

Пластичность передачи сигнала в синапсе

Синаптическая пластичность заключается в изменении эффективности синаптической передачи в результате интенсивной ритмической стимуляции афферентных путей нейрона. В результате такая стимуляция может либо увеличивать (**синаптическая сенситизация, фасилитация, облегчение, потенциация**), либо уменьшать (**синаптическая депрессия**) результирующие ПСП в постсинаптическом нейроне.

По **временному критерию** изменение эффективности может быть **кратковременным** (сотни миллисекунд, секунды, минуты) и **долговременным** (часы и дни).

По **механизму** такие изменения могут быть локализованы в **пресинаптическом** и **постсинаптическом** нейронах.

Пресинаптические механизмы увеличивают выброс медиатора из пресинаптического волокна.

Постсинаптические механизмы приводят к увеличению чувствительности постсинаптической мембраны к медиатору – сенситизация рецепторов (усиление афинности медиатора или увеличение проводимости в канале) и увеличение числа рецепторов.

Пресинаптические механизмы

обеспечивают модуляцию экзоцитоза медиатора из пресинаптического волокна, в основе которой лежат следующие процессы:

- 1) возрастание концентрации внутриклеточного Ca^{2+} ;
- 2) **фосфорилирование** белков, (1) участвующих в синтезе медиатора, (2) обеспечивающих экзоцитоз и (3) везикулярный транспорт медиатора;
- 3) **ретроградная регуляция выделения медиатора** через пресинаптические рецепторы **эндоканнабиноидов** (при **синаптической депрессии**);
- 4) мембраны астроцитов включают рецепторы к некоторым медиаторам, включая глутамат, в ответ на который из астроцитов выделяется АТФ через поры щелевых полуканалов (добавочный путь выделения медиатора из астроцитов). Щелевые полуканалы открываются в результате снижения концентрации внеклеточных бивалентных катионов. АТФ при отщеплении фосфатных остатков превращается в **аденозин**, который, связываясь с пресинаптическими **A_1 -рецепторами**, активирует каскады, снижающие выделение медиатора (при **синаптической депрессии**).

Постсинаптические механизмы

также включают разнообразные процессы:

- 1) изменение чувствительности рецепторов постсинаптической мембраны к медиатору в результате их **фосфорилирования/дефосфорилирования**;
- 2) **астроциты** и **Шванновские клетки** содержат транспортные системы для медиаторов и могут регулировать их синаптическое действие, снижая или увеличивая их концентрацию в синаптической щели;
- 3) встраивание в мембрану **новых рецепторов** из внутриклеточного пула посредством Ca^{2+} -зависимого экзоцитоза с вовлечением СаМКII. Например, в развивающихся нейронах имеются много «спящих» синапсов, в которых не представлены AMPA-рецепторы. Имеющиеся же NMDA-рецепторы заблокированы Mg^{2+} и поэтому не активируются глутаматом. По мере созревания мозга такие синапсы приобретают способность активироваться за счет встраивания в мембрану AMPA-рецепторов, и число «спящих» синапсов уменьшается. Однако некоторая их часть присутствует и в зрелом мозге, и они могут активироваться при пластических перестройках синапсов (например, при **долговременной потенциации**);

Постсинаптические механизмы (продолжение)

также включают разнообразные процессы:

- 4) синаптические контакты структурно поддерживаются молекулами клеточной адгезии пре- и постсинаптических мембран. Изменение состояния этих молекул приводит к изменению структуры синаптических контактов. Например, **кадхерин-зависимая регуляция** структурного состояния синаптического контакта, которая в свою очередь зависит от внеклеточных протеаз, обеспечивает изменение структуры дендритического шипика;
- 5) **морфологические изменения шипиков**, которые сопровождаются встраиванием новых рецепторов, например, AMPA-рецепторов;
- 6) **экспрессия генов** и последующий **синтез рецепторов**, приводящий к увеличению их числа в субсинаптической мембране.

Две формы синаптической пластичности

Гомосинаптическая пластичность

заключается в изменениях эффективности синаптической передачи, которые обусловлены предшествующими событиями в этом же синапсе.

Гетеросинаптическая пластичность

представляет собой изменения эффективности синаптической передачи в результате предшествующих событий в других путях за пределами данного синапса.

Генерализованная пластичность

В основе этой формы пластичности лежит функциональная модификация тех зон нейрона, которые непосредственно не активируются стимулом, вызывающим генерализованную пластичность.

Современные представления о механизмах синаптической пластичности основаны на результатах, полученных при изучении нейронной организации

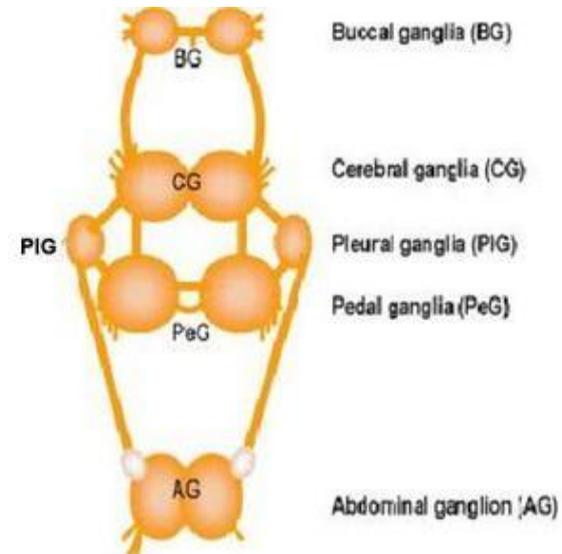
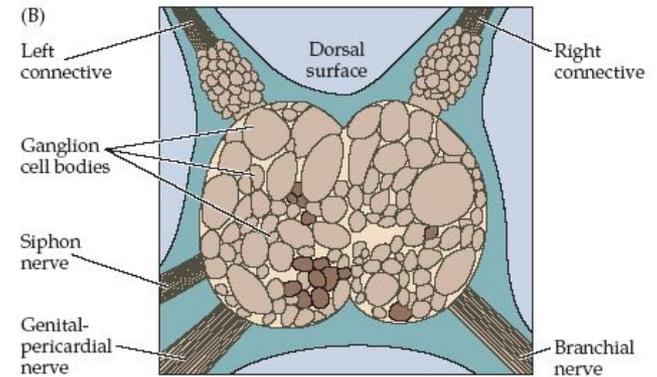
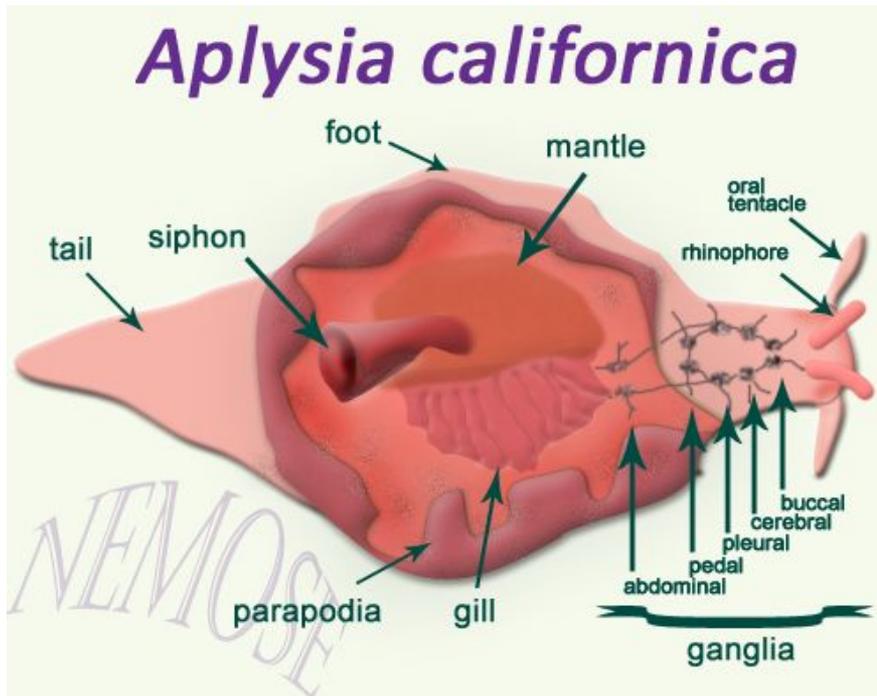
- **примитивного поведения моллюсков**

- и феномена **длительной потенциации** на переживающих срезах гиппокампа и коры млекопитающих.

Клеточные механизмы научения и памяти (беспозвоночные)

Механизмы неассоциативного научения изучаются на простых объектах – моллюсках - *аплизия* (*Aplysia californica*) и *виноградная улитка* (*Helix lucorum*).

абдоминальный ганглий

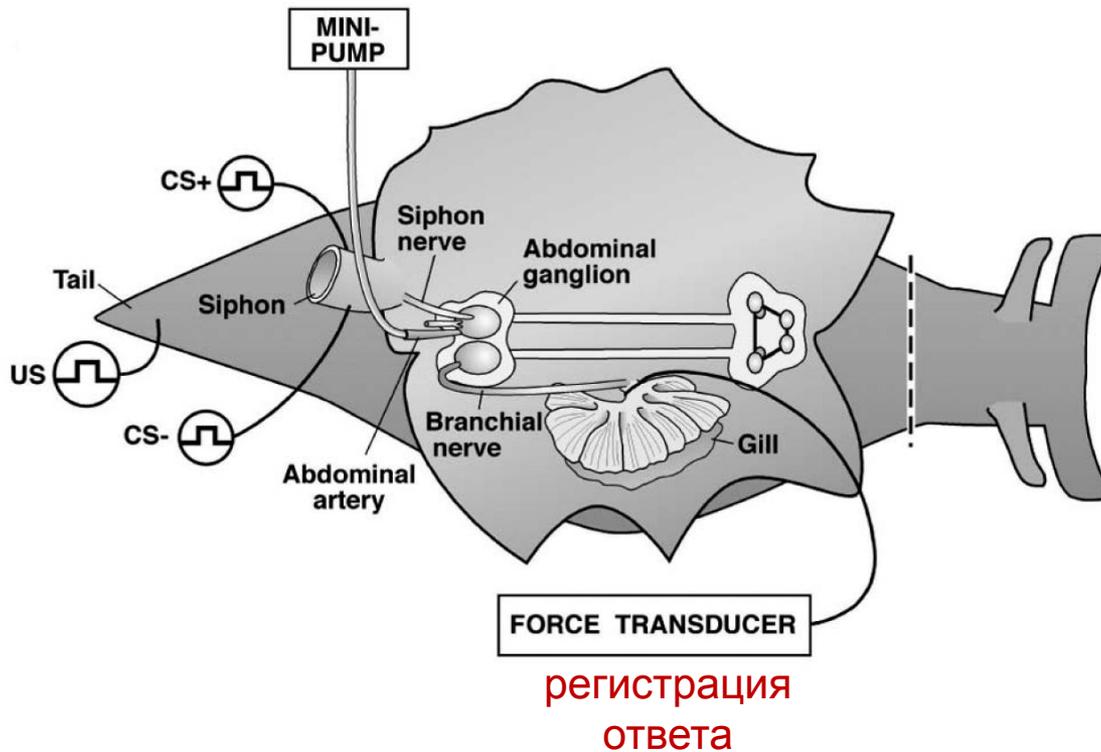


Неассоциативное научение у аплизии

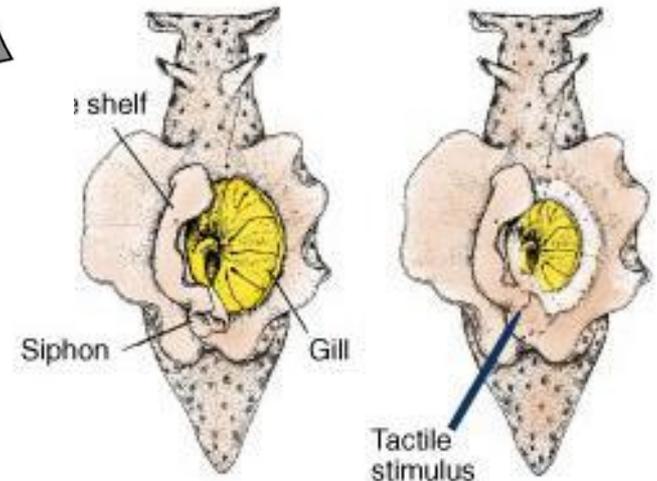
Простое поведение аплизии (по *Squire & Kandel*, 1999).

Полуинтактный препарат аплизии

тактильная
стимуляция



В ответ на тактильную стимуляцию сифона аплизия втягивает жабру (поведенческий избегательный ответ)

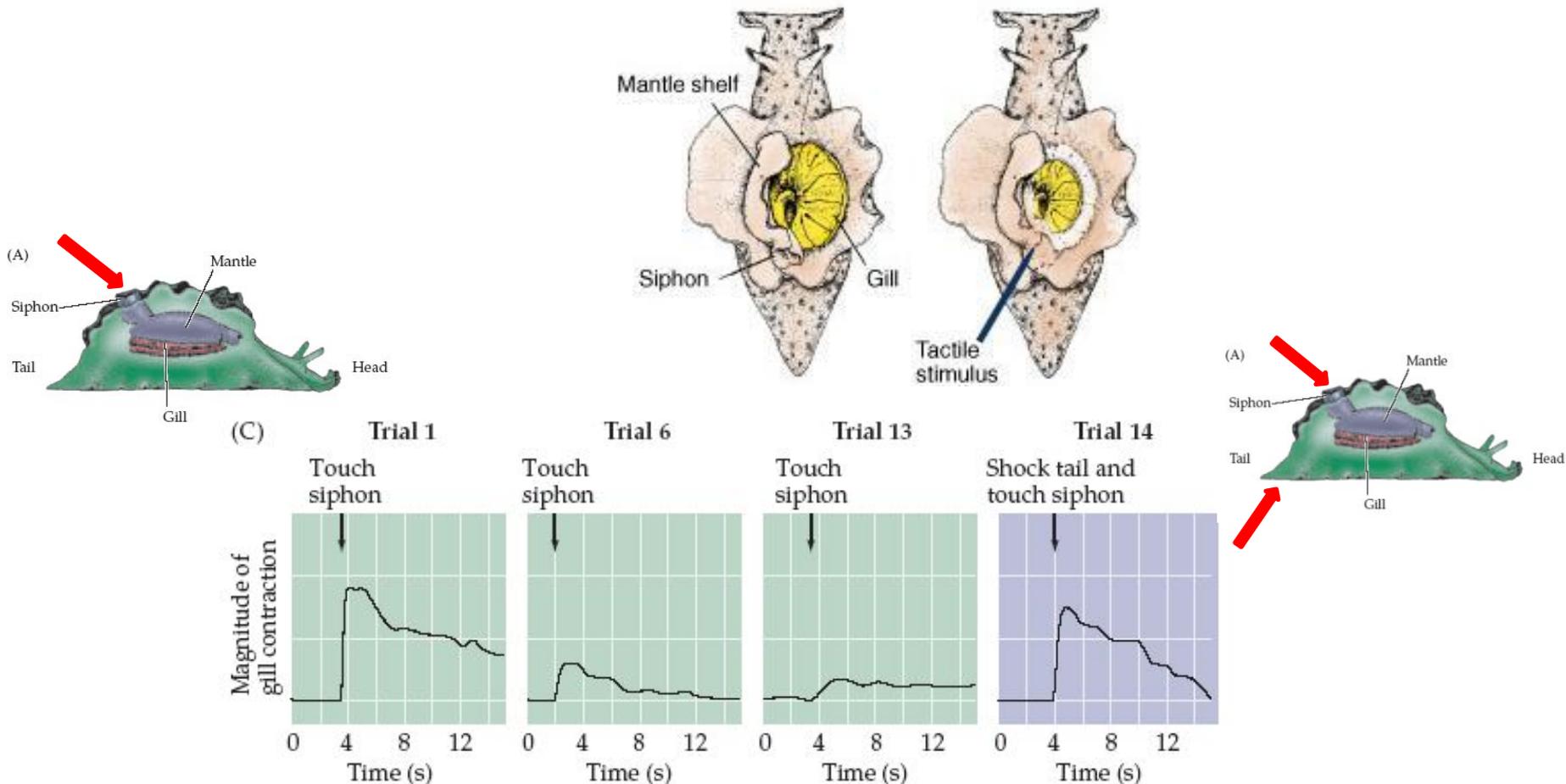


Неассоциативное научение у аплизии

Простое поведение аплизии (по *Squire & Kandel*, 1999).

