фазі і на вершині плато. Привертає увагу те, що швидкість зростання дендритної деполяризації між плато була у цьому режимі досить великою для того, щоб запустити, по досягненні порогу, генерацію піка, що передував плато (нижні записи на 3 і 1 рис. 10, А). «Сліди» вторгнення цього спайку можна бачити у проксимальній частині піддерева Н (червона лінія). Як і у випадку низьких  $G_s$ , підвищення  $\Delta E$  тривало приблизно стільки ж, скільки й плато-деполяризація, і було результатом збільшення різниці потенціалів між проксимальними і дистальними дендритними областями. Незважаючи на цю зміну, різниця між піддеревами щодо рівня їх *upstate*-деполяризації залишалася малою через обмежений фазовий зсув під час переходів.

У підсумку дендритні електричні стани при високих значеннях  $G_s$  були співставні з такими при низьких  $G_s$ , з єдиною кількісною відмінністю (більшою різницею між верхнім і нижнім станами і частішими переходами між цими станами), що означає подібність до перетворенням типу 1.

Синаптична активація середньої інтенсивності у діапазоні від 67 до 75 мкСм/см<sup>2</sup> приводила до генерації відчутно складних і різноманітних послідовностей пачок, що визначалося відмінностями у внутрішньодендритних електричних зв'язках. Це ілюструє рис. 10, 2 при  $G_s = 68$  мкСм/см<sup>2</sup>. Між пачками мембранний потенціал залишався на однорідному рівні, близькому до потенціалу спокою (стрілка на верхньому записі А і графіки на панелях Б – рис. 10, ряд 2). Як і у попередніх випадках, пачки відзначалися в основному дендритною плато-деполяризацією та переходами у стан високої деполяризації, котра була тепер помітно неоднорідною. В цілому вихідний квадруплетний імпульсний патерн і дендритні процеси були схожими з тими, що спостерігалися при низьких  $G_s$  (порівн. 1 і 2 на рис. 10, А). Особливість даного патерну визначалася наявністю аномального пік-триплетного комплексу, зв'язаного з просторовою електричною неоднорідністю дендритів (графік  $\Delta E$ , рис. 10, А, 1, і детальні просторові карти *a-z* на Б). У цьому комплексі «пік-триплет» перед пачкою походив від швидкої міжпачкової соматичної деполяризації, продукованої більшим соматопетальним струмом. Цей аномальний спайк демонстрував лише невелике посилення у піддеревах Н і М і більше посилення (червона і синя лінії) з більш раннім переходом до плато-потенціалу у піддереві L (зелена лінія). За цією подією йшла (з деякою затримкою) генерація у піддеревах Н і М плато-потенціалів, котрі були меншими і коротшими, чим під час ініціації квадруплету і тому вели до генерації меншого числа ПД (триплетів). Як вказують зміни  $\Delta E$  (верхній запис на рис. 10, А2) і миттєві знімки потенціалів (панелі на рис. 10, Б), динаміка просторово неоднорідних дендритних станів

