

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Mario Zelić

**Modeliranje funkcionalnih i morfoloških sastavnica sinapse,
neurona i neuronskih mreža**

Diplomski rad



Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad izrađen je na katedri Temelji neuroznanosti pod vodstvom doc. dr. sc. Dinka Smilovića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

Popis i objašnjenje kratica

AI – desinkronizirana nepravilna aktivnost

AMPA - alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoazolpropionat

A_{SE} - apsolutna sinaptička efikasnost

bAP – retrogradni akcijski potencijal

BCM - Bienenstock-Cooper-Munro

CA1 – cornu ammonis 1

CUBA – temeljena na struji

EEG - elektroencefalografija

EPSC – ekscitacijska postsinaptička jakost struje

EPSP – ekscitacijski postsinaptički potencijal

E-stanje – izvršno stanje

DP – snaga diferencijacije

fMRI – funkcionalna magnetska rezonanca

GAMA – gama-amino maslačna kiselina

GFP – zeleni fluorescentni protein

GHK – Goldman-Hodgkin-Katz

GUI – grafičko korisničko sučelje

IPSP – inhibicijski postsinaptički potencijal

ISI – intervali između šiljaka

I-stanje – neaktivno stanje

LTP – dugotrajna potencijacija

LTD – dugotrajna depresija

MEPC – minimalne struje završne ploče

NMDA – N-metil-D-aspartat

PCA – analiza glavnih komponenata

RNA – ribonukleinska kiselina

R-stanje – oporavljeno stanje

SI – sinkronizirana nepravilna aktivnost

SR – sinkronizirana pravilna aktivnost

SRM – spike response model

STDP – plastičnost ovisna o podudarnosti šiljaka

T2N – TREES to NEURON

tLTD - dugotrajna depresija ovisna o podudarnosti šiljaka

tLTP – dugotrajna potencijacija ovisna o podudarnosti šiljaka

TNF- α - tumor nekrotizirajući faktor alfa

TMS – transkranijalna magnetska stimulacija

Sažetak

Summary

1. Uvod.....	1
2. Povijest modeliranja u neuroznanosti.....	5
2.1. McCulloch-Pittsov model neurona.....	8
2.2. Hodgkin-Huxleyev model	9
3. Modeliranje sinapse.....	12
3.1. Ekscitacijske sinapse	15
3.2. Živčano-mišićna spojnica	19
3.3. Moderni alati	21
4. Modeliranje neurona.....	24
4.1. Integriraj-i-pali modeli	25
4.2. Stohastički modeli	28
4.3. Moderni alati	29
5. Modeliranje neuronskih mreža	35
5.1. Mreže integriraj-i-pali neurona.....	36
5.2. Integrativni modeli	39
5.3. Modeli sinaptičke plastičnosti i učenja.....	41
5.4. Moderni alati	44
6. Modeliranje morfologije dendrita.....	49
6.1. Digitalne rekonstrukcije dendrita	51
6.2. Umjetne morfologije	55
6.3. Integracija funkcionalnih i morfoloških modela	56

Zahvale

Literatura

Životopis

Sažetak

Naziv rada: Modeliranje funkcionalnih i morfoloških sastavnica sinapse, neurona i neuronskih mreža

Ime autora: Mario Zelić

Neuroni su gradivni dijelovi našeg živčanog sustava, i odgovorni su za prijenos električnih i kemijskih signala u cijelom tijelu, omogućujući komunikaciju i obradu informacija. Neuroni se međusobno spajaju sinapsama u neuronske mreže koje svaka ima svoju funkciju koju obavlja u živčanom sustavu. Modeli su skupovi pretpostavki koji predstavljaju neki sustav, a njihova vrijednost je stvaranje novog znanja koje može predvidjeti rezultate eksperimenata ili potvrditi razumijevanje raznih fenomena u sustavima. Modeli mogu podrazumijevati modelne organizme poput vinskih mušica ili miševa, a mogu biti i računalni programi koji simuliraju molekularne procese. Povijest modeliranja u neuroznanosti seže još od sredine 20. stoljeća kada su Hodgkin i Huxley opisali model aksona divovske lignje i tako otkrili tajne prijenosa akcijskog potencijala duž neurona. Proučavanjem živčano-mišićnih spojnica razotkrili su se mehanizmi prijenosa električnih impulsa kroz sinapse. Promatranjem kolumnarnog ustroja vizualne kore došlo se do saznanja o neuronskim mrežama i uzorcima njihovih aktivnosti. Napretkom tehnologije omogućeno je modeliranje velikog broja neurotransmitera u sinapsama, neurona s velikim brojem odjeljaka i različitim ionskim kanalima, neuronskih mreža s velikim populacijama i velikog broja bioloških i umjetnih neuronskih morfologija. Na kraju, integracijom morfoloških i funkcionalnih modela u jednom alatu omogućeno je dobivanje novih znanja koje nam omogućuju rješavanje misterija sinapsi, neurona i neuronskih mreža.

Ključne riječi: modeliranje neurona, sinapsa, neuron, neuronske mreže, morfologija neurona

Summary

Thesis title: Modelling of functional and morphological properties of synapses, neurons, and neuronal networks

Author's name: Mario Zelić

Neurons are the constituent parts of our nervous system whose function is to transmit electrical and chemical signals, allowing the communication and processing of information throughout the body. Neurons connect among themselves through synapses to make neuronal networks, where each has its own function in the nervous system. Models are sets of assumptions about a system, and their worth is in the generation of new knowledge that can be used to predict experimental results or confirm understanding of phenomena in a system. Models can be thought of in terms of model animals like fruit flies or mice, or they can be thought of as computer programs modelling molecular processes. The history of modelling in neuroscience goes back to the mid-20th century, when Hodgkin and Huxley described the giant squid axon model and uncovered the secrets of action potential propagation. Studying the neuromuscular junction uncovered the secrets of synaptic transmission of electric impulses. Exploring the columnar organization of the visual cortex yielded the discovery of neuronal networks and patterns of their activity. With the advance of technology, it became possible to simulate a large number of neurotransmitters in synapses, neurons with numerous compartments and ion channels, neuronal networks with large populations, and vast amounts of biological and artificial neuronal morphologies. By integrating morphological and functional models into one tool, the acquisition of new knowledge is enabled, which can help in solving the mysteries of synapses, neurons, and neuronal networks.

Key words: neuron modelling, synapse, neuron, neuronal network, neuron morphology

1. Uvod

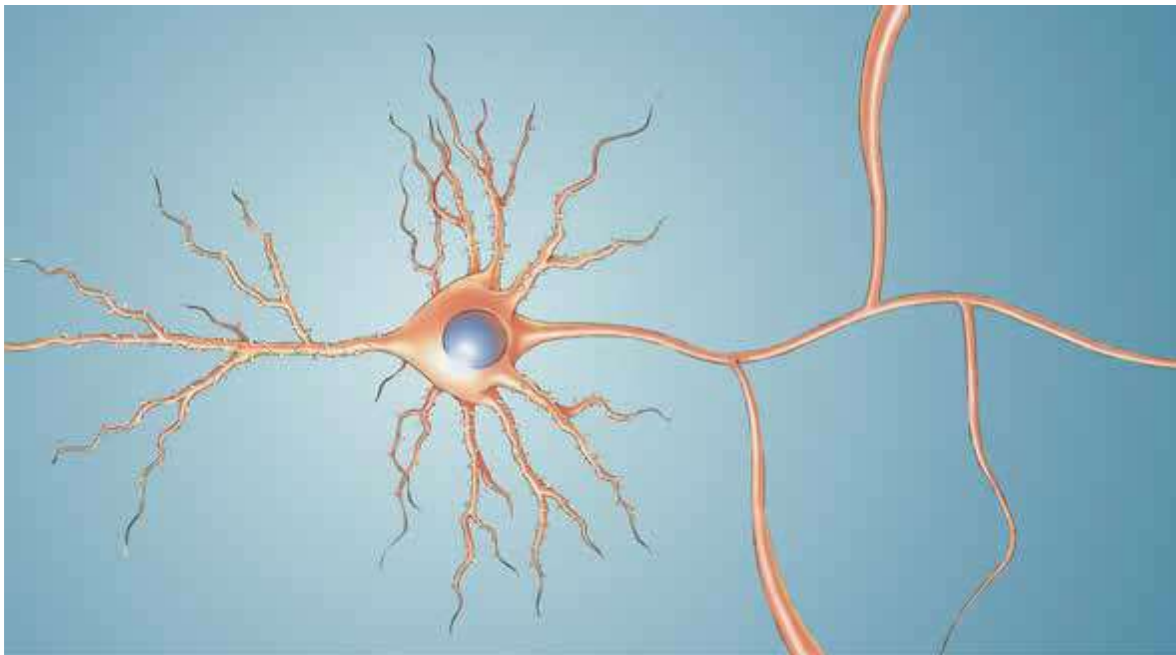
Živčane stanice, neuroni, osnovne su gradivne jedinice živčanog sustava kojima je zadaća komunikacija između različitih dijelova tijela – stanica, tkiva, organa i organskih sustava (1). Uz neurone, u živčanom sustavu imamo i potporne stanice, znane kao glija stanice, koje svojim višestrukim ulogama omogućavaju rad živčanih stanica pružanjem strukturne potpore, stvaranjem mijelinskog omotača, imunom zaštitom, održavanjem primjerenih izvanstaničnih uvjeta i olakšavanjem migracije neurona u fetalnom razvoju (1). Neuroni su prvi put opisani 1740. godine u radu švedskog znanstvenika i filozofa Emmanuela Swedenborga kao „mali kortikalni globuli“ (2). Tek skoro stoljeće kasnije, 1833. Christian Ehrenberg, njemački znanstvenik, prikazuje prvi neuron (2). S unapređenjem tehnologije objektivna i mikroskopa, krajem 19. stoljeća dolazi do stvaranja dvaju teorija ustrojstva živčanog sustava. S jedne strane pobornici „retikularne teorije“ predvođeni Camillom Golgijem i njegovom tada novom tehnikom bojenja srebrnim solima zauzimali su stav da su svi neuroni fizički povezani u jedinstvenu mrežu, te da zasebno ne posjeduju unikatna svojstva (3). S druge strane, pristaše „neuronske doktrine“ predvođeni Santiagom Ramonom y Cajalom koristeći istu Golgijevu tehniku bojenja srebrnim solima smatrali su da su pojedinačni neuroni odvojeni jedni od drugih te da imaju određene dijelove s posebnim funkcijama koje su značajno međusobno različite (3). Tek je s uporabom elektronskog mikroskopa dobiven uvid u nanoarhitekturu neurona i potvrđena je istinitost neuronske doktrine (1).

Neuroni, se sastoje od centralnog dijela, koje se još naziva tijelo, jednog dugačkog izdanka zvan akson i jednog ili više kratkih izdanaka zvanih dendritima (3). Tijelo, ili soma je mjesto gdje se nalaze jezgra i drugi stanični organeli poput endoplazmatskog retikuluma, Golgijevog aparata i mitohondrija (1). Čitav neuron odvojen je od izvanstaničnog prostora selektivno propusnom staničnom membranom koja je neophodna za ispoljavanje njegovih funkcija (1).

Akson je dugački izdanak neurona koji služi provođenju informacija iz some neurona do aksonskih završetaka (1). Prelazak iz some u akson nazivamo aksonskim brežuljkom, te je to mjesto gdje se generira akcijski potencijal. Glavne posebnosti aksona su nedostatak hrapavog endoplazmatskog retikuluma te različitost proteinskog sastava u membrani aksona naspram some (1). Duljina samog aksona može biti od nekoliko mikrometara do više od jednog metra, stoga je dobra strukturalna potpora koju unutar neurona pruža kompleksni sustav citoskeleta sačinjen od mikrofilamenata, mikrotubula i intermedijarnih filamenata izuzetno potrebna za normalnu funkciju tog odjeljka neurona (1). Aksoni se često granaju, a te grane nazivamo aksonskim kolateralama koje mogu završavati na istom neuronu ili na mnoštvo različitih neurona na udaljenim dijelovima korteksa. Na samom kraju te strukture se nalazi presinaptički aksonski završetak (1). Aksonski završetak jedan je od sastavnih dijelova sinapse, mjesta gdje električni impulsi s jednog neurona prelaze na drugi neuron, i za njega je specifično da se mikrotubuli, posebni filamenti citoskeleta, ne pružaju u njih te da sadrži sinaptičke vezikule, mjehuriće

stanične membrane koji u sebi sadržavaju kemijske spojeve koji se luče u sinaptičku pukotinu i služe komunikaciji između neurona zvane neurotransmiteri (1). Također, aksonski završetci bogati su mitohondrijima što upućuje na veliku energetska potražnju tih dijelova aksona (1).

Dendriti su izdanci neurona koji služe primanju informacija iz drugih neurona preko sinapsi. Dendriti su dobili naziv po grčkoj riječi za drvo jer njihov izgled podsjeća na razgranatu krošnju drveta (1). Dendriti su drugi sastavni dio sinapse, onaj koji prima najveću količinu informacije na sebe, bilo direktno na dendrite, bilo na male dendritičke izdanke nazvanima dendritičkim trnovima ili spinama (1). Dendritički trnovi povezani su s procesima sinaptičke plastičnosti, mogućnosti sinapsa da se pojačavaju i oslabljuju, te su tako sastavni dio procesa učenja i pamćenja (1).



Slika 1. Neuron – preuzeta iz Bear i sur. (2016) (1)

Ovakva ideja neurona je pojednostavljena realne kompleksnosti stvarnih neurona. Tako prikazan didaktički model neurona koristan je u približavanju ideje neurona te uspostavljanju generalnog znanja, ali za sve detaljnije uvide u morfologiju ili funkciju neurona, moralo bi se zaći malo dublje i iskoristiti različite modele.

Modeli predstavljaju skupove pretpostavki uz pomoć kojih se opisuje nekakav sustav (4). Modeli imaju svoju epistemičku funkciju (kakvo znanje dobivamo od njih), prirodu (kakva vrsta modela jest) i funkcionalni princip (na koji način model stvara znanje) (5). Epistemička funkcija modela sastoji se od onoga kakvo nam znanje pruža – opservacijsko, perceptivno ili selektivno/kontrastno (5). To znači da znanje koje dobijemo koristeći modele može proizaći iz samog promatranja nekih pojava, našeg zamjećivanja određenih događaja ili prisutnosti odnosno odsutnosti određene pojave za kojom tragamo. Varenne u svojoj knjizi (5) navodi primjer mikroskopa koji proizvodi opservacijsko znanje (ono što

vidimo kroz mikroskop nam daje novo znanje). Nadalje, on tvrdi da prirodu modela tvori supstancija i struktura samog modela jer oni mogu biti različiti – od modelnih organizama poput vinske mušice ili laboratorijskog miša, do matematičkog skupa jednadžbi koji opisuje pravila ponašanja sustava koji modeliramo. Sažeto, funkcionalni princip modela jest način na koji njegova priroda uzrokuje nastanak znanja.

Nadalje, zadaća modela prema Mary S. Morgan je upravo medijacija i njena facilitacija (6). Pod medijacijom smatramo djelovanje modela kao zamjene predmeta ili pojave koju promatramo koji nam dopušta razumijevanje modela (5). Model ne mora nužno biti jednostavan, ali mora pojednostaviti pristup promatranome. U kontekstu ovoga rada, stanični modeli neurona nisu nužno jednostavni, ali su jednostavniji od realnog neurona i na jednostavniji način nam daju uvid u neki aspekt građe ili funkcije neurona. Varenne navodi 5 glavnih funkcija modela (5):

1. *Osjetilno razumijevanje* – pružanje iskustva eksperimentiranja ili promatranja objekta
2. *Shvatljiva reprezentacija*– vjerno i razumno prikazivanje promatranog objekta
3. *Olakšavanje teoretiziranja*– daje mogućnost stvaranja teorije koja opisuje objekt
4. *Olakšavanje stvaranja znanstvenog znanja* – omogućava interdisciplinarnu proizvodnju znanja
5. *Olakšavanje donošenja odluka* – omogućuje predviđanje koji se postupci trebaju poduzeti u realnim situacijama

Napretkom tehnologije, računala su postala glavni alati kojima konstruiramo i koristimo modele kako bismo dobili određeno znanje koje kasnije želimo primijeniti u stvarnim situacijama. Često se za računalne modele koristi sinonim računalna simulacija koji je u mnogočemu neprecizan. Računalna simulacija može tako značiti proces simuliranja nekog realnog objekta u računalnom programu i može značiti rezultat po završetku procesa simuliranja. Kako bi se izbjegle nedoumice, u ovom radu koristit će se sintagma računalna simulacija za proces simuliranja realnog objekta u računalnom programu.

Računalne simulacije imaju nekoliko koraka (5) koji se provode kako bi se došlo do rezultata, a ti koraci su:

1. Operacijski korak – različita pravila primjenjuju se nad pojedinačnim simbolima koji služe kao reprezentacije stvarnih svojstava realnih objekata kako bi se dobili rezultati (parametri simbola)
2. Opservacijski korak – vizualizacija, mjerenje ili bilo kakvo drugo korištenje rezultata dobivenih operacijskim korakom

Po ovim koracima može se zaključiti da je računalna simulacija zapravo izvođenje eksperimenata i promatranje, zamjećivanje i mjerenje ishoda. Kako postoji više različitih vrsta eksperimenata, tako razlikujemo više vrsta računalnih simulacija:

1. Simulacije vođene modelima (još znane kao numeričke simulacije)
2. Simulacije vođene pravilima (još znane kao algoritmičke simulacije)

3. Simulacije temeljene na objektima (još znane kao simulacije temeljene na softveru)

Simulacije vođene modelima kreću od već postojećih matematičkih modela i konačnog broja elemenata ili svojstava simuliranog objekta te za rezultat opservacijskog koraka imaju model.

Simulacije vođene pravilima kreću uspostavljanjem odnosa između elemenata ili svojstava simuliranog objekta te za rezultat opservacijskog koraka ima nove odnose između elemenata.

Simulacije temeljene na objektima koriste se kada nije poznat model niti odnosi između pojedinačnih elemenata ili svojstava simuliranog objekta te omogućuje visoku razinu deapstrakcije svih procesa.

2. Povijest modeliranja u neuroznanosti

Biološki i biofizički modeli neurona temelje se na nekoliko ključnih aspekata membranskog potencijala u mirovanju koji je definiran kao razlika unutrašnjeg i vanjskog potencijala stanične membrane neurona. On u normalnim uvjetima kod čovjeka iznosi -65 mV. Prvo svojstvo stanične membrane neurona je da postoje razlike između količine određenih iona unutar neurona i izvan njega, pri tome se misli na visoku koncentraciju natrija i klora izvan stanice i visoku koncentraciju kalija unutar stanice. Na⁺/K⁺ ATP-aza je bitna ionska pumpa koja održava ovakvu razliku u koncentraciji, odnosno gradijent, natrija i kalija jer izbacuje 3 iona natrija iz stanice, a ubacuje 2 iona kalija u stanicu. Iduće svojstvo stanice je da nije jednako permeabilna za sve ione, odnosno da ne ulaze i ne izlaze svi ioni s jednakom lakoćom. Ta permeabilnost ostvarena je ionskim kanalima koji propuštaju određene ione. Također bitno svojstvo membranskog potencijala neuniformna je raspodjela iona zbog čega se unutar stanice nalazi više negativnog naboja, te je zbog toga i membranski potencijal u mirovanju negativan. Svi navedeni aspekti membranskog potencijala u mirovanju mogu se prikazati Goldman-Hodgkin-Katzove (GHK) jednadžbom:

$$V_M = -\frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_K[K]_o + P_{Na}[Na]_o + P_{Cl}[Cl]_o}{P_K[K]_i + P_{Na}[Na]_i + P_{Cl}[Cl]_i} \right)$$

Gdje su V_M membranski potencijal neurona, R opća plinska konstanta ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), F Faradayeva konstanta (96487 C mol^{-1}), P_X permeabilnost iona X , $[X]$ koncentracija iona X gdje ako je u indeksu i onda označava koncentraciju iona unutar stanice, a ako je u indeksu o onda označava koncentraciju iona izvan stanice. Omjer permeabilnosti membrane za kalij, natrij i klor može se prikazati kao $1 : 0,05 : 0,45$. Iz ovog možemo vidjeti da je permeabilnost membrane za kalij dvadeset puta veća nego za natrij te da je permeabilnost membrane za klor devet puta veća od permeabilnosti za natrij te ako uvrstimo sve ove vrijednosti u GHK jednadžbu, dobit ćemo vrijednost membranskog potencijala neurona u mirovanju da je -65 mV.

Ovaj matematički model dobro objašnjava kako se ponaša membranski potencijal stanice u mirovanju, ali ne uzima u obzir promjene u permeabilnosti neuronske membrane pri akcijskom potencijalu. Promjene permeabilnosti javljaju se zbog toga što postoje više različitih vrsta ionskih kanala. U GHK jednadžbi u obzir su uzeti samo pasivni kanali. Neuroni uz pasivne kanale imaju i aktivne kanale koji se otvaraju ili zbog promjene napona (voltažni kanali) ili zbog vezanja liganda, neurotransmitera, na njih. Zbog ovog svojstva, permeabilnost membrane se privremeno može mijenjati te zbog toga za modeliranje aktivnosti neurona nije dostatno promatrati samo membranski potencijal u mirovanju pri stalnim permeabilnostima membrane, već i pri promjenama permeabilnosti.

Promjene permeabilnosti su te koje omogućuju najbitniju funkciju neurona, slanje informacija kroz živčani sustav, a to odražuje nastajanjem i provođenjem akcijskog potencijala. Akcijski potencijal prolazna je promjena membranskog potencijala iz negativnog u pozitivni (1) koje nastaje na aksonskom brežuljku, širi se kroz akson te posljedično dolazi do presinaptičkih aksonskih završetaka gdje uzrokuje izbacivanje neurotransmitera u sinaptičku pukotinu. Do akcijskog potencijala dolazi sinaptičkom integracijom, odnosno zbrajanjem svih impulsa koje je neuron dobio cijelom duljinom svojih dendrita i some (1). Specifičnosti akcijskog potencijala, koji se još može nazvati i impulsom, je da mu se ne smanjuju amplituda, odnosno jakost, i frekvencija, odnosno trajanje, kako se širi kroz akson (1). On nastaje zbrajanjem primljenih impulsa diljem dendritičkog stabla koji djelomično povećavaju membranski potencijal te zbroj svih tih potencijala na aksonskom brežuljku (vremenski i prostorno sumiranih) mijenja permeabilnost otvaranjem natrijskih voltažnih kanala i započinje impuls.

Akcijski potencijal možemo podijeliti na više dijelova ovisno o razini membranskog potencijala i otvorenosti ionskih kanala, a to su rastuća faza, faza prebačaja, padajuća faza i faza podbačaja (1).

Rastuća faza akcijskog potencijala javlja se kada membranski potencijal neurona raste iz njegovog potencijala u mirovanju, koji je kako je već prije navedeno -65 mV, do praga podražaja, što je razina membranskog potencijala koju je potrebno doseći kako bi se započeo akcijski potencijal (1). Prag podražaja određen je sastavom stanične membrane, odnosno vrstama i količinom ionskih kanala koji se depolariziraju pri promjeni membranskog potencijala. Sama rastuća faza traje od potencijala mirovanja do maksimalnog membranskog potencijala koji se postiže za vrijeme akcijskog potencijala, što je oko $+40$ mV. Za tu fazu su nam najbitniji natrijski voltažni kanali, što su ionski kanali s posebnom podjedinicom koja služi kao senzor promjene voltaže te dvama vratima, koja nazivamo m i h vratima (7). M vrata, koja su u mirovanju zatvorena, još nazivamo aktivacijskim vratima ili brzim vratima i ona se otvaraju kada se membranski potencijal podigne iznad praga podražaja (1). H vrata, koja su u mirovanju otvorena, nazivamo inaktivacijskim vratima ili sporim vratima, i ona se kreću zatvarati istovremeno kada membranski potencijal naraste iznad praga podražaja, ali se sporije zatvaraju nego M vrata (1). Stoga, vremenska razlika između brzog otvaranja M vrata i sporog zatvaranja H vrata uzrokuje nagli ulaz velike količine natrijskih iona i posljedični porast membranskog potencijala (1,7).

Iduća faza akcijskog potencijala je faza prebačaja. Ona traje relativno kratko, a obuhvaća dio akcijskog potencijala gdje on prestaje rasti i počinje padati. Promjena se ovdje događa zbog otvaranja kalijevih voltažnih kanala, koji imaju samo jedna (N) vrata. Ta vrata se isto otvaraju pri razini membranskog potencijala kada je na pragu podražaja no veoma sporo. Kada se otvore, ona omogućuju nagli izlazak kalijevih iona iz stanice u međustanični prostor. Taj nagli izlaz kalijevih iona za vrijeme ulaska natrijevih iona je upravo razlog zašto membranski potencijal prestane rasti i kreće padati, odnosno membrana neurona prelazi iz depolarizacijske faze u repolarizacijsku.

Sljedeći dio akcijskog potencijala padajuća je faza te je ona izravna posljedica zatvorenih H vrata natrijskih voltažnih kanala i otvorenih vrata kalijevih voltažnih kanala. Nagli izlaz kalijevih iona uzrokuje nagli pad membranskog potencijala na razine niže od stanja u mirovanju, na oko -90 mV. Spuštajući se ispod razine praga podražaja, vrata kalijevih voltažnih kanala kreću se sporo zatvarati, a kod natrijskih voltažnih kanala aktivacijska se brzo zatvaraju, a inaktivacijska otvaraju.

Zadnja faza akcijskog potencijala faza je podbačaja gdje membrana neurona ulazi u razdoblje hiperpolarizacije gdje je napon na membrani niži od onoga u mirovanju. Povratak u stanje u mirovanju omogućavaju pasivni natrijski i kalijevski kanali koji dopuštaju izlazak, odnosno ulazak iona kroz staničnu membranu do uspostavljanja ravnotežnog stanja oko -65 mV.

Specifičnost akcijskog potencijala da za vrijeme jednog akcijskog potencijala ne može doći do istovremenog stvaranja novog akcijskog potencijala naziva se refrakternost (1). Refrakternost dijelimo na apsolutnu i relativnu, ovisno o fazi akcijskog potencijala. Apsolutna refrakternost javlja se za vrijeme zatvorenih inaktivacijskih vrata, odnosno za vrijeme faze prebačaja i prve polovice padajuće faze zbog toga što su svi ili velika većina natrijskih voltažnih kanala zatvoreni (8). Za to vrijeme apsolutno nikako nije moguće pokrenuti novi akcijski potencijal. Relativna refrakternost javlja se za vrijeme druge polovice padajuće faze jer je ipak sada veći dio natrijskih voltažnih kanala vraćen u svoje prvobitno stanje gdje su zatvorena M vrata i otvorena H vrata (8). Ako dođe dovoljno jaki depolarizirajući impuls, odnosno podražaj, postoji mogućnost da se pokrene novi akcijski potencijal (1).

Prolazak akcijskog potencijala cijelim aksonom uzrokuje otvaranje kalcijevih voltažnih kanala na aksonskim završecima i ulazak kalcijevih iona. Ulaskom kalcija dolazi do aktivacije proteina na površini unutarstaničnih mjehurića ispunjenih neurotransmiterima (zvanih sinaptičke vezikule), i spajanja tih vezikula sa staničnom membranom neurona što uzrokuje izlazak neurotransmitera u sinaptičku pukotinu (1). Oslobođeni neurotransmiteri putuju od presinaptičkog neurona, iz kojeg su izašli, do postsinaptičkog neurona, koji se nalazi na drugom dijelu sinaptičke pukotine te se ondje vežu na ligandom regulirane ionske kanale. Vežanje neurotransmitera na te kanale uzrokuje njihovo otvaranje i ulazak ili izlazak iona iz postsinaptičkog neurona. Ta lokalna promjena membranskog potencijala naziva se ekscitacijski postsinaptički potencijal (EPSP) ako uzrokuje povećanje membranskog potencijala, odnosno inhibicijski postsinaptički potencijal (IPSP) ako uzrokuje smanjenje membranskog potencijala. EPSP najčešće uzrokuju neurotransmiteri glutamat (u središnjem živčanom sustavu) i acetilkolin (na živčano-mišićnoj spojnici), a IPSP najčešće uzrokuju neurotransmiteri gama-amino maslačna kiselina (eng. Gamma-amino butyric acid – GABA) ili glicin(1).