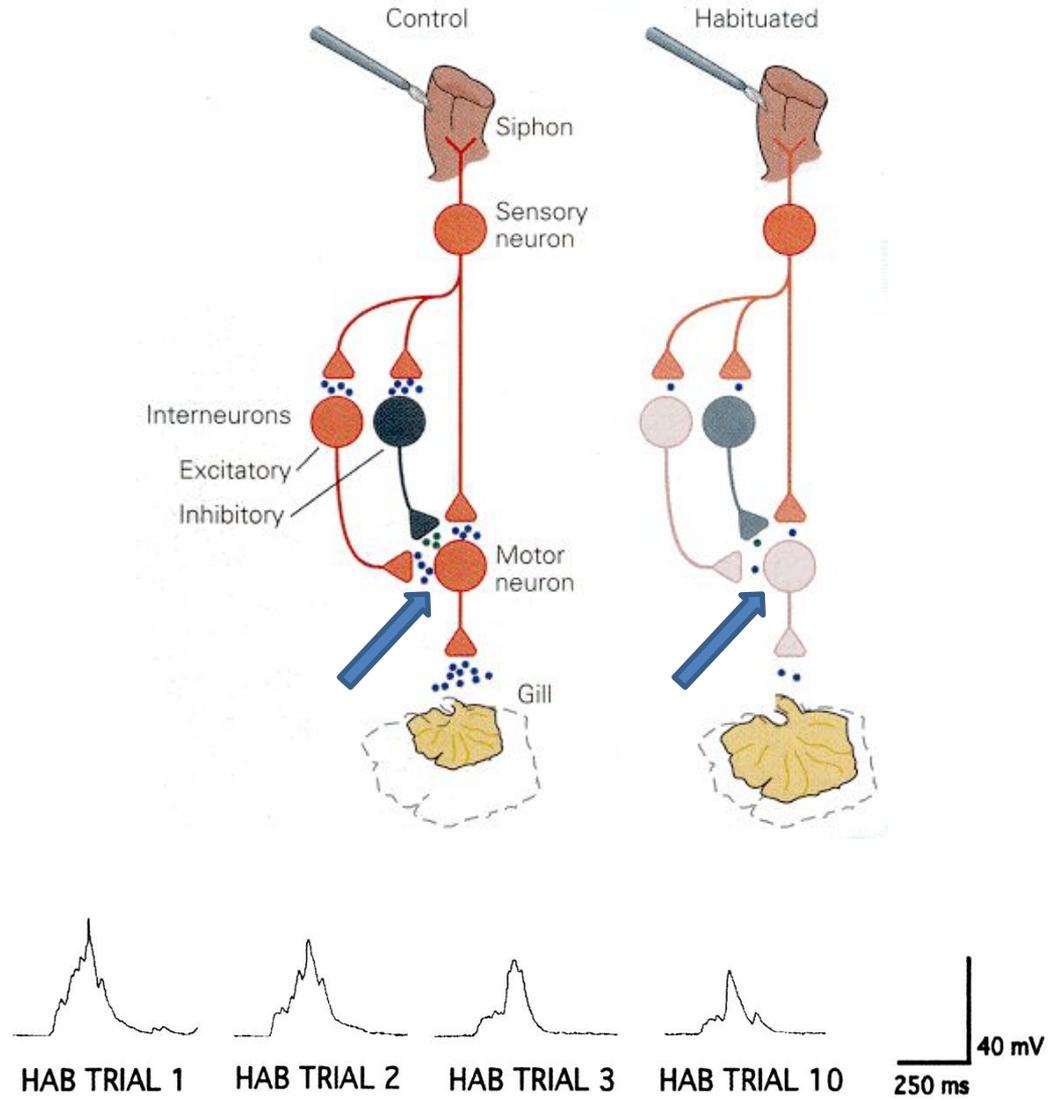
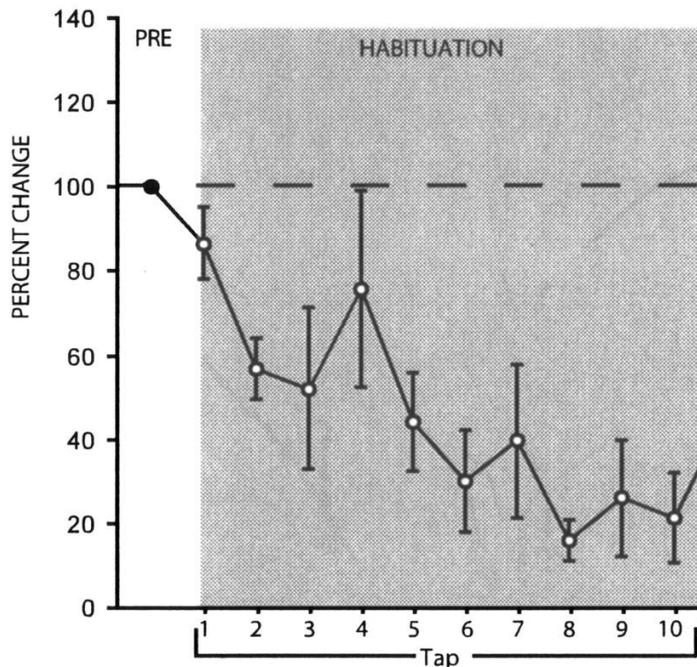
Привыкание

В ответ на повторяющуюся тактильную стимуляцию сифона (*touch siphon*, отмечено стрелкой, слева) поведенческий избегательный ответ (втягивание жабры) уменьшается – Trials 1, 6, 13.



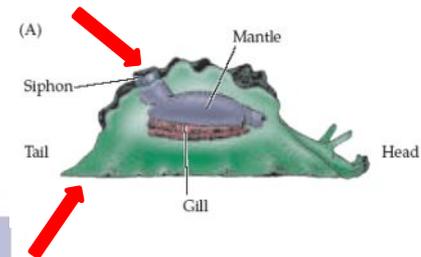
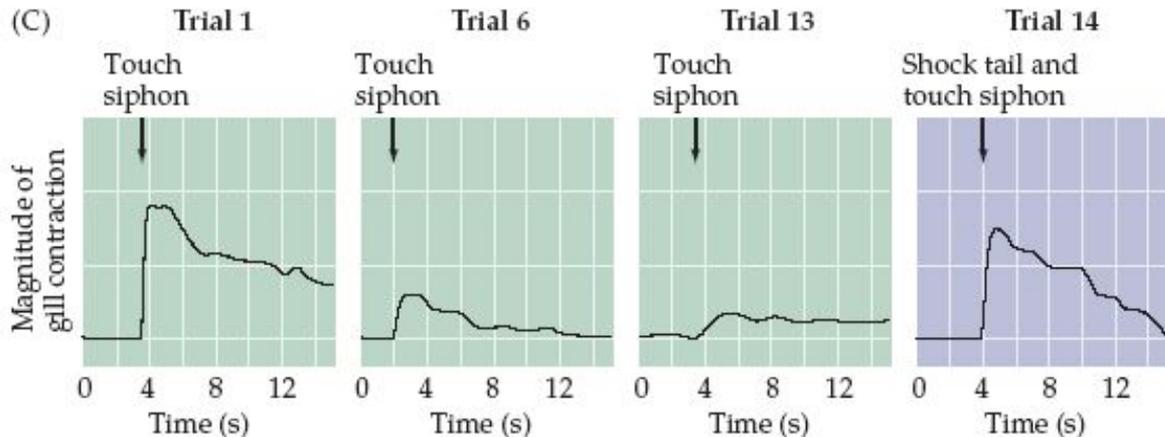
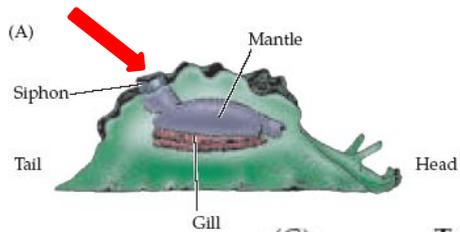
Неассоциативное научение у аплизии: привыкание

В ответ на повторяющуюся тактильную стимуляцию сифона уменьшается активность сенсорного нейрона, и поведенческий избегательный ответ (втягивание жабры) уменьшается.



Неассоциативное научение у аплизии: **сенситизация**

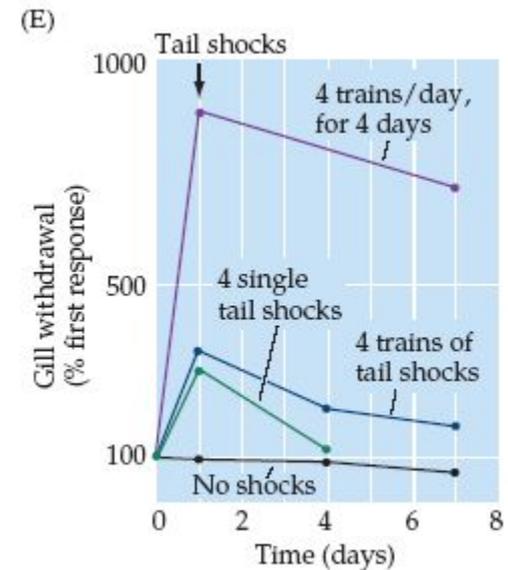
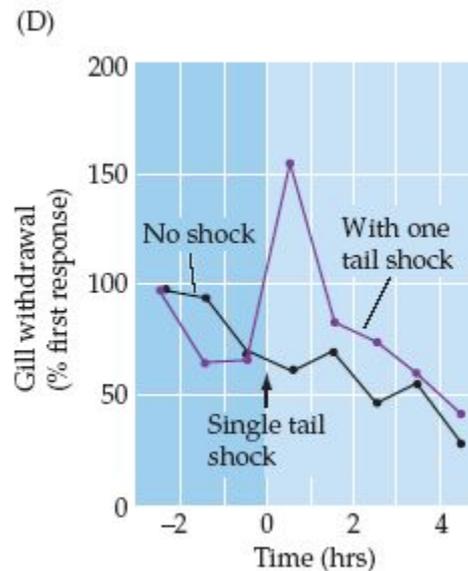
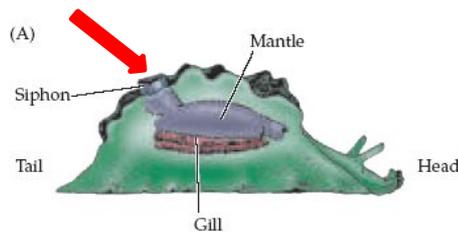
При сочетании **тактильной стимуляции** с **электрическим раздражением хвоста** (*shock tail*, справа) поведенческий ответ усиливается – Trials 14.



Неассоциативное научение у аплизии: **сенситизация**

В дальнейшем только тактильная стимуляция вызывает **усиленный поведенческий ответ (D)**.

Выраженность и продолжительность усиленного ответа зависит от числа сочетаний тактильного раздражения сифона и электрической стимуляции хвоста (E, простая форма «долговременной памяти»).

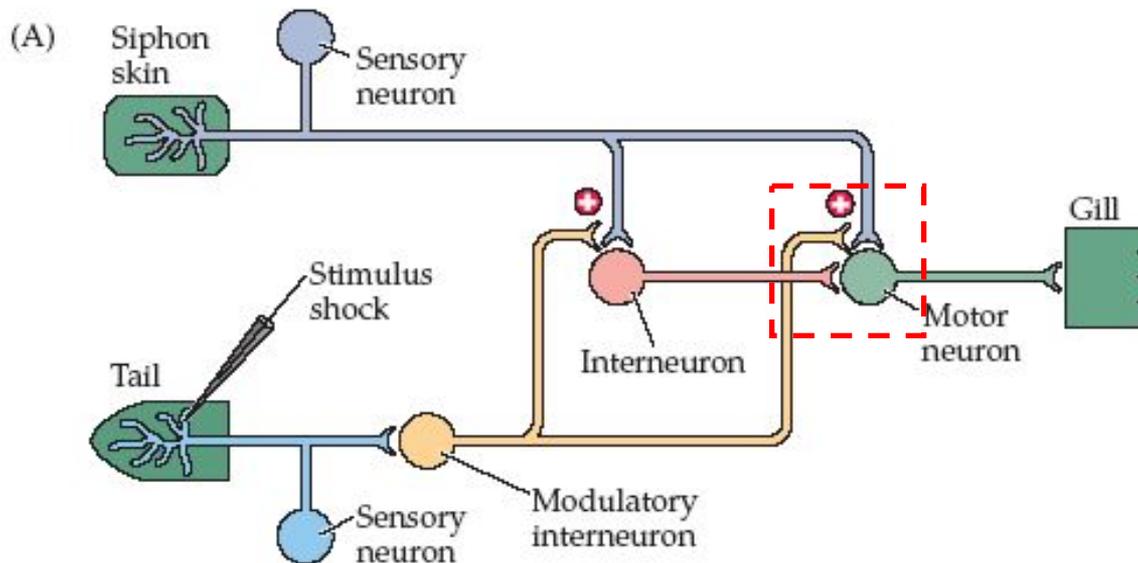


Неассоциативное научение у аплизии: **сенситизация**

Нейронная сеть, обеспечивающая **сенситизацию** поведенческой реакции.