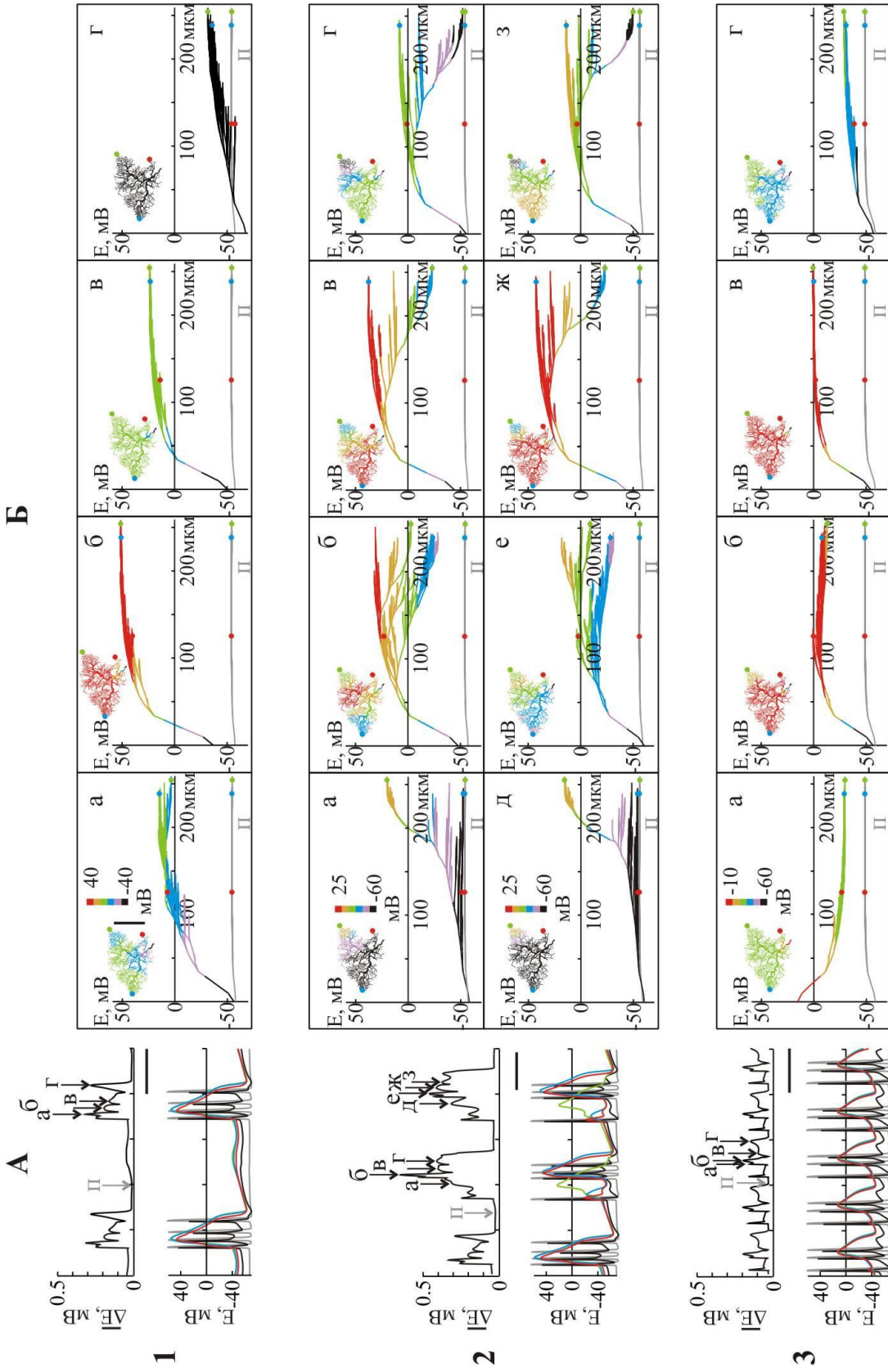


Рис. 10. Електричні стани дендритних областей нейрону Пуркін'є під час генерації імпульсних паттернів при різних інтенсивностях  $G_s$  тонічного синаптичного збудження, однорідно розподіленого по дендритах. Ряди 1, 2 і 3 відповідають  $G_s = 66$  мкСм/см<sup>2</sup>, 68 мкСм/см<sup>2</sup> і 1,6 мСм/см<sup>2</sup>. Колонки А і Б з панелями а-в – те ж саме, що й колонки А і Б з панелями а-в на рис. 9, але для синаптичного збудження  $G_s$  у якості стимула.

відрізнялася під час генерації першого (знімки від *a* до *z*) і другого комплексів «п'як-триплет» (знімки від *δ* до *z*).

З кожним триплетом починався перехід піддерев Н і М у нижній стан (*downstate*: чорна і фіолетова області на знімках *a* і *δ*), тоді як найвіддаленіша частина піддерева L приходила у верхній стан (*upstate*: жовта область). Переходи піддерева Н у верхній стан (знімок *б*, червоні і жовті області) створювали проміжну соматофугально спадаючу деполяризацію у піддереві М (сині і фіолетові області); кінцевим же результатом було те, що ця частина «відбирала» на себе струм із областей, що знаходилися у верхньому стані (*upstate*). У відповідному епізоді другого триплету (знімок *e*), піддерева Н, М і L були в основному подібними, хоча і з деякими варіаціями у межах кожного піддерева (знімок *б*). Як показували напрями падіння напруги, «жовта» область, котра раніше було стоком соматопетального струму, ставала джерелом, тоді як загальна дендритна деполяризація ставала нижчою і менш неоднорідною. У третьому епізоді кожного триплету піддерева Н і М в цілому були у верхньому стані (*upstate*: червоні), а найвіддаленіша частина піддерева L залишалася у неоднорідному нижньому стані (знімки *в* і *z*). Обидва триплети закінчувалися нижнім станом (*downstate*) віддаленої частини піддерева L і невеликим градієнтом потенціалу уздовж піддерев Н і М (*z* і *z*).

