

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Scuola di Scienze
Dipartimento di Fisica e Astronomia
Corso di Laurea in Fisica

Modello stocastico per la plasticità sinaptica

Relatore:
Prof. Armando Bazzani

Presentata da:
Caterina Camborata

Correlatore:
Prof. Gastone Castellani

Anno Accademico 2015/2016

“Think how hard physics would be if particles could think”

Murray Gell-Mann

Ringraziamenti

Ringrazio in primo luogo il Prof. Armando Bazzani per avermi illuminata con consigli e osservazioni preziosi durante la stesura della tesi e per avermi ispirata in modo significativo durante il mio percorso accademico. Ringrazio inoltre il Prof. Gastone Castellani per avermi dato l'occasione di conoscere un modo nuovo e di farmici appassionare tanto. Ringrazio Elena Tea per il supporto e la pazienza e il Dott. Enrico Giampieri per la disponibilità: il loro aiuto è stato fondamentale per la realizzazione di questa tesi.

Un grande ringraziamento va alle mie amiche e colleghe Silvia e Lucia, con le quali ho iniziato questa fantastica avventura e senza le quali non avrei avuto la forza di raggiungere questo traguardo.

Ringrazio tutti i ragazzi conosciuti tra i libri, perchè ognuno di loro, a suo modo, ha saputo darmi qualcosa che ha influito enormemente nella mia crescita personale e accademica. In particolare ringrazio Sunny, Pier, Fede, Fra, Bunnies, Peo, Paolo, Ale, Will, Pippo, Baga, Pietro, Simone, Laura, Arturo, Pit, Alessandra, Marina, Rocco, Onofrio, Luca, Fede, Barto, Tommi, Ema, Mik, Lorenzo. Un ringraziamento speciale va a Simone e Lisa, che hanno saputo saggiamente spronarmi nei momenti difficili.

Ringrazio Giulia, Mariangela, Laura, Alessandra, Marianna, Claudia, Federica, Francesca e Martina per avermi sopportata nella convivenza; Serena e Nicoletta per avermi sopportata e supportata con affetto nella loro vita.

Grazie agli amici di sempre Cella, Cri, Dani, Matti, Giamma, per avermi accolto a ogni mio ritorno.

Un enorme agradecimiento a Octavio, por haber sido siempre tan cercano y amarme hasta el infinito punto multicolor.

Il grazie più grande va a mamma e papà per aver creduto in me, a Ceci per avermi sempre tirata su nei momenti peggiori e ai nonni e agli zii per non avermi mai fatto mancare niente.

Sommario

Nel sistema nervoso centrale i neuroni comunicano l'uno con l'altro attraverso le connessioni sinaptiche e sono soggetti a centinaia di stimoli, ma hanno la capacità di distinguerli l'uno dall'altro. L'abilità delle sinapsi di interpretare questi cambiamenti morfologici e biochimici è detta *plasticità sinaptica* e l'obiettivo di questa tesi è proprio studiare un modello per le dinamiche di questo affascinante processo, da un punto di vista prima deterministico e poi stocastico. Infatti le reazioni che inducono la plasticità sinaptica sono ben approssimate da equazioni differenziali non lineari, ma nel caso di poche molecole bisogna tener conto delle fluttuazioni e quindi sono necessari dei metodi di analisi stocastici.

Nel primo capitolo, dopo aver introdotto gli aspetti fondamentali del sistema biochimico coinvolto e dopo aver accennato ai diversi studi che hanno approcciato l'argomento, viene illustrato il modello basato sull'aggregazione delle proteine (PADP) volto a spiegare la plasticità sinaptica.

Con il secondo capitolo si introducono i concetti matematici che stanno alla base dei processi stocastici, strumenti utili per studiare e descrivere la dinamica dei sistemi biochimici.

Il terzo capitolo introduce una giustificazione matematica riguardo la modellizzazione in campo medio e vede una prima trattazione del modello, con relativa applicazione, sui moscerini. Successivamente si applica il modello di cui sopra ai mammiferi e se ne studia nel dettaglio la dinamica del sistema e la dipendenza dai parametri di soglia che portano alle varie transizioni di fase che coinvolgono le proteine.

Infine si è voluto osservare questo sistema da un punto di vista stocastico inserendo il rumore di Wiener per poi confrontare i risultati con quelli ottenuti dall'approccio deterministico.

Indice

Introduzione	i
1 Plasticità sinaptica e aggregazione di proteine	1
1.1 Comportamenti biochimici delle CPEB2	3
1.2 Comportamenti biochimici delle CPEB3	4
2 Dalla teoria di campo medio ai processi stocastici	5
2.1 Processo di Markov e Master Equation	6
2.2 Processi 1-step	7
2.3 Sistema collettivo	8
2.4 Processi di Wiener e rumore bianco	9
3 Modellizzazione	11
3.1 Aggregazione delle CPEB2 nella <i>Drosophila</i>	13
3.1.1 Simulazione numerica	16
3.2 Aggregazione delle CPEB3 nei mammiferi	19
3.2.1 Simulazione numerica e studio delle transizioni di fase	20
3.3 Introduzione a uno studio stocastico del modello PADP	26
3.3.1 Aggiunta del rumore di Wiener	26
Conclusione	35
Appendice A: Prima implementazione del modello PADP	36
Appendice B: Seconda implementazione del modello PADP	38
Bibliografia	41

Introduzione

La memoria si basa su modificazioni fisiche e biologiche del cervello, in particolare coinvolge processi di apprendimento da parte delle cellule neuronali (Figura 1), unità base del sistema nervoso. Queste sono costituite da un corpo cellulare, contenente il nucleo, e prolungamenti citoplasmatici, i dendriti e l'assone. I dendriti ricevono segnali da neuroni afferenti e lo propagano verso il nucleo, l'assone invece conduce il segnale in direzione centrifuga verso altre cellule ed è un ottimo conduttore grazie agli strati di mielina che incrementano la velocità di trasmissione (432km/h). La parte finale dell'assone è detta 'bottono sinaptico' e costituisce il contatto con i dendriti o con il corpo cellulare di altri neuroni affinché l'impulso nervoso (segnale elettrico) si propaghi. Alla base dell'appren-

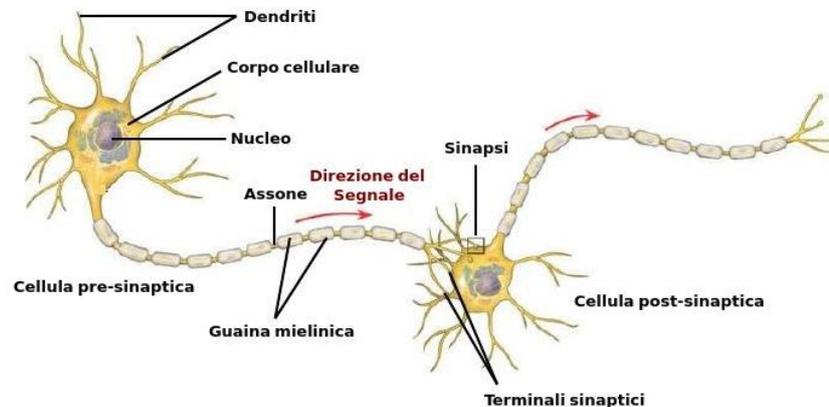


Figura 1: *Rappresentazione di due cellule neuronali.*

dimento neuronale c'è una variazione della forza sinaptica, ovvero un cambiamento nei potenziali post-sinaptici. Si alternano due meccanismi contrapposti: depotenziamento (LTD, *long time depression*) e potenziamento (LTP, *long time potentiation*). Quest'ultimo riguarda la stimolazione ad alta frequenza per periodi brevi mentre la 'depressione a lungo termine', consiste in una stimolazione a bassa frequenza per un lungo periodo. Una caratteristica rilevante dell' LTP è l'associatività: se una via nervosa viene debolmente

attivata nello stesso istante in cui un'altra viene fortemente attivata allora entrambe vengono potenziate.

Sono stati studiati diversi modelli che descrivono i meccanismi di apprendimento neuronale, tra cui quello di Hebb, psicologo canadese che nel 1949 ipotizzò che se un neurone è vicino ad un altro può attivarlo ripetutamente avviando un processo di crescita e un aumento della sua efficacia, ovvero della capacità di influenzare il segnale nel passaggio dal pre-sinaptico al post-sinaptico. Secondo la teoria dell'*apprendimento Hebbiano* la memoria nasce con la creazione di reti di neuroni i quali sono governati da un processo complementare di competizione spaziale che consiste in un aumento e diminuzione dell'efficacia della cellula (principio di Hebb contrapposto al principio di Stent).

Lo studio di questi meccanismi ha portato alla teorizzazione della regola di apprendimento BCM. Questo modello vuole descrivere la dinamica della plasticità sinaptica, [1] ovvero dell'abilità della sinapsi di modificare le proprie attività in risposta a stimoli diversi, definendo quindi la selettività e la variazione dell'efficacia del neurone studiando l'evoluzione del sistema sottoposto a una distribuzione discreta di input, dove i punti di selettività vengono rappresentati dai punti di equilibrio nello spazio delle fasi.

Un modello alternativo propone una regola di apprendimento basata sul comportamento delle proteine CPEB (*Cytoplasmatic Polyadenylation Element Binding Protein*) coinvolte nel meccanismo di memoria a lungo termine e plasticità sinaptica: PADP (*Protein-Aggregation Dependent Plasticity*). La successiva trattazione vuole essere una descrizione e un'applicazione di questo modello.

Capitolo 1

Plasticità sinaptica e aggregazione di proteine

Di recente [2] è stato visto quanto sia importante il ruolo della sintesi proteica negli assoni o nei dendriti per la plasticità sinaptica e per la conservazione della memoria a lungo termine. In particolare c'è una proteina che è coinvolta in questi meccanismi, la CPEB. Questa è un tipo di RBPs (*RNA Binding Proteins*) coinvolto nell'allungamento dell'RNA nel sito dell'adenina (*Poliadenilazione*), processo attivo nei siti post-sinaptici delle cellule nervose durante l'apprendimento e la LTP.

Esistono diversi tipi di CPEB negli organismi viventi, quelle cruciali nell'indurre e mantenere cambiamenti sinaptici sono:

- CPEB1: nell' *Aplysia* (ApCPBE);
- CPEB2: nella *Drosophila* (Orb2);
- CPEB3: nei mammiferi.

Tutte le CPEB possono trovarsi in due stati funzionali che corrispondono a due diversi stati molecolari:

- SOLUBILE: stato base, inattivo, in cui si comportano da repressori;
- AGGREGATO: stato attivo indotto dallo stimolo e dall'attività sinaptica.

La transizione tra questi due stati è regolata dalla fosforilazione o dall'oligomerizzazione. In generale le CPEB hanno una transizione tra i due stati regolata da una modifica conformazionale della proteina stessa a livello del Q-rich IDD, regione del dominio ricca di glutammina. Quest'ultima è fondamentale nella formazione del glutammato che è il più importante neurotrasmettitore eccitatorio del cervello e viene attivato dai ricettori

AMPA che mediano la trasmissione sinaptica. La fosforilazione dei ricettori AMPA permessa dalle proteine chinasi gioca un ruolo fondamentale nella dinamica dell'efficienza sinaptica. Le subunità di questi ricettori (GluA1, GluA2, GluA3, GluA4) sono bersaglio dell'ubiquitinazione (modificazione post-trasduzionale che consiste nell'aggiunta della proteina ubiquitina). [3] [4]

Studiando le CPEB si è visto che queste hanno un comportamento *prion-like*: promuovono cambiamenti in altre proteine che vengono autoreplicati ed ereditati nelle diverse generazioni. Il prione infatti è una proteina con una struttura ripiegata in maniera scorretta, responsabile di una serie di malattie che coinvolgono il sistema nervoso centrale e la sua modalità di infezione consiste proprio nell'indurre altre proteine ad assumere la sua stessa conformazione anomala e a perpetuarla nelle generazioni. Questa caratteristica ha un ruolo determinante nella conservazione della memoria, poichè permette il crearsi di uno stato permanente anche quando i processi che ne hanno garantito la formazione si sono conclusi. Il punto chiave di questo meccanismo di apprendimento è proprio il ruolo delle CPEB nel mantenere attive le sinapsi anche quando lo stimolo si esaurisce, perpetuando la creazione di proteine *prion-like*. [5]

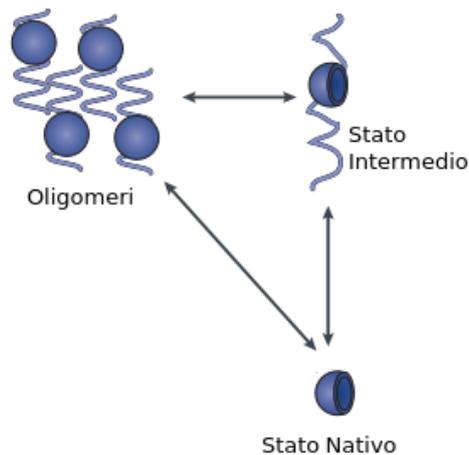


Figura 1.1: *Rappresentazione dei diversi stati di una proteina.*

1.1 Comportamenti biochimici delle CPEB2

Dai numerosi studi [6] effettuati sulla *Drosophila* è stato visto che la proteina Orb2 induce la formazione di aggregati di proteine che sono autosufficienti e funzionalmente correlati con la memoria a lungo termine e quindi la plasticità sinaptica è garantita dalla regolazione *prion-like* delle CPEB presenti.

Queste sussistono in due diverse isoforme:

- Orb2A: localmente aggregante, meno abbondante;
- Orb2B: non aggregante, più abbondante.

L'Orb2A media l'aggregazione di Orb2B dopo la stimolazione sinaptica formando uno stato Orb2, la cui concentrazione dipende dalla stabilità e dall'accumulo di Orb2A (Figura 1.2). L'attività sinaptica agisce sullo stato della proteina Orb2A in due modi contrastanti: da un lato induce la soppressione del fosfato PP2A che nega la fosforilazione e porta quindi l'Orb2A a uno stato di destabilizzazione; dall'altro attiva la proteina Lim Chinasi, che marca l'Orb2A con un gruppo fosfato (fosforilazione) in modo che la proteina TOB si leghi con Orb2A e la renda stabile. A questo punto l'Orb2A stabile si lega con l'Orb2B originando l'Orb2.

