

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ»**

УДК 577.352.5: 612.822

ДЕНИСОВ
Андрей Анатольевич

**СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ И КОНКУРЕНТНОЕ
ОБУЧЕНИЕ В БИОЛОГИЧЕСКИХ НЕЙРОННЫХ СЕТЯХ**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.00.02 – биофизика

Минск, 2009

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный университет» и в ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»

Научный руководитель: **Черенкевич Сергей Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, член-корр. НАН Беларуси, заведующий кафедрой биофизики УО «Белорусский государственный университет»

Официальные оппоненты: **Титовец Эрнст Петрович**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, руководитель группы изучения ишемии и отека головного мозга ГУ «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии» МЗ РБ

Федорович Сергей Викторович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биофизики и инженерии клетки ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

Оппонирующая организация: УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»

Защита состоится «29» июня 2009 г. в 14-00 на заседании Совета по защите диссертаций (Д 01.37.01) в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27. Телефон ученого секретаря: 284-28-88; факс 284-23-59; e-mail: photobio@biobel.bas-net.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

Автореферат разослан « » мая 2009 г.

Ученый секретарь

Совета по защите диссертаций,
кандидат биологических наук, доцент



Л.Ф. Кабашникова

ВВЕДЕНИЕ

Прогресс в области биофизики межклеточных взаимодействий и нейробиологии привел к пониманию механизмов функционирования нейронов, динамических и адаптивных свойств нейронных ансамблей и базовых принципов обработки информации в мозге. Оперативное взаимодействие нервных клеток друг с другом осуществляется через синапсы. В связи с этим, важнейшим свойством нервной ткани является ее способность к функциональному изменению эффективности синаптической передачи – синаптическая пластичность. Одним из основных явлений, связанных с процессами хранения информации в мозге, считается длительная потенциация (ДП) – форма синаптической пластичности, проявляющаяся в долговременном увеличении синаптической проводимости в условиях электрической активности нейронов. Наиболее распространенным объектом исследования при изучении свойств ДП является инкубируемый срез гиппокампа – отдела мозга, играющего важную роль в процессах обучения и памяти. При индуцировании ДП в гиппокампе с применением внеклеточных электродов традиционно применяют пачечную стимуляцию, имитирующую комплексную спайковую активность нейронов *in vivo* при обучении. Данная методика не позволяет индуцировать снижение синаптической проводимости – противоположный ДП процесс, необходимый для регуляции активности нейронной сети. Этот недостаток, налагающий ограничение на полноту исследования механизмов функционирования нервной ткани, становится все более существенным в контексте развития современных электронных интерфейсных элементов, позволяющих контролировать параметры электрической активности беспрецедентно большого числа отдельных нейронов [Durand, 2007; Cheran, 2008].

Таким образом, существует необходимость как в получении новых данных о биофизических механизмах изменения синаптической проводимости в условиях реалистичной реализации пространственно-временной суммации возбуждающих постсинаптических потенциалов, так и в разработке новых методик исследования, которые бы позволяли не только индуцировать разнонаправленные изменения эффективности синаптической передачи, но и с применением современных аппаратных интерфейсных систем моделировать *in vitro* более сложные процессы, связанные с нейросетевым обучением. Проведение таких исследований перспективно для более глубокого понимания механизмов памяти [Flavell, 2008; Sjöström, 2008] и для решения биомедицинских задач целенаправленной коррекции нарушенных функций мозга при различных заболеваниях и травмах [Bramham, 2007; Amaral, 2008]. Подчеркивается [Ferrante, 2008], что для разработки новых высокоинформативных методов тестирования нейрофармакологических

препаратов необходима интеграция знаний о молекулярных механизмах функционирования клеток со специфическими биофизическими детерминантами взаимодействия нейронов. Актуальность подобных исследований подтверждается и тем фактом, что, согласно данным ВОЗ, около 35% всех медицинских расходов в Европе направляются на лечение заболеваний нервной системы [Sobocki, 2008].

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Работа выполнена в рамках ГПФИ на 2001–2005 гг. «Функционирование биосистем» (задание: «Разработать методы изучения информационных возможностей и структурной пластичности культивируемых нейрональных структур иммобилизуемых на подложку», гос. рег. № 20012120); ГКПНИ на 2006–2010 гг. «Биологическая инженерия и биобезопасность» (задание: «Исследование информационных, нейросенсорных и медико-фармакологических аспектов функционирования нейронных ансамблей *in vitro* в условиях многоканального внешнего воздействия», гос. рег. № 20063506); ГКПНИ «Современные технологии в медицине» на 2006-2010 гг. (задание: «Разработка научно обоснованных приемов модуляции функционального состояния глутаматных и каннабиноидных рецепторов с целью инициации нейропротекторных эффектов при локальном повреждении мозга», гос. рег. № 20062125; задание: «Разработка биосовместимых покрытий на основе материалов с высокой диэлектрической проницаемостью для интерфейса нервной ткани и планарных биосенсоров», гос. рег. № 20062121).

Цель и задачи исследования

Цель работы – разработать аппаратуру и методики внеклеточной электрической стимуляции нервных клеток, выявить механизмы формирования разнонаправленных изменений синаптической проводимости в нервной ткани и установить соответствующее правило обучения для нейронов; определить условия осуществления процессов нейросетевого обучения *in vitro*.

Задачи исследования:

1. Разработать протокол внеклеточной стимуляции для индуцирования разнонаправленных изменений синаптической проводимости, основанный на параметрах эндогенной активности нейронов.

2. Провести анализ процессов синаптической пластичности, индуцируемых с применением разработанного протокола стимуляции, и на основе полученных экспериментальных данных сформулировать правило

обучения для нейронов.

3. С применением методов компьютерного моделирования изучить свойства полученного правила обучения в условиях групповых синаптических взаимодействий.

4. Разработать аппаратуру и методику для многоканальной стимуляции нервной ткани последовательностями импульсов с различными параметрами.

5. Установить условия формирования селективности у определенных групп синапсов области CA1 среза гиппокампа при коррелированной многоканальной стимуляции (обучение нейросети *in vitro*).

Объект и предмет исследования. Объект исследования – инкубируемые срезы гиппокампа крысы. Предмет исследования – закономерности индуцирования долговременной синаптической пластичности в области CA1 гиппокампа, свойства правила обучения, закономерности синаптических взаимодействий при многоканальной стимуляции.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Стимуляция аксонов области CA1 гиппокампа крысы с частотой тета-ритма (5 Гц) в течение 6 с сопровождается формированием комплексных популяционных спайков и индуцированием длительной потенциации.

2. При синхронной электрической активации пресинаптических и постсинаптических нейронов на частоте тета-ритма синаптическая проводимость увеличивается при условии формирования комплексных спайков, десинхронизация активации приводит к депотенциации ранее потенцированных синапсов (новое правило обучения для нейронной сети области CA1 гиппокампа).

3. Учет депотенциации в сформулированном правиле обучения обеспечивает возникновение конкурентных эффектов при взаимодействии нейронов.

4. При многоканальной стимуляции аксонов области CA1 гиппокампа случайными последовательностями импульсов (не менее 8 электродов) возрастает синаптическая проводимость групп синапсов с наибольшей временной корреляцией между группами, и снижается синаптическая проводимость групп синапсов с наименьшей временной корреляцией (эффект нейросетевого обучения).

Личный вклад соискателя

Все основные результаты, изложенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно. Определение темы и целей диссертационной работы, выбор методов исследования, условий экспериментов, интерпретация

результатов и анализ полученных данных проведены при решающем участии автора совместно с научным руководителем Черенкевичем С.Н. Соавторы отдельных работ: Кульчицкий В.А., Гаркун Ю.С., Мартинович Г.Г., Молчанов П.Г., Булай П.М. принимали участие в обсуждении результатов работы и оказывали консультативно-методическую помощь.

Апробация результатов диссертации

Основные положения диссертации доложены на международных научно-технических конференциях «Медэлектроника» (Беларусь, Минск, 2003, 2004) и «Датчик» (Украина, Судак, 2000, 2002, 2003, 2004); республиканских конференциях молодых ученых НАН Беларуси «Молодежь в науке» (Беларусь, Минск, 2003, 2004); конференции, посвященной 50-летию со дня основания Института физиологии НАН Беларуси (Беларусь, Минск, 2003); международных конференциях «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Беларусь, Минск, 2004, 2006, 2008); 30-м конгрессе FEBS (Венгрия, Будапешт, 2005); международном симпозиуме «Гиппокамп и память» (Россия, Пущино, 2006); международной научной конференции «Лекарственные средства и биологически активные соединения» (Беларусь, Гродно, 2007); IV конференции Украинского общества нейронаук, (Украина, Донецк, 2008); VI Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Россия, Санкт-Петербург, 2008).

Опубликованность результатов

Результаты диссертации опубликованы в 48 работах: 8 статей в рецензируемых научных журналах; 23 статьи в сборниках материалов научных конференций, 10 тезисов докладов на научных конференциях, 7 патентов. Общий объем опубликованных материалов составляет 7,41 авторских листа, из них подготовлено лично автором – 4,62.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3-х глав собственных исследований, заключения, списка цитируемой литературы, состоящего из 278 источников и списка собственных публикаций автора, содержащего 48 источников, 10 приложений. Работа изложена на 156 страницах машинописного текста и содержит 51 рисунок.

