СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА, УПРАВЛЯЮЩАЯ КОНУСОМ РОСТА АКСОНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ПОЛЕМ

SIGNAL SYSTEM CONTROLLING THE AXON GROWTH CONE UNDER EXPOSURE TO AN ELECTRIC FIELD

УДК 577.359

DOI: 10.24411/2658-4964-2021-10332

Рамазанова И.Ф., Студент 2 курс, кафедра «Медицинская физика», Институт физики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, г. Казань
Котов Н.В., доктор физ.-мат. наук, профессор, кафедра «Медицинская физика» Институт физики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, г. Казань

Ramazanova I.F., 2nd year student, Department of Medical Physics, Institute of Physics, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia, Kazan
Kotov N.V., Doctor of Phys.-Math. Sci., Professor, Department of Medical Physics Institute of Physics, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia, Kazan

Аннотация: Направление развития конуса роста аксона (КРА) определяется сигнальной системой, принцип работы которой до сих пор остается неясен. В целом считается, что физические и химические факторы во внеклеточной среде играют важную роль в определении направления роста нейритов. Одним из видов физических факторов, определяющих направление КРА, является наличие в ткани слабых внеклеточных электрических полей. Причем исследования показывают, что рост нейритов в экспериментах был направлен к катоду. Мы

попытались объяснить результаты экспериментов на основе анализа внутриклеточных процессов.

Annotation: The direction of development of the axon growth cone (AGC) is determined by the signaling system, the principle of which is still unclear. In general, physical and chemical factors in the extracellular environment are believed to play an important role in determining the direction of neurite growth. One of the types of physical factors that determine the direction of AGC is the presence of weak extracellular electric fields in the tissue. Moreover, studies show that the growth of neurites in the experiments was directed to the cathode. We tried to explain the experimental results based on the analysis of intracellular processes.

Ключевые слова: нейрон, сигнальная система, моделирование, конус роста аксона, филоподия.

Key words: neuron, signal system, modeling, axon growth cone, filopodia.

Введение

КРА – утолщение неправильной конусообразной формы, находящееся на конце развивающегося аксона нервной клетки. Когда происходит развитие КРА, в первую очередь формируются филоподии – тонкие цилиндрические выросты диаметром приблизительно 0.1-3 мкм и длиной до 10-50 мкм, а также широкие пластинки – ламеллиподии [1]. Как ламеллиподии, так и филоподии богаты актиновыми филаментами и веществами, стимулирующими и ингибирующими их полимеризацию. При развитии КРА актиновые филаменты, находящиеся внутри филоподий, начинают образовывать комплекс с микротрубочками, что впоследствии приводит к их стабилизации по направлению роста [2, 3]. В то же время КРА разрушается в области, где дегенерируют филоподии за счёт разборки актиновых филаментов. Кальций, протеинкиназы и другие внутриклеточные вторичные посредники управляют активностью белков, блокирующих или способствующих полимеризации актина [4]. Это может происходить при фосфорилировании или дефосфорилировании определенных эффекторных белков [5], которое осуществляется сложным модулем, состоящим

из нескольких протеинов (протеинкиназ, фосфатаз, их активаторов и ингибиторов и т.д.).

Фосфорилирование эффекторных белков обычно происходит по специфическим аминокислотным остаткам: чаще всего это серин, треонин или тиразин. Но в редких случаях возможно фосфорилирование и других аминокислотных остатков (например, гистидин, аргинин, аспартат) [6].

В это же время происходит обратный процесс дефосфорилирования белков, который, в свою очередь, также катализируется специальными биологическими молекулами.

Фосфорилирование и дефосфорилирование белков являются важными регулирующими механизмами, которые присутствуют во всех видах клеток (причём как в прокариотических, так и в эукариотических). Оба этих процесса – широко используемый клетками приём для изменения свойств самых разнообразных белков [7].

Влияние электрического поля на конус роста аксона

Внеклеточное электрическое поле (ЭП) может влиять на процессы, происходящие в клетках [8].

В. Бедлак в 1992 году провел серию экспериментов, в которых исследовал влияние ЭП на направления КРА. В результате проведенных исследований выяснилось, что при отсутствии внешнего ЭП микровыросты начинают расти хаотично, при влиянии ЭП напряженностью 0.6 мВ/мкм, в течение 5 минут филоподии КРА начинают расти в сторону катода и разрушаться со стороны анода. При влиянии ЭП в течение 30 минут этот эффект усиливается, приводя к увеличению филоподий, растущих к области катода.

Для того чтобы объяснить результаты экспериментов, требовалось понять, каков же механизм влияния ЭП на направление развития КРА. Можно показать, что разность потенциалов на цитоплазматической мембране (U) будет падать по мере приближения от анода (А) к катоду (К), рисунок 1.

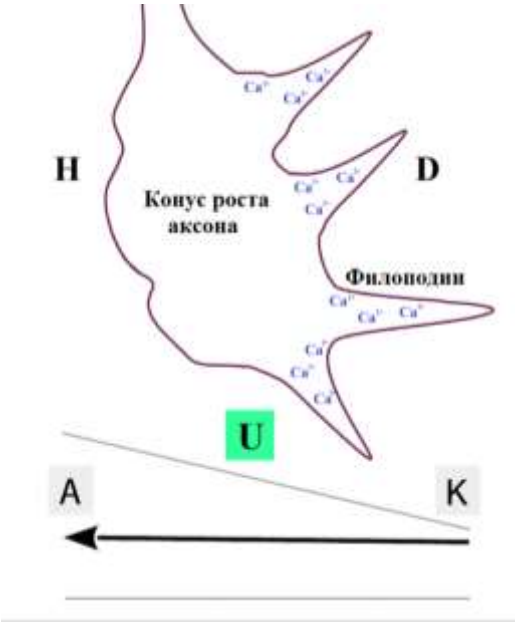

Рисунок 1. Конус роста в электрическом поле. Слева K означает катод, справа A – анод, U – разность потенциалов на цитоплазматической мембране, H – гиперполяризация, D – деполяризация