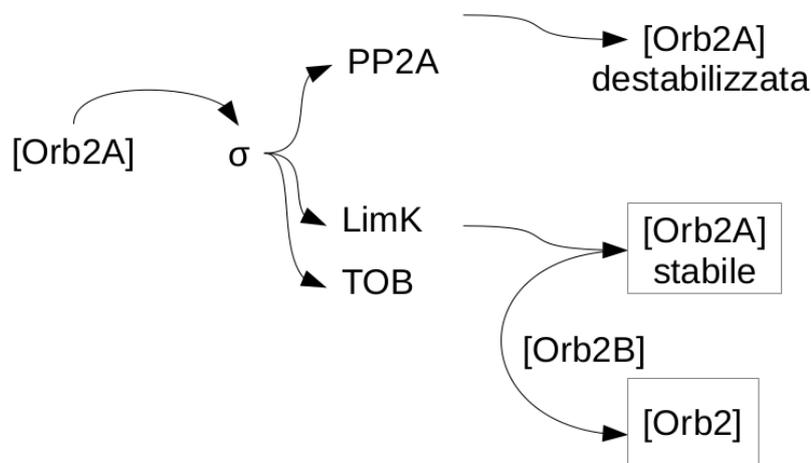


Figura 1.2: Schema del meccanismo di aggregazione: lo stimolo sinaptico σ porta una parte delle proteine Orb2A a uno stato inattivo, per effetto destabilizzante del fosfato PP2A, e una parte a uno stato attivo, per effetto stabilizzante delle proteine Lim Chinasi e TOB. Le Orb2A stabili tendono a legarsi con le proteine Orb2B per formare lo stato Orb2.

1.2 Comportamenti biochimici delle CPEB3

Le CPEB3 nei mammiferi sono caratterizzate da un N-terminale ricco di glutammina la quale garantisce un possibile comportamento *prion-like*, analogo a quello descritto nella *Drosophila*. Mentre per la Orb2 si ha un modello di aggregazione basato sulla fosforilazione, per le CPEB3 interviene un processo di oligomerizzazione in contrapposizione alla SUMOilazione (dove per SUMO si intende *Small Ubiquitination Modifier*). Questo meccanismo prevede che nello stato inattivo la CPEB3 è SUMOilata e può passare allo stato attivo oligomerizzato quando uno stimolo, di una certa durata minima, riesce ad indurre la *deSUMOilazione* [8] (Figura 1.3). Una proteina *deSUMOilata* vive in uno stato intermedio tra lo stato attivo e lo stato inattivo, quindi è instabile e tende facilmente verso lo stato aggregato. Quando inizia l'aggregazione entra nello stato attivo oligomerizzato e quindi funzionale ai processi di sintesi dell'mRNA coinvolto nella plasticità sinaptica. A differenza di quanto accade nella *Aplysia* e nella *Drosophila*, le CPEB3 aggregate nei mammiferi hanno vita molto breve e, quando arriva un nuovo stimolo, ricomincia un'altra 'onda' di aggregazione più grande della precedente. [5] Questo fenomeno può essere dovuto al fatto che rimane un 'seme' della precedente stimolazione in grado di 'marcare' l'attività degli stati funzionali delle sinapsi attive. Inoltre, le sinapsi che contengono questo 'seme', una volta attivate diventano più forti nel mantenere le connessioni sinaptiche e la memoria a lungo termine.

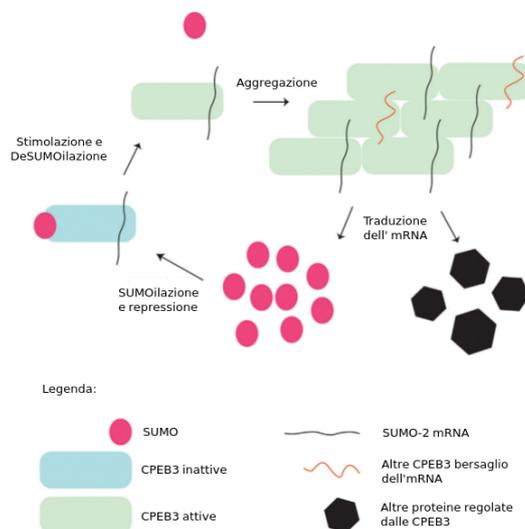


Figura 1.3: Rappresentazione del meccanismo di aggregazione delle CPEB3: lo stimolo sinaptico induce la *deSUMOilazione* e fa passare la proteina dallo stato inattivo (SUMOilato) allo stato attivo (oligomerizzato) nel quale tende ad aggregarsi e a sintetizzare l'mRNA.

Capitolo 2

Dalla teoria di campo medio ai processi stocastici

Le equazioni deterministiche, chiamate ‘di campo medio’, rappresentano l’andamento della media nel tempo del sistema considerato. In molti casi però l’andamento della media non è sufficiente per descrivere il comportamento del sistema perchè dà informazioni soltanto su cosa possiamo aspettarci, in media, da un gran numero di realizzazioni osservate ad un certo istante. Talvolta non solo la formulazione di campo medio è insufficiente, ma risulta essere proprio errata.

Per studiare un sistema complesso da un punto di vista non deterministico è necessario introdurre il rumore, ovvero una componente casuale che rende il sistema stocastico.

Seguendo la trattazione di V. Kampen [10], una variabile si dice *stocastica* quando è definita da una collezione di possibili valori, che possono rappresentare degli stati particolari, e da una distribuzione di probabilità su questi possibili valori. Infatti non è mai possibile dire con certezza se un sistema stocastico si trova in uno stato piuttosto che in un altro, ma si può calcolare la probabilità che in un certo istante il sistema si trovi in quel dato stato.

Un *processo stocastico* è un’applicazione f da uno spazio di probabilità ad uno spazio di funzioni dipendenti dal tempo, che rappresenta l’*ensemble* di tutte le realizzazioni della variabile stocastica. Per una fissata scelta dell’evento X abbiamo una traiettoria:

$$Y_X(t) = f(X, t) \tag{2.1}$$

2.1 Processo di Markov e Master Equation

Un processo di Markov è un processo stocastico in cui per $t_1 < t_2 < \dots < t_n$ si ha la *proprietà di Markov*:

$$P(y_n, t_n | y_{n-1}, t_{n-1}; \dots; y_1, t_1) = P(y_n, t_n | y_{n-1}, t_{n-1}) \quad (2.2)$$

detta *probabilità di transizione* del sistema, ovvero la probabilità di osservare lo stato y_n in t_n è univocamente determinata dallo stato del sistema all'istante immediatamente precedente e non è influenzata dagli altri termini. Volendo esplicitare i primi termini si osserva che a partire da $P_1(y_1, t_1)$ e $P(y_2, t_2 | y_1, t_1)$ si ottiene:

$$\begin{aligned} P_3(y_1, t_1; y_2, t_2; y_3, t_3) &= P(y_1, t_1; y_2, t_2) P(y_3, t_3 | y_1, t_1; y_2, t_2) \\ &= P(y_1, t_1) P(y_2, t_2 | y_1, t_1) P(y_3, t_3 | y_1, t_1) \end{aligned} \quad (2.3)$$

ed è possibile proseguire con questo algoritmo fino a P_n . Integrando la (2.3) in dy_2 si ricava l'*equazione di Chapman-Kolmogorov*:

$$P(y_3, t_3 | y_1, t_1) = \int P(y_3, t_3 | y_2, t_2) P(y_2, t_2 | y_1, t_1) dy_2 \quad (2.4)$$

identità che deve verificarsi per ogni probabilità di transizione. Quindi si ha che se $P(y_1, t_1)$ e $P(y_2, t_2 | y_1, t_1)$ determinano un processo di Markov allora seguono l'equazione di Chapman-Kolmogorov, e viceversa. Quando un sistema di Markov è in equilibrio si dice che è *stazionario* e non dipende dal tempo scelto istante per istante ma da un intervallo di tempo $\tau = t_2 - t_1$:

$$P(y_2, t_2 | y_1, t_1) := T_\tau(y_2 | y_1) \quad (2.5)$$

Se esiste il limite per $\tau \ll 1$ che garantisce la differenziabilità si ottiene la forma differenziale dell'equazione (2.4), la *master equation*:

$$\frac{\partial}{\partial t} P(y, t) = \int \left(W(y|y') P(y', t) - W(y'|y) P(y, t) \right) dy' \quad (2.6)$$

dove $W(y|y') \geq 0$ e $W(y'|y) \geq 0$ rappresentano le probabilità di transizione (*transition rate*) tra i due stati per unità di tempo e sono normalizzati a 1. La soluzione di questa equazione dà la probabilità di transizione del processo di Markov per ogni scelta di (y_1, t_1) .

È poi utile definire la *matrice stechiometrica*, detta anche *Laplaciana* in quanto generalizza il concetto dell'operatore laplaciano, che rappresenta il transition rate:

$$\mathbb{W}_{ij} := W_{ij} - \delta_{ij} \left(\sum_{ki} W_{ki} \right) \quad (2.7)$$

con le seguenti proprietà:

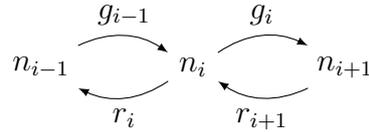
$$\begin{aligned} \mathbb{W}_{ij} &\geq 0 \quad \text{per } i \neq j \\ \sum_i \mathbb{W}_{ij} &= 0 \quad \forall j \end{aligned}$$

la quale permette di riscrivere la master equation nella forma:

$$\dot{p}_i(t) = \sum_j (\mathbb{W}_{ij} p_j(t) - \mathbb{W}_{ji} p_i(t)) \quad (2.8)$$

2.2 Processi 1-step

Un esempio di processo '1-step' è un tipico processo biologico di 'generazione-ricombinazione' definito come un processo di Markov continuo nel tempo descritto tramite una \mathbb{W} che permette salti solo tra 'siti' adiacenti:



dove valgono le seguenti relazioni:

$$\mathbb{W}_{ij} = r_j \delta_{i,j-1} + g_j \delta_{i,j+1} \quad \text{con } j \neq i \quad (2.9)$$

$$\mathbb{W}_{ii} = - (r_i + g_i) \quad (2.10)$$

Il processo '1-step' si dice *lineare* quando è a range finito e i rate di transizione dipendono da i . Si può riscrivere la master equation come:

$$\dot{p}_n = r_{i+1} p_{i+1} + g_{i-1} p_{i-1} - (r_i + g_i) p_i \quad (2.11)$$

Per questo tipo di processi markoviani è utile introdurre l'*operatore di Van Kampen*, che si comporta come gli operatori di creazione e distruzione, ma nel caso $|i| < \infty$ può essere

considerato semplicemente come un'abbreviazione simbolica. Questo 'step-operator' è definito dall'effetto che produce una volta applicato ad una funzione arbitraria:

$$\mathbb{E}^{+1} f(i) = f(i + 1) \quad (2.12)$$

$$\mathbb{E}^{-1} f(i) = f(i - 1) \quad (2.13)$$

ed è immediato verificare che soddisfa la seguente proprietà:

$$\sum_{i=0}^{N-1} g(i) \mathbb{E}^{+1} f(i) = \sum_{i=1}^N f(i) \mathbb{E}^{-1} g(i) \quad \forall f, g \quad (2.14)$$

Quindi la master equation per i processi '1-step' è:

$$\dot{p}_i = (\mathbb{E}^{+1} - 1)r_i p_i + (\mathbb{E}^{-1} - 1)g_i p_i \quad (2.15)$$

ed è possibile verificare l'esistenza di una soluzione stazionaria per questa equazione. Questa espressione rimane valida anche assumendo le seguenti condizioni al contorno, sugli estremi della catena di Markov:

$$\begin{aligned} r_0 = g_{-1} &= 0 \\ r_{N+1} = g_N &= 0 \end{aligned} \quad (2.16)$$

Un esempio in cui si applica la proprietà (2.14) e le condizioni al contorno è il seguente:

$$\begin{aligned} \langle \dot{n} \rangle &= \sum n \dot{p}_i \\ &= \sum n (\mathbb{E}^{+1} - 1)r_i p_i + \sum n (\mathbb{E}^{-1} - 1)g_i p_i \\ &= \sum r_i p_i (\mathbb{E}^{-1} - 1)n + \sum g_i p_i (\mathbb{E}^{+1} - 1)n \\ &= -\langle r_i \rangle + \langle g_i \rangle \end{aligned} \quad (2.17)$$

2.3 Sistema collettivo

Un sistema può trovarsi in M stati diversi e la sua evoluzione è sempre governata dalla (2.8). Un *sistema statistico* è rappresentato da una collezione di N molecole simili indipendenti l'una dall'altra, ognuna delle quali è governata dalla (2.8). Lo stato del sistema è determinato da $\mathbf{n} = n_1, n_2, \dots, n_N$ con $\mathbf{n} \in N^M$. Definendo $\mathbb{W}_{ij} n_j \Delta t$ la probabilità che una delle n_j molecole nel livello j vada nel livello i in un intervallo di

tempo Δt , si trova la master equation del sistema:

$$\begin{aligned}\dot{p}(\mathbf{n}, t) &= \sum_{i,j} \mathbb{W}_{ij} \mathbb{E}_j^{+1} \mathbb{E}_i^{-1} p(\mathbf{n}, t) n_{i-1} - \sum_{j,i} \mathbb{W}_{ji} \mathbb{E}_j^{-1} \mathbb{E}_i^{+1} p(\mathbf{n}, t) n_i \\ &= \sum_{i,j} \mathbb{W}_{ij} (\mathbb{E}_j^{+1} \mathbb{E}_i^{-1} - 1) p(\mathbf{n}, t) n_i\end{aligned}\quad (2.18)$$

ed è univocamente determinata dalla master equation di una singola molecola del sistema.