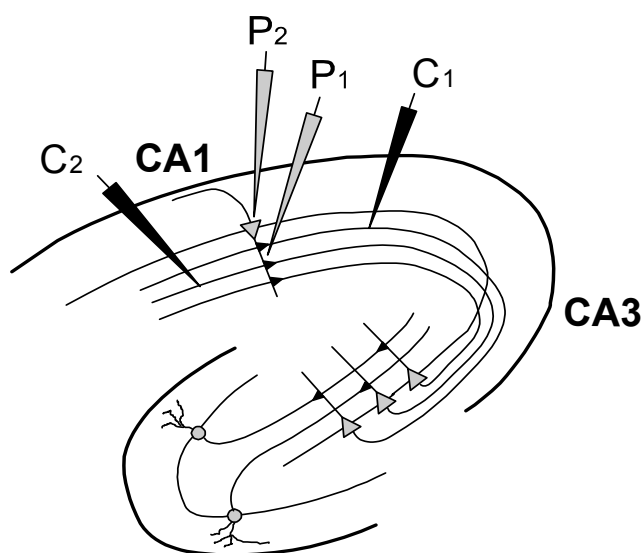
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Электрофизиологические исследования проведены на поперечных срезах гиппокампа 3–4-недельных крыс. Крыс-самцов декапитировали, извлекали головной мозг, который помещали в охлажденную до 2–3 °С модифицированную искусственную цереброспинальную жидкость (ИЦСЖ) с повышенным содержанием магния и пониженным содержанием кальция, насыщенную карбогеном (газовая смесь 95% O₂ и 5% CO₂). В состав ИЦСЖ входили (в ммоль/л): 124,0 NaCl; 3,0 KCl; 1,25 KH₂PO₄; 4,0 MgCl₂; 0,5 CaCl₂; 26,0 NaHCO₃; 10,0 глюкоза; pH 7,3–7,4. Поперечные срезы гиппокампа толщиной 450 мкм выделяли при помощи сконструированного микротомы (патент № 2561 ВУ) с охлаждающей камерой, стабилизирующей температуру раствора на уровне 3–4 °С. Затем срезы инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре в стандартной ИЦСЖ, которая насыщалась карбогеном и содержала (в ммоль/л): 124,0 NaCl, 3,0 KCl, 1,25 KH₂PO₄, 1,2 MgCl₂, 2,0 CaCl₂, 26,0 NaHCO₃, 10,0 глюкоза; pH 7,3–7,4. После преинкубации срезы помещали в термостабилизированную регистрационную камеру (патенты № 2636 ВУ, № 4126 ВУ). Для приготовления ИЦСЖ использовали компоненты фирм «STANLAB» (Люблин, Польша) и «Нева-реактив» (Санкт-Петербург, Россия). ИЦСЖ готовили *ex tempore*. Карбоген заказывали на заводе «Крион» (Минск, РБ).

Установка для регистрации электрической активности нейронов и параметров проводимости синаптических контактов состоит из камеры, в которой в растворе ИЦСЖ находится срез мозга (гиппокампа), системы перфузии, благодаря которой осуществляется смена растворов в камере, системы оксигенирования, насыщающей раствор смесью 95% O₂ и 5% CO₂, системы термостатирования, поддерживающей с помощью элемента Пельтье заданную температуру в камере, системы регистрации и электрической стимуляции. Перфузирующий поток раствора в камере (4 мл/мин) обеспечивали за счет работы перистальтического насоса Peristar (WPI, США).

Стимулирующие последовательности сигналов подавали с применением планарного микроэлектродного массива (патент № 2563 ВУ) или четырехканальных стимулирующих электродов. Схема расположения микроэлектродов в срезе гиппокампа показана на рисунке 1. Электрод Р₁ размещали в слое *str. radiatum* области CA1 для регистрации полевого возбуждающего постсинаптического потенциала (пВПСП). Электрод Р₂ позиционировали в слое *str. pyramidale* для регистрации популяционного спайка (ПС) с целью контроля генерации потенциалов действия пирамидальными нейронами.



C_1, C_2 – стимулирующие микро-
электроды. P_1, P_2 – регистрирующие
микроэлектроды. CA1, CA3 –
области гиппокампа

Рисунок 1 – Схема расположения стимулирующих и регистрирующих микроэлектродов при проведении экспериментов по индуцированию синаптической пластичности

Стимулирующие электроды C_1 и C_2 размещали таким образом, чтобы каждый возбуждал независимый набор пресинаптических волокон (коллатералей Шаффера). Отсутствие признаков кратковременной синаптической пластичности (одинаковая амплитуда ответов в обоих случаях) означало, что стимулируются независимые наборы синапсов. На стимулирующие электроды подавали либо тестовые импульсы низкой амплитуды (амплитуда пВПСП составляла менее половины от необходимой для превышения порога генерации потенциала действия), либо деполяризующий сигнал в виде импульсов высокой амплитуды (амплитуда стимуляции превышала порог генерации потенциалов действия).

Для многоканальной стимуляции пресинаптических аксонов использовали разработанный автоматизированный восьмиканальный стимулятор с оптической изоляцией выходных каскадов, обеспечивающей минимальные помехи в системе усиления. Аналого-цифровое и цифро-аналоговое преобразование сигналов осуществляли при помощи платы ADC 12-4 («Спецприбор», Минск). Получаемые данные визуализировали и сохраняли отдельными файлами в компьютере. Для управления параметрами стимуляции использовали программные модули, позволяющие контролировать работу стимулятора в зависимости от условий эксперимента.

Для моделирования эволюции распределения синаптических весов применяли систему моделирования «NEURON» [Hines, 2007]. Использовали следующую конфигурацию нейронной сети: один выходной нейрон активируется 200 входными нейронами, при этом начальные веса синапсов задавали согласно нормальному распределению.

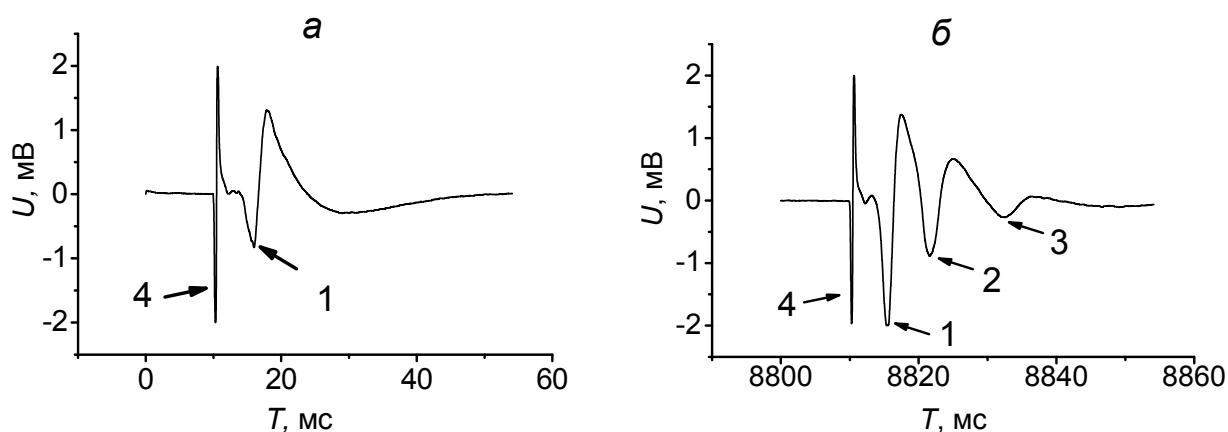
Для изучения электрических процессов на уровне отдельных групп синапсов разработана и внедрена методика многоканальной подпороговой стимуляции с применением стимулятора и планарного микроэлектродного

сенсора, обеспечивающая возможность как подпороговой активации отдельных групп синапсов, так и надпороговой стимуляции в результате пространственного суммирования ВПСП от нескольких таких групп. Стимулятор обеспечивает проведение независимой активации нейронов по восьми каналам, что позволяет осуществлять деполяризирующую стимуляцию путем одновременной низкоамплитудной активации восьми групп синапсов.

Для оценки статистической значимости эффектов стимулирующих воздействий применяли t -критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ, нелинейный регрессионный анализ. Нормальность распределения исследуемых величин проверяли при помощи теста Шапиро-Уилка. Графически результаты представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего ($M \pm m$) либо среднее арифметическое и границы 95 % доверительного интервала ($M \pm CI$). Статистическую обработку данных проводили с использованием языка программирования «Origin C» и встроенных средств программных пакетов Origin 8.0 и Graphpad Prizm 5.02.

Длительная потенция в области CA1 гиппокампа при формировании комплексных спайков в условиях электрической стимуляции с частотой тета-ритма

Индукция ДП осуществляли с применением импульсной надпороговой электрической стимуляции с частотой тета-ритма (5 Гц, тета-стимуляция), позволяющей вызывать формирование эндогенных комплексных ПС, которые традиционная пачечная стимуляция лишь имитирует. Как показано на рисунке 2а, ответы в начале стимуляции представлены одиночными спайками.



