



ОСЦИЛЛЯТОРНАЯ НЕУСТОЙЧИВОСТЬ И СПОНТАННЫЕ ПОДПороГОВЫЕ КОЛЕБАНИЯ В СЕТИ ДИФФУЗИОННО СВЯЗАННЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ ОСЦИЛЛЯТОРОВ

В.Б. Казанцев, А.В. Воробьёв

Работа посвящена исследованию динамики сети взаимодействующих астроцитов – глиальных клеток мозга, способных генерировать химические сигналы активности – кальциевые импульсы. Астроциты, подобно нервным клеткам (нейронам), формируют сети, где взаимодействие между клетками осуществляется через так называемые щелевые контакты (в англ. gap junctions). Такие контакты представляют собой специальные каналы, по которым химически активные вещества диффундируют между клетками. Как считается, кальциевые сигналы в астроцитах могут регулировать эффективность синаптической передачи в близлежащих нейронных клетках. В работе исследуются процессы возникновения колебательной активности в одномерной сети диффузионно связанных астроцитов. Динамика отдельной клетки описывается системой нелинейных дифференциальных уравнений 3-го порядка, полученной на основе детального описания кинетики биохимических преобразований в клетке (Де Янг и Кайзер, 1992; Ли и Ринцель, 1994; Уллах и др., 2006). Рассматриваемая модель сети при учете диффузионной связи представляет собой трехкомпонентную дискретную систему типа «реакция–диффузия» с одной диффундирующей переменной. Установлено, что существует критическое значение коэффициента диффузии, превышение которого приводит к появлению осцилляторной неустойчивости на частотах 0.1 Гц и генерации спонтанных квазисинусоидальных колебаний малой (0.05 мкмоль) амплитуды. Получен соответствующий спектр собственных значений, анализ которого показывает, что при дальнейшем увеличении коэффициента связи в сети возникает мультичастотный режим, что приводит, в частности, к модуляции амплитуды квазисинусоидальных колебаний и спонтанной генерации кальциевых импульсов.

Ключевые слова: Кальциевые сигналы, подпороговые колебания, диффузионная неустойчивость, астроцит.

Введение

Исследование динамических процессов возникновения структур или паттернов активности в нелинейных распределенных системах становится в последние годы одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений нелинейной физики колебаний и волн. Ярким приложением этих исследований являются процессы генерации и преобразования сигналов в сетях мозга, лежащие в основе его функциональной активности и когнитивных функций [1–5]. Нервные клетки мозга способны

генерировать электрические импульсы возбуждения (потенциалы действия), которые передаются по сети за счет межнейронных связей. Эти процессы достаточно полно описаны с помощью динамических моделей различной степени сложности, от простейших триггерных сетей до сложных уравнений типа Ходжкина–Хаксли, детально учитывающих динамику ионных токов через клеточную мембрану нейрона [5]. Однако кроме нейронов в мозге существует большое количество глиальных клеток (астроциты, микроглия, миелоновые клетки и др.), которые обеспечивают поддержание жизнедеятельности нейронных систем. Интенсивные исследования физиологов последних десяти лет свидетельствуют о том, что кроме поддерживающей роли глиальные клетки, в частности астроциты, способны влиять на нейронную активность за счет синтеза нейроактивных веществ (нейропередатчиков, нейромедиаторов), выбрасываемых в межклеточное пространство и захватываемых рецепторами нейрональных клеток [6]. Кроме того, было показано, что астроциты также формируют сети и их химическая активность может существенно зависеть от коллективных эффектов за счет транспорта активных веществ между клетками. На уровне отдельных клеток астроциты, в отличие от нейронов, не обладают свойством электрической возбудимости – пороговой генерации электрических импульсов, поскольку не имеют потенциал-зависимых ионных каналов. Однако они способны генерировать импульсы внутриклеточной концентрации кальция (кальциевые импульсы или кальциевые колебания). Эти процессы могут быть описаны с помощью детального анализа кинетики биохимических преобразований внутри клетки [7]. Модель в этом случае представляет собой многомерную систему нелинейных дифференциальных уравнений, построенных аналогично формализму Ходжкина–Хаксли. Эти уравнения в некоторых случаях (в пренебрежении быстрыми процессами релаксации и при аппроксимации некоторых переменных их равновесными значениями) могут быть сведены к нелинейным системам второго [8] или третьего порядка [9]. Анализ этих моделей показывает, что при изменении контрольного параметра равновесная концентрация кальция становится неустойчивой и через бифуркацию Андронова–Хопфа происходит рождение устойчивого предельного цикла, описывающего колебания внутриклеточного кальция. В данной работе мы будем использовать трехкомпонентную модель клетки [9], переменными в которой являются: концентрация кальция в цитозоли, доля открытых кальциевых каналов эндоплазматического ретикула (ЭР), являющегося источником кальция внутри клетки, и концентрация внутриклеточного посредника инозитол 1,4,5-трисфосфата (IP_3). Взаимодействие между астроцитами осуществляется посредством диффузии IP_3 через щелевые контакты, проницаемость которых для IP_3 существенно выше, чем для остальных молекул и ионов в клетке [10]. Одним из эффектов такого взаимодействия, исследованным ранее [9], является синхронизация (синфазная и антифазная) кальциевых колебаний в двух взаимодействующих клетках, подтвержденная экспериментально. Среди известных результатов по исследованию кальциевых сигналов в глиальных клетках и нейронах необходимо также упомянуть распространение кальциевых волн в диффузионных моделях IP_3 чувствительных клеток [11], кальциевые колебания и волны, индуцированные глутаматом [9], нейрон-астроцитарное взаимодействие и формирование так называемого тройственного синапса [12, 13] и др. [6]. Отметим, что процессы коллективной динамики взаимодействия астроцитов в больших сетях до настоящего времени практически не исследованы.

