

ВЛИЯНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА НЕЙРОННУЮ СЕТЬ ГИППОКАМПА

С.В. Аксёнова², А.С. Батова^{1,2}, А.Н. Бугай^{1,2}, Э.Б. Душанов^{1,2}

¹Государственный университет «Дубна»

²Объединенный институт ядерных исследований

E-mail: kgyr@mail.ru

*Глутаматные рецепторы играют важную роль в регуляции си-
наптической пластичности, включая процессы обучения и формиро-
вания памяти. Нарушение структуры глутаматных рецепторов, вы-
званное действием свободных радикалов, способно привести к изме-
нению таких свойств рецепторного канала, как проводимость, свя-
зывание с лигандами, проницаемость к ионам Ca^{2+} , кинетика откры-
тия канала. В настоящей работе предложен модельный подход для
анализа свойств нейронных сетей гиппокампа с повреждёнными глу-
таматными рецепторами. Было проведено молекулярно-динамиче-
ское моделирование рецепторов NMDA и AMPA, содержащих окис-
ленные аминокислотные остатки. В ходе исследования сетевой ак-
тивности нейронов с модифицированной структурой глутаматных
рецепторов были выявлены изменения проводимости ионного канала
глутаматных рецепторов и локального потенциала в зависимости от
типа и локализации повреждения.*

*Ключевые слова: гиппокамп, рецептор NMDA, болезнь Альцгей-
мера, молекулярная динамика, нейронная сеть*

Введение

Гиппокамп представляет собой центр управления памятью, который имеет решающее значение при хранении и последующем извлечении событий повседневной жизни, что важно для формирования поведения в будущем. Глутаматные рецепторы принимают непосредственное участие в координировании активности сетей нейронов гиппокампа при кодировании, консолидации и извлечении воспоминаний [10, 2]. Дисфункция рецепторов глутамата наблюдается при когнитивных нарушениях и ментальных заболеваниях. Понимание механизмов нарушения синаптической пластичности вследствие оксидативного стресса в структурах мозга, связанных с обучением и хранением информации, необходимо для улучшения терапевтических подходов при лечении неврологических расстройств, связанных с потерей памяти.

Ионотропные рецепторы глутамата, ответственные за быструю нейронную коммуникацию в возбуждающих синапсах, включают три подсемейства: рецепторы α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолепропионовой кислоты (AMPA), кинатные рецепторы и N-метил-D-аспартата (NMDA). Рецепторы NMDA являются подклассом глутаматных рецепторов, для активации которых требуется как связывание глутамата, так и постсинаптическая деполяризация, которая опосредует проникновение Ca^{2+} при их активации. Рецепторы NMDA и AMPA представляют собой два основных типа ионотропных рецепторов глутамата, участвующих в синаптической передаче [5].

Процессы оксидативного стресса могут активироваться на фоне развития дисбаланса в нейротрансмиттерной системе [5, 3]. С наибольшей вероятностью в белковых молекулах при окислительном стрессе наблюдается модификация цистеина ($\text{Cys} \rightarrow \text{Ocs}$, сульфоновая кислота) и тирозина ($\text{Tyr} \rightarrow \text{Niy}/3\text{ct}$, 3-нитротирозин/3-хлортирозин) [9].

Для оценки воздействия свободных радикалов на структуру глутаматных рецепторов было проведено молекулярно-динамическое моделирование рецепторов NMDA и AMPA, имеющих в своей структуре повреждения тирозина Tyr731, 732 и цистеина Cys765, 819, 718, 773 в неактивной и активной конформациях. В качестве исходных трёхмерных моделей из базы

PDB были выбраны структуры 6WHT и 6DM1 в активном конформационном состоянии и 5L1B и 6WHR в неактивной форме (табл. 1).