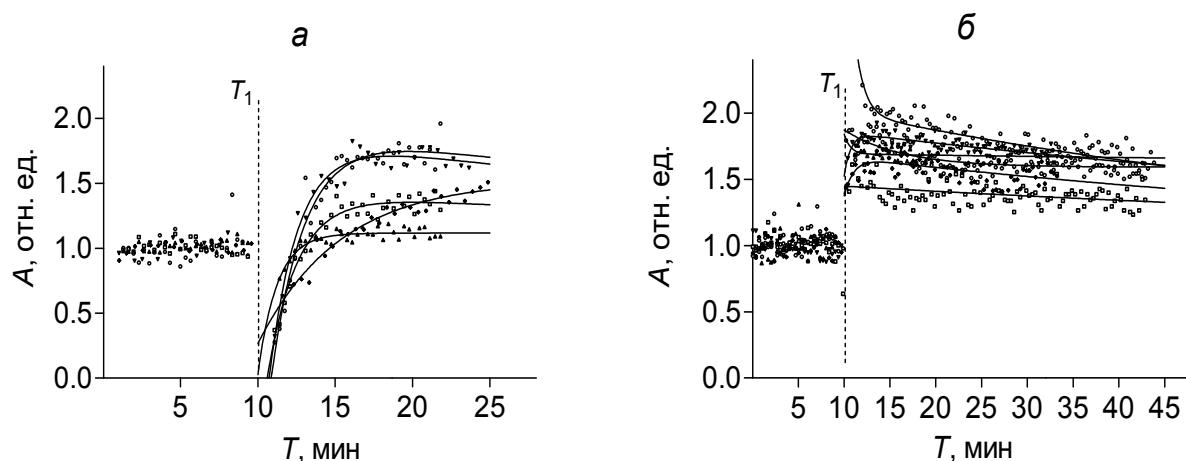
U – амплитуда ответов. T – время. 1, 2, 3 – спайки. 4 – артефакт стимуляции

Рисунок 2 – Формирование комплексных популяционных спайков в области CA1 при стимуляции с частотой 5 Гц (пояснения в тексте)

После первой секунды стимуляции амплитуда спайка возрастает и дополнительно формируется второй спайк, а на девятой секунде добавляется третий спайк (рисунок 2б). Формирование комплексных ПС уже на первых секундах стимуляции достигается благодаря применению модифицированной методики выделения срезов.

Рисунок 3а демонстрирует влияние тета-стимуляции на эффективность синаптической передачи (амплитуду тестовых пВПСП) при обычной методике, когда для достижения комплексных ПС необходимо 20-30 с стимуляции. Моменту времени $T_1 = 10$ мин соответствует 20-секундная тета-стимуляция. После завершения стимуляции происходило снижение амплитуды ответов относительно исходной (развивалась посттетаническая депрессия). Время выхода амплитуды пВПСП на уровень, равный 90 % от максимального (τ_{90}), составляет 5.96 мин (95 % доверительный интервал от 2.09 мин до 9.82 мин). В последующем наблюдался прирост проводимости активируемой группы синапсов (индуцирование ДП). При быстром же возникновении комплексных спайков для индуцирования ДП достаточно тета-стимуляции длительностью 6 с (30 импульсов), при этом длительность посттетанической депрессии значительно ниже, как иллюстрирует рисунок 3б ($\tau_{90} = 0,83$ мин, 95 % доверительный интервал от 0,75 мин до 0,91 мин).

Предложенный протокол формирования комплексной спайковой активности с применением стимуляции на частоте нативного тета-ритма является адекватным для моделирования ситуаций, реально развивающихся в мозге в условиях как нормы, так и патологии.

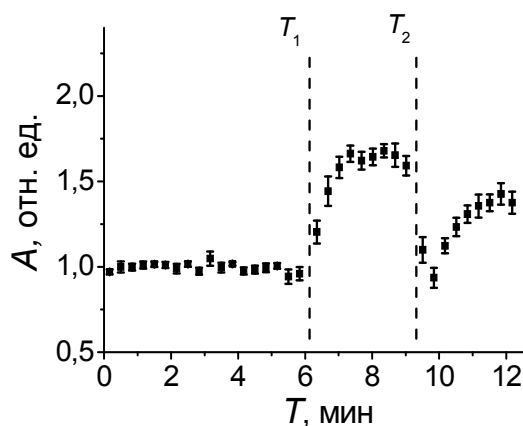


A – нормированная амплитуда ответов на тестовые импульсы. T_1 – момент времени, соответствующий началу потенцирующей стимуляции

Рисунок 3 – Зависимость амплитуды ответов на тестовые импульсы от времени при тета-стимуляции области CA1 длительностью 20 с (а) и 6 с (б)

Длительная потенция и депотенция при различных интервалах времени между тестовыми и деполяризующими стимулами

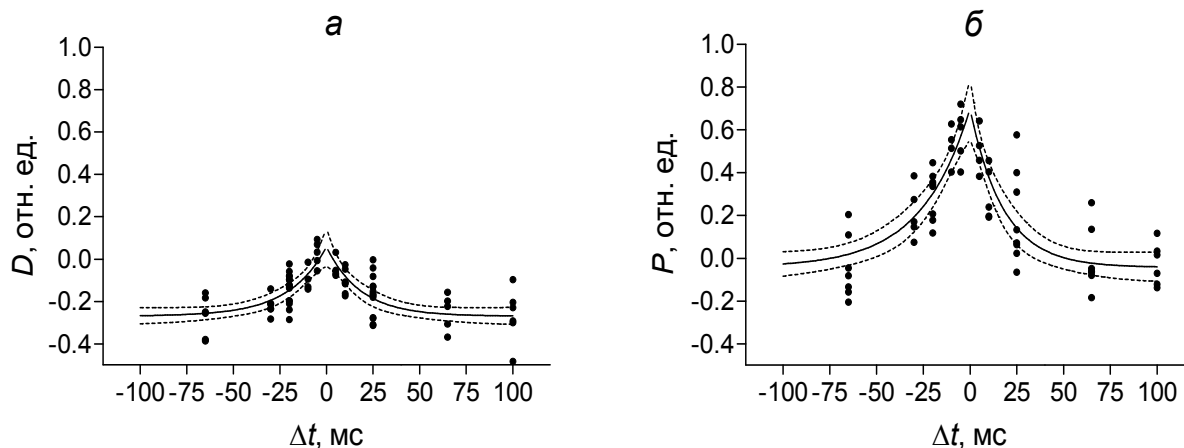
В следующей серии опытов для анализа гетеросинаптических эффектов на один электрод подавали подпороговые тестовые, а на другой – надпороговые деполяризующие стимулы. На рисунке 4 показана зависимость амплитуды ответов на тестовые импульсы от времени и соответствующие регрессионные кривые. В момент времени T_1 осуществляли ассоциативное индуцирование длительной потенциации, при этом с частотой 5 Гц в течение 6 с на стимулирующие электроды синхронно подавали подпороговые и надпороговые импульсы, что вызывало формирование комплексных спайков и индуцирование потенциации тестовой группы синапсов. В момент времени T_2 осуществляли асинхронную стимуляцию с частотой 5 Гц в течение 6 с, при этом на тестовый электрод подавали импульсы с задержкой на 65 мс относительно импульсов, подаваемых на деполяризующий электрод. Амплитуда ответов на тестовые стимулы после такого воздействия снизилась (однофакторный дисперсионный анализ повторных измерений, критерий множественных сравнений Бонферрони, $p < 0,001$), то есть произошла депотенциация. Зависимость, представленная на рисунке 4, свидетельствует о том, что протокол стимуляции, основанный на паттернах естественной активности нейронов *in vivo*, позволяет реализовать как увеличение, так и уменьшение синаптической проводимости.



T_1 и T_2 – моменты времени, соответствующие началу потенцирующей и депотенцирующей стимуляции соответственно. Данные представлены как $M \pm m$, остальные обозначения как на рисунке 3

Рисунок 4 – Зависимость амплитуды ответов на тестовые импульсы от времени при стимуляции с частотой тета-ритма

В следующей серии опытов изучены зависимости амплитуды потенциации (P) и депотенциации (D) от интервала времени Δt между подпороговой и надпороговой стимуляцией (рисунок 5). Для получения зависимостей $P(\Delta t)$ и $D(\Delta t)$ стимулировали непотенцированные и потенцированные синапсы соответственно, амплитуду вычисляли как разность средней нормированной амплитуды пВПС до и после стимуляции.



Сплошная линия – регрессионная кривая, пунктирные линии – доверительная полоса уровня 95%

Рисунок 5 – Зависимость амплитуды депотенциации D (а) и потенциации P (б) от интервала времени Δt между деполяризующими и тестовыми стимулами

Зависимости $D(\Delta t)$ и $P(\Delta t)$ характеризуют изменения синаптической проводимости для случаев максимально потенцированных и непотенцированных синапсов. Если до воздействия синапсы максимально потенцированы, то тета-стимуляция вызывает только отрицательные изменения (рисунок 5а). Если синапсы не потенцированы, то тета-стимуляция вызывает только положительные изменения (рисунок 5б). Если синапсы находятся в промежуточном состоянии между исходным уровнем и полной потенциацией, зависимость будет принимать промежуточный вид между $D(\Delta t)$ и $P(\Delta t)$.