У підсумку перетворення (кодування) синаптичної дії середньої інтенсивності характеризувалося специфічними для кожної пачки комбінаціями електричних станів асиметричних частин розгалуження, обумовленими асинхронними переходами між нижніми і верхніми станами у різних частинах піддерев. Чим більшим було число різних комбінацій, тим більшою була кількість різних пачок і, таким чином, був складнішим вихідний часовий патерн і більшою біла кількість різних таких патернів.

\*\*\*

На основі аналізу отриманих результатів нами сформульовано наступну **концепцію біофізичних основ, на яких ґрунтується роль дендритів як активних формувачів власних складних і різноманітних патернів сигналів, що генеруються на виході нейрону**. Нелінійні електричні властивості плазматичної мембрани та метрична асиметрія дендритного галуження, що притаманні нейронам різних типів, обумовлюють важливе функціональне значення дендритів як активних формувачів власних патернів вихідної імпульсної активності клітини. Цей аспект функціональної ролі дендритів раніше не було розкрито. Патерн-формуюча роль дендритів ґрунтується на закономірностях динаміки просторових деполяризаційних станів, залежних як від структури галуження, так і від активних електричних властивостей мембрани, та на зв'язку цієї динаміки із динамічними патернами імпульсної активності на виході нейрону. Структура дендритного галуження закономірно визначає кількість і складність різних імпульсних

патернів, кожний з яких являє собою певну повторювану (у випадку періодичності патернів) або неповторювану (у випадку їх стохастичності) комбінацію інтервалів часу між послідовними імпульсами потенціалів дії, що генеруються на виході нейрону. Кожен такий міжімпульсний інтервал має тривалість, відповідну до часу, необхідного для накопичення на мембранній ємності аксосоматичної тригерної зони порогового заряду, що переноситься соматопетальним струмом із деполяризованих ділянок дендритного розгалуження. Відповідно, міжімпульсний інтервал є тим коротшим, чим вища інтенсивність соматопетального струму. В свою чергу, інтенсивність соматопетального струму, що досягає тригерної зони, визначається суперпозицією (алгебраїчною сумою) осьових струмів, генерованих тими дендритними гілками і піддеревами, котрі перебувають у стані високої деполяризації, а отже утворюють певний «басейн» джерел постачання заряду до тригерної зони. В той же час решта дендритного розгалуження, котра перебуває у стані низької деполяризації або гіперполяризації, не надає внеску до соматопетального струму або навіть зменшує останній. Оскільки з плином часу після генерації даного потенціалу дії електричні стани асиметричних піддерев дендритного розгалуження змінюються (синхронно або асинхронно), відповідно змінюються розмір і склад «басейнів» – джерел соматопетального струму. Отже, інтенсивність сумарного соматопетального струму та час досягнення порогу генерації наступного потенціалу дії у послідовності змінюються структурозалежним чином. У цьому і полягає біофізична закономірність зв'язку між часовим патерном імпульсної активності на виході нейрону і просторовим електричним станом дендритного розгалуження як динамічної (змінюваної у часі) комбінації електричних станів дискретних структурних елементів розгалуження – гілок і піддерев. При цьому істотною особливістю динаміки електричних станів активних дендритів є те, що синхронність або асинхронність переходів між станами високої і низької деполяризації у асиметричних піддеревих, а, отже, розмір і склад збудженої частини розгалуження закономірно залежать від загального рівня провідності дендритної мембрани завдяки особливостям параметричної чутливості електричних передавальних функцій дендритів. А саме, при низькій або високій провідності (наприклад, пов'язаній із низьким або високим рівнем синаптичної активації відповідно) дендритної мембрани стани асиметричних піддерев подібніші один до одного та змінюються синхронно. При певних же проміжних значеннях провідності, залежних від розміру розгалуження, переходи стають асинхронними із відповідними функціональними наслідками для вихідної активності.

