

ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ НА АКТИВАЦИЮ РЕЦЕПТОРА NMDA**Аксенова С.В., Батова А.С., Бугай А.Н., Душанов Э.Б.**

Объединенный институт ядерных исследований

ул. Жолио Кюри, 6, г. Дубна, 141980, РФ; e-mail: kgyr@mail.ru

Поступила в редакцию 25.07.2022. DOI: 10.20930/rusjbpс.2022.0537

Аннотация. В настоящей работе предложен модельный подход для анализа свойств нейронных сетей гиппокампа с различными типами NMDA-рецепторов: GluN1/GluN2A, GluN1/GluN2B, GluN1/GluN2A/GluN2B. Было проведено молекулярно-динамическое моделирование активации ионного канала рецепторов NMDA, модифицированного действием аллостерических модуляторов. Изучение сетевой активности нейронов с измененной структурой NMDA-рецепторов проводилось в моделях нейронных сетей CA1 и CA3 областей гиппокампа. В результате исследования свойств нейронной сети гиппокампа с модифицированной структурой NMDA-рецепторов получены электрофизиологические характеристики модели нейронной сети в зависимости от строения ионного канала рецептора NMDA. Исходя из анализа изменения проводимостей ионного канала и связывания ионов магния были выявлены различия в амплитуде тета- и гамма-частотных диапазонов в нейронных сетях с различными модельными структурами NMDA-рецепторов. Анализ сетевой активности нейронов с различными типами NMDA выявил незначительные изменения проводимости ионного канала и локального потенциала в зависимости от субъединиц, входящих в состав рецептора и типа модулятора. При воздействии Ro 25-6981 и кетамина для дигетеромерной модели GluN1/GluN2A NMDA-рецептора наблюдалось падение амплитуды тета-частотных и рост гамма-частотных диапазонов по сравнению с нативными формами рецептора. Для тригетеромера GluN1/GluN2A/GluN2B имеет место возрастание тета-частоты и снижение частоты гамма-диапазона по сравнению с GluN1/GluN2B. В отсутствие кетамина для моделей GluN1/GluN2A и GluN1/GluN2A/GluN2B NMDA-рецептора наблюдалось возрастание амплитуды тета-частотных и гамма-частотных диапазонов по сравнению с нативными формами NMDA-рецептора.

Ключевые слова: гиппокамп, рецептор NMDA, болезнь Альцгеймера, молекулярная динамика, нейронная сеть.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из ключевых узлов в ЦНС являются синаптические рецепторы, обеспечивающие связи между нервными клетками (нейронами). Рецепторы NMDA привлекают к себе большое внимание в последние несколько десятилетий благодаря их роли во многих типах нервной пластичности, а также их участия в эксайтотоксичности [1]. Глутаматные рецепторы NMDA (N-метил-D-аспартат) играют важную роль в нормальном функционировании мозга и таких процессах как обучение, память, моторные и сенсорные функции. Дисфункция рецептора наблюдается при различных патологиях, включая инсульт, эпилепсию, болезнь Паркинсона, Болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Хантингтона и шизофрению.

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), каинатные рецепторы и 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 (рис. 1а).

NMDA-рецепторы имеют решающее значение для развития центральной нервной системы (ЦНС), генерации ритмов дыхания, передвижения, а также процессов, лежащих в основе обучения, памяти и нейропластичности. Аномальные уровни экспрессии и измененная функция рецепторов NMDA вовлечены в многочисленные неврологические расстройства и патологические состояния, включая депрессию, шизофрению, болезнь Альцгеймера и аутоиммунный анти-NMDA-рецепторный энцефалит [2,3]. Гипофункция NMDA может привести к когнитивным дефектам, тогда как чрезмерная стимуляция вызывает эксайтотоксичность и последующую нейродегенерацию [4].

Структурными составляющими NMDA являются субъединицы NR1, NR2A, NR2B и т.д. Субъединицы NR1 считаются базовыми. Переключение NR2B на NR2A происходит в основном во время эмбрионального развития человека. Профили экспрессии генов GRIN2A и GRIN2B, кодирующих синтез NR2A и NR2B субъединиц в мозжечке человека, показывают, что уровень экспрессии GRIN2B снижается в период пренатального и раннего детства, в то время как уровень экспрессии GRIN2A повышается в течение этого периода [5]. Другими словами, с возрастом экспрессия GRIN2A будет преобладать, и изучение свойств NMDA-рецептора с различными субъединицами может играть важную роль в понимании возрастных изменений в ЦНС.