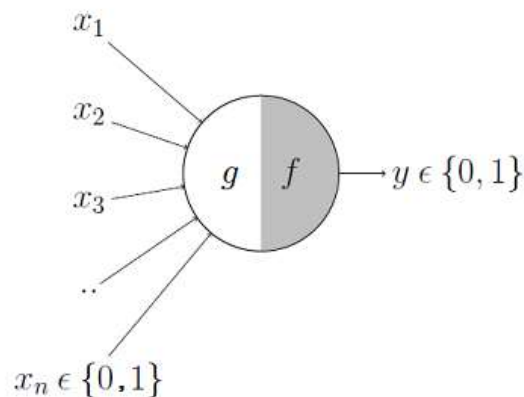
Također bitna osobina EPSP-a je njihovo zbrajanje koje može biti prostorno i vremensko i omogućuje dovoljnu depolarizaciju u aksonskom brežuljku kako bi se omogućilo stvaranje akcijskog potencijala (1). Prostorno zbrajanje EPSP-a podrazumijeva zbrajanje membranskih potencijala koji nastaju na različitim dijelovima dendrita ili različitim dendritičkim trnovima (1). Vremensko zbrajanje EPSP-a

podrazumijeva zbrajanje membranskih potencijala koji nastaju na istoj sinapsi ako su se dogodili jedan za drugim u kratkom vremenskom intervalu od 1 do 15 milisekundi (1).

Kod raznih računalnih modela neurona bitni su i retrogradni akcijski potencijali (bAP) koji nastaju uslijed širenja akcijskog potencijala s aksonskog brežuljka na somu i posljedično dendrite (1). Za njih je pronađeno da ako se javljaju u malom vremenskom razmaku (oko 50 milisekundi) od EPSP-a da posljedično uzrokuju lokalno jačanje sinaptičkih veza (1).

2.1. McCulloch-Pittsov model neurona

Potreba za modelima u neuroznanosti javila se već sredinom 20. stoljeća, kada su Warren S. McCulloch, američki neuroznanstvenik, i Walter Pitts, američki logičar, objavili rad u kojem predstavljaju prvi formalni matematički model neurona i neuronskih mreža (9).



Slika 2. – grafički prikaz McCulloch-Pittsovog modela neurona. Slika preuzeta iz McCulloch i Pitts, 1943. (7)

Ovaj model podijeljen je u dva dijela (slika 1.) – g (koji predstavlja dendrit) koji prima ulazne podatke x_1 - x_n (gdje pojedini x može biti 0 ili 1) i zbraja ih te f (koji predstavlja somu i akson) koji donosi odluku o tome aktivira li se neuron ili ne (y može biti samo vrijednosti 0 ili 1) ovisno o θ , pragu aktivacije. Matematički napisano, ovaj model izgleda ovako:

$$g(x_1, x_2, x_3, \dots, x_n) = g(x) = \sum_{x=1}^n x_i$$

$$y = f(g(x)) = 1 \text{ if } g(x) \geq \theta$$

$$= 0 \text{ if } g(x) < \theta$$

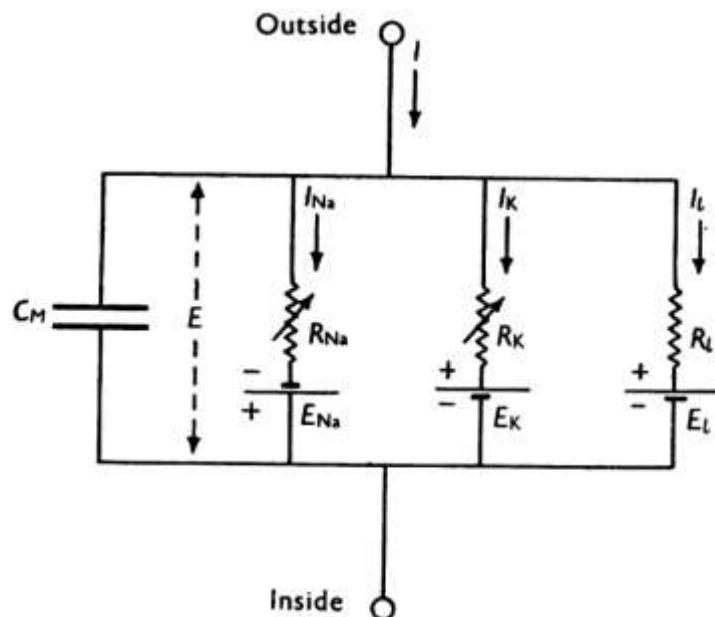
Kao što vidimo, ovdje se radi o funkcionalnom modelu neurona i neuronskih mreža jer autori modeliraju u kojem slučaju će se aktivirati pojedini neuron. Odabiranjem različitih funkcija za $g(x)$ i vrijednosti θ , mogu se stvoriti različiti načini dobivanja informacija iz ulaznih vrijednosti te je upravo ovaj model poslužio za razvoj prvih verzija neuralnih mreža u računarstvu. Sa strane neuroznanosti, ovaj model

daleko je od iskoristivog u praktičnom smislu jer ne uzima u obzir nikakve biološke i fizikalne aspekte neurona koji su ključni u odlučivanju kada i kako će se aktivirati neuron.

2.2. Hodgkin-Huxleyev model

Prvi biofizički model aktivacije neurona pružili su A. L. Hodgkin i A. F. Huxley 1952. godine (10) u radu gdje su opisali svoje eksperimente pomoću prikovanog napona (eng. Voltage clamp) na aksonu divovske lignje i zaključke iz istih. Iz tih eksperimenata, zaključili su da je permeabilnost, odnosno provodnost struje pojedinih iona, ovisna o vremenu te zbog toga dijele struje ulaska na ionsku struju i na struju curenja. Nadalje, zapazili su da depolarizacija membrane uzrokuje prolazno povećanje provodljivosti za struje natrija i kalija, s tim da povećanje za kalij traje dulje. Također su vidjeli da se ovi učinci mogu okrenuti repolarizacijom membrane, pa struje teku u suprotnom smjeru.

Eksperimentalne rezultate objasnili su konstrukcijom ekvivalentnog strujnog kruga (slika 2.) koji predstavlja teoretski model membrane neurona i struja iona koje prolaze kroz nju. U tom strujom krugu C_M označava kapacitet membrane, E potencijal membrane, I_x jakost struje X iona, pri čemu je I_l jakost struje curenja, R_x otpor prolasku X iona pri čemu je R_l otpor prolasku struji curenja, E_x razlika potencijala iona X izvan i unutar stanice pri čemu je E_l membranski potencijal u mirovanju. Oznaka za otpor iskorištena je kao zamjena za permeabilnost jer su otpor i permeabilnost obrnuto proporcionalni.



Slika 3. prikaz ekvivalentnog strujnog kruga koji odgovara eksperimentalnim rezultatima Hodgkina i Huxleya. Slika preuzeta iz Hodgkin i Huxley 1952. (8).

U svojim eksperimentima, našli su da su R_{Na} i R_K ovisni o vremenu i membranskom potencijalu, dok se sve ostale varijable mogu smatrati konstantnima. Koristeći teoriju kabela (pretpostavljajući da je akson cilindričnog oblika) koja opisuje prostorno-vremensku promjenu električnog potencijala, dobili su jednadžbu:

$$c_M \frac{\partial V_M}{\partial t} = \frac{a}{2R_L} \frac{\partial^2 V_M}{\partial x^2} - g_K(V_M - E_K) - g_{Na}(V_M - E_{Na}) - g_L(V_M - E_L)$$

gdje je $V_M(x,t)$ potencijal membrane, a je polumjer kabela, odnosno aksona, g su vodljivosti, odnosno permeabilnosti kanala koje se množe s razlikom membranskog potencijala i ravnotežnog potencijala tog iona (notacija preuzeta iz (7)). Pošto su iz eksperimenata vidjeli da g_K i g_{Na} nisu konstantni, Hodgkin i Huxley uvode dvije funkcije, α koja opisuje brzinu prijelaza iz zatvorenog u otvoreno stanje, i β koja opisuje brzinu prelaska iz otvorenog u zatvoreno stanje. α i β kod kalijevih voltažnih kanala ovise o otvorenosti i zatvorenosti vrata koje možemo zapisati kao n i $1-n$, dok kod natrijevih voltažnih kanala ovise o otvorenosti aktivacijskih, m , i inaktivacijskih, h , vrata. Vrijednosti koje poprimaju n , m i h su između 0 i 1. U trenutku membranskog potencijala u mirovanju ili u hiperpolarizaciji ($V \approx -90\text{mV}$), vrijedi:

$$\begin{aligned} n &\rightarrow n_0 \sim 0 && \text{(vrata kalijevih voltažnih kanala su zatvorena),} \\ m &\rightarrow m_0 \sim 0 && \text{(aktivacijska vrata natrijskih voltažnih kanala su zatvorena),} \\ h &\rightarrow h_0 \sim 1 && \text{(inaktivacijska vrata natrijskih voltažnih kanala su otvorena).} \end{aligned}$$

Pri depolarizaciji ($V \approx +60\text{mV}$), vrijedi:

$$\begin{aligned} n &\rightarrow n_0 \sim 1 && \text{(vrata kalijevih voltažnih kanala su otvorena),} \\ m &\rightarrow m_0 \sim 1 && \text{(aktivacijska vrata natrijskih voltažnih kanala su otvorena),} \\ h &\rightarrow h_0 \sim 0 && \text{(inaktivacijska vrata natrijskih voltažnih kanala su zatvorena).} \end{aligned}$$

Najbolja poklapanja s eksperimentalnim modelima Hodgkin i Huxley dobili su s funkcijama:

$$I_{Na} = g_{Na} n^4 (V - E_{Na})$$

$$I_K = g_K m^3 h (V - E_K)$$

Vidjevši da struja kroz voltažne kanale ovisi o vjerojatnosti otvaranja vrata koja ovise o voltaži, dane su jednačbe za otvaranje pojedinih vrata pri čemu je τ_x vremenska konstanta za ion X:

$$\tau_n(V) \frac{dn}{dt} = -[n - n_0(V)]$$

$$\tau_m(V) \frac{dm}{dt} = -[m - m_0(V)]$$

$$\tau_h(V) \frac{dh}{dt} = -[h - h_0(V)]$$

Koje zajedno s jednačbom teorije kablova, kada se uvrste vrijednosti za funkcije permeabilnosti i vanjske struje $I(t)$ za vrijeme snimanja s metodom prikovanog napona:

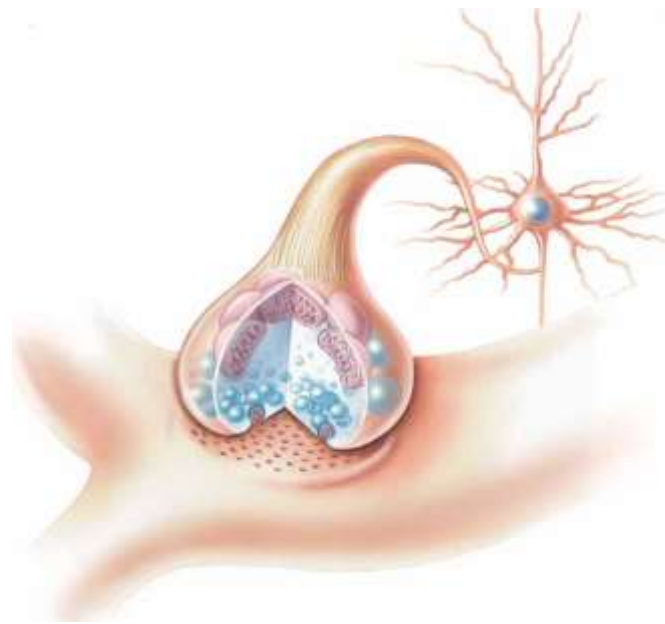
$$C \frac{dV}{dt} = -g_K n^4 (V - E_K) - g_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) - g_L (V - E_L) - I(t)$$

čine sustav četiriju diferencijalnih jednadžbi Hodgkin-Huxleyevog modela neurona.

Vrijednost ovog modela neizmjenjiva je u tome što je započela široku upotrebu matematičkih modela neurona u neuroznanosti. Ovakav prvi formalni model funkcije neurona omogućio je detaljniji uvid u daljnje mogućnosti istraživanja neurona i njihovih biofizičkih svojstava. Metoda prikovanog napona zaslužna je za mnoga otkrića u neuroznanosti, pogotovo ona vezana uz svojstva voltažnih kanala. Problem s ovim modelom je što je on rađen po uzoru na rezultate eksperimenata na aksonima neurona divovske sipe koji se uvelike razlikuju od aksona ljudskih neurona. Također, u obzir nisu uzete druge struje, poput kalcijevih, za koje danas znamo da se nalaze u dendritima i somi ljudskih neurona (8). Sasvim je jasno da dvije vrste kanala nikako ne mogu opisati kompleksne sustave neurona u kojima je dosad pronađeno preko 200 ionskih kanala s različitim izoformama te aktivacijskim i inaktivacijskim uzorcima koji mogu uzrokovati pojave poput adaptacije (promjene refrakternog perioda), facilitacije (polagane depolarizacije) i druge (8).

3. Modeliranje sinapse

Kako bi se uopće moglo pristupiti modeliranju sinapsa, treba uzeti u obzir koje sastavnice istih je potrebno modelirati. Kao što je već navedeno, sinapse se sastoje od presinaptičkog i postsinaptičkog neurona te sinaptičke pukotine. Bitna unutrašnja komponenta presinaptičkog neurona upravo su mreže aktinskih filamenata koji daju veličinu i oblik određenim dijelovima unutar presinaptičkog dijela sinapse (11). Presinaptički dio neurona sadrži niz ionotropnih i metabotropnih receptora te se ondje događa egzocitoza neurotransmitera (11). Sinaptička pukotina nije samo prazan prostor, već se unutar nje nalazi izvanstanični matriks sastavljen od receptora za neurotransmitere, adhezijskih molekula te enzima kojima je zadaća pospješivanje ili prekidanje funkcije neurotransmitera (12). Kroz sinaptičku pukotinu neurotransmiteri putuju do postsinaptičkog neurona, najčešće do dendritičkog trna ili dijela grane dendrita. Ondje se nalaze ionotropni i metabotropni receptori koji na sebe vežu neurotransmitere i propuštaju određene ione u postsinaptički neuron (12) uzrokujući promjenu membranskog potencijala.



Slika 3. Aksonski završetak i sinapsa – preuzeto iz Bear i sur. (2016) (1)

Jedna od glavnih uloga sinapsi upravo je mogućnost mijenjanja svoje „jakosti“ tj. mijenjanja količine iona koji se puštaju u postsinaptički neuron i tako mijenjaju membranski potencijal. U svom poznatom radu, Donald Hebb 1949. godine navodi da ako neuron A svojim izbijanjem učestalo uzrokuje aktivaciju neurona B, tada se snaga njihove veze povećava, tj. ako sinapse koje povezuju neurone A i B imaju slične uzorke aktivacije njihova veza će postati snažnija (13). Konkretni primjer ovog teoretskog modela pronađen je u hipokampusu zečeva i opisan u radu Bliss i Lomoa 1973. godine. Oni su pronašli da nakon tetaničke stimulacije (električna stimulacija neurona velikim brojem impulsa u kratkom vremenu – 100 u nekoliko sekundi) perforantnog puta koji povezuje entorinalno područje i girus dentatus, zrnate

stanice zrnatog sloja girusa dentatusa imaju dugotrajno promijenjenu i povećanu amplitudu EPSP-a (14). Ove promjene nastaju zbog specifičnog sastava postsinaptičke membrane koja mnogim nizvodnim mehanizmima uzrokuje strukturalne i funkcionalne promjene na postsinaptičkom neuronu (15). Tu pojavu su Bliss i Lomo nazvali dugotrajna potencijacija (LTP, eng. Long-term potentiation) ako se radi o ojačavanju jakosti sinapse i dugotrajna depresija (LTD, eng. Long-term depression) ako se radi o oslabljivanju jakosti sinapse (14).

Dva najbitnija receptora na postsinaptičkom neuronu uključena u procese LTP-a i LTD-a su NMDA (N-metil-D-aspartat) glutamatni ionotropni receptor i AMPA (alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoazolpropionat) glutamatni ionotropni receptor (15). NMDA receptor voltažni je receptor koji se aktivira ako se ispune dva uvjeta: Ako se na glutamat vezao na izvanstaničnu domenu receptora, te ako se dogodila dovoljna unutarstanična depolarizacija na postsinaptičkom djelu neurona. Uslijed depolarizacije, dvovalentni ion magnezija, koji u ravnotežnom stanju blokira prolaz iona kroz NMDA receptor, biva „izbačen“ i omogućava prolaz iona (16). Dodatno, vezanje glutamata omogućuje završno otvaranje kanala i neselektivan prolazak natrijevih, kalijevih i kalcijevih iona (16).

Bitne osobitosti LTP-a i LTD-a su kooperativnost –istovremeno aktiviranje više susjednih sinapsi slabim podražajima (nedovoljno jakim da uzrokuju LTP sami po sebi) može uzrokovati LTP (17) i asocijativnost – istovremeno aktiviranje dvaju susjednih sinapsi slabim i jakim podražajem (dovoljno jakim da uzrokuje LTP sam po sebi) uzrokuje pojavu LTP-a u obje sinapse (18). Također je prisutna i specifičnost ulaska (eng. *input specificity*) što predstavlja pojavu da se LTP inducira samo u podraženom neuronskom putu, bez utjecaja na susjedne sinapse koje u tom trenutku nisu bile podražene (16).

Drugi oblik Hebbovog učenja jest plastičnost ovisna o podudarnosti šiljaka (eng. Spike-timing dependent plasticity, STDP). U eksperimentalnim životinjskim modelima pokazano je da je bitan i redosljed i vremenski razmak ulaznih stimulacija u sinapse kako bi se inducirao LTP ili LTD u girusu dentatusu – prvo mora doći slabi impuls kojeg prati jači impuls unutar perioda od 20 ms (19). Pokazano je da je za indukciju LTP-a ovisnog o podudarnosti šiljaka (tLTP) je potrebna aktivacija presinaptičkog neurona nekoliko milisekundi prije dolaska bAP-a u postsinaptičkom dendritu jer bAP facilitira micanje magnezijeva iona s NMDA receptora i omogućava ulazak kalcija i pokretanje LTP-a u postsinapsi (19). Kod LTD-a ovisnog o podudarnosti šiljaka (tLTD) potrebna je pojava EPSP zajedno s depolarizacijom poslije bAP-a (eng. afterdepolarization) kako bi ušla osrednja količina kalcija u dendrit (manja količina nego u slučaju tLTP-a) ili pojava EPSP-a nakon bAP-a (19). Bitno je naglasiti da se STDP javlja i u GABA-ergičkih inhibitornih sinapsi – tLTD kada su istovremeno aktivni presinaptički i postsinaptički neuron, tLTP kada je razmak između aktivnosti presinaptičkog i postsinaptičkog neurona veća od stotinjak milisekundi (19). Zanimljiva je činjenica da STDP ovisi o lokalizaciji unutar dendritičkog stabla jer dolazi do atenuacije bAP-ova kako prostorno putuju kroz dendritičko stablo (19).

Osobitost LTP-a i LTD-a jest pomak jakosti sinapse u jednom smjeru pozitivnom povratnom spregom zbog čega može doći do ekstremno jake ili slabe aktivnosti (20). Stoga, kako bi dinamika neuralnih mreža ostala unutar granica normale te bi se izbjegla ekscitotoksičnost zbog prevelike aktivnosti (previsoka koncentracija neurotransmitera glutamata uništava neurone (1)), ili micanje sinapsi zbog preniske aktivnosti (21), postoje mehanizmi plastičnosti koji djeluju u suprotnom smjeru od LTP-a i LTD-a. (20). Takva vrsta plastičnosti nazva se homeostatična i ima nekoliko mehanizama:

1. Sinaptičko skaliranje
2. Promjena aktivnosti inhibicijskih neurona
3. Mijenjanje praga za uspostavljanje LTP-a i LTD-a (još poznato kao metaplastičnost)

Sinaptičko skaliranje (eng. Synaptic scaling) podrazumijeva smanjenje sinaptičkih jakosti ekscitacijskih postsinaptičkih neurona uslijed povećanja frekvencije izbijanja akcijskih potencijala kako bi se zadržali jednaki odnosi sinaptičkih jakosti prije promjene, te smanjila aktivnost neurona kako bi se spriječila pretjerana aktivnost (20). Osobitost ovog mehanizma jest selektivnost za slojeve – u kori mozga se sinaptičko skaliranje u 4. sloju događa samo za vrijeme fetalnog razvoja, dok se u 2./3. i 5. sloju događa kroz odrastanje. Na ovaj mehanizam utječu različiti molekularni mehanizmi posredovani tumor nekrotizirajućem faktorom alfa (TNF- α - eng. Tumor necrosis factor alpha), aktivnošću astrocita, NMDA receptorima i drugima (20).

Promjene aktivnosti inhibicijskih neurona mogu se dogoditi iznimno brzo (u roku od nekoliko sekundi) naspram sinaptičkog skaliranja (koje može trajati danima). Smanjenje količine inhibicije na ekscitatornim neuronima kore mozga vidi se u situacijama kada ti neuroni gube ulazne veze, a ona se provodi ili smanjenjem broja ili jakosti inhibitornih sinapsi te je posredovana astrocitima ili NMDA receptorima (20).

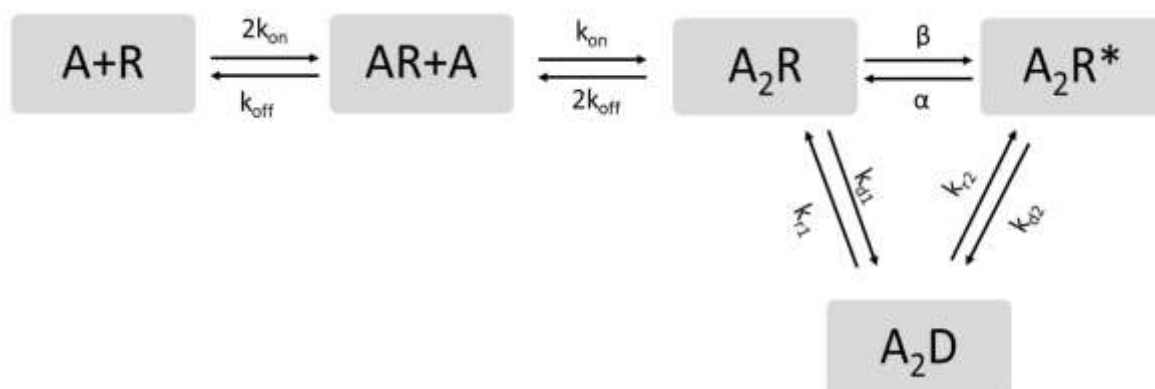
Mijenjanje praga uspostavljanja LTP-a i LTD-a, još poznato pod nazivima Bienenstock-Cooper-Munro (BCM) pravilo ili metaplastičnost, mogućnost je mijenjanja praga razine depolarizacije postsinaptičkog neurona i intracelularnih signala potrebnog za induciranje LTP-a ili LTD-a (22). jednostavnije rečeno, metaplastičnost se može objasniti kao plastičnost plastičnosti – kako neuroni mijenjaju svoju mogućnost mijenjanja sinaptičkih jakosti (23). Mehanizmi metaplastičnosti događaju se prije nastupa same plastičnosti na način da pojačavaju ili smanjuju efekte plastičnosti. Metaplastičnost može biti posredovana NMDA receptorima na način da se aktiviraju molekularni mehanizmi nakon indukcije LTP-a koji smanjuju daljnju indukciju LTP-a i na taj način smanjuju utjecaj pozitivne povratne sprege na sinaptičku jakost (23). Uz NMDA receptore, drugi glutamatni receptori, poput metabotropnih glutamatnih receptora tipa 1, mogu uzrokovati mehanizme metaplastičnosti smanjenjem kalcij-ovisnih kalijevih struja za vrijeme LTP-a (23). Postoji i heterosinaptični oblik metaplastičnosti (dok su prethodni bili homosinaptični) koji podrazumijeva da ako se pojačava određeni skup sinapsi (inducira se LTP), drugi skup sinapsi mora proporcionalno smanjiti svoje sinaptičke jakosti (inducira se LTD) (23).

Što se tiče modeliranja samih sinapsi, mogu se modelirati njihova strukturalna obilježja, funkcionalna obilježja ili kombinirati oba pristupa. Ovisno o tome zanima li nas modeliranje difuzije neurotransmitera (24–26), mehanizma stvaranja struja (27) ili mehanizma signalizacije (28), birat ćemo određene modele i određene apstrakcije.

Najčešće korišteni algoritmi kod ovakvih modela su Monte Carlo simulacije, modeli Brownijanskog kretanja te metoda konačnih elemenata. Monte Carlo modeli temelje se na modeliranju velikog broja čestica koje međusobno reagiraju u vremenu te na taj način dobro prikazuju što se događa za vrijeme difuzije neurotransmitera jednom kada izađe iz aksonskog završetka (29). Brownijansko kretanje podrazumijeva nasumično kretanje čestica u prostoru prema dinamici predviđenoj Langevinovom jednačbom (30). Modeli Brownianskog kretanja najčešće se koriste zajedno s Monte Carlo modelima kako bi se međusobno upotpunili (29) jer Monte Carlo modeli dobro simuliraju interakcije, ali nemaju informaciju načina kretanja čestica, dok modeli Brownijanskog kretanja upravo opisuju način kretanja čestica, ali nemaju informaciju o interakcijama čestica. Metoda konačnih elemenata koristi se u modeliranju kada se neki procesi (poput hidrolize acetilkolina preko acetilkolin-esteraze) ili strukture (poput samog nikotinskog acetilkolinskog receptora) mogu razložiti na manje elemente kako bi omogućili brže rješavanje problema (24).

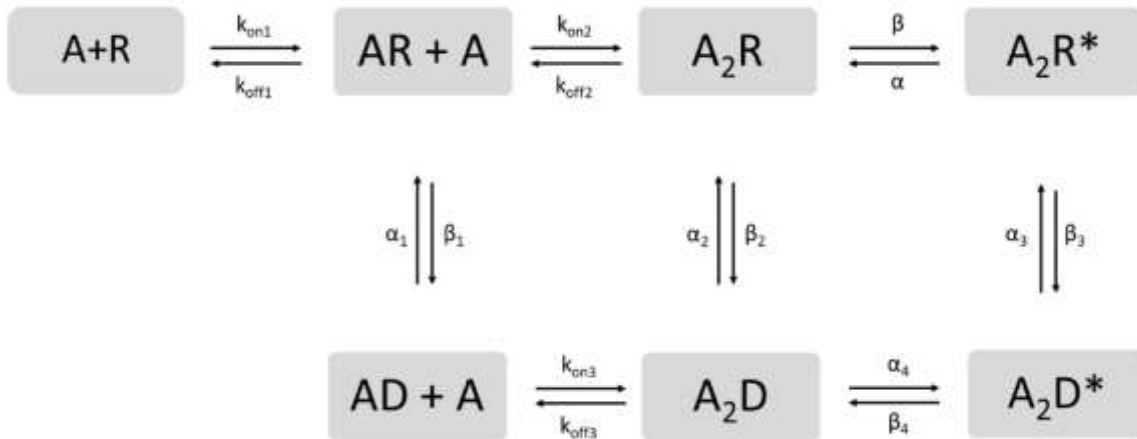
3.1. Ekscitatorne sinapse

William R. Holmes 1995. godine postavio je pitanje je li uistinu potrebna egzocitoza samo jedne vezikule glutamata kako bi se zasitila sva sinaptička mjesta na NMDA i ne-NMDA glutamatnim receptorima u zrnatoj stanici girusa dentatusa (26). Sinaptička pukotina prikazana je kao ravni valjak na čijoj se jednoj strani otvara vezikula s glutamatom, a na radijalno suprotnoj strani se nalazi postsinaptičko zgušnjenje (eng. *Postsynaptic density* – PSD) na kojem se nalazi većina NMDA receptora. Poznavajući da NMDA receptor se može nalaziti u više konfiguracija, tako je onda postavljen i model – slobodan receptor te receptor s jednim ili dvama vezanim ligandima (glutamatima). Kada se vežu dvije molekule glutamata na NDMA receptor, on prelazi prvo u otvoreno stanje pa zatim u desenzitizirano stanje.