Полученные данные отражают правило обучения для области CA1 гиппокампа, которое можно сформулировать следующим образом: при синхронной электрической активации пресинаптических и постсинаптических нейронов на частоте тета-ритма синаптическая проводимость увеличивается при условии формирования комплексных спайков, десинхронизация активации приводит к депотенциации ранее потенцированных синапсов. Это правило соответствует принципу временного кодирования, когда изменение синаптического веса определяется не частотой спайков, а интервалами времени между спайками.

Таким образом, можно заключить, что основой правила обучения, установленного в данной серии опытов, является совместное действие эффектов потенциации и депотенциации. Отсутствие эффекта посттетанической депрессии в условиях применяемых протоколов стимуляции способствует ускорению процесса обучения.

Нейросетевое обучение на основе синаптических взаимодействий

На основе зависимостей, представленных на рисунке 5, выбрана функция, определяющая правило обучения, учитывающее процесс синаптической депотенциации:

$$F(\Delta t) = (A_+ + A_-)e^{(-|\Delta t|/\tau)} - A_-$$

где Δt – интервал времени между пре- и постсинаптической активацией, τ – определяет временные рамки, в которых происходят синаптические изменения, A_+ – максимальное увеличение веса (при $\Delta t = 0$), A_- – максимальное уменьшение веса (при $\Delta t \gg \tau$). Свойства правила обучения, основанного на функции $F(\Delta t)$, оценены путем моделирования динамики распределения синаптических весов. Начальное распределение значений синаптического веса показано на рисунке 6а, а установившееся через 500 с – на рисунке 6б.

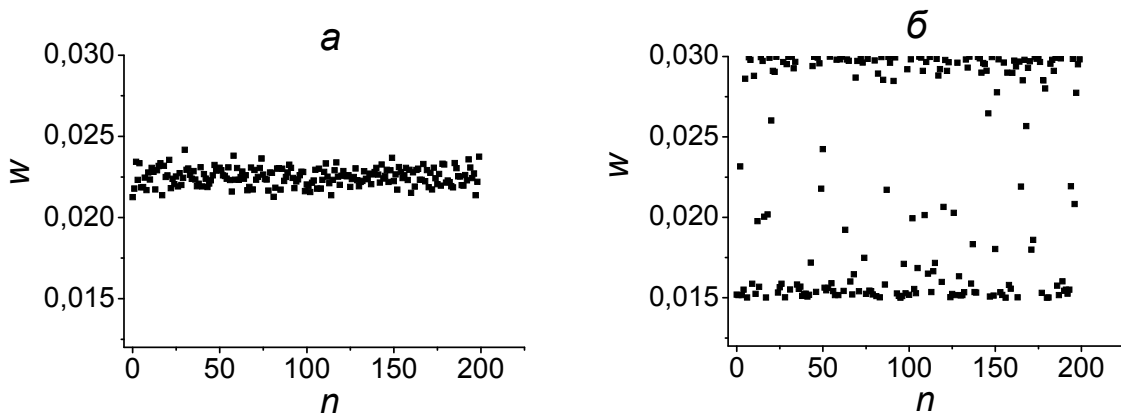


Рисунок 6 – Распределение значений синаптического веса w зависимости от номера синапса n : начальное (а) и установившееся через 500 с (б) при $A_+ = 0,001$, $A_- = 0,00028$, $\tau = 20$ мс

Бимодальный вид распределения (рисунок 6б) свидетельствует о том, что правило обучения, определяемое формулой $F(\Delta t)$, вводит конкуренцию между синапсами. Случайные синхронные активации групп синапсов с большим весом вызывают генерацию спайка постсинаптическим нейроном, а, значит, и дальнейшее увеличение их веса. У синапсов с малым весом вероятность участвовать в инициации постсинаптического спайка снижается, что, согласно правилу обучения, вызывает дальнейшее уменьшение их веса.

Вышеописанные данные о синаптических взаимодействиях получены для модельного нейрона, возбуждаемого сравнительно большим числом синапсов. Применение многоканальных сенсоров и автоматизированных систем регистрации/стимуляции с учетом особенностей ламинарного строения гиппокампа (слой нейронов области CA1 возбуждается аксонами нейронов области CA3) дает возможность проведения экспериментальной верификации *in*

vitro данных, полученных на основе компьютерной модели. Разработанные стимулятор и методика многоканальной подпороговой стимуляции позволяют проводить деполяризующую стимуляцию не путем подачи высокоамплитудных надпороговых импульсов тока на один стимулирующий электрод, а на основе пространственной и временной суммации подпороговых ВПСП, вызываемых низкоамплитудными подпороговыми стимулами, подаваемыми на несколько электродов.

В проведенных опытах стимулирующие последовательности подавали с применением планарного микроэлектродного массива, либо при помощи двух четырехканальных электродов. На рисунке 7 представлена электрическая активность в области CA1 при применении подпороговых стимулирующих импульсов (8 последовательностей, то есть 8 каналов стимуляции).

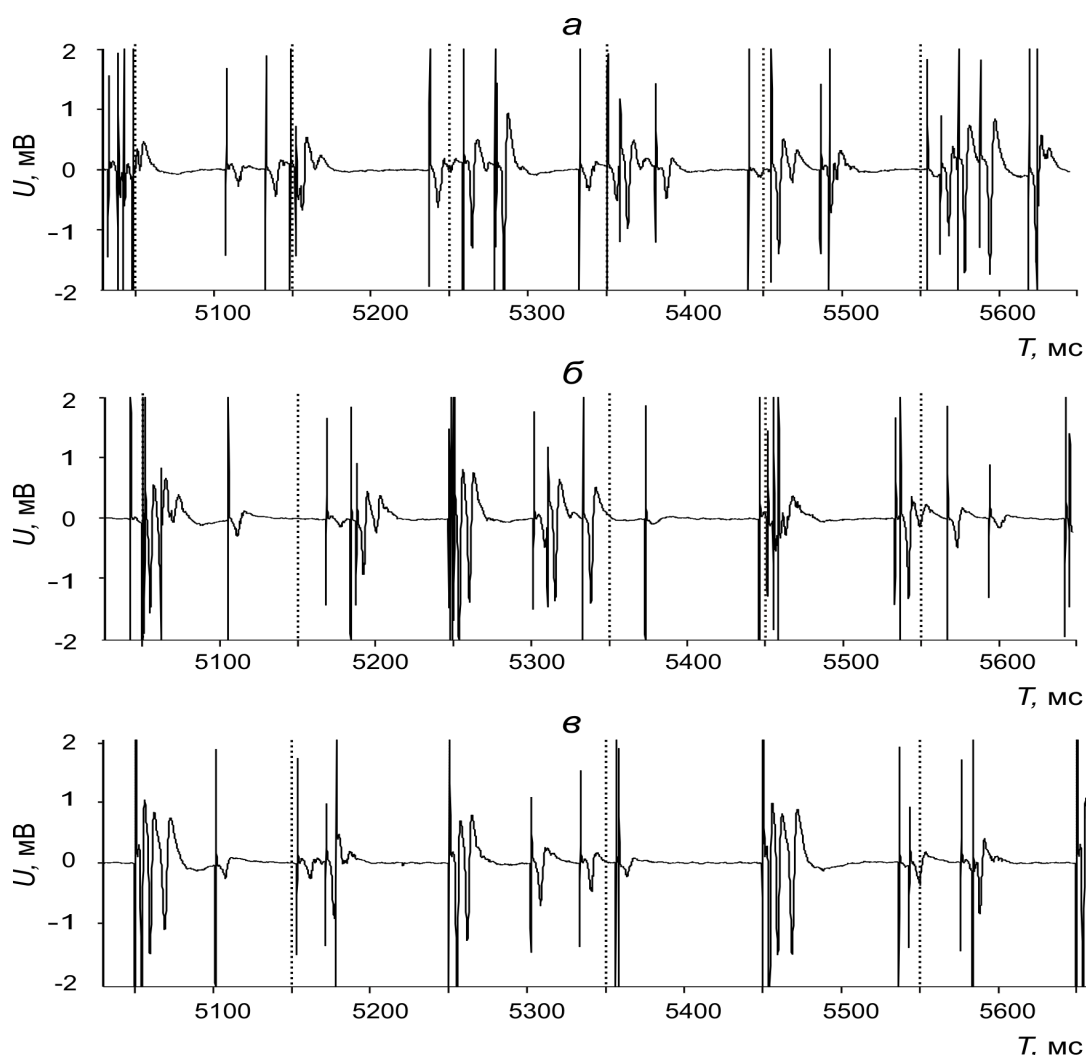
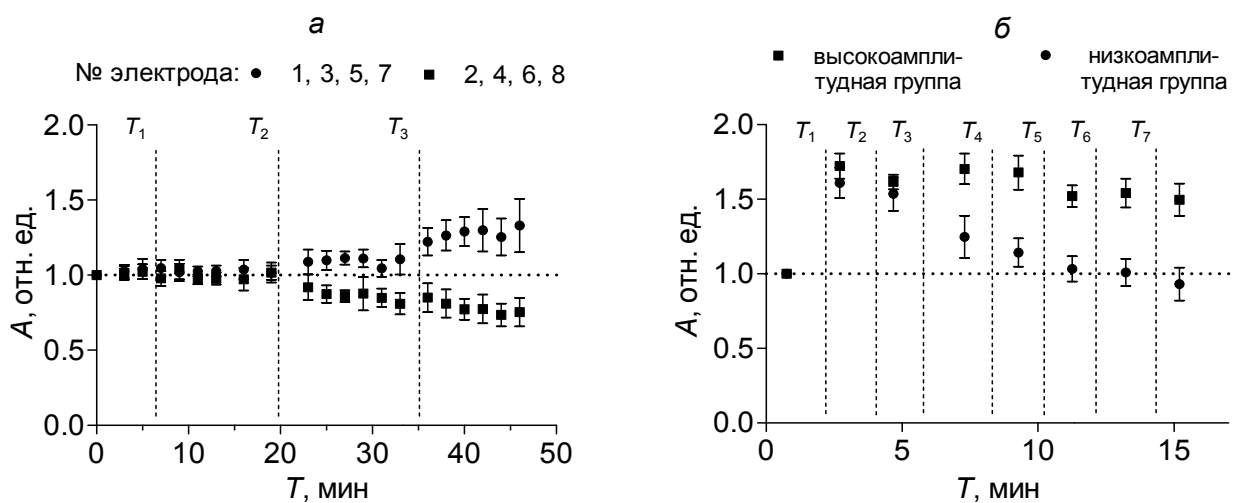