Викладена вище концепція активного формування дендритами вихідних патернів істотно розширює існуючі уявлення про функціональну роль дендритів, яка поки що зводилася до участі лише в *трансформуванні* вхідних сигналів у вихідний, і пояснює, як саме забезпечується залежне від структури та електричних властивостей дендритів *формування* репертуару

власних вихідних електричних патернів нейрону.

## ВИСНОВКИ

Результати дисертаційної роботи, їх теоретичне узагальнення дозволили з'ясувати біофізичні механізми сполучення складної метрично/асиметричної геометрії і активних мембранних властивостей дендритних розгалужень як основи для виконання дендритами функцій активного формувача багатого репертуару різноманітних патернів власної імпульсної активності на виході нейрону. На цій підставі обґрунтована і сформульована нова концепція патерн-формуючої ролі активних дендритів у нейронах різних типів.

1. Дендритне розгалуження нейронів завдяки складній геометрії та нелінійним електричним властивостям мембрани набуває здатності забезпечувати генерацію просторово-часових патернів власної електричної активності, які можуть істотно відрізнятися у метрично асиметричних дендритних піддеревах.

2. У дендритних розгалуженнях, для яких характерними є відносно малі розміри і метрична асиметрія (наприклад, в випадку нейронів Пуркин'є), асиметричні піддерева генерують переважно періодичні осциляторні патерни з характерним, залежним від геометрії, фазовим зсувом між коливаннями однакової частоти у різних піддеревах.

3. У розгалуженнях, для яких характерними є відносно великі розміри і значна метрична асиметрія (наприклад, у випадку пірамідних нейронів неокортексу з протяжними різновеликими апікальними і набагато коротшими базальними дендритами), істотно асиметричні піддерева можуть перебувати у осциляторних режимах, котрі є подібними (при високій і низькій інтенсивності активації) або різними (при проміжній інтенсивності). Результатом електричного сполучення асиметричних частин з подібними або різними власними локальними патернами є генерація на виході, відповідно, регулярних або нерегулярних простих або складних патернів розряду (нейронних кодів).

4. У нейронах різного типу, які отримують тонічну активацію, однорідно розподілену по дендритах, метрична асиметрія дендритного розгалуження є фактором, що визначає формування певного просторового коду у вигляді неоднорідних карт статичних або тривалих динамічних електричних станів і осциляторної активності.

5. Перетворюючи подібний тонічний вхід у осциляторний імпульсний вихід, нейрон в цілому поводить себе як просторовий електричний осцилятор з просторовими режимами (модами), тісно зв'язаними з геометрією його дендритів. Найбільш різноманітні режими (моди) мають місце у істотно асиметричних і складних розгалуженнях.