При тактильной стимуляции сифона (*siphon skin*) активируется сенсорный нейрон, который возбуждает интернейрон и моторный нейрон, обеспечивающий втягивание жабры (*gill*).

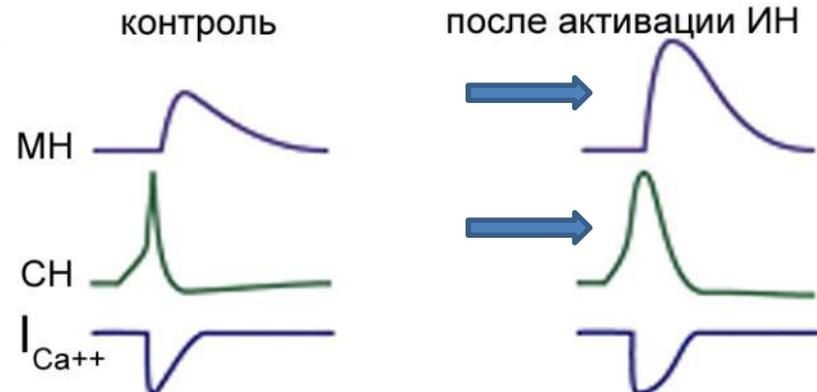
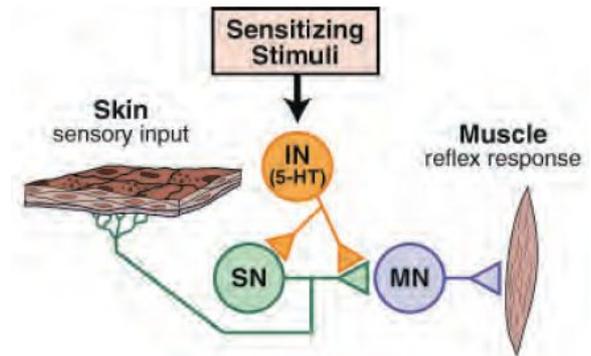
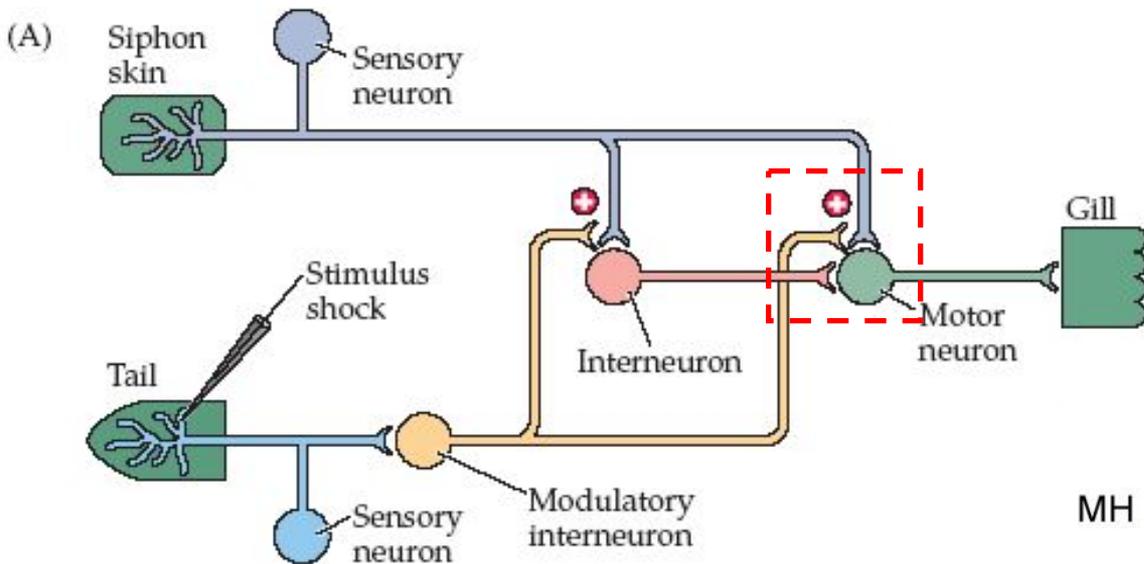
Дополнительная электрическая стимуляция хвоста (*tail*) активирует модуляторный (фасилитирующий) интернейрон, влияющий на синаптическую передачу между сенсорным нейроном сифона и мотонейроном и обеспечивающий **сенситизацию** поведенческого ответа.



Неассоциативное научение у аплизии: **сенситизация**

Нейронная сеть, обеспечивающая **сенситизацию** поведенческой реакции.

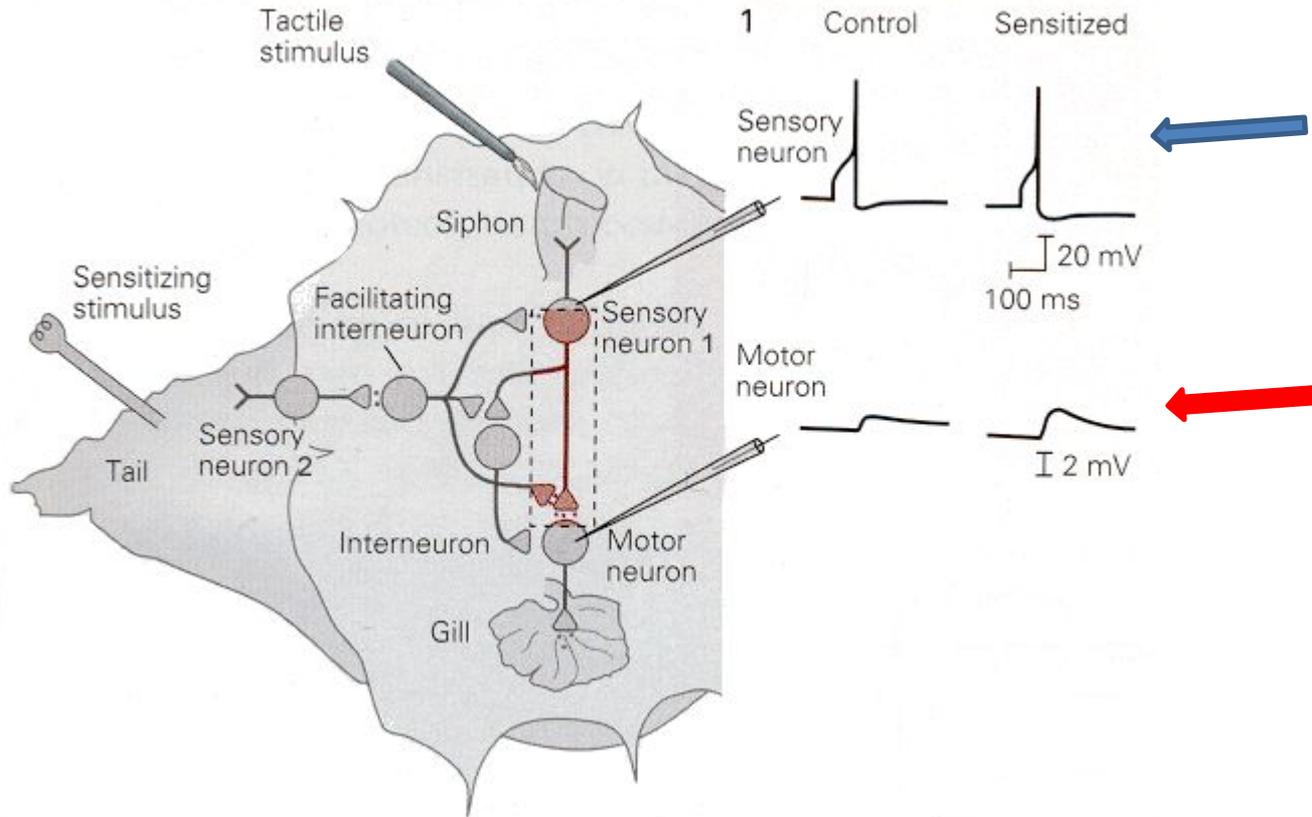
Сенситизирующий стимул (стимуляция хвоста) вызывает активацию модуляторного нейрона. Это приводит к усилению реакции сенсорного нейрона (от кожи сифона) и, как следствие, к усилению реакции мотонейрона.



Неассоциативное научение у аплизии: **сенситизация**

Нейронная сеть, обеспечивающая **сенситизацию** поведенческой реакции.

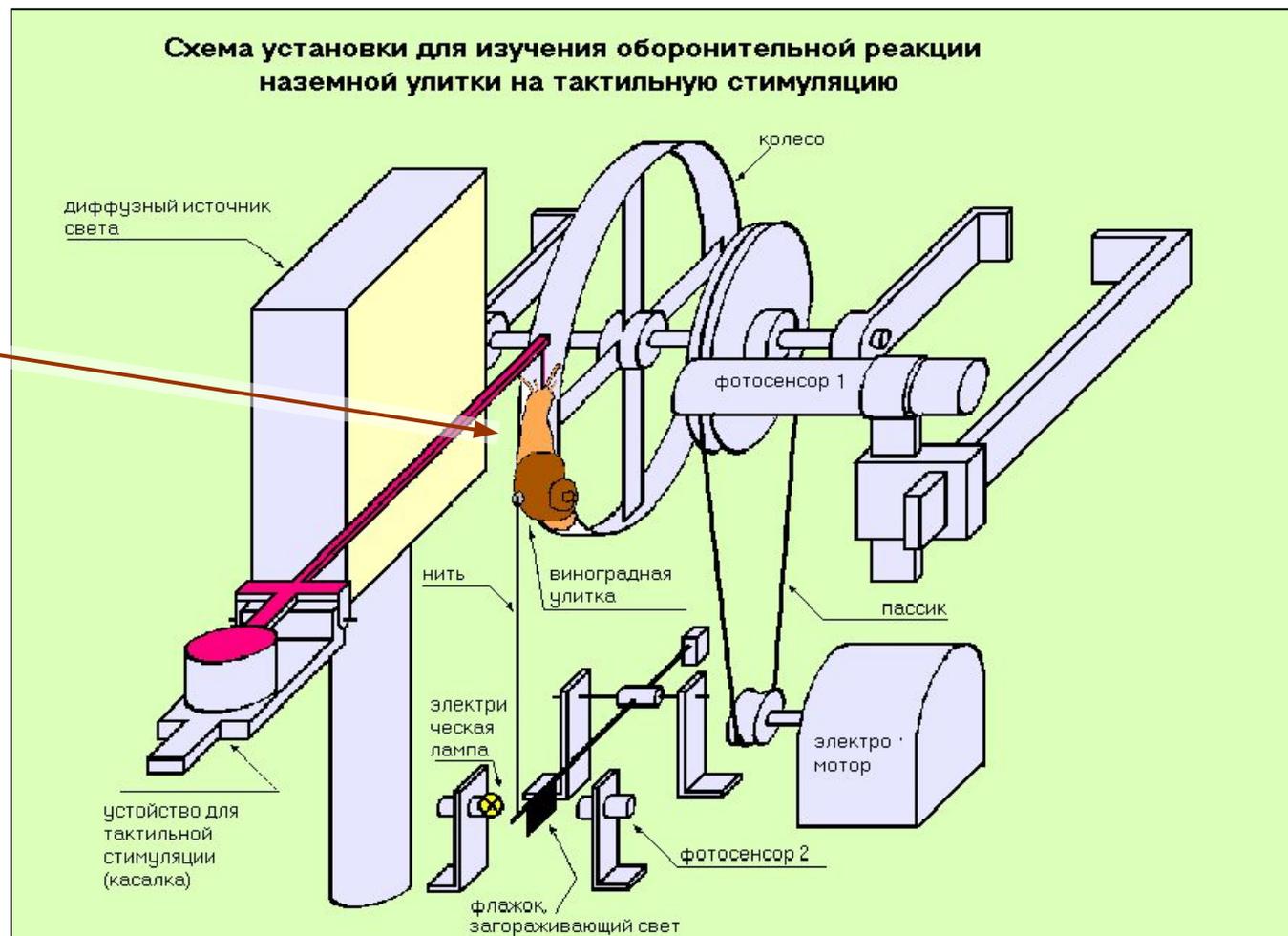
Сенситизирующий стимул (стимуляция хвоста) вызывает активацию модуляторного нейрона. Это приводит к усилению реакции **сенсорного нейрона** (от кожи сифона) и, как следствие, к усилению реакции **мотонейрона**.



