

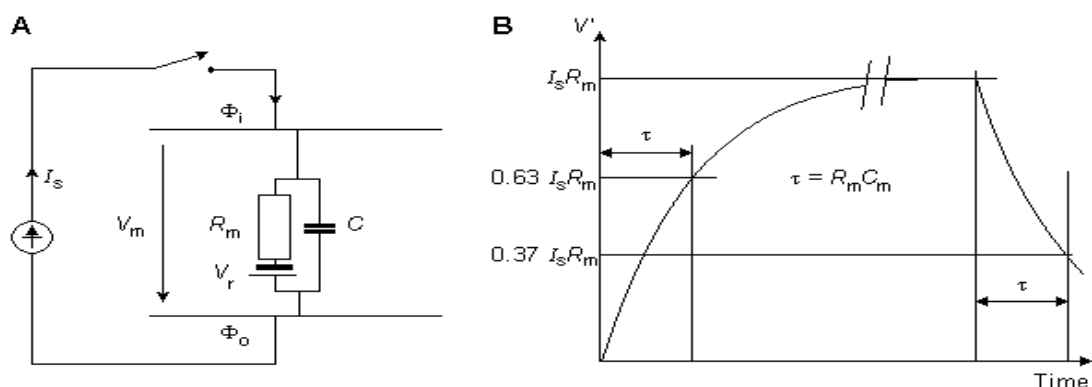
ANALOGOWY MODEL TRANSMISJI SYNAPTYCZNEJ

Uwaga! Jest to tylko zarys teorii wymaganej w celu przeprowadzenia ćwiczenia.

Materiał teoretyczny można odnaleźć w przytoczonej bibliografii.

Transmisja synaptyczna jest bez wątpienia jednym z najbardziej fundamentalnych procesów zachodzących w żywym organizmie. Poznanie jej mechanizmów ma wielkie znaczenie nie tylko dla zrozumienia stanu prawidłowego, ale także wielu stanów patologicznych występujących w układzie nerwowym, jak również mięśniowym. Doświadczalne badanie transmisji synaptycznej na żywych preparatach przekracza jednak możliwości pracowni studenckiej. Tym niemniej, istnieją numeryczne i analogowe modele transmisji synaptycznej pozwalające przybliżyć jej podstawowe cechy. W ćwiczeniu „obiektem doświadczalnym” jest model analogowy, a badane będą fundamentalne dla układu nerwowego relacje, jak zależność zmiany potencjału błonowego neuronu od wielkości bodźca prądowego czy zależność aktywności elektrycznej neuronu od wielkości depolaryzacji w obrębie ciała neuronu.

W ćwiczeniu badamy też proces „przeładowywania” błony postsynaptycznej (mówiąc bardziej poglądowo, „przeładowywania kondensatora błonowego”) przez prąd elektryczny wygenerowany poprzez aktywację połączenia synaptycznego. Fizyczny model takiego procesu przedstawiono na rys. 1A. Jak wiadomo, każda błona biologiczna ma pewną pojemność (C_m), reprezentowaną w fizycznym modelu przez kondensator oraz pewien opór elektryczny (R_m), reprezentowany przez opornik¹. Ponadto, potencjał błonowy V_m (z definicji $V_m = \Phi_i - \Phi_o$, gdzie Φ_i to potencjał elektryczny wewnątrz komórki, natomiast Φ_o - potencjał elektryczny jej środowiska zewnętrznego) błony postsynaptycznej ma w spoczynku różną od zera, ujemną wartość V_r . Uwzględniamy to umieszczając w modelu fizycznym, szeregowo z opornikiem R_m , ogniwo o sile elektromotorycznej $-V_r$ i zaniedbywalnie małym oporze wewnętrznym. Kiedy wyłącznik pokazany na rys.1A jest otwarty (a więc gdy synapsa w rzeczywistym układzie biologicznym jest nieaktywna), przez elementy modelujące błonę postsynaptyczną nie płynie prąd, zaś napięcie na oporze R_m wynosi zgodnie z prawem Ohma zero. W takim przypadku potencjał błonowy V_m jest oczywiście równy potencjałowi spoczynkowemu V_r .