2.4 Processi di Wiener e rumore bianco

Un processo stocastico W_t è detto *processo di Wiener* se dipende in modo continuo da $t \in [t_0, T]$ e se è descritto da una distribuzione gaussiana di media $\mu = 0$ con incrementi indipendenti. In generale le condizioni che deve soddisfare un processo stocastico per essere considerato processo di Wiener sono:

- $W(0) = 0$;
- W_t distribuito normalmente per $t > 0$;
- $\langle W_t^2 \rangle = t$ per $t > 0$;
- $\langle (W_{t_1} - W_{t_2})^2 \rangle = 0$.

Un'equazione differenziale stocastica, a differenza di quella classica, presenta un termine 'perturbativo' dipendente dal tempo dw_t , differenziale del processo di Wiener:

$$dx_t = a(x, t)dt + b(x, t)dw_t \quad (2.19)$$

Questo termine rappresenta l'effetto di un 'rumore bianco', rappresenta le fluttuazioni di una variabile dipendente dal tempo nella dinamica del sistema. [11] In generale questo approccio serve per descrivere i moti browniani in cui le traiettorie sono random e continue, con media nulla e varianza crescente linearmente nel tempo. Ad ogni modo il punto chiave è che un grande numero di eventi casuali per lo più indipendenti l'uno dall'altro ha un effetto identificabile stocasticamente che si manifesta con il rumore.

Sotto opportune condizioni esiste [12] un processo stocastico x_t che è soluzione dell'equazione (2.19) dato da:

$$x(t) = x(s) + \int_s^t a(x_u, u)du + \int_s^t b(x_u, u)dw_u \quad (2.20)$$

In generale la soluzione può essere vista come punto di convergenza di una successione di soluzioni:

$$x_n(t) = x_0 + \int_s^t a(x_{n-1}(u), u)du + \int_s^t b(x_{n-1}(u), u)dw_u \quad (2.21)$$

la quale presenta un primo integrale di Riemann detto ‘integrale di drift’ e un secondo integrale stocastico detto ‘integrale di Itô’ il quale, sfruttando una definizione di convergenza non puntuale ma in media quadratica, può essere scritto come il limite delle somme di Riemann:

$$\int_0^t b(x)dw_t = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \sum_{k=0}^{N-1} b(x_k)[w(t_{k+1} + \Delta t) - w(t_k)] \quad (2.22)$$

dove $\Delta t = t_{k+1} - t_k$ rappresenta lo step di integrazione e $\tau_k = k\Delta t$. Questa espressione fornisce un modo per approssimare numericamente la soluzione e costruire schemi di integrazione. L’integratore di Itô è dato da:

$$x(t + \Delta t) = x(t) + a(x(t))\Delta t + b(x(t)) \int_t^{t+\Delta t} dw_u + O(\Delta t^2) \quad (2.23)$$

con $\int_t^{t+\Delta t} dw_u \rightarrow \Delta w_t$. Questa formulazione mette in luce come l’effetto stocastico sia una somma continua di infinite perturbazioni stocastiche indipendenti.

Capitolo 3

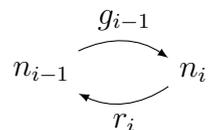
Modellizzazione

La modellizzazione del sistema a tre stati può essere fatta studiando le concentrazioni di proteine presenti in ogni stato (par. 3.1). Questa tecnica è l'ideale nel caso in cui il sistema sia formato da molte particelle, ma nel caso delle sinapsi si ha motivo di credere che non ci siano così tante particelle coinvolte e quindi un valido approccio alternativo è rappresentato dalla master equation del sistema fatta sul numero medio di particelle (par. 3.2).

Per vedere che il modello deterministico è una buona approssimazione di quello stocastico [13], interpretiamo la (2.18) in modo discreto come:

$$\dot{p}(\mathbf{n}, t) = - \sum_{i=1}^M \mathbb{D}_i^{+1} J_i \quad (3.1)$$

dove si introduce l'operatore $\mathbb{D}_i^{\pm 1} = \mathbb{E}_j^{\pm 1} \mathbb{E}_i^{\mp 1} - 1$ e la 'corrente' di reazioni chimiche $J_i = -\mathbb{W}_{ij} p(\mathbf{n}, t) n_i$. Prendendo una coppia di reazioni del tipo:



la 'corrente' di reazioni chimiche può essere scritta come:

$$J_i = A_i p(\mathbf{n}, t) + \mathbb{D}_i^{-1} B_i p(\mathbf{n}, t) \quad (3.2)$$

e la (3.1) diventa:

$$\dot{p}(\mathbf{n}, t) = - \sum_i \mathbb{D}_i^{+1} [A_i p(\mathbf{n}, t) + \mathbb{D}_i^{-1} B_i p(\mathbf{n}, t)] \quad (3.3)$$

che ha la forma di un'equazione di *Fokker-Planck* discretizzata, ovvero una master equation in cui l'operatore laplaciano diventa un operatore differenziale del secondo ordine e in cui sono presenti due termini particolari:

- A_i , detto 'campo di drift': $A_i(\mathbf{n}) = -g_{i-1}n_{i-1} + r_i n_i$;
- B_i , detto 'coefficiente di diffusione': $B_i = r_i n_i$.

Prendendo una corrente J_i che soddisfi condizioni al contorno come le (2.16), si trova:

$$\sum_{\Gamma} \mathbb{D}_i^{\pm 1} J_i = 0 \quad \text{con} \quad \Gamma = \{\mathbf{n} \in \mathbb{N}^M / |n| = N\} \quad (3.4)$$

come conseguenza delle relazioni in (2.14) e della definizione dell'operatore $\mathbb{D}_i^{\pm 1}$. A questo punto è possibile notare come il campo di drift sia strettamente correlato alla dinamica della media; infatti, procedendo come per (2.17), si ottiene:

$$\begin{aligned} \langle \dot{n}_i \rangle_{\Gamma} &= \sum_{\Gamma} n_i \dot{p}(\mathbf{n}, t) \\ &= - \sum_{i=1}^M \sum_{\Gamma} n_i \mathbb{D}_i^{+1} J_i \\ &= - \sum_{\Gamma} A_{i-1}(\mathbf{n}) p(\mathbf{n}, t) + \sum_{\Gamma} A_i(\mathbf{n}) p(\mathbf{n}, t) \\ &= \langle A_i(\mathbf{n}) \rangle_{\Gamma} - \langle A_{i-1}(\mathbf{n}) \rangle_{\Gamma} \end{aligned} \quad (3.5)$$

evidenziando il fatto che la dinamica della media è univocamente determinata dal campo di drift. Questa può essere approssimata quando le fluttuazioni sono piccole e quando i rate di transizione sono costanti:

$$\langle \dot{n}_i \rangle_{\Gamma} \approx A_i(\mathbf{n})(\langle \mathbf{n} \rangle_{\Gamma}) - A_{i-1}(\mathbf{n})(\langle \mathbf{n} \rangle_{\Gamma}) \quad (3.6)$$

giustificando l'utilizzo dell'approssimazione di campo medio in modo locale sotto le stesse condizioni necessarie per trattare il sistema come sistema collettivo, ovvero che le molecole siano indipendenti l'una dall'altra. Quindi, considerando la forte dipendenza

dell'evoluzione del sistema dal campo di drift, si può utilizzare un approccio deterministico e procedere, trascurando l'effetto di diffusione, con l'integrazione di equazioni differenziali ordinarie piuttosto che di equazioni differenziali stocastiche.

3.1 Aggregazione delle CPEB2 nella *Drosophila*

Si può studiare il meccanismo di aggregazione delle CPEB con un modello deterministico che descrive la loro variazione di concentrazione. [7]

Sia $[M]$ una generica concentrazione di proteine, allora la sua produzione locale in conseguenza a uno stimolo sinaptico σ è data da:

$$\left(\frac{\partial[M]}{\partial t}\right)_{prod} = k_{tr}(\vec{r}, t, \sigma)\rho(\vec{r}, t) - k_{deg}(\vec{r}, \sigma, t)[M](\vec{r}, t) \quad (3.7)$$

dove $k_{tr}(\vec{r}, \sigma, t)$ e $k_{deg}(\vec{r}, \sigma, t)$ tengono conto rispettivamente del rate di transizione e di degradazione, ovvero del numero di proteine che passano allo stato attivo e allo stato inattivo per unità di spazio e di tempo in conseguenza all'attività sinaptica; $\rho(\vec{r}, t)$ rappresenta invece la concentrazione dell'mRNA che trascrive la proteina.

Sia $[M^*]$ la concentrazione delle proteine stabili, la funzione che descrive l'accumulo di questa proteina nel *prion-state* sarà dato da:

$$\frac{\partial[M^*]}{\partial t} = k_{conv}(\vec{r}, t, \sigma)[M](\vec{r}, t, \sigma) - k_{deconv}(\vec{r}, t, \sigma)[M^*](\vec{r}, t) \quad (3.8)$$

dove $k_{conv}(\vec{r}, t, \sigma)$ e $k_{deconv}(\vec{r}, t, \sigma)$ tengono conto rispettivamente del rate di conversione e di de-conversione dal *prion-state*.

Come descritto precedentemente, quando una proteina entra nel *prion-state* promuove il cambiamento di altre proteine verso questo stato. La catalizzazione di questa conversione è rappresentata da:

$$\frac{\partial[O]}{\partial t} = k_{agg}(\vec{r}, t, [M^*])[M^*](\vec{r}, t, \sigma) - k_{tur}(\vec{r}, t, \sigma)[O](\vec{r}, t) \quad (3.9)$$

dove $[O]$ indica la concentrazione di proteine aggregate, $k_{agg}(\vec{r}, t, [M^*])$ e $k_{tur}(\vec{r}, t)$ rappresentano rispettivamente il rate di aggregazione e il rate di turnover. È stato visto che le dimensioni degli stati aggregati sono costanti e ciò suggerisce che ci sia un meccanismo che limita questa concentrazione. Ampliando questo ragionamento è plausibile supporre che $[M]$ e $k_{tur}(\vec{r}, t, \sigma)$ siano funzioni di $[O]$. Inoltre si suppone che il rate di conversione sia strettamente dipendente dallo stato di aggregazione e quindi che anche $k_{conv}(\vec{r}, t, \sigma)$ sia funzione di $[O]$.

Si trovano quindi le equazioni generali per questo modello base del meccanismo di aggregazione:

$$\begin{aligned} \frac{\partial[M]}{\partial t} = & k_{tr}(\vec{r}, t, \sigma)\rho(\vec{r}, t) - k_{deg}(\vec{r}, \sigma, t)[M](\vec{r}, t, [O]) \\ & - k_{conv}(\vec{r}, t, \sigma, [O])[M](\vec{r}, t, \sigma, [O]) - k_{deconv}(\vec{r}, t, \sigma)[M^*](\vec{r}, t) \end{aligned} \quad (3.10)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial[M^*]}{\partial t} = & k_{conv}(\vec{r}, t, \sigma, [O])[M](\vec{r}, t, \sigma, [O]) - k_{deconv}(\vec{r}, t, \sigma)[M^*](\vec{r}, t) \\ & - k_{agg}(\vec{r}, t, [M^*])[M^*](\vec{r}, t, \sigma) - k_{tur}(\vec{r}, \sigma, t, [O])[O](\vec{r}, t) \end{aligned} \quad (3.11)$$

$$\frac{\partial[O]}{\partial t} = k_{agg}(\vec{r}, t, [M^*])[M^*](\vec{r}, t, \sigma) - k_{tur}(\vec{r}, t, \sigma, [O])[O](\vec{r}, t) \quad (3.12)$$

Per applicare questo modello al sistema biochimico bisogna per prima cosa porre delle semplificazioni:

- considerare le sinapsi come terminazioni puntiformi;
- imporre la concentrazione di mRNA dell'Orb2A ($\rho(\vec{r}, t)$) costante;
- ammettere che l'Orb2A non si diffonda al di fuori delle sinapsi.

Con queste approssimazioni si possono studiare le equazioni come derivate totali rispetto al tempo.

Si assume che la transizione locale di Orb2A dipenda dall'attività sinaptica secondo la relazione:

$$\frac{df(\sigma, t)}{dt} = k_{on}\sigma(t) - k_{off}f(\sigma, t) \quad (3.13)$$

dove $f(\sigma, t)$ rappresenta la risposta del sistema allo stimolo elettrico $\sigma(t)$, la quale è parametrizzata da una costante di crescita k_{on} e una costante di saturazione k_{off} .

Nota la forte tendenza all'aggregazione delle proteine Orb2A, si evita di andare a studiare il *prion-state* e quindi, per questo modello, si può ignorare la (3.8) e considerare le equazioni (3.7) e (3.9), che descrivono le proprietà di transizione e di aggregazione della proteina Orb2A, la cui concentrazione viene indicata con $[A]$ e con $[A^*]$:

$$\frac{d[A]}{dt} = \alpha_{tr}[\rho]_A f(\sigma, t)\Theta_{B^*}^{1 \rightarrow 0} - \alpha_{deg}[A] \quad (3.14)$$

$$\frac{d[A^*]}{dt} = \alpha_{agg}[A] - \alpha_{ex}[A^*] \quad (3.15)$$

Quindi la concentrazione di Orb2A è data dalla differenza tra la quantità totale che entra in transizione e la parte che va subito in aggregazione:

$$\frac{d[A]}{dt} = \alpha_{tr}[\rho]_A f(\sigma, t) \Theta_{B^*}^{1 \rightarrow 0} - \alpha_{deg}[A] - \alpha_{agg}[A] + \alpha_{ex}[A^*] \quad (3.16)$$

Un'altra assunzione fondamentale di questo modello prevede che la concentrazione delle proteine Orb2A formi un 'seme' per la successiva aggregazione di Orb2B così che quando Orb2 si forma diventa invariante rispetto all'aumento di Orb2A poichè nel suo *prion-state* è autosufficiente. Quindi, secondo la (3.9), si ha:

$$\frac{d[B^*]}{dt} = \beta_{agg} g(\sigma, t) \Theta_{A^*}^{0 \rightarrow 1} \Theta_{B^*}^{1 \rightarrow 0} + \beta_{ex} (\Theta_{B^*}^{0 \rightarrow 1} - 1) [B^*] \quad (3.17)$$

dove $[B^*]$ è la concentrazione di Orb2B nello stato aggregato, β_{agg} esprime la dipendenza dalla concentrazione di Orb2A, β_{ex} regola la dissociazione e $g(\sigma, t)$ rappresenta la risposta allo stimolo sinaptico e si assume essere uguale alla $f(\sigma, t)$ quindi determinata dalla (3.13). Si può rappresentare questo meccanismo come negli schemi seguenti (richiamando la Figura 1.2):

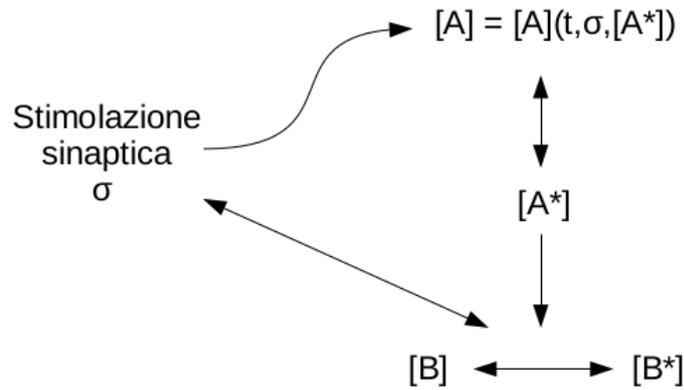
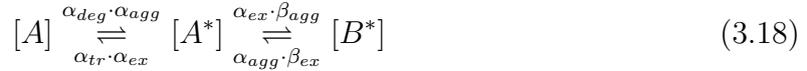


Figura 3.1: Schema del meccanismo di aggregazione sul modello di una reazione chimica.