Исследование механизмов **сенситизации** у виноградной улитки

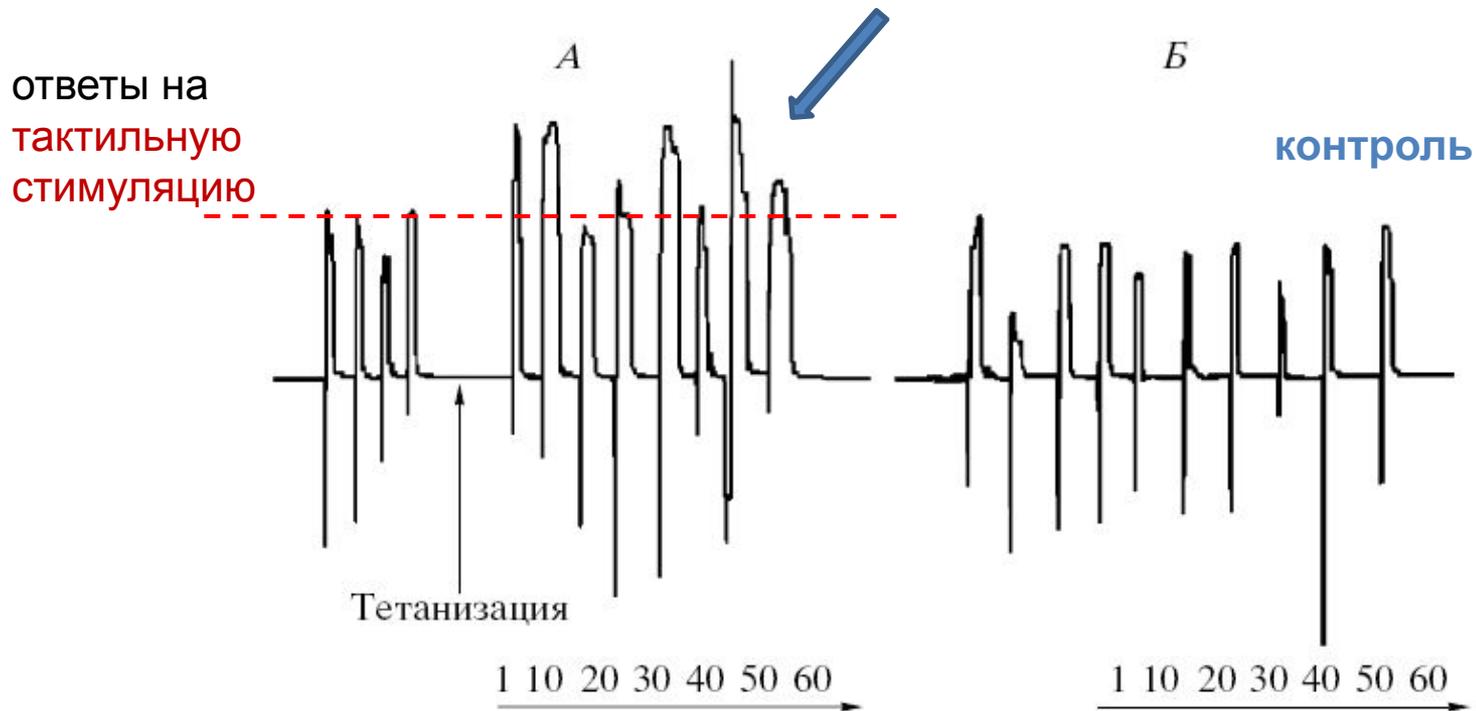


виноградная
улитка
Helix lucorum



Усиление (**сенситизация**) поведенческого ответа (оборонительной реакции)

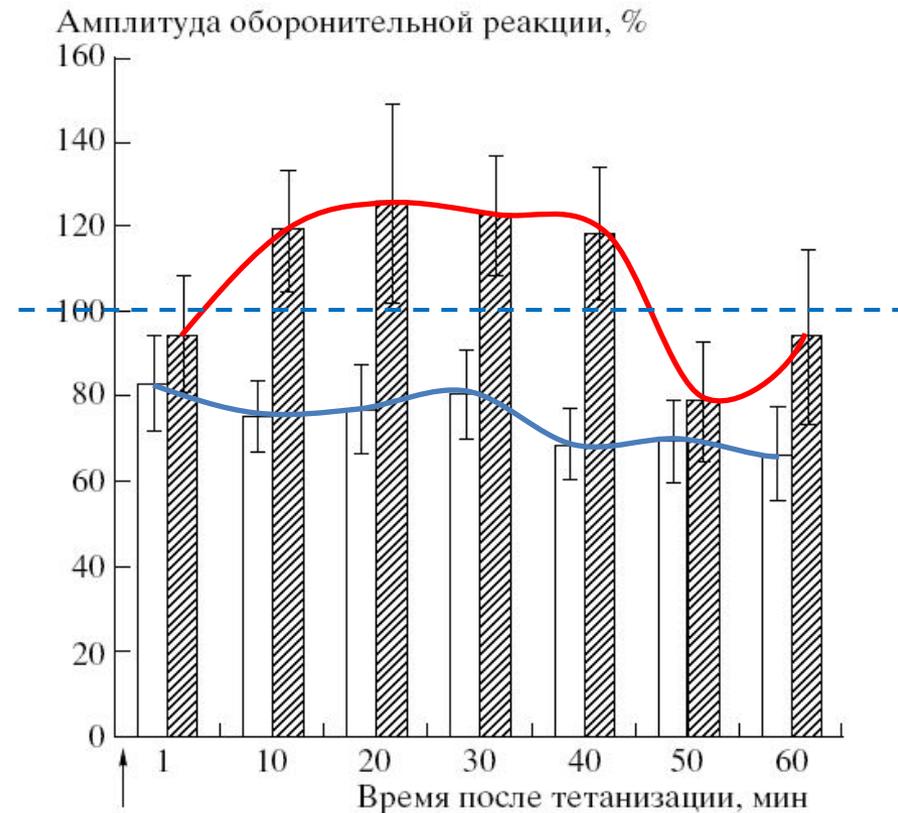
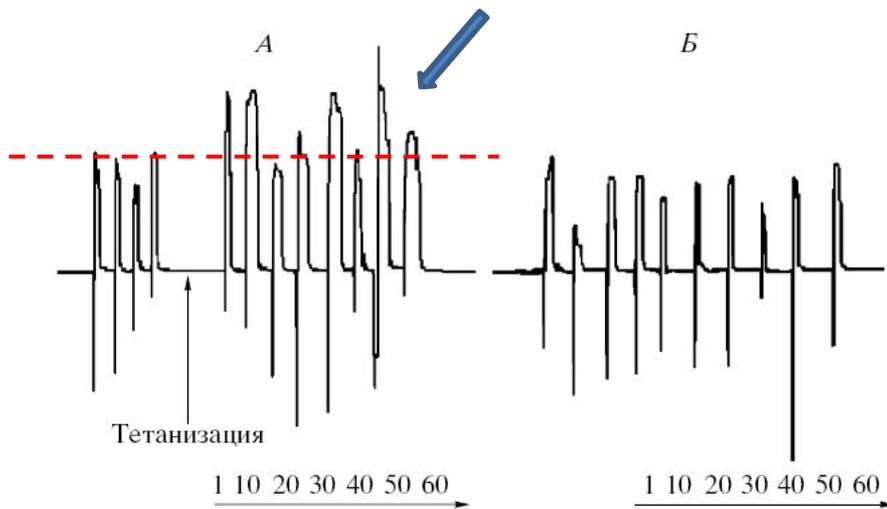
Электрическое ритмическое раздражение ноги животного (**тетанизация**) вызывает усиление оборонительной реакции.



Усиление (**сенситизация**) поведенческого ответа (оборонительной реакции)

Электрическое ритмическое раздражение ноги животного
(тетанизация) вызывает **усиление** оборонительной реакции.

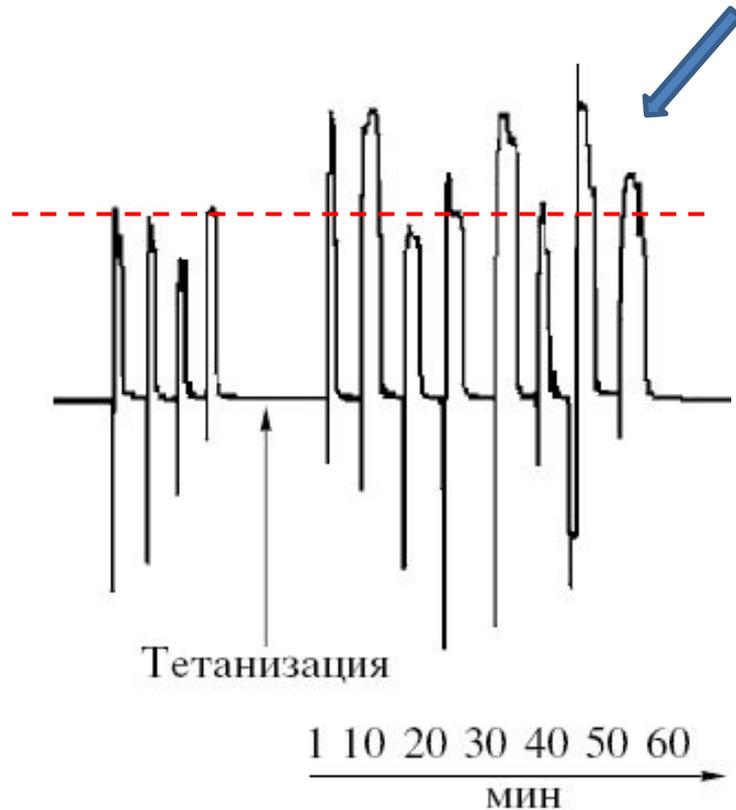
усреднение по
группе животных



Усиление поведенческого ответа (оборонительной реакции) сопровождается усилением реакции нейронов

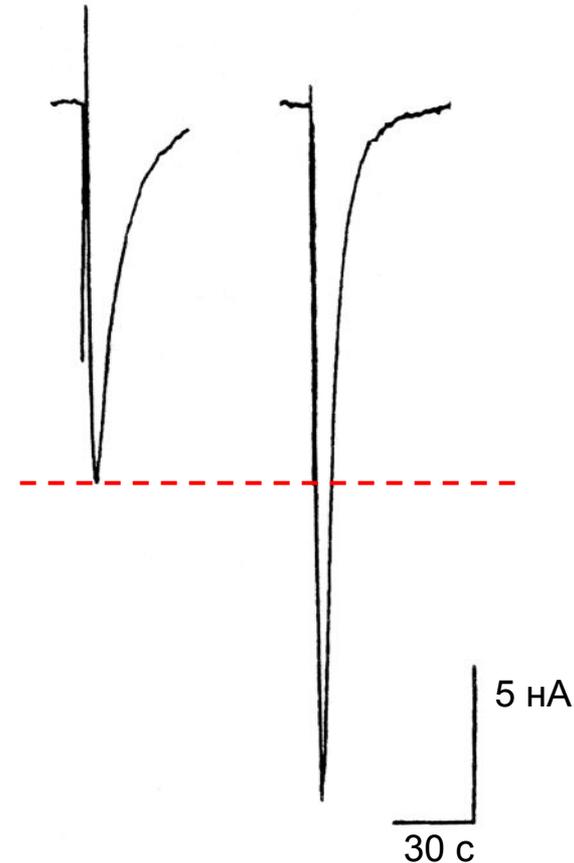
Электрическое ритмическое раздражение ноги животного (тетанизация) вызывает

усиление оборонительной реакции



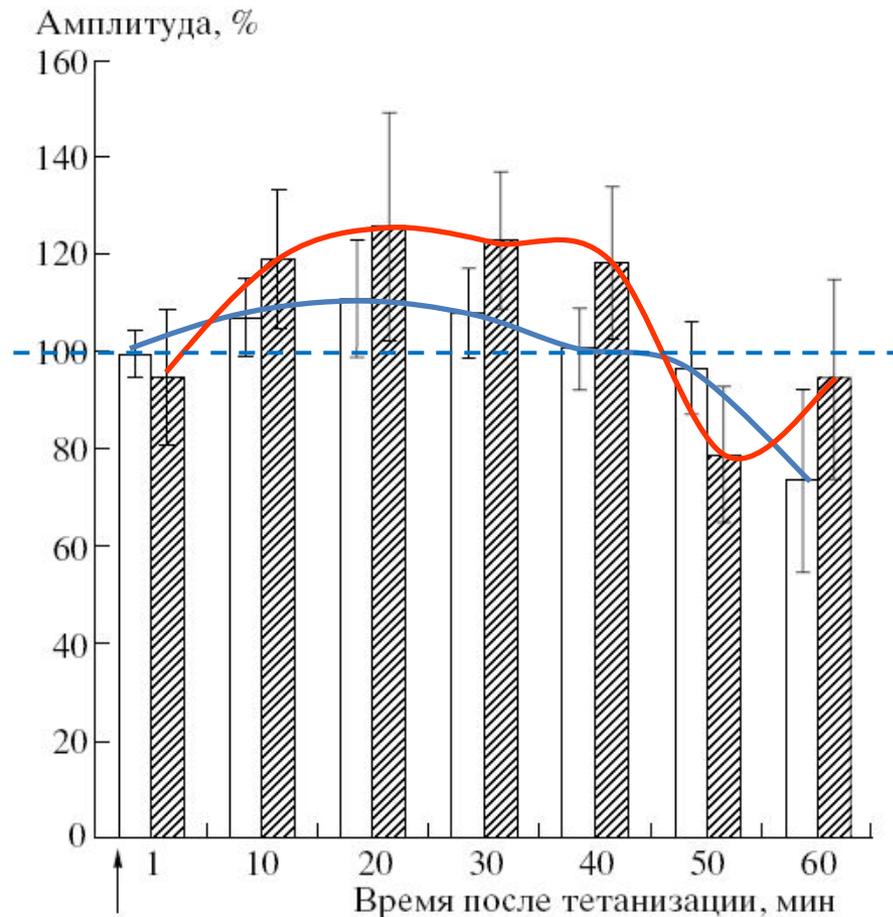
усиление АцХ-вызванного тока в мотонейронах, управляющих оборонительной реакцией

до тетанизации после тетанизации



Усиление поведенческого ответа (оборонительной реакции) сопровождается усилением реакции нейронов

Однонаправленная динамика амплитуды **оборонительной реакции** и **АцХ-вызванного тока** в мотонейронах, управляющих этой реакцией.



Пресинаптическая пластичность

Механизм усиления **глутаматной передачи** при **кратковременной сенситизации**.

Серотонин через **5HT₄-рецепторы** инициирует каскады синтеза цАМФ, активируя через Gs-белки аденилатциклазу. цАМФ активирует **протеин киназу А**, которая фосфорилирует потенциал-зависимые K_s⁺-каналы. Фосфорилирование этих каналов уменьшает K⁺-проводимость (путь 1), что приводит к удлинению деполяризации и увеличению продолжительности Ca²⁺-токов, текущих через Ca²⁺-каналы N-типа.

Протеин киназа А фосфорилирует потенциал-зависимые Ca²⁺-каналы L-типа, устраняя их инактивацию, что приводит к большему притоку Ca²⁺ в пресинаптическую терминаль (путь 3).