Rys. 1. (wg. J. Malmivuo, R. Plonsey, *Bioelectromagnetism*, Oxford University Press, 1995).

¹ Ilekroć rozważamy w elektrofizjologii lokalne zmiany potencjału błonowego, parametry I_s , R_m i C_m odnoszą się do jednostki powierzchni błony. Nie ma to jednak większego znaczenia dla naszych rozważań, możemy bowiem z dobrym przybliżeniem uważać procesy zachodzące w błonie postsynaptycznej za fizycznie jednorodne.

Po zamknięciu wyłącznika, co odpowiada aktywacji połączenia synaptycznego w rzeczywistym układzie biologicznym, przez element modelujący błonę postsynaptyczną zaczyna płynąć prąd elektryczny. W badanym modelu analogowym będzie to prąd o stałym natężeniu I_s , zależnym od wybranego natężenia bodźca². Część tego prądu płynie przez kondensator, zmieniając jego ładunek, natomiast pozostała część - przez opór R_m . Jak wiadomo z fizyki elementarnej, proces ładowania kondensatora w takim układzie fizycznym nie jest natychmiastowy. Rys. 1B przedstawia dla tego układu odchylenie potencjału błonowego od wartości spoczynkowej (V_m) w funkcji czasu (*time*)³ $V^l(T)$. Cechą charakterystyczną rozważanego procesu fizycznego jest to, że jego kinetyka nie zależy od natężenia prądu I_s (pod warunkiem, że parametry C_m i R_m pozostają stałe). W szczególności od natężenia prądu I_s nie zależy czas τ , po którym zmiana potencjału błonowego V' osiąga $(1-1/e)$, tj. około 63 %, swojej wartości końcowej (stacjonarnej)⁴. Czas ten nazywać będziemy w ćwiczeniu „stałą czasową ładowania błony”. Analogicznie możemy zdefiniować „stałą czasową rozładowania błony” jako liczony od momentu otwarcia wyłącznika czas, po którym odchylenie potencjału błonowego od wartości stacjonarnej spadnie do $1/e$, tj. około 37 %, tej wartości. W rozważanym modelu fizycznym oba czasy są sobie równe i wynoszą $R_m \cdot C_m$ (rys. 1B).

OPIS ZESTAWU POMIAROWEGO

W ćwiczeniu korzystamy z analogowego modelu transmisji synaptycznej oraz oprogramowania rejestrującego i analizującego wyjściowe sygnały (po uprzednim przetworzeniu ich z analogowych na cyfrowe).

Elementami zestawu eksperymentalnego są:

- a. *Jednostka sterująca* (ang. *Operating Unit for Neurosimulator*) – jest źródłem sygnału analogowego uaktywniającego poszczególne połączenia synaptyczne (generującego „wydzielanie neuromediatora” z zakończeń synaptycznych)
- b. *Neurosymulator* – stanowi zasadniczą część modelu. Na przedniej ścianie obudowy *Neurosymulatora* przedstawiono graficznie wszystkie jego istotne, łatwo rozpoznawalne elementy funkcjonalne:
 - ciało neuronu i jego dendryty
 - sześć połączeń synaptycznych tworzonych z ciałem neuronu i jego dendrytami (trzy z tych połączeń są dodatkowo modulowane przez synapsy aksono-aksonalne)
 - akson mielinowy neuronu
- c. *Przetwornik analogowo – cyfrowy* (*Basic Unit Cobra 3*) – jego zadaniem jest zamiana wyjściowego sygnału analogowego z *Neurosymulatora* i z jednostki sterującej na sygnał cyfrowy przekazywany do komputera
- d. *Komputer* z odpowiednim oprogramowaniem (program *measure*).