Рецепторы NMDA усеяны регуляторными сайтами, связывающими низкомолекулярные лиганды, которые действуют как положительные или отрицательные аллостерические модуляторы и допускают субъединично-специфическую модуляцию (рис. 1). Различные модуляторы, мутации и разнообразие состава субъединиц могут

привести к изменению функциональных свойств NMDA-рецепторов с точки зрения агонистической активности, проницаемости ионов кальция, гейтинга, кинетики и максимальной вероятности открытия канала [6].

В связи с тем, что дисфункция NMDA-рецепторов приводит к развитию патологических процессов, лежащих в основе неврологических и когнитивных заболеваний, в настоящее время разрабатываются препараты для фармакологической регуляции функции рецептора NMDA. Известно, что действие таких анестетиков, как фенциклидин и кетамин, связано с подавлением активности рецепторов NMDA путем блокирования рецепторного канала. Сильнодействующий селективный ингибитор рецепторов NMDA, содержащих субъединицу NR2B, антидепрессант Ro 25-6981, представляет собой модулятор сайта связывания N-концевого домена [7].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью настоящей работы является изучение влияния аллостерических модуляторов на активацию рецепторов NMDA с различным составом субъединиц и сетевую активность нейронов гиппокампа. Разработанный вычислительный подход позволяет произвести анализ различных структур рецепторов NMDA, оценить их электрофизиологические свойства на примере моделей нейронных сетей гиппокампа [8-10] и воспроизвести паттерны электроэнцефалограммы (ЭЭГ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе было проведено молекулярно-динамическое моделирование активации ионного канала различных типов рецепторов NMDA (дигетеромеры GluN1/GluN2A и GluN1/GluN2B, тригетеромер GluN1/GluN2A/GluN2B), структура которых была изменена в соответствии с действием аллостерического модулятора Ro 25-6981. Исходя из анализа проводимости ионных каналов и распределения ионов магния в каналах рецепторов NMDA, было изучено поведение нейронной сети с каждым типом NMDA, произведен 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 CA1 и CA3 [8-10] областей гиппокампа. Для изучения поведения нейронной сети применялся пакет NEURON [11]. Наибольший интерес представляет исследование θ - и γ -ритмов мозга, т.к. они оказывают определяющее влияние на формирование памяти. Гиппокамп вносит наибольший вклад в их генерацию.

Снижение тета-ритма (4-8 Гц) и увеличение гамма-ритма (30-100 Гц) вызывают близкие к шизофрении психотические симптомы у мышей [12]. Аналогичные изменения наблюдаются и у людей. Нами проведены исследования поведения этих ритмов при замене субъединиц в составе рецептора NR2B \rightarrow NR2A, которая преобладает с возрастом, а также рассмотрена промежуточная форма рецептора (NR1A/NR2A/NR2B). Функциональные свойства рецептора оценивались по нескольким параметрам, которые затем были интегрированы в модели нейронных сетей CA1 и CA3 областей гиппокампа. При этом код модели был модифицирован для изменения свойств рецепторов NMDA. А именно, ионный ток через единственный рецептор NMDA был взят в виде:

$$I_{\text{NMDA}} = \frac{G P (V_{\text{pre}})(V - V_e)}{1 + c[\text{Mg}^{2+}] \exp[-qV]}, \quad (1)$$

где G – максимальная проводимость для определенного типа иона, в нашем случае токи иона Na^+ , P – вероятность открытия канала в зависимости от пресинаптического потенциала V_{pre} и макроскопическая кинетика состояний рецептора, V – постсинаптический мембранный потенциал с равновесным напряжением V_e , c и q – феноменологические константы. Последние два параметра отражают связывание магния и электрохимические свойства, соответственно. Эти параметры обычно получают из экспериментальных данных.