Slika 4. prikaz različitih konfiguracija NMDA receptora – prilagođeno prema Holmes (1995) (26)

Ostali receptori koji vežu glutamat, AMPA receptori, imaju sličnu shemu konfiguracija kao NMDA receptori – isto vežu 2 glutamata na sebe, ali mogu prijeći u desenzitizirano stanje i kada imaju samo jedan glutamat vezan na sebe.



Slika 5. prikaz različitih konfiguracija AMPA receptora - prilagođeno prema Holmes (1995) (26)

Ostali parametri koji su korišteni u modelu su koeficijent difuzije, kinetika vezanja, površina sinapse, broj molekula glutamata u vezikuli, gustoća NMDA i AMPA receptora te brzina trošenja glutamata. Veličine su uzete iz neurofizioloških eksperimentalnih podataka rađenih na hipokampalnim kriškama. Kao što je potvrđeno u neurofiziološkim eksperimentima, ovaj model je pokazao da samo jedna vezikula nije dovoljna za zasićenje NMDA receptora u sinaptičkoj pukotini pri standardnim parametrima, već tek kad se koeficijent difuzije dovoljno smanji ili se količina neurotransmitera po vezikuli iznimno poveća. Jedan od bitnih nađenih faktora koji je utjecao na odgovore NMDA i AMPA receptora bila je stopa trošenja glutamata.

Glutamat se u nekim modelima smatra „potrošenim“ kada izađe iz definiranog područja postsinaptičkog zadebljanja – najčešće se misli na izlazak iz sinaptičke pukotine – te se na taj način modeliraju svi skupni procesi trošenja. Holmes je podijelio trošenje glutamata na trošenje putem sustava s visokim afinitetom za glutamat (ponovno pohranjivanje glutamata u presinaptički neuron) i trošenje putem sustava s niskim afinitetom za glutamat (pohrana odnosno endocitoza u gliju). Modulirajući aktivnosti sustava s visokim i niskim afinitetom za glutamat, pokazao je da vrijeme koje je potrebno da se NMDA receptori zatvore postaje sve kraće kako se povećava aktivnost sustava trošenja glutamata. S druge strane, utjecaj ovih sustava na otvorenost AMPA receptora je skoro pa zanemariv. Ovakvi rezultati se objašnjavaju kinetikom receptora gdje AMPA receptori vežu glutamat na sebe i otvaraju se brže nego što se taj glutamat može pohraniti u presinaptički neuron ili gliju, dok se NMDA receptori puno sporije otvaraju nakon vezivanja glutamata te mehanizmi pohrane glutamata imaju vremena potrošiti glutamat i tako smanjiti broj otvorenih NMDA receptora.

Koristeći sve ove parametre, Holmes je odlučio ispitati kako će se promijeniti EPSP-i pri tetaničkoj stimulaciji jedne i 108 simuliranih sinapsi te koliko tome pridonose NMDA i AMPA receptori. Model je pokazao da je pri stimulaciji jedne sinapse vršna vrijednost provodljivosti kroz NMDA receptor jedva 5% što pripisuje blokiranju prolaska iona od strane magnezijevog iona. Zbog toga nije došlo do značajnog povišenja u EPSP-u i nema posljedičnog okidanja akcijskog potencijala. S druge strane, stimulacija 108 sinapsi uzrokovala je iznimno povećanje EPSP-a i posljedično okidanje akcijskog potencijala. Bitno je za primijetiti da je ispuštanje jedne vezikule glutamata uzrokovalo 45% zasićenosti NMDA receptora, dok je tetanički podražaj uzrokovao čak 98% zasićenost što se objašnjava dvostrukim učinkom vezanja neurotransmitera na receptor te micanja kationskog bloka koji ovisi o naponu (26).

2000. godine Francesco Ventriglia i Vito di Maio (25) objavljuju rad u kojem pristupaju problemu difuzije glutamata i aktivacije NMDA i AMPA receptora na drugačiji način. Oni ovdje koriste model Brownijanskog kretanja kako bi pokazali da EPSP ovisi o broju receptora na PSD-u, ali da njihova vremenska propagacija (kako se oni mijenjaju u vremenu) ovisi i o broju receptora na PSD-u ali i o ekscentričnosti vezikule glutamata. Ekscentričnost vezikule podrazumijeva ispuštanje vezikule u sinaptičku pukotinu na mjestima udaljenima od sredine sinapse.

U prvom modelu, gdje su mijenjali položaj ispuštanja vezikule iz presinaptičkog neurona u sinaptičku pukotinu, primijetili su da što je vezikula položena više ekscentrično naspram PSD-a, odnosno što je ispuštanje vezikule dalje od središta PSD-a, da se smanjuje amplituda ekscitacijske postsinaptičke jakosti struje (EPSC engl. *Excitatory postsynaptic current*). Modelirali su 157 AMPA i 157 NMDA receptora te su gledali kako se mijenja udio potpuno otvorenih AMPA receptora (2 glutamata vezana na 1 AMPA receptor) te kako se pri tome mijenja EPSC. Pri povećanju ekscentričnosti, primijetili su pad broja AMPA receptora koji su vezali glutamat uz niže vršne vrijednosti EPSC-a.

U drugome modelu mijenjali su broj AMPA receptora (20, 70, 98 i 157) dok je broj NMDA receptora ostao fiksiran na 157 i širina PSD-a na 220 nm. Što je manji broj AMPA receptora, manja je njihova koncentracija na PSD-u i stoga je niža vršna vrijednost EPSC-a i produljeno je vrijeme do postizanja platoa (zasićenja receptora neurotransmitterom i otvaranja receptora).

U oba eksperimenta primijećeno je da se javlja pojava „prstena“ (engl. *Annulus*) nezasićenih neurotransmitera kod centralno ispuštene vezikule te nam to govori da je ispuštena količina neurotransmitera dovoljna da uzrokuje dostatno visok EPSC-a bez zasićenja svih receptora. Taj prsten ne nalazimo kada se vezikule ispuštaju ekscentrično te zbog toga autori navode da se ovdje radi o evolucijskoj prilagodbi ispuštanja ekscentričnih vezikula kako bi se smanjila varijacija u EPSC-ima.

Kevin M. Franks i suradnici su 2002. na Sveučilištu u Kaliforniji odlučili još dublje pogledati u problematiku signalizacije na glutamatergičkim sinapsama te su odlučili razviti Monte Carlo model koji pokazuje kako se AMPA i NMDA receptori aktiviraju u sinapsama (28). Promatranjem kako se glutamat ispušta iz vezikula i difundira kroz sinaptičku pukotinu usredotočili su se na pronalaženje Promatrali su

aktivaciju AMPA i NMDA receptora ovisno o veličini kvanta (engl. *Quanta* – broja glutamata ispuštenih iz jedne vezikule neurotransmitera, skraćeno kao q) i ukupnom broju navedenih receptora u sinapsi (skraćeno kao n). Također ih je zanimala i kako se mijenja zasićenost istih receptora neurotransmiterom ovisno o veličini kvanta i ukupnom broju tih receptora u sinapsi. Za kraj, promatrali su i kako glutamat difundira izvan sinaptičke pukotine te postoje li situacije kada taj glutamat može aktivirati susjedne sinapse u slučaju različitih jednostavnih ili zavijenih oblika.

Njihov trodimenzionalni model presinaptičkog i postsinaptičkog neurona koji se sastoji od aksonskog završetka, dendritičkog trna s glavom i vratom te dendritom omogućuje jednostavnost pri stvaranju, opisivanju i vizualiziranju novih inačica modela, te je točno određen parametrima i automatiziran zbog čega pruža mogućnost istraživanja različitih fizioloških sastavnica sinapse te omogućuje točnu kvantifikaciju u pojednostavljenim uvjetima (28). AMPA i NMDA receptori su postavljeni duž glave dendritičkog trna usmjereni prema sinaptičkoj pukotini u obliku diska određenog promjera. Ispuštanje glutamata modelirano je kao trenutačni događaj, a trošenje istoga se modeliralo kao da se vrši uz pomoć jednostavnog glutamatnog transportera s tri stadija i četiri poluvremena eliminacije (engl. *Rate constant*).

Inicijalni rezultati difuzije glutamata slažu se s literaturom i rezultatima dobivenima iz eksperimenata na živim neuronima gdje je trošenje podijeljeno u dvije faze – brzu i sporu, kao što je opisao Holmes. Opisani mehanizam prelaska receptorskih konfiguracija NMDA i AMPA receptora također dijeli sličnosti s Holmesovim modelom (26). Ono čime su Franks i ostali unaprijedili model je mijenjanje veličine kvantna (q) i broja receptora (n) pri konstantnom omjeru NMDA i AMPA receptora (1:4) pretpostavivši da ne postoji kooperativnost među receptorima – vezanje neurotransmitera na jedan receptor ne utječe nikako na vezanje neurotransmitera na drugi receptor, bilo iste, bilo različite vrste. Također su ignorirali pojavu kompeticije između receptora jer se ona fiziološki ne pojavljuje među receptorima na dendritičkim trnovima zbog premalog broja receptora (28).

Modelirali su također pojavu puferirane difuzije neurotransmitera (31) što je pojava kada ligand ulazi ili izlazi iz limitiranog prostora unutar kojeg se nalazi velika gustoća veznih mjesta za isti. To su napravili velikim brojem ponavljanja mjereći koncentraciju glutamata u trima različitim situacijama – kada receptori nisu prisutni; kad je omjer NMDA i AMPA receptora 50 : 80 pri kojem se očekuje pojava puferirane difuzije; te kad je omjer NMDA i AMPA receptora 900 : 50. U sva tri slučaja bilo je prisutno brzo trošenje glutamata, no u drugom i trećem slučaju koncentracija glutamata u sinaptičkoj pukotini značajno i postupno se povećavala naspram prvog slučaja bez receptora. To objašnjavamo vezanjem glutamata za velik broj NMDA receptora i njihovo kasnije otpuštanje koje održava određenu količinu neurotransmitera u sinaptičkoj pukotini i demonstrira pojavu puferirane difuzije. Što se tiče otvorenosti AMPA receptora, istražili su o čemu ona ovisi te su shvatili da je ovisnost zapravo linearna – uvijek je isti postotak AMPA receptora otvoren, čak i pri različitim udjelima NMDA receptora u sinapsi. Najveći

broj otvorenih AMPA receptora određen je inicijalnim vezanjem glutamata u trenutku njihovog izlaska iz vezikula, a smanjenje tog udjela usporeno je puferiranom difuzijom glutamata iz sinaptičke pukotine. Stoga zaključuju da je odgovor (EPSC) na AMPA receptore proporcionalan broju AMPA receptora.

Dodatan uvid u problematiku inicijalnih postavki sustava pokazala je činjenica da se postupnim povećanjem količine neurotransmitera povećava i broj aktiviranih receptora i to na način da je aktivacija receptora najosjetljivija u situacijama kada je količina neurotransmitera relativno veća ili manja od ukupnog broja receptora. To ide u prilog eksperimentalnim podacima sa životinjskih modela gdje je dokazano da receptori u sinapsama nisu potpuno zasićeni (32,33). U ovom modelu, kada je količina neurotransmitera relativno veća od broja receptora, zasićenost veznih mjesta na receptorima slično je relativno mala jer jako ovisi o broju neurotransmitera, a manje od broju samih receptora.

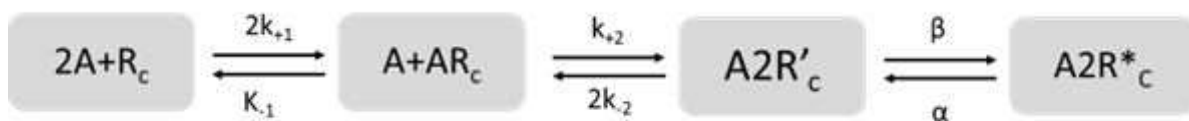
Također jedan od zanimljivih pronalazaka, koji se isto slaže s eksperimentalnim podacima sa životinjskih modela, upravo je i vremenska ovisnost signaliziranja. Kada su ovaj model promijenili tako da tetanička stimulacija iznosi 100 Hz pri kojoj se ispušta 5 kvanta neurotransmitera, mogli su zamijetiti intrinzičnu razliku u radu AMPA i NMDA receptora. Zbog brzog vezanja i brzog otpuštanja glutamata s AMPA receptora, oni su se stigli potpuno aktivirati i inaktivirati, ali je također došlo i do pojave desenzitizacije – smanjenje svakog idućeg odgovora receptora. Na taj način smanjuje se akumulacija zasićenih AMPA receptora. S druge strane, NMDA receptor sporo veže glutamat na sebe te ga i sporo otpušta pa je broj zasićenih NMDA receptora rastao dok nije došao do platoa nakon četiri otpuštene vezikule neurotransmitera. Također je bitno za napomenuti da je zasićenost NMDA receptora nakon svake otpuštene vezikule neurotransmitera skoro pa jednaka pri jednostrukoj ispuštenosti svih do tad ispuštenih vezikula (npr. 3 vezikule od 3000 glutamata ispuštene jedna za drugom uzrokuju jednako zasićenje NMDA receptora kao ispuštanje 1 vezikule s 9000 glutamata). Zbog razlike u dinamici zasićenja AMPA i NMDA receptora, autori navode da je funkcija AMPA receptora sličnija diferencijatoru – odgovaraju na brze promjene u razini glutamata u sinaptičkoj pukotini – dok je funkcija NMDA receptora sličnija integratoru – prati ukupnu količinu glutamata ispuštenu u sinaptičku pukotinu tijekom nekog vremena.

3.2. Živčano-mišićna spojnica

Živčano-mišićna spojnica posebna je vrsta sinapse gdje presinaptički akson ispušta neurotransmiter (acetilkolin) u sinaptičku pukotinu na čijem se kraju nalazi mišićna ploča (1). Ono što razlikuje živčano-mišićnu spojnicu od pravih sinapsi jest činjenica da se ne nalazi neuron s obje strane sinaptičke pukotine, veličina joj je puno veća od obične sinapse te se na području gdje se neurotransmiter veže za završne ploču mišića nalazi velik broj nabora (*eng.* Junctional folds) koje služe za povećavane receptivne površine (1). Nakon ispuštanja acetilkolina na mišićnu ploču, dolazi do povećanja membranskog potencijala unutar mišićnog tkiva zbog ulaska iona natrija i kalcija što se naziva potencijal završne ploče (*eng.* end-plate potential) i sličan je EPSP-u na način da se zbraja s ostalim potencijalima završne ploče

kako bi uzrokovao kontrakciju mišića. Živčano-mišićne spojnice bitne su jer su one omogućile prve uvide u prijenos informacija i tvari s jedne stanice na drugu na način sličan sinapsama pa upravo na njima temeljimo veliku količinu naših ranih saznanja o sinaptičkom prijenosu (1).

Kako bi se simulirali potencijali završne ploče, Bartol i suradnici (27) su se odlučili za Monte Carlo metodu modeliranja u slučaju trodimenzionalnih rekonstrukcija strukture živčano-mišićne spojnice kako bi mogli pratiti svaku pojedinu molekulu acetilkolina te koje su njezina sudbina i uloga nakon ispuštanja iz presinaptičkog motoneurona. Prvo su definirali kinetiku acetilkolina i nikotinskih receptora u živčano-mišićnoj spojnici što se vidi na Slici 6.



Slika 6. – kinetika acetilkolina i acetilkolinskih receptora u živčano-mišićnoj spojnici – A – acetilkolin, AR_c – jedna molekula acetilkolina vezana na zatvoreni receptor, $A_2R'_c$ – dvije molekule acetilkolina vezane na zatvoreni receptor, $A_2R^*_c$ – dvije molekule acetilkolina vezane za otvoreni receptor. Slika prilagođena prema Bartol i sur. (1991.) (27).

Zatim je bilo bitno definirati morfologiju živčano-mišićne spojnice jer je ona različita kod različitih životinjskih modela. Na ovaj način je Monte Carlo metoda praćenja točne pozicije neurotransmitera i njeno mijenjanje konformacije acetilkolinskih receptora puno efikasnija od drugih predloženih rješenja (27). Također su definirali i način difundiranja molekula acetilkolina izvan sinaptičke pukotine kako bi se modeliralo trošenje neurotransmitera ili njegova ponovna pohrana. Tada se mogu promatrati minimalne struje završne ploče (*eng.* Minimal end-plate currents, MEPC). Autori su pronašli da ako dođe do ispuštanja više kvanta neurotransmitera iz fizički bliskih lokacija, povećava se vjerojatnost dvostruko vezanih otvorenih konformacija receptora ($A_2R^*_c$ na slici 6.). Smanjujući udaljenost između ispuštanja dvaju kvanta acetilkolina, autori su zamijetili povećanje broja zasićenih (dva acetilkolina vezana) receptora i smanjenje broja nezasićenih (jedan acetilkolin vezan) receptora. Amplituda MEPC-a bila je značajno veće u slučaju preklapanja područja vezanja dvaju kvanta neurotransmitera, nego da su potpuno udaljeni te se posljedično ne preklapaju područja vezanja kvanta, stoga tu pojavu autori nazivaju potencijacija MEPC-a. Također, promatranjem udaljenosti između nabora na završnoj ploči živčano-mišićne spojnice, autori su pokušali uvidjeti njihovu ulogu u amplitudi, vremenu postizanja maksimalne vrijednosti i vremena potrebnog za povratak u ravnotežno stanje MEPC-a. Uzeli su u obzir tri slučaja – kada nema nabora, kada su nabori udaljeni $0,3 \mu\text{m}$ (kao u guštera, ukupno 9 nabora u modelu dubine $0,8 \mu\text{m}$) te kada su nabori udaljeni $1 \mu\text{m}$ (kao kod žaba, ukupno 3 nabora u modelu dubine $0,5 \mu\text{m}$). Uvidjeli su da kako se povećava broj nabora na završnoj ploči, tako se smanjuje amplituda MEPC-a i vrijeme potrebno za postizanje maksimalne vrijednosti. Ovo ponašanje objašnjava se činjenicom da

acetilkolin treba difundirati dublje u nabore te se zbog toga količina neurotransmitera dijeli na one koji se nalaze u „primarnoj“ pukotini (sinaptičkoj pukotini) i u „sekundarnoj“ pukotini (unutar nabora). Time se efektivno smanjuje amplituda MEPC-a, zbog čega se smanjuje i vrijeme potrebno za postizanje te maksimalne amplitude.. Zanimljivo je da vrijeme potrebno za postizanje ravnotežnog stanja ostaje nepromijenjeno neovisno o broju nabora. U ovom modelu se taj fenomen pokazao teškim za modeliranje Monte Carlo metodom (i nemogućim za modeliranje bilo kojom drugom metodom), ali je poznato da to vrijeme ovisi o naponu (34). Odgovor možda leži u aktivnosti acetilkolin-esteraze, koju su isto drugi autori modelirali (24).

Koristeći metodu konačnih elemenata, Cheng i suradnici modelirali su reakcijsko-difuzijski sustav acetilkolina, nikotinskih receptora i acetilkolin-esteraze u živčano-mišićnoj spojnici (24). Kreirali su trodimenzionalne prikaze acetilkolin-esteraze (nakupine od tri tetramera vezana kolagenom stapkom za završnu ploču) i nikotinskih acetilkolinskih receptora (heteropentamerni - sastoji se od pet međusobno različitih proteinskih domena - transmembranski protein, autori su također koristili i tetramerni oblik radi manje potrebne računalne snage). Zatim su ih postavili u trodimenzionalni modelirani prostor živčano-mišićne spojnice s naborima u određenom omjeru (8 acetilkolin-esteraza i 750 nikotinskih receptora) i to im je pomoglo da definiraju jednadžbe difuzije acetilkolina unutar sinaptičke pukotine te jednadžbe vezanja za nikotinske receptore i acetilkolin-esterazu. Ovakvim modeliranjem aktivnosti acetilkolina uspjeli su vjernije prikazati rezultate dobivene *in vitro* eksperimentima (24).

3.3. Moderni alati

U posljednje vrijeme došlo do izuzetnog napretka tehnologije, te smo u mogućnosti raditi sve kompleksnije modele čime oni postaju sve općenitiji i stoga nam mogu pomoći u odgovaranju na više skupova pitanja. Ti modeli integriraju sva prijašnja znanja koja smo dobili iz područja građe i funkcije sinapsi pa se sada mogu poopćivati i integrirati u određene veće sustave. Dobar primjer za to je rad Cortesa i sur. Iz 2013. godine (35) gdje su modelirali kako sinaptička plastičnost utječe na dinamiku cijele mreže neurona te rad Hazan i Ziv iz 2020. godine (36) gdje su pronašli razlike u veličini sinapsi između inaktivnih neuralnih mreža i spontano aktivnih neuralnih mreža.

Cortes i suradnici u svome modelu su koristili model koji su prvi predložili Misha V. Tsodyks i Henry Markram kratkotrajne sinaptičke plastičnosti (37) u kojem razlikuju 3 različita stanja:

- Oporavljeno stanje (eng. Recovered state, skraćeno kao R-stanje ili samo R u jednadžbama)
- Izvršno stanje (eng. Effective state, skraćeno kao E-stanje ili samo E u jednadžbama)
- Neaktivno stanje (eng. Inactive state, skraćeno kao I-stanje ili samo I u jednadžbama)

Ova stanja odnose se na sve moguće resurse postsinaptičkog neurona koji se aktiviraju kada primi pojedini presinaptički akcijski potencijal (37). Jednostavnije rečeno, ova stanja su zapravo apstrakcije aktivnosti NMDA i AMPA receptora te svih ostalih procesa koji se događaju na PSD-u pri primanju

neurotransmitera. Kada dođe do aktivacije svih resursa onda se postiže pojava koju Tsodyks i Markram nazivaju apsolutna sinaptička efikasnost (eng. A_{SE} – absolute synaptic efficacy) (37).

Najjednostavnije je I-stanje, a ono podrazumijeva razdoblje kada nije primljen nijedan impuls

$$I = 1 - R - E$$

Pri čemu je I udio resursa u neaktivnom stanju, R je udio resursa u oporavljenom stanju, a E udio resursa u izvršnom stanju.

Oporavljeno stanje javlja se nakon što svaki presinaptički akcijski potencijal aktivira dio receptora u sinapsi

$$\frac{dR}{dt} = \frac{I}{\tau_{rec}}$$

Pri čemu je τ_{rec} vremenska konstanta oporavljanja.

Izvršno stanje javlja se kada je primljen akcijski potencijal koji je maksimalno aktivirao resurse u sinapsi.

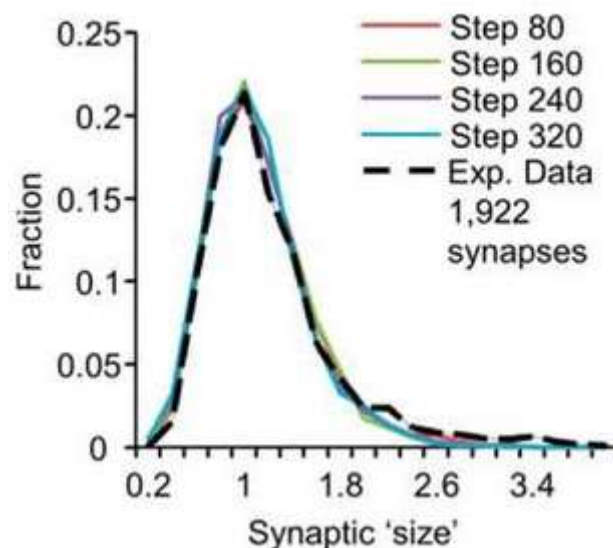
$$\frac{dE}{dt} = -\frac{E}{\tau_{inact}} + U_{SE} * R * \delta(t - t_{AP})$$

Pri čemu je τ_{inact} vremenska konstanta inaktivacije, U_{SE} je iskorištenje sinaptičke efikasnosti, a $\delta(t-t_{AP})$ se odnosi na trenutak u vremenu kada je akcijski potencijal primljen. Pojednostavljeno, svaki puta kada akcijski potencijal dođe do sinapse, aktivira dio resursa koji se trenutno nalaze u oporavljenom stanju (37).

Cortes je uvidio da kada se taj model uvrsti u modele neuronskih mreža kore ljudskog mozga dolazi do pojave kaotičnog ponašanja mreže, ali da to dobro objašnjava nepravilnu dinamiku aktivnosti neurona u kori. Ono što je specifično za ovaj sistem jest njegova kaotičnost, a kaotični sistemi najčešće imaju atraktore – stanja sustava kojima se približavaju u beskonačnosti ili oko koje osciliraju. Vrstu kaosa koju su prepoznali u ovoj aktivnosti navode Shilnikov kaos, a on se odnosi na činjenicu da ovaj kaotični sistem ima nestabilni atraktor (stanje sustava se u beskonačnosti ne zadržava na pojedinačnoj vrijednosti, već stalno neperiodično mijenja vrijednost), za razliku od tipičnih kaotičnih sustava koji imaju stabilan atraktor (stanje sustava se u beskonačnosti približava nekoj stabilnoj vrijednosti ili odlazi u beskonačnost). Također navodi da bi ovakva vrsta ponašanja mreže mogla dobro objasniti mehanizam prelaska iz jednog moždanog stanja u drugo, npr. Prelaska iz stanja kada neuroni stalno izbijaju akcijske potencijale i kada su neuroni pretežito inaktivni (38,39).

Kako se u mrežama neurona može modelirati funkcionalni učinak sinapsi, tako se može gledati i različitost u veličini pojedinih sinapsi. Kao što smo već rekli, broj AMPA receptora pozitivno je

koreliran s jačinom sinapse pa bi onda to značilo da PSD s relativno velikim brojem AMPA receptora mora biti veći od PSD-a s relativno malim brojem AMPA receptora. Hazan i Ziv su u svome radu iz 2020. pokazali da veličina sinapsa ne ovisi samo o odrednicama ovisnima o aktivnosti sinapse, već da postoje i odrednice koje ne ovise o aktivnosti sinapse, a svejedno pridonose njezinoj veličini. Poznato je od prije da raspodjela oblika sinapsi nije normalna – ne nalazimo predominantno srednje velike dendritičke trnove sa srednje velikim aksonskim završetcima koji izbacuju srednje velike vezikule s osrednjom količinom neurotransmitera koji uzrokuje osrednje visok akcijski potencijal. Raspodjela je puno šira s pomakom u desno i teškog repa te se često naziva log-normalnom (36). Takva distribucija podrazumijeva predominantnu prisutnost malih i slabih sinapsi s opadajućim repom raspodjele prema velikim i jakim sinapsama (40). Ovakav oblik opravdava se kumulativnim učinkom odrednica ovisnima o aktivnosti sinapse, ali ne uzima u obzir da je ista raspodjela pronađena u životinjama gdje nema sinaptičke aktivnosti (41). Pošto je veličina sinapse pozitivno korelirana s brojem AMPA receptora (42) i vrijednosti uzrokovanog EPSP-a nakon impulsa (43), jačinu sinapse može se apstrahirati tako da joj pridodamo određenu vrijednost - tzv. „težinu“ - što se naziva sinaptičkom težinom (eng. Synaptic weights). Istraživanja *in-vitro* i *in-vivo* su pokazala da se veličine glutamatergičkih sinapsi izrazito mijenjaju tijekom vremena od nekoliko sati i dana (44). Pošto se velika pažnja pridaje sinaptičkim težinama bitno je razumjeti koji ih svi procesi mijenjaju (36). Ono što su pronašli u eksperimentima na moždanim kriškama koje su rasle u mediju koji onemogućuje neuralnu aktivnost je 50% povećanje fluorescencije markera veličine PSD-a (protein PSD-95) te širu raspodjelu veličina sinapsi koja je i dalje bila log-normalno raspoređena (36). Iz ovog se zaključuje da ovakva raspodjela može nastati *de novo* te da nije nužna prisutnost odrednica ovisnima o aktivnosti sinapse (36).