В данной работе рассмотрен эффект возникновения осцилляторной неустойчивости и генерации спонтанных квазисинусоидальных колебаний за счет диффузии IP_3 в модели одномерной сети взаимодействующих астроцитов. Модель представляет собой дискретный аналог трехкомпонентной системы «реакция–диффузия» с одним диффундирующим компонентом (IP_3). При отсутствии связи каждый из астроцитов находится в устойчивом состоянии равновесия и генерирует кальциевый импульс только при достаточно большом внешнем воздействии (например, в ответ на химическую стимуляцию глутаматом [9]). Мы покажем, что при введении диффузионной связи равновесная концентрация кальция становится неустойчивой при превышении критического значения коэффициента связи. Это соответствует переходу комплексной пары характеристических корней через мнимую ось и возникновению спонтанных квазисинусоидальных колебаний. Дальнейшее увеличение диффузии приводит к переходу в неустойчивую область целой части спектра и формированию многочастотного осцилляторного паттерна. Амплитуда кальциевых колебаний при этом растет и может достигнуть порога возбуждения, что приводит к спонтанной генерации кальциевых импульсов в отдельных клетках сети.

1. Модель

Рассмотрим модель одномерной сети локально связанных астроцитов, схематически представленную на рис. 1. Учет только локальных связей по внутриклеточной IP_3 -диффузии обоснован недавними экспериментальными исследованиями [14], которые показывают, что астроциты занимают «неперекрывающиеся территории» и, следовательно, эффективно взаимодействуют только с ближайшими соседями¹.

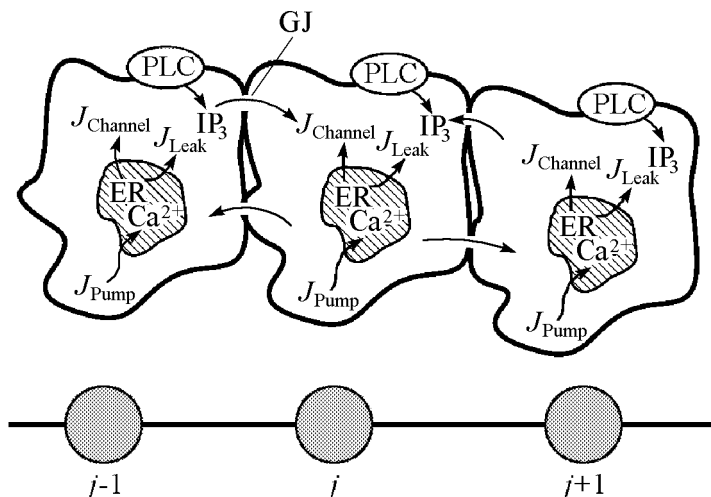


Рис. 1. Одномерная сеть взаимодействующих кальциевых осцилляторов – астроцитов. PLC – phospholipase C; GJ – щелевой контакт; ER – эндоплазматический ретикулум. Стрелками показаны направления внутриклеточных токов активных веществ

¹Второй механизм взаимодействия астроцитов, допускающий нелокальные взаимодействия через внеклеточную диффузию АТФ [6], в данной работе не рассматривается.

Динамика сети из N элементов описывается следующей многомерной системой дифференциальных уравнений:

$$\begin{cases} \frac{dx_j}{dt} = J_{IP_3}(x_j, y_j) + k_{IP_3}(x_{j-1} - 2x_j + x_{j+1}), \\ \frac{dy_j}{dt} = J_{Ca}(x_j, y_j, z_j), \\ \frac{dz_j}{dt} = H_{Ca}(x_j, y_j, z_j), \\ j = 1, 2, \dots, N. \end{cases} \quad (1)$$

Переменная $x_j = [IP_3]$ описывает концентрацию посредника IP_3 , изменения которой определяются внутриклеточными преобразованиями $J_{IP_3}(x_j, y_j)$ и межклеточной диффузией с коэффициентом k_{IP_3} . Переменная $y_j = [Ca^{2+}]$ описывает концентрацию кальция в цитозоли и определяется суммарным током кальция, $J_{Ca}(x_j, y_j, z_j)$. Переменная z_j определяет долю открытых кальциево-зависимых каналов эндоплазматического ретикулума с функцией инактивации $H_{Ca}(x_j, y_j, z_j)$. Выражения для функций правых частей (1) имеют вид [7, 9, 12]

$$\begin{aligned} J_{IP_3}(x_j, y_j) &= v_4 \left(\frac{y_j + (1 - \alpha)k_4}{y_j + k_4} \right) - \frac{1}{\tau_r} (x_j - [IP_3]^*), \\ J_{Ca}(x_j, y_j, z_j) &= J_{Channel} - J_{Pump} + J_{Leak} + J_{in} - J_{out}, \\ H_{Ca}(x_j, y_j, z_j) &= \frac{z_\infty - z_j}{\tau_z}. \end{aligned} \quad (2)$$

Первое слагаемое в J_{IP_3} описывает синтез IP_3 за счет так называемого PLC- δ механизма. Изменение внутриклеточной концентрации кальция J_{Ca} определяется током кальция через IP_3 -зависимые каналы мембраны ЭР (см. рис. 1)

$$J_{Channel} = v_1 x_j^3 y_j^3 z_j^3 \frac{(c_0 - (c_1 + 1) y_j)}{((x_j + d_1)(y_j + d_5))^3},$$

активным током кальция, создаваемым АТФ-зависимыми насосами, закачивающими кальций обратно в ЭР,

$$J_{Pump} = v_3 \left(\frac{y_j^2}{k_3^2 + y_j^2} \right),$$

током утечки

$$J_{Leak} = v_2 (c_0 - (c_1 + 1) y_j)$$

и токами кальция через плазматическую мембрану астроцита

$$\begin{aligned} J_{in} &= v_5 + v_6 \frac{x_j^2}{k_2^2 + x_j^2}, \\ J_{out} &= k_1 y_j. \end{aligned}$$

Функция инактивации кальциевых каналов ЭР z_∞ и время релаксации τ_z определяются следующими выражениями:

$$z_\infty = \frac{Q_2}{Q_2 + y_j},$$

$$\tau_z = \frac{1}{a_2(Q_2 + y_j)},$$

$$Q_2 = d_2 \left(\frac{x_j + d_1}{x_j + d_3} \right).$$

Константы и параметры, входящие в выражения для функций правых частей, определяются кинетикой биохимических преобразований [7]. В соответствии с экспериментальными данными исследования культуры астроцитов [9], зафиксируем значения констант, перечисленные в таблице. Выберем в качестве контрольных параметры v_4 и k_{IP_3} , определяющие динамику диффундирующей переменной. Предполагаем, что на границах сети (см. рис. 1) выполнены граничные условия «нулевого потока»:

$$x_0 = x_1, \quad x_{N+1} = x_N. \quad (3)$$

Как было показано в предыдущих исследованиях [7, 9], динамика изолированной клетки, $k_{IP_3} = 0$, сравнительно проста. При $v_4 < v_4^{AH}$ система имеет единственное устойчивое состояние равновесия. При $v_4 = v_4^{AH}$ в результате бифуркации Андронова–Хопфа мягко рождается устойчивый предельный цикл, соответствующий внутриклеточным колебаниям кальция.