Чтобы оценить разницу между проводимостью открытого ионного канала рецептора для каждой из смоделированных форм белка, мы применили следующую процедуру. Если предположить, что радиус канала зависит от координаты z вдоль оси симметрии рецептора, которая перпендикулярна мембране, проводимость G канала можно оценить по следующей формуле:

$$\frac{1}{G} = \int_0^L \frac{dz}{\pi \sigma r^2(z)}, \quad (2)$$

где σ – ионная проводимость цитозоля; L и r – длина ионного канала и эффективный радиус поры соответственно.

Структура NR1/NR2B рецептора была выбрана в качестве нативной, а модели NR1/NR2A и NR1/NR2A/NR2B были модифицированы с учетом субъединичного состава рецептора. Таким образом, соотношение проводимости нативной и модифицированных форм оценивали по следующей формуле:

$$\frac{G_{\text{mod}}}{G_{\text{nat}}} = \int_0^L \frac{dz}{r_{\text{nat}}^2} / \int_0^L \frac{dz}{r_{\text{mod}}^2}. \quad (3)$$

Зависимости $r(z)$ в (2) и (3) были восстановлены с использованием расчетов при помощи программы HOLE [13] для нативной формы рецепторов (NR1A/NR2B) и каждой из смоделированных форм (NR1A/NR2A, NR1A/NR2A/NR2B).

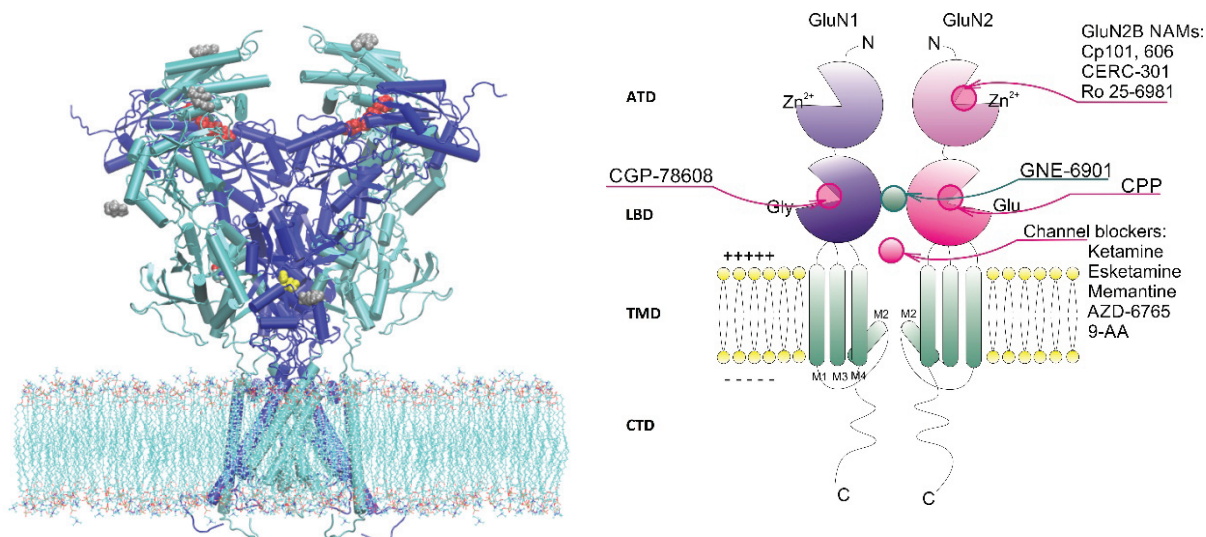


Рисунок 1. Модель рецептора NMDA, встроенная в фосфолипидную мембрану. Справа указаны функциональные домены рецептора NMDA (амино-концевой домен (ATD) и лиганд-связывающий домен (LBD), находящиеся во внеклеточном пространстве, трансмембранный домен (TMD) и внутриклеточно расположенный С-концевой домен (CTD)) и сайты связывания химических веществ с рецепторным комплексом NMDA. Домен TMD содержит три трансмембранных сегмента (M1, M3 и M4) и реентерабельную петлю (M2)