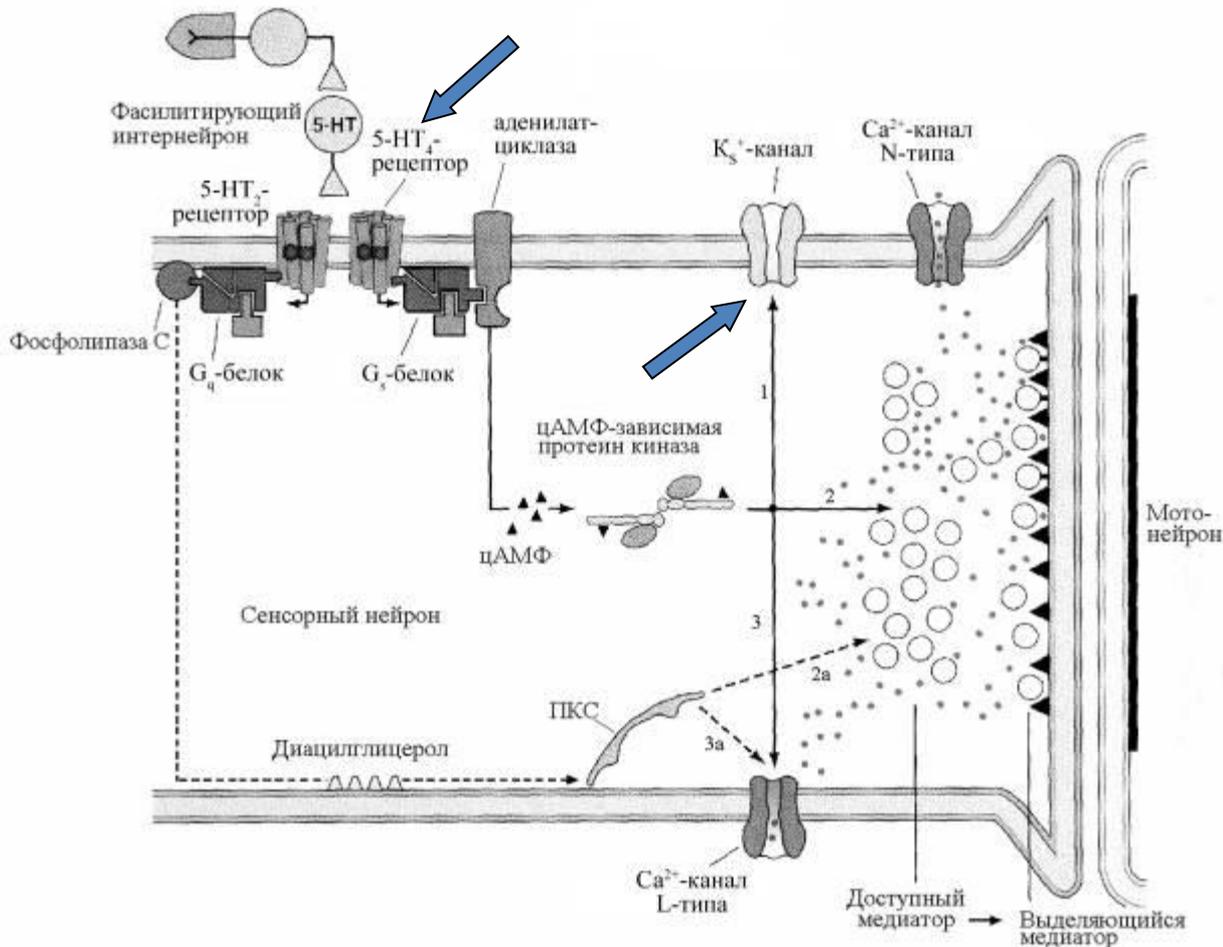
Избыточный Ca²⁺ в комплексе с калмодулином активирует **СаМК II** (не показано).

СаМК II фосфорилирует **синапсин**, ослабляя его связь с цитоскелетом. В результате в активной зоне увеличивается **мобилизация везикул** из общего пула, и они в большем количестве транспортируются к месту высвобождения медиатора (путь 2). Сенсор Ca²⁺ **синаптотагмин** запускает стыковку и экзоцитоз везикул (не показано).

5HT₂-рецепторы через Gq-белки запускают каскад мембранных липидов. **Фосфолипаза С** синтезирует ИФ₃ и ДАГ. ДАГ и Ca²⁺ активируют **протеин киназу С (ПКС)**, которая фосфорилирует Ca²⁺-каналы L-типа, что приводит к **мобилизации везикул** и их адгезии с пресинаптической мембраной (пути 2а и 3а).

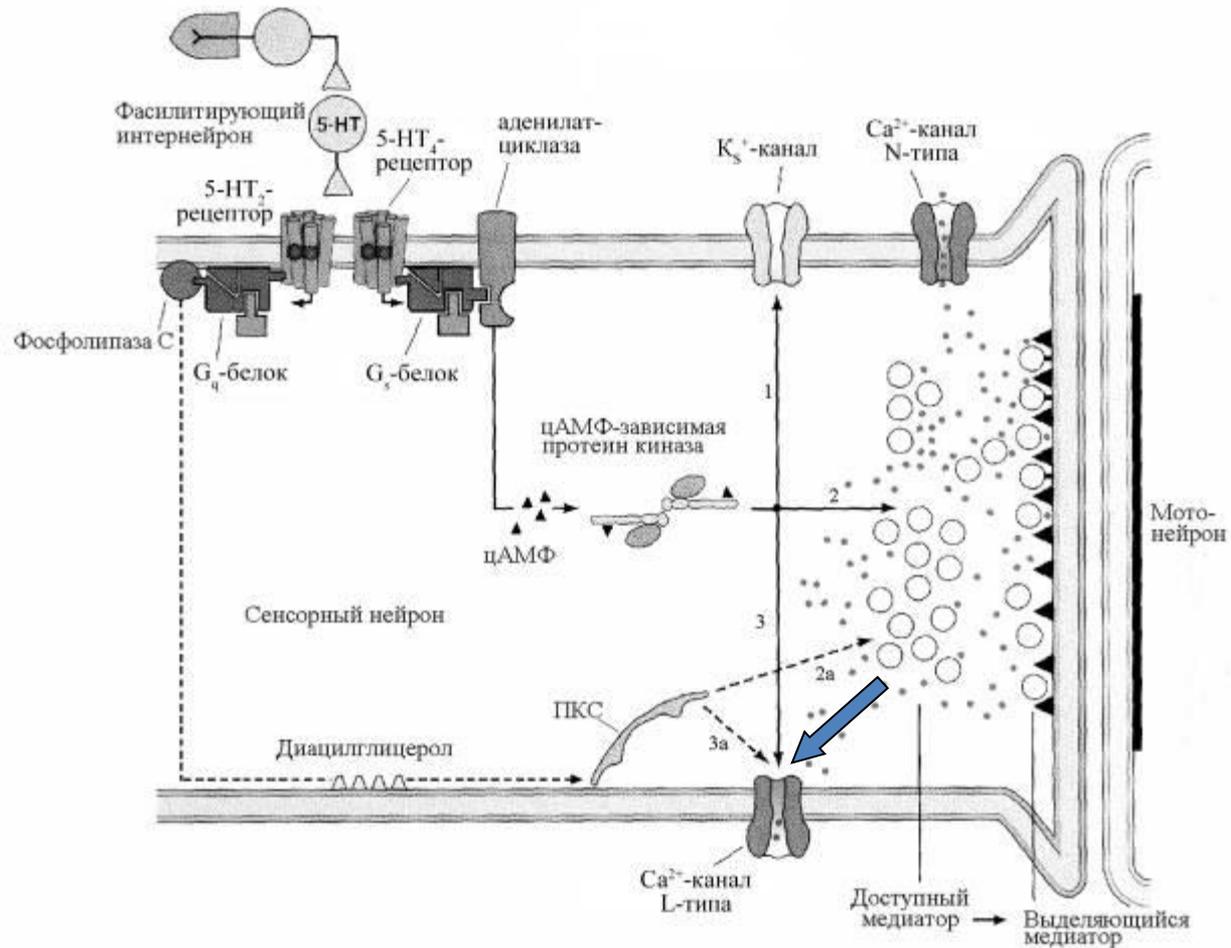
Путь 1

Серотонин через 5HT_4 -рецепторы инициирует каскады синтеза цАМФ, активируя через G_s -белки аденилатциклазу. цАМФ активирует **протеин киназу А**, которая фосфорилирует потенциал-зависимые K_s^+ -каналы. Фосфорилирование этих каналов уменьшает K^+ -проводимость, что приводит к удлинению деполяризации и увеличению продолжительности Ca^{2+} -токов, текущих через Ca^{2+} -каналы N-типа.



Путь 3

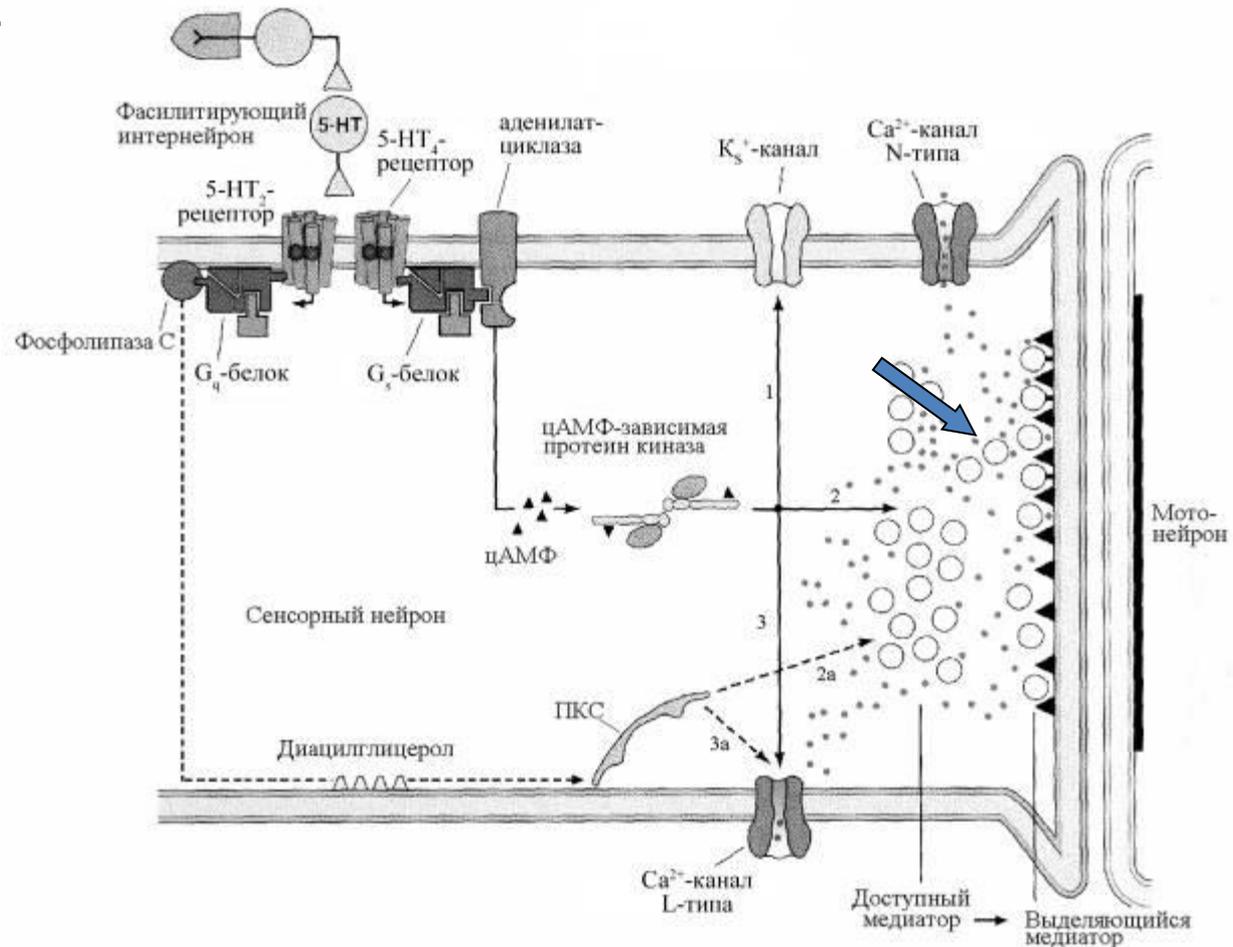
Протеин киназа А фосфорилирует потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы L-типа, устраняя их инактивацию, что приводит к большему притоку Ca^{2+} в пресинаптическую терминаль.



Избыточный Ca^{2+} в комплексе с калмодулином активирует **CaMK II** (не показано).

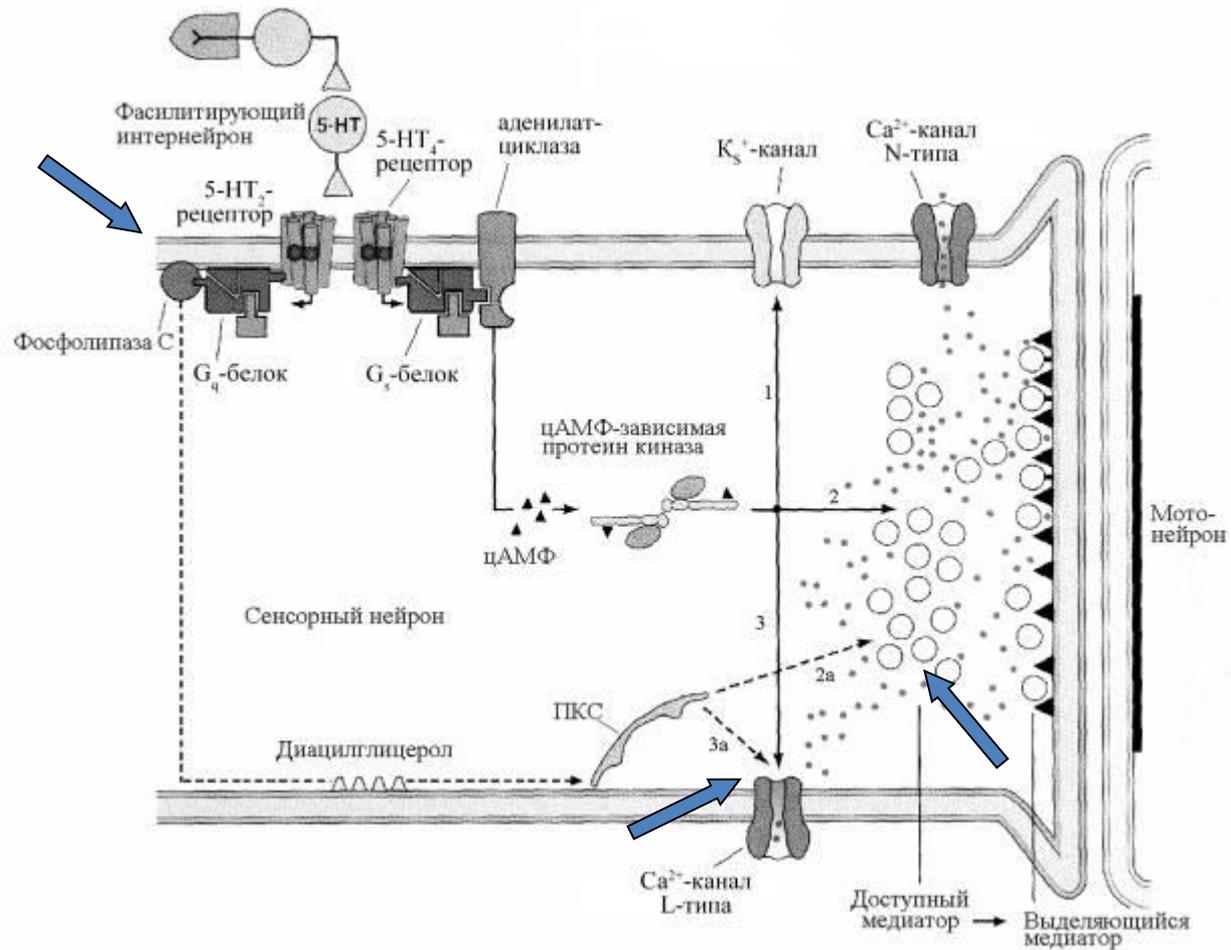
Путь 2

CaMK II фосфорилирует **синапсин**, ослабляя его связь с цитоскелетом. В результате в активной зоне увеличивается **мобилизация везикул** из общего пула, и они в большем количестве транспортируются к месту высвобождения медиатора. Сенсор Ca^{2+} **синаптотагмин** запускает стыковку и экзоцитоз везикул (не показано).