Таблица 1. Соотношение модифицированных а.о. в рецепторах

AMPA			
Тип поврежден.	Модифиц. а.о	6DM1	5L1B
Cys → Ocs	718, 773	3.13%	5.00%
Tyr → Niy	732	1.14%	1.47%
Организм: <i>Rattus norvegicus</i> , <i>Homo sapiens</i> ; Система экспрессии: <i>Homo sapiens</i> ; PDB DOI: 10.1016/j.neuron.2018.07.027			
NMDA			
Тип поврежден.	Модифиц. а.о	6WHT	6WHR
Cys → Ocs	765, 819 (NR1)	4.17%	4.17%
Tyr → Niy	731 (NR2)	1.69%	1.69%
Организм: <i>Rattus norvegicus</i> ; Система экспрессии: <i>Spodoptera frugiperda</i> ; PDB DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.052			

Целью настоящей работы является исследование влияния оксидативного стресса на функционирование глутаматных рецепторов и сетевую активность нейронов гиппокампа. Разработанный вычислительный подход позволяет произвести анализ различных структур глутаматных рецепторов, оценить их электрофизиологические свойства на примере моделей нейронных сетей гиппокампа [6] и воспроизвести паттерны электроэнцефалограммы (ЭЭГ).

Методы

Исследование влияния оксидативного стресса на глутаматные рецепторы проводилось в несколько этапов (рис. 1). Первоначальным этапом было восстановление недостающих аминокислотных остатков в трёхмерной структуре глутаматных рецепторов с помощью программного пакета MODELLER 10.3. Построение молекулярной системы с рецептором выполнено в среде Charmm-GUI. Молекулярно-динамическое моделирование проводилось в среде GROMACS версии 5.13.

Исходя из анализа проводимости ионных каналов и распределения ионов магния в каналах рецепторов NMDA, было изучено поведение нейронной сети с каждым типом рецептора NMDA и AMPA, произведён расчёт локального потенциала и определены значения коллективных колебаний (ритмов)

нейронной сети гиппокампа. Изучение сетевой активности нейронов с различными типами рецепторов NMDA проводилось в моделях нейронных сетей CA3 [6] области гиппокампа. Для изучения поведения нейронной сети применялся пакет NEURON [4]. Наибольший интерес представляет исследование θ - и γ -ритмов мозга, т.к. они оказывают определяющее влияние на формирование памяти. Гиппокамп является основной структурой, участвующей в генерации θ -ритма частотой от 4 до 12 Гц, который является одним из наиболее регулярных колебаний ЭЭГ, которые могут быть зарегистрированы в мозге млекопитающих [7]. Наряду с тета-ритмом в гиппокампе регистрируются гамма-колебания (~25–140 Hz). Хотя эти два типа колебательной активности часто встречаются одновременно, θ - и γ -ритмы гиппокампа, по-видимому, генерируются независимо. В отличие от θ -ритмов, которые остаются относительно стабильными на протяжении всего активного поведения, γ -колебания возникают всплесками в определенные моменты тета-цикла [1].



Рис. 1. Схема этапов моделирования влияния оксидативного стресса на функционирование глутаматных рецепторов

Результаты

Для определения изменения проводимости рецепторов в ходе моделирования проводился анализ радиуса ионного канала. Благодаря расчётам удалось визуализировать зависимость

радиуса канала r от координаты z вдоль оси симметрии рецептора, перпендикулярной мембране. Полученная зависимость была использована при расчёте отношения проводимостей поврежденных глутаматных рецепторов к нативным (табл. 2). Определение проводимости канала рецептора проводилось после достижения стабильного состояния, которое достигается при 15-20 нс для рецепторов закрытого типа и 50-80 нс для активных форм рецепторов.

Расчет геометрии ионного канала был выполнен при помощи пакета HOLE v2.2.005 (рис. 2). Исходя из предположения, что радиус канала прямо пропорционален проводимости, были определены изменения в электрофизиологических характеристиках сети гиппокампа. Для вычисления локального потенциала нейронной популяции и спектров мощности сигнала ЭЭГ параметры модели [6] были изменены соответствующим образом.