2. Возникновение осцилляторной неустойчивости в сети астроцитов

Рассмотрим теперь динамику системы при введении диффузионной связи, $k_{IP_3} > 0$. Состояние равновесия каждого из элементов определяет пространственно-однородное состояние равновесия сети. Координаты этого состояния по соответствующим компонентам $x_j = x^*$, $y_j = y^*$, $z_j = z^*$ ($j = 1, 2, \dots, N$) определяются следующим нелинейным уравнением:

$$\frac{v_1 \left(\frac{v_4 \tau_r (y^* + (1 - \alpha)k_4)}{y^* + k_4} + [IP_3]^* \right)^3 y^{*3} a_2^2 d_2^3 (c_0 - (c_1 + 1)y^*)}{(y^* + d_5)^3 \left(\left(\frac{v_4 \tau_r (y^* + (1 - \alpha)k_4)}{y^* + k_4} + [IP_3]^* \right) (y^* + d_2) + d_3 y^* + d_1 d_2 \right)^3} - \frac{v_3 y^{*2}}{y^{*2} + k_3^2} + v_2 (c^* - (c_1 + 1)y^*) = 0. \quad (4)$$

Таблица

Параметры модели

Параметр	Значение
c_0	2.0 мкмоль
c_1	0.185
v_1	6 с ⁻¹
v_2	0.11 с ⁻¹
v_3	2.2 мкмоль·с ⁻¹
v_5	0.025 мкмоль·с ⁻¹
v_6	0.2 мкмоль·с ⁻¹
k_1	0.5 с ⁻¹
k_2	1.0 мкмоль
k_3	0.1 мкмоль
a_2	0.14 мкмоль ⁻¹ · с ⁻¹
d_1	0.13 мкмоль
d_2	1.049 мкмоль
d_3	0.9434 мкмоль
d_5	0.082 мкмоль
α	0.8
τ_r	7.143 с
$[IP_3]^*$	0.16 мкмоль
k_4	1.1 мкмоль

Численное решение уравнения (4) показывает, что в диапазоне изменения переменных ($x_j, y_j, z_j > 0$) и для выбранных значений констант (см. таблицу) оно имеет единственное решение.

2.1. Спектр собственных значений состояния равновесия. Для определения устойчивости пространственно-однородного состояния сети в многомерном фазовом пространстве линеаризуем систему (1) в окрестности этого состояния. Для малых возмущений вида

$$x_i - x^* = A_i e^{\lambda t}, \quad y_i - y^* = B_i e^{\lambda t}, \quad z_i - z^* = C_i e^{\lambda t} \quad (5)$$

амплитуды $A_i, B_i, C_i \ll 1$ удовлетворяют следующей системе однородных линейных уравнений:

$$\begin{cases} A_i (J'_{IP_{3x}} - 2k_{IP_3} - \lambda) + B_i J'_{IP_{3y}} + C_i J'_{IP_{3z}} + A_{i-1} k_{IP_3} + A_{i+1} k_{IP_3} = 0, \\ A_i J'_{Ca_x} + B_i (J'_{Ca_y} - \lambda) + C_i J'_{Ca_z} = 0, \\ A_i H'_{Ca_x} + B_i H'_{Ca_y} + C_i (H'_{Ca_z} - \lambda) = 0, \\ A_0 = A_1, \quad A_{N+1} = A_N, \end{cases} \quad (6)$$

где $J'_{IP_{3x,y,z}}, J'_{Ca_x,y,z}, H'_{Ca_x,y,z}$ – частные производные функций правых частей (1) по соответствующим переменным. Исключая B_i и C_i из (6), легко получить

$$A_i \left(J'_{IP_{3x}} - 2k_{IP_3} - \lambda + J'_{IP_{3y}} \frac{H'_{Ca_x} J'_{Ca_z} - J'_{Ca_x} (H'_{Ca_z} - \lambda)}{(J'_{Ca_y} - \lambda)(H'_{Ca_z} - \lambda) - J'_{Ca_z} H'_{Ca_y}} \right) + k_{IP_3} (A_{i-1} + A_{i+1}) = 0. \quad (7)$$

Введем обозначение

$$S = \frac{1}{k_{IP_3}} \left(J'_{IP_{3x}} - 2k_{IP_3} - \lambda + J'_{IP_{3y}} \frac{H'_{Ca_x} J'_{Ca_z} - J'_{Ca_x} (H'_{Ca_z} - \lambda)}{(J'_{Ca_y} - \lambda)(H'_{Ca_z} - \lambda) - J'_{Ca_z} H'_{Ca_y}} \right). \quad (8)$$

Тогда (6) переписется в виде

$$\begin{cases} (S + 1)A_1 + A_2 = 0, \\ SA_i + A_{i-1} + A_{i+1} = 0, \quad i = 2, 3, \dots, N - 1, \\ (S + 1)A_N + A_{N-1} = 0. \end{cases} \quad (9)$$

Для нахождения спектра собственных значений системы (9) воспользуемся техникой, предложенной в [15] для цепочечных систем с локальной диффузионной связью. Характеристический определитель для (9) можно записать в виде

$$Q_N(S) = \begin{vmatrix} S+1 & 1 & 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 1 & S & 1 & 0 & \cdots & 0 \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & S+1 \end{vmatrix}. \quad (10)$$

После преобразований Q_N можно представить в виде

$$Q_N(S) = (S+1)((S+1)T_{N-2}(S) - T_{N-3}(S)) - (S+1)T_{N-3}(S) + T_{N-4}(S), \quad (11)$$

где $T_N(S)$ – «симметричный» определитель

$$T_N(S) = \begin{vmatrix} S & 1 & 0 & \cdots & 0 \\ 1 & S & 1 & \cdots & 0 \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & S \end{vmatrix}, \quad (12)$$