Slika 7. – distribucija veličina sinapsi u slučaju modeliranja 1922 sinapse nakon određenog broja vremenskih koraka evolucije simulacije – preuzeto iz Hazan i sur.. (2020) (36)

4. Modeliranje neurona

U povijesnom pregledu vidjeli smo prikaz dvaju različitih modela neurona. Jedan koji je isključivo teoretski i matematički te jedan koji je utemeljen na biofizičkim svojstvima neurona divovske lignje. U području računalne neuroznanosti postoje dva smjera kada se razgovara o modelima neurona – neuroni bi trebali biti prikazani s detaljnim biofizičkim svojstvima (poput onog Hodgkina i Huxleya (10)) ili bi neuroni trebali biti pojednostavljeni na par matematičkih jednadžbi kako bi se što jednostavnije mogli analizirati (poput integriraj i pali (eng. Integrate and fire) modela (45)).

2009. godine svjetsko vodeće društvo u području neuroinformatike INCF (eng. International Neuroinformatics Coordinating Facility) organiziralo je natjecanje kojem je za cilj bilo kvantitativno usporediti različite modele neurona (46). Modeli su trebali biti u stanju predvidjeti kako će izgledati obrazac ispaljivanja akcijskih potencijala neurona ako im je dan obrazac ulazne stimulacije neurona i određeni početni obrazac ispaljivanja danog pravog *in vitro* ili *in vivo* neurona. Ono što je iznenađujuće je da je na natjecanju pobijedio jednostavni integriraj i pali model za razliku od detaljnijih modela koji uzimaju u obzir dendritičku razgranatost neurona i druga morfološka i biofizička svojstva.

S napretkom tehnologije moguće je čak i kompliciranije modele temeljene na biofizičkim svojstvima neurona pokrenuti u više stotina istovremenih inačica koje sve imaju skup vodljivosti za pojedine ionske kanale na različitim dijelovima neurona (bazalni i apikalni dendriti, tijelo, početni segment aksona) što pokazuje nedavni uspjeh Nandi i suradnika (47). Model (nazvan sve-aktivni model (eng. All-active model)) treniran na morfološkim i funkcionalnim svojstvima neurona vidne kore štakora pokazuje različite fenotipe neurona. Kasnije su ti fenotipi uspoređeni s genotipima dobivenima sekvencioniranjem potpune RNA (ribonukleinska kiselina) pojedinih neurona i pronađeno je da su određena genetska svojstva neurona na kojima su trenirani modeli *de novo* manifestirana u modelima poput razlika u provodljivosti za određene ione. Ovaj model generira neurone kojima je određeno mjesto u kori mozga (mjesto u jednom od šest slojeva) te mu je dana morfologija dendrita koja može biti trnovita, rijetko trnovita i netrnovita. Također su im dane i dvije klase od kojih je jedna ekscitatorna s tri podklase, a druga je inhibitorna s četiri podklase te je na taj način odlučeno koja je funkcija tog neurona. Koristeći se evolucijskim algoritmima (algoritmi koji prolaze evolucijske korake za vrijeme kojih optimiziraju svoju funkciju uvođenjem malih promjena u svom zapisu – mutacija – i križanjem najboljih inačica algoritma kako bi se dobio što bolji algoritam (48)) uspjeli su optimizirati dodjeljivanje provodljivosti ionskih kanala na određenim dijelovima neurona kako bi što vjernije oponašali elektrofiziološke podatke. Krajnji rezultat bio je skup od 9.200 evaluiranih modela neurona s različitim svojstvima. Statističkom obradom dobili su da je broj podklasa reduciran na jednu ekscitatornu i tri inhibitorne zbog velikog preklapanja svojstava ekscitatornih neurona, dok su svojstva inhibitornih bolje razdvojena.

Ovakav radni proces za optimiziranje generiranja velikog broja modela s jedne strane pokazuje koliko je unaprijeđeno naše shvaćanje ovih modela i koliko novih podataka dobivamo korištenjem istih modela. Novi problem koji se javlja interpretacija je tih istih podataka jer podaci sami po sebi ne znače ništa ako ih ne možemo iskoristiti za unaprjeđivanje naših znanja ili usmjeravanja ka postavljanju novih pitanja. Stoga jednostavniji modeli koji nam daju podatke koje možemo interpretirati imaju veću epistemičku funkciju, dok ovakvi kompleksni modeli guraju granicu kakvu prirodu i funkciju modela možemo implementirati.

4.1. Integriraj-i-pali modeli

Jedan od najčešće korištenih i najraširenijih modela neurona upravo je integriraj-i-pali model koji opisuje membranski potencijal neurona s obzirom na sinaptičke ulaze i jakost ulazne struje (45). Postoji mnogo različitih modifikacija originalnog integriraj-i-pali modela neurona kako bi se postiglo sličnija aktivnost modela stvarnim eksperimentalnim podacima aktivnosti neurona. Originalno je Louis Lapicque još 1907. opisao model neurona kao ekvivalentni strujni krug koji se sastojao od otpornika i kondenzatora pri kojem se kondenzator puni dok ne dođe do određenog praga nakon kojeg se prazni (49). Detaljniju analizu modela napravio je Archibald Hill 1936. gdje uviđa veliku vremensku razdvojenost između sporog prilaska pragu podražaja neurona i brzog okidanja akcijskog potencijala (50). No ono što je nedostajalo tim ranim modelima je naizgled nasumični obrazac sinaptičkih ulaza, a najranije rješenje ovog problema dali su George Gerstein i Benoit Mandelbrot 1964. (51) koristeći algoritam nasumičnog hoda (eng. Random walk). Kroz godine još mnogi problemi modeliranja realnih neurona su ukazani i riješeni poput uvođenja inhibicije i povratnih potencijala u sam model (45).

Integriraj-i-pali model temelji se na zbrajanju ulaznih ekscitacijskih i inhibicijskih impulsa pomnoženih s njihovim sinaptičkim težinama kako bi se dobila vrijednost koja, ako je prešla prag podražaja, uzrokuje okidanje akcijskog potencijala (45). Sinaptički ulazi mogu biti smatrani kao ulazna struja iona (kod kojih je zbrajanje linearno) ili kao promjena vodljivosti membrane za ione (kod kojih je zbrajanje nelinearno). Ovaj model je točkasti model što znači da se sastoji od jednog odjeljka (eng. Single compartment) te se zanemaruje morfološki izgled dendritičkog stabla pri primanju ulaza. Također se može smatrati i curećim modelom (eng. Leaky model) pošto membranski potencijal ima mogućnost vraćanja u ravnotežno stanje nakon određenog vremena. U slučaju da se radi o integriraj-i-pali modelu koji nema cureće struje, onda se radi o savršenom integratoru koji pamti jačine svojih ulaza dok ne dođe do praga podražaja i ne okine akcijski potencijal. Nakon okidanja akcijskog potencijala dolazi do razdoblja apsolutne refrakternosti gdje nije moguće pokrenuti novi akcijski potencijal. Matematička analiza ovih modela počiva upravo na razdoblju između dvaju šiljaka akcijskih potencijala nazvanih kao intervali između šiljaka (eng. Interspike intervals – ISI) odnosno vrijeme prvog prolaska (eng. First passage time) membranskog potencijala iznad praga podražaja.

Model je opisan sljedećim jednadžbama:

$$C_m \frac{dv(t)}{dt} = I_{leak}(t) + I_S(t) + I_{inj}(t)$$

Pri čemu je C_m je kapacitet membrane, $I_{leak}(t)$ je struja zbog pasivnog curenja iona kroz membranu, $I_S(t)$ je struja zbog sinaptičkih ulaza neurona, a $I_{inj}(t)$ je struja koja je uvedena u neuron unutarstaničnom elektrodom. I_{leak} definirana je kao

$$I_{leak} = -\frac{C_m}{\tau_m} [v(t) - V_0]$$

Gdje su V_0 potencijal mirovanja neurona, a τ_m je vremenska konstanta membrane. Obično se u integriraj-i-pali modelima definira samo potencijal membrane koji je ispod praga podražaja, ali kako bismo obuhvatili i njega, struju za vrijeme izbijanja akcijskog potencijala možemo zapisati kao

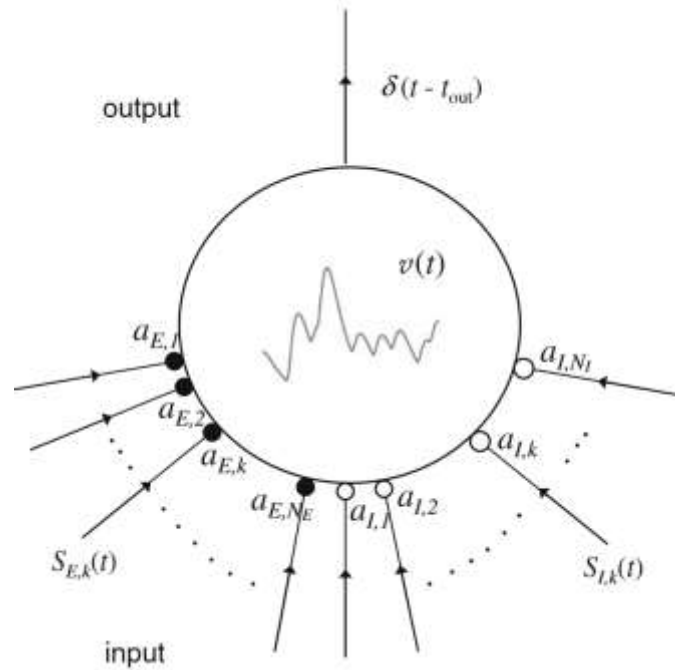
$$I_{spike}(t) = C_m \left[\frac{dv(t)}{dt} \right]_{v=V_{th}}^{-1} (V_{reset} - V_{th}) \delta[v(t) - V_{th}]$$

Gdje je V_{th} prag podražaja nakon kojeg se potencijal vraća na vrijednost V_{reset} . Na kraju, ono što je potrebno definirati su sinaptički ulazi koje smo već naveli da mogu biti ili ulazna struja ili promjena vodljivosti pa njih onda definiramo redom

$$I_S = C_m \sum_{k=1}^{N_E} a_{E,k} S_{E,k}(t) + C_m \sum_{k=1}^{N_I} a_{I,k} S_{I,k}(t)$$

$$I_S(t) = C_m [V_E - v(t)] \sum_{k=1}^{N_E} g_{E,k} S_{E,k}(t) + C_m [V_I - v(t)] \sum_{k=1}^{N_I} g_{I,k} S_{I,k}(t)$$

Prva jednadžba jednostavnija je jer je stalna u vremenu i ne ovisi o membranskom potencijalu pa samo ovisi o zbroju ekscitacijskih i inhibicijskih struja koje dolaze do neurona. N_E i N_I označavaju broj ekscitacijskih i inhibicijskih struja, a_E i a_I amplitude pojedinog sinaptičkog događaja, a S_E i S_I su zapravo skupovi ekscitatornih i inhibitornih impulsa koje neuron prima. Pandan amplitudi u drugoj jednadžbi su g_E i g_I koji su integrirane provodljivosti membrane pri sinaptičkom događaju. Ovdje nam se pojavljuju i V_E i V_I što su potencijali obrata za dane ionske kanale (potencijali pri kojima se mijenja smjer prolaska struje iona kroz njih). S_E i S_I u danom trenutku definirani kao skupovi svih ekscitacijskih, odnosno inhibicijskih sinaptičkih događaja.



Slika 8. Shematski prikaz integriraj-i-pali neurona s N_E ekscitacijskih i N_I inhibicijskih strujnih ulaza. Preuzeto iz Burkitt (2006) (45).

Rješenje ovog sustava zapravo je razina membranskog potencijala u trenutku t , i ono je dano jednadžbom

$$v(t) = V_0 + IR_M(1 - e^{-(t-t_0)/\tau_m})$$

Pri čemu je $V_0 = V_{\text{reset}}$ te iz ovog možemo izvesti da je vrijeme između dvaju akcijskih potencijala (T_{ISI})

$$T_{ISI} = -\tau_m \ln \left[1 - \frac{\theta}{IR_M} \right], \quad (IR_M > \theta)$$

θ je razlika između praga podražaja i potencijala mirovanja, a rješenje ove jednadžbe definirano je samo kada je potencijal membrane viši od θ jer jedino tada dolazi do prelaska praga podražaja i okidanja akcijskog potencijala. Na kraju, možemo izvesti i jednadžbu za frekvenciju izbijanja akcijskih potencijala danog neurona koja je

$$\lambda_{out} = (\tau_R + T_{ISI})^{-1}$$

Gdje je τ_R period apsolutne refrakternosti neurona.

Ovakav integriraj-i-pali model još se naziva i determinističkim jer su sinaptički impulsi predodređeni – točno se zna u kojem će trenutku kako izgledati koji ulaz, bio ekscitacijski, bio inhibicijski. To ne odražava intrinzično stohastičku prirodu sinaptičkih impulsa te je zbog toga potrebno napraviti različite prilagodbe originalnog modela kako bi se ponašao u skladu s eksperimentalnim podacima.

Jedna od ekstenzija integriraj-i-pali modela je prilagodljivi eksponencijalni integriraj-i-pali model (eng. Adaptive exponential integrate and fire) kod kojeg dolazi do prilagodbe membranskog potencijala na način da se ubacuje dodatna struja prilagodbe koje mijenja prag podražaja (52) i tada je generiranje akcijskih potencijala eksponencijalna funkcija (53). Prag podražaja je u ovom modelu prilagodljiv, a to se postiže tako da se on povećava za određeni iznos nakon svakog akcijskog potencijala, dok se u odsustvu njega asimptotski vraća prema početnoj vrijednosti(52). Eksponencijalno svojstvo generiranja akcijskih potencijala proizlazi iz eksperimentalnih podataka koji pokazuju nelinearnost (54). Neurobiološko objašnjenje svojstva prilagodljivosti proizlazi iz činjenice da postoje ionski kanali koji su djelomično otvoreni pri normalnom membranskom potencijalu koji se sporije otvaraju te na taj način stvaraju tu dodatnu struju iona koja uzrokuje promjenu u pragu podražaja (8).

4.2. Stohastički modeli

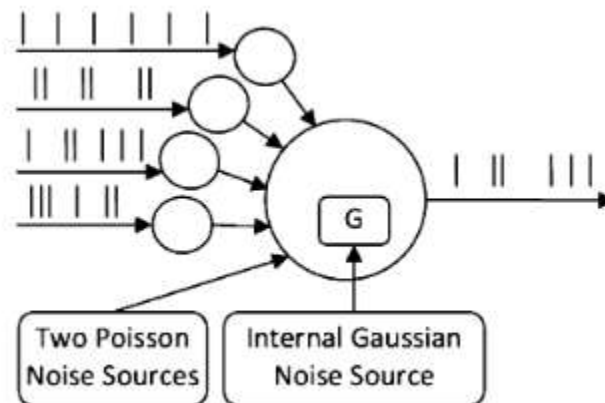
Činjenica je da se pri analizi eksperimentalnih neurofizioloških podataka javlja šum u membranskom potencijalu neurona koji ima dva izvora – ekstrinzični i intrinzični (45). Ekstrinzični izvor šuma su naizgled nasumični dolasci sinaptičkih impulsa, a intrinzični su stohastička svojstva mehanizama ispuštanja neurotransmitera i otvaranja ionskih kanala neurona (45). Intrinzična svojstva puno su fundamentalnija. Tako termalni šum koji se javlja uslijed titranja čestica (što uzrokuju veće temperature) mijenja membranski potencijal i konačni broj ionskih kanala koji se nalaze na određenom mjestu na postsinaptičkoj membrani. Te sile uzrokuju oscilacije u membranskom potencijalu na lokalnoj razini (8). Hodgkin-Huxleyev model zaobilazi ovaj problem pretpostavkom da je uz dovoljno velik broj ionskih kanala učinak oscilacija zanemariv. Ekstrinzični izvori šuma vezani su uz činjenicu da se neuron nalazi unutar mreže drugih neurona te da oni svojim sinaptičkim impulsima uzrokuju šum kroz nepotpunu sinaptičku predaju informacije i utjecaje na samu mrežu (8). Ova vrsta izvora bit će detaljnije objašnjena u dijelu o modelima neuronskih mreža.

Iz ovog je vidljivo da početni uvjeti u kojima se nalazi promatrani neuron odlučuju kako može evoluirati aktivnost neurona (55). Zbog toga se znanje koje ovaj model proizvodi zapravo sastoji od gustoće vjerojatnosti u prostoru mogućih stanja neurona (55) iz kojeg možemo iščitati koja je vjerojatnost da će se neuron ponašati na određeni način nakon određenog sinaptičkog ulaza pri određenim početnim uvjetima membranskog potencijala i do kojeg će stanja sustav evoluirati.

Poopćavanjem integriraj-i-pali modela dolazimo do *modela odgovora na šiljke* (eng. Spike response model – SRM) (8). Osnovna razlika između SRM i integriraj-i-pali modela je upravo u činjenici da SRM nema intrinzični prag podražaja već točan numerički prag nakon kojeg se membranski potencijal vraća u mirovanje (8). SRM se sastoji od jedne varijable u koja se interpretira kao membranski potencijal, a njezina vrijednost dana je jednadžbom

$$u(t) = \sum_f \eta(t - t^f) + \int_0^\infty \kappa(s) I^{ext}(t - s) ds + u_{rest}$$

Pri čemu je η funkcija koja opisuje oblik akcijskog potencijala, $\kappa(s)$ opisuje odgovor membranskog potencijala na kratki strujni impuls, a I^{ext} predstavlja vremenski ovisnu stimilirajuću struju. Što se zapravo događa u SRM-u: zbroj svih prošlih ispaljenih akcijskih potencijala zajedno s trenutnom ulaznom strujom mijenja iznos membranskog potencijala. Ako se taj membranski potencijal popne na razinu iznad praga podražaja (koji je sada dinamičan, ne više statičan zbog stohastičke prirode modela), model ispaljuje akcijski potencijal (8). Pojednostavljeno, κ je linearni odgovor membranskog potencijala na ulazni impuls, dok je η opis akcijskog potencijala koji se dogodi u neuronu kao i posljedična hiperpolarizacija (8). Oblik akcijskog potencijala nije toliko bitan, bitniji nam je precizni period vremena kada se točno dogodio akcijski potencijal. Rješenja ovog modela mogu se koristiti i u modeliranju neuronskih mreža jer se mogu interpretirati kao vektori smjera evolucije stanja neuronskih mreža (55).



Slika 9. – prikaz stohastičkog neurona koji ima ili dva Poissonska (nedeterministička) izvora šuma ili jedan unutrašnji Gaussijanski (normalne distribucije) izvor šuma – preuzeto iz Clayton i sur. (2011) (56)

4.3. Moderni alati

Razvitkom velikog broja modela te povećanjem kapaciteta i računalne snage nastala je potreba za pojednostavljivanjem modeliranja neurona. Sve više neuroznanstvenika počelo je iskorištavati računalne modele kako bi interpretirali eksperimentalne rezultate na novi način i simulirali nove dosad neviđene situacije u potrazi na novim znanjima (57). Toliko povećano korištenje tražilo je pojavu novih alata koji omogućuju lakši pristup modeliranju bez potrebnog velikog teoretskog predznanja iz područja matematike i programiranja. Jedan od prvih ovakvih alata bio je NEURON alat M. L. Hinesa i N. T. Carnevalea sa Sveučilišta u Yaleu (57) koji je omogućio modeliranje pojedinačnih neurona i mreža neurona koji imaju kompleksne razgranate dendritičke morfologije, nehomogenu raspodjelu ionskih kanala, difuziju iona i učinaka drugih glasnika (57). U svome radu iz 1997. Hines i Carnevale (58) opisuju kako koristiti ovaj alat i time omogućuju ogromnom broju znanstvenika pristup modeliranju kompleksnih neurona. Prednosti ovog alata su pristupačnost u pisanju koda modela jer koriste neuroznanstvene stručne izraze, definirane funkcije unutar NEURON-a specifično su dizajnirane za

kontrolu simulacije i prikazivanje rezultata te je alat izrazito računalno brz i efikasan u provođenju izračuna zbog korištenja konkretnih metoda za rješavanje jednadžbi koje opisuju pojedina svojstva neurona (58).

NEURON je alat koji je namijenjen modeliranju dijelova neurona, pojedinačnih stanica i malih neuronskih mreža, pogotovo usmjeravajući svoju efikasnost u rješavanju problema ionskih koncentracija i izvanstaničnog potencijala odmah do membrane neurona (58). Modeliranje se provodi primjenom teorije kabela na postavljene dendritičke morfologije koje su podijeljene u odjeljke (eng. compartments). Svaki pojedini odjeljak ima u sebi čvor (eng. node) u sredini za koji se definira potencijal, a čvorovi susjednih odjeljaka povezani su otpornicima (58). Na kraju svakog odjeljka definiran je dodatan odjeljak s površinom nula kako bi se omogućila primjena struje na kraj tog odjeljka (58). Svaki odjeljak definiran je svojom duljinom i otporom (58). Koraci kojima se radi model neurona u NEURON alatu glasili bi ovako:

1. Definiranje izgleda modela

Ovo je moguće napraviti u „stiliziranom“ obliku gdje se samo pridodaje duljina određenom odjeljku, međutim moguće je uzeti i trodimenzionalne rekonstrukcije morfologije neurona iz stvarnih eksperimenata i ubaciti njihove x,y,z koordinate.

2. Pridruživanje anatomskih i biofizikalnih svojstava

Kako je sintaksa jezika NEURON-a objektno orijentirana, svakom pojedinom objektu (što mogu biti cijeli neuroni ili pojedinačni kompartmenti) mogu se pridružiti varijable poput otpora, pasivne struje koja može imati svoj potencijal obrata i provodljivost, Hodgkin-Huxleyeve struje (struje kroz ionske kanale) koje su određene provodljivosti određenih ionskih kanala.

3. Prikapčanje elektroda za stimulaciju

Elektroda za stimulaciju postavlja se na određeni odjeljak s varijablama odgode, trajanja i amplitude impulsa.

4. Određivanje vremenskog slijeda simulacije

Ovo je posljednji dio prije pokretanja modela, a radi se najčešće u dvije faze – prva pokreće svojstva membranskog potencijala poput otvorenosti kanala, koncentracije iona i izvanstaničnog potencijala, dok druga pomiče model za jedan korak u vremenu te računa i vizualizira rezultate (58).

```

load_file("nrngui.hoc")

create soma
access soma

soma nseg = 1
soma diam = 18.8
soma L = 18.8
soma Ra = 123.0

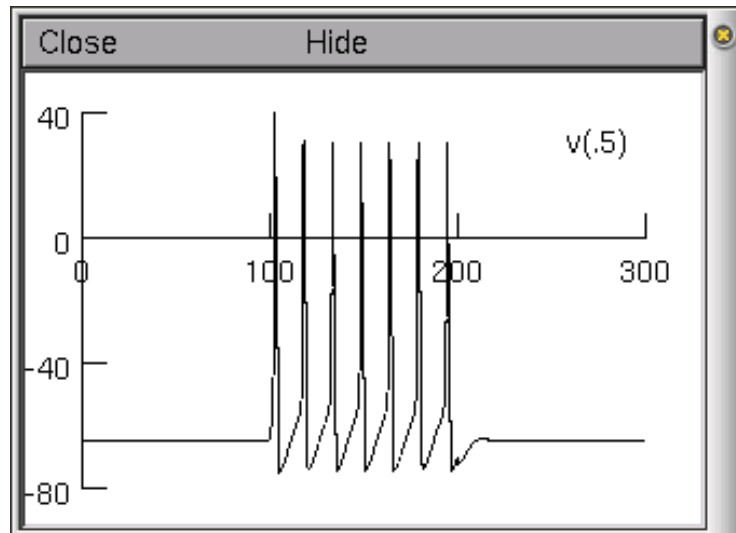
soma insert hh

objectvar stim
soma stim = new IClamp(0.5)

stim.del = 100
stim.dur = 100
stim.amp = 0.1

tstop = 300

```



Slika 10. lijevo – kod u NEURON-u koji kreira neuron s jednim odjeljkom i jednom stimulirajućom elektrodom. Desno – vizualni prikaz rezultata simulacije

Kako je NEURON zaseban alat koji stvara i izvozi podatke u određenom formatu, potrebno je koristiti druge alate ili programe kako bi se radila daljnja obrada podataka. Drugi alati razvijeni su kako bi se moglo u istom programu koristiti više modela paralelno te ih tako kombinirati, obraditi njihove podatke i vizualizirati ih. Neki alati razvijeni su za plaćena sučelja programskih jezika poput MATLAB-a (DynaSim (59)), dok su određeni razvijeni za besplatne i široko dostupne programske jezike poput Pythona. Jedan od primjera besplatnih alata je Brian (60) i njegova nova inačica Brian2 (61) kojima je cilj maksimalno pojednostaviti pravljenje modela za znanstvenike koji do tada nisu imali doticaja s modeliranjem aktivnosti neurona i neuronskih mreža. Goodman i Brette 2009. godine smatrali su da je potrebno više vremena za pisanje novog eksperimentalnog modela u postojećim programskim jezicima od samog pokretanja i izvršavanja simulacije (što često zna trajati satima ili čak danima, ovisno o jačini računala na kojem se pokreće model). U Brian simulatoru, modeli su već predefinirani te zbog toga omogućuju veću fleksibilnost, čitljivost koda i jednostavnost (60). Usmjerenost korištenja ovog modela upravo je u područjima kojima je potreba za jednostavnim simulatorima neurona najpotrebnija – neuroznanosti sistema koji gledaju sklopove neuronskih mreža, ali i u poučavanju računalne neuroznanosti uslijed poteškoća razumijevanja funkcija modela bez predznanja matematike i programiranja. U svome radu navode višestruke probleme i rješenja za iste poput istraživanja novog modela neurona i modeliranja funkcionalnog živčanog sustava (60) koji su najčešći problemi s kojima se susreću studenti pri ulasku u ovo znanstveno područje.

```

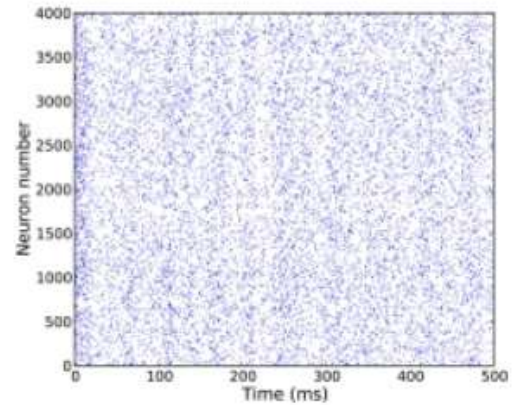
from brian import *
eqs = '''
dV/dt = (ge+gi-(V+49*mV))/(20*ms) : volt
dge/dt = -ge/(5*ms) : volt
dgi/dt = -gi/(10*ms) : volt
'''
P = NeuronGroup(4000, model=eqs,
                threshold=-50*mV, reset=-60*mV)
Pe = P.subgroup(3200)
Pi = P.subgroup(800)
Ce = Connection(Pe, P, 'ge')
Ci = Connection(Pi, P, 'gi')
Ce.connect_random(Pe, P, p=0.02,
                  weight=1.62*mV)
Ci.connect_random(Pi, P, p=0.02,
                  weight=-9*mV)
M = SpikeMonitor(P)
P.V = -60*mV+10*mV*rand(len(P))
run(.5*second)
raster_plot(M)
show()

```

$$\tau_m \frac{dV}{dt} = -(V - E_L) + g_e + g_i$$

$$\tau_e \frac{dg_e}{dt} = -g_e$$

$$\tau_i \frac{dg_i}{dt} = -g_i$$



Slika 11. Lijevo prikaz koda napisanog u Brian alatu za CUBA (temeljena na struji - eng. Current-based) mrežu, desno aktivnost neurona u vremenu, preuzeto iz Goodman i sur. (2008) (62)

Brian2 mijenja paradigmu razvoja modela – umjesto direktnog definiranja modela, on generira računalni kod iz danih jednadžbi koje se onda ubacuju u računalne eksperimente (61). Zbog toga nastaje specifičan i jedinstven kod za svaki pojedini model te na taj način omogućava testiranje nekonvencionalnih modela uz održavanje jednakih performansi (61). Te visoke performanse ostvaruje na način da pretvara kod iz korisniku čitljivog „apstraktnog“ koda (eng. High-level code) poput Pythona u računalno efikasniji „konkretni“ kod (eng. Low-level code). Ovakav način rada omogućuje stvaranje i novih proširenja Brian2 simulatora poput Brian2GeNN (63) alata za ubrzavanje performansi modela koristeći grafičku karticu. Također, omogućeno je i specificiranje cijelog eksperimenta unutar jedne datoteke, dok to nije moguće napraviti u NEURON-u jer se u njemu zasebno definira model i eksperimentalna procedura. Dok Brian2 nudi mogućnost konstruiranja multikompartmentalnih modela s višestrukim odjeljcima, nije toliko efikasan poput NEURON-a u tome, stoga njegova snaga i efikasnost leži u modeliranju modela s jednim odjeljkom (61).