На цитоплазматической мембране нервной клетки разность потенциалов порядка -70 мВ. За счет высокого сопротивления цитоплазматической мембраны через саму клетку будет течь очень маленький ток, и поэтому всю цитоплазму клетки можно считать эквипотенциальной. При этом разность потенциалов U между цитоплазмой клетки и наружной средой со стороны К будет ниже, чем между цитоплазмой клетки и наружной средой со стороны А. При градиенте потенциала 0.6 мВ/мкм на расстоянии в 50 мкм потенциал будет изменяться на 30 мВ. Со стороны катода трансмембранная потенциалов будет -55 мВ, а со стороны анода –85 мВ. Со стороны катода будет происходить деполяризация, а в области А (ввиду наличия большой разности потенциалов) образуется область гиперполяризации [8].

В мембране филоподий есть потенциал-зависимые кальциевые каналы [9], у которых при гиперполяризации уменьшается среднее время жизни в открытом состоянии [10] и, соответственно, уменьшается величина входящего кальциевого тока, что приводит к уменьшению стационарной концентрации кальция. На катодной стороне КРА, наоборот, время жизни кальциевых каналов в открытом состоянии будет увеличиваться, что приводит к росту кальциевого тока в

филоподии и соответственно к росту стационарной концентрации кальция в них. Как уменьшение, так и увеличение концентрации кальция внутри филоподии запускает работу сигнальной системы филоподий, управляющей их направлением роста.

Сигнальная система филоподий конуса роста аксона

Для того чтобы понять, каков механизм управления КРА, требуется понять механизм процессов, протекающих в нем.

Как мы уже говорили при действии ЭП в филоподиях, расположенных со стороны катода, увеличивается концентрация кальция. Во всех нервных клетках есть кальций, связывающий белок – кальмодулин – и несколько кальций-кальмодулин зависимых ионных каналов и ферментов. У кальмодулина (CaM) есть четыре центра связывания кальция (CaM_4) [11, 27]. При изменении концентрации кальция в зависимости от того, какова концентрация кальмодулина, связавших определенное количество ионов кальция, активируются различные белки. При росте концентрации кальция происходит инактивация аденилатциклазы (AC) и активации фосфодиэстеразы 1 (PDE1) [12], и как результат это приводит к падению концентрации циклического аденозин монофосфата (cAMP). Это в свою очередь приведет к снижению активности протеинкиназы А (PKA), которая фосфорилирует ингибитор 1 (I1) [13]. Фосфорилированная форма I1 блокирует дефосфорилирующее действие фосфатазы 1 (PP1). Следовательно, центры T286 и T305 кальций-кальмодулин зависимой протеинкиназы II (CaMKII) остаются недефосфорилированными так же, как и вазодилататор-стимулированный белок (VASP). В то же время высокая концентрация кальция и фосфорилирование центров T286 и T306 у CaMKII вызывают ее активацию, что может привести к фосфорилированию белка VASP и сборке актиновых филаментов.

Известно, что VASP является субстратом cAMP-зависимых и гуанизин монофосфат (cGMP)-зависимых протеинкиназ, которые в основном фосфорилируют центры S157 и S239 соответственно. Фосфорилирование на S157 способствует локализации VASP около актиновых филаментов, но

оказывает незначительное влияние на их сборку. Однако, фосфорилирование VASP на S239 нарушает VASP-управляемое образование актиновых филаментов [14].

При активации PDE1 в то же время разрушается cGMP, который активирует протеинкиназу G (PKG) и фосфодиэстеразу 2 (PDE2) [15], разрушающую cAMP. В то же время известно, что при увеличении концентрации кальция в филоподиях увеличивается активность CaM_4-зависимой нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) [16], которая синтезирует оксид азота (NO), что приводит к активации циклической гуанилатциклазы (sGC). sGC способствует увеличению концентрации cGMP и активации PKG, которая фосфорилирует I1.

Существуют белки, которые способствуют сборке актиновых филаментов непосредственно при увеличении концентрации кальция, например, белок гельзолин [17]. Комплекс гельзолин-кальций связывается с предпочтительным концом ранее существовавших филаментов, и, как следствие, концентрация равновесного мономера возрастает. Это облегчает самопроизвольное зародышеобразование актина. Такие ядра имеют более высокое сродство к актину, чем исходные нити, которые блокируются на предпочтительном конце гельзолином, и поэтому могут эффективно способствовать перераспределению актина. Этот комплекс также увеличивает количество актиновых филаментов. Оказывающее благоприятное воздействие на полимеризацию актиновых филаментов влияние гельзолина также было описано в статье Э. Дента [18].

Уменьшение стационарной концентрации кальция также приводит к активации кальмодулином AC и, как следствие, к росту концентрации cAMP [19-22]. cAMP активизирует PKA.

При низкой концентрации кальция в области анода также активизируется кальцинейрин (CaN) [23], который дефосфорилирует I1, вызывая тем самым его дезактивацию. В дальнейшем PP1 дефосфорилирует белок VASP.

В работе Р. Гасперини [24] говорится о положительном влиянии ГТФазы (Cdc-42 GTPase) на рост филоподий KPA при увеличении концентрации кальция.

Схема сигнальной системы, управляющей филоподиями КРА, представлена на рисунке 2.