Рисунок 7 – Регистрируемая активность в области CA1 гиппокампа при различных параметрах стимулирующих последовательностей: $\sigma_1 = 50$ мс, $\sigma_2 = 50$ мс (а); $\sigma_1 = 5$ мс, $\sigma_2 = 50$ мс (б); $\sigma_1 = 0$ мс, $\sigma_2 = 50$ мс (в)

Импульсы разбивали на две группы по 4 канала, при этом для двух групп средние значения распределения Гаусса ($\mu_1 = (50+200i)$ мс, $\mu_2 = (150+200i)$ мс, где $i = [0, 29]$ – номер стимула) отличались на 100 мс. При небольших дисперсиях (σ) соответствующие группы синапсов стимулируются независимо с интервалом времени около 100 мс. Как показано на рисунке 7, при $\sigma = 50$ мс возникают одиночные спайки, при $\sigma = 5$ мс – комплексные спайки, при $\sigma = 0$ мс комплексные спайки генерируются стабильно, то есть, при увеличении коррелированности стимулирующих последовательностей создаются условия для изменения синаптической проводимости. На рисунке 8а представлена зависимость амплитуды пВПСП от времени при стимуляции коллатералей Шаффера последовательностями импульсов. Каждой точке соответствует усредненная амплитуда пВПСП при стимуляции тестовыми импульсами через 100 с после тета-стимуляции. Восемь стимулирующих электродов разбивали на две группы (1, 3, 5, 7) и (2, 4, 6, 8). В момент времени T_1 начинали стимуляцию с использованием всех электродов ($\sigma = 500$ мс), затем в моменты времени T_2 и T_3 для электродов 1, 3, 5, 7 дисперсию σ изменяли до значений 5 мс и 0 мс соответственно. Введение корреляции между группами синапсов приводит к росту проводимости этих групп и снижению проводимости некоррелированных групп (рисунок 8а).



$T_1 - T_8$ – моменты времени, соответствующие началу очередной тета-стимуляции. Данные представлены как $M \pm CI$

Рисунок 8 – Изменение амплитуды пВПСП при стимуляции с помощью двух групп электродов с различными временными (а) и амплитудными (б) параметрами последовательностей стимулирующих импульсов

На рисунке 8б представлено изменение амплитуды тестовых ответов, когда на одну группу из четырех электродов подаются импульсы с низкой, а на другую – с более высокой амплитудой. В момент времени T_1 осуществляли

одновременную стимуляцию с частотой тета-ритма обеих групп для индуцирования потенциации. Затем (моменты времени T_2 , T_3 , T_4 , T_5 , T_6 , T_7) импульсы разбивали на две группы по амплитуде. Для групп синапсов с большей амплитудой происходит рост проводимости вплоть до насыщения, группы с меньшей проводимостью депотенцируются (рисунок 8б).

Таким образом, установленное правило обучения для области CA1 гиппокампа, основанное на эффекте депотенциации, обеспечивает возникновение конкурентных эффектов при групповых синаптических взаимодействиях как на моделях, так и *in vitro*. Рост проводимости коррелированных групп синапсов отражает процесс обучения нейросети, связанный с распознаванием входов с коррелированной активностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено новое правило обучения нейронных сетей для области CA1 гиппокампа, определяющее характер изменения синаптической проводимости при внеклеточной электрической стимуляции нейронных сетей: при синхронной электрической активации пресинаптических и постсинаптических нейронов на частоте тета-ритма синаптическая проводимость увеличивается при условии формирования комплексных спайков, десинхронизация активации приводит к депотенциации ранее потенцированных синапсов. Возрастание синаптической проводимости происходит вследствие индуцирования длительной потенциации, а ее снижение – в результате процесса депотенциации [6, 23, 26, 7, 27, 39, 31].

2. С применением методов компьютерного моделирования установлено, что сформулированное на основании анализа экспериментальных данных правило обучения обеспечивает синаптическую конкурентность: увеличение проводимости одних групп синапсов сопряжено с уменьшением проводимости других групп, что является условием формирования селективности в нейронных сетях [25, 7, 27, 30].

3. В популяции нейронов области CA1 гиппокампа возрастает проводимость групп синапсов, активируемых случайными последовательностями электрических импульсов с наибольшей взаимной корреляцией между группами при многоканальной стимуляции (не менее 8 электродов), и снижается синаптическая проводимость для синапсов, стимулируемых последовательностями с наименьшей взаимной корреляцией. Экспериментально обнаружено новое явление групповой доминантности в биологических нейронных сетях: при многоканальной стимуляции случайными последовательностями импульсов происходит потенциация синапсов с наибольшей проводимостью и депотенциация синапсов с наименьшей

проводимостью. Полученные эффекты являются доказательством существования конкурентных синаптических взаимодействий в области CA1 гиппокампа и отражают один из типов обучения нейронной сети: формирование селективности к входам с взаимокоррелированной активностью. Механизмы синаптических взаимодействий в условиях коррелированной стимуляции *in vitro* аналогичны механизмам межнейронных взаимодействий при восстановлении паттернов активности нейронов гиппокампа *in vivo* [6, 10, 11, 13, 16, 18, 20, 38].

4. Установлено, что при микроэлектродной внеклеточной электрической стимуляции группы коллатералей Шаффера надпороговыми (вызывающими популяционные спайки) импульсами с частотой 5 Гц в течение 6 с в слое пирамидальных нейронов области CA1 срезов гиппокампа крысы происходит формирование комплексных популяционных спайков (без признаков эпилептоидной активности). Разработана методика индуцирования комплексных популяционных спайков в гиппокампе *in vitro*, являющихся атрибутом процесса формирования длительной потенциации, ассоциируемой *in vivo* с процессами запоминания [4, 5, 8, 14, 19, 21, 22, 28, 29, 37, 39 – 41, 45].

5. Показано, что формирование комплексных спайков в области CA1 при внеклеточной электрической активации коллатералей Шаффера надпороговыми импульсами с частотой 5 Гц в течение 6 с и синхронно подпороговыми импульсами сопровождается индуцированием ассоциативной длительной потенциации. Потенцирующая стимуляция коллатералей Шаффера, основанная на применении коротких стимулирующих последовательностей (30 импульсов), не приводит к первоначальному снижению синаптической проводимости (из-за развития посттетанической депрессии), в результате чего возрастание синаптической проводимости происходит непосредственно после индуцирующего воздействия. После развития длительной потенциации десинхронизация подпороговых и надпороговых стимулов сопровождается депотенциацией синапсов. На основе полученных данных разработан протокол индуцирования разнонаправленных изменений синаптической проводимости в области CA1 срезов гиппокампа крысы при электрической стимуляции с частотой тета-ритма [6, 19, 23, 7, 27, 48].

6. Разработан комплекс аппаратуры, включающий четырехканальный усилитель, восьмиканальный автоматизированный стимулятор и планарный микроэлектродный массив, позволяющий осуществлять многоканальную регистрацию и стимуляцию электрической активности нейронов срезов мозга *in vitro*. Разработана методика подпороговой многоканальной стимуляции электрической активности нервной ткани обеспечивающая как подпороговую стимуляцию отдельных групп синапсов, так и надпороговую стимуляцию постсинаптических нейронов в результате пространственного суммирования

возбуждающих постсинаптических потенциалов от нескольких таких групп, что позволяет анализировать *in vitro* взаимодействие ансамблей нейронов с различными параметрами активности [1 – 3, 9, 12, 15, 17, 24, 32 – 36, 42 – 45, 46, 47].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Установка для внеклеточной регистрации электрической активности нейронов среза гиппокампа крысы внедрена в учебный процесс кафедры биофизики физического факультета Белорусского государственного университета (акт внедрения от 21.12.2005), что позволяет повысить уровень подготовки специалистов по биофизике.