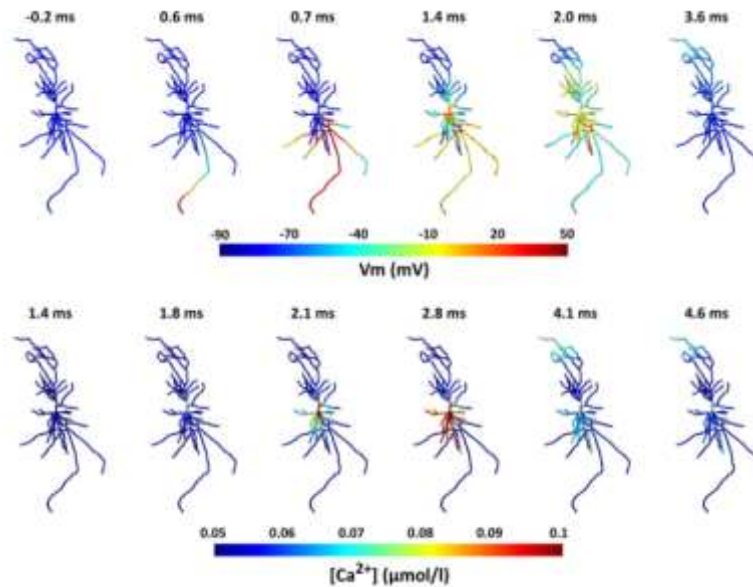
Jedan od zanimljivijih primjera modeliranja u kliničkoj praksi uključuje NeMo-TMS (Neuron Modeling for TMS) model koji su razvili Shirinpour i suradnici 2021. za potrebe modeliranja odgovora neurona na staničnoj i substaničnoj razini na primjenu transkranijalne magnetske stimulacije (TMS) (64). TMS je neinvazivna metoda stimulacije mozga koja radi na principu indukcije električne struje u moždanom tkivu uz pomoć varijabilnog magnetskog polja (64). Ovaj model temelji se na korištenju metode konačnih elemenata (spomenuta u 3. poglavlju) kako bi se

izračunale jakosti električnih polja u području oko zone interesa (*in vitro* modeli ili modeli glave) i alata za simuliranje neurona iz rekonstruiranih morfologija T2N (65) (TREES 2 NEURON alat – detaljnije objašnjen u 6.4.) uz modifikaciju da pojedini odjeljci neurona odgovaraju na izvanjska električna polja. Proces simulacije sastoji se od sljedećih koraka (64):

1. Modeli neurona generiraju se iz rekonstrukcija realističnih neurona pomoću alata NeuroLucida (66) te im se dodaju biofizička svojstva CA1 (cornu ammonis područje hipokampusa) ili neokortikalnih piramidnih neurona automatski kroz T2N alat u MATLABu.
2. Koordinate pojedinih odjeljaka generiranih neurona se pripremaju za daljnje korištenje.
3. Makroskopska električna polja računaju se u područjima interesa (poput *in vitro* modela ili modela glave) kako bi se uračunala prostorna raspoređenost tih polja koristeći SimNIBS alat (67).
4. Električna polja izračunata u 3. koraku spajaju se s koordinatama odjeljka iz 2. koraka izračunavajući kvazipotencijale (potencijali koji se nalaze u svakom pojedinom odjeljku neurona) u danim koordinatama.
5. Željeni rTMS (ponavljajući TMS, eng. Repetitive TMS) obrazac se generira uzimajući u obzir vremenski ponavljajuće uzorke električnih polja te korisnik može odrediti koliko veliki pomak u vremenu želi.
6. Membranski potencijal neurona simulira se ili u uniformnom električnom polju (u slučaju kojeg se preskaču koraci 2,3, i 4) ili u mijenjajućem polju ovisno o prostornoj i vremenskoj raspodjeli TMS-om induciranih električnih polja.
7. Koncentracije kalcija se računaju jednadžbama difuzije i reakcija kalcija s voltažom-ovisnim kalcijским kanalima koristeći NeMo-TMS alat.
8. Rezultati simulacije se vizualiziraju koristeći integrirani GUI (eng. Graphical user interface – grafičko korisničko sučelje) NeMo-TMS alata.

Koristeći ovaj alat pokazali su da se prvo depolariziraju aksonski završeci i to dovoljno da induciraju akcijski potencijal, zatim akson i njegove kolaterale, soma, bazalni dendriti i na kraju apikalni dendriti 4 milisekunde nakon TMS impulsa primijenjenog na *in-vitro* neurone. Razina kalcija prvo kreće rasti u somi, a tek onda u dendritima, dok je u ovom modelu za akson pretpostavljeno da je razina kalcija konstantna. Koristeći ponavljajuću TMS stimulaciju impulsima od 10 Hz pokazano je da se razine kalcija ne vraćaju nazad u ravnotežno stanje dovoljno brzo te da se tijekom vremena povećava razina kalcija u somi. Također je bitna i orijentacija električnih polja s obzirom na neuron (ovisno o orijentaciji će akcijski potencijali biti inicirani u određenim aksonskim završecima), kolika je potrebna snaga polja za aktivaciju stanice te postoji li vremenski odmak pri aktivaciji neurona. Na kraju, koristeći model ljudske glave, modelirali su kako se neuron ponaša pri impulsu od 10 Hz pri različitim intenzitetima. Tako su pokazali da se najjača električna polja induciraju području motoričkog i somatosenzornog područja. Koristeći postojeće rTMS

protokole u modelu pojedinačnog neurona u motoričkom korteksu, otkrili su da ne dolazi do aktivacije neurona nakon svakog impulsa jer se neuron ne stigne vratiti u ravnotežno stanje. Doprinijeli su kliničkoj primjeni rTMS-a razvitkom novog protokola koji koristi nasumične sinaptičke impulse, čime se može dovesti neuron do aktivacije nakon svakog TMS impulsa.



Slika 12. – Dinamika depolarizacije neurona. Gornja slika pokazuje membranski potencijal specifičnih dijelova neurona u određenom trenutku, dok donja slika prikazuje koncentraciju kalcija u specifičnom dijelu neurona u određenom trenutku. Preuzeto iz Saturnino i sur. (2019) (67).

5. Modeliranje neuronskih mreža

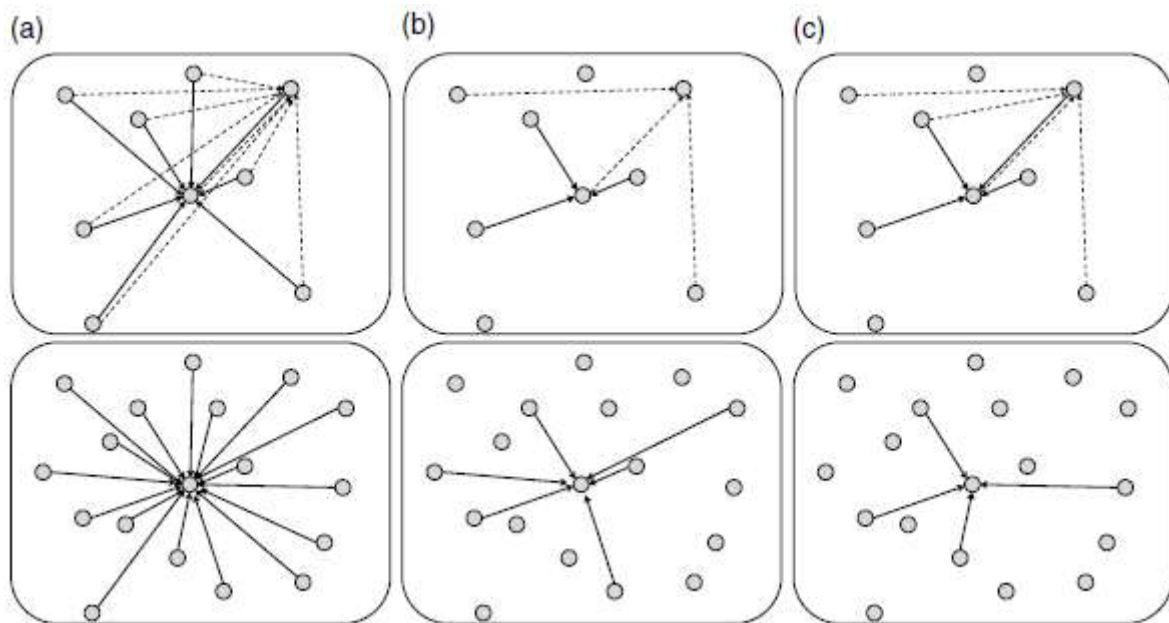
Još se krajem 19. stoljeća smatralo da se svi misaoni procesi događaju uslijed aktivacije većeg broja neurona koji zajedno čine neuronsku mrežu (68). Neuronske mreže, još poznate kao i neuronske populacije, zapravo su neuroni koji međusobno povezani sinapsama čine funkcionalnu jedinicu (8). Kako ne bi došlo do zabune, popularan je naziv neuralnih mreža za određenu vrstu algoritama strojnog učenja te će se zbog toga u slučaju mreža neurona koristiti naziv neuronskih mreža, a u slučaju algoritama strojnog učenja koristit će se naziv neuralnih mreža.

Ideja neuronskih populacija zapravo je interpretacija kolumnarnog ustroja korteksa (8). Kolumnarni ustroj najlakše je objasniti na ideji receptivnih polja vizualnog korteksa gdje se neuron određenog receptivnog polja maksimalno aktivira ovisno o orijentaciji svjetlosnog podražaja (1). Promatrajući više različitih neurona, njihova aktivacija razlikovat će se pri istim svjetlosnom podražaju jer se optimalno aktiviraju pri orijentaciji svjetlosnog podražaja koja najbolje aktivira tu kolumnu tj. tu skupinu neurona te tu pojavu nazivamo neuronskim receptivnim poljem (8). Ta skupina neurona najčešće broji nekoliko tisuća neurona sa sličnim receptivnim poljima te se sličan ustroj nalazi i u auditornom i somatosenzornom korteksu gdje slična receptivna polja odgovaraju bliskim frekvencijama ili bliskim područjima osjeta boli ili vibracija na koži. Kombinacijom ovih kolumni neurona s različitim receptivnim poljima, može se jednostavno ispuniti cijeli perceptivni raspon određenog osjetila te topički organizirati koru na način da bliski čunjići u retini aktiviraju bliske neurone u vizualnom korteksu (8).

Upravo takva kolumnarna organizacija pogodna je u vidu modeliranja neuronskih populacija jer kolumne primaju jednake ulazne impulse pa bi onda bilo moguće izračunati kakav će biti odgovor cijele kolumne na danu stimulaciju. Problem nastaje u činjenici da biološki nisu svi neuroni jednaki i kako bi funkcionirao model moraju biti točno definirane sve sinapse između pojedinih neurona. Ako pretpostavimo da su svi neuroni isti, imaju iste ulaze i snaga interakcije između svakog neurona je jednaka, onda govorimo o homogenim mrežama (8). Ako se neuroni razlikuju po barem jednom od tri navedena svojstva, onda govorimo o heterogenim mrežama (8). Neurone možemo jednostavno definirati kao ekscitacijske i inhibicijske ovisno o sinapsama koje čine s drugim neuronima i kakve EPSP-e rade na postsinaptičkim neuronima što zajedno čini snagu interakcije. Kako bismo u tome uspjeli, njihovo ponašanje moramo definirati nekim postojećim modelom.

Za ulazne i izlazne sinapse problem se jednostavno zaobiđe uvođenjem stimulacijskih elektroda. Za ulazne sinapse one imitiraju konekcije drugih neuronskih populacija s promatranim modelom, dok za izlazne sinapse mogu služiti samo kao pokazatelj aktivnosti populacije. Snage sinapsi između pojedinih neurona promatrane populacije su bitne te se unutar modela mogu odrediti deterministički ili stohastički. Jedan od primjera determinističkog sklopa neurona unutar mreže je potpuno povezana mreža (eng. Full connectivity) gdje je svaki neuron unutar mreže povezan sa svim drugim neuronom unutar iste mreže

(8). Stohastički primjeri povezanosti neurona unutar populacije mogu biti nasumičan s konstantnom vjerojatnosti vezanja (eng. Random coupling with fixed connection probability) ili nasumičan s konstantnim brojem ulaza (eng. Random coupling with fixed number of input).



Slika 13. – prikaz potpuno povezane mreže (a), mreže s konstantnom vjerojatnosti vezanja (b) i mreže s konstantnim brojem ulaza (c) – u gornjem redu prikaz s 9 neurona u mreži za dva neurona, u donjem redu prikaz s 18 neurona za jedan neuron – preuzeto iz Gerstner i sur. (8).

U ovoj neurohistološki vjernoj mreži neurona s određenim brojem sinapsi uviđamo da se zapravo radi o dvije subpopulacije ekscitacijskih i inhibicijskih neurona koji utječu jedni na druge (8). Ono što je također bitan aspekt neuronskih mreža u mozgu, a trebalo bi uračunati u modele povezanosti neurona, upravo je i spajanje ovisno o udaljenosti. Do sad su se samo uzimale u obzir vertikalne veze unutar istih populacija, odnosno kolumni, ali poznato je i da neuroni šalju aksone i stvaraju veze s udaljenim područjima mozga (1). Uzevši primjer kolumni iz vizualnog korteksa, neuroni određene kolumne koji odgovaraju na određenu orijentaciju svjetla češće šalju aksone do neurona koji se nalaze u kolumnama koje odgovaraju na sličnu orijentaciju svjetla koji se nalaze u blizini (69).

5.1. Mreže integriraj-i-pali neurona

Mreže neurona, kako je navedeno u prošlom dijelu, možemo smatrati kao više različitih neuronskih populacija koje međusobno utječu jedne na druge. Te populacije možemo definirati apstraktno poput ekscitacijske populacije i inhibicijske populacije, ili konkretno biofizičkim svojstvima u curećem integriraj-i-pali modelu (8). Ako se pretpostavi da postoji određeni broj populacija $k = 1, 2, \dots, K$, gdje se populacija s indeksom k sastoji od N_k neurona i aktivnost populacije se označava s A_k . Aktivnost cijele populacije (A) u određenom vremenu možemo prikazati kao prosjek svih akcijskih potencijala poslanih od strane pojedinih neurona unutar populacije:

$$A(t) = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \sum_f \delta(t - t_j^f)$$

Stoga možemo reći da je ukupan broj akcijskih potencijala poslanih od strane određene populacije u vremenu Δt (8):

$$V(t) = N_k A_k(t) \Delta t$$

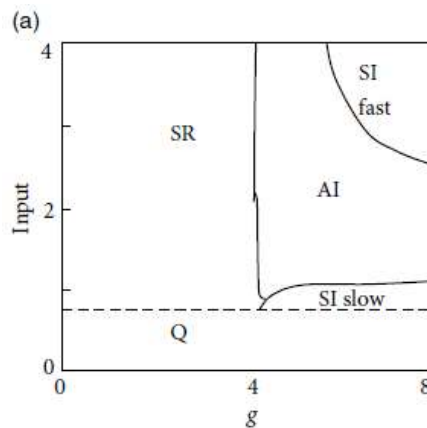
Kada populacija k šalje sve svoje akcijske potencijale u populaciju n (tada se podrazumijeva potpuna povezanost mreže) i količina primljenih akcijskih potencijala u jedinici vremena se definira kao (8):

$$v_k(t) = N_k A_k(t)$$

Ako svaki neuron populacije n prima akcijske potencijale od određenog broj neurona iz populacije k , onda te neurone može označiti kao podskup (dio originalnog skupa od N_k neurona) C_{nk} nasumično odabranih neurona iz populacije k . Tada se podrazumijeva nasumična povezanost s konstantnom vjerojatnosti vezanja (koja iznosi $p = C_{nk}/N_k$) i količina primljenih akcijskih potencijala u jedinici vremena je definirana kao (8):

$$v_k(t) = C_{nk} A_k(t)$$

Težina sinaptičkog ulaza w_{nk} specifična je za svaku pojedinu vezu između povezanih neurona populacije n i k (8). Mreže neurona nam omogućuju da promatramo pojavu ponašanja koja proizlazi iz funkcije tih populacija neurona, poput onog u našem mozgu. Aktivnosti populacija kortikalnih neurona mogu se mjeriti elektroencefalografijom (EEG) za vrijeme koje se elektrode prislanjaju na glavu te one mjere lokalne potencijale na skalpu iz kojih se može vidjeti generalizirana aktivnost populacije neurona koja se nalazi na tom području kore mozga (1). Ta aktivnost može biti sinkronizirana, kada velik broj istovremeno izbijenih malih amplituda akcijskih potencijala neurona sumarno tvore visok šiljak, ili desinkronizirana, kada akcijskih potencijali unutar populacije ne izbijaju istovremeno, već postoji neki vremenski odmak između njih (1). Promatranje pojave sinkronizirane i desinkronizirane aktivnosti te oscilacija između takvih stanju unutar mreže integriraj-i-pali modela može dati uvid u razna svojstva takve aktivnosti neurona. Mijenjanjem pojedinih parametara mreža može prelaziti iz sinkronizirane u desinkroniziranu aktivnost (8). Desinkronizirana nepravilna aktivnost (eng. Asynchronous irregular – AI) tipično ima široku raspodjelu intervala između šiljaka i neuroni u istoj populaciji ne ispaljuju akcijske potencijale u isto vrijeme, dok sinkronizirana pravilna aktivnost (eng. Synchronous regular – SR) ima usku raspodjelu intervala između šiljaka i brze periodične oscilacije aktivnosti populacije neurona (8). Također postoji poseban slučaj sinkronizirane nepravilne (eng. Synchronous irregular – SI) aktivnosti koja može biti brza ili spora, ovisno o periodu oscilacija.



Slika 14. – prikaz aktivnosti populacije neurona, na x osi je omjer ekscitacijskih i inhibicijskih ulaza na pojedinom neuronu, g , na y osi je omjer ukupnih ulaza i praga podražaja, $Input$, Q predstavlja jedva aktivnu mrežu (eng. *quiescent*) zbog nedovoljne količine sinaptičkih ulaza – preuzeto iz Gerstner i sur. (2014) (8)

Ovaj grafički prikaz, zvan Hopfova bifurkacijska krivulja, koji su napravili Gerstner i suradnici prema radu Brunela iz 2000. godine (70) prikazuje koje osobitosti mreže neurona su potrebne kako bi se ostvarila određena vrsta aktivnosti populacije neurona. Brunel uz navedene AI, SR, i SI aktivnosti razlikuje i desinkroniziranu pravilnu aktivnost (eng. *Asynchronous regular*) te ih opisuje ovisno o količini ekscitacijskih i inhibicijskih ulaza, raspona između šiljaka, i frekvenciji sinaptičkih ulaza (70):

- SR aktivnost – ekscitacija dominira nad inhibicijom, distribucija raspona između šiljaka je uska.
- AR aktivnost – ekscitacija dominira nad inhibicijom, distribucija raspona između šiljaka je široka.
- AI aktivnost – inhibicija dominira nad ekscitacijom, frekvencija sinaptičkih ulaza je osrednja.
- SI aktivnost – inhibicija dominira nad ekscitacijom, frekvencija sinaptičkih ulaza je ili visoka ili niska.

U slučaju SR aktivnosti, inhibicija je globalno slaba u usporedbi s ekscitacijom zbog čega je populacija neurona vrlo aktivna (neuroni odašilju akcijske potencijale gotovo najvećom frekvencijom) te je zbog toga jako mala razlika među rasponima između šiljaka. Ako inhibicija postane jača od ekscitacije, ali je sinaptički ulaz izuzetno jak, onda dolazi prvo do jake aktivnosti populacije (velikog broja akcijskih potencijala) koja podražuje inhibicijsku populaciju koja zauzvrat suprimira aktivnost populacije. Nakon prolaska inhibicije, populacija ponovno prima ulaz i krug se ponavlja, kao što vidimo s periodom od $4t$, pri čemu je t trajanje svake od navedenih faza (ekscitacija populacije, pojačana aktivnost ekscitacijskih neurona, pojačana aktivnost inhibicijskih neurona, inhibicija populacije) što dovodi do SI brze aktivnosti (8). Za razliku od SI brze aktivnosti, SI spora aktivnost se javlja kada je sinaptički ulaz relativno slab, utoliko da nije u mogućnosti pokrenuti akcijske potencijale unutar populacije, potrebna je vremenska podudarnost malih fluktuacija aktivnosti unutar populacije i slabog sinaptičkog ulaza kako bi se aktivirala populacije, te je zbog toga period ove populacije puno veći od SI brze aktivnosti (8).

Uz pretpostavku da je mreža neurona velika ($N \gg C_E$) što omogućuje da sinaptički ulazi između stanica nisu korelirani, srednju vrijednost sinaptičkog ulaza $\mu(t)$ za ekscitacijsku ili inhibicijsku populaciju se može definirati kao:

$$\mu(t) = \tau_m w_0 C_E [1 - g/4] A(t - \Delta) + \tau_m w_0 C_E v^{ext}$$

Pri čemu je τ_m vremenska konstanta membrane, w_0 težina sinaptičkog ulaza, g omjer inhibicijskih i ekscitacijskih sinapsi među neuronima unutar populacije, $A(t-\Delta)$ aktivnost populacije u trenutku $t-\Delta$, pri čemu je Δ vremenski korak unutar simulacije, i v^{ext} izvanjski sinaptički ulaz populacije.

Umjesto jednostavnih curećih integriraj-i-pali modela neurona, mrežu se može konstruirati i od kompliciranijih nelinearnih modela poput eksponencijalnog integriraj-i-pali modela. Ovaj model puno bolje aproksimira aktivnost pojedinog neurona od jednostavnog linearnog ili curećeg integriraj-i-pali modela, a aktivnost populacije neurona ovog modela može se prikazati kao zbroj stacionarne aktivnosti populacije A_0 (aktivnosti mreže bez ikakvih sinaptičkih ulaza) i periodički modulirane aktivnosti populacije $A_1(t)$ (aktivnost mreže poslije sinaptičkog ulaza u trenutku t) (8):

$$A(t) = A_0 + A_1(t) = A_0 + \int_0^\infty G(s) I_1(t-s) ds$$

Pri čemu je $G(s)$ linearni filter aktivnosti populacije (propušta samo aktivnost određene frekvencije), a I_1 je struja sinaptičkih ulaza. Prednost ovakvog pristupa je mogućnost analize stabilnosti aktivnosti neuronske mreže jer $G(s)$ sadrži sve potrebne informacije, no taj pristup postaje integrativni.

5.2. Integrativni modeli

U prethodnom poglavlju pokazan je analitički način rješavanja problema aktivnosti međusobno interagirajućih neuronskih populacija, no ako bi se pokušali modelirati neuroni sa stvarnim biofizičkim svojstvima (poput refrakternosti i vremenske adaptacije), rezultirajući sustav diferencijalnih jednadžbi postaje prekompleksan (8). Stoga se uvodi integrativni pristup kojim se želi olakšati integriranje aktivnosti populacije. Prednosti ovog modela su sljedeće:

- Pristup radi za različite vrste modela poput SRM-a.
- Lako se pridodaje intuitivna interpretacija rezultata dobivenih integralom.
- Omogućava procjenu ne samo stacionarne aktivnosti populacije neurona, već i rješenja stanja sustava u bilo kojem trenutku u vremenu.
- Omogućavaju prijelaz na klasične jednadžbe frekvencije izbijanja akcijskih potencijala (*eng.* Rate equations).

U ovom modelu pretpostavlja se da neuroni ne posjeduju mogućnost adaptacije, tj. da unutarnje stanje neurona ovisi samo o sinaptičkom ulazi i vremenu od zadnjeg poslanog akcijskog potencijala (8). Okosnica ovog modela je intervalna distribucija, $P(t|t')$, gustoća vjerojatnosti aktivacije neurona koju

kada se integrira u vremenu se dobije vjerojatnost aktivacije neurona u određenom intervalu vremena (8):

$$P_t = \int_t^{t+\Delta t} P(t|t') dt$$

Kako bi se dobio $\langle s \rangle$, prosječni interval između izbijanja akcijskih potencijala određenog neurona u stacionarnom stanju P_0 , potrebno je integrirati po stacionarnom rasponu intervala:

$$\langle s \rangle = \int_0^{\infty} s P_0(s) ds$$

Pri čemu je onda prosječna frekvencija izbijanja akcijskog potencijala neurona $\nu = 1/\langle s \rangle$. Dodatna pomoć pri razumijevanju aktivnosti može biti i koeficijent varijacije C_V koji nam govori kolika je širina raspodjela intervala između šiljaka akcijskog potencijala. C_V nam je dobar pokazatelj kakva je dinamika izbijanja akcijskih potencijala. C_V je dan formulom:

$$C_V^2 = \frac{\langle \Delta s^2 \rangle}{\langle s \rangle^2}$$

Gdje je Δs integrirana razlika kvadrata intervala između šiljaka akcijskog potencijala i prosječnog intervala šiljaka akcijskog potencijala. Većina determinističkih (jednostavnih) integriraj-i-pali modela ima $C_V = 0$ jer imaju konstantni sinaptički ulaz koji predvidljivo uzrokuje njihovu aktivaciju. Za situaciju kada je $C_V = 1$, kažemo da se radi o Poisson procesu, procesu kojem se zna srednja vrijednost intervala između šiljaka, ali je teško za predvidjeti kada će se dogoditi idući šiljak u željenom intervalu. Ako je $C_V > 1$, znači da se radi o procesu koji je manje pravilan od Poisson procesa (teže predvidljiv) i on se viđa kod intrinzično aktivnih neurona (koji ne ovise samo o sinaptičkim ulazima), dok u slučaju $C_V < 1$ se radi o više pravilnim procesima (8).

Posebnost ovog pristupa leži u činjenici da se mogu modelirati i biofizička svojstva poput refrakternosti i adaptacije pa se stoga ovaj model još naziva i kvazi-oporavljajućim (*eng.* Quasi-renewal) jer ne ovisi samo o sinaptičkim ulazima, već i o povijesti svih odaslanih akcijskih potencijala koji uzrokuju refrakternost (8). Cilj modela je dobiti generaliziranu intervalnu distribuciju (intervalna distribucija za potpunu aktivnost neurona) $P_1(t|\hat{t}_i)$ koja pokazuje gustoću vjerojatnosti da će se idući šiljak akcijskog potencijala dogoditi oko vremena \hat{t}_i ako je neuron imao sinaptički ulaz $I(\hat{t})$ koji je trajao $\hat{t} \leq t$. Kod integriraj-i-pali modela s malim ulaznim šumom (sinaptički ulaz postoji uz implicitno dodanu struju, ali je nizak i nedovoljan da uzorkuje akcijski potencijal sam po sebi), nakon svakog šiljka akcijskog potencijala, vrijednost potencijala mirovanja ili vremenske konstante membrane se nasumično odabire iz prethodno definirane raspodjele njihovih vrijednosti. Između dva oporavljanja membrane, membranski potencijal deterministički evoluira (jer znamo raspodjelu). Kao posljedica toga distribucija $P_1(t|\hat{t}_i)$ idućeg šiljka može se predvidjeti iz raspodjele parametara i determinističkog rješenja jednadžbi

za aktivnost neurona (8). Stoga se ovakav model s niskim šumom može uzeti kao aproksimacija heterogene populacije neurona gdje različiti neuroni u populaciji imaju malo različite, ali fiksne parametre (8).