В ходе моделирования проводился анализ радиуса ионного канала [14]. Благодаря расчетам удалось визуализировать зависимость радиуса канала r от координаты z вдоль оси симметрии рецептора, перпендикулярной мембране. Используемая зависимость была использована при расчете отношения проводимостей для различных форм рецептора. Расчеты показывают, что проводимость ионных каналов NR1/NR2A-форм глутаматных рецепторов и тригетеромера NR1A/NR2A/NR2B выше по сравнению с NR1/NR2B формой NMDA-рецепторов (табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Влияние различных аллостерических модуляторов на динамику нейросетей гиппокампа оценивалось по спектрам мощности, отражающим выраженность того или иного частотного диапазона генерируемых осцилляций. Рассмотрены два частотных диапазона: тета (4-8 Гц) и гамма (30-60 Гц).

В ходе исследования были выявлены различия в амплитуде тета- и гамма-частотных диапазонов в нейронных сетях с различными модельными структурами NMDA-рецепторов. При воздействии Ro 25-6981 и кетамина для дигетеромерной модели GluN1/GluN2A NMDA-рецептора в нейросети области CA3 гиппокампа (модель из [8]) наблюдалось падение амплитуды тета-частотного и рост амплитуды гамма-частотного диапазонов по сравнению с GluN1/GluN2B формой рецептора. Для три-гетеромера GluN1/GluN2A/GluN2B имеет место возрастание амплитуды тета-частоты и снижение амплитуды гамма-диапазона по сравнению с GluN1/GluN2B (рис. 2а). В отсутствие кетамина для моделей GluN1/GluN2A и GluN1/GluN2A/GluN2B NMDA-рецептора наблюдалось возрастание амплитуды тета-частотных и гамма-частотных диапазонов по сравнению с GluN1/GluN2B формой NMDA-рецептора (рис. 2б). При этом наблюдается снижение амплитуды бета-диапазона, свойственного для данных структур. Изучение влияния Ro 25-6981 на свойства NMDA-рецепторов в области CA1 гиппокампа (модели из [9] и [10]) не выявило значимых изменений в динамике нейронной популяции для каждой из форм рецептора.

Таблица 1. Значения параметров связывания ионов магния в каналах рецепторов NMDA: G – максимальная проводимость для определенного типа иона, N_m – количество ионов Mg^{2+} , которые достигают сайта связывания в TMD, N_b – количество связанных ионов Mg^{2+} , B_b – фактическое количество связей Mg^{2+} с одним из четырех аминокислотных остатков N616, u – длина связи

Тип NMDA	G/G_{base}	N_m/N_b	B_b	$u, \text{Å}$
NR1-NR2B	1,00	1	2	1,84
NR1-NR2A	1,83	1	1	1,98
NR1-NR2A-NR2B	2,57	1	3	1,96