Разработанный и запатентованный (патент № 2563) планарный микроэлектродный массив внедрен в лаборатории психонейрофизиологии и онкогенеза Института физиологии НАН Беларуси (акт внедрения от 29.09.2008). С помощью планарного сенсора впервые осуществлен скрининг лигандов GABA-рецепторов и установлены закономерности динамического взаимодействия ансамблей нейронов гиппокампа с различными параметрами активности.

С применением полученных в диссертационной работе результатов разработаны способы моделирования эпилептиформной активности нейронов (патент № 9359) и изменения условий синаптической передачи в срезах гиппокампа мозга лабораторного животного (патент № 10506), которые применяются в научном процессе Института физиологии НАН Беларуси для изучения особенностей функционирования нервной ткани в условиях индуцированных патологических состояний.

В научный процесс Института физиологии НАН Беларуси внедрена запатентованная методика стимуляции электрической активности нейронов срезов гиппокампа крысы с применением микротомы, автоматизированного стимулятора и регистрационной камеры с фиксатором электродов (патенты № 2561, № 2636, № 4126; акт внедрения от 11.12.2007), что расширило возможности получения новых научных данных о влиянии модуляторов каннабиноидных рецепторов, гиалуронидазы, хондроитинсульфата на параметры нейрональной активности и эффективности синаптической передачи в гиппокампе. В перспективе с помощью данной методики предполагается осуществлять скрининг новых лекарственных препаратов нейротропного действия.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах

1. **Денисов, А.А.** Сопряжение полупроводниковых интегральных схем с нейронами для реализации перспективных элементов обработки информации / А.А. Денисов, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич // Известия Белорусской инженерной академии. – 1997. – Том 1, № 3. – С. 140–142.
2. Измерение электрических характеристик нервных клеток и тканей с применением датчиков на основе МОП-транзисторов / **А.А. Денисов**, Г.Г. Мартинович, П.Г. Молчанов, А.И. Драпеза, С.Н. Черенкевич, В.Н. Гурин // Доклады НАН Беларуси. – 2000. – Том 44, №6. – С. 53–55.
3. Электрическая активность изолированных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis* при действии пероксида водорода / Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, П.М. Булай // Вестн. Белорус. гос. ун-та. – 2003. – Сер. 2, №3. – С. 17–23.
4. Нейротоксические эффекты иботеновой кислоты в гиппокампе / Ю. С. Гаркун, **А.А. Денисов**, С. Н. Черенкевич, П. Г. Молчанов, В. А. Кульчицкий // Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences). – 2004. – №3. – С. 92–95.
5. Формирование фокальных возбуждающих постсинаптических потенциалов в СА1 области гиппокампа при добавлении в перфузионный раствор мелатонина и его метаболитов / **А.А. Денисов**, Гаркун Ю.С., Молчанов П.Г., Пашкевич С.Г., Антипенко А.А., Е.О. Корик, М.В. Наумова // Вести НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2005. – №5. – С. 14–16.
6. **Денисов, А.А.** Ассоциативное индуцирование долговременного синаптического потенцирования в области СА1 среза гиппокампа крысы *in vitro* / А. А. Денисов, С. Н. Черенкевич, В. А. Кульчицкий // Доклады НАН Беларуси. – 2005. – Т. 49, № 5. – С. 73–76.
7. **Денисов, А.А.** Обучение биологических нейронных сетей при кодировании интервалами времени между спайками / А.А. Денисов, С.Н. Черенкевич // Вестник БГУ. Сер. 1. 2006. № 3, с. 34-40.
8. Особенности формирования возбуждающих постсинаптических потенциалов при изменении функционального состояния гликозаминогликанов / Ю.С. Гаркун, Н.В. Якубович, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, А.А. Емельянова, С.Г. Пашкевич, В.А. Кульчицкий // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Том 145, №4. – С. 372–375.

Статьи в сборниках научных трудов и материалов конференций

9. Информационно-измерительная система для контроля состояния биологических нейронных сетей / **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // XII научно-техническая конференция «Датчик–2000»: материалы конф., Судак, 24-31 мая 2000 г. / Симферопольский гос. ун-т ; под ред. В.Н. Азарова. – Судак, 2000. – С. 167–168.

10. Пассивный планарный сенсор для регистрации внеклеточных электрических сигналов / П.М. Булай, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич, Г.Г. Мартинович, Д.С. Афанасенков // Медэлектроника–2002. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии: материалы междунар. научно-технической конф., Минск, 20–21 ноября 2002 г. / редкол.: С.К. Дик [и др.]. – Мн.: Изд. Н.Б. Киреев, 2002. – С. 44–46.

11. Аппаратно-программный комплекс для исследования электрической активности нейронов / **А.А. Денисов**, П.М. Булай, Г.Г. Мартинович, П.Г. Молчанов, В.А. Кульчицкий, С.Н. Черенкевич // Медэлектроника–2002. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии: материалы междунар. научно-технической конф., Минск, 20–21 ноября 2002 г. / редкол.: С.К. Дик [и др.]. – Мн.: Изд. Н.Б. Киреев, 2002. – С. 47–49.

12. Активный внеклеточный сенсор на транзисторе с плавающим затвором / П.Г. Молчанов, **А.А. Денисов**, П.М. Булай, Г.Г. Мартинович, Н.А. Поклонский, С.Н. Черенкевич // Медэлектроника–2002. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии: материалы междунар. научно-технической конф., Минск, Беларусь, 20–21 ноября 2002 г. / редкол.: С.К. Дик [и др.]. – Мн.: Изд. Н.Б. Киреев, 2002. – С. 50–52.

13. Многоэлектродный датчик внеклеточного электрического поля / П.М. Булай, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // XIV научно-техническая конференция «Датчик–2002»: материалы конф., Судак, 24-31 мая 2002 г. / Симферопольский гос. ун-т ; под ред. В.Н. Азарова. – Судак, 2002. – С. 256.

14. Гаркун, Ю.С. Зависимость активности нейронов слайсов гиппокампа крысы от напряжения кислорода в инкубирующем растворе / Ю.С. Гаркун, **А.А. Денисов**, П. Г. Молчанов // Сборник трудов молодых ученых Нац. акад. наук Беларуси / Нац. акад. наук Беларуси ; под. ред. Е.Д. Белоенко. – Минск, 2003. – Т. 2, С. 337–338.

15. Внеклеточный сенсор на МОП-транзисторе с плавающим затвором / П.Г. Молчанов, **А.А. Денисов**, П.М. Булай, Г.Г. Мартинович, Н.А. Поклонский // XV научно-техническая конференция «Датчик–2003»: материалы конф., Судак, 23-30 мая 2003 г. / Симферопольский гос. ун-т ; под ред.

В.Н. Азарова. – Судак, 2003. – С 285.

16. Формирование внеклеточных электрических сигналов в планарных нейросенсорах / П.М. Булай, Д.С. Афанасенков, П.Г. Молчанов, **А.А. Денисов**, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // Медэлектроника–2003. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии: материалы междунар. научно-технической конф., Минск, 20–21 ноября 2003 г. / редкол.: С.К. Дик [и др.]. – Мн.: БГУИР, 2003. – С. 119–122.

17. Установка для внеклеточной регистрации и стимуляции электрической активности нейронов среза гиппокампа крысы / **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, Ю.С. Гаркун, С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий // Медэлектроника–2003. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии: материалы междунар. научно-технической конф., Минск, 20–21 ноября 2003 г. / редкол.: С.К. Дик [и др.]. – Мн.: БГУИР, 2003. – С. 69–72.

18. Пластичность нервных клеток области СА1 гиппокампа в условиях действия блокатора рецепторов возбуждающих аминокислот / Ю.С. Гаркун, **А.А. Денисов**, Молчанов П.Г., С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий // Проблемы интеграции функций в физиологии и медицине (к 100-летию юбилею присуждения Нобелевской премии академику И.П. Павлову): материалы международной конференции, 15–16 июня 2004 г., Минск, Беларусь / под ред. В.Н. Гурина, К.В. Судакова. – Мн., 2004. – С. 80–82.

19. Методические особенности электрофизиологических исследований на срезах мозга (значимость температуры преинкубации) / **А.А. Денисов**, С.Н. Черенкевич, Ю.С. Гаркун, П.Г. Молчанов, С.Г. Пашкевич, В.А. Кульчицкий // Медэлектроника–2004. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии: материалы междунар. научно-технической конф., Минск, 9–10 декабря 2004 г. / редкол.: С.К. Дик [и др.]. – Мн.: БГУИР, 2004. – С. 88–91.