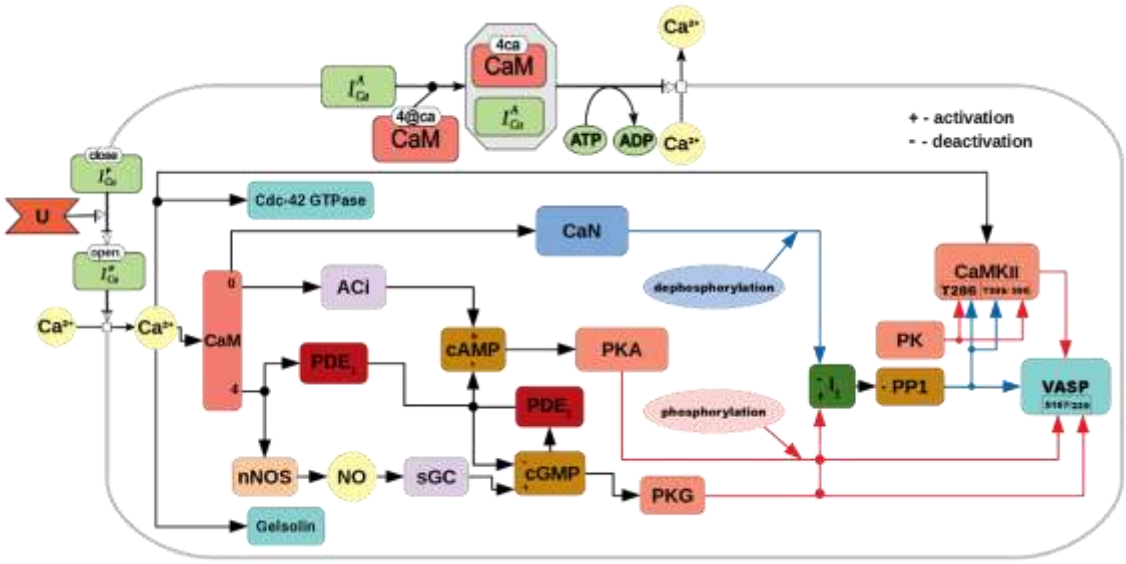

Рисунок 2. Схема сигнальной системы филоподии КРА

В филоподии действует активный транспорт – так называемые кальциевые помпы, находящиеся в клеточной мембране, которые удаляют кальций из него. Существует также пассивное проникновение ионов кальция через мембрану против градиента электрохимического потенциала и диффузионный ток, направленный вдоль всего микровыроста КРА [25].

Показанное на схеме изменение разности потенциалов U приводит к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов пассивного транспорта I_{Ca}^{P}, что в дальнейшем способствует увеличению его концентрации внутри микровыроста. В свою очередь взаимодействующие с CaM_4 каналы активного транспорта кальция I_{Ca}^{A} благодаря энергии гидролиза аденазинтрифосфата (ATP) в аденазиндифосфат (ADP) способствуют выведению (откачке) кальция из клетки. В нашей модели мы предполагаем, что вследствие уменьшения времени жизни кальциевого канала в открытом состоянии [10] в области гиперполяризации мембраны уменьшается интенсивность входящего кальциевого тока на анодной стороне филоподий КРА, что приводит к запуску сигнальной системы, блокирующей сборку актиновых филаментов и приводящей к деградации микровыростов в этой области.

На стороне КРА, обращенной к катоду, запускаемая сигнальная система, напротив, способствует полимеризации актиновых филаментов и дальнейшему росту филоподий в этой области.

Но безответным остается вопрос отсутствия дальнейшего разрушения ламеллиподий КРА нервной клетки при начавшемся разрушении ее микровыростов филоподий. Существует предположение насчет автономности филоподий относительной ламеллиподий. Из свойства автономности следует, что изменение концентрации стационарного кальция при изменении U будет происходить независимо у каждой филоподии. Что может объяснить полученные результаты экспериментов. Для подтверждения данной теории требовалось построить математическую модель, описывающую динамику концентрации кальция в микровыростах КРА.

Моделирование

Первоначально были сделаны следующие предположения. После увеличения концентрации кальция в КРА, возникшие при кальциевых осцилляциях, ионы кальция диффундируют в микровырост – филоподию. Распределение концентрации Ca^{2+} в филоподии можно рассмотреть на примере его распределения в узкой плоской щели (рис. 3). В дальнейшем мы будем пренебрегать градиентами концентрации Ca^{2+} по оси z и y.

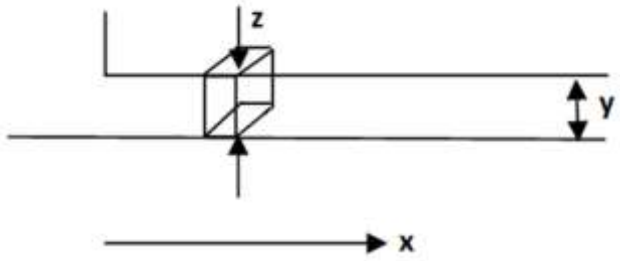

Рисунок 3. Распределение концентрации Ca^{2+} в узкой плоской щели

Для простоты в данной работе мы представили филоподию в виде цилиндра и перешли от трехмерной модели к рассмотрению одномерной модели [26] с изменением концентрации кальция только вдоль оси x (1):

$$V_i \cdot \frac{\partial [Ca_i^{2+}(x,t)]}{\partial t} = V_i \cdot D_{Ca} \cdot \frac{\partial^2 [Ca_i^{2+}(x,t)]}{\partial x^2} + S_i \cdot \alpha \cdot 2 \cdot J_{Ca}, \quad (1)$$

где $Ca_i^{2+}(x,t)$ – концентрация кальция в цитоплазме ($M \cdot л^{-1}$), D_{Ca} – константа диффузии для кальция, взаимодействующего с белком кальмодулином ($м^2 \cdot c^{-1}$), $\alpha < 1$ – коэффициент заполнения филоподии микрофиламентами, J_{Ca}– сумма кальциевых потоков активного (J_{act}) и пассивного транспорта (J_{pas}) ($M \cdot c^{-1} \cdot$ $мкм^{-2}$), V_i – цитоплазматичекий объем исследуемого участка (л), S_i – площадь поверхности цитоплазматической мембраны ($мкм^2$).