6. Локальна вольт-амперна характеристика дендритної мембрани

визначає число можливих (квазі)стабільних власних електричних станів кожної окремої гілки дендрита, і це число є мінімальним числом можливих станів розгалуження в цілому. Метрична асиметрія галуження (обумовлена нерівністю довжин і/або діаметрів гілок) породжує різницю між числами і типами електричних станів сполучених гілок, а отже збільшує число можливих станів сполучення в цілому (порівняно із таким числом у складових гілок). Складність розгалуження (кількість гілок) визначає максимальне число можливих різних (квазі)стабільних станів, а у підсумку – багатство репертуару вихідних імпульсних патернів – кодів нейрону.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Kulagina I. B. Oscillatory plateau potentials and bursts in a simulated motoneuron during tonic co-activation of somato-dendritic NMDA and axon-hillock GABA inputs / I. B. Kulagina, S. M. Korogod // *Нейрофізіологія/Neurophysiology*. – 2002. – Vol. 34, No 2/3. – P. 184-186.
2. Samarin A. V. Activity synchronization in neural networks developing on planar substrates / A. V. Samarin, Y. Igarashi, Y. Jimbo, I. B. Kulagina, S. M. Korogod // *Computational Intelligence for the E-Age*. – Lipo Wang, Jagath C. Rajapakse, Kunihiko Fukusima, Soo-Young Lee, and Xin Yao (Eds.). – 2002. – Vol. 1, No 18-22. – P. 116-119.
3. Korogod S. M. Spatial reconfiguration of charge transfer effectiveness in active bistable dendritic arborizations / S. M. Korogod, I. B. Kulagina, V. I. Kukushka, P. Gogan, S. Tyc-Dumont // *Eur. J. Neurosci*. – 2002. – Vol. 16, No 12. – P. 2260-2270.
4. Bras H. Heterogeneous synaptic covering and differential charge transfer sensitivity among the dendrites of a reconstructed abducens motor neurone: Correlations between electron microscopic and computer simulation data / H. Bras, F. Lahjouji, S. M. Korogod, I. B. Kulagina, A. Barbe // *J. Neurocytol.* – 2003. – Vol. 32, No 1. – P. 5-24.
5. Kulagina I. B. The electro-dynamics of the dendritic space in a Purkinje cell of the cerebellum / I. B. Kulagina, S. M. Korogod, G. Horcholle-Bossavit, C. Batini, S. Tyc-Dumont // *Arch. Ital. Biol.* – 2007. – Vol. 143, No 3/4. – P. 13-45.
6. Kulagina I. B. Phase relationships between calcium and voltage oscillations in different dendrites of Purkinje neurons / I. B. Kulagina // *Нейрофізіологія/Neurophysiology*. – 2008. – Vol. 40, No 5/6. – P. 477-485.
7. Kulagina I. B. Impact of structural characteristics of reconstructed motoneurons on their excitability (a simulation study) / I. B. Kulagina // *Нейрофізіологія/Neurophysiology*. – 2009. – Vol. 41, No 2. – P. 137-143.



8. Новородовская Т. С. Структуро-зависимая  $\text{Ca}^{2+}$  динамика в содержащих депо дендритах нейрона Пуркинье при генерации пачечных разрядов. Модельное исследование / Т. С. Новородовская, И. Б. Кулагина // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2010. – Т. 42, № 1/2. – С. 477-485.
9. Kulagina I. B. Remote modulation of current transfer from dendritic glutamatergic synapses by GABA-ergic synapses of the somatic zone of motoneurons: a simulation study / I. B. Kulagina, V. A. Myakoushko, S. M. Korogod // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2010. – Vol. 42, No 3. – P. 182-191.
10. Novorodovska T. S. Structure dependence of the calcium dynamics in Purkinje neuron dendrites during generation of bursting discharges: a simulation study / T. S. Novorodovska, I. B. Kulagina // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2010. – Vol. 42, No 5. – P. 369-381.
11. Kulagina I. B. Electrical bistability of dendritic membrane of motoneurons due to non-inactivating inward currents: a simulation study / I. B. Kulagina // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2010. – Vol. 42, No 6. – P. 457-470.
12. Kulagina I. B. Influence of the state of TTX-resistant sodium channels on electrical activity of a nociceptive sensory fiber: a model study / I. B. Kulagina, V. A. Myakoushko // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2011. – Vol. 43, No 1. – P. 3-10.
13. Kulagina I. B. Structure-dependent electrical and concentration processes in the dendrites of pyramidal neurons of superficial neocortical layers: model study / I. B. Kulagina, V. I. Kukushka, S. M. Korogod // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2011. – Vol. 43, No 2. – P. 95-108.
14. Kulagina I. B. Comparative analysis of geometry and electrical properties of simulated normal and genetically modified motoneurons / I. B. Kulagina, J. Durand // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2011. – Vol. 43, No 3. – P. 248-253.
15. Kulagina I. B. Impulse activity patterns of abducens motoneurons with active reconstructed dendrites: a simulation study / I. B. Kulagina // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2011. – Vol. 43, No 5. – P. 428-435.
16. Кулагина И. Б. Биофизические механизмы структурозависимости выходных сигналов нейронов Пуркинье. Модельное исследование / И. Б. Кулагина, С. М. Корогод // *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского*. – 2011. – Т. 24(63), № 4. – С. 138-150.
17. Кулагина И. Б. Перестройка собственной ритмической активности нейронов в зависимости от пространственно-временной организации действия дендритных синапсов. Модельное исследование / И. Б. Кулагина, С. М. Корогод // *Нейрофизиология/Neurophysiology*. – 2011. – Т. 43, № 6. – С. 538-545.
18. Кулагина И. Б. Особенности активных электрических состояний асимметричных дендритов стволовых мотонейронов при генерации стохастических разрядных паттернов: модельное исследование / И. Б.