Таблица 2. Соотношение проводимости рецепторного канала

NMDA		AMPA	
Тип окисдации	G/G _b	Тип окисдации	G/G _b
Tyr731Niy	0.918	Tyr732Niy	1.095
Cys765Ocs	1.071	Cys718Ocs	1.463
Cys819Ocs	0.980	Cys773Ocs	1.268

Молекулярно-динамические расчёты показали, что проводимость ионного канала модифицированных форм рецепторов NMDA менялась незначительно, в то время как в случае AMPA-рецепторов имело место увеличение проводимости.

Модель [6] воспроизводит базовые тета-модулированные гамма-колебания локального потенциала (ЛП), наблюдаемые экспериментально. Мы проанализировали изменения локального потенциала, вызванные нарушением проводимости глутаматных рецепторов (рис. 3, а, б).

Спектральный анализ сигнала производился с помощью прямого Фурье-преобразования функции, описывающей локальный потенциал. Были получены спектры мощности сигнала ЭЭГ для модели сети нейронов, содержащей повреждённые рецепторы NMDA и AMPA (рис. 3, в, г).

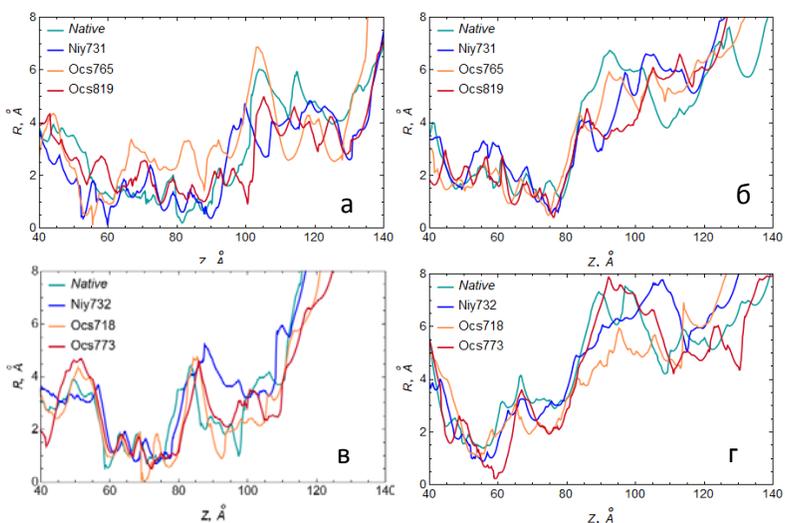


Рис. 2. Изменения геометрии каналов глутаматных рецепторов в зависимости от модификации а.о. оксидантами: а) неактивная (6WHR) и б) неактивная (6WHT) формы NMDA; в) не активная (5L1B) и активная (6DM1) формы AMPA

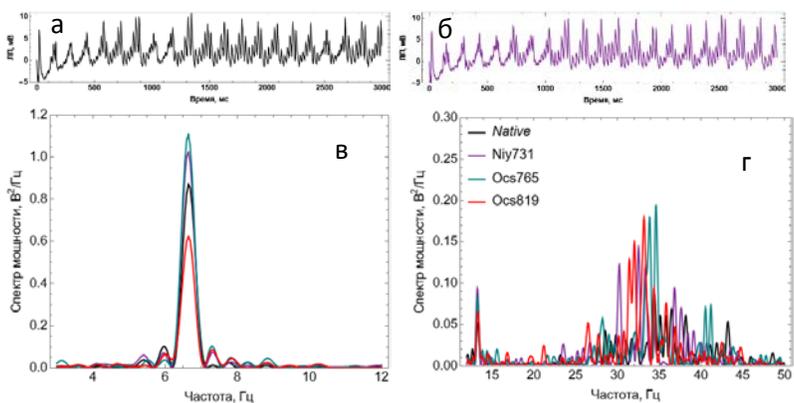


Рис. 3. Локальный потенциал нейронной популяции модели сети, содержащей поврежденные рецепторы NMDA и AMPA: а) нативная форма, б) Niy731 в NMDA. Частотный спектр осцилляций в) θ и г) γ -ритмов при повреждении в виде Niy731, Ocs765 и Ocs819 в NMDA