Примерный упрощенный схематический вид процессов, происходящих внутри КРА и его микровыроста на рисунке 4.

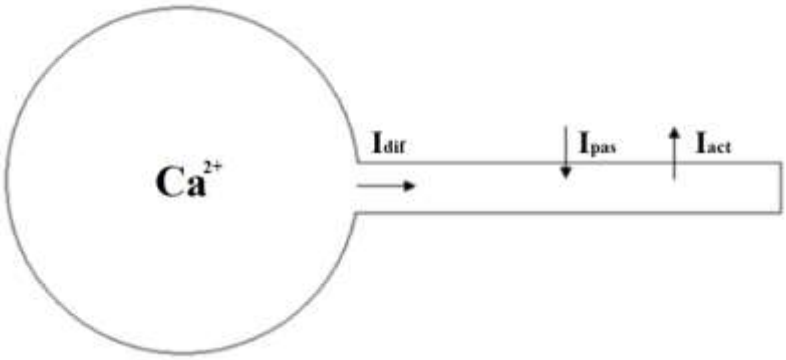

Рисунок 4. Схематическое изображение микровыроста филоподии и ламеллиподии КРА

Для перехода от потоков к токам используем уравнение Нернста-Планка, которое будет иметь следующий вид (2):

$$J = \frac{I}{z \cdot F}, \quad (2)$$

где F - константа Фарадея, z - валентность иона.

PMCA (Plasma membrane calcium channel) – это кальциевая АТФазная помпа плазменной мембраны, которая связывает один ион кальция за цикл и выталкивает его во внеклеточное пространство (используя энергию гидролиза АТФ), когда он связан с CaM с четырьмя ионами кальция. То есть, PMCA

способствует появлению кальциевого тока активного транспорта I_{act}, который можно определить при помощи уравнения (3):

$$I_{act} = N_{act} \cdot i_{act} \cdot \frac{CaM\left(\left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]\right)}{K_{CaM} + CaM\left(\left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]\right)} \cdot \frac{\left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]}{K_i + \left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]} \cdot \frac{K_{out}}{K_{out} + \left[Ca_{out}^{2+}(x,t)\right]}, \quad (3)$$

где N_{act} – число PMCA на единицу площади цитоплазматической мембраны (мкм$^{-2}$), i_{act} – усредненный по времени ток, проходящий через один активированный канал PMCA (Кл $\cdot$ с$^{-1}$), K_{CaM} – афинность кальмодулина с PMCA ($M \cdot л^{-1}$), K_i и K_{out} – константы равновесной диссоциации взаимодействия кальция внутреннего и внешнего соответственно с PMCA ($M \cdot л^{-1}$).

Активация CaM кальцием, в свою очередь, может быть представлена уравнением (4), так как для связывания с PMCA нужен именно активированный четырьмя ионами кальция кальмодулин.

$$CaM\left(\left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]\right) = \frac{[CaM0] \cdot \left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]^4}{\left(K_m + \left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]\right)^4}, \quad (4)$$

где $CaM0 -$ стационарная концентрация кальмодулина, K_m – константа Михаэлиса, характеризующая сродство кальмодулина для кальция.

Кальциевый ток пассивного транспорта I_{pas}, который можно определить при помощи уравнения (5):

$$I_{pas} = -N_{pas} \cdot g_{pas} \cdot \frac{R \cdot T}{F} \cdot \left(\psi_i - 0.5 \cdot ln\left(\frac{\left[Ca_{out}^{2+}(x,t)\right]}{\left[Ca_i^{2+}(x,t)\right]}\right)\right), \quad (5)$$

где N_{pas} – число кальциевых каналов в активном состоянии на единицу площади цитоплазматической мембраны (мкм$^{-2}$), g_{pas} – средняя проводимость одного кальциевого канала (Сим), R – универсальная газовая постоянная, T – температура, в которой находится клетка, F – константа Фарадея, ψ_i – цитоплазматический трансмембранный потенциал.

С целью упрощения за единицу концентрации была взята $K_m = 1$ мкМ $\cdot$ л$^{-1}$. В результате нормировки был сделан переход к следующим переменным:

$$ca_i^{2+}(x,t) = \frac{Ca_i^{2+}(x,t)}{K_m}, \qquad ca_{out}^{2+}(x,t) = \frac{Ca_{out}^{2+}(x,t)}{K_m}.$$

Все константы Михаэлиса также были ортонормированы на K_m. Следует отметить, что K_{CaM} перед нормировкой делится на стационарную концентрацию CaM0.

Получаем конечную нормированную систему уравнений, описывающую динамику кальция в микровырасте КРА (6):

$$\frac{\partial\left(ca_i^{2+}(x,t)\right)}{\partial t} = D_{Ca}\cdot\frac{\partial^2\left(ca_i^{2+}(x,t)\right)}{\partial x^2} + a_1\cdot\left(\psi_i - 0.5\cdot ln\left(\frac{ca_i^{2+}(x,t)}{ca_i^{2+}(x,t)}\right)\right) - a_2\cdot\frac{CaM\left(ca_i^{2+}(x,t)\right)}{k_{CaM}+CaM\left(ca_i^{2+}(x,t)\right)}\cdot\frac{\left(ca_i^{2+}(x,t)\right)}{k_i+\left(ca_i^{2+}(x,t)\right)} \quad (6)$$

$$a_1 = j_{pas}^{norm} = -\frac{\mathrm{S_i}\cdot\mathrm{N_{pas}}\cdot\mathrm{g_{pas}}\cdot\mathrm{R}\cdot\mathrm{T}}{\mathrm{z}\cdot\mathrm{F}^2\cdot\mathrm{V_i}\cdot\mathrm{K_m}}$$

$$\mathrm{a_2} = \mathrm{j_{act}^{norm}} = \frac{\mathrm{S_i}\cdot\mathrm{N_{act}}\cdot\mathrm{i_{act}}}{\mathrm{z}\cdot\mathrm{F}\cdot\mathrm{V_i}\cdot\mathrm{K_m}}\cdot\frac{\mathrm{k_{out}}}{\mathrm{k_{out}}+\left(\mathrm{ca_{out}^{2+}(x,t)}\right)}.$$