- Кулагина // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 2012. – Т. 44, № 1. – С. 3-9.
19. Корогод С. М. Кодирование электрических и синаптических воздействий выходным разрядом в нейронах с активными дендритами. Модельное исследование / С. М. Корогод, И. Б. Кулагина, В. И. Кукушка // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 2012. – Т. 44, № 2. – С. 24-31.
20. Корогод С. М. Динамічні електричні стани неоднорідних популяцій іонних каналів у мембранах збудливих клітин: модельне дослідження / С. М. Корогод, І. Б. Кулагина // Фізіологічний Журнал. – 2012. – Т. 58, № 3. – С. 50-59.
21. Kulagina I. B. Comparative analysis of geometry and electrical properties of simulated Purkinje cells / I. B. Kulagina, S. M. Korogod, T. Launey // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 2012. – Vol. 44, No 3. – P. 221-234.

**Тези** (за останні роки)

1. Kulagina I. B. Phase relationships between calcium and voltage oscillations correlate with branching asymmetry of dendrites in Purkinje neurons / I. B. Kulagina, S. M. Korogod // 5<sup>th</sup> Forum of European Neuroscience, Vienna 12-16 July. – 2006. – FENS Abstr., vol. 3, A 222. 14.
2. Kulagina I. B. Impact of metrical asymmetry of active dendrite branching on discharge repertoire of neocortical pyramidal neurons / I. B. Kulagina, S. M. Korogod // IV Congress of Ukrainian Biophysical Society, Donetsk 19-21 December. – 2006. Abstracts. DonSU: Donetsk. P. 394.
3. Korogod S. M. Metrical asymmetry and complexity of active dendrites determine the repertoire of neuronal output patterns: a simulation study on reconstructed neocortical pyramidal cells / S. M. Korogod, I. B. Kulagina, M. Larkum // 6<sup>th</sup> Forum of European Neuroscience, Geneve 12-16 July. – 2008. – FENS Abstr., vol. 4, 147. 15.
4. Novorodovska T. S. Structure-dependent  $Ca^{2+}$  dynamics in the store-containing active dendrites of simulated Purkinje neuron during generation of complex bursting patterns / T. S. Novorodovska, I. B. Kulagina, S. M. Korogod // 7<sup>th</sup> Forum of European Neuroscience, Amsterdam (The Nietherlands) 3-7 July. – 2010. – FENS Abstr., vol. 5, 141. 5.
5. Kulagina I. B. Impact of local and global dendritic geometry on  $Ca^{2+}$  dynamics in the dendrites of discharging Purkinje neuron. A simulation study / I. B. Kulagina, T. S. Novorodovska, S. M. Korogod // Program No. 246. 4. – 2010. – Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2010. Online.
6. Korogod S. M. Differential impact of inputs to asymmetrical dendrites on intrinsic neuron codes / S. M. Korogod, I. B. Kulagina // Program No. 246. 7. 2010 Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2010. Online.

7. Filipchuk A. Evidence of early somato-dendritic alterations in lumbar motoneurons of SOD1 juvenile mice. Amyotrophic lateral sclerosis / A. Filipchuk, A. Pambo-Pambo, S. Liabeuf, C. Brocard, I. Kulagina, S. Korogod, JP. Guéritaud, J. Durand // Abstr. 21<sup>st</sup> International Symposium on ALS/MND, Orlando, USA. – 2010. – Vol. 11, S1. – P. 39.
8. Korogod S. M. Active dendrites as formers of neural codes at the cellular level / S. M. Korogod, I. B. Kulagina // V Congress of the Ukrainian Society for Neuroscience. In Memory of Platon Kostyuk. 6-10 June, Kyiv. – 2011. – P. 38.

## АНОТАЦІЯ

*Кулагіна І. Б.* Структурозалежні особливості просторово-часової картини авторитмічної активності нейронів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. – Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця, Київ, 2013.