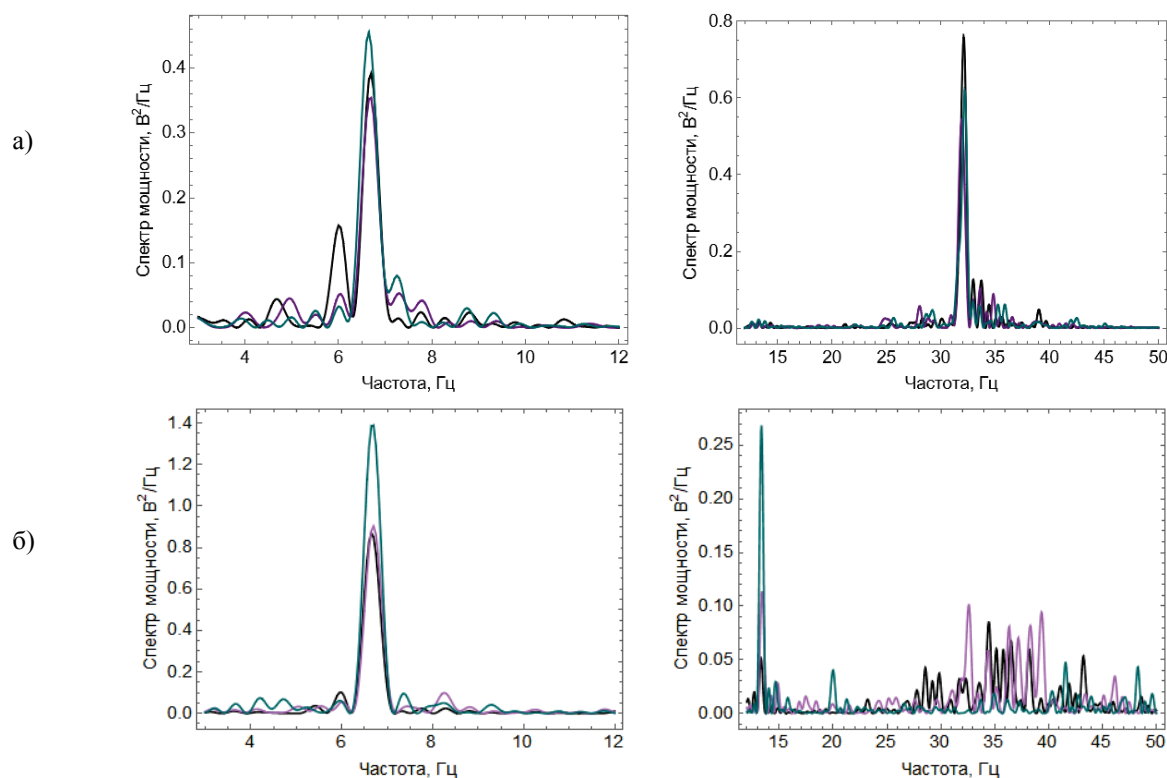


Рисунок 2. Частотный спектр осцилляций θ и γ -ритмов для NR1A/NR2A (фиолетовый), NR1A/NR2A/NR2B (зеленый) и NR1A/NR2B (черный): а) при воздействии модулятора Ro 25-6981 и кетамина; б) при воздействии только модулятора Ro 25-6981

Рассмотренный в работе подход позволяет количественно связать биофизические характеристики синаптических рецепторов с макроскопическими величинами, отражающими активность нейронных сетей. Благодаря этому методу можно оценить эффекты субклеточных изменений в нейронах на функционирование различных областей мозга. Проведенные ранее исследования [15] показали влияние мутационных изменений в структуре рецептора на процесс активации ионного канала NMDA. Полученные характеристики структур с мутациями имеют согласие с экспериментальными показателями.

Список литературы / References:

1. Vyklicky V., Korinek M., Smejkalova T., Balik A., Krausova B., Kaniakova M., Lichnerova K., Cerny J., Krusek J., Dittert I., Horak M., Vyklicky L. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiol. Res.*, 2014, vol. 63, suppl. 1, pp. S191-203, doi: 10.33549/physiolres.932678.
2. Wang C.C. et al. A critical role for GluN2B-containing NMDA receptors in cortical development and function. *Neuron*, 2011, vol. 72, pp. 789-805, doi: 10.1016/j.neuron.2011.09.023.
3. Kumar A. NMDA Receptor Function During Senescence: Implication on Cognitive Performance. *Front. Neurosci.*, 2015, doi: 10.3389/fnins.2015.00473.
4. Blanke M.L., VanDongen A.M.J. Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. *Biology of the NMDA Receptor*. CRC Press, 2009, chapter 13.
5. Myers J.S., Yuan H., Kang J.-Q., Tan F.Ch.K. Distinct roles of GRIN2A and GRIN2B variants in neurological conditions. *F1000Res.*, 2019, vol. 8, doi: 10.12688/f1000research.18949.1.
6. Wang H. et al. Gating mechanism and a modulatory niche of human GluN1-GluN2A NMDA receptors. *Neuron*, 2021, vol. 109, pp. 2443-2456, doi: 10.1016/j.neuron.2021.05.031.
7. Monaghan D.T. et al. Pharmacological Modulation of NMDA Receptor Activity and the Advent of Negative and Positive Allosteric Modulators. *Neurochem. Int.*, 2012, vol. 61, no. 4, pp. 581-592, doi: 10.1016/j.neuint.2012.01.004.
8. Neymotin S.A. et al. Ketamine disrupts theta modulation of gamma in a computer model of hippocampus. *J. Neurosci.*, 2011, vol. 31, pp. 11733-11743, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0501-11.2011.
9. Saudargiene A., Cobb S., Graham B.P. A computational study on plasticity during theta cycles at Schaffer collateral synapses on CA1 pyramidal cells in the hippocampus. *Hippocampus*, 2015, vol. 25, no. 2, pp. 208-218, doi: 10.1002/hipo.22365.
10. Cutsuridis V., Cobb S., Graham B.P. Encoding and Retrieval in a Model of the Hippocampal CA1 Microcircuit. *Hippocampus*, 2010, vol. 20, pp. 423-446, doi: 10.1002/hipo.20661.
11. Hines M.L., Carnevale N.T. The NEURON simulation environment. *Neural Comput.*, 1997, vol. 9, pp. 1179-1209, doi: 10.1162/neco.1997.9.6.1179.
12. Hong L.E. et al. Gamma and delta neural oscillations and association with clinical symptoms under subanesthetic ketamine. *Neuropsychopharmacology*, 2010, vol. 35, pp. 632-640.