Le funzioni Θ usate nelle equazioni precedenti sono delle funzioni di Heaviside, a gradino, definite per una concentrazione generica come segue:

$$\begin{aligned}\Theta_{M^*}^{1 \rightarrow 0} &= \begin{cases} 1 & \text{se } [M] < [M]_\theta \\ 0 & \text{se } [M] > [M]_\theta \end{cases} \\ \Theta_{M^*}^{0 \rightarrow 1} &= \begin{cases} 0 & \text{se } [M] < [M]_\theta \\ 1 & \text{se } [M] > [M]_\theta \end{cases}\end{aligned}\quad (3.19)$$

dove $[M]_{\theta, M}$ rappresenta il valore soglia, ovvero il punto oltre il quale l'aggregato si auto-sostiene e diventa quindi indipendente dalle altre concentrazioni. Questa condizione implica un comportamento del *tutto-o-nulla*: la sinapsi va in uno stato stabile di alta efficienza dopo un tempo di latenza τ in cui avviene il trigger. Modellando l'efficienza sinaptica con una curva sigmoide del tipo:

$$\Delta\varepsilon(t) = \frac{\Delta\varepsilon_{max}}{\sqrt{1 + e^{-a(M_\tau^* - m)}}}\quad (3.20)$$

con M_τ^* che rappresenta una funzione che tiene conto del tempo di latenza, si possono riscrivere le (3.19):

$$\begin{aligned}\Theta_{M^*}^{1 \rightarrow 0} &= \frac{1}{\sqrt{1 + e^{\beta([M^*] - [M^*]_\theta)}}} \\ \Theta_{M^*}^{0 \rightarrow 1} &= \frac{1}{\sqrt{1 + e^{-\beta([M^*] - [M^*]_\theta)}}}\end{aligned}\quad (3.21)$$

3.1.1 Simulazione numerica

Sono state effettuate delle simulazioni numeriche del modello appena descritto, usando un algoritmo di integrazione, la cui implementazione viene riportata in Appendice A, per il sistema di equazioni:

$$\frac{df(\sigma, t)}{dt} = k_{on}\sigma(t) - k_{off}f(\sigma, t)\quad (3.22)$$

$$\frac{d[A]}{dt} = \alpha_{tr}[\rho]_A f(\sigma, t)\Theta_{B^*}^{1 \rightarrow 0} - \alpha_{deg}[A]\quad (3.23)$$

$$\frac{d[A^*]}{dt} = \alpha_{agg}[A] - \alpha_{ex}[A^*]\quad (3.24)$$

$$\frac{d[B^*]}{dt} = \beta_{agg}g(\sigma, t)\Theta_{A^*}^{0 \rightarrow 1}\Theta_{B^*}^{1 \rightarrow 0} + \beta_{ex}(\Theta_{B^*}^{0 \rightarrow 1} - 1)[B^*]\quad (3.25)$$

in cui per la stimolazione sinaptica $\sigma(t)$ si è usata un'onda quadra con periodo $T = 5\text{s}$ (Figura 3.2) e *duty cycle*=30%, mentre per gli altri parametri si sono usati i valori in tabella (Figura 3.3).

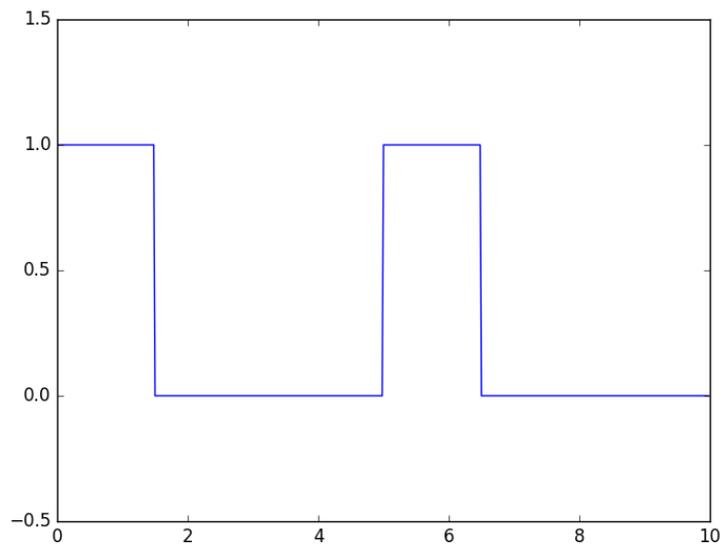


Figura 3.2: *Onda quadra con ampiezza unitaria, periodo $T = 5\text{s}$ e *duty cycle*=30% che rappresenta l'impulso nervoso.*

Dai risultati riportati in Figura 3.4 si osserva la risposta del sistema sottoposto a un solo impulso. In particolare si può notare la stabilità della concentrazione della proteina Orb2, che si mantiene costante anche una volta che lo stimolo si è esaurito, descrivendo così il comportamento *prion-like*.

Valori dei parametri

k_{on}	1
k_{off}	0.7
$\alpha_{tr}[\rho]_A$	0.005
α_{deg}	0.002
α_{agg}	0.008
α_{ex}	0.001
β_{agg}	0.01
β_{ex}	0.0004
$[B^*]_\theta$	3
$[A^*]_\theta$	3
α	50
β	50

Figura 3.3: Parametri usati per la simulazione numerica.

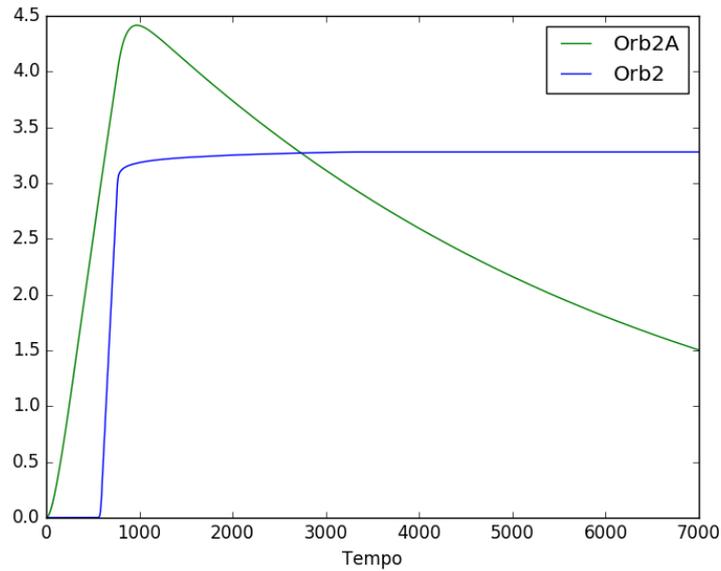


Figura 3.4: Soluzioni al sistema (3.25) che riportano le variazioni di concentrazione delle proteine Orb2A e Orb2 con una stimolazione di 4000s in un intervallo di tempo $0 < t < 7000$ s.

3.2 Aggregazione delle CPEB3 nei mammiferi

Per descrivere questo sistema si può inizialmente usare un modello deterministico. Si considerano i tre stati possibili delle CPEB3:

- SUMOilata: SC ;
- deSUMOilata: C ;
- oligomerizzata: C_{ol} .

Si assume che le proteine non si decompongano e quindi il numero di CPEB3 totale deve conservarsi in ogni istante durante questi processi:

$$n_{SC} + n_c + n_{C_{ol}} = n_{tot} \quad (3.26)$$

Ogni monomero, studiato come una singola particella, è in grado di cambiare il suo stato in un Δt in base a una probabilità di transizione p legata al rate di transizione k da:

$$p = k\Delta t \quad (3.27)$$

Avendo tre stati si hanno quattro diverse transizioni possibili, ognuna con la sua probabilità di avvenire:



A questo punto è possibile scrivere le equazioni di campo medio che descrivono l'andamento nel tempo del sistema:

$$\begin{aligned} \frac{dn_{SC}}{dt} &= -n_{SC}k_c(\sigma(t)) + n_Ck_s \\ \frac{dn_C}{dt} &= n_{SC}k_c(\sigma(t)) + n_{C_{ol}}k_{deol} - n_C(k_s + k_{ol}) \\ \frac{dn_{C_{ol}}}{dt} &= n_Ck_{ol} - n_{C_{ol}}k_{deol} \end{aligned} \quad (3.29)$$

Se lo stimolo è abbastanza lungo accade che un certo numero di proteine entra nello stato oligomerizzato e rimane in questo stato anche dopo che lo stimolo si è esaurito.

3.2.1 Simulazione numerica e studio delle transizioni di fase

È stato integrato (Appendice B) il sistema di equazioni differenziali appena descritto utilizzando i parametri in Figura 3.5.

Rate di transizione	
k_s	0.005
k_{ol}	0.005
k_{deol}	$e^{-\alpha(n_{ol}-n\theta)}$
	con $\alpha = \frac{\ln(100)}{n\theta}$
$k_c(\sigma(t))$	$\begin{cases} 5 \times 10^{-6} & \text{se } \sigma(t) = 0 \\ 5 \times 10^{-2} & \text{se } \sigma(t) = 1 \end{cases}$

Figura 3.5: Parametri usati per la simulazione numerica.

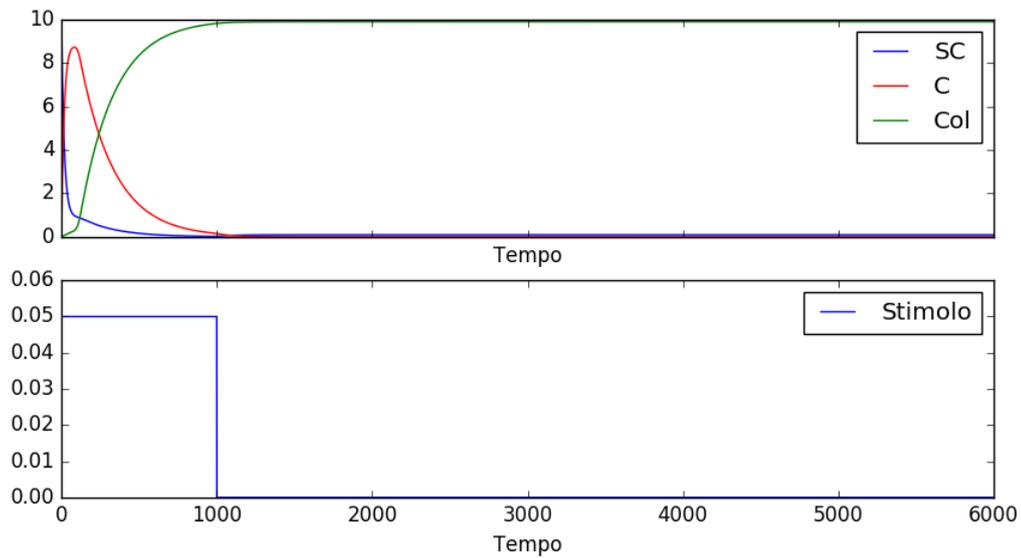
I due parametri fondamentali usati per lo studio delle transizioni di fase sono:

- la durata dello stimolo d , che regola la prima transizione dallo stato SUMOilato allo stato deSUMOilato;
- il valore soglia di oligomerizzazione $n\theta$, che regola la transizione dallo stato deSUMOilato allo stato oligomerizzato.

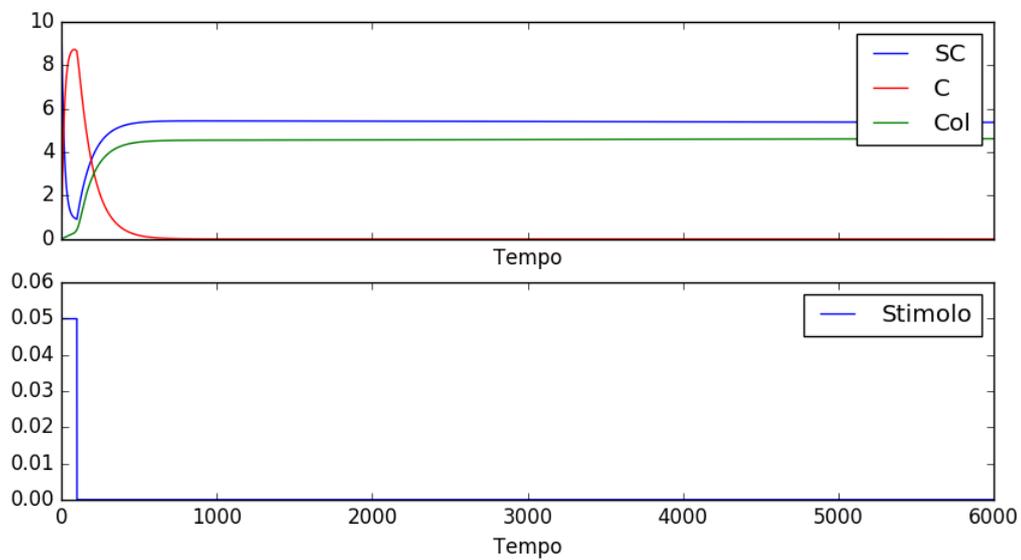
In una prima analisi sono state impostate le condizioni iniziali in modo da avere la totalità delle proteine nello stato SUMOilato e quindi nessuna proteina nello stato intermedio e nello stato oligomerizzato. Poi è stato fissato il valore $n\theta = 1$ quindi la soglia della oligomerizzazione al 10% della popolazione totale. Si è quindi studiata l'evoluzione della dinamica del sistema al variare della durata dello stimolo.