для которого справедливо следующее рекуррентное уравнение:

$$T_N(S) = ST_{N-1}(S) - T_{N-2}(S). \quad (13)$$

Используя (13), можно записать

$$Q_N(S) = (S+2)T_{N-1}(S). \quad (14)$$

Тогда корни характеристического уравнения $Q_N(S) = 0$ будут определяться уравнениями

$$S = -2, \quad T_{N-1}(S) = 0. \quad (15)$$

Согласно рекуррентному соотношению (13), определитель $T_N(S)$ можно выразить через многочлены Чебышева второго рода, корни которых известны [16]. Для уравнения $T_{N-1}(S) = 0$ они имеют вид

$$S = 2 \cos\left(\frac{\pi k}{N}\right), \quad k = 1, 2, \dots, N-1. \quad (16)$$

Для учёта корня $S = -2$ доопределим k значением $k = N$. Выражая S через параметры системы (1), получаем характеристическое уравнение в виде

$$\begin{aligned} & \lambda^3 - \lambda^2(J'_{IP_{3x}} - k_{IP_3}(S+2) + J'_{Ca_y} + H'_{Ca_z}) + \\ & + \lambda(J'_{Ca_y}H'_{Ca_z} - J'_{Ca_z}H'_{Ca_y} + (J'_{IP_{3x}} - k_{IP_3}(S+2))(J'_{Ca_y} + H'_{Ca_z}) - J'_{IP_{3y}}J'_{Ca_x}) - \\ & - (J'_{IP_{3y}}H'_{Ca_x}J'_{Ca_z} - J'_{IP_{3y}}J'_{Ca_x}H'_{Ca_z} + (J'_{IP_{3x}} - k_{IP_3}(S+2))(J'_{Ca_y}H'_{Ca_z} - J'_{Ca_z}H'_{Ca_y})) = 0 \end{aligned} \quad (17)$$

Кубическое уравнение (17) определяет $3N$ собственных значений пространственно-однородного состояния сети астроцитов.

2.2. Анализ спектра собственных значений. Исследуем расположение корней уравнения (17) на комплексной плоскости λ в зависимости от контрольных параметров. Спектр состоит из N действительных отрицательных значений, не меняющих знак при изменении контрольных параметров v_4, k_{IP_3} , и $2N$ комплексно-сопряженных корней. При $v_4 < v_4^{AH}$ и $k_{IP_3} < k_{IP_3}^*(v_4)$, где $k_{IP_3}^*(v_4)$ – некоторое критическое значение, весь спектр находится слева от мнимой оси и состояние равновесия является устойчивым (рис. 2, а). При значении коэффициента связи выше $k_{IP_3}^*(v_4)$ пара комплексно-сопряженных корней переходит через мнимую ось (рис. 2, б).

В многомерном фазовом пространстве происходит бифуркация Андронова–Хопфа и мягко рождается устойчивый предельный цикл². Ему соответствует возникновение в сети малых квазисинусоидальных колебаний внутриклеточного кальция с частотой $f_1 \approx \text{Im } \lambda_1 / 2\pi$. Дальнейшее увеличение параметра k_{IP_3} соответствует последовательному переходу комплексно-сопряженных пар в неустойчивую область (рис. 2, в, г). В сети формируется многочастотный режим с $f_i \approx \text{Im } \lambda_i / 2\pi$, $i = 1, 2, \dots, N$. Зависимость действительной части собственных значений спектра от коэффициента связи представлена на рис. 3, а. Таким образом, в системе происходит каскад локальных бифуркаций, определяемых последовательностью бифуркационных параметров $k_1^{*+}, k_2^{*+}, \dots, k_M^{*+}$, где $M = M(v_4) < N$ – максимальное число неустойчивых пар в спектре и, соответственно, частот, зависящее от параметра v_4 . Отметим, что речь идет о частотах собственных неустойчивых мод в линейном приближении, которое справедливо только при достаточно малых амплитудах колебаний сети. При сравнительно больших значениях k_{IP_3} в спектре происходит каскад обратных переходов $k_1^{*-}, k_2^{*-}, \dots, k_M^{*-}$, при котором собственные значения

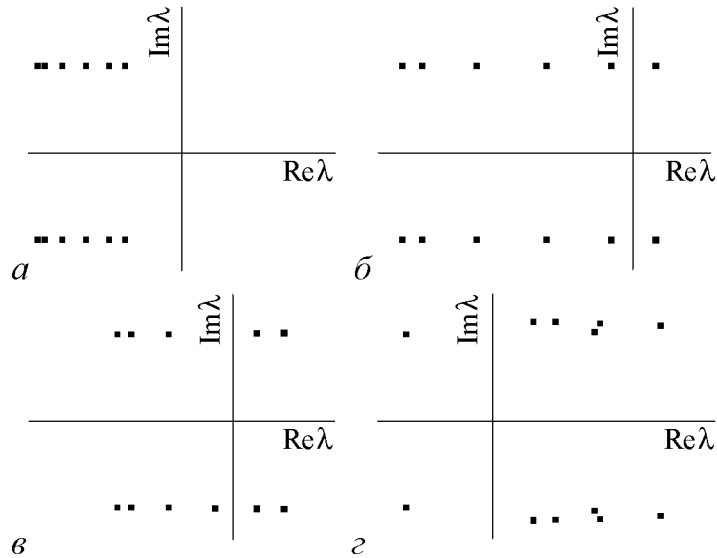


Рис. 2. Расположение комплексно-сопряженных корней спектра (17) пространственно-однородного состояния равновесия сети для $N = 6$ на комплексной плоскости. Параметры: а – $k_{IP_3} = 0.012$ мкмоль, б – $k_{IP_3} = 0.023$ мкмоль, в – $k_{IP_3} = 0.032$ мкмоль, г – максимальный «порядок» неустойчивости $M = 5$, $k_{IP_3} = 0.8$ мкмоль. Остальные параметры приведены в таблице

²Сценарий мягкого рождения автоколебаний (первая ляпуновская величина отрицательна) будет проиллюстрирован ниже плавной монотонной зависимостью амплитуды от параметра.