Za adaptivne modele, u jednadžbu aktivnosti neurona iz prošlog potpoglavlja $A(t)$ treba uvesti član koji opisuje dosadašnju aktivnost neurona (\hat{t} eksplicitno označava zadnji akcijski potencijal) te kako ona utječe na trenutnu aktivnost:

$$A(t) = \int_{-\infty}^t P_{I,A}(t|\hat{t})A(\hat{t})d\hat{t}$$

Posebnost adaptivnih modela leži u činjenici da se mogu primijeniti i na rekurentne mreže (mreže populacija neurona koje utječu same na sebe) (8). Pošto su populacije neurona definirane tako da svi neuroni unutar populacije imaju iste parametre, aktivnost populacije za vrijeme stacionarnog stanja (bez sinaptičkih ulaza) je jednaka aktivnosti pojedinog neurona. Ta aktivnost populacije proizvodi sljedeće sinaptičke ulaze samoj sebi

$$I_0 = I_0^{ext} + J_0 A_0$$

Koji onda modificiraju aktivnost populacije pa se može izvesti jednadžba za izračunavanje aktivnosti populacije:

$$A_0 = g_\sigma(J_0 A_0 + I_0^{ext})$$

Gdje je g_σ ovisnosti neuronske aktivnosti o sinaptičkom ulazu (određuje koliki je potreban sinaptički ulaz kako bi se pokrenuo akcijski potencijal u stanici), a σ označava činjenicu da je u sinaptičkim ulazima i akcijskim potencijalima prisutan šum.

5.3. Modeli sinaptičke plastičnosti i učenja

Bitna stvar kod modeliranja, pogotovo kod neuronskih populacija i traženja točnih jednadžbi aktivnosti, jest ne izgubiti se u apstrahiranju i znati u koju svrhu se kreiraju kakvi modeli. Vidjeli smo različite pristupe modeliranju neuronskih mreža, ali znamo da su svi dijelovi našeg mozga umreženi te da aktivnost tih mreža omogućava obavljanje naših svakodnevnih funkcija. Mogućnost prilagođavanja tih mreža ovisno o njihovom korištenju, nazvana sinaptička plastičnost, objašnjena je već u biološkom neuronu tako da je potrebno pogledati u kojim je procesima ona iskorištena i kako. Pošto sinaptička plastičnost podrazumijeva mijenjanje jakosti sinapse raznim prethodno objašnjenim biološkim mehanizmima, u modelima neuronskih mreža ona se apstrahira uz pomoć varijable w ; sinaptičke jakosti. U modeliranju sinaptičke plastičnosti bitniji je proces način mijenjanja same sinaptičke jakosti, a ne mijenjanje pojedinih mehanizama koje utječu na sinaptičku jakost. Tako da se proces mijenjanja sinaptičkih jakosti između pojedinih neurona naziva učenje, a same procedure kako se mijenjaju

sinaptičke jakosti nazivaju se pravila učenja. Može se primijetiti da se ovdje pojam učenja koristi u svojem najširem mogućem obliku upravo jer podrazumijeva mnogo različitih mehanizama koji se događaju u mozgu – razvoj mozga, pamćenje nečega što smo vidjeli ili učenje nove vještine (8). Pravila učenja uvedena su ovdje da razlikuju procese učenja između modela.

Ograničavajući se na promatranje samo jedne sinapse w_{ij} između presinaptičkog neurona i s aktivnosti v_i i postsinaptičkog neurona j s aktivnosti v_j , Hebbovo učenje ima dva pravila – pravilo lokalnosti (sve potrebno za promjenu sinaptičke jakosti nalazi se u sinapsi koja se mijenja – aktivnost presinaptičkog i postsinaptičkog neurona i sama jakost sinapse) i zajedničke aktivnosti (presinaptički i postsinaptički neuron trebaju biti aktivni u isto vrijeme kako bi došlo do pojačanja sinapse). Stoga se promjena sinaptičke jakosti sinapse w_{ij} može prikazati kao funkcija F koja ovisi o trenutnoj sinaptičkoj jakosti w_{ij} i aktivnost neurona i (v_i) te neurona j (v_j):

$$\frac{d}{dt}w_{ij} = F(w_{ij}; v_i, v_j) = c_{11}^{corr} v_i v_j$$

Skroz desni izraz poseban je oblik pravila Hebbovog učenja kada su svi članovi jednaki nula (članovi koji apstrahiraju presinaptička i postsinaptička svojstva neurona koja utječu na promjenu jakosti sinapse poput količine ispuštenog neurotransmitera, broja AMPA i NMDA receptora i ostalih), osim c_{11}^{corr} člana što označuje pozitivnu konstantu koja odlučuje veličinu promjene kada su oba neurona aktivna (8). Na ovaj način se osigurava da se promjena inkrementalno povećava u iznosima od c_{11}^{corr} do beskonačnosti, što nije slučaj u biološkim neuronima. Stoga su razvijena dva pristupa rješavanju ovog problema – postavljanje „čvrste“ granice (eng. hard bound) ili „blage“ granice (eng. soft bound). U slučaju postavljanja čvrste granice, c_{11}^{corr} postaje konstanta γ_2 kada je jakost sinapse manja od definirane maksimalne jakosti, ali postaje nula kada dođe do maksimalne jakosti te sinapse (w^{max}). Blaga granica definirana je eksponencijalnom funkcijom kojom c_{11}^{corr} teži nuli kako se primiče maksimalnoj vrijednosti sinaptičke jakosti:

$$c_{11}^{corr}(w_{ij}) = \gamma_2 (w^{max} - w_{ij})^\beta$$

Pri čemu su γ_2 i β pozitivne konstante koje moduliraju promjenu vrijednosti c_{11}^{corr} . Mogućnost mijenjanja vrijednosti konstanti omogućuje i ubacivanje dodatnih pravila poput depresije jakosti sinapse (LTD, ako se postavi veličina $\gamma_2 < 0$) ili vraćanja jakosti sinapse na početnu vrijednost nakon određenog vremena izostanka sinaptičkog ulaza ($\beta=1$ i dodavanje člana $c_0 = -\gamma_0 w_{ij}$ koji opisuje inkrementalno smanjenje jakosti sinapse pri nedostatku stimulacije). Mnoga druga pravila su poznata poput pravila kovarijancije (ako su aktivnosti presinaptičkog i postsinaptičkog pozitivno korelirana, sinaptička jakost će se povećati, ako su negativno korelirani onda će se smanjivati, a ako su nekorelirani onda se neće mijenjati), Ojaino pravilo, još znano kao i pravilo kompetencije, (u slučaju više sinapsi koje povezuju presinaptički i postsinaptički neuron, zbroj njihovih jakosti je konstantan – ako se neka sinapsa pojača, ostale se moraju oslabiti) i Bienenstock-Cooper-Munro pravilo ili pravilo selektivnosti ulaza (potrebna

je dovoljno jaka aktivnost presinaptičkog neurona koja uzrokuje EPSP u postsinaptičkom neuronu iznad neke granice).

Uz modeliranje LTP-a i LTD-a, postoji mogućnost modeliranja i STDP-a po pravilu parova. Ono je utemeljeno na opservaciji da u biološkim neuronima dođe do promjene u sinaptičkoj jakosti ovisno o vremenskoj razlici akcijskog potencijala između presinaptičkog i postsinaptičkog neurona (1). U modelu se promjene primjenjuju poslije presinaptičkog i postsinaptičkog akcijskog potencijala, a one su dane sljedećim jednadžbama:

$$\Delta w_+ = A_+(w) \exp\left(-\frac{|\Delta t|}{\tau_+}\right) \text{ at } t_{post} \quad \text{for } t_{pre} < t_{post}$$

$$\Delta w_- = A_-(w) \exp\left(-\frac{|\Delta t|}{\tau_-}\right) \text{ at } t_{pre} \quad \text{for } t_{pre} < t_{post}$$

Gdje $A_{\pm}(w)$ opisuje ovisnost promjene o trenutnoj jakosti sinapse, Δt je razlika vremena akcijskog potencijala postsinaptičkog i presinaptičkog neurona, τ_{\pm} je vremenska konstanta sinapse za pojačanje ili smanjenje jakosti. Problem ovog pristupa je nepoklapanje s eksperimentalnim podacima dobivenim s velikim brojem ponavljanja dvostrukih stimulacija ili pri stimuliranjem po tri ili četiri sinaptička ulaza. Ovaj model pokazuje da ako se poveća frekvencija ponavljanja stimulacije (smanji se Δt) dolazi do povećanja Δw_- naspram Δw_+ i dolazi do smanjenja sinaptičke jakosti. Iz eksperimentalnih podataka se može iščitati da se u biološkim neuronima događa upravo suprotna stvar – povećavanje sinaptičke jakosti (8).

Način kako se zaobišlo tu problematiku je model tripleta koji pazi na ovisnost o frekvenciji sinaptičkih ulaza. Model tripleta se usredotočava na 3 vrška akcijskog potencijala – jedan presinaptički x_j i dva postsinaptička (brzi $y_{i,1}$ koji nastaje od trenutnog vrška i spori $y_{i,2}$ koji je ostatak od prošlog vrška):

$$\Delta w_{ij}^+(t_i^f) = A_+(w_{ij})x_j(t_i^f)y_{i,2}(t_i^{f-})$$

Gdje t_i^{f-} predstavlja da se treba uzeti u obzir vrijednost funkcije $y_{i,2}$ od prethodnog akcijskog potencijala.

Sad kada su definirana pravila učenja, može se pribjeći različitim vrstama učenja. Jedan od najčešće korištenih algoritama u umjetnim neuralnim mrežama jest nenadzirano učenje (eng. unsupervised learning) koje se temelji na činjenici da se sinaptičke jakosti mijenjaju ovisno o statistici sinaptičkih ulaza, za razliku od nadziranog (eng. supervised) ili nagradom-vođenog (eng. reward-based) učenja gdje su sinaptičke jakosti optimizirane za rješavanje nekog problema ljudskom intervencijom ili funkcijom nagrađivanja (eng. reward function) (8). Proces nenadziranog učenja događa se i u modelu Hebbovog učenja gdje se sinaptičke jakosti povećavaju i smanjuju ovisno o aktivnosti i njenoj frekvenciji presinaptičkih i postsinaptičkih neurona. Uključi li se pravilo kompeticije, dolazimo do pojave

homosinaptičkog LTP-a (sinaptička jakost sinapsi koje se podražuju raste) i heterosinaptičkog LTD-a (sinaptička jakost sinapsi koje se ne podražuju pada) (8).

Ako se promatra jedan postsinaptički neuron koji prima N sinaptičkih ulaza od N presinaptičkih neurona, presinaptička aktivnost potiče aktivnost postsinaptičkog neurona, a zajednička aktivnost ta dva neurona uzrokuje promjenu sinaptičkih jakosti sinapse i:

$$\Delta w_i = \gamma v^{post} v_i^{pre}$$

Pri čemu je γ koeficijent učenja (*eng.* learning rate) koje je veći od nula, ali mnogo manji od jedan (može se povući paralela između njega i c_{11}^{corr} utoliko da i jedan i drugi opisuju brzinu promjene sinaptičkih jakosti). Ako se pogleda sa statističke strane, ovakva pravila učenja efektivno provode analizu glavnih komponenti (*eng.* Principal component analysis – PCA) jer sinapse koje najviše utječu na aktivnost postsinaptičkog neurona bivaju najviše ojačane, dok sinapse koje ne utječu toliko bivaju utišane, slično kao što PCA pronalazi varijable koje najviše utječu na vrijednosti unutar promatranog zbira podataka (8).

5.4. Moderni alati

Napretkom tehnologije, mogućnosti modeliranja sve većih i većih neuronskih populacija omogućili su promatranje i teoretiziranje kompleksnijeg ponašanja mreža neurona, ovisnosti njihovih aktivnosti o raznim svojstvima pojedinačnih neurona (71), sinaptičkim težinama (72) i povezanosti neurona unutar mreže (73) te uzorcima aktivnosti (73,74).

Kim i suradnici su primijetili da mogu optimizirati algoritam curećeg integriraj-i-pali modela (71) kojem je zapravo potrebno jako puno računalne memorije kako bi funkcionirao jer je potrebno spremati informacije o membranskom potencijalu svakog pojedinačnog neurona i njegovog odjeljka (ako se radi o multikompartmentalnim neuronima). Njihovo rješenje sastoji se od korištenja „zajedničkih“ neurona u među slojevima kako bi se smanjila količina informacija koja se treba spremati. Slojevi, koji su posuđeni izraz iz umjetnih neuralnih mreža, odnose se na subpopulaciju neurona koja prima sinaptičke ulaze iz ulaznog sloja (sinaptički ulazi u neuronsku mrežu) ili iz prethodnog sloja (druge populacije neurona) i šalje ih u idući sloj (druga populacija neurona) ili u izlazni sloj (izlazna aktivnost neuronske mreže). Svi su neuroni jednaki zato što se neuroni među slojevima definiraju istim ionskim kanalima i njihovim vodljivostima. Na taj način se neuroni među slojevima jednako ponašaju pa onda nije potrebno spremati podatke za svaki pojedinačni neuron, već samo za jedan koji predstavlja određenu subpopulaciju. Ove neuronske mreže koje kombiniraju svojstva umjetnih i stvarnih neuronskih mreža uspijevaju čak zadržati i svojstva vremenom-ovisnih ulaza te omogućavaju izračunavanje retrogradnih gradijenata (*eng.* gradient backpropagation) koji predstavljaju način promjene sinaptičkih težina nakon što mreža izbaci nepovoljan ili neočekivan rezultat (75), što je poznat nerješiv problem u znanosti o umjetnim neuralnim mrežama (73). Dijeljenje navedene memorije radi na sljedeći način:

1. Pretpostavi se da slojevi imaju iste aktivacije (potrebni su im sinaptički ulazi jednakih jakosti) od sloja l do sloja $l+m$
2. Računa se membranski potencijal sloja $l+1$ zbrojem membranskog potencijala prethodnog sloja (umanjenog za vrijednost praga podražaja) i umnoška sinaptičkih težina i aktivnosti neurona iz prethodnog sloja
3. Sloj $l+1$ odašilje akcijske potencijale u sljedeći sloj, a informacija o odaslanim akcijskim potencijalima šalje se svim slojevima (od l do $l+m$) te u sljedećem vremenskom koraku, sloj $l+m$ ima isti membranski potencijal kao i sloj l

Na ovaj način se izračunati membranski potencijali dijele između slojeva, a potrebna memorija za spremanje informacija o mreži se smanjuje onoliko puta koliko slojeva ima mreža. Također spominju i dijeljenje informacija između istih „kanala“ neurona, što su samo neuroni koji primaju iste sinaptičke ulaze. Ovu mogućnost uspjeli su implementirati na način da se aktivnosti neurona zbrajaju kroz mrežu kako prolazi akcijski potencijal tj. informacija od jednog sloja do drugog sloja pa ti neuroni tvore grupu (kanal). Na ovaj način ne samo da se neuroni mogu dijeliti lateralno (unutar istog sloja) već i sekvencijalno (niz cijelu mrežu). Kombinirajući ova dva pristupa, uspjeli su smanjiti potrebnu memoriju za faktor N gdje je N broj različitih grupa neurona. Također bitna osobitost ovog pristupa jest i mogućnost računanja retrogradnih gradijenata koja proizlazi iz činjenice da se ona može izračunati za dani sloj uz pomoć membranskog potencijala sljedećeg sloja (71) uz zadržavanje vremenskih i prostornih osobitosti gradijenata. Te osobitosti omogućavaju mreži pravilan odgovor na sinaptički ulaz koji je vremenski kodiran (poput slučaja sa STDP tripletima). Ovakav pristup u zadržava efikasnost u razini ostalih sličnih modela koji koriste cureći integriraj-i-pali model, no smanjuje potrebnu memoriju za spremanje pojedinih dijelova mreže.

S druge strane, način za istraživanje ponašanja umjetnih neuralnih mreža može se raditi tako da se njihova arhitektura preslika na mreže integriraj-i-pali neurona i promatra njihova aktivnost. Gao i suradnici su riješili osobito težak problem u prebacivanju s umjetnih neuralnih mreža na mreže integriraj-i-pali neurona s zadržavanjem sinaptičkih jakosti (72). Nemogućnost primjenjivanja retrogradnih promjena sinaptičkim jakostima kako bi se postiglo učenje unutar mreže bio glavni ograničavajući faktor ovog modela. Dosadašnji način kako se to provodilo jest treniranje umjetne neuralne mreže koja arhitektonski izgleda isto kao i mreža bioloških neurona, uzimanje naučenih sinaptičkih težina iz tog modela i njihovo direktno korištenje biološkoj mreži. Taj proces zahtijeva dodatno procesiranje zapisa kako bi se dobili iskoristivi podaci koji se mogu interpretirati kao sinaptički ulazi i frekvencija izbijanja akcijskih potencijala. Pristup koji su napravili Gao i suradnici koristio je prilagodbu integriraj-i-pali modela neurona s modifikacijom za kalcijску struju koja služi kao medijator (ili ispravljač) između aktivnosti tipičnih integriraj-i-pali neurona i neurona koji se koriste u umjetnim neuralnim mrežama (72). Procedura koju su pratili je sljedeća:

1. Uzme se bilo koji QAT program (. quantization-aware training – trening svjestan kvantizacije tj. vrsta treniranja koja smanjuje količinu memorije potrebnu za skladištenje svih sinaptičkih jakosti umjetnih neuralnih mreža i ubrzava brzinu treniranja (76)) za treniranje umjetne neuronske mreže koja ima istu arhitekturu kao i biološka neuralna mreža
2. Izvezu se vrijednosti sinaptičkih težina i primijene na biološku neuralnu mrežu iz čega se analitički izračunaju pragovi podražaja pojedinih neurona

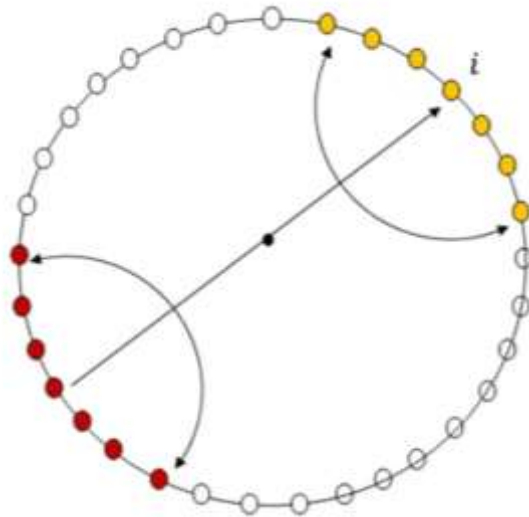
Trenirajući i provjeravajući uspješnost neuralne mreže dobivene na navedeni način, Gao i suradnici su uvidjeli da dobivaju rezultate konkurentne trenutnim vodećim rješenjima u području prepoznavanja objekata (72).

Druga bitna stavka mreža neurona jest povezanost neurona, a Casadiego i suradnici predlažu teoretski model iz kojeg bi se povezanost elemenata mreže mogla odrediti iz aktivnosti mreže (73). Autori direktno impliciraju da je iskoristivost ovakvog teoretskog modela upravo u području neuroznanosti te da ako je praktično moguće dokazati povezanost neurona u neuronskoj mreži iz same aktivnosti te mreže, postoji mogućnost jednostavnije integracije anatomije i funkcije bioloških neuronskih mreža. Podrazumijevajući mrežu od N neurona, Casadiego navodi da su za pronalaženje povezanosti neurona bitni ISI i CSI (*eng.* cross-spike intervals – intervali između šiljaka različitih neurona – potrebni za uspostavljanje uzročno-posljedičnih veza). ISI aktivnosti neurona i su dani kao vrijednosti neke nepoznate funkcije h_i (u biološkom smislu ovo je apstrakcija svih genetički određenih svojstava pojedinog neurona poput vrsta i količine određenih receptora, količini neurotransmitera koje ispušta presinaptički neuron u sinaptičku pukotinu i mnogih drugih) dok se CSI prikazuju unutar matrice dimenzija $N \times K$ gdje je K broj akcijskih potencijala stanice i . Zatim određivanjem gradijenta aktivnosti prema ISI i CSI se može linearnom regresijom dobiti koje sinapse su „žarišta“ aktivnosti. Kako bi validirali ovaj algoritam, primijenili su ga na više različitih mreža integriraj-i-pali neurona, Hodgkin-Huxley neurona, s velikim brojem neurona, s pravilnom, nepravilnom i visokofrekventnom kratkotrajnom aktivnosti i mnogim drugim. Njihov algoritam pokazao je značajno bolje rezultate od drugih algoritama, pogotovo pri rješavanju povezanosti unutar velikih mreža (više od 2000 integriraj-i-pali neurona) (73).

S druge strane, primjena ovakvih neuralnih mreža na stvarne biološke mreže mogla bi pomoći u problemu identifikacije osoba pomoću aktivnosti pojedinih mreža (77). Finn i suradnici su 2015. analizirali moždanu aktivnost ljudi pod fMRI-jem (funkcionalna magnetska rezonanca, *eng.* functional magnetic resonance imaging – funkcionalna pretraga koja mjeri aktivnost moždanih regija ovisno o povećanom protoku krvi kroz određeni dio mozga) za vrijeme različitih aktivnosti (stanje mirovanja, za vrijeme obavljanja motoričkih, emocionalnih ili vizualnih zadataka) i probali odrediti može li se fMRI koristiti kako bi se identificirala osoba. Konkretno pitanje je li funkcionalna povezanost pojedine mreže dovoljno različita između pojedinaca da ih se može identificirati. Snimanjem 126 pojedinaca su za

svakog odredili 268 čvorova aktivnosti (eng. nodes) i 35.778 bridova (povezanost svakog čvora sa svakim drugim čvorom, izuzev sebe, još znani kao rubovi, eng. edges). Čvorove su zatim podijelili u 8 funkcionalnih mreža (medijalna frontalna, frontoparijetalna, medijalna frontoparijetalna (još poznata kao *eng. default mode network*), supkortikalno-cerebelarna, motorička, vizualna 1 i 2 te vizualna asocijacijska). Bridovima su dodijelili vrijednosti korelacije aktivnosti čvorova koje spajaju. Pronašli su da su karakteristični uzorci povezivanja distribuirani u mozgu, a to su kvantificirali određivanjem snage diferencijacije (*eng. differential power, DP*) i grupne konzistencije (*eng. group consistency*). Snaga diferencijacije predstavlja koliko je određeni brid „karakterističan“ za određenu osobu. Visok DP imaju bridovi koji ostaju slične vrijednosti u različitim situacijama (kada osoba obavlja različite zadatke). Grupna konzistencija predstavlja konzistentnost vrijednosti nekog brida kod pojedinca i među pojedincima. Najveći broj bridova visokog DP imali su čvorovi u frontoparijetalnoj i medijalnoj frontoparijetalnoj mreži (što ima smisla jer su ove mreže uključene u više kognitivne funkcije (1)), dok su najveći broj bridova visoke grupne konzistencije imali čvorovi u motoričkoj i vizualnoj mreži (što također ima smisla jer je vizualno procesiranje i motorička kontrola dobro očuvana i jako slična među pojedincima).

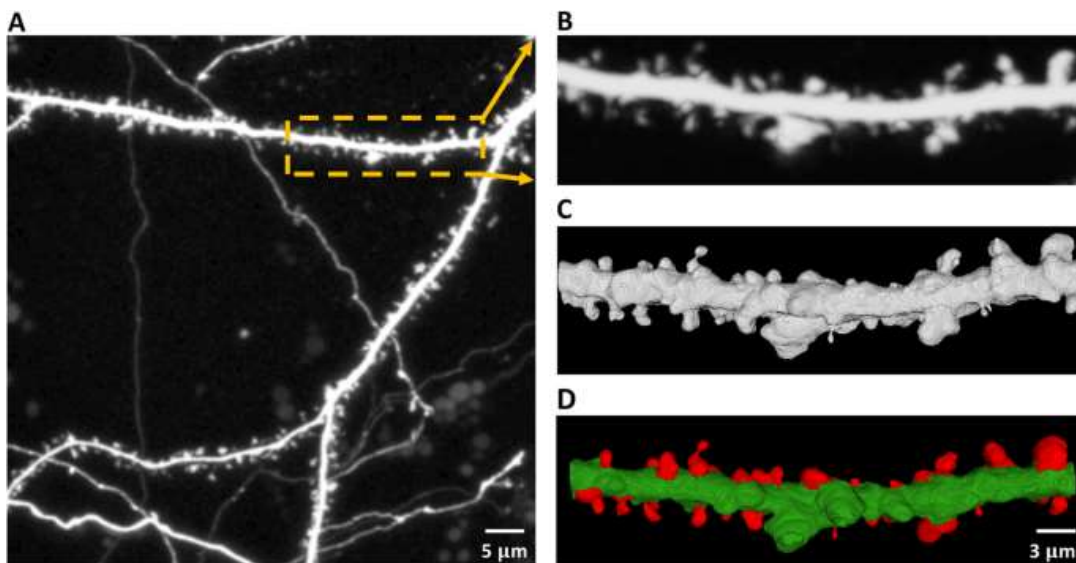
Tsigkri-DeSmedt i suradnici nadogradili su istraživanje Finna i suradnika zamijetivši da bridovi s visokim DP spajaju čvorove koji se nalaze u različitim hemisferama i postavljeni su dijagonalno jedno od drugog (npr. da se jedan nalazi frontalno lijevo, drugi parijetalno desno) (74). Takvi karakteristični bridovi se mogu koristiti pri identifikaciji pojedinaca. Također su uvidjeli da bridovi s visokom grupnom konzistencijom povezuju čvorove u različitim hemisferama okomito na ravninu koja ih razdjeljuje (ravninu *fissure longitudinalis*). Promatrajući povezanosti među mrežama različitih dijelova mozga te ih uspoređujući s uzorcima aktivnosti tih mreža, Tsigkri-DeSmedt i suradnici tražili su kimerična stanja (*eng. chimera states*) – kolektivno stanje karakterizirano istovremenim prisustvom sinkronizirane i desinkronizirane aktivnosti populacija unutar mreže (74) – i oscilacije ispod praga (*eng. subthreshold oscillations*) – fenomen kada se mreža podijeli u dvije populacije u kojoj jedna poprima aktivnost oscilacije s malim amplitudama, dok druga prelazi u stanje srednje raspodjele brzina na više razina (*eng. multileveled mean phase velocity distribution* – unutar populacije javljaju se oscilacije u više različitih frekvencija). Promatrajući jednostavne direktne dijagonalne povezanosti (koje nisu tipične za biološke neurone – oni se češće spajaju sa svojim susjedima nego udaljenim neuronima u drugim režnjevima) javljaju se multi-kimerična stanja koja su tipična za cureće integriraj-i-pali neurone. Zanimljivo je da ako se uvede granica na broj dijagonalnih povezanosti, kimerična stanja mogu ili potpuno izostati (kod malog broja dijagonalnih povezanosti) ili se početi postupno pojavljivati (kod većeg broja dijagonalnih povezanosti). Pojava ovakvih kimeričnih stanja u jednostavnim modelima neuronskih mreža mogla bi objasniti puno kompliciranije pojave koje vidimo kod životinja i ljudi poput jednohemisfernog spavanja (*eng. unihemispheric sleep* – kada jedna hemisfera spava, a druga je budna) (78).