20. Автоматизированный стимулятор для электрофизиологических экспериментов на срезе гиппокампа крысы / **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, П.М. Булай, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // XVI научно-техническая конференция «Датчик–2004»: материалы конф., Судак, 24–31 мая 2004 г. / Симферопольский гос. ун-т ; под ред. В.Н. Азарова. – Судак, 2004. – С. 308–309.

21. **Денисов А.А.** Внеклеточная регистрация электрической активности нейронов среза гиппокампа крысы / **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. науч. конф. ; VI съезд БООФиБ, Минск, 6–8 октября 2004 г. : в 2 ч. / под ред. И. Д. Волотовского [и др.]. – Минск: Ред.-изд. центр Академии управления при Президенте РБ, 2004. – Ч. 2., С. 228–230.

22. Модулирующее влияние мелатонина и его метаболитов на

формирование фокальных возбуждающих постсинаптических потенциалов в СА1 области гиппокампа крыс / Ю.С. Гаркун, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, И.В. Семак, С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий // Нейронауки: теоретические и клинические аспекты. – 2005. – Т. 1. – № 1. – С. 23–24.

23. **Denisov, A.A.** Possible mechanisms underlying spike-timing dependent synaptic plasticity in the CA1 field of rat hippocampus / A.A. Denisov, S. N. Cherenkevich // FEBS Journal. – 2005. – Vol. 272. – P. 298–299.

24. Интегральный униполярный транзистор для биоэлектрических преобразователей / П.Г. Молчанов, С.А. Сорока, **А.А. Денисов**, В.А. Кульчицкий, Н.В. Поклонский // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. науч. конф. ; VII съезд БООФиБ, Минск, 21-23 июня 2006 г. : в 2 ч. / под ред. И. Д. Волотовского [и др.]. – Минск: Право и экономика, 2006. – Ч.2. – С. 335–337.

25. **Денисов, А.А.** Моделирование биохимических процессов, определяющих свойства синаптической пластичности в области СА1 гиппокампа / А.А. Денисов, С.Н. Черенкевич // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. науч. конф. ; VII съезд БООФиБ, Минск, 21-23 июня 2006 г. : в 2 ч. / под ред. И. Д. Волотовского [и др.]. – Минск: Право и экономика, 2006. – Ч.1. – С. 232–234.

26. Индуцирование увеличения и уменьшения синаптической проводимости в области СА1 гиппокампа / **А.А. Денисов**, Ю.С. Гаркун, П.Г. Молчанов, О.В. Гилевская // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. науч. конф. ; VII съезд БООФиБ, Минск, 21-23 июня 2006 г. : в 2 ч. / под ред. И. Д. Волотовского [и др.]. – Минск: Право и экономика, 2006. – Ч.1. – С. 229–231.

27. **Денисов, А.А.** Регуляция синаптической проводимости в области СА1 гиппокампа / А.А. Денисов // Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций: сб. науч. ст / редкол.: В.В. Лысак [и др.]. – Минск: РИВШ, 2007. – С. 65–67.

28. Влияние нейроактивных веществ на свойства нейронов среза гиппокампа *in vitro* / С.Н. Черенкевич, **А.А. Денисов**, П.М. Булай, Ю.С. Гаркун, Т.Н. Питлик, О.В. Гилевская // Лекарственные средства и биологически активные соединения : материалы международной конференции, Гродно, 11–12 октября 2007 г. / ГрГМУ ; отв. ред.: П.С. Пронько, Л.И. Надольник. – С. 184–185.

29. Роль рианодиновых рецепторов в редокс-регуляции синаптической проводимости в области СА1 гиппокампа / Т.Н. Питлик, Д.С. Афанасенков, П.М. Булай, **А.А. Денисов**. // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. науч. конф. ; VIII съезд БООФиБ, Минск, 25–27 июня 2008 г. : в 2 ч. / под ред. И. Д. Волотовского

[и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – Ч.1. – С. 254–256.

30. **Денисов, А.А.** Взаимодействие групп синапсов в срезах гиппокампа *in vitro* в условиях многоканальной электрической стимуляции / А.А. Денисов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. науч. конф. ; VIII съезд БООФиБ, Минск, 25–27 июня 2008 г. : в 2 ч. / под ред. И. Д. Волотовского [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – Ч.1. – С. 193–195.

31. Регуляция функциональных свойств нейронов и нейронных сетей *in vitro* / С.Н. Черенкевич, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, П.М. Булай, Т.Н. Питлик, Д.С. Афанасенков // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. науч. конф. ; VIII съезд БООФиБ, Минск, 25–27 июня 2008 г. : в 2 ч. / под ред. И. Д. Волотовского [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – Ч.1. – С. 16–18.

Тезисы докладов

32. Аппаратура для исследования электрической активности биологических нейросетей / **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // Молекулярно-клеточные основы функционирования биосистем; III съезд БООФиБ: тез. докладов, Минск, 21-23 октября, 1998 г. / Институт фотобиологии НАН Беларуси. – Минск, 1998. – С. 217.

33. Внеклеточная регистрация электрической активности нейронов пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis* / **А.А. Денисов**, П.М. Булай, Г.Г. Мартинович, П.Г. Молчанов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. научн. конф.; V съезд БООФиБ, Минск, 22-24 октября 2002 г. / ред. кол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Мн.: Тонпик, 2002. – С. Т-137.

34. Адаптивный датчик на транзисторе с плавающим затвором для регистрации электрических сигналов клеток при культивировании *in vitro* / П.Г. Молчанов, Н.А. Поклонский, **А.А. Денисов**, В.А. Кульчицкий, А. Оффенхаузер, С.Н. Черенкевич // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. научн. конф.; V съезд БООФиБ, Минск, 22-24 октября 2002 г. / ред. кол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Мн.: Тонпик, 2002. – С. 140.

35. Булай, П.М. Сенсор внеклеточных электрических сигналов / П.М. Булай, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: материалы междунар. научн. конф.; V съезд БООФиБ, Минск, 22-24 октября 2002 г. / ред. кол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Мн.: Тонпик, 2002. – С. 136.

36. Электрофизиологическая установка для внеклеточной регистрации электрической активности нейронов слайсов гиппокампа крысы / **А.А. Денисов**, Ю.С. Гаркун, П.Г. Молчанов, П.М. Булай, В.А. Кульчицкий, С.Н. Черенкевич // Юбилейная конференция, посвященная 50-летию со дня основания Института физиологии НАН Беларуси, Минск, 7–8 октября 2003 г.: тез. докл. / ред. кол.: В.Н. Гурин [и др.]. – Мн.: Технопринт, 2003. – С. 51.

37. Устойчивость нейронов слайсов гиппокампа крысы к повышенному напряжению кислорода в инкубирующем растворе / Ю.С. Гаркун, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, Т.Н. Питлик, С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий // Юбилейная конференция, посвященная 50-летию со дня основания Института физиологии НАН Беларуси, Минск, 7–8 октября 2003 г.: тез. докл. / ред. кол.: В.Н. Гурин [и др.]. – Мн.: Технопринт, 2003. – С. 31–32.

38. **Denisov, A.A.** Modeling study of biochemical mechanisms underlying spike-timing dependent plasticity / A.A. Denisov, S.N. Cherenkevich // Proceedings of International Symposium “Hippocampus and Memory”, Pushchino, 2006. – P. 67.

39. Effect of methanandamide on the efficiency of synaptic transmission in the CA1 hippocampal area / Y.S. Garkun, S.G. Pashkevich, **A.A. Denisov**, P.G. Molchanov, N.V. Yakubovich // Proceedings of International Symposium “Hippocampus and Memory”, Pushchino, 2006. – P. 71.

40. Индуцирование изменений синаптической проводимости в области CA1 гиппокампа *in vitro* / **А.А. Денисов**, С.Н. Черенкевич, П.Г. Молчанов, С.Г. Пашкевич, В.А. Кульчицкий // Материалы IV конференции Украинского общества нейронаук, 9–12 июня 2008 г., Донецк, Украина / Нейронауки: теоретические и клинические аспекты. – 2008. – Т. 4, № 1. – С. 20.

41. Особенности межнейронных коммуникаций в условиях гипоксии и действия агонистов каннабиноидных рецепторов / **А.А. Денисов**, Ю.С. Гаркун, С.Г. Пашкевич, В.А. Кульчицкий // Механизмы функционирования висцеральных систем : материалы VI Всероссийской конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 30 сентября – 2 октября 2008 г. / Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН. – СПб: 2008. – С. 64–65.

Патенты

42. Микротом для выделения переживающих срезов головного мозга животных : пат. 2561 Респ. Беларусь, МПК7 G 01N 1/06 / **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, Ю.С. Гаркун, С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий ; заявитель Институт физиологии НАНБ. – № u 20031200 ; заявл. 2005.07.01 ; опубл. 2006.04.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2006. – № 2. – С. 203–204.

43. Планарный микроэлектродный массив : пат. 2563 Респ. Беларусь, МПК7

A61B5/0408 / П.Г. Молчанов, **А.А. Денисов**, В.А. Кульчицкий, С.Н. Черенкевич ; заявители Институт физиологии НАНБ, Белорусский государственный университет. – № u 20050402 ; заявл. 2005.07.01 ; опубл. 2006.04.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2006. – № 2. – С. 144.