Come si può notare dalle immagini riportate in Figura 3.7 con $d = 77.049$ il sistema non raggiunge lo stato stabile, mentre con l'aumento della durata dello stimolo un numero sempre maggiore di proteine tende ad oligomerizzarsi.

È importante sottolineare come questa transizione di fase avvenga per cambiamenti molto piccoli sulla durata dello stimolo, effetto che denota un'elevata instabilità nel punto critico trovato.

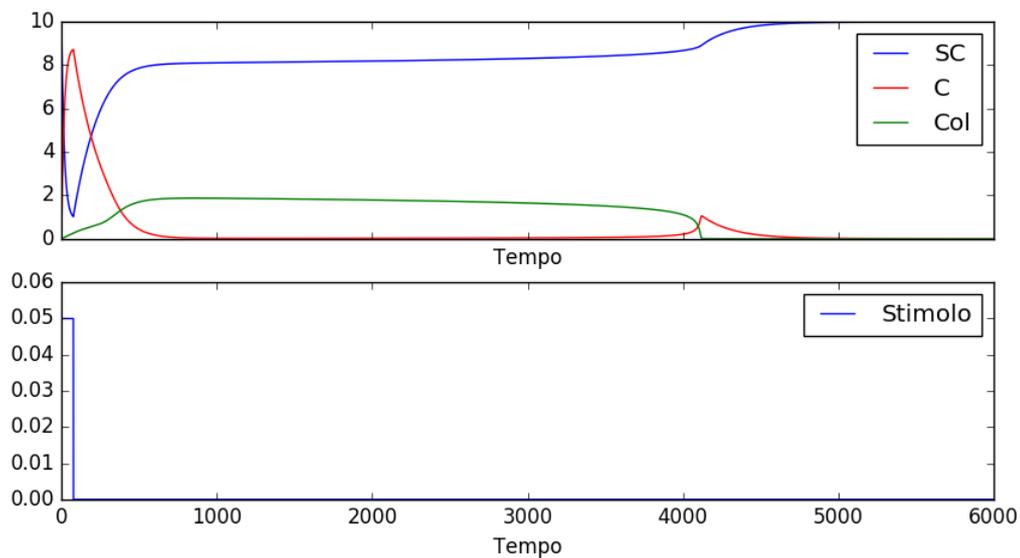


(a) $n\theta = 1, d = 1000$.

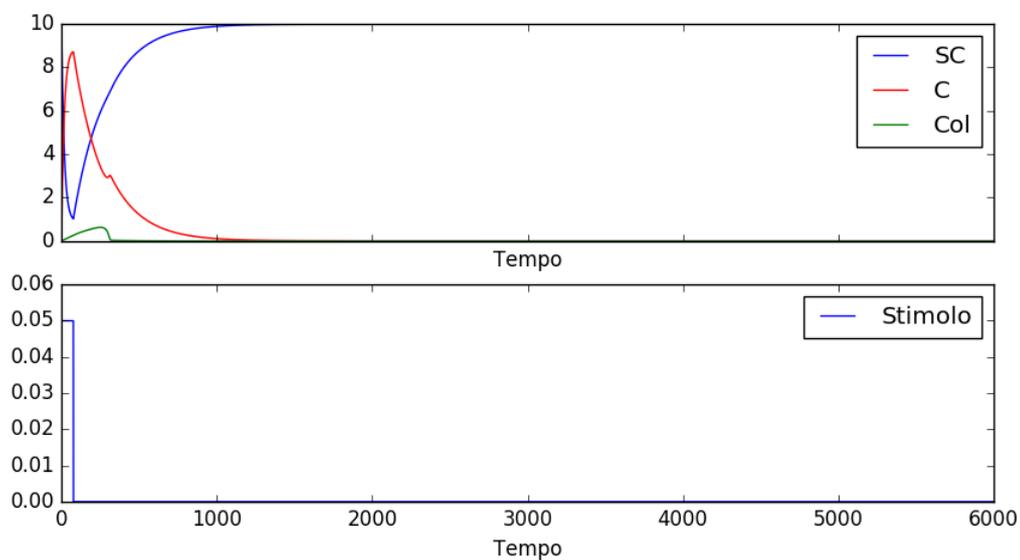


(b) $n\theta = 1, d = 100$.

Figura 3.6: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stesso valore soglia per l'oligomerizzazione $n\theta = 1$ e diversa durata di impulso d . Si osserva che, al variare della durata dello stimolo, il sistema impara totalmente (a) o impara parzialmente (b)



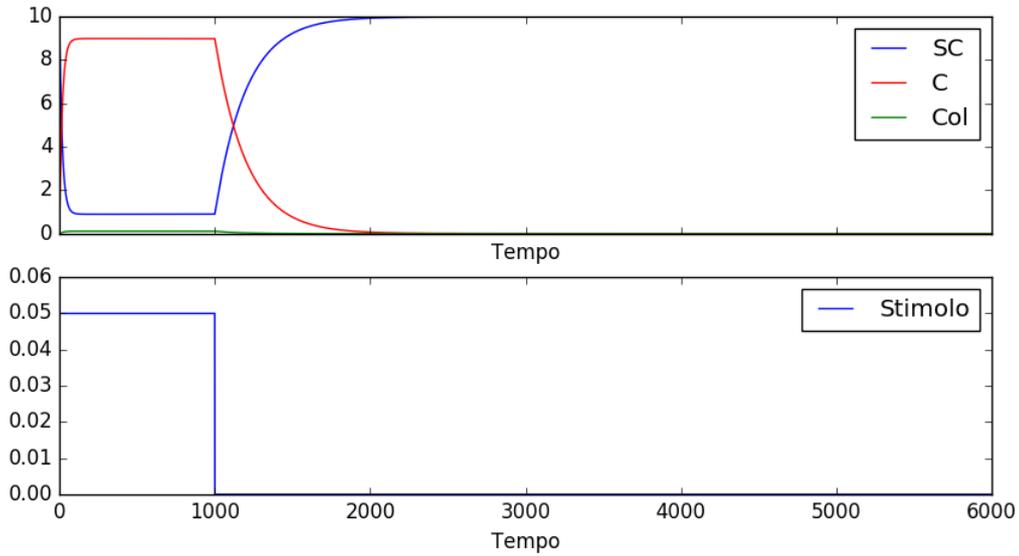
(a) $n\theta = 1$, $d = 77.05$.



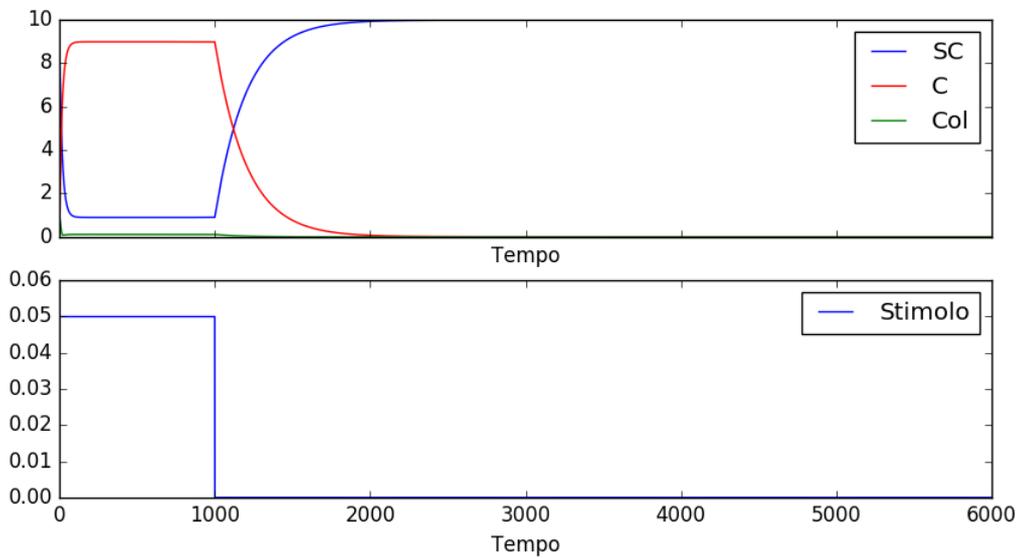
(b) $n\theta = 1$, $d = 77.049$.

Figura 3.7: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stesso valore soglia per l'oligomerizzazione $n\theta = 1$ e diversa durata di impulso d . Si osserva che, al variare della durata dello stimolo, il sistema impara e disimpara (a) o non impara (b)

Successivamente si è visto che alzando la soglia a $n\theta > 1$ le proteine non raggiungono mai lo stato oligomerizzato:



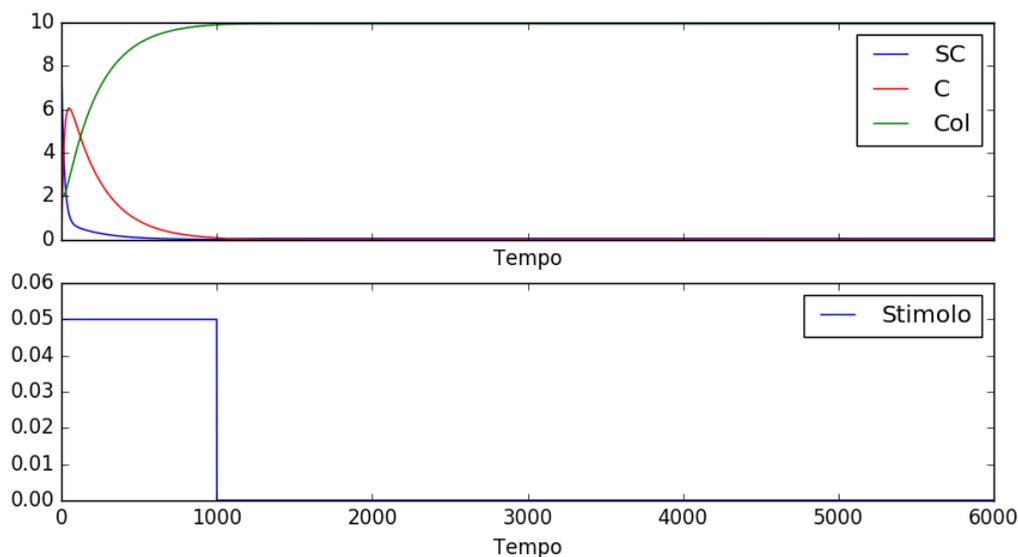
(a) $n\theta = 2$, $d = 1000$, $(SC, C, C_{ol}) = (10, 0, 0)$.



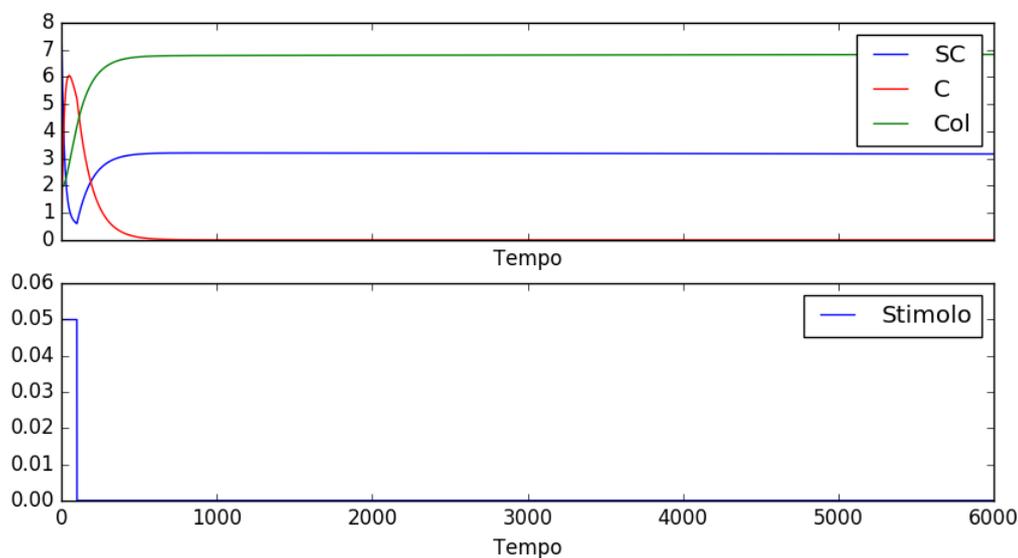
(b) $n\theta = 2$, $d = 1000$, $(SC, C, C_{ol}) = (9, 0, 1)$.

Per questo si è andato a studiare il caso $n\theta = 2$ modificando il sistema alle condizioni iniziali, ovvero inserendo un ‘seme’ di 2 proteine nello stato oligomerizzato, prima del-

l'arrivo dello stimolo esterno. In questo modo si nota una transizione di fase per stimoli molto piccoli ($d < 20$).