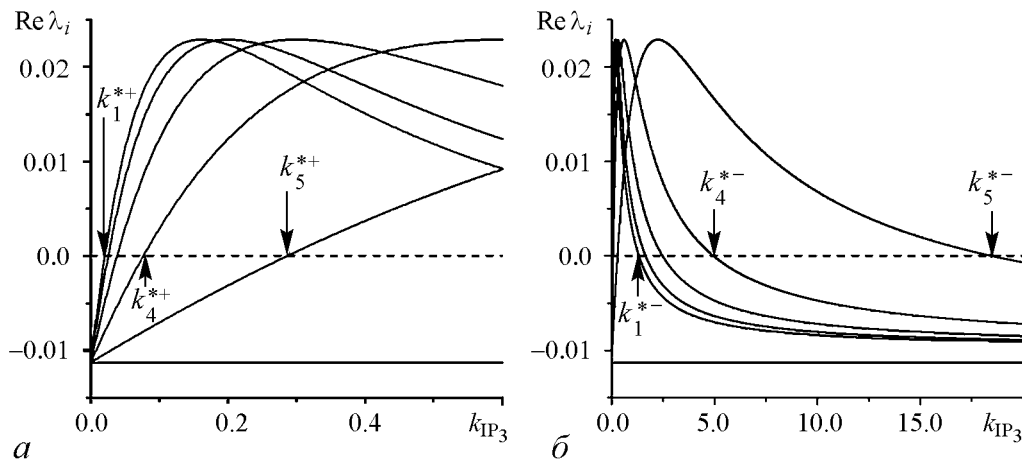


Рис. 3. Зависимость действительных частей собственных значений спектра (17) от коэффициента связи k_{IP_3} . Стрелками показаны соответствующие бифуркационные значения параметров. *a* – Переход собственных значений через ноль при сравнительно малых значениях k_{IP_3} . *б* – Возврат собственных значений в устойчивую область при больших значениях коэффициента связи

возвращаются в устойчивую область и, соответственно, количество неустойчивых «мод» (колебаний на собственных частотах в линейном приближении) уменьшается, а при $k > k_M^{*-}$ пространственно-однородное состояние сети вновь становится устойчивым (рис. 3, б).

3. Спонтанная колебательная активность сети астроцитов

3.1. Малые квазисинусоидальные колебания. Исследуем колебания сети астроцитов, возникновение которых при увеличении коэффициента связи предсказывает теоретический анализ, с помощью численного моделирования уравнений (1). При параметрах связи ниже первого критического значения k_1^{*+} весь спектр находится слева от мнимой оси и все возмущения затухают к устойчивому пространственно-однородному состоянию сети (рис. 4, а). При $k_1^{*+} < k_{IP_3} < k_2^{*+}$ в системе существует единственный устойчивый предельный цикл, что соответствует квазисинусоидальным колебаниям элементов сети, амплитуда которых и частота (близкая к $f_1 \approx 0.1$ Гц) не меняется во времени (рис. 4, б). Отметим, что амплитуда колебаний монотонно спадает при приближении к границам сети. В случае существования в спектре нескольких неустойчивых значений при $k_{IP_3} > k_1^{*+}$ характер колебаний сети становится более сложным (рис. 4, в). Амплитуда колебаний становится медленно модулированной функцией времени. Этот эффект можно объяснить следующим образом. В линейном приближении несколько собственных значений в спектре определяют развитие неустойчивости по нескольким собственным направлениям (многообразиям – в многомерном фазовом пространстве) – «собственным модам». При достаточно малой амплитуде колебаний формирование колебательного паттерна можно трактовать как результат слабого нелинейного взаимодействия собственных мод, что ведет, в частности, к появлению комбинационных частот в спектре. Поскольку частоты неустойчивых мод достаточно близки между собой, наличие медленной огибающей соответствует сравнительно малой разностной частоте, $\Delta f \ll f_1$.

3.2. Генерация кальциевых импульсов. Появление амплитудной модуляции при развитии неустойчивости и взаимодействии нескольких неустойчивых мод является принципиально важным для появления кальциевых импульсов – выбросов сравнительно большой амплитуды. Эти импульсы возникают спонтанно в различных элементах сети (рис. 4, *з*), стимулируя передачу возбуждения к соседним элементам за счет диффузионной связи. Эффект связан, с одной стороны, с возбудимыми свойствами локального элемента сети – генерации кальциевого отклика при наложении достаточно сильного внешнего возмущения. С другой стороны, модуляция амплитуды приводит к повышению размаха колебаний в определенных элементах сети и достижению порога генерации кальциевых импульсов в определенные моменты времени. Таким образом, взаимодействие элементов сети за счет диффузионной связи и появление спонтанных *подпороговых* колебаний, фактически, обеспечивает снижение эффективного порога возбуждения и, следовательно, возможность межэлементной «передачи» возбуждения. Отметим, что особенностью генерации и передачи импульсов при наличии подпороговых колебаний является также определенный временной масштаб генерации импульсов (в англ. *timing*), поскольку возбуждение происходит только на максимумах квазисинусоидальных подпороговых возмущений. Этот временной масштаб составляет для сети астроцитов примерно 10 секунд. Обратный переход через последовательность бифуркационных значений k_M^{*-} соответствует возвращению собственных значений в устойчивую область, уменьшению числа неустойчивых мод и приводит к снижению характерной амплитуды спонтанных колебаний. Как следствие, сеть возвращается в режим подпороговых колебаний с подавлением импульсной генерации.