Пути 2а и 3а

5HT₂-рецепторы через Gq-белки запускают каскад мембранных липидов. Фосфолипаза C синтезирует ИФ₃ и ДАГ. ДАГ и Ca²⁺ активируют **протеин киназу C (ПКС)**, которая фосфорилирует Ca²⁺-каналы L-типа, что приводит к **мобилизации везикул** и их адгезии с пресинаптической мембраной.



Пресинаптическая пластичность

Механизм усиления **глутаматной передачи** при **долговременной сенситизации**.

Серотонин через **5HT₄-рецепторы** вызывает увеличение синтеза цАМФ. **Протеин киназа A** активирует экспрессию генов путем фосфорилирования факторов транскрипции (путь 3) – регуляторного белка **CREB**.

Факторы транскрипции усиливают синтез, по крайней мере, **десяти различных белков**. Эти белки по принципу положительной обратной связи **усиливают выделение медиатора** из сенсорного нейрона. Один из этих белков **гидролаза** вызывает **деградацию регуляторных субъединиц протеин киназы A**, что приводит к усилению функции **каталитических субъединиц**. Поддерживаемая активность каталитических субъединиц протеин киназы A приводит к эффектам, обеспечивающим кратковременные изменения синаптической передачи (пути 1 и 2).

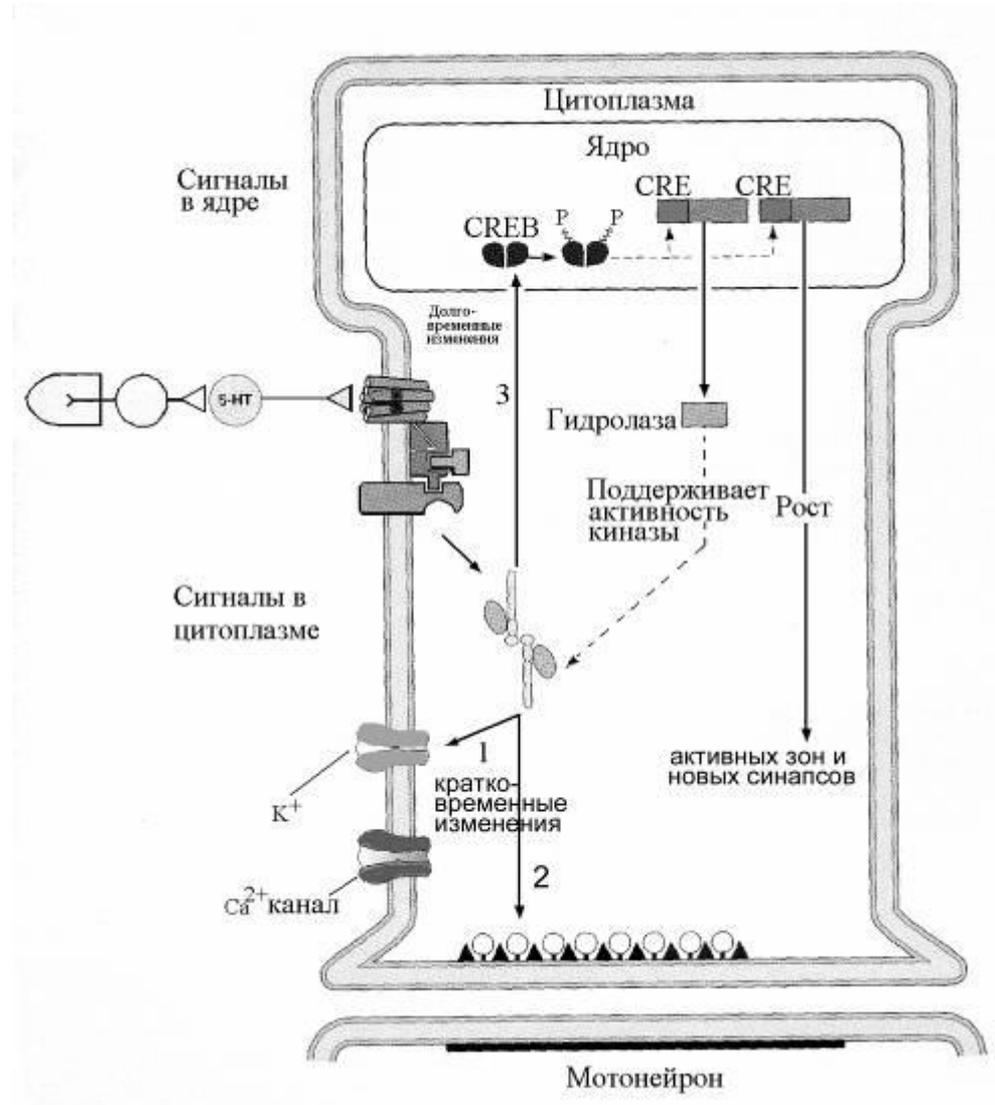
Активная протеин киназа A поддерживает фосфорилирование CREB, обеспечивая положительную обратную связь. Еще один белок способствует **росту активных зон пресинаптической мембраны и развитию новых синаптических контактов**.

Пресинаптическая пластичность

Механизм усиления **глутаматной передачи** при **долговременной сенситизации**.

Серотонин через **5HT₄-рецепторы** вызывает увеличение синтеза цАМФ.

Протеин киназа А активирует экспрессию генов путем фосфорилирования факторов транскрипции (путь 3) – регуляторного белка **CREB**.



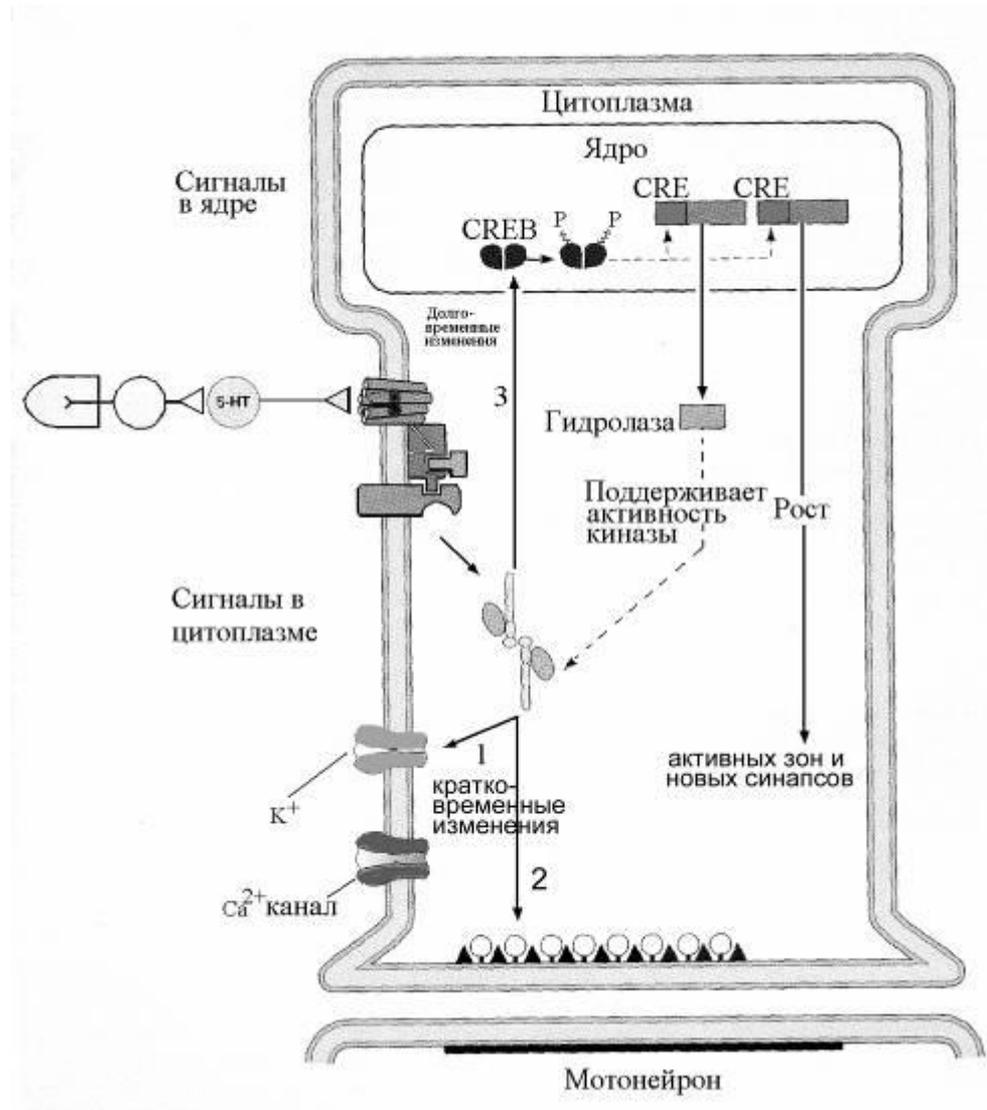
Пресинаптическая пластичность

Механизм усиления **глутаматной передачи** при **долговременной сенситизации**.

Факторы транскрипции усиливают синтез, по крайней мере, **десяти различных белков**. Эти белки по принципу положительной обратной связи **усиливают выделение медиатора** из сенсорного нейрона.

Один из этих белков **гидролаза** вызывает **деградацию регуляторных субъединиц протеин киназы A**, что приводит к усилению функции **каталитических субъединиц**.

Поддерживаемая активность каталитических субъединиц **протеин киназы A** приводит к эффектам, обеспечивающим кратковременные изменения синаптической передачи (пути 1 и 2).

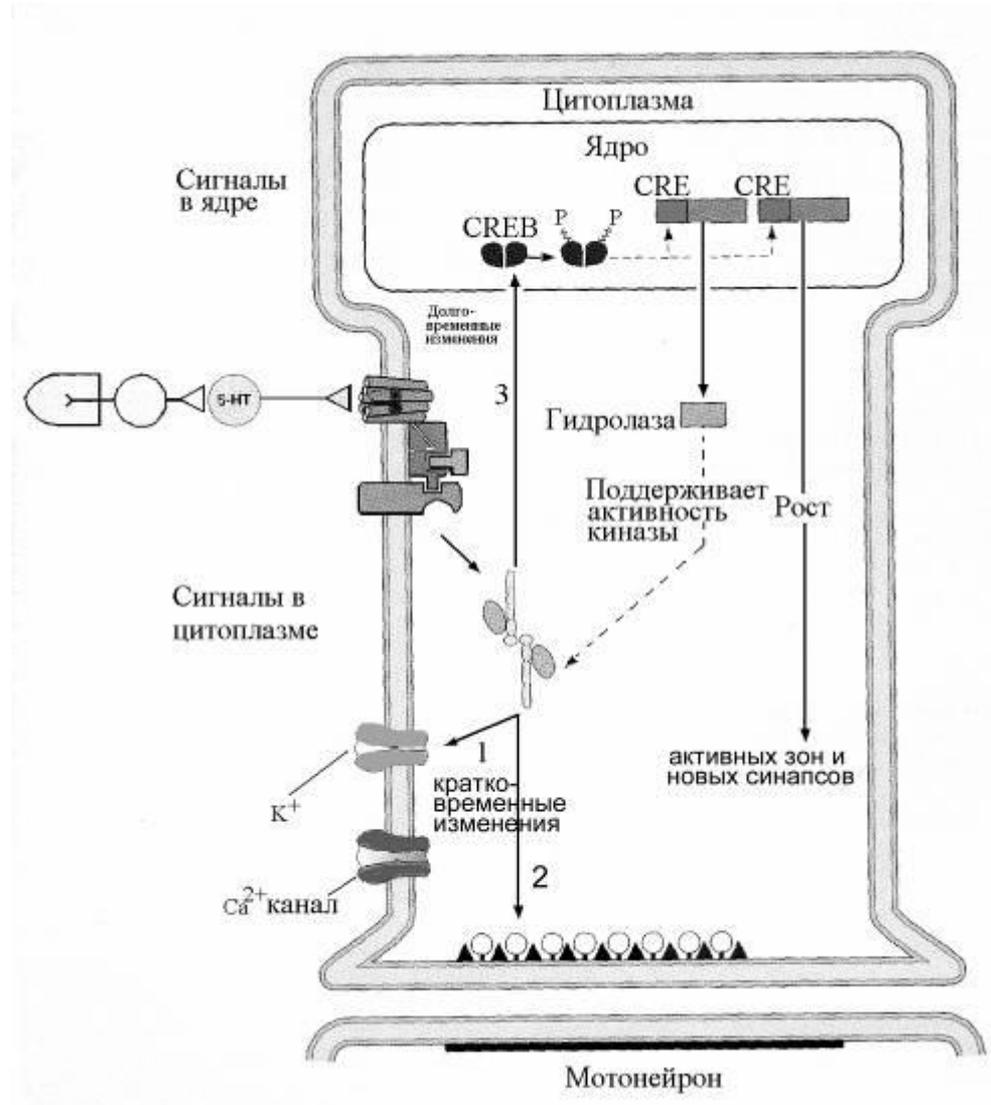


Пресинаптическая пластичность

Механизм усиления **глутаматной передачи** при **долговременной сенситизации**.

Активная протеин **киназа A** поддерживает фосфорилирование CREB, обеспечивая положительную обратную связь.

Еще один белок способствует **росту активных зон пресинаптической мембраны** и **развитию новых синаптических контактов**.