Дисертація присвячена дослідженню біофізичних механізмів і закономірностей, котрі визначають впливи геометрії та активних мембранних властивостей дендритів на формування складних власних патернів електричної активності нейронів.

Досліджені модельні нейрони різних типів (пірамідні нейрони неокортексу, нейрони Пуркін'є мозочка, мотонейрони стовбура головного мозку і спинного мозку) з активними властивостями дендритної мембрани і складною геометрією дендритних розгалужень, як природних, отриманих в результаті комп'ютерної реконструкції прижиттєво забарвлених клітин, так і модифікованих методом віртуальної дисекції окремих структурних елементів для конкретизації функціональної ролі останніх.

Вперше розкриті біофізичні механізми, що визначають генерацію різноманітних власних патернів вихідних сигналів, як простих, так і складних, включаючи стохастичні, у нейронах з дендритами, що мають складну метрично асиметричну геометрію галуження і нелінійні електричні мембранні властивості. Вперше виявлена тонка організація електричних станів збудливих мембран – показана можливість існування в них множинних станів збудження, котрі відрізняються рівнями, часом виникнення і тривалістю мембранної деполяризації, що має тенденцію до самопідтримання. Вперше встановлено, що нейронам різних типів, істотно відмінним за структурою і мембранними властивостями дендритів, притаманні загальні закономірності зв'язку між складністю і регулярністю часового патерну на виході клітки, а також інтенсивністю тонічного синаптичного збудження, однорідно розподіленого по дендритам. Загальними є генерація простих періодичних імпульсних патернів низької або високої частоти при, відповідно, низькій або високій інтенсивності

збудження, і генерація складних періодичних або стохастичних патернів при інтенсивності збудження у певному проміжному діапазоні. Особливістю є залежність останнього від розмірів дендритного розгалуження: великорозмірним розгалуженням притаманні менші інтенсивності цього характеристичного діапазону. Вперше визначені конкретні ролі розміру, метричної асиметрії і складності дендритного розгалуження, а також кінетичних властивостей іонних каналів, що населяють дендритну мембрану, у формуванні особливостей просторово-часових патернів власної електричної активності нейронів різних типів.

*Ключові слова:* нейрони, дендритне розгалуження, розмір, складність, метрична асиметрія, іонні канали, нелінійні електричні властивості, електричні стани, просторово-часові патерни.

## АННОТАЦІЯ

*Кулагина И. Б.* Структурозависимые особенности пространственно-временной картины авторитмической активности нейронов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.02 – биофизика. – Институт физиологии им. А. А. Богомольца, Киев, 2013.

Диссертация посвящена исследованию биофизических механизмов и закономерностей, которые определяют влияния геометрии и активных мембранных свойств дендритов на формирование сложных собственных паттернов электрической активности нейронов.

Исследованы модельные нейроны разных типов (пирамидные нейроны неокортекса, нейроны Пуркинье мозжечка, мотонейроны ствола головного мозга и спинного мозга) с активными свойствами дендритной мембраны и сложной геометрией дендритных разветвлений, как природных, полученных в результате компьютерной реконструкции прижизненно окрашенных клеток, так и модифицированных методом виртуальной диссекции отдельных структурных элементов для конкретизации функциональной роли последних.

Впервые раскрыты биофизические механизмы, определяющие генерацию разнообразных собственных паттернов выходных сигналов, как простых, так и сложных, включая стохастические, в нейронах с дендритами, имеющими сложную метрически асимметричную геометрию ветвления и нелинейные электрические мембранные свойства. Впервые выявлена тонкая организация электрических состояний возбудимых мембран – показана возможность существования в них множественных состояний возбуждения, которые отличаются уровнями, временем возникновения и длительностью жизни мембранной деполяризации, стремящейся самоподдерживаться. Впервые