Заключение

Оксидативный стресс приводит к формированию модифицированных а.о. в структуре глутаматных рецепторов, изменяя их свойства и поведение в нейронной сети. В данной работе проведено молекулярно-динамическое моделирование рецепторов AMPA и NMDA, имеющих в своей структуре модифицированные а. о. В ходе анализа сетевой активности нейронов были выявлены изменения проводимости ионного канала глутаматных рецепторов и локального потенциала в зависимости от типа повреждения. В случае повреждения Tug731 и Cys765 NMDA-рецептора в модели нейронной сети [6] наблюдается возрастание амплитуды тета- и гамма-частотных диапазонов. При модификации Cys819 рецепторов NMDA в поведении нейронной сети имеет место снижение тета-частоты и увеличение частоты гамма-диапазона. В случае повреждений Niy732 и двойного повреждения Niy731/Niy732 в системе имеет место заметное увеличение амплитуды гамма-частотного диапазона. Согласно результатам моделирования, повреждения в структуре рецепторов способны привести к изменению фазового соотношения возбуждения клеток. Более низкая активность OLM-клеток модели [6] приводит к снижению амплитуды тета-ритма и затормаживает пирамидные клетки, что приводит к увеличению активности корзинчатых клеток и росту гамма-мощности. Аномалии колебаний ритмов гиппокампа проявляются при различных патологиях. Высокая мощность гамма-ритма коррелирует со снижением передачи информации от синаптических входов к пирамидальным нейронам, что может нарушить передачу информации через гиппокамп в кору головного мозга или из неё [8].

Список литературы

1. Colgin L.L. and Moser E.I. Gamma Oscillations in the Hippocampus. *PHYSIOLOGY*, 2010, vol. 25, p. 319 –329, DOI: 10.1152/physiol.00021.2010.
2. Cravens C.J. et al. CA3 NMDA receptors are crucial for rapid and automatic representation of context memory. *EJN*, 2006, vol. 24, p. 1771-1780, DOI: 10.1111/j.1460-9568.2006.05044.x.
3. Flores-Soto M.E., Chaparro-Huerta V., Escoto-Delgadillo M., Vazquez-Valls E., González-Castañeda R.E., Beas-Zarate C. Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits.

- Neurología*, vol. 27. No 5, 2012, p. 301-310. DOI: 10.1016/j.nrleng.2011.10.003.
4. Hines M.L., Carnevale N.T. The NEURON simulation environment. *Neural Comput.*, 1997, vol. 9, p. 1179-1209. DOI: 10.1162/neco.1997.9.6.1179.
 5. Huang S. et al. Differential modulation of NMDA and AMPA receptors by cellular prion protein and copper ions. *Molecular Brain*, vol. 11, No 62, 2018. DOI: 10.1186/s13041-018-0406-3.
 6. Neymotin S.A., et al. Ketamine disrupts theta modulation of gamma in a computer model of hippocampus // *J. Neurosci.*, 2011, vol. 31, p. 11733–11743. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0501-11.2011.
 7. Nuñez A., Buño W. The Theta Rhythm of the Hippocampus: From Neuronal and Circuit Mechanisms to Behavior. *Front. Cell. Neurosci.*, 2021, vol. 15. DOI: 10.3389/fncel.2021.649262.
 8. Parnas J., Bovet P., Zahavi D. Schizophrenic autism: clinical phenomenology and pathogenetic implications. *World Psychiatry*. 2002, vol. 1, p. 131–136.
 9. Sahoo N., Hoshi T., Heinemann S.H. Oxidative Modulation of Voltage-Gated Potassium Channels. *Antioxid Redox Signal.*, 2014, vol. 21(6): 933–952, 2014, DOI: 10.1089/ars.2013.5614.
 10. Sosa M. et al. Neural Activity Patterns Underlying Spatial Coding in the Hippocampus. *Curr Top Behav Neurosci.*, 2018, vol. 37, p. 43–100, DOI: 10.1007/7854_2016_462.