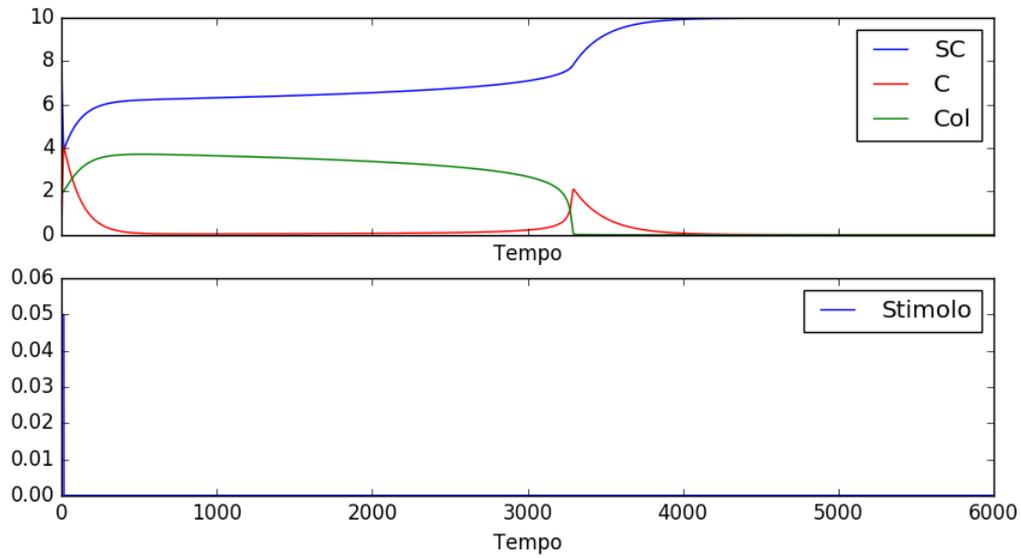


(a) $n\theta = 2$, $d = 1000$, $(SC, C, Col) = (8, 0, 2)$.

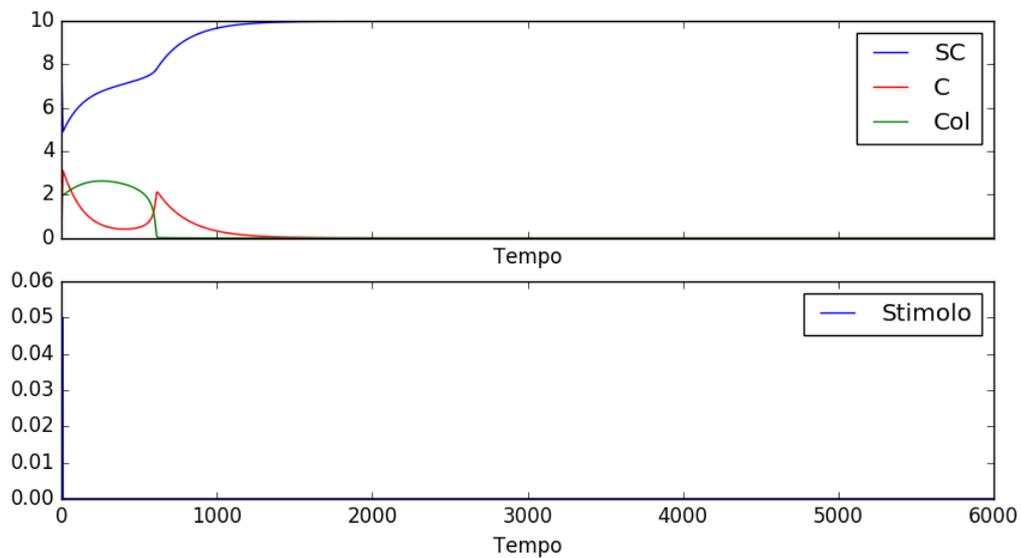


(b) $n\theta = 2$, $d = 100$, $(SC, C, Col) = (8, 0, 2)$.

Figura 3.8: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stesso valore soglia per l'oligomerizzazione $n\theta = 2$ e diversa durata di impulso d . Si osserva che, al variare della durata dello stimolo, il sistema impara totalmente (a) o impara parzialmente (b).



(a) $n\theta = 2$, $d = 15$, $(SC, C, C_{ol}) = (8, 0, 2)$.



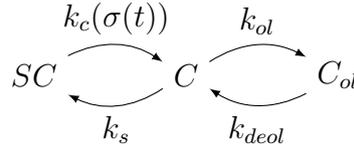
(b) $n\theta = 2$, $d = 10$, $(SC, C, C_{ol}) = (8, 0, 2)$.

Figura 3.9: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stesso valore soglia per l'oligomerizzazione $n\theta = 2$ e diversa durata di impulso d . Si osserva che, al diminuire della durata dello stimolo, il sistema impara sempre meno e disimpara sempre più velocemente.

È importante sottolineare che i valori associati ai parametri nei punti critici non rappresentano dei ‘valori assoluti’ ma possono dipendere dal tipo di integrazione usata per il sistema. Ciò che viene invece stabilito da queste simulazioni è il carattere ‘sharp’ della transizione di fase e quindi fondamentalmente in che modalità avviene il passaggio dallo stato non oligomerizzato allo stato oligomerizzato.

3.3 Introduzione a uno studio stocastico del modello PADP

Nell’analizzare da un punto di vista stocastico il sistema composto dai diversi stati che può assumere la proteina CPEB nei mammiferi, ci si riferisce ai processi di Markov 1-step:



Si ricorda però che era stata imposta la condizione di conservazione del numero di proteine totali (3.26), quindi le tre proteine non risultano indipendenti l’una dall’altra. Per poterlo trattare come sistema collettivo risulta necessario spezzare questo processo a tre stati e considerare un ciclo alla volta; in questo modo le due variabili di ogni ciclo saranno indipendenti l’una dall’altra e si può calcolare la probabilità di transizione come in (2.18).

In particolare si ha:

$$\dot{p}_{SC} = (\mathbb{E}_{SC}^{+1}\mathbb{E}_C^{-1} - 1)p_s - (\mathbb{E}_{SC}^{-1}\mathbb{E}_C^{+1} - 1)p_c \quad (3.30)$$

$$\dot{p}_C = (\mathbb{E}_{SC}^{-1}\mathbb{E}_C^{+1} - 1)p_c - (\mathbb{E}_C^{-1}\mathbb{E}_{C_{ol}}^{+1} - 1)p_{ol} + (\mathbb{E}_{C_{ol}}^{-1}\mathbb{E}_C^{+1} - 1)p_{deol} - (\mathbb{E}_{SC}^{+1}\mathbb{E}_C^{-1} - 1)p_s \quad (3.31)$$

$$p_{C_{ol}} \dot{=} (\mathbb{E}_C^{-1}\mathbb{E}_{C_{ol}}^{+1} - 1)p_{ol} - (\mathbb{E}_{C_{ol}}^{-1}\mathbb{E}_C^{+1} - 1)p_{deol} \quad (3.32)$$

3.3.1 Aggiunta del rumore di Wiener

Un primo approccio stocastico al sistema è dato dall’introduzione del rumore di Wiener. Teoricamente quest’aggiunta consiste nell’inserire il sistema in un bagno termico che porta delle fluttuazioni proporzionali alla temperatura. Ciò che viene modificato dalle fluttuazioni è lo stimolo che sarà una funzione a scalino modulata da un fattore $\xi\sqrt{2T}$, dove ξ rappresenta una variabile aleatoria distribuita in modo gaussiano con media nulla

e varianza unitaria, mentre $\sqrt{2T}$ rappresenta il parametro che regola l'ampiezza della varianza del processo stocastico:

$$\sigma(t) = \begin{cases} 1 + \xi\sqrt{2T} & \text{se } t < d \\ \xi\sqrt{2T} & \text{se } t > d \end{cases} \quad (3.33)$$

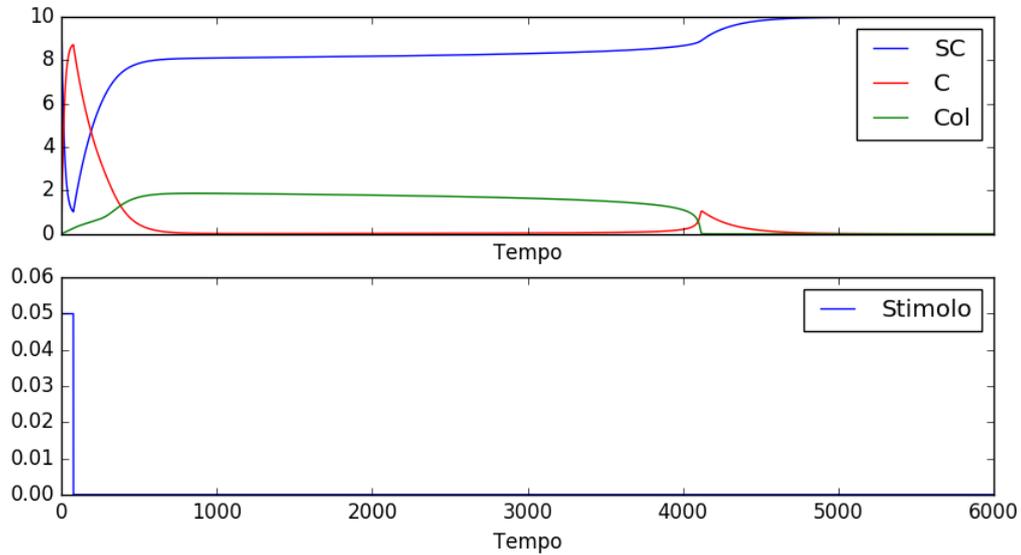
Quindi nelle equazioni che descrivono la dinamica del modello ((3.29)) il parametro che risente del rumore è $k_c(\sigma(t))$:

$$k_c(\sigma(t)) = \begin{cases} (5 \times 10^{-2})\sigma(t) & \text{se } t < d \\ \sigma(t) & \text{se } t > d \end{cases} \quad (3.34)$$

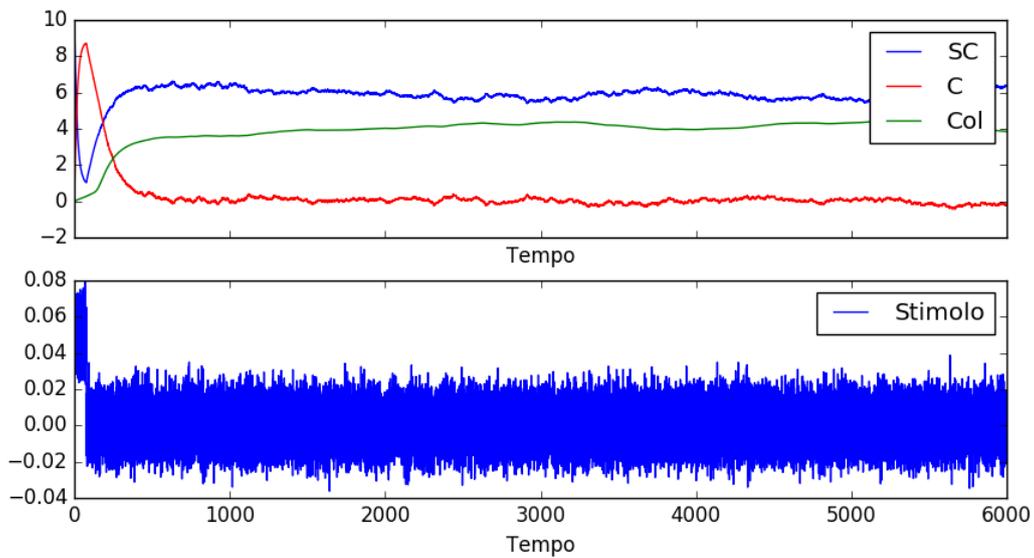
È stato integrato il sistema di equazioni seguendo lo schema di Itô (par. 2.4) e si sono confrontati i risultati con quelli ottenuti dalle simulazioni sul modello deterministico.

In Figura 3.10 si può notare come il sistema deterministico rimanga in condizioni di equilibrio per un tempo limitato per poi precipitare alle condizioni iniziali, mentre per effetto delle fluttuazioni inserite nel modello stocastico il sistema riesca a rimanere allo stato stabile per un tempo molto più lungo.

Inoltre si è voluta osservare la transizione di fase al variare delle fluttuazioni. Dalle immagini in Figura 3.11 e Figura 3.12 si può notare come inserendo un rumore piccolissimo il modello stocastico riproduce esattamente i risultati ottenuti dal modello deterministico, mentre, aumentando il parametro che modula le fluttuazioni, si ottengono risultati diversi. Infatti il rumore permette al sistema di stabilizzarsi anche in quei casi in cui, secondo la precedente trattazione deterministica, non si sarebbe stabilizzato.

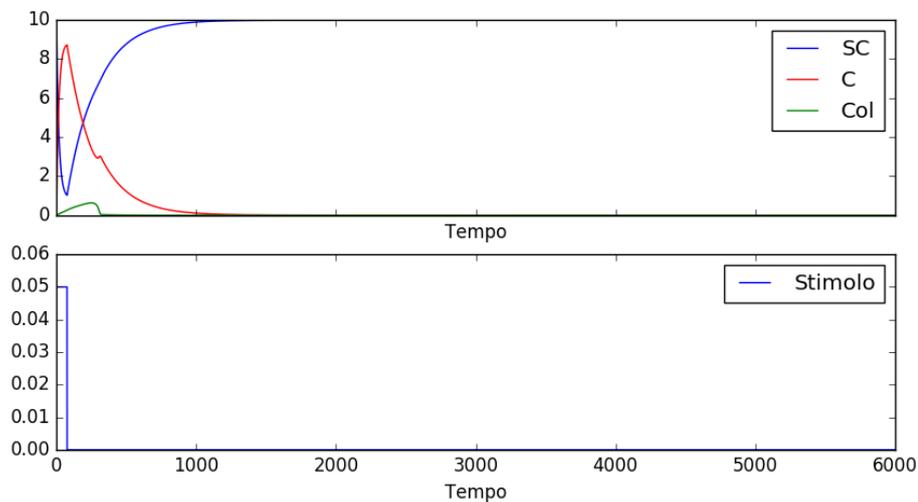


(a) $n\theta = 1$, $d = 77.05$, $T = 0$.