44. Регистрационная камера для работы со срезами гиппокампа головного мозга животных : пат. 2636 Респ. Беларусь, МПК7 G01B21/04 / **А.А. Денисов**, Ю.С. Гаркун, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич, Д.Н. Чичкан, В.А. Кульчицкий ; заявитель Институт физиологии НАНБ. – № u 20050574 ; заявл. 2005.10.30 ; опубл. 2006.04.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2006. – № 2. – С. 202.

45. Способ моделирования эпилептиформной активности нейронов в срезах гиппокампа головного мозга лабораторного животного : пат. 9359 Респ. Беларусь, МПК8 G01N33/48 / Ю.С. Гаркун, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, Д.Н. Чичкан, С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий ; заявитель Институт физиологии НАНБ. – № а 20041228 ; заявл. 2004.12.24 ; опубл. 2007.06.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2007. – № 3. – С. 134.

46. Устройство для перфузии срезов мозга животных : пат. 4125 Респ. Беларусь, МПК8 G01B21/00, A01D7/00 / Ю.С. Гаркун, **А.А. Денисов**, П.Г. Молчанов, В.А. Кульчицкий ; заявитель Институт физиологии НАНБ. – № u 20070477 ; заявл. 2007.06.28 ; опубл. 2007.12.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2007. – № 6. – С. 213.

47. Регистрационная камера для работы со срезами головного мозга животных : пат. 4126 Респ. Беларусь, МПК8 G01B21/00 / **А.А. Денисов**, Ю.С. Гаркун, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий ; заявитель Институт физиологии НАНБ. – № u 20070478 ; заявл. 2007.06.28 ; опубл. 2007.12.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2007. – № 6. – С. 214.

48. Способ изменения условий синаптической передачи в срезах гиппокампа мозга лабораторного животного : пат. 10506 Респ. Беларусь, МПК8 G01N33/48 / Ю.С. Гаркун, Е.Д. Белоевко, В.С. Улашик, С.В. Кульчицкий, **А.А. Денисов**, И.А. Ильясевич, В.А. Кульчицкий ; заявитель Институт физиологии НАНБ. – № а 20050891 ; заявл. 2005.09.15 ; опубл. 2008.04.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2008. – № 2. – С. 98.

РЭЗІЮМЭ

Дзянісаў Андрэй Анатольевіч

Сінаптычная пластычнасць і канкурэнтнае навучанне ў біялагічных нейронных сетках

Ключавыя словы: сінаптычная пластычнасць, правіла навучання, доўгатэрміновая патэнцыяцыя, дэпатэнцыяцыя, канкурэнтнае навучанне, электрычная актыўнасць нейронаў, нейронная сетка, гіпакамп.

Мэта даследавання: распрацаваць апаратуру і методыкі пазаклеткавай электрычнай стымуляцыі нервовых клетак, высветліць механізмы фарміравання рознакіраваных змен сінаптычнай праводнасці ў нервовай тканцы і ўсталяваць адпаведнае правіла навучання для нейронаў; вызначыць умовы ажыццяўлення працэсаў нейрасеткавага навучання *in vitro*.

Метады даследавання: шматканальная пазаклеткавая стымуляцыя і рэгістрацыя ўзбуджальных постсінаптычных патэнцыялаў і папуляцыйных спайкаў *in vitro*, камп'ютарнае мадэліраванне.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: Усталявана новае правіла навучання біялагічных нейронных сетак, якое ўлічвае эффект сінаптычнай дэпатэнцыяцыі і прыводзіць да ўзнікнення канкурэнтных эфектаў пры групавых узаемадзеяннях нейронных ансамбляў. Атрыманы новыя біяфізічныя заканамернасці індукцыравання доўгатэрміновай патэнцыяцыі пры актывацыі перадсінаптычных аксонаў на частаце тэта-рытму ва ўмовах фарміравання комплексных папуляцыйных спайкаў. Упершыню эксперыментальна атрыманы эфекты ўзаемадзеяння груп сінапсаў, якія звязаны з нейрасеткавым навучаннем *in vitro*: у папуляцыі нейронаў павялічваецца праводнасць сінаптычных пулаў, якія актывуюцца выпадковымі паслядоўнасцямі электрычных імпульсаў з найбольшай узаемнай карэляцыяй паміж групамі, і зніжаецца праводнасць сінапсаў з найменшай карэляцыяй. Распрацавана новая апаратура і методыкі даследавання, якія дазваляюць вывучаць працэсы, звязаныя з апрацоўкай інфармацыі ў нервовай тканцы.

Ступень выкарыстання: Распрацаваныя апаратна-метадычныя рашэнні запатэнтаваны і ўкаранены ў навуковы працэс Інстытута фізіялогіі НАН Беларусі, дзе ўжываюцца для даследавання фізіялагічных эфектаў фармакалагічных прэпаратаў у нервовай тканцы. У перспектыве мяркуюцца выкарыстоўваць атрыманыя данныя аб эфектах нейрасеткавага навучання для ажыццяўлення функцыянальнага скрынінгу новых лекавых прэпаратаў наатропнага дзеяння.

Вобласць выкарыстання: біяфізіка міжклеткавых узаемадзеянняў, нейрафізіялогія, нейрафармакалогія.

РЕЗЮМЕ

Денисов Андрей Анатольевич

Синаптическая пластичность и конкурентное обучение в биологических нейронных сетях

Ключевые слова: синаптическая пластичность, правило обучения, длительная потенция, депотенция, конкурентное обучение, электрическая активность нейронов, нейронная сеть, гиппокамп.

Цель исследования: разработать аппаратуру и методики внеклеточной электрической стимуляции нервных клеток, выяснить механизмы формирования разнонаправленных изменений синаптической проводимости в нервной ткани и установить соответствующее правило обучения для нейронов; определить условия осуществления процессов нейросетевого обучения *in vitro*.

Методы исследования: многоканальная внеклеточная стимуляция и регистрация возбуждающих постсинаптических потенциалов и популяционных спайков *in vitro*, компьютерное моделирование.

Полученные результаты и их новизна: Установлено новое правило обучения биологических нейронных сетей, учитывающее эффект синаптической депотенции и приводящее к возникновению конкурентных эффектов при групповых взаимодействиях нейронных ансамблей. Получены новые биофизические закономерности индуцирования длительной потенции при активации пресинаптических аксонов на частоте тета-ритма в условиях формирования комплексных популяционных спайков. Впервые экспериментально получены эффекты взаимодействия групп синапсов, связанные с нейросетевым обучением *in vitro*: в популяции нейронов увеличивается проводимость синаптических пулов, активируемых случайными последовательностями электрических импульсов с наибольшей взаимной корреляцией между группами, и снижается проводимость синапсов с наименьшей корреляцией. Разработана новая аппаратура и методики исследования, позволяющие изучать процессы, связанные с обработкой информации в нервной ткани.

Степень использования: Разработанные аппаратно-методические решения запатентованы и внедрены в научный процесс Института физиологии НАН Беларуси, где применяются для исследования физиологических эффектов фармакологических препаратов в нервной ткани. В перспективе предполагается применять полученные данные по эффектам нейросетевого обучения для осуществления функционального скрининга новых лекарственных препаратов ноотропного действия.

Область применения: биофизика межклеточных взаимодействий, нейрофизиология, нейрофармакология.

SUMMARY

Denisov Andrey Anatolievich

Synaptic plasticity and competitive learning in biological neural networks

Keywords: synaptic plasticity, learning rule, long-term potentiation, depotentiation, competitive learning, electrical activity of neurons, neural network, hippocampus.

Objective: to develop equipment and techniques for extracellular electrical stimulation of neurons, to find out the mechanisms of bidirectional synaptic conductance changes in nervous tissue and establish corresponding learning rules for neurons, to determine the conditions of learning processes implementation *in vitro*.

Methods of research: multichannel extracellular stimulation and recording of excitatory postsynaptic potentials and population spikes *in vitro*, computer simulation.

Results obtained and their novelty: A new learning rule for biological neural networks is established, taking into account the effect of synaptic depotentiation and leading to the competitive effects of group interactions of neural ensembles. New biophysical mechanisms of long-term potentiation induction by activation of presynaptic axons at a frequency of theta rhythm in case of complex population spikes emergence are obtained. For the first time effects of group synaptic interactions related to the learning of neural networks *in vitro* experimentally obtained: in a population of neurons, conductance of synaptic pools activated by random sequences of electrical pulses with the highest mutual correlation between groups increases and the conductance of synapses with the lowest correlation reduces. A new equipment and research techniques is developed to study the processes associated with the information processing in the nervous tissue.

The use: The hardware and technique solutions are patented and introduced to the scientific process in the Institute of Physiology of National Academy of Sciences of Belarus, which are used to study the physiological effects of pharmacological compounds in nervous tissue. In perspective, it is planned to apply the data about the effects of network learning for functional screening of new nootropic drugs.

Scope: biophysics of intercellular interactions, neurophysiology, neuropharmacology.