Molecular Mechanisms of Memory Storage in *Aplysia*

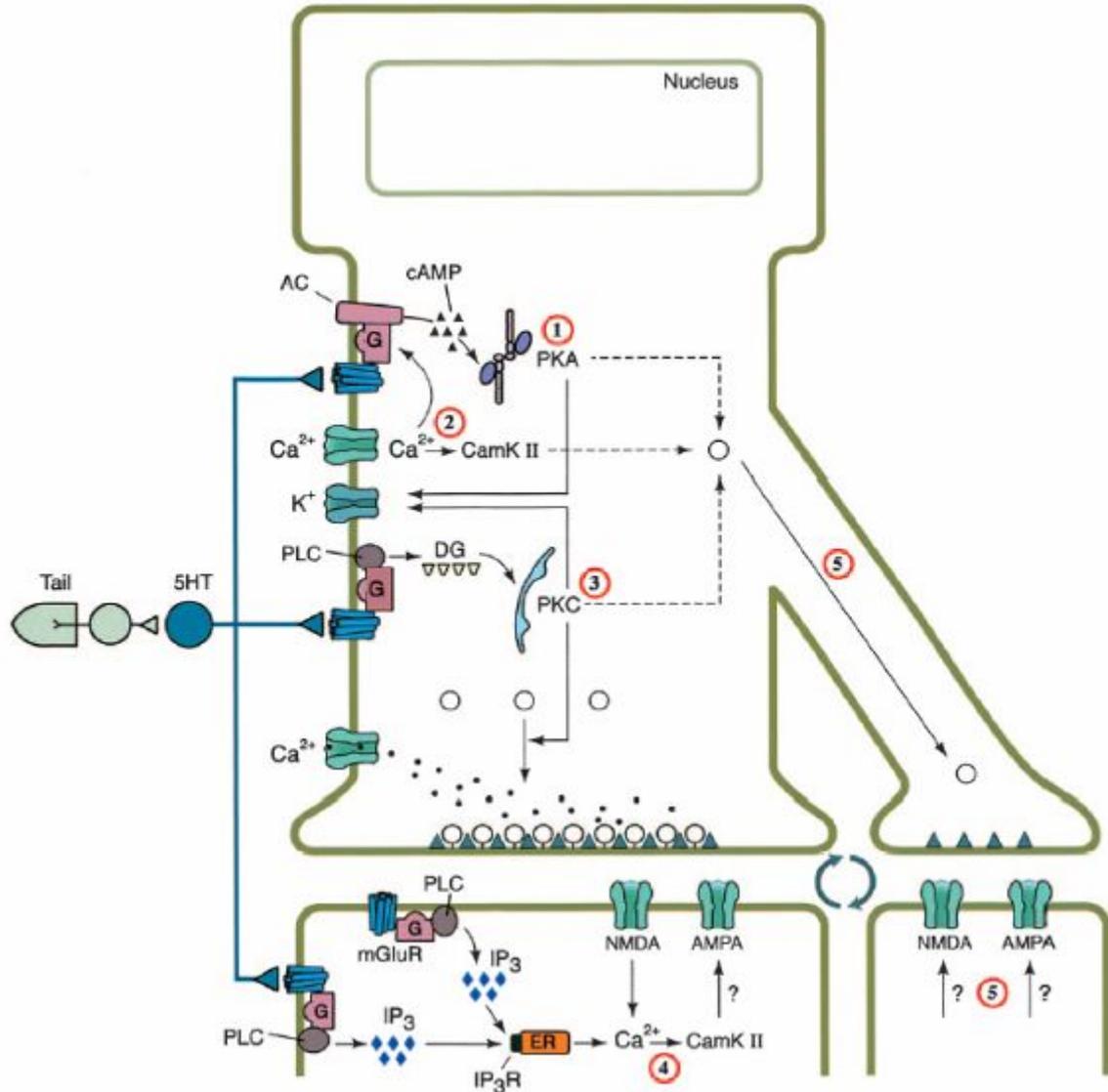
ROBERT D. HAWKINS, ERIC R. KANDEL, AND CRAIG H. BAILEY

Biol. Bull. 2006. **210**: 174–191.

Mechanisms of **short- and intermediate-term memory** formation in *Aplysia*.

Different forms of short- and intermediate-term synaptic plasticity contributing to learning in *Aplysia* involve different combinations of pre- and postsynaptic molecules including

- (1) presynaptic PKA,
- (2) presynaptic Ca^{2+} and CamKII,
- (3) presynaptic PKC,
- (4) postsynaptic Ca^{2+} and CamKII, and
- (5) recruitment of pre- and possibly postsynaptic molecules to new sites.



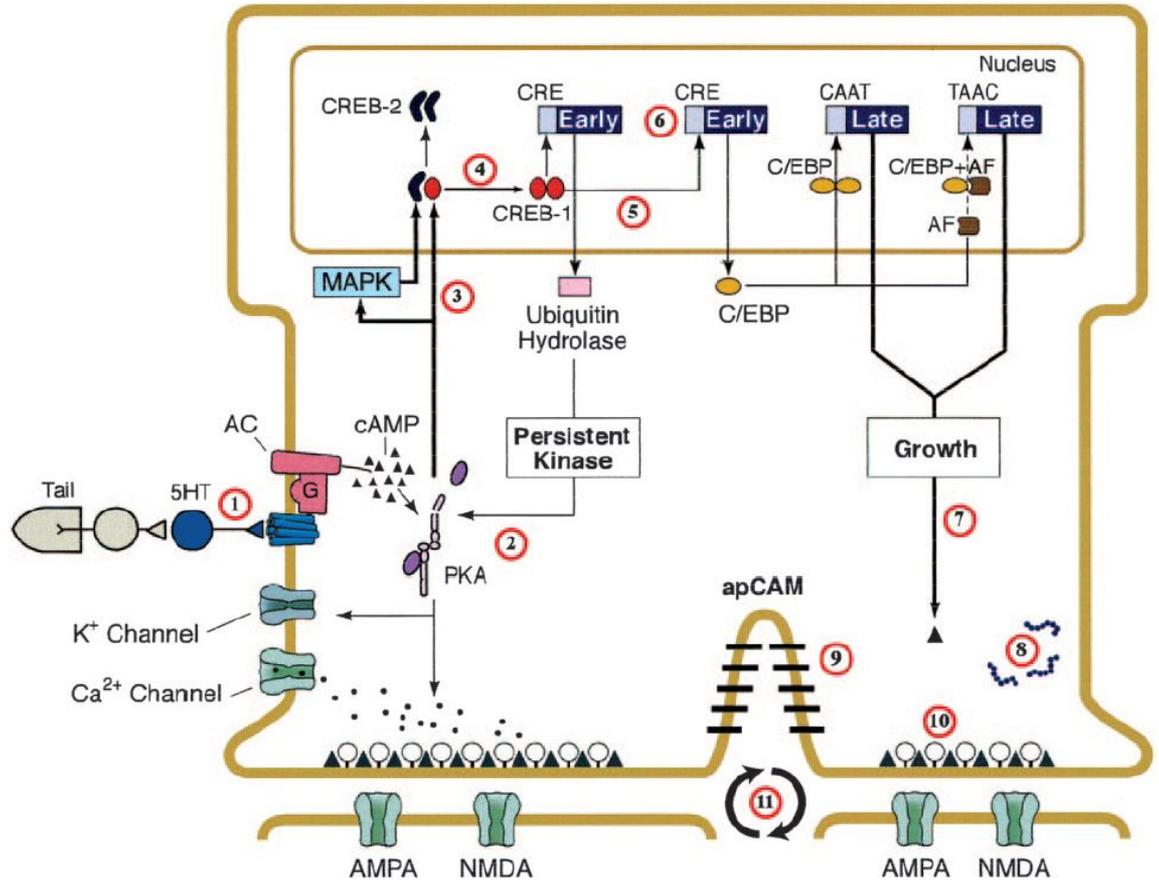
Molecular Mechanisms of Memory Storage in *Aplysia*

ROBERT D. HAWKINS, ERIC R. KANDEL, AND CRAIG H. BAILEY

Biol. Bull. 2006. **210**: 174–191.

Mechanisms of long-term memory formation. Long-term synaptic plasticity contributing to learning involves a sequence of cellular and molecular mechanisms including

- (1) neurotransmitter release and short-term strengthening of synaptic connections,
- (2) equilibrium between kinase and phosphatase activities at the synapse,
- (3) retrograde transport from the synapse to the nucleus,
- (4) activation of nuclear transcription factors,
- (5) activity-dependent induction of gene expression,

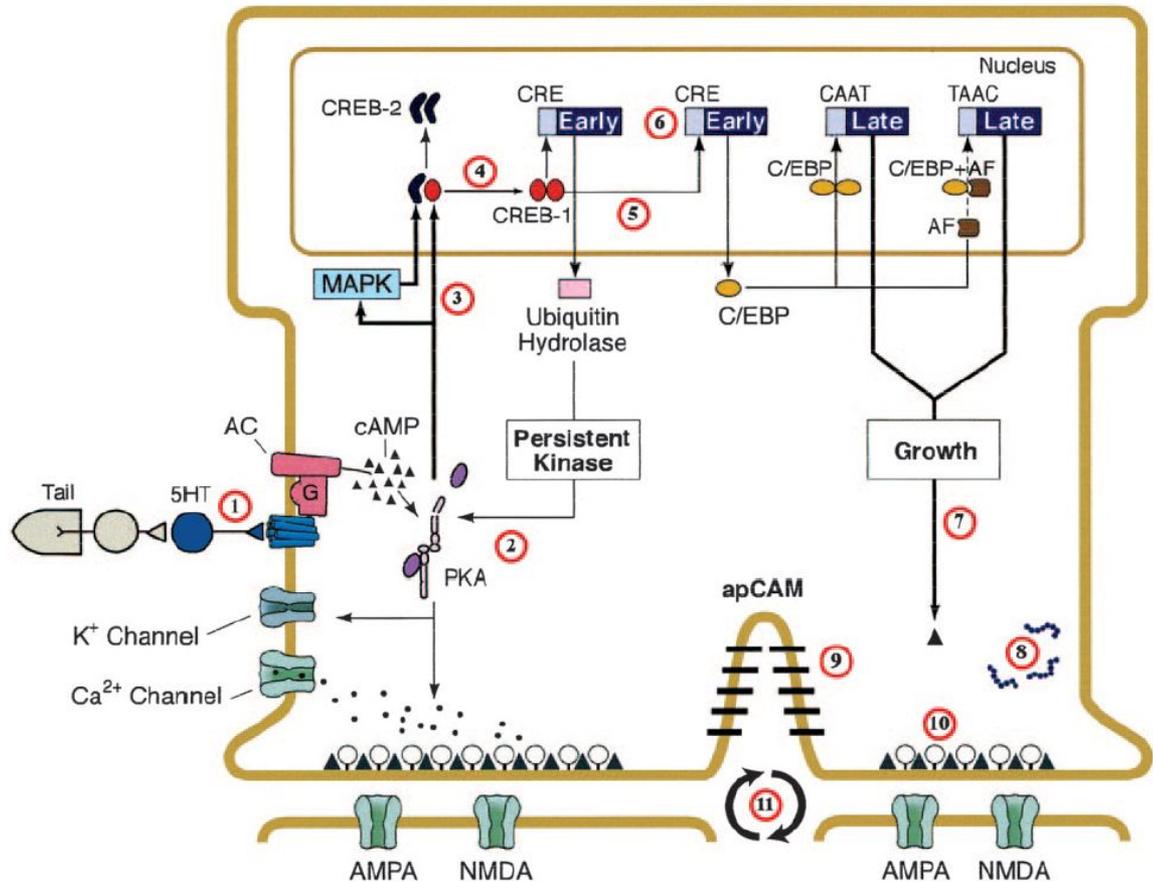


Molecular Mechanisms of Memory Storage in *Aplysia*

ROBERT D. HAWKINS, ERIC R. KANDEL, AND CRAIG H. BAILEY

Biol. Bull. 2006. **210**: 174–191.

- 6) chromatin alteration and epigenetic changes in gene expression,
- (7) synaptic capture of newly synthesized gene products,
- (8) local protein synthesis at active synapses,
- (9) synaptic growth and the formation of new synapses,
- (10) activation of pre-existing silent synapses, and
- (11) self-perpetuating mechanisms and the molecular basis of memory persistence.



The location of these events, which may act in part to stabilize some of the changes that occur during short- and intermediate term plasticity, moves from the synapse (1–2) to the nucleus (3– 6) and then back to the synapse (7–11).

Постсинаптическая пластичность

Примером постсинаптической пластичности является **долговременная потенция** (ДВП).

Феномен ДВП заключается в продолжительном усилении постсинаптического ответа после тетанической активации высокочастотной серией импульсов (50-100 стимулов) в ответ на стимуляцию входа, который до тетанизации вызывал слабый ответ.

ДВП вызывается тремя способами:

- **гомосинаптическая ДВП** возникает в активированном синапсе как результат его собственной активации;
- **гетеросинаптическая ДВП** возникает в синапсе в результате активации другого синапса;
- **ассоциативная ДВП** (разновидность гетеросинаптической) возникает в синапсе в результате его одновременной активации с другим синапсом.

Феномен ДВП впервые был обнаружен в **пирамидных клетках гиппокампа** и интенсивно исследуется как **клеточный аналог памяти и обучения**.