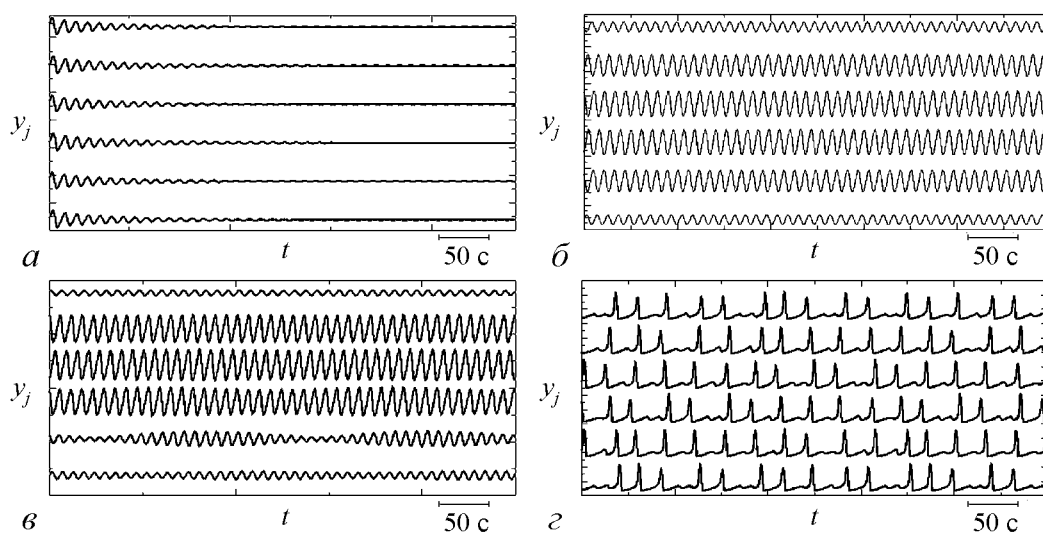


Рис. 4. Характерный вид кальциевых колебаний в цепочке при различных значениях коэффициента диффузии $k_{ГР_3}$ (мкмоль): 0.012 – затухающие колебания в окрестности устойчивого фокуса (*а*); 0.023 – квазисинусоидальные подпороговые колебания (*б*); 0.032 – амплитудная модуляция в многочастотном режиме (*в*); 0.8 – генерация кальциевых импульсов на пиках подпороговых колебаний (*з*). Остальные параметры приведены в таблице

3.3. Характеристики колебаний. Исследуем характеристики кальциевых сигналов, возникающих в сети астроцитов вследствие осцилляторной неустойчивости. Рассмотрим сначала представление колебаний в многомерном фазовом пространстве системы (1). При $k_{IP_3} < k_1^{*+}$ состояние равновесия является устойчивым фокусом (рис. 5, а). При превышении критического значения, согласно проведенному теоретическому анализу, в фазовом пространстве системы (1) рождается устойчивый предельный цикл малой амплитуды, проекция которого на плоскость переменных (x_i, y_i) представлена на рис. 5, б. Предельный цикл располагается в окрестности интегрального многообразия состояния равновесия (плоскость в линейном приближении), которое при $k_1^{*+} < k_{IP_3} < k_2^{*+}$ является седло-фокусом с размерностью устойчивого многообразия $\dim W_1^s = 3N - 2$ и неустойчивого – $\dim W_1^u = 2$. Отметим, что в проекции на плоскости переменных других элементов сети амплитуда цикла будет спадать при приближении к границам. При переходе через следующее бифуркационное значение k_1^{*+} вторая пара корней переходит через мнимую ось и размерность неустойчивого многообразия возрастает, $\dim W_2^u = 4$. Поскольку предельный цикл расположен вблизи многообразия W_1^u , то этот переход будет соответствовать потере устойчивости предельного цикла и рождению в многомерном пространстве тора. Движения на этом торе отвечают режиму биений, проекция которых на плоскость переменных (x_i, y_i) представлена на рис. 5, в. Режим генерации кальциевых импульсов, возникающий при дальнейшем увеличении k_{IP_3} характеризует возбудимые свойства сети астроцитов (рис. 5, г). Кальциевым импульсам соответ-

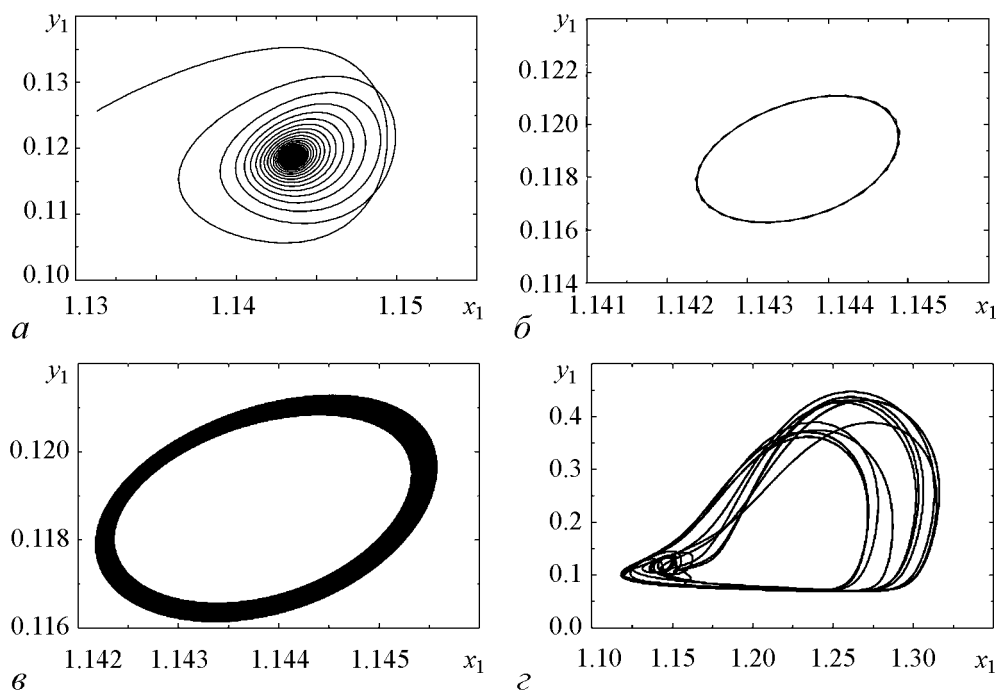


Рис. 5. Проекция фазового пространства системы (1) на плоскость (x_1, y_1) , отвечающие различным значениям коэффициента диффузионной связи k_{IP_3} между элементами (мкмоль): 0.012 – устойчивый фокус (а); 0.023 – устойчивый предельный цикл (б); 0.032 – режим биений (в); 0.8 – режим импульсной генерации (г). Остальные параметры приведены в таблице

ствуют характерные выбросы траекторий в проекции на плоскость соответствующего элемента в область более высоких концентраций кальция. Динамика фазовых траекторий в этом случае напоминает спонтанную генерацию импульсов в возбудимых системах типа ФитцХью–Нагумо при воздействии внешних периодических или шумовых возмущений [17].