установлено, что нейронам разных типов, существенно отличающихся по структуре и мембранным свойствам дендритов, присущи общие закономерности связи между сложностью и регулярностью временного паттерна на выходе клетки, а также интенсивностью тонического синаптического возбуждения, однородно распределенного по дендритам. Общими являются генерация простых периодических импульсных паттернов низкой или высокой частоты при, соответственно, низкой или высокой интенсивности возбуждения, и генерация сложных периодических или стохастических паттернов при интенсивности возбуждения в определенном промежуточном диапазоне. Особенностью является зависимость последнего от размеров дендритного разветвления: большему разветвлению присущи меньшие интенсивности этого характеристического диапазона. Впервые определены конкретные роли размера, метрической асимметрии и сложности дендритного разветвления, а также кинетических свойств ионных каналов, населяющих дендритную мембрану, в формировании особенностей пространственно-временных паттернов собственной электрической активности нейронов разных типов. Локальная вольт-амперная характеристика дендритной мембраны определяет число возможных (квази)стабильных собственных электрических состояний каждой индивидуальной ветви дендрита, и это число является минимальным числом возможных состояний разветвления в целом. Метрическая асимметрия ветвления, обусловленная неравенством длин и/или диаметров ветвей, порождает различие по численности и типам электрических состояний сопряженных ветвей, а таким образом увеличивает число возможных состояний разветвления в целом по сравнению с этим числом у составляющих ветвей. Сложность разветвления (число ветвей) определяет максимальное число возможных разных (квази)стабильных состояний, а в итоге – богатство репертуара выходных импульсных паттернов – кодов нейрона.

На основе анализа полученных результатов сформулирована **концепция биофизических основ, определяющих роль дендритов как активных формирователей собственных сложных и разнообразных паттернов выходных сигналов нейрона**. Данная концепция активного формирования дендритами выходных паттернов существенно расширяет существующие представления о функциональной роли дендритов, которая пока что сводилась к участию лишь в **трансформировании** входных сигналов в выходной, и объясняет, как именно обеспечивается зависимость от структуры и электрических свойств дендритов **формирование** репертуара собственных выходных электрических паттернов нейрона.

*Ключевые слова:* нейроны, дендритное разветвление, размер, сложность, метрическая асимметрия, ионные каналы, нелинейные электрические свойства, электрические состояния, пространственно-временные паттерны.

## SUMMARY

*Kulagina I. B.* Structure-dependent features of the spatial-temporal patterns of autorythmical activity of neurons. – Manuscript copyright.

Thesis for a doctor degree by speciality 03.00.02 – Biophysics. – Bogomoletz Institute of Physiology, Kyiv, 2013.

Thesis is devoted to the study of the biophysical mechanisms and laws that determine the influence of geometry and active membrane properties of dendrites on formation of intrinsic complex patterns of electrical activity of neurons.

Investigations were performed on model neurons of different types (neocortical pyramidal neurons, cerebellar Purkinje neurons, motor neurons of the brain stem and spinal cord) with active properties of the dendritic membrane and complex geometry of dendritic arborizations, both natural, derived from computer reconstruction of in vivo stained cells, and modified by the virtual dissection of individual structural elements in order to specify the functional roles of the latter.

For the first time we disclosed the biophysical mechanisms determining the generation of a variety of both simple and complex, including stochastic, intrinsic patterns of output signals in neurons with the dendrites having complex metrically asymmetrical branching geometry and nonlinear electrical membrane properties. For the first time subtle organization of the electrical states of excitable membranes was revealed as the possibility of the existence of multiple excitation states, which differ in levels, time of occurrence and life-time of the membrane depolarization, which tends to self-maintaining. It was for the first time established that neurons of different types, which significantly differ in structure and membrane properties of their dendrites, share common laws of links between the complexity and regularity of the temporal pattern at the cell output and the intensity of tonic synaptic excitation, uniformly distributed along the dendrites. Common are the generation of simple periodical pulse patterns of low or high frequency at, respectively, low or high excitation intensity, and the generation of complex periodical or stochastic patterns at excitation intensity in a certain intermediate range. The feature is the dependence of the latter on the size of the dendritic branching: the larger arborization the smaller intensities in this characteristic range. For the first time we determined the specific roles of the size, complexity, and metrical asymmetry of the dendritic branching as well as kinetic properties of ion channels populating the dendritic membrane in the form of the features of spatial-temporal patterns of intrinsic electrical activity of neurons of different types.

*Keywords:* neurons, dendritic branching, size, complexity, metrical asymmetry, ion channels, non-linear electrical properties, electrical condition, spatio-temporal patterns