Постсинаптическая пластичность

Гомосинаптическая ДВП в пирамидных клетках гиппокампа кролика

J. Physiol. (1973), **232**, pp. 331–356

331

With 12 text-figures

Printed in Great Britain

LONG-LASTING POTENTIATION OF SYNAPTIC TRANSMISSION IN THE DENTATE AREA OF THE ANAESTHETIZED RABBIT FOLLOWING STIMULATION OF THE PERFORANT PATH

BY T. V. P. BLISS AND T. LØMO

*From the National Institute for Medical Research, Mill Hill,
London NW7 1AA and the Institute of Neurophysiology,
University of Oslo, Norway*

Постсинаптическая пластичность

Гомосинаптическая ДВП в пирамидных клетках гиппокампа кролика

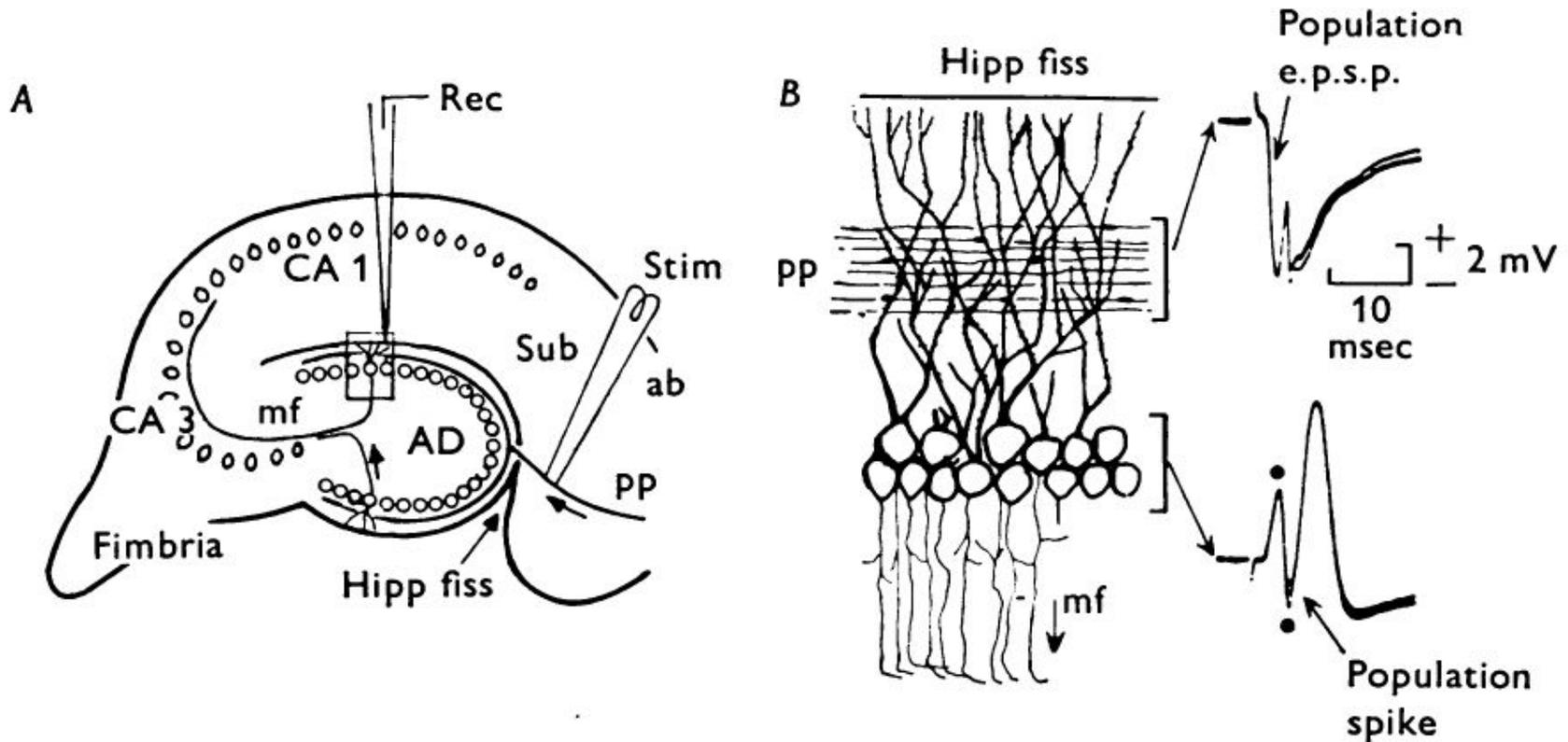
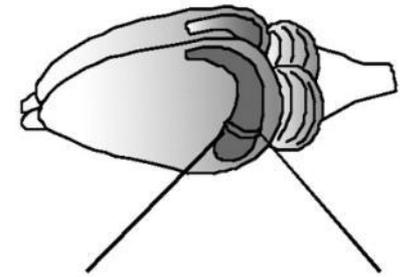
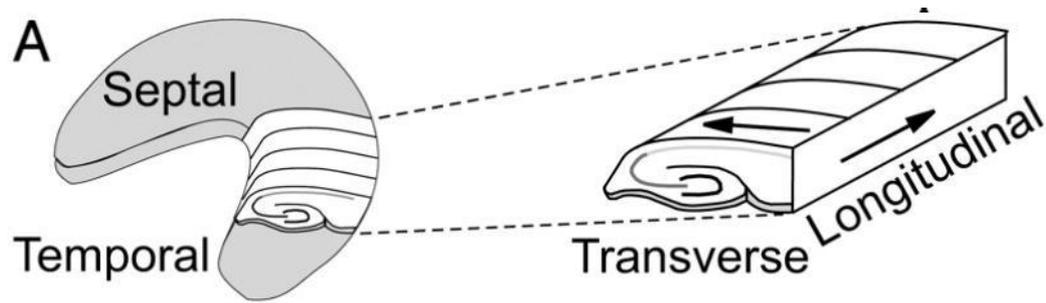
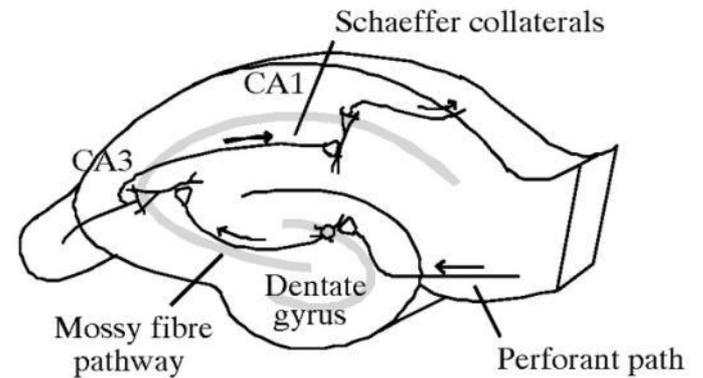


Fig 1. *A*, diagrammatic parasagittal section through the hippocampal formation, showing a stimulating electrode placed beneath the angular bundle (ab) to activate perforant path fibres (pp), and a recording micro-electrode in the molecular layer of the dentate area (AD). *B*, the region

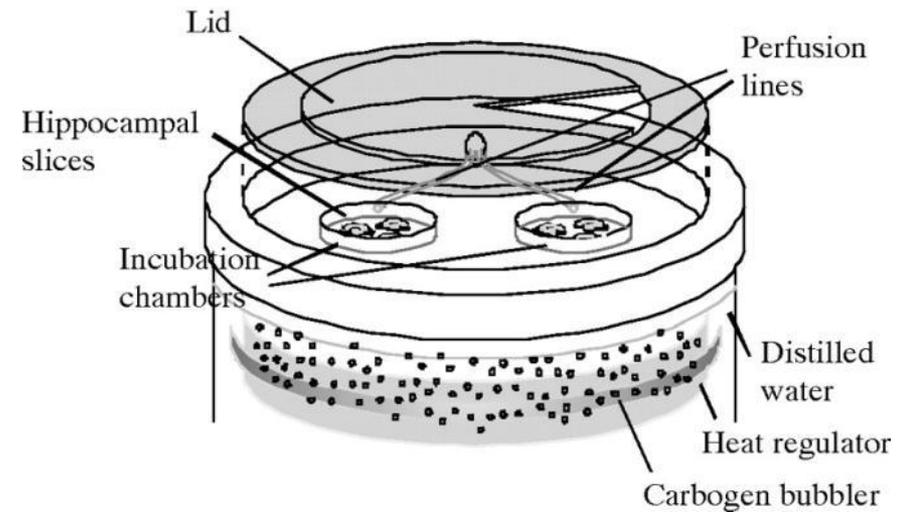


Приготовление переживающих срезов гиппокампа

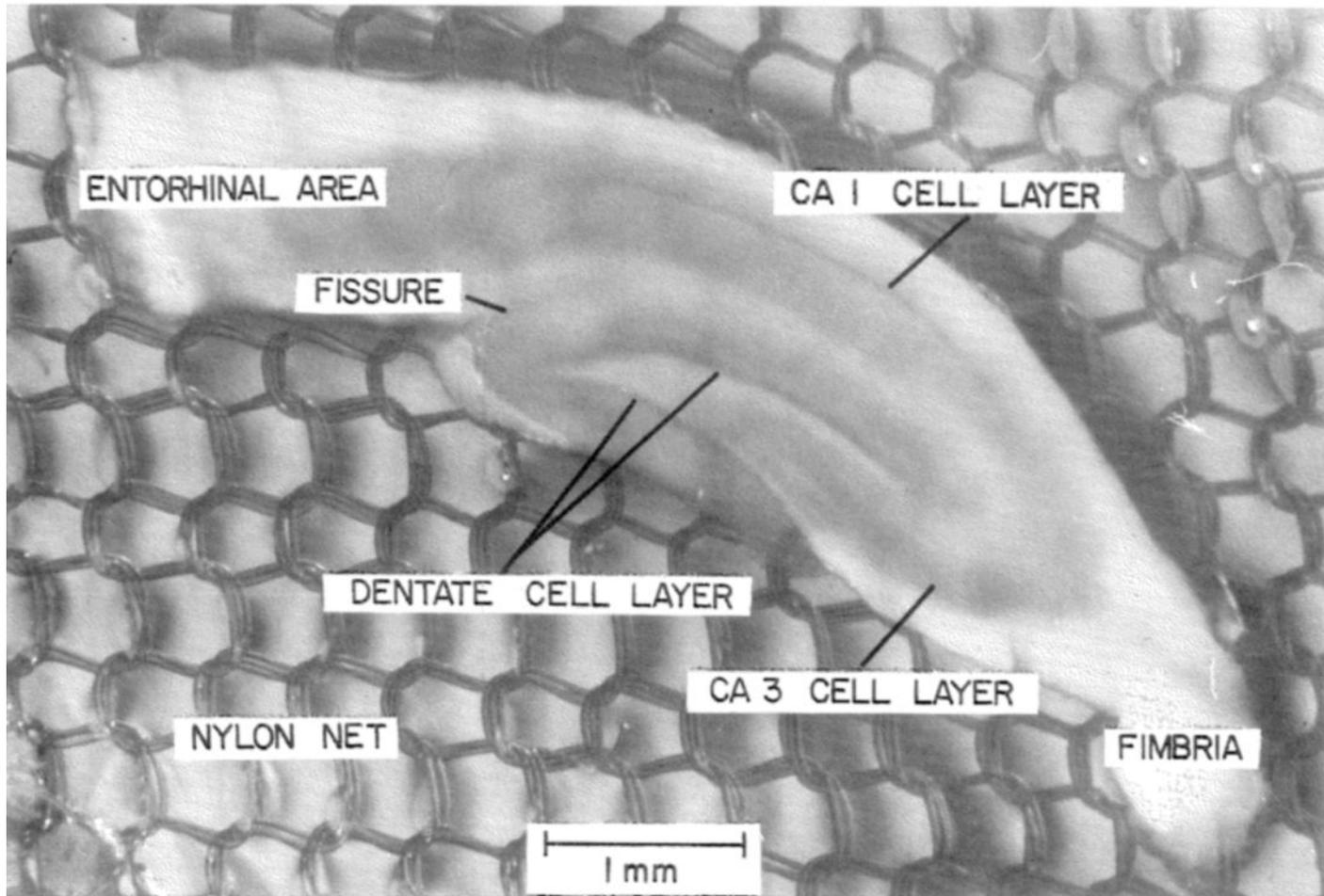
B



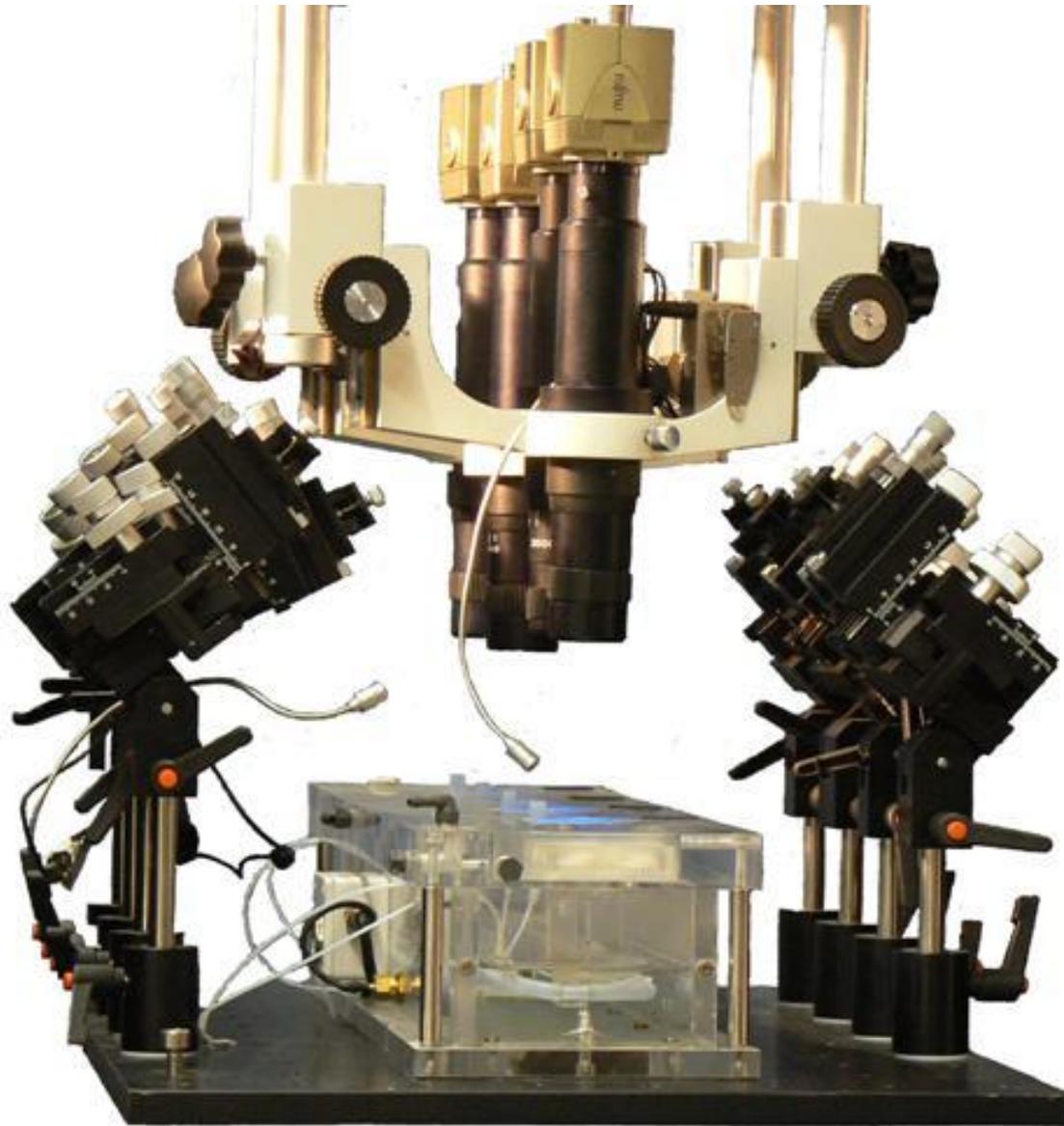
C