Na załączonym zdjęciu przedstawiono elementy zestawu wraz z numeracją stosowaną w tekście

Wciśnięcie któregośkolwiek z przycisków 4 – 6 *Jednostki sterującej* wygeneruje „wydzielanie neuromediatora”, trwające do momentu swobodnego puszczenia przycisku. Natężenie generowanego „wy-

² Z elektrofizjologii wiadomo, że aktywacja jednego pobudzającego połączenia synaptycznego nie jest na ogół w stanie wywołać potencjału czynnościowego w neuronie postsynaptycznym (odpowiednia zmiana potencjału błonowego tego neuronu jest zbyt mała). W modelu analogowym jest to jednak możliwe – tak więc jedna „synapsa” modelu analogowego odpowiada zespołowi wielu synaps rzeczywistego układu biologicznego.

³ Jak widać z wykresu na rys. 1, po całkowitym „przeładowaniu” kondensatora błonowego odchylenie potencjału błonowego od potencjału spoczynkowego ma wartość $I_s \cdot R_m$ (prąd I_s płynie wtedy jedynie przez opór R_m). Tym samym, amplituda zmiany potencjału błonowego (tu: amplituda depolaryzacji) jest wprost proporcjonalna do natężenia bodźca (płynącego przez błonę prądu elektrycznego).

⁴ Liczba e to podstawa logarytmów naturalnych, wynosząca w przybliżeniu 2.718.

działania neuromediatora” jest regulowane pokrętkiem, znajdującym się nad odpowiednim przyciskiem (elementy 1-3 na zdjęciu).

Sygnał generujący „wydzielanie neuromediatora” (uaktywniający określoną synapsę) wytwarzany jest więc poza samym *Neurosymulatorem*. Aby sygnał ten był przekazywany do wybranego „zakończenia synaptycznego” w *Neurosymulatorze* (elementy 10-18 *Neurosymulatora*), należy połączyć przewodem odpowiednie gniazdo wyjściowe *Jednostki sterującej* (a więc jedno z gniazd 7 – 9) z tym „zakończeniem synaptycznym”. Można zatem wyobrazić sobie, że przewód łączący wyjście jednostki sterującej z którymkolwiek z zakończeń synaptycznych 10-18 jest „aksonem neuronu presynaptycznego”, wytwarzającym i propagującym serię impulsów nerwowych w odpowiedzi na wciśnięcie odpowiedniego przycisku w jednostce sterującej.

Zakończenia synaptyczne 11, 13 i 15 są pobudzające (ich gniazda mają kolor zielony), natomiast zakończenia 17 i 18 – hamujące (ich gniazda mają kolor czerwony). Działanie każdego z tych zakończeń jest w *Neurosymulatorze* modelowane w ten sposób, że wywołana w opisany sposób aktywacja powoduje przepływ przez element modelujący błonę postsynaptyczną (rys. 1A) prądu elektrycznego o stałym natężeniu, zależnym od ustawienia pokrętła regulacyjnego (1, 2 lub 3). W przypadku synapsy pobudzającej jest to oczywiście prąd depolaryzujący, natomiast w synapsie hamującej prąd hiperpolaryzujący⁵. Pokrętło S umożliwia regulację progu pobudzenia neuronu.

Na wyjściu *Neurosymulatora* w odpowiednich kanałach analogowych dostępne są dla pomiaru: potencjał postsynaptyczny, rozumiany tutaj jako potencjał błonowy ciała neuronu (gniazdo 19) oraz potencjał błonowy aksonu mierzony w przewężeniach Ranviera (gniazdo 20). Kiedy potencjał błonowy aksonu osiąga wartość progową (a więc kiedy wygenerowany zostaje potencjał czynnościowy), urządzenie emituje sygnał dźwiękowy.

W celu uniknięcia nieporozumień należy podkreślić, że w modelu analogowym wykorzystywanym w ćwiczeniu zmiana potencjału błonowego ciała neuronu jest wywoływana *jedynie* przez prądy aktywowane *bezpośrednio* przez synapsy. Tym samym model zaniedbuje ewentualne, bardzo krótkie zmiany potencjału błonowego ciała neuronu wywołane powstawaniem impulsów nerwowych we wzgórku aksonalnym (zmiany takie są znakomicie widoczne w niektórych konfiguracjach eksperymentalnych).