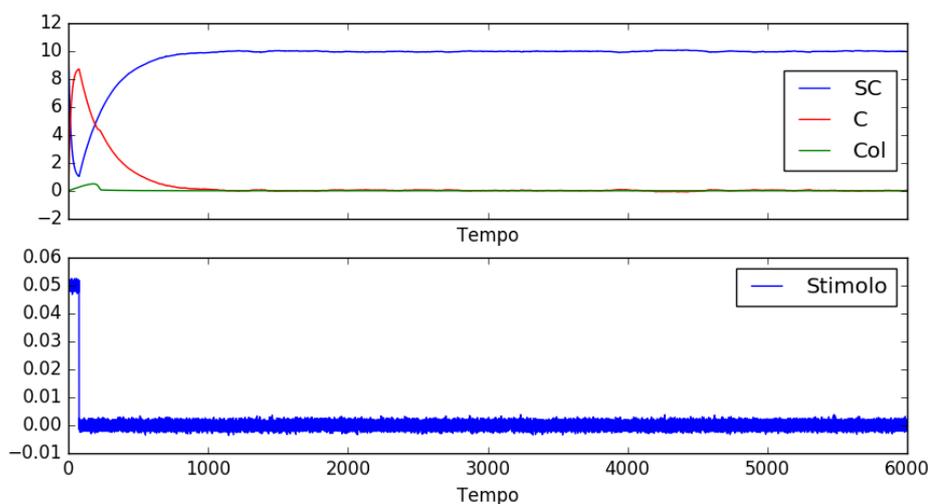


(b) $n\theta = 1$, $d = 77.05$, $T = 0.0005$.

Figura 3.10: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stessi valori soglia di transizione e diverse temperature del bagno termico che modula la fluttuazione di Wiener. In particolare si osserva come il modello stocastico (b) garantisce una permanenza dello stato stabile molto più duratura del modello deterministico (a).

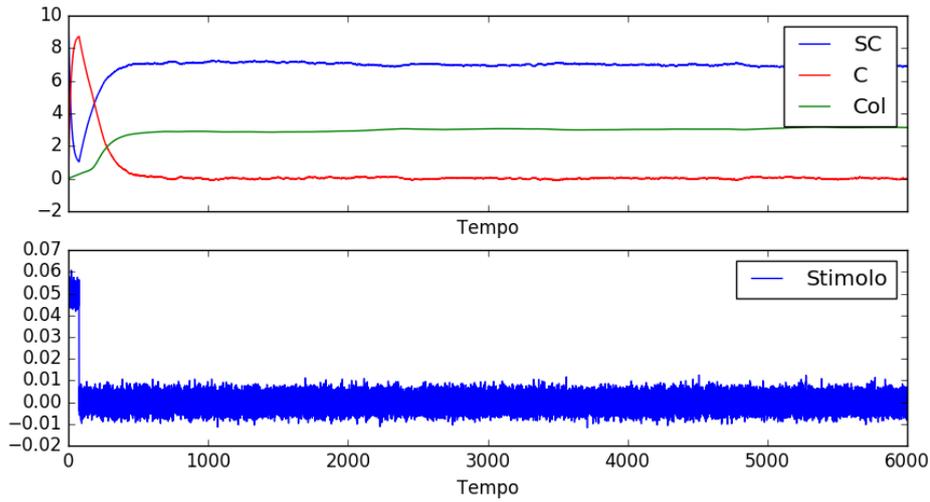


(a) $n\theta = 1$, $d = 77.049$, $T = 0$.

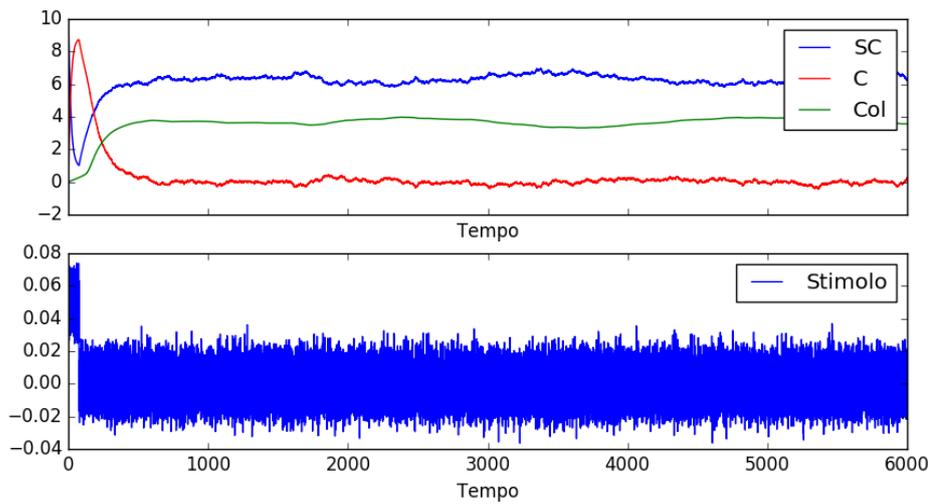


(b) $n\theta = 1$, $d = 77.049$, $T = 0.000005$.

Figura 3.11: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stessi valori soglia di transizione e diverse temperature del bagno termico che modula la fluttuazione di Wiener. In particolare si nota come aggiungendo un rumore molto piccolo si riproduce lo stesso risultato ottenuto in assenza di rumore.



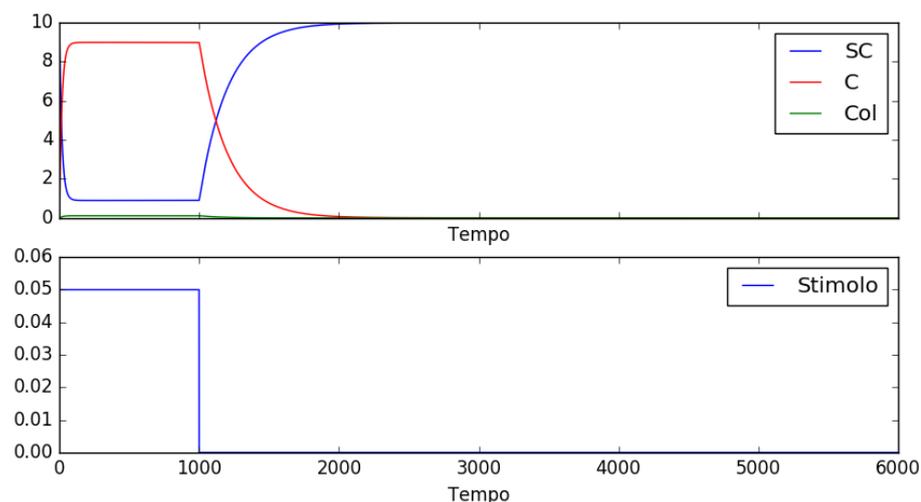
(a) $n\theta = 1$, $d = 77.049$, $T = 0.00005$.



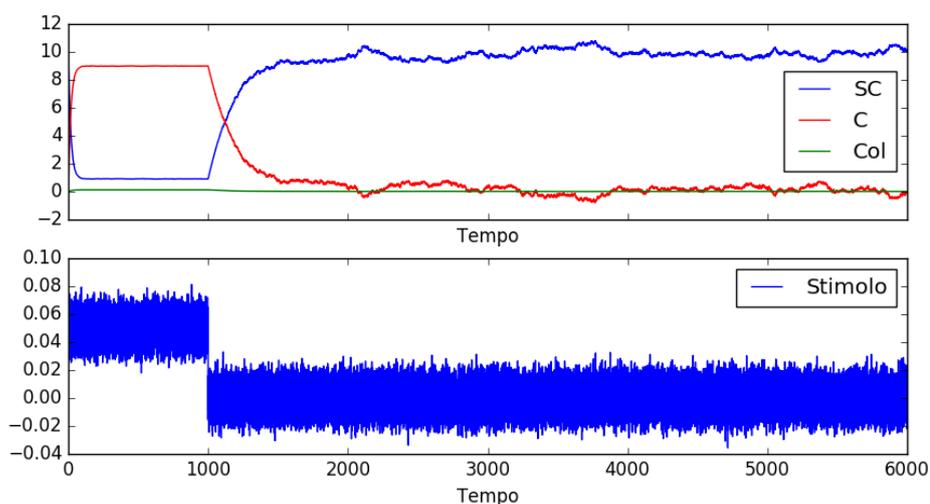
(b) $n\theta = 1$, $d = 77.049$, $T = 0.0005$.

Figura 3.12: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stessi valori soglia di transizione e diverse temperature del bagno termico che modula la fluttuazione di Wiener. In particolare si nota come aumentando il rumore il sistema raggiunga e mantenga lo stato stabile.

Per quanto riguarda l'evoluzione del sistema con soglia di oligomerizzazione $n\theta > 1$ anche nel modello stocastico si è notato che non si stabilizza mai:

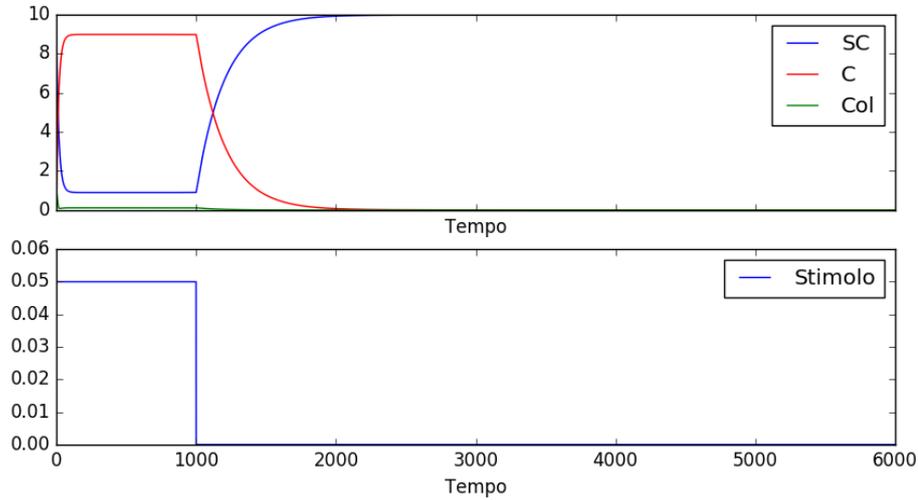


(a) $n\theta = 2$, $d = 1000$, $(SC, C, C_{ol}) = (10, 0, 0)$, $T = 0$.

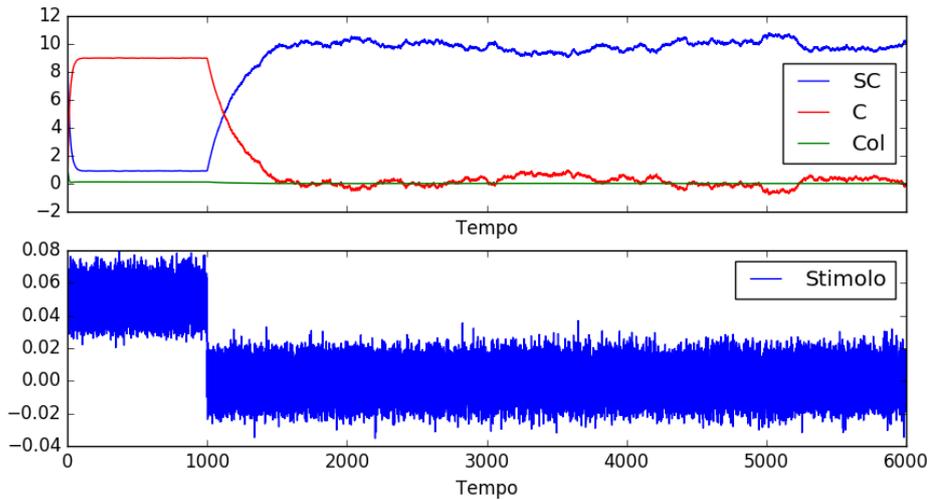


(b) $n\theta = 2$, $d = 1000$, $(SC, C, C_{ol}) = (10, 0, 0)$, $T = 0.0005$.

Figura 3.13: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stessi valori soglia di transizione e diverse temperature del bagno termico che modula la fluttuazione di Wiener. Si osserva come sia per il modello deterministico (a) che per il modello stocastico (b) con la soglia di oligomerizzazione pari a $n\theta = 2$ il sistema non raggiunge mai l'equilibrio.



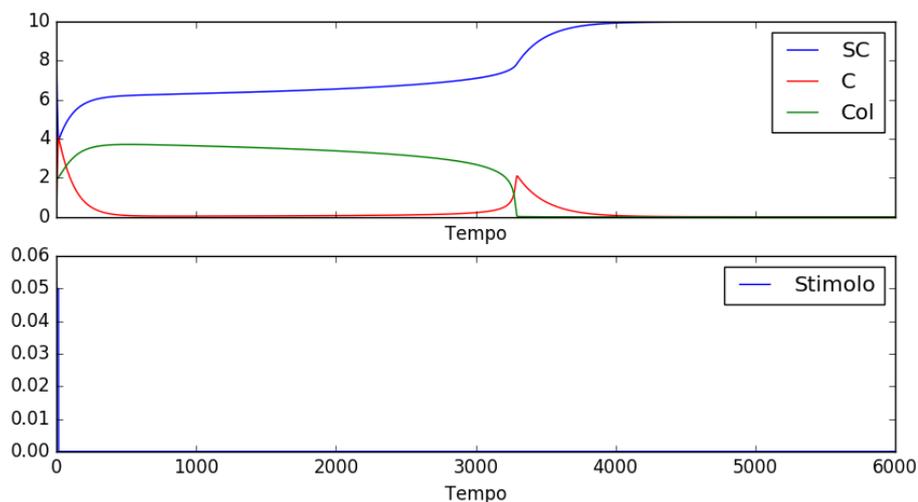
(a) $n\theta = 2$, $d = 1000$, $(SC, C, Col) = (9, 0, 1)$, $T = 0$.