Численное решение дифференциального уравнения

Для определения основной части значений параметров были использованы экспериментальные и модельные данные из научных работ [27, 28-30]. При выборе константы диффузии для кальция $\mathrm{D_{Ca}}$ учитывалось то, что кальций связывается с белком кальмодулином, что приводит к замедлению протекания диффузионного распространения кальция. Также для упрощения модели мы представили отросток в форме цилиндра. Значения основных констант модели представлены в Таблице 1.

Таблица 1.

Значения для основных констант математической модели

Параметр	Значение	Параметр	Значение

$ca_i^{2+}(x,t)$	0.05 – 3.3	k_m	1
$ca_{out}^{2+}(x,t)$	10^3	k_{CaM}	0.003
D_{Ca}	50 $с^{-1} \cdot мкм^2$	k_i	0.4
j_{pas}^{norm}	0.24 $с^{-1}$	R	8.31 $Дж \cdot М^{-1} \cdot К^{-1}$
ψ_i	-70 мВ	F	96480 $Кл \cdot М^{-1}$
j_{act}^{norm}	80 $с^{-1}$	T	310 К
S_i	$3.14 \cdot 10^{-12}$ $м^2$	g_{pas}	44 Сим
V_i	$0.0785 \cdot 10^{-15}$ л	$z(Ca^{2+})$	2

Все вычисления были выполнены с помощью математического пакета Mathcad15. С помощью дифференциального уравнения (6), зависящего от времени t и координаты x, была найдена зависимость концентрации кальция от расстояния.

Перейдём теперь к анализу нашей математической модели. В результате вычислений был получен график зависимости концентрации кальция в цитоплазме филоподии КРА от расстояния. Концентрация кальция менялась в диапазоне примерно от 0 до 1 мкМ, а диапазон распространения был в пределах от 0 до 10 мкм (т.е. расстояние от ламеллиподии КРА до конца микровыроста филоподии).

Как видно из графика, представленном на рисунке 3, при разных значениях концентрации кальция, которые мы задаем для ламеллиподии, с увеличением расстояния и приближением к концу филоподии концентрация кальция экспоненциально стремится к стационарному значению, который был в ламеллиподии изначально. То есть, исходя из данной модели, кальций в ламеллиподии КРА перестает влиять на кальций в тонких микровыростах, что позволяет в контексте кальциевой сигнализации рассматривать филоподии отдельно от ламеллиподий, т.е. речь идет уже об автономии филоподий относительно ламеллиподий КРА.

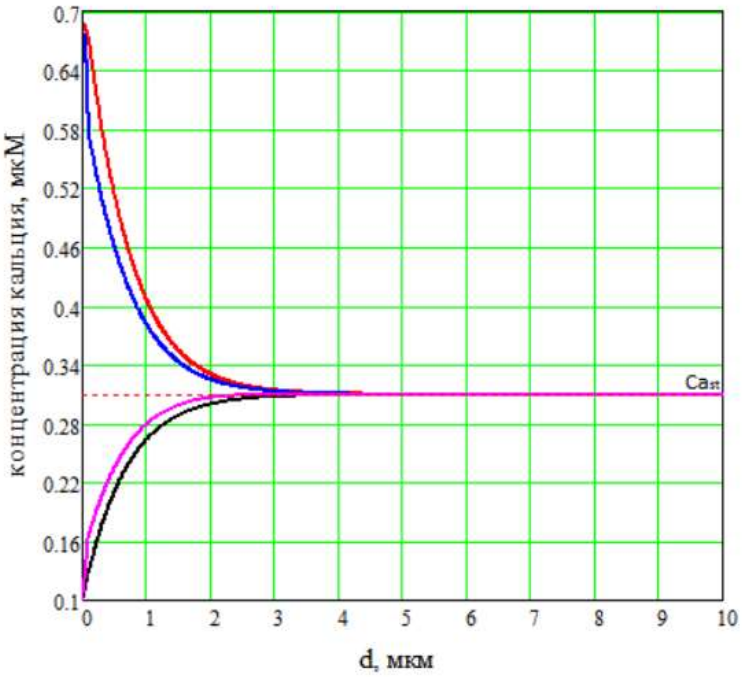

Рисунок 5. Распределение концентрации кальция в тонком микровырасте – филоподии. Разные цвета графиков соответствуют концентрациям кальция в разные моменты времени: красный – 1.33 секунды; синий – 1.245 секунды; розовый – 0.0008 секунды; черный – 0.1 секунды. Ca_{st} = 0.31 мкМ – стационарная концентрация кальция

Стационарное значение концентрации кальция было найдено в MathCad15 путем вычисления ранее полученного дифференциального уравнения (6), описывающего динамику кальция в отростке, с учетом (7) того, что:

$$\frac{\partial\left(ca_i^{2+}(x)\right)}{\partial t} = 0$$
$$\frac{\partial^2\left(ca_i^{2+}(x)\right)}{\partial x^2} = 0. \qquad (7)$$

Следовательно выполнится (8):

$$j_{pas}^{norm} \cdot \left(\psi_i - 0.5 \cdot \ln\left(\frac{ca_{out}^{2+}(x)}{ca_i^{2+}(x)}\right)\right) - j_{act}^{norm} \cdot \frac{CaM\left(ca_i^{2+}(x)\right)}{k_{CaM} + CaM\left(ca_i^{2+}(x)\right)} \cdot \qquad (8)$$

$$\cdot \frac{\left(ca_i^{2+}(x)\right)}{k_i + \left(ca_i^{2+}(x)\right)} = 0.$$

В этом случае стационарная концентрация кальция в филоподии будет определяться разностью двух токов: пассивным током через потенциал-зависимые кальциевые канал и током активной откачки кальция из филоподии.