Наличие возбудимых свойств в генерации кальциевых сигналов в сети астроцитов характеризует рис. 6, *a*, иллюстрирующий зависимость средней амплитуды колебаний сети от коэффициента диффузии k_{IP_3} . При увеличении k_{IP_3} выше первого бифуркационного значения происходит плавное увеличение средней амплитуды колебаний, что свидетельствует о мягком рождении предельного цикла в многомерном пространстве. При достижении порога генерации кальциевых импульсов амплитуда скачком возрастает и далее становится ограниченной, что является еще одной характеристикой сети астроцитов как возбудимой системы. Колебания на профиле амплитуды выше порога соответствуют различному числу импульсов, возникающих на фиксированном интервале времени. Другим словами, импульсы появляются не на каждом пике подпороговых колебаний (см. рис. 4, *z*), и характер их генерации является нерегулярным. Это свойство иллюстрирует бифуркационная диаграмма рис. 6, *б*, на котором представлена зависимость наблюдаемых величин межимпульсного интервала (в англ. interspike interval, ISI) для всех элементов сети от коэффициента диффузии k_{IP_3} . Наряду со сравнительно малыми интервалами (один-два периода подпороговых колебаний), являющимися наиболее вероятными (наибольшая плотность точек на диаграмме), в элементах возможны сравнительно большие интервалы эволюции в подпороговом режиме без генерации.

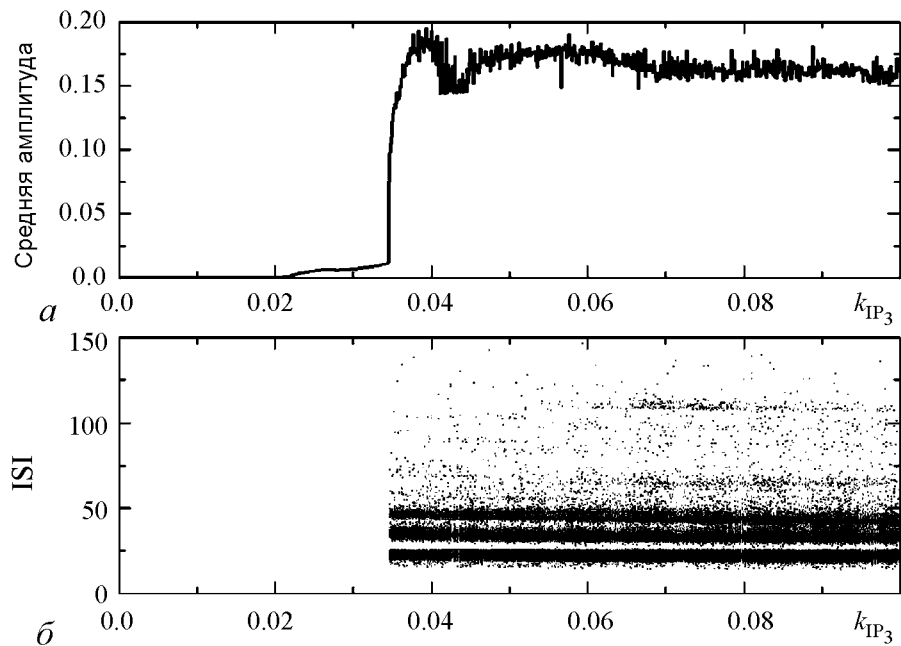


Рис. 6. *a* – Средняя амплитуда колебаний цепочки при различных значениях коэффициента связи k_{IP_3} между элементами. Резкое увеличение амплитуды при достижении коэффициентом k_{IP_3} значения 0.0346 мкмоль соответствует появлению кальциевых импульсов. *б* – Бифуркационная диаграмма наблюдаемых в $N = 6$ элементах сети интервалов следования кальциевых импульсов в зависимости от коэффициента связи

Заключение

В работе проведено исследование коллективной динамики сети диффузионно-связанных кальциевых генераторов, моделирующих активность глиальных клеток мозга – астроцитов. Отметим наиболее важные его результаты.

- Локальная диффузионная связь в сети взаимодействующих кальциевых осцилляторов (астроцитов) приводит к неустойчивости однородного распределения концентрации внутриклеточного кальция. Потеря устойчивости происходит через бифуркацию Андронова–Хопфа.

- Неустойчивость имеет осцилляторный характер и выражается в возникновении спонтанных квазисинусоидальных коллективных колебаний элементов.

- Динамика неустойчивости характеризуется наличием последовательностей критических (бифуркационных) значений, соответствующих переходам (прямому и обратному) собственных значений спектра состояния равновесия через мнимую ось. Эти переходы соответствуют появлению (исчезновению) многочастотных осцилляторных режимов сети, характеризуемых медленной (по сравнению с периодом колебаний) модуляцией амплитуды.

- На пиках подпороговых колебаний возможна спонтанная генерация кальциевых импульсов сравнительно большей по отношению к подпороговым колебаниям амплитуды.

Возникновение подпороговых колебаний вследствие неустойчивости характеризует два важных свойства динамики сети астроцитов. С точки зрения элемента сети подпороговые колебания, возникающие за счет диффузии IP_3 , фактически снижают эффективный порог генерации импульсов (см. рис. 4, z). Более того, такая генерация вследствие коллективного взаимодействия обладает характерным временным масштабом (в англ. *timing*), определяемым периодом подпороговых колебаний. Наличие такого сравнительно медленного масштаба у глиальных сетей может оказывать существенное влияние на временные характеристики регуляции активности основных сигнальных клеток мозга – нейронов. Заметим также, что неустойчивость и подпороговые колебания в сети астроцитов (1) были получены в биологически релевантном диапазоне изменения контрольных параметров, выбранных согласно проведенным ранее экспериментальным исследованиям.

С точки зрения динамики систем типа «реакция–диффузия» обнаруженная неустойчивость принципиально отличается от известных авторам сценариев для классических моделей такого типа. Основными отличиями являются: появление неоднородного по пространству осцилляторного паттерна с малым (порядка расстояния между элементами) пространственным масштабом и наличие последовательности бифуркационных значений, соответствующих формированию многочастотных колебательных режимов.