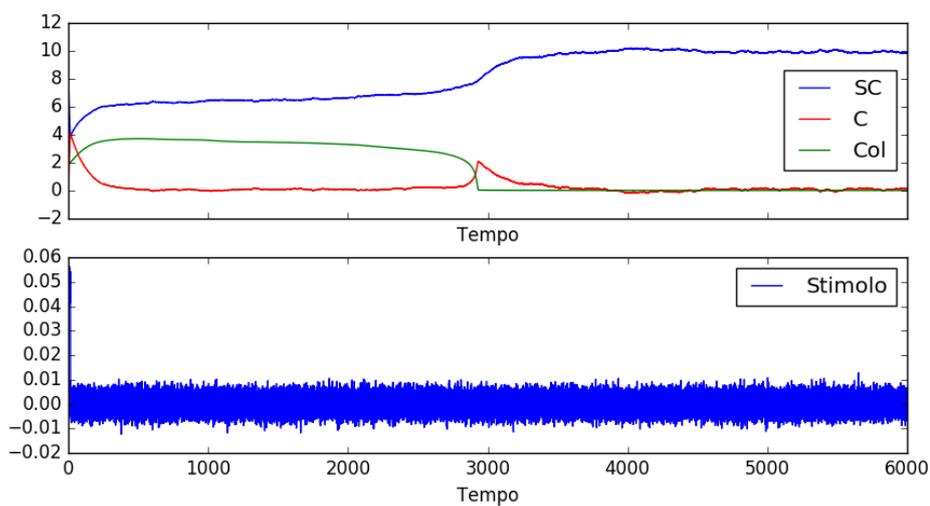
(b) $n\theta = 2$, $d = 1000$, $(SC, C, Col) = (9, 0, 1)$, $T = 0.0005$.

Figura 3.14: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stessi valori soglia di transizione e diverse temperature del bagno termico che modula la fluttuazione di Wiener. Si osserva come sia per il modello deterministico (a) che per il modello stocastico (b) con la soglia di oligomerizzazione pari a $n\theta = 2$ il sistema non raggiunge mai l'equilibrio.

Quindi, come per il modello deterministico, è stato inserito un ‘seme’ di 2 proteine oligomerizzate:

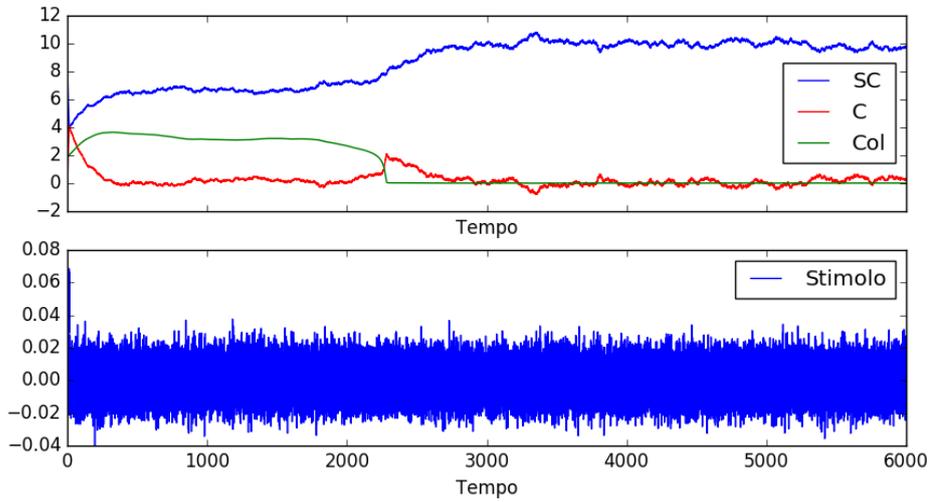


(a) $n\theta = 2$, $d = 15$, $(SC, C, C_{ol}) = (8, 0, 2)$, $T = 0$.

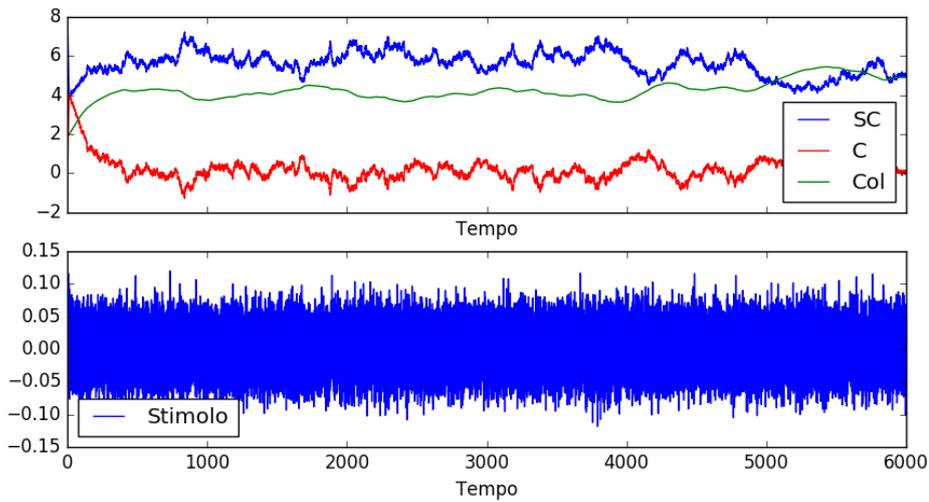


(b) $n\theta = 2$, $d = 15$, $(SC, C, C_{ol}) = (8, 0, 2)$, $T = 0.00005$.

Figura 3.15: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stessi valori soglia di transizione, stesse condizioni iniziali e diverse temperature del bagno termico che modula la fluttuazione di Wiener. Si osserva come, aumentando le fluttuazioni, il sistema evidenzia una maggiore tendenza a raggiungere l'equilibrio.



(a) $n\theta = 2$, $d = 15$, $(SC, C, C_{ol}) = (8, 0, 2)$, $T = 0.0005$.



(b) $n\theta = 2$, $d = 15$, $(SC, C, C_{ol}) = (8, 0, 2)$, $T = 0.005$.

Figura 3.16: Le immagini rappresentano l'andamento del sistema con stessi valori soglia di transizione, stesse condizioni iniziali e diverse temperature del bagno termico che modula la fluttuazione di Wiener. Si osserva come, aumentando le fluttuazioni, il sistema evidenzia una maggiore tendenza a raggiungere l'equilibrio.

Conclusione

Il modello PADP si propone di descrivere la plasticità sinaptica come conseguenza di un meccanismo di aggregazione di proteine. Per questo è stata studiata la dinamica delle reazioni che inducono la plasticità sinaptica, approssimandola con un sistema di equazioni differenziali ordinarie non lineari che descrive il ciclo di trasformazioni lineari reversibili delle proteine.

Si è visto come la teoria di campo medio sia in grado di sostituire, sotto certe condizioni, la teoria stocastica e, applicando questo approccio deterministico, è stata studiata l'evoluzione del sistema. È stato quindi verificato come il raggiungimento e la durata dello stato stabile, oligomerizzato, siano strettamente dipendenti da due parametri fondamentali: la durata dello stimolo e la soglia di oligomerizzazione. È stato poi sottolineato come, nei punti critici individuati, la transizione di fase sia molto brusca: come un pendolo inverso tende all'equilibrio stabile, così le proteine non oligomerizzate tendono ad oligomerizzarsi. Inoltre, aumentando la soglia di oligomerizzazione e il numero di proteine oligomerizzate nello stato iniziale, è stato visto come il sistema continui a tendere allo stato stabile anche nel caso in cui venga inserito un piccolissimo stimolo esterno. Ciò potrebbe essere interpretato da un lato come un risultato anomalo, in quanto sarebbe l'evidenza che questo sistema 'impara da solo' senza input significativi, ma dall'altro può essere visto come il tipico comportamento *prion-like* di autosostentamento, ipotizzando che in origine le proteine fissate nella condizione iniziale siano state comunque portate all'oligomerizzazione da un precedente stimolo esterno.

Volendo analizzare lo stesso sistema da un punto di vista stocastico è stato inserito il rumore di Wiener, ovvero un bagno termico che induce fluttuazioni al sistema. I risultati ottenuti da queste simulazioni mostrano che, a differenza del caso deterministico, il sistema tende molto più velocemente allo stato stabile e ci si mantiene per un tempo molto più lungo. Quindi il rumore, interpretabile come effetto dell'ambiente di una sinapsi, favorisce il raggiungimento dell'oligomerizzazione delle proteine.

Appendice A: Prima implementazione del modello PADP

Codice per il modello PADP nella *Drofophila*:

```
import scipy.integrate as integrate
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
from scipy import signal
from scipy.integrate import odeint
from math import exp, sqrt

t = np.linspace(0, 7000, 1000)

def Orb2(y, t, Koff, TransRate, DegrRate, AggrRate,
ExitRate, SeedRate, DissRate):
    f, A, As, Bs = y
    if t < 4000 :
        sigma = (signal.square(2 * np.pi * 0.2 * t, duty=0.3)+1)/0.5
    else :
        sigma = 0
    dfdt = sigma - Koff * f
    dAdt = TransRate * f * ( 1 / (sqrt(1 + exp(50*(Bs-3)))) )
        - DegrRate * A
    dAsdt = AggrRate * A - ExitRate * As
    dBsdt = SeedRate * f * ( 1 / (sqrt(1 + exp(-50*(As-3)))) )
        * ( 1 / (sqrt(1 + exp(50*(Bs-3)))) ) + DissRate
```

```

        * ( 1 / (sqrt(1 + exp(-50*(Bs-3)))) - 1 ) * Bs
dydt = (dfdt, dAdt, dAsdt, dBsdt)
return dydt

Koff = 0.7
TransRate = 0.005
DegrRate = 0.002
AggrRate = 0.008
ExitRate = 0.001
SeedRate = 0.01
DissRate = 0.0004

y0 = np.array([0., 0. , 0 , 0 ])

sol = odeint(Orb2, y0, t, args=(Koff, TransRate, DegrRate,
    AggrRate, ExitRate, SeedRate, DissRate))

import matplotlib.pyplot as plt
plt.plot(t, sol[:, 2], 'g', label='Orb2A')
plt.plot(t, sol[:, 3], 'b', label='Orb2B')
plt.legend(loc='best')
plt.xlabel('t[s]')
plt.show()

```

Appendice B: Seconda

implementazione del modello PADP

Codice per il modello PADP nei mammiferi. Per il modello stocastico si è usato lo stesso codice modificando il parametro che modula il rumore.

```
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
import sdeint
from scipy.integrate import odeint
from math import exp, log

t = np.logspace(0, 5, 50000, endpoint=False)

#PARAMETRI
n=2.
D=15 #Durata stimolo
ks=0.005
kol=0.005
#kdeol=0.005*exp((log(100))*(Col-n))
T=0. #Ampiezza varianza
b=np.sqrt(2*T)

#DRIFT
def f(x, t):
    SC, C, pc = x
    Col = 10.0 - SC - C
```

```

dSCdt = -SC*pc + C*ks
dCdt = SC*pc + Col*0.005*exp((-log(100)/n)*(Col-n))
- C*(ks+kol)
eq = 5e-6 if t>D else 5e-2
dpc = 10*(eq-pc)
return np.array([dSCdt, dCdt, dpc])

x0 = np.array([8.0, 0.0, 5e-6])

#DIFFUSIONE
def g(x, t):
SC, C, pc = x
return np.diag([0.0, 0.0, b])

#RISOLVE: dx=f(x)dt+g(x)dW
# %%
t1 = np.linspace(0, D, 50000, endpoint=True)
x01 = np.array([8.0, 0.0, 5e-2])
sol1 = sdeint.itoEuler(f, g, x01, t1)

t2 = np.linspace(D, D*2, 50000, endpoint=True)
x02 = sol1[-1]
sol2 = sdeint.itoEuler(f, g, x02, t2)

t3 = np.linspace(D*2, 6000, 80000, endpoint=True)
x03 = sol2[-1]
sol3 = sdeint.itoEuler(f, g, x03, t3)
#
t = np.hstack([t1, t2, t3])
sol = np.vstack([sol1, sol2, sol3])

# %%
fig, (ax1, ax2) = plt.subplots(2, 1, figsize=(10, 5),

```

```
sharex = True)
ax1.plot(t, sol[:, 0], 'b', label='SC')
ax1.plot(t, sol[:, 1], 'r', label='C')
ax1.plot(t, 10 - sol[:, 1] - sol[:, 0], 'g',
label='Col')

ax1.legend(loc='best')
ax1.set_xlabel('Tempo')
ax2.set_xlabel('Tempo')
ax2.plot(t, sol[:, 2], 'b', label='Stimolo')
ax2.legend(loc='best')
plt.show()
# %%
```

Bibliografia

- [1] J. D. Richter, *CPEB: a life in translation*, TRENDS in Biochemical Sciences, 2007.
- [2] B. Drisaldi et al., *SUMOylation Is an Inhibitory Constraint that Regulates the Prion-like Aggregation and Activity of CPEB3*, Cell Reports, 2015.
- [3] J. Widagdo et al., *Activity-Dependent Ubiquitination of GluA1 and GluA2 Regulates AMPA Receptor Intracellular Sorting and Degradation*, Cell Reports, 2015.
- [4] I. Song e R. L. Huganir, *Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity*, TRENDS in Biochemical Sciences, 2002.
- [5] L. Fioriti, Eric R. Kandel et al., *The Persistence of Hippocampal-Based Memory Requires Protein Synthesis Mediated by the Prion-like Protein CPEB3*, Neuron, 2015.
- [6] White-Grindley, Mohammad Khan, Ren, Saraf, Florens, Si, *Contribution of Orb2A stability in regulated amyloid-like oligomerization of Drosophila Orb2*, PLoS Biol, 2014.
- [7] Michele Sanguanini, *Modelling of the functional amyloid aggregation at the synapse*, Dipartimento di Biologia, Università di Pisa, 2016.
- [8] T. P. J. Knowles, *The amyloid state and its association with protein misfolding diseases*, Nature, 2014.
- [9] Eric R. Kandel et al., *A Neuronal Isoform of the Aplysia CPEB has Prion-Like Properties*, Cell, 2003.
- [10] N. G. Van Kampen, *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*, Elsevier Science & Technology Books, 2007.
- [11] Renato Feres, *Notes for Math: Elements of Stochastic Calculus*.
- [12] Armando Bazzani, *Introduzione ai Modelli Stocastici*, 2014.

- [13] Luciana Renata de Oliveira et al., *The role of non-equilibrium fluxes in the relaxation processes of the linear chemical master equation*, The journal of chemical physics, 2014.