Таким образом, получилось, что значение стационарной концентрации кальция Ca_{st} = 0.31 мкМ.

Также на графике можно видеть динамику кальция в разные моменты времени. Граничные условия были подобраны таким образом, что при времени t < 0.1 с концентрация кальция равна примерно 0.1 мкМ, а при t > 0.1, концентрация кальция примерно равна 0.69 мкМ. И, как видно из графиков, при резком изменении концентрации кальция в 7 раз система не успевает моментально среагировать и перераспределить кальций (синий график), но когда время стремится к 1.33 секунды, кальций начинает все более равномерно распределяться и это распределение достигает предельного значения (красный график). Т.е. при 2, 3, 4 и т.д. секундах распределение кальция не будет превышать порогового значения, которое было достигнуто при 1.33 секунды. То же самое и относится к распределению концентрации кальция, которое было ниже стационарного (черный и розовый графики).

Обсуждение

Число каналов активного и пассивного транспорта, объем и площадь поверхности цитоплазматической мембраны филоподии, константы Михаэлиса, уровни кальций кальмодулин зависимых активностей ферментов и ионных каналов нами были оценены теоретически. Наши теоретические оценки не выходят за рамки физиологических значений. То есть, они дают действительное описание процессов, происходящих внутри КРА в целом и филоподии в частности.

Мы предполагаем, что механизм управления КРА с помощью электрического поля обусловлен тем, что в филоподиях, направленных в сторону катода при

деполяризации, происходит увеличение времени жизни кальциевых каналов в открытом состоянии и, как следствие, это приводит к увеличению стационарной концентрации кальция, которая индуцирует активацию сигнальной системы, представленной в виде схемы в данной работе, приводящей к сборке, а со стороны анода при уменьшении концентрации кальция – к разборке цитоскелета. Что, собственно, с нашей точки зрения, и определяет поворот КРА в сторону катода. Эксперименты, проведенные при влиянии ЭП на нейронную клетку, доказывают наличие такой сигнальной системы у КРА.

Разборка цитоскелета происходит независимо у каждой филоподии, что и объясняет отсутствие разрушения ламеллиподий КРА с анодной стороны при начавшемся разрушении филоподий. Данная гипотеза была доказана с помощью математической модели, описывающей динамику концентрации кальция в микровыросте КРА.

Список литературы

1. Gallo G., Regulation of Growth Cone Actin Filaments by Guidance Cues [Text] / G. Gallo, P. Letourneau, C. Paul // Journal of Neurobiology. — 2004. — Vol. 58, No. 1. — P. 92-102.
2. Gordon-Weeks P., Microtubules and Growth Cone Function [Text] / P. Gordon-Weeks, R. Phillip // Journal of Neurobiology. — 2004. — Vol. 58, No.. — P. 70-83.
3. Gasperini R., Homer regulates calcium signalling in growth cone turning [Text] / R. Gasperini, D. Choi-Lundberg, M. Thompson, C. Mitchell, L. Foa // Neural Development. —2009. —Vol. 4. —No. 29.— P. 1-18.
4. Berridge M., Inositol trisphosphate and calcium signalling [Text] / M. Berridge // Nature. —1993. —Vol. 361, No. 6410. — P. 315-325.
5. Arena S., Genetic analysis of the kinome and phosphatome in cancer [Text] / S. Arena, S. Benvenuti, A. Bardelli // Cellular and Molecular Life Sciences. — 2005. —Vol. 62, No. 18. — P. 2092-2099.

6. Arena S., Genetic analysis of the kinome and phosphatome in cancer [Text] / S. Arena, S. Benvenuti, A. Bardelli // Cellular and Molecular Life Sciences. — 2005. —P. 2092–2099.
7. Филиппов П.П., Как внешние сигналы передаются внутрь клетки // Соросовский образовательный журнал, 1998, №3, с. 28-34.
8. Patel N., Orientation of neurite growth by extracellular electric fields [Text] / N. Patel, M. Poo // The Journal of neuroscience. —1982. —Vol. 2, No. 4. — P. 483-496.
9. Bedlack R., Localized Membrane Depolarizations and localized Calcium Influx during Electric Field-Guided Neurite Growth [Text] / R. Bedlack, M.-d. Wei, L. Loew // Neuron. —1992. —Vol. 9.— P. 393-403.
10. Зинченко В.П. Внутриклеточная сигнализация / Зинченко В.П., Долгачева В.П. – Пущино: Изд-во Аналитическая микроскопия, 2003.
11. Fernandes I., Calcium-induced calmodulin conformational change. Electrochemical evaluation [Text] / I. Fernandes, A. Oliveira-Brett // Bioelectrochemistry. —2017. —Vol. 113. — P. 69–78.
12. McQuown S., Phosphodiesterase 1b (PDE1B) Regulates Spatial and Contextual Memory in Hippocampus [Text] / S. McQuown, S. Xia, K. Baumgartel, R. Barido, G. Anderson, B. Dyck, R. Scott, M. Peters // Frontiers in Molecular Neuroscience.—2019. —Vol. 12. —No. 21.
13. Sutherland D., The interdependent roles of Ca2+ and cAMP in axon guidance [Text] / D. Sutherland, G. Goodhill // Developmental Neurobiology.—2015. —Vol. 75. —No. 4. —P. 402–410.
14. Drees F., Ena/VASP: proteins at the tip of the nervous system [Text] / F. Drees, F. Gertler, // Current opinion in Neurobiology. — 2008. —Vol. 18. —No. 1. —P. 53-59.
15. Яковлев А.В., Учебное пособие. Аденилатциклазная и гуанилатциклазная системы внутриклеточных вторичных посредников. /Яковлев А.В., Яковлева О.В., Ситдикова Г.Ф. – Казань: Изд-во КГУ, 2009.