Работа поддержана грантами РФФИ (08-02-00724, 06-02-16137), грантом Президента Российской Федерации (МД-4602.2007.2), Фондом содействия отечественной науке, Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Библиографический список

1. Николлс Дж., Мартин Р., Валлас Б. Фукс П. От нейрона к мозгу. М.: Изд-во УРСС. 2003. 672 С.
2. Рубин А.Б. Биофизика: В 2 т. М.: Книжный дом «Университет», 2000. 486 с.

3. Principles of Neural Science / Eds. E.R. Kandel, J.H. Schwartz, T.M. Jessell. Third Edition. Prentice-Hall Intern. Inc. 1991. 1135 p.
4. *Scott A.* Neuroscience: a mathematical primer. Springer-Verlag, Berlin, 2002.
5. *Izhikevich E.M.* Dynamical Systems in Neuroscience: The Geometry of Excitability and Bursting, MIT Press, 2007.
6. *Verkhratsky A., Butt A.* Glial Neurobiology, Wiley, 2007.
7. *De Young G.W., Keizer J.* A single-pool inositol 1,4,5-trisphosphate-receptor-based model for agonist-stimulated oscillations in Ca^{2+} concentration //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992. Vol. 89. P. 9895.
8. *Li Y., Rinzel J.* Equations for $InsP_3$ receptor-mediated $[Ca^{2+}]_i$ oscillations derived from a detailed kinetic model: a Hodgkin–Huxley-like formalism //J. Theor. Biol. 1994. Vol. 166. P. 461.
9. *Ullah G., Jung P., Cornell-Bell A.H.* Anti-phase calcium oscillations in astrocytes via inositol (1, 4, 5)-trisphosphate regeneration //Cell Calcium. 2006. Vol. 39. P. 197.
10. *Bennett M.V.L., Jorge E.C., Bukauskas F.F., Sáez J.C.* New roles for astrocytes: Gap junction hemichannels have something to communicate //Trends in Neurosciences. 2003. Vol. 26, № 11. P. 610.
11. *Timofeeva Y., Coombes S.* Wave bifurcation and propagation failure in a model of Ca^{2+} release // J. Math. Biol. 2003. Vol. 47, № 3. P. 249.
12. *Nadkarni S., Jung P.* Spontaneous oscillations of dressed neurons: a new mechanism for epilepsy? // Phys. Rev. Lett. 2003. Vol. 91. P. 268101.
13. *Volman V., Ben-Jacob E., Levine H.* The astrocyte as a gatekeeper of synaptic information transfer // Neural Comp. 2007. Vol. 19. P. 303.
14. *Halassa M.M., Fellin T., Takano H., Dong J.-H., Haydon P.G.* Synaptic islands defined by the territory of a single astrocyte // J. Neurosci. Vol. 27, № 24. P. 6473.
15. *Nekorkin V.I., Velarde M.G.* Synergetic Phenomena in Active Lattices. Berlin: Springer, 2002.
16. CRC Standard Mathematical Tables and Formulae / Ed. D. Zwillinger. Boca Raton, FL: CRC Press, 1995.
17. *Makarov V.A., Nekorkin V.I., Velarde M.G.* Spiking behavior in a noise-driven system combining oscillatory and excitatory properties // Phys. Rev. Lett. 2001. Vol. 86, № 15. P. 3431.

*Поступила в редакцию 22.10.2008
После доработки 1.02.2009*

OSCILLATORY INSTABILITY AND SPONTANEOUS SUBTHRESHOLD OSCILLATIONS IN A NETWORK OF DIFFUSIVELY COUPLED CALCIUM OSCILLATORS

V.B. Kazantsev, A.V. Vorobiev

The paper is devoted to the investigation of the dynamics of a network of interacting astrocytes. The astrocytes represent brain glial cells capable to generate chemical activity signals (calcium pulses). Similarly to nerve cells (neurons) the astrocytes form networks

of interacting units coupled by means of gap junctions. The junctions represent special protein channels providing the diffusion of chemically active species between neighboring cells. It is believed that calcium signals in astrocytes can regulate the efficiency of synaptic transmission in neighboring neuronal cells. In the present paper we investigate the processes of oscillatory activity generation in a one-dimensional network of coupled astrocytes. The dynamics of local cell is described by the third order nonlinear differential equation system that has been obtained from the detailed description of biochemical kinetics in the cell (de Young and Keizer, 1992; Li and Rinzel, 2003; Ullah, et al., 2006). The model accounting for the diffusive coupling represent a three-component reaction-diffusion network with single diffusing component. It is proven that there exists a critical value of diffusion coefficient above which the oscillatory instability at 0.1 Hz frequency develops and spontaneous low-amplitude quasisinusoidal oscillations (of 0.05 μM) appear. Corresponding eigenvalue spectrum is obtained and analyzed. It is found that further increase of the coupling coefficients leads to the appearance of multi-frequency mode with the modulation of the oscillation amplitude and spontaneous calcium pulse generation.

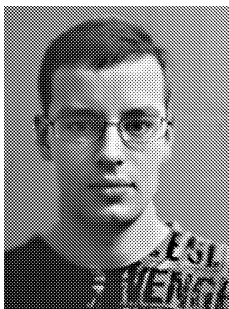
Keywords: Calcium signals, subthreshold oscillations, diffusive instability, astrocyte.



Казанцев Виктор Борисович – родился в Дзержинске, Горьковской области (1973), окончил радиофизический факультет ННГУ (1996). Защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук (1999), доктора физико-математических наук (2006). В настоящее время является заведующим лабораторией «Нелинейных процессов в живых системах» Института прикладной физики РАН и заведующим кафедрой нейродинамики и нейробиологии на биологическом факультете ННГУ им. Н.И. Лобачевского в Нижнем Новгороде. Область научных интересов – теория колебаний и волн, структуры и волны в многоэлементных сетевых системах, нейродинамика. Имеет более 70 научных публикаций.

E-mail: vkazan@neuron.appl.sci-nnov.ru

Институт прикладной физики РАН
603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46



Воробьев Артем Викторович – родился в Горьком (1987). Студент магистратуры радиофизического факультета Нижегородского государственного университета им. Лобачевского по направлению «Радиофизические методы в нейробиологии». Область научных интересов – динамика нейроно-глиальных систем, вычислительная математика. Имеет 4 научные публикации.

E-mail: art.vorobiev@gmail.com

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23