13. Smart O.S., Neduvelil J.G., Wang X., Wallace B.A., Sansom M.S. HOLE: A program for the analysis of the pore dimensions of ion channel structural models. *J. Molec. Graphics*, 1996, vol. 14, pp. 354-360, doi: 10.1016/S0263-7855(97)00009-X.

14. Аксенова С.В., Батова А.С., Бугай А.Н., Душанов Э.Б. Моделирование основных ритмов гиппокампа с различными типами рецепторов NMDA. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2021, т. 6, № 2, с. 55-56. [Aksenova S.V., Batova A.S., Bugay A.N., Dushanov E.B. Modeling of the main rhythms of the hippocampus with different types of NMDA receptors. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2021, vol. 6, no. 2, pp. 55-56. (In Russ.)]

15. Batova A.S., Bugay A.N., Dushanov E.B. Effect of mutant NMDA receptors on oscillations in a model of Hippocampus. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 2019, vol. 17, no. 01, doi: 10.1142/S0219720019400031.

EFFECTS OF MODULATORS TO THE ACTIVATION OF NMDA RECEPTORS

Aksenova S.V., Batova A.S., Bugay A.N., Dushanov E.B.

Joint Institute for Nuclear Research

Joliot Curie str., 6, Dubna, 141980, Russia; e-mail: kgyr@mail.ru

Received 25.07.2022. DOI: 10.20930/rusjbpс.2022.0537

Abstract. In this paper, we have proposed a model approach for analyzing the properties of hippocampal neural networks with different types of NMDA receptors: GluN1/GluN2A, GluN1/GluN2B, GluN1/GluN2A/GluN2B. Molecular dynamics modeling of the activation of the ion channel of NMDA receptors modified by the action of allosteric modulators was carried out. The study of the network activity of neurons with a modified structure of NMDA receptors was carried out in models of neural networks in the CA1 and CA3 regions of the hippocampus. As a result of studying the properties of the neural network of the hippocampus with a modified structure of NMDA receptors, the electrophysiological characteristics of the neural network model were obtained depending on the structure of the ion channel of the NMDA receptor. Based on the analysis of changes in the conductivities of the ion channel and the binding of magnesium ions, differences in the amplitude of the theta and gamma frequency ranges in neural networks with different model structures of NMDA receptors were revealed. Analysis of the network activity of neurons with different types of NMDA revealed minor changes in the ion channel conductance and local potential depending on the subunits that make up the receptor and the type of modulator. Under the influence of Ro 25-6981 and ketamine for the diheteromeric model of the GluN1/GluN2A NMDA receptor, a decrease in the amplitude of the theta-frequency ranges and an increase in the gamma-frequency ranges were observed in comparison with the native forms of the receptor. For the GluN1/GluN2A/GluN2B trigger heteromer, there is an increase in theta frequency and a decrease in the gamma frequency compared to GluN1/GluN2B. In the absence of ketamine, for the GluN1/GluN2A and GluN1/GluN2A/GluN2B NMDA receptor models, an increase in the amplitude of theta-frequency and gamma-frequency ranges was observed compared to the native forms of the NMDA receptor.

Key words: hippocampus, NMDA receptor, Alzheimer's disease, molecular dynamics, neural network.