16. Piazza M., Dynamics of Nitric Oxide Synthase Calmodulin Interactions at Physiological Calcium Concentrations [Text] / M. Piazza, G. Guillemette, T. Dieckmann // Biochemistry. — 2015. —Vol. 54. —No. 11. —P. 1989-2000.
17. Welshhans K., Nitric oxide regulates growth cone filopodial dynamics via ryanodine receptor-mediated calcium release [Text] / K. Welshhans, V. Rehder // European Journal of Neuroscience. — 2007. — Vol. 26, No. 6. — P. 1537-1547.
18. Dent W., The Growth Cone Cytoskeleton in Axon Outgrowth and Guidance [Text] / W. Dent, S. Gupton, F. Gertler // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. — 2011. — Vol. 3, No. 3.
19. Averaimo S., Intermingled cAMP, cGMP and calcium spatiotemporal dynamics in developing neuronal circuits [Text] / S. Averaimo, X. Nicol // Frontiers in Cellular Neuroscience. —2012. —Vol. 8. — P. 376.
20. Nicol X., Routes to cAMP: Shaping neuronal connectivity with distinct adenylate cyclases [Text] / X. Nicol, P. Gaspar // European Journal of Neuroscience. — 2014. —Vol. 39, No. 11, . — P. 1742-1751.
21. Wang H., The role of Ca^{2+}-stimulated adenylyl cyclases in bidirectional synaptic plasticity and brain function [Text] / H. Wang, M. Zhang // Reviews in the neurosciences. —2012. —Vol. 23, No. 1. — P. 67-78.
22. Masada N., Distinct Mechanisms of Regulation by Ca2+/Calmodulin of Type 1 and 8 Adenylyl Cyclases Support Their Different Physiological Roles [Text] / N. Masada, A. Ciruela, D. MacDougall, D. Cooper // THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. —2009. —Vol. 284. —No. 7.— P. 4451-4463.
23. Wagenen S., Regulation of Neuronal Growth Cone Filopodia by Nitric Oxide Depends on Soluble Guanylyl Cyclase [Text] / S. Wagenen, V. Rehder // Journal of Neurobiology. —2001. —Vol.46. —No.3.— P.206– 219.
24. Gasperini R., How does calcium interact with the cytoskeleton to regulate growth cone motility during axon pathfinding [Text] / R. Gasperini, M. Pavez, A. Thompson, C. Mitchell, H. Hardy, K. Young, J. Chilton, L. Foa // Molecular and Cellular Neurosciences. —2017. —Vol. 84. — P. 29-35.

25. Березин И.В. Биокинетика / Березин И.В., Варфоломеев С.Д. – Москва: Изд-во Наука, 1979.
26. Sneyd J., Mechanisms of calcium oscillations and waves: a quantitative analysis [Text] / J. Sneyd, J. Keyzer, M. Sanderson // Faseb Journal. —1995. —Vol. 9. — No. 5.— P. 1463-1472.
27. Valeyev N., Multiple calcium binding sites make calmodulin multifunctional [Text] / N. Valeyev, P. Heslop-Harrison, I. Postlethwaite, N. Kotov, D. Bates// Molecular BioSystems. —2008. —Vol. 4. —No. 1.— P. 1-100.
28. Fall C., Voltage Gated Ionic Currents [Text] / C. Fall, J. Keizer // Computational Cell Biology. Interdisciplinary Applied Mathematics.—2002. —Vol. 20. — P. 21-52. 28
29. Sherman A., Whole-Cell Models [Text] / A. Sherman, Y-X. Li, J. Keizer // Computational Cell Biology. Interdisciplinary Applied Mathematics.—2002. —Vol. 20. — P. 101-139.
30. Ventura A., A Model-Independent Algorithm to Derive Ca2+ Fluxes Underlying Local Cytosolic Ca2+ Transients [Text] / A. Ventura, L. Bruno, A. Demuro, I. Parker, S. Dawson// Biophysical Journal.—2005. —Vol. 88. — P. 2403-2421.

List of references

1. Gallo G., Regulation of Growth Cone Actin Filaments by Guidance Cues [Text] / G. Gallo, P. Letourneau, C. Paul // Journal of Neurobiology. - 2004. - Vol. 58, No. 1. - P. 92-102.
2. Gordon-Weeks P., Microtubules and Growth Cone Function [Text] / P. Gordon-Weeks, R. Phillip // Journal of Neurobiology. - 2004. - Vol. 58, No .. - R. 70-83.
3. Gasperini R., Homer regulates calcium signaling in growth cone turning [Text] / R. Gasperini, D. Choi-Lundberg, M. Thompson, C. Mitchell, L. Foa // Neural Development. -2009. —Vol. 4. —No. 29. — P. 1-18.
4. Berridge M., Inositol trisphosphate and calcium signaling [Text] / M. Berridge // Nature. —1993. —Vol. 361, No. 6410. - P. 315-325.