Slika 14. - Prikaz kako su spojeni neuroni te prikaz dijagonalnih veza – preuzeto iz Tsigkri-DeSmedt i sur. (74)

6. Modeliranje morfologije dendrita

Morfologija dendrita obilježena je višestrukim grananjima poput granja drveća, a ono je posljedica njegove glavne funkcije – primanje sinaptičkih ulaza s aksonskih završetaka drugih neurona i prosljeđivanje postsinaptičkih potencijala do tijela neurona (79). Proučavanje dendrita daje nam uvid u funkciju pojedinih neurona na osnovu njihove povezanosti i jedan je od najboljih načina za klasificiranje neurona (80). Također, morfologija neurona igra veliku ulogu u raznim patologijama poput autizma, epilepsije, Alzheimerove i Parkinsonove bolesti (79).

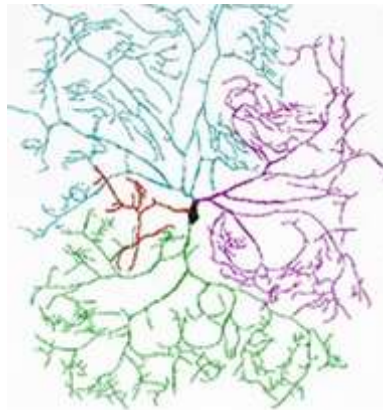


Slika 15. – digitalne rekonstrukcije dendrita i dendritičkih segmenata, kao i pojedinih dendritičkih trnova – preuzeto iz Basu i sur. (2018) (81).

Analizirane morfologije dendrita spremaju se u .swc datoteci koji je sada već ustaljen format za spremanje dendritičkih morfologija (82). Sastoji se od indeksa objekta, identifikatora strukture (brojevi koji označavaju različite dijelove neurona), x, y, z koordinate, radijusa dendrita i naposljetku indeks nadređenog čvora (ako se radi o „roditeljskom“ čvoru (početnom čvoru – onom koji izlazi iz some), onda je vrijednost -1). Standardizirani identifikatori strukture su: 0 – nedefiniran, 1 – soma, 2 – akson, 3 - (bazalni) dendrit, 4 - apikalni dendrit, 5+ - dodatne oznake poput točke grananja, kraja dendrita i slično. Postoji i drugi način spremanja neuralnih morfologija, a to je u obliku mreža (*eng.* mesh) koje su definirane vrhovima međusobno povezanih trokuta. Ovakav način pohrane dijelova dendrita omogućava veću količinu detalja te se koriste u modelima kojima je izuzetno bitna visoka prostorna preciznost (79) (poput modela difuzije neurotransmitera s kojima smo se susreli u poglavlju o sinapsama).

Velika količina već rekonstruiranih hipokampalnih neurona dostupna je na internetu (82) s ciljem povećanja korištenja realističnih dendritičkih morfologija u funkcionalnim modelima. U trenutku pisanja, na stranici neuromorpho.org nalazi se preko 256.000 rekonstruiranih neurona (83).

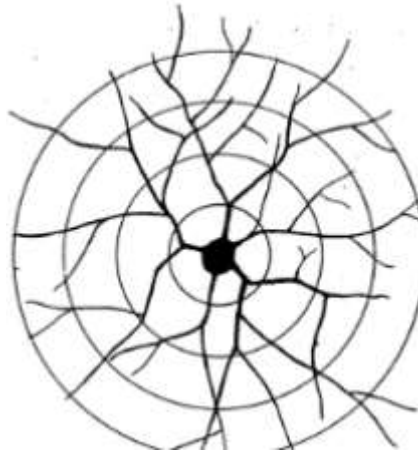
Nakon što su dendritičke morfologije rekonstruirane i spremljene, mogu se koristiti za morfometriju (mjerenje različitih morfoloških osobitosti neurona) i kvantifikaciju (određivanje specifičnih veličina neurona u svrhu odgovora konkretnih pitanja, poput klasifikacije neurona) (79). Uvodi se i precizna nomenklatura kako bi se točno znalo o kojim se veličinama i osobitostima neurona radi, stoga se svi dendriti jednog neurona prikazuju kao stablo koje je ukorijenjeno u tijelu neurona te se taj dio naziva inicijalni segment. Inicijalni segment se grana na dvije grane koje se sastoje od dendritičkih segmenata koji se spajaju u području bifurkacije. Svaka grana ima barem jednu krajnju točku (*eng.* Termination point) koje je mjesto gdje ta grana završava. Kako se djelomično preuzima nomenklatura iz teorije grafova, korijen, grane i krajnje točke su u tom smislu čvorovi, a dendritički segmenti su bridovi (79).



Slika 16. – rekonstruirana digitalna morfologija neurona – preuzeto iz Nanda i sur.2018 ((84)

Morfometrijske mjere se mogu podijeliti na topološke i geometrijske. Topološke gledaju u uzorak grananja dendritičkog stabla te ih ne zanimaju stvarne udaljenosti između čvorova, dok geometrijske promatraju stvarne udaljenosti između dijelova stabla. Primjeri topoloških mjera uključuju: broj inicijalnih segmenata (korijena), broj bifurkacija (točaka grananja), razina grananja (koje grananje je po redu od korijena) i druge. Primjeri geometrijskih mjera uključuju: duljine korijena, duljine segmenata između grananja, fraktalna dimenzija (mjera samosličnosti dendrita – koliko prostora zauzimaju dendriti) i drugi. Također mogu se koristiti i funkcionalne mjere koje su bitne pri izvođenju funkcionalnog modeliranja na digitalnim rekonstrukcijama, a one su primjerice omjer promjera grane-roditelja i grane-kćeri, kritična perkolacijska gustoća (mogućnost dendrita da stvori vezu s nasumičnim neuronom u određenom prostoru) i druge (79).

Koristeći ove morfometrijske mjere može se izračunati sličnost između morfologija različitih neurona i na taj način klasificirati neurone u grupe raznim statističkim testovima. Pri ovom postupku treba paziti na ovisnost i neovisnost pojedinih mjera neurona. Primjerice, duljina segmenta dendrita može biti neovisna, a može ovisiti o razini grananja pojedinog segmenta. Ovom problemu doskočio je Sholl crtajući koncentrične krugove s tijelom neurona u sredini i brojeći presjeke neurona s krugovima te se takva analiza naziva Shollovom analizom.



Slika 17. Shollova analiza – koncentrični krugovi sijeku dendrite – preuzeto iz Morrison i sur. (2021) (85)

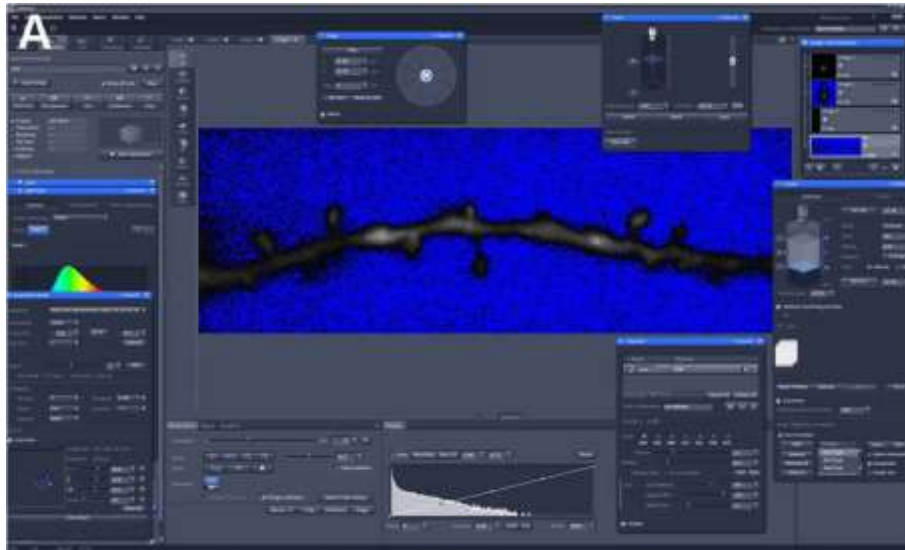
6.1. Digitalne rekonstrukcije dendrita

Digitalne rekonstrukcije dendrita podrazumijevaju uzimanje podataka (poput slika) prikupljenih mikroskopom i njihovo prebacivanje u računalni oblik (79). Te digitalne rekonstrukcije mogu pomoći pri izradi multikompartmentalnih modela (u alatima poput NEURON-a) radi funkcionalnog modeliranja. Najčešći pristupi digitalnom rekonstruiranju podrazumijevaju korištenje trodimenzionalnih z-stackova (više dvodimenzionalnih slika snimljenih na različitim razinama tkiva koje se slažu jedne na drugi i omogućavaju pseudo-trodimenzionalni prikaz) dobivenih konfokalnom ili multifotonskom mikroskopijom. Kasnije se iz tih slika različitim softverima može segmentirati dendrite, poput:

1. polu-manualno - Neurolucida (86)
2. polu-automatski - Neuromantic (87), V3D-Neuron (88), SNT (89)
3. automatski – Imaris, TREES (90)

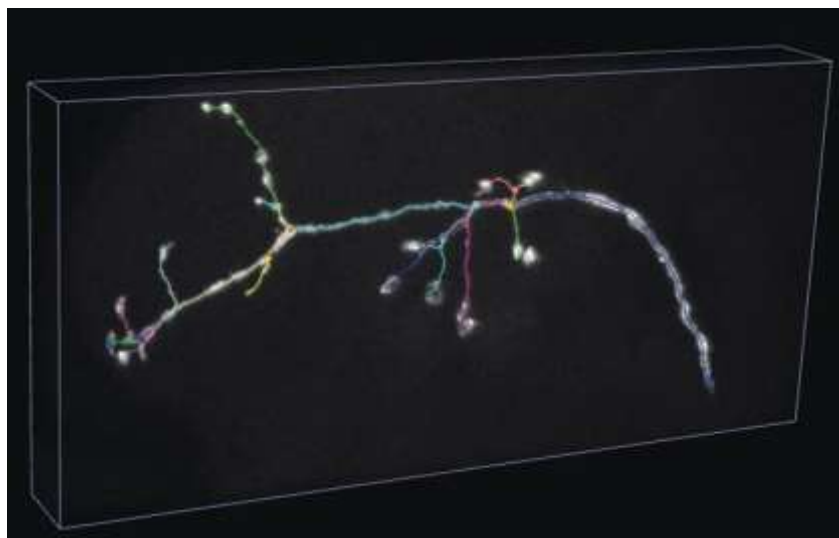
Neurolucida je plaćeni program koji su napravili Jacob i Edmund Glaser na Sveučilištu u Vermontu 1990. godine za potrebe izrade trodimenzionalnih neuromorfologija sa svjetlosnog mikroskopa i fotografija s elektronskog mikroskopa(86). Upotrebljivost Neurolucide oslanjala se na činjenicu da mikroskopi imaju mogućnost spajanja video kamere ili camere lucide (zbira zrcala koji lome i prikazuju sliku na zaslonu na kojem opažač crta). Također je dobro imati i motorizirano postolje koje se može pomicati direktno iz Neurolucide ili uz pomoć kontrolera kako bi se omogućilo micanje kroz slojeve i održavanje optimalne razine u tkivu za opertavanje morfologije. Mogućnosti rada s Neurolucidom podrazumijevaju kalibraciju leće mikroskopa, pronalazak i mapiranje dendritičkog stabla, trodimenzionalna rotacija modela te morfometrijska i statistička analiza. Korisničko sučelje programa sastoji se od „radne površine“ na kojoj se događa opertavanje morfometrije i izbornika na vrhu kojim se mogu birati razne opcije poput odabira leće, preuzimanje podataka, mapiranje, mjerenje, pomicanje itd. Digitalna rekonstrukcija obavlja se manualno na način da promatrač prati željene morfologije kroz

slojeve preparata i crta ih na zaslonu (najčešće uz pomoć grafičkog tableta). A NeuroLucida prati u kojoj razini se promatrač nalazi i prevodi crtež u trodimenzionalne točke u virtualnom prostoru i sprema ih u binarnom obliku. Zatim je moguće vizualizirati tu trodimenzionalnu morfologiju unutar NeuroLucide i odraditi jednostavnu morfometrijsku i statističku analizu poput određivanja površine i opsega tijela neurona, broja grana i njihovih duljina, duljine dendrita i aksona, volumen određenih kontura i mnoge druge. Modernija izdanja NeuroLucide imaju razna proširenja za automatsku rekonstrukciju dendrita, automatsku klasifikaciju dendrita, dendritičkih spina i aksona.



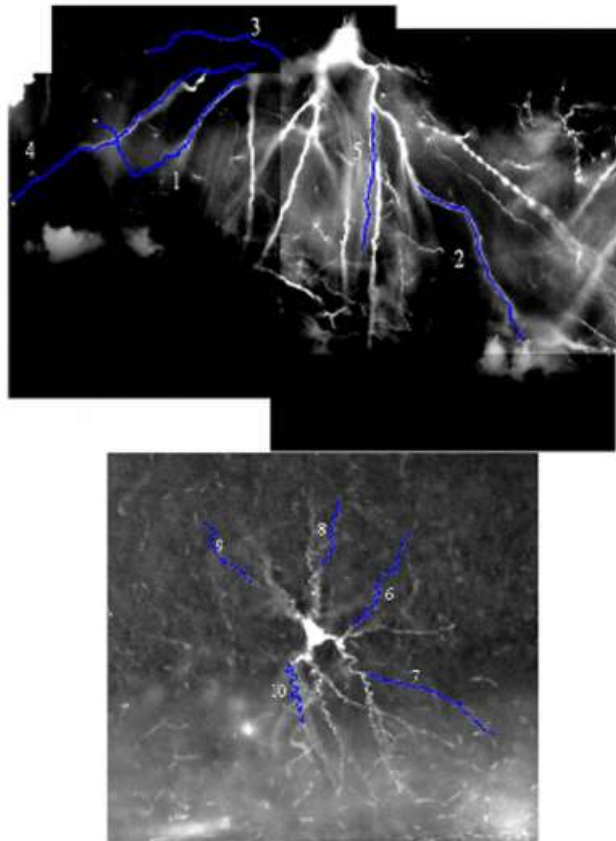
Slika 18. – Radna površina NeuroLucide – preuzeto iz Dickstein i sur. (2016) (91)

V3D sustav napravili su Peng i suradnici za potrebe vizualizacije 3D, 4D i 5D struktura na kućnim računalima i laptopima (88). Prednost ovog softvera je u jednostavnoj trodimenzionalnoj vizualizaciji u trenutnom vremenu i još jednostavnijem odabiranju čvorova pojedinih dijelova neurita iz kojih traženjem optimalnih puteva V3D algoritam rekonstruira ostatke dendrita. Također posjeduje mogućnost dodavanja proširenja u vidu drugih algoritama za neuralne rekonstrukcije.



Slika 18. – trodimenzionalna vizualizacija rekonstruiranog neurona – preuzeto iz Peng et al. (2010) (88)

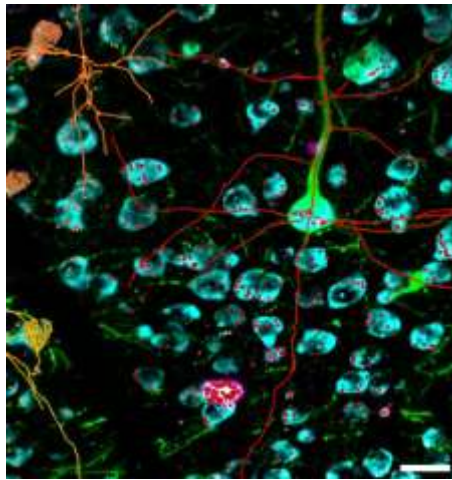
Neuromantic je besplatni polu-automatski alat (korisnik odredi osnovnu morfologiju – korijen i čvorove stabla – a softver nadopuni bridove) koji su napravili Myatt i suradnici (87), a omogućuje korištenje velikog broja različitih datoteka u svrhu digitalnih rekonstrukcija dendrita i drugih morfoloških karakteristika neurona. Njihov program omogućuje polu-manualni način segmentiranja morfologija sličnog Neurolucidi, ali njihovo polu-automatsko rješenje za rekonstrukciju morfologija počiva na računanju vrijednosne funkcije (*eng.* Cost function) koja pridodaje vrijednost pojedinim pikselima ovisno o vjerojatnosti nalazi li se on unutar neurita (zajednički naziv za dendrit i akson) ili izvan. Uz pomoć ovog softvera, autori su uvidjeli da se brzina rekonstruiranja segmenata ispitanika udvostručila (10.2 segmenata / min u Neuromanticu u usporedbi s 4.8 segmenata/min u Neurolucidi) (87).



Slika 19. – Prikaz odabiranja dendrita za polu-automatsku segmentaciju – preuzeto iz Myatt i sur. (2012) (87)

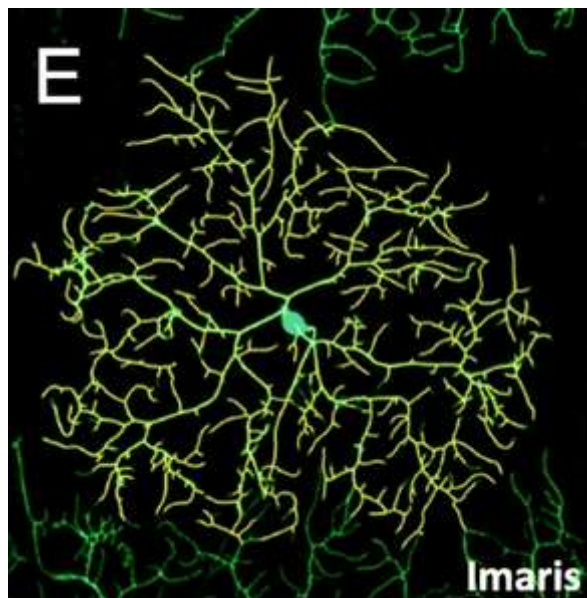
SNT je krenuo kao Simple Neurite Tracker ekstenzija za Fiji (ImageJ distribucija za analizu slika) koji je kasnije prerastao u zasebnu aplikaciju s otvorenom arhitekturom, velikim brojem korisnika, dokumentacijom koju vode korisnici, podrškom za kompleksne slike i nekoliko modelnih organizama (89). SNT podržava polu-manualno i polu-automatsko rekonstruiranje neurita zajedno s vizualizacijom,

kvantitativnom analizom i mogućnosti izravnog funkcionalnog modeliranja rekonstruiranih morfologija. Također veoma korisna odlika jest mogućnost izravnog povezivanja na već postojeće neuroanatomske baze poput NeuroMorpho.



Slika 20. – Dendriti GFP-obilježenih neurona (eng. Green fluorescent protein – zeleni fluorescentni protein), plavo su tijela neurona, narančasto su dendriti – preuzeto iz Arshadi i sur. (2021)(89)

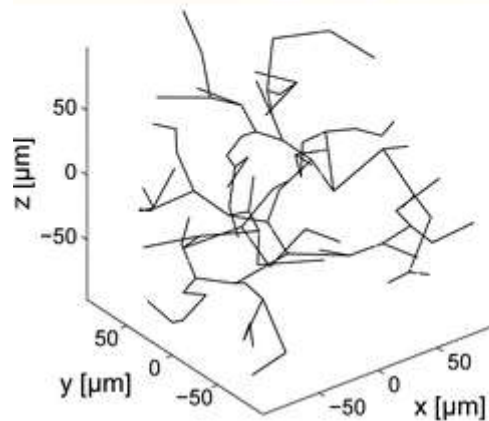
Imaris je komercijalni plaćeni softver koji specijalizira (92) u vizualizaciji slika s mikroskopa. On ima proširenje za automatsku rekonstrukciju dendrita zvan Filament Tracer. Uspoređujući ga sa SNT alatom, Imaris se pokazao najefikasnijim u rekonstrukciji dendrita, ali i nakon višestrukih manualnih ispravka nije precizno mjerio duljine pojedinačnih segmenata.



Slika 21. – automatsko segmentiranje i rekonstrukcija neurona uz pomoć Imarisa – preuzeto iz Nguyen i sur. (2021) (93)

TREES je alat za plaćeni program Matlab koji pruža mogućnosti automatske rekonstrukcije dendritičke morfologije iz mikroskopskih slika, kvantitativnog uspoređivanja morfologija između različitih neurona te napredne alate istraživanja kako dendritičko i aksonalno grananje ovisi o lokalnoj optimizaciji povezivanja i provodljivosti (90).

```
>> X = rand (100, 1) * 200 - 100;  
>> Y = rand (100, 1) * 200 - 100;  
>> Z = rand (100, 1) * 200 - 100;  
>> tree = MST_tree (1, [0; X], ...  
                   [0; Y], [0; Z]);
```

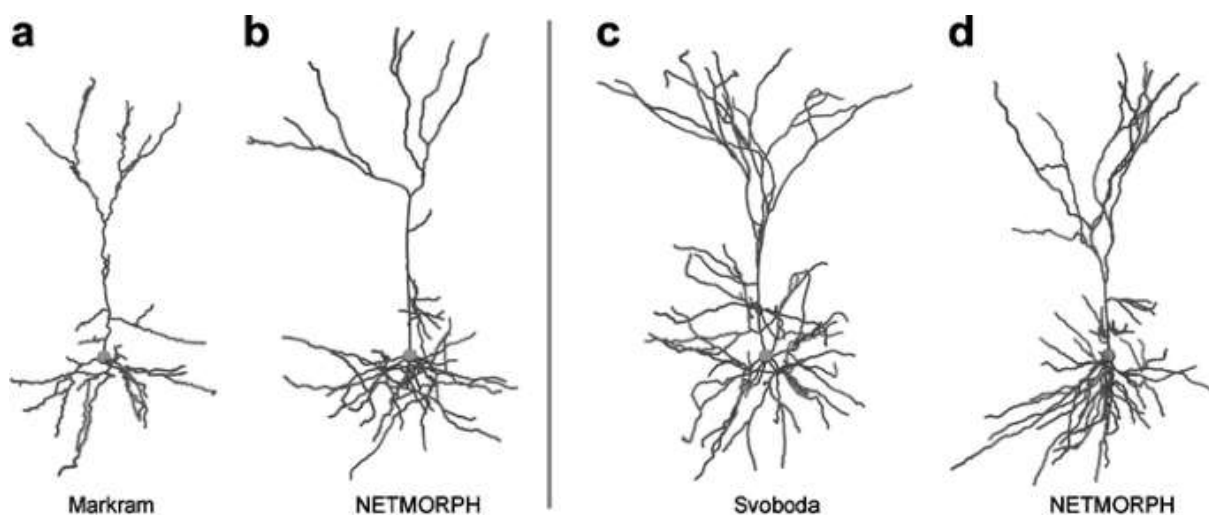


Slika 22. – rekonstrukcija neurona uz pomoć TREES alata – preuzeto iz Cuntz i sur. (2011) (94)

6.2. Umjetne morfologije

Pošto postoji jako velik broj snimljenih i segmentiranih neurona kojima je morfometrijski određeno praktički svako svojstvo, pokazalo se da je nemoguće odrediti principe dendritičke strukture iz samih mjera zbog njihove intrinzične varijacije i ovisnosti o prevelikom broju varijabli (79). U zadnjih 30 godina razvio se pristup sintetiziranja umjetnih dendritičkih morfologija koji predstavljaju dijelove dendritičkih stabala kako bi se otkrili principi ustroja dendritičkih morfologija. Hillman je opisao skup osnovnih parametara koji je potreban kako bi se sintetizirale umjetne dendritičke morfologije, a one se sastoje od inicijalnog promjera korijena dendrita, duljine korijena, koeficijenta smanjivanja (koliko se smanji promjer nakon određene duljine), praga bifurkacije, omjera promjera grane-roditelja i grane-kćeri, promjera grane-kćeri i terminalne duljine (95).

Jedan od prvih alata bio je L-neuron koji je rekurzivno stvarao umjetne dendritičke morfologije uz pomoć stohastičkih procesa i navedenih osnovnih parametara (95). Drugi pristup su razvili van Pelt i suradnici (96) koji ograničava izradu umjetnih morfologija pomoću broja grananja i istovremeno rastućih segmenata. Ovakav pristup se naziva generativni jer dendriti rastu od korijena prema terminalnim granama pa se moduliranjem brzine rasta može modelirati kompeticija nad resursima i tako dobiti realne morfologije. Njihov rad je doveo do razvoja alata zvan NETMORPH koji omogućuje generiranje velikih trodimenzionalnih mreža neurona s umjetnim morfologijama (97).



Slika 23. – usporedba rekonstruiranih neurona (Markram, Svoboda) i NETMORPH generiranih morfoloških neurona – preuzeto iz Randal i sur. (2009) (98)

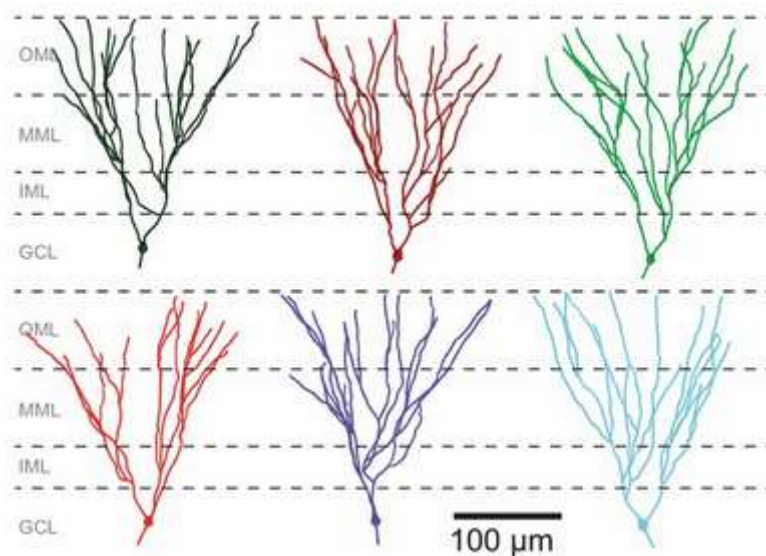
Navedena dva pristupa generiraju neurone u izolaciji, a znamo da neuroni u mozgu ne rastu u izolaciji, već se oko njih rađa i raste ogroman broj neurona pa se i to treba uzeti u obzir pri generiranju umjetnih morfološkija. Dva različita pristupa su se pojavila kako bi riješila ovaj problem – pristup difuzijom ograničenog nakupljanja (neurotrofne čestice se stavljaju u prostor te uslijed sudara se međusobno povezuju i tako stvaraju realne morfološije) i pristup rasta umjetne morfološije u simuliranom okolišu koji signalizira smjer rasta dendrita (taj signal može doći i od drugog neurona) (79).

Postoji također i funkcionalni pristup generiranju umjetnih morfološija pri čemu se u obzir uzimaju funkcionalne implikacije strukture dendritičkog stabla, utjecaj promjera segmenata na propagaciju potencijala i povezanost unutar mreže neurona (90). Ciljane točke su razmještene u prostoru i iterativno se stvara umjetna morfološija koja pri tom pazi na minimizaciju vremena provodljivosti i „cijene povezivanja“ (eng. Wiring cost – minimizira duljinu segmenata) (79). Ovakav pristup je puno efikasniji jer su mu potrebne samo točke u prostoru koje određuju morfološiju, za razliku od ostalih pristupa kojima je potrebno znati gdje se nalazi pojedini segment kako bi ga iterativno ili rekurzivno stvorio.