Wartości badanych zmiennych modelu analogowego podawane są w innej skali w porównaniu do wartości „oryginalnych”, charakterystycznych dla stanów *in vivo*. Przykładowo potencjał spoczynkowy neuronu wynosi około -70 mV, natomiast w modelu wartość odpowiedniego napięcia to około -6,9 V, itd. Ta niezgodność wynika z faktu, że wartości parametrów charakterystyczne dla neuronów i połączeń synaptycznych są zbyt małe w stosunku do poziomu szumów w modelu analogowym.

Przetwornik analogowo – cyfrowy (Basic Unit Cobra3) zamienia wyjściowe sygnały analogowe z *Jednostki sterującej* i *Neurosymulatora* na sygnały cyfrowe, przesyłane do komputera. Umożliwia to cyfrową rejestrację przebiegów czasowych trzech parametrów w badanym modelu poprzez program „measure” („zmierz”). Badanymi zmiennymi są:

- a. **natężenie prądu postsynaptycznego** (podawane w jednostkach napięcia - prąd o stałym natężeniu płynący przez element o danym oporze wytwarza między końcami tego elementu stałe napięcie, co usprawiedliwia użycie jednostki napięcia jako miary natężenia płynącego prądu)
- b. **potencjał postsynaptyczny (potencjał błonowy ciała neuronu)**
- c. **potencjał błonowy aksonu.**

W celu umożliwienia rejestracji, należy odpowiednie gniazdo wyjściowe (w przypadku rejestracji bodźca prądowego - jedno z gniazd 7 – 9, w przypadku rejestracji potencjału postsynaptycznego - gniazdo 19 i w przypadku rejestracji potencjału błonowego aksonu - gniazdo 20) połączyć przewodem z jed-

⁵ Zakończenia synaptyczne 10, 14 oraz 16 stanowią „wejście” dla synaps aksono-aksonalnych przedstawionych graficznie na przedniej ścianie obudowy *Neurosymulatora*, natomiast zakończenie synaptyczne 12 modeluje tzw. synapsę Hebba. Zakończeń tych nie będziemy aktywować podczas wykonywania ćwiczenia.

nym z gniazd wejściowych przetwornika analogowo–cyfrowego (21 lub 22). Ponieważ przetwornik analogowo-cyfrowy jest wyposażony jedynie w dwa gniazda wejściowe, możemy rejestrować numerycznie co najwyżej dwie zmienne modelu jednocześnie.

Wymagane wiadomości teoretyczne

1. Omówić bierne właściwości elektryczne błon, znajomość pojęć: pojemność elektryczna, opór elektryczny, stała czasowa błony
2. Omówić elektryczny model zastępczy błony komórkowej; wyjaśnić, w jaki sposób zmiana wartości potencjału błonowego zależy od natężenia prądu jonowego płynącego przez błonę komórkową.
3. Omówić właściwości i mechanizm generowania potencjału czynnościowego w neuronie: rola kanałów sodowych i potasowych bramkowanych napięciem,
4. Opisać strukturę synapsy chemicznej (nerwowo-nerwowej) wraz ze znajomością neuroprzekaźników synaps pobudzających i hamujących
5. Omówić mechanizm funkcjonowania synapsy chemicznej, w szczególności mechanizm wydzielania neuroprzekaźnika (rola kanałów wapniowych bramkowanych napięciem);
6. Omówić mechanizm generowania i funkcje postsynaptycznego potencjału pobudzającego (EPSP) i postsynaptycznego potencjału hamującego (IPSP). Czym jest sumowanie czasowe i przestrzenne sygnałów postsynaptycznych.

Zalecana literatura

1. S. Miękisz, A. Hendrich, „Wybrane zagadnienia z biofizyki”, Volumed, Wrocław 1998. Rozdziały 4.3, 4.6.1 i 4.7
2. Suplement teoretyczny do ćwiczenia na stronie Katedry
3. Opracowanie na stronie katedry : <http://www.biofiz.umed.wroc.pl/dydaktyka/inne/bfstr64.html>
4. G. G. Matthews, „Neurobiologia. Od cząsteczek i komórek do układów”, PZWL, 2000.