5. Arena S., Genetic analysis of the kinome and phosphatome in cancer [Text] / S. Arena, S. Benvenuti, A. Bardelli // Cellular and Molecular Life Sciences. - 2005. —Vol. 62, No. 18. - P. 2092-2099.
6. Arena S., Genetic analysis of the kinome and phosphatome in cancer [Text] / S. Arena, S. Benvenuti, A. Bardelli // Cellular and Molecular Life Sciences. - 2005. —P. 2092-2099.
7. Filippov PP, How external signals are transmitted into the cell // Soros educational journal, 1998, no. 3, p. 28-34.
8. Patel N., Orientation of neurite growth by extracellular electric fields [Text] / N. Patel, M. Poo // The Journal of neuroscience. —1982. —Vol. 2, No. 4. - P. 483-496.
9. Bedlack R., Localized Membrane Depolarizations and localized Calcium Influx during Electric Field-Guided Neurite Growth [Text] / R. Bedlack, M.-d. Wei, L. Loew // Neuron. —1992. —Vol. 9. - P. 393-403.
10. Zinchenko V.P. Intracellular signaling / Zinchenko V.P., Dolgacheva V.P. - Pushchino: Publishing House of Analytical Microscopy, 2003.
11. Fernandes I., Calcium-induced calmodulin conformational change. Electrochemical evaluation [Text] / I. Fernandes, A. Oliveira-Brett // Bioelectrochemistry. -2017. —Vol. 113. - P. 69–78.
12. McQuown S., Phosphodiesterase 1b (PDE1B) Regulates Spatial and Contextual Memory in Hippocampus [Text] / S. McQuown, S. Xia, K. Baumgartel, R. Barido, G. Anderson, B. Dyck, R. Scott, M. Peters // Frontiers in Molecular Neuroscience. — 2019. —Vol. 12. —No. 21.
13. Sutherland D., The interdependent roles of Ca2 + and cAMP in axon guidance [Text] / D. Sutherland, G. Goodhill // Developmental Neurobiology. — 2015. — Vol. 75. —No. 4. —P. 402-410.
14. Drees F., Ena / VASP: proteins at the tip of the nervous system [Text] / F. Drees, F. Gertler, // Current opinion in Neurobiology. - 2008. —Vol. 18. —No. 1. —P. 53-59.

15. Yakovlev AV, Study guide. Adenylate cyclase and guanylate cyclase systems of intracellular secondary messengers. / Yakovlev A.V., Yakovleva O.V., Sitdikova G.F. - Kazan: Publishing house of KSU, 2009.
16. Piazza M., Dynamics of Nitric Oxide Synthase Calmodulin Interactions at Physiological Calcium Concentrations [Text] / M. Piazza, G. Guillemette, T. Dieckmann // Biochemistry. - 2015. —Vol. 54. —No. 11. —P. 1989-2000.
17. Welshhans K., Nitric oxide regulates growth cone filopodial dynamics via ryanodine receptor-mediated calcium release [Text] / K. Welshhans, V. Rehder // European Journal of Neuroscience. - 2007. - Vol. 26, No. 6. - P. 1537-1547.
18. Dent W., The Growth Cone Cytoskeleton in Axon Outgrowth and Guidance [Text] / W. Dent, S. Gupton, F. Gertler // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. - 2011. - Vol. 3, No. 3.
19. Averaimo S., Intermingled cAMP, cGMP and calcium spatiotemporal dynamics in developing neuronal circuits [Text] / S. Averaimo, X. Nicol // Frontiers in Cellular Neuroscience. —2012. —Vol. 8. - P. 376.
20. Nicol X., Routes to cAMP: Shaping neuronal connectivity with distinct adenylate cyclases [Text] / X. Nicol, P. Gaspar // European Journal of Neuroscience. - 2014. —Vol. 39, No. eleven, . - P. 1742-1751.
21. Wang H., The role of Ca^{2+}-stimulated adenylyl cyclases in bidirectional synaptic plasticity and brain function [Text] / H. Wang, M. Zhang // Reviews in the neurosciences. —2012. —Vol. 23, No. 1. - P. 67-78.
22. Masada N., Distinct Mechanisms of Regulation by Ca2 + / Calmodulin of Type 1 and 8 Adenylyl Cyclases Support Their Different Physiological Roles [Text] / N. Masada, A. Ciruela, D. MacDougall, D. Cooper // THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. -2009. —Vol. 284. —No. 7. - P. 4451-4463.
23. Wagenen S., Regulation of Neuronal Growth Cone Filopodia by Nitric Oxide Depends on Soluble Guanylyl Cyclase [Text] / S. Wagenen, V. Rehder // Journal of Neurobiology. -2001. —Vol. 46. —No.3.— P.206-219.
24. Gasperini R., How does calcium interact with the cytoskeleton to regulate growth cone motility during axon pathfinding [Text] / R. Gasperini, M. Pavez, A.

Thompson, C. Mitchell, H. Hardy, K. Young, J Chilton, L. Foa // Molecular and Cellular Neurosciences. -2017. —Vol. 84. - P. 29-35.

25. Berezin I.V. Biokinetics / Berezin I.V., Varfolomeev S.D. - Moscow: Publishing house Nauka, 1979.
26. Sneyd J., Mechanisms of calcium oscillations and waves: a quantitative analysis [Text] / J. Sneyd, J. Keyzer, M. Sanderson // Faseb Journal. —1995. —Vol. 9. — No. 5. - P. 1463-1472.
27. Valeyev N., Multiple calcium binding sites make calmodulin multifunctional [Text] / N. Valeyev, P. Heslop-Harrison, I. Postlethwaite, N. Kotov, D. Bates // Molecular BioSystems. - 2008. —Vol. 4. —No. 1.— P. 1-100.
28. Fall C., Voltage Gated Ionic Currents [Text] / C. Fall, J. Keizer // Computational Cell Biology. Interdisciplinary Applied Mathematics. 2002. —Vol. 20. - P. 21-52. 28
29. Sherman A., Whole-Cell Models [Text] / A. Sherman, Y-X. Li, J. Keizer // Computational Cell Biology. Interdisciplinary Applied Mathematics. 2002. — Vol. 20. - P. 101-139.
30. Ventura A., A Model-Independent Algorithm to Derive Ca2 + Fluxes Underlying Local Cytosolic Ca2 + Transients [Text] / A. Ventura, L. Bruno, A. Demuro, I. Parker, S. Dawson // Biophysical Journal. — 2005 ... —Vol. 88. - P. 2403-2421.