6.3. Integracija funkcionalnih i morfoloških modela

Već se ranije spomenuo T2N, moćan alat za integraciju morfoloških i funkcionalnih modela (65). Ovaj alat služi kao poveznica između TREES alata za generiranje umjetnih morfološija ili rekonstrukciju bioloških morfološija i NEURON-a, alata za funkcionalno modeliranje neurona, koji se kontrolira iz Matlab-a. Zadaća T2N-a je omogućiti stvaranje kompartmentalnih modela s realističnim biofizičkim svojstvima u različitim morfološijama, a njegove mogućnosti uključuju to da se:

1. Biofizički mehanizmi mogu implementirati u i rekonstruirane i u umjetne morfologije
2. Za dani skup biofizičkih mehanizama omogućuje jednostavno i efikasno prebacivanje između morfologija različitih vrsta neurona, uključujući i morfologije preuzete iz dostupnih baza podataka rekonstruiranih morfologija (poput NeuroMorpho)
3. Omogućuje jednostavno i jasno postavljanje i kontrolu NEURON kompartmentalnih modela s izravnom analizom u Matlab-u i TREES alatu bilo kakvih morfologija
4. Nativno podržava paralelno pokretanje višestrukih simulacija bez potreba za mijenjanjem koda u NEURON-u
5. Povezivanjem NEURON-a i Matlab-a omogućuje jasnija i jednostavnija vizualizacija rezultata eksperimenata



Slika 24. – prikaz umjetnih morfologija zrnatih stanica girusa dentatusa miša – preuzeto iz Beining et al. (2017)

Autori dalje opisuju nekoliko dodatnih situacija u kojima je T2N iskoristiv poput pojednostavljivanja analize propagacije potencijala duž dendrita i kalcijskog signaliziranja u različitim morfologijama, analize osjetljivosti kojom otkriva bitne ionske kanale u zrnatih stanica zrelih miševa i štakora, podržava predviđanje klinički bitnih promjena ionskih kanala u različitim morfologijama, izrada modela zrnatih stanica vođenog podacima rođenih u odraslih miševa (65).

Ovakvi alati koji integriraju više različitih vrsta modeliranja budućnost su računalne neuroznanosti jer osiguravaju recikliranje i korištenje starih modela u nove svrhe. Na taj način se izbjegava gubitak vremena na izradu potpuno novih modela ako se već postojeći mogu prenamijeniti. U ovom dobu s brzim napretkom tehnologije možemo očekivati da će ovakvi integrativni pristupi biti sve češći, a alati koji će proizaći iz njih sve moćniji te da će proizvesti tim više znanja koja se mogu iskoristiti za razotkrivanje misterija povezanosti morfoloških i funkcionalnih sastavnica sinapsi, neurona i neuronskih mreža našeg mozga.

Zahvale

Najprije zahvaljujem doc. dr. sc. Dinku Smiloviću na ukazanoj prilici i bezrezervnoj stručnoj pomoći pri izradi ovog rada te na izdvojenom vremenu i strpljenju od trenutka kada me upoznao.

Nadalje, zahvaljujem prof. dr. sc. Mariju Vukšiću na prepoznavanju mog entuzijazma i zainteresiranosti te pružanju prilike ulaska u područje neuroznanosti i rada u njegovom laboratoriju te dr. med. Franu Božiću na pomoći oko izrade diplomskog i rada u laboratoriju.

Zahvaljujem i članovima Stručnog povjerenstva za ocjenu diplomskih radova prof.dr.sc. Goranu Šimiću, prof.dr.sc. Zdravku Petanjeku i doc. dr. sc. Dinku Smiloviću na čitanju i ocjenjivanju ovoga diplomskog rada.

Zahvalan sam svojim roditeljima Sunčici i Željku te sestri Eni na neizmjerne podršci u mojim ciljevima i namjerama te što su uvijek bili na mojoj strani.

Zahvaljujem se prijateljima i kolegama iz Studentske sekcije za neuroznanost i Udruge Hipokart što su mi učinili život na fakultetu lakšim, zanimljivijim i ispunjenijim.

Naposljetku, zahvaljujem svim svojim prijateljima koji mi ispunjavaju život te omogućavaju da koračam ovim svijetom ispunjenog srca.

Literatura

1. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. Neuroscience: exploring the brain [Internet]. 4th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2016
2. Fodstad H. The neuron theory. *Stereotact Funct Neurosurg.* 2001.;77(1–4):20–4.
3. Shepherd GM. The neuron doctrine: a revision of functional concepts. *Yale J Biol Med.* prosinac 1972.;45(6):584–99.
4. model Hrvatska enciklopedija [Internet]. Dostupno na: <https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=41453>
5. Varenne F. From models to simulations. Abingdon, Oxon ; New York, NY: Routledge; 2019. (History and philosophy of technoscience).
6. Morgan M, Morisson M, editors. *Models as Mediators.* Morgan MS, Morrison M, urednici. Cambridge University Press; 1999.
7. Đelekovčan A. Modeliranje elektromagnetskih polja živčanog sustava [Diplomski rad]. [Zagreb]: University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2022.
8. Gerstner W, Kistler WM, Naud R, Paninski L. *Neuronal Dynamics - a neuroscience textbook* [Internet]. Cambridge; 2014.
9. McCulloch WS, Pitts W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *Bull Math Biophys* [Internet]. prosinac 1943.
10. Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* [Internet]. 08. kolovoz 1952. [citirano 12. ožujak 2023.];117(4):500. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1392413/>
11. Gentile JE, Carrizales MG, Koleske AJ. Control of Synapse Structure and Function by Actin and Its Regulators. *Cells* [Internet]. 01. veljača 2022. [citirano 23. svibanj 2023.];11(4). Dostupno na: </pmc/articles/PMC8869895/>
12. Zuber B, Nikonenko I, Klausner P, Muller D, Dubochet J. The mammalian central nervous synaptic cleft contains a high density of periodically organized complexes. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 12. prosinac 2005. [citirano 23. svibanj 2023.];102(52):19192. Dostupno na: </pmc/articles/PMC1323199/>

13. Hebb D. *The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory*. The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory. 1949.
14. Bliss TVP, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* [Internet]. 01. srpanj 1973. [citirano 23. svibanj 2023.];232(2):331–56. Dostupno na: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/jphysiol.1973.sp010273>
15. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: An Embarrassment of Riches. *Neuron*. 30. rujan 2004.;44(1):5–21.
16. Nicoll RA. A Brief History of Long-Term Potentiation. *Neuron*. 18. siječanj 2017.;93(2):281–90.
17. McNaughton BL, Douglas RM, Goddard G V. Synaptic enhancement in fascia dentata: Cooperativity among coactive afferents. *Brain Res*. 24. studeni 1978.;157(2):277–93.
18. Levy WB, Steward O. Synapses as associative memory elements in the hippocampal formation. *Brain Res*. 19. listopad 1979.;175(2):233–45.
19. Caporale N, Dan Y. Spike Timing–Dependent Plasticity: A Hebbian Learning Rule. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31060407125639> [Internet]. 17. lipanj 2008. [citirano 26. lipanj 2023.];31:25–46. Dostupno na: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125639>
20. Keck T, Toyozumi T, Chen L, Doiron B, Feldman DE, Fox K, i ostali. Integrating Hebbian and homeostatic plasticity: the current state of the field and future research directions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [Internet]. 05. ožujak 2017. [citirano 26. lipanj 2023.];372(1715). Dostupno na: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2016.0158>
21. Kandel J, Koester D, Eric R, Steven MA. *PRINCIPLES OF NEURAL SCIENCE* [Internet]. 6th edition. New York; 2021 [citirano 26. lipanj 2023.]. Dostupno na: www.mhprofessional.com.
22. Hulme SR, Jones OD, Abraham WC. Emerging roles of metaplasticity in behaviour and disease. *Trends Neurosci* [Internet]. 01. lipanj 2013. [citirano 26. lipanj 2023.];36(6):353–62. Dostupno na: <http://www.cell.com/article/S0166223613000544/fulltext>
23. Abraham WC. Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 2008 9:5 [Internet]. svibanj 2008. [citirano 26. lipanj 2023.];9(5):387–387. Dostupno na: <https://www.nature.com/articles/nrn2356>

24. Cheng Y, Suen JK, Radić Z, Bond SD, Holst MJ, McCammon JA. Continuum simulations of acetylcholine diffusion with reaction-determined boundaries in neuromuscular junction models. *Biophys Chem* [Internet]. svibanj 2007. [citirano 24. svibanj 2023.];127(3):129–39. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17307283/>
25. Ventriglia F, Di Maio V. A Brownian model of glutamate diffusion in excitatory synapses of hippocampus. *BioSystems* [Internet]. 2000. [citirano 24. svibanj 2023.];58(1–3):67–74. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11164632/>
26. Holmes WR. Modeling the effect of glutamate diffusion and uptake on NMDA and non-NMDA receptor saturation. *Biophys J* [Internet]. 1995. [citirano 24. svibanj 2023.];69(5):1734. Dostupno na: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1236407/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1236407/)
27. Bartol TM, Land BR, Salpeter EE, Salpeter MM. Monte Carlo simulation of miniature endplate current generation in the vertebrate neuromuscular junction. *Biophys J* [Internet]. 1991. [citirano 24. svibanj 2023.];59(6):1290–307. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1873466/>
28. Franks KM, Bartol TM, Sejnowski TJ. A Monte Carlo model reveals independent signaling at central glutamatergic synapses. *Biophys J* [Internet]. studeni 2002. [citirano 24. svibanj 2023.];83(5):2333–48. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12414671/>
29. Gupta S, Czech J, Kuczewski R, Bartol TM, Sejnowski TJ, Lee REC, i ostali. *Spatial Stochastic Modeling with MCell and CellBlender*. 2018.;
30. Ventriglia F, Di Maio V. A Brownian simulation model of glutamate synaptic diffusion in the femtosecond time scale. *Biol Cybern* [Internet]. 2000. [citirano 24. svibanj 2023.];83(2):93–109. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s004220000150>
31. Dilger JP. Monte Carlo Simulation of Buffered Diffusion into and out of a Model Synapse. *Biophys J*. 17. ožujak 2010.;98(6):959–67.
32. Mainen ZF, Malinow R, Svoboda K. Synaptic calcium transients in single spines indicate that NMDA receptors are not saturated. *Nature* 1999 399:6732 [Internet]. 13. svibanj 1999. [citirano 01. lipanj 2023.];399(6732):151–5. Dostupno na: <https://www.nature.com/articles/20187>
33. McAllister AK, Stevens CF. Nonsaturation of AMPA and NMDA receptors at hippocampal synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 23. svibanj 2000. [citirano 01. lipanj 2023.];97(11):6173–8. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10811899/>

34. Magleby KL, Stevens CF. The effect of voltage on the time course of end-plate currents. *J Physiol* [Internet]. 01. svibanj 1972. [citirano 25. lipanj 2023.];223(1):151. Dostupno na: </pmc/articles/PMC1331438/?report=abstract>
35. Cortes JM, Desroches M, Rodrigues S, Veltz R, Muñoz MA, Sejnowski TJ. Short-term synaptic plasticity in the deterministic Tsodyks-Markram model leads to unpredictable network dynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 08. listopad 2013. [citirano 01. lipanj 2023.];110(41):16610–5. Dostupno na: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1316071110
36. Hazan L, Noam X, Ziv E. Activity Dependent and Independent Determinants of Synaptic Size Diversity. 2020. [citirano 01. lipanj 2023.]; Dostupno na: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2181-19.2020>
37. Tsodyks M V., Markram H. The neural code between neocortical pyramidal neurons depends on neurotransmitter release probability. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 21. siječanj 1997. [citirano 01. lipanj 2023.];94(2):719–23. Dostupno na: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.94.2.719>
38. Jercog D, Roxin A, Barthó P, Luczak A, Compte A, De La Rocha J. UP-DOWN cortical dynamics reflect state transitions in a bistable network. *Elife*. 04. kolovoz 2017.;6.
39. Holcman D, Tsodyks M. The Emergence of Up and Down States in Cortical Networks. *PLoS Comput Biol* [Internet]. 2006. [citirano 01. lipanj 2023.];2(3):e23. Dostupno na: <https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.0020023>
40. Buzsáki G, Mizuseki K. The log-dynamic brain: how skewed distributions affect network operations. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2014. [citirano 01. lipanj 2023.];15(4):264. Dostupno na: </pmc/articles/PMC4051294/>
41. Sigler A, Oh WC, Imig C, Altas B, Kawabe H, Cooper BH, i ostali. Formation and Maintenance of Functional Spines in the Absence of Presynaptic Glutamate Release. *Neuron* [Internet]. 04. travanj 2017. [citirano 01. lipanj 2023.];94(2):304. Dostupno na: </pmc/articles/PMC5418202/>
42. Kessels HW, Malinow R. Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior. *Neuron* [Internet]. 12. veljača 2009. [citirano 19. lipanj 2023.];61(3):340–50. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19217372/>
43. Diering GH, Huganir RL. The AMPA receptor code of synaptic plasticity. *Neuron* [Internet]. 10. listopad 2018. [citirano 19. lipanj 2023.];100(2):314. Dostupno na: </pmc/articles/PMC6214363/>

44. Ziv NE, Brenner N. Synaptic Tenacity or Lack Thereof: Spontaneous Remodeling of Synapses. *Trends Neurosci*. 01. veljača 2018.;41(2):89–99.
45. Burkitt AN. A review of the integrate-and-fire neuron model: I. Homogeneous synaptic input. *Biol Cybern* [Internet]. 19. srpanj 2006. [citirano 01. lipanj 2023.];95(1):1–19. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00422-006-0068-6>
46. Gerstner W, Naud R. How Good Are Neuron Models? *Science* (1979) [Internet]. 16. listopad 2009. [citirano 01. lipanj 2023.];326(5951):379–80. Dostupno na: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1181936>
47. Nandi A, Chartrand T, Van Geit W, Buchin A, Yao Z, Lee SY, i ostali. Single-neuron models linking electrophysiology, morphology, and transcriptomics across cortical cell types. *Cell Rep*. 09. kolovoz 2022.;40(6):111176.
48. Bäck T, Schwefel HP. An Overview of Evolutionary Algorithms for Parameter Optimization.
49. Brunel N, Van Rossum MCW. Quantitative investigations of electrical nerve excitation treated as polarization. *Biol Cybern* [Internet]. 29. prosinac 2007. [citirano 01. lipanj 2023.];97(5–6):341–9. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00422-007-0189-6>
50. Excitation and accommodation in nerve. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* [Internet]. 01. veljača 1936. [citirano 01. lipanj 2023.];119(814):305–55. Dostupno na: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.1936.0012>
51. Gerstein GL, Mandelbrot B. Random Walk Models for the Spike Activity of a Single Neuron. *Biophys J* [Internet]. 1964. [citirano 01. lipanj 2023.];4(1 Pt 1):41. Dostupno na: [/pmc/articles/PMC1367440/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1367440/)
52. Levakova M, Kostal L, Monsempès C, Lucas P, Kobayashi R. Adaptive integrate-and-fire model reproduces the dynamics of olfactory receptor neuron responses in a moth. *J R Soc Interface*. 01. kolovoz 2019.;16(157).
53. Jolivet R, Rauch A, Lüscher HR, Gerstner W. Predicting spike timing of neocortical pyramidal neurons by simple threshold models. *J Comput Neurosci* [Internet]. 22. travanj 2006. [citirano 02. lipanj 2023.];21(1):35–49. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10827-006-7074-5>
54. Badel L, Lefort S, Brette R, Petersen CCH, Gerstner W, Richardson MJE. Dynamic I-V curves are reliable predictors of naturalistic pyramidal-neuron voltage traces. *J Neurophysiol* [Internet]. veljača 2008. [citirano 02. lipanj 2023.];99(2):656–66. Dostupno na: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/jn.01107.2007>

55. Harrison LM, David O, Friston KJ. Stochastic models of neuronal dynamics.
56. Clayton T, Cameron K, Rae BR, Henderson RK, Murray A, Sabatier N, i ostali. An implementation of a spike-response model with escape noise using an avalanche diode. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst* [Internet]. 2011. [citirano 26. lipanj 2023.];5(3):231–43. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23851474/>
57. Hines ML, Carnevale NT. NEURON: a tool for neuroscientists. *Neuroscientist* [Internet]. 2001. [citirano 03. lipanj 2023.];7(2):123–35. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11496923/>
58. Hines ML, Carnevale NT. The NEURON Simulation Environment. *Neural Comput* [Internet]. 15. kolovoz 1997. [citirano 03. lipanj 2023.];9(6):1179–209. Dostupno na: <https://direct.mit.edu/neco/article/9/6/1179/6087/The-NEURON-Simulation-Environment>
59. Sherfey JS, Soplata AE, Ardid S, Roberts EA, Stanley DA, Pittman-Polletta BR, i ostali. DynaSim: A MATLAB toolbox for neural modeling and simulation. *Front Neuroinform*. 15. ožujak 2018.;12:10.
60. Goodman DFM, Brette R. FOCUSED REVIEW The Brian simulator. 2009. [citirano 03. lipanj 2023.];3. Dostupno na: www.frontiersin.org
61. Stimberg M, Brette R, Goodman DF. Brian 2, an intuitive and efficient neural simulator. 2019. [citirano 03. lipanj 2023.]; Dostupno na: <https://doi.org/10.7554/eLife.47314.001>
62. Goodman D, Brette R. Brian: A simulator for spiking neural networks in python. *Front Neuroinform*. 18. studeni 2008.;2(NOV).
63. Stimberg M, Goodman DFM, Nowotny T. Brian2GeNN: a system for accelerating a large variety of spiking neural networks with graphics hardware. *bioRxiv* [Internet]. 20. listopad 2018. [citirano 07. lipanj 2023.];448050. Dostupno na: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/448050v1>
64. Shirinpour S, Hananeia N, Rosado J, Tran H, Galanis C, Vlachos A, i ostali. Multi-scale Modeling Toolbox for Single Neuron and Subcellular Activity under Transcranial Magnetic Stimulation. *Brain Stimul* [Internet]. 01. studeni 2021. [citirano 03. lipanj 2023.];14(6):1470. Dostupno na: [/pmc/articles/PMC8608742/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38608742/)
65. Beining M, Mongiat LA, Schwarzacher SW, Cuntz H, Jedlicka P. T2N as a new tool for robust electrophysiological modeling demonstrated for mature and adult-born dentate granule cells. *Elife*. 23. studeni 2017.;6.

66. Glaser JR, Glaser EM. Neuron imaging with NeuroLucida--a PC-based system for image combining microscopy. *Comput Med Imaging Graph* [Internet]. 10. rujana 1990. [citirano 05. lipanj 2023.];14(5):307–17. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2224829/>
67. Saturnino GB, Madsen KH, Thielscher A. Electric field simulations for transcranial brain stimulation using FEM: an efficient implementation and error analysis. *J Neural Eng* [Internet]. 06. studeni 2019. [citirano 05. lipanj 2023.];16(6):066032. Dostupno na: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1741-2552/ab41ba>
68. Bain A. Mind and body. The theories of their relation [Internet]. 1873 [citirano 11. lipanj 2023.]. Dostupno na: <https://archive.org/details/mindbodytheories00bain/page/2/mode/2up?ref=ol&view=theater>
69. Angelucci A, Bressloff PC. Contribution of feedforward, lateral and feedback connections to the classical receptive field center and extra-classical receptive field surround of primate V1 neurons. *Prog Brain Res*. 01. siječanj 2006.;154(SUPPL. A):93–120.
70. Brunel N. Dynamics of sparsely connected networks of excitatory and inhibitory spiking neurons. *J Comput Neurosci* [Internet]. 2000. [citirano 19. lipanj 2023.];8(3):183–208. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1008925309027>
71. Kim Y, Li Y, Moitra A, Yin R, Panda P. Sharing Leaky-Integrate-and-Fire Neurons for Memory-Efficient Spiking Neural Networks.
72. Gao H, He J, Wang H, Wang T, Zhong Z, Yu J, i ostali. High-accuracy deep ANN-to-SNN conversion using quantization-aware training framework and calcium-gated bipolar leaky integrate and fire neuron. *Front Neurosci* [Internet]. 08. ožujak 2023. [citirano 23. lipanj 2023.];17. Dostupno na: </pmc/articles/PMC10030499/>
73. Casadiego J, Maoutsa D, Timme M. Inferring Network Connectivity from Event Timing Patterns. *Phys Rev Lett* [Internet]. 02. kolovoz 2018. [citirano 23. lipanj 2023.];121(5):054101. Dostupno na: <https://journals.aps.org/prl/abstract/10.1103/PhysRevLett.121.054101>
74. Tsigkri-DeSmedt ND, Koulterakis I, Karakos G, Provata A. Synchronization patterns in LIF neuron networks: merging nonlocal and diagonal connectivity. *The European Physical Journal B* 2018 91:12 [Internet]. 05. prosinac 2018. [citirano 23. lipanj 2023.];91(12):1–13. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1140/epjb/e2018-90478-8>
75. Sterratt D. Principles of computational modelling in neuroscience. 2011. [citirano 24. lipanj 2023.];390. Dostupno na: /s/gvd7ua218vor8nc/Sterratt.Principles_cambridge.pdf?dl=0
76. Jacob B, Kligys S, Chen B, Zhu M, Tang M, Howard A, i ostali. Quantization and Training of Neural Networks for Efficient Integer-Arithmetic-Only Inference. *Proceedings of the IEEE*

- Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition [Internet]. 15. prosinac 2017. [citirano 24. lipanj 2023.];2704–13. Dostupno na: <https://arxiv.org/abs/1712.05877v1>
77. Finn ES, Shen X, Scheinost D, Rosenberg MD, Huang J, Chun MM, i ostali. Functional connectome fingerprinting: identifying individuals using patterns of brain connectivity. *Nat Neurosci* [Internet]. 01. studeni 2015. [citirano 24. lipanj 2023.];18(11):1664–71. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26457551/>
78. Wang Z, Liu Z. A Brief Review of Chimera State in Empirical Brain Networks. *Front Physiol.* 30. lipanj 2020.;11:532099.
79. Torben-Nielsen B, Cuntz H. Introduction to Dendritic Morphology. 2014. [citirano 26. lipanj 2023.];3–22. Dostupno na: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-8094-5_1
80. Migliore M, Shepherd GM. An integrated approach to classifying neuronal phenotypes. *Nature Reviews Neuroscience* 2005 6:10 [Internet]. listopad 2005. [citirano 26. lipanj 2023.];6(10):810–8. Dostupno na: <https://www.nature.com/articles/nrn1769>
81. Basu S, Saha PK, Roszkowska M, Magnowska M, Baczynska E, Das N, i ostali. Quantitative 3-D morphometric analysis of individual dendritic spines. *Scientific Reports* 2018 8:1 [Internet]. 23. veljača 2018. [citirano 26. lipanj 2023.];8(1):1–13. Dostupno na: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-21753-8>
82. Cannon RC, Turner DA, Pyapali GK, Wheal H V. An on-line archive of reconstructed hippocampal neurons. *J Neurosci Methods* [Internet]. 01. listopad 1998. [citirano 26. lipanj 2023.];84(1–2):49–54. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9821633/>
83. NeuroMorpho.Org - a centrally curated inventory of digitally reconstructed neurons and glia [Internet]. [citirano 26. lipanj 2023.]. Dostupno na: <https://neuromorpho.org/>
84. Nanda S, Das R, Bhattacharjee S, Cox DN, Ascoli GA. Morphological determinants of dendritic arborization neurons in *Drosophila* larva. *Brain Struct Funct* [Internet]. 01. travanj 2018. [citirano 26. lipanj 2023.];223(3):1107. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3111107/>
85. Morrison M, Andrew D, Bendorf H, Istry C, Brinkerhoff AN. Validating Sholl analysis of Purkinje cell morphology using I I MetaMorph software.
86. Glaser JR, Glaser EM. Neuron imaging with NeuroLucida--a PC-based system for image combining microscopy. *Comput Med Imaging Graph* [Internet]. 10. rujan 1990. [citirano 26. lipanj 2023.];14(5):307–17. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2224829/>

87. Myatt DR, Hadlington T, Ascoli GA, Nasuto SJ. Neuromantic – from Semi-Manual to Semi-Automatic Reconstruction of Neuron Morphology. *Front Neuroinform* [Internet]. 16. ožujak 2012. [citirano 26. lipanj 2023.];6(MARCH). Dostupno na: [/pmc/articles/PMC3305991/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20231818/)
88. Peng H, Ruan Z, Long F, Simpson JH, Myers EW. V3D enables real-time 3D visualization and quantitative analysis of large-scale biological image data sets. *Nat Biotechnol* [Internet]. travanj 2010. [citirano 26. lipanj 2023.];28(4):348–53. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20231818/>
89. Arshadi C, Günther U, Eddison M, Harrington KIS, Ferreira TA. SNT: a unifying toolbox for quantification of neuronal anatomy. *Nature Methods* 2021 18:4 [Internet]. 01. travanj 2021. [citirano 26. lipanj 2023.];18(4):374–7. Dostupno na: <https://www.nature.com/articles/s41592-021-01105-7>
90. Cuntz H, Forstner F, Borst A, Häusser M. One Rule to Grow Them All: A General Theory of Neuronal Branching and Its Practical Application. *PLoS Comput Biol* [Internet]. 2010. [citirano 26. lipanj 2023.];6(8):e1000877. Dostupno na: <https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1000877>
91. Dickstein DL, Dickstein DR, Janssen WGM, Hof PR, Glaser JR, Rodriguez A, i ostali. Automatic dendritic spine quantification from confocal data with Neurolucida 360. *Curr Protoc Neurosci* [Internet]. 10. listopad 2016. [citirano 26. lipanj 2023.];77:1.27.1. Dostupno na: [/pmc/articles/PMC5113738/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20231818/)
92. Imaris V 7.3.1 Reference Manual. 2011. [citirano 26. lipanj 2023.]; Dostupno na: www.bitplane.com
93. Nguyen C, Thompson-Peer KL. Comparing Automated Morphology Quantification Software on Dendrites of Uninjured and Injured *Drosophila* Neurons. *Neuroinformatics* [Internet]. 01. listopad 2021. [citirano 26. lipanj 2023.];19(4):703–17. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12021-021-09532-9>
94. Cuntz H, Forstner F, Borst A, Häusser M. The TREES toolbox-probing the basis of axonal and dendritic branching. *Neuroinformatics* [Internet]. 11. ožujak 2011. [citirano 26. lipanj 2023.];9(1):91–6. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12021-010-9093-7>
95. Ascoli GA, Krichmar JL. L-neuron: A modeling tool for the efficient generation and parsimonious description of dendritic morphology. *Neurocomputing*. 01. lipanj 2000.;32–33:1003–11.
96. Van Pelt J, Schierwagen A. Morphological analysis and modeling of neuronal dendrites. *Math Biosci*. 01. ožujak 2004.;188(1–2):147–55.

97. Koene RA, Tijms B, Van Hees P, Postma F, De Ridder A, Ramakers GJA, i ostali. NETMORPH: a framework for the stochastic generation of large scale neuronal networks with realistic neuron morphologies. Neuroinformatics [Internet]. rujan 2009. [citirano 26. lipanj 2023.];7(3):195–210. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19672726/>
98. Koene RA, Tijms B, Van Hees P, Postma F, De Ridder A, Ramakers GJA, i ostali. NETMORPH: A framework for the stochastic generation of large scale neuronal networks with realistic neuron morphologies. Neuroinformatics [Internet]. 12. rujan 2009. [citirano 26. lipanj 2023.];7(3):195–210. Dostupno na: [https://link.springer.com/article/10.1007/s12021-009-9052-](https://link.springer.com/article/10.1007/s12021-009-9052-3)

Životopis

Rođen sam u Požegi 29.10.1998. godine. Osnovnu školu sam završio u Osnovnoj školi Julije Kempf, a srednju školu u Gimnaziji Požega, prirodoslovno-matematički smjer. Za vrijeme srednje škole položio sam Microsoftov certifikat osnova programiranja te FCE Cambridge English Exam engleskog jezika na C1 razini.

Upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu 2017. godine. Za vrijeme studija bio sam demonstrator na kolegiju Temelji neuroznanosti 4 godine, uključio sam se u rad Studentske sekcije za neuroznanost, u sklopu koje sam dobio 2 rektorove nagrade za društveno koristan rad u akademskoj i široj zajednici, te u rad Udruge Hipokart u sklopu koje sam sudjelovao u osnivanju kluba čitanja i pisanja KPR te inicijative RemeD&D.

Tijekom studija uključio sam se u znanstveni rad u Laboratoriju za neurohistologiju i kemijsku anatomiju, u sklopu kojeg sam položio i LabAnim tečaj za rad s laboratorijskim životinjama, te na Klinici za psihijatriju Vrapče.

U slobodno vrijeme volontiram kao rizničar u Društvu za edukaciju van okvira u sklopu kojeg se bavim popularizacijom znanosti. Također sam aktivni član Hrvatskog društva za neuroznanost u sklopu kojeg organiziram događanja poput Tjedna mozga i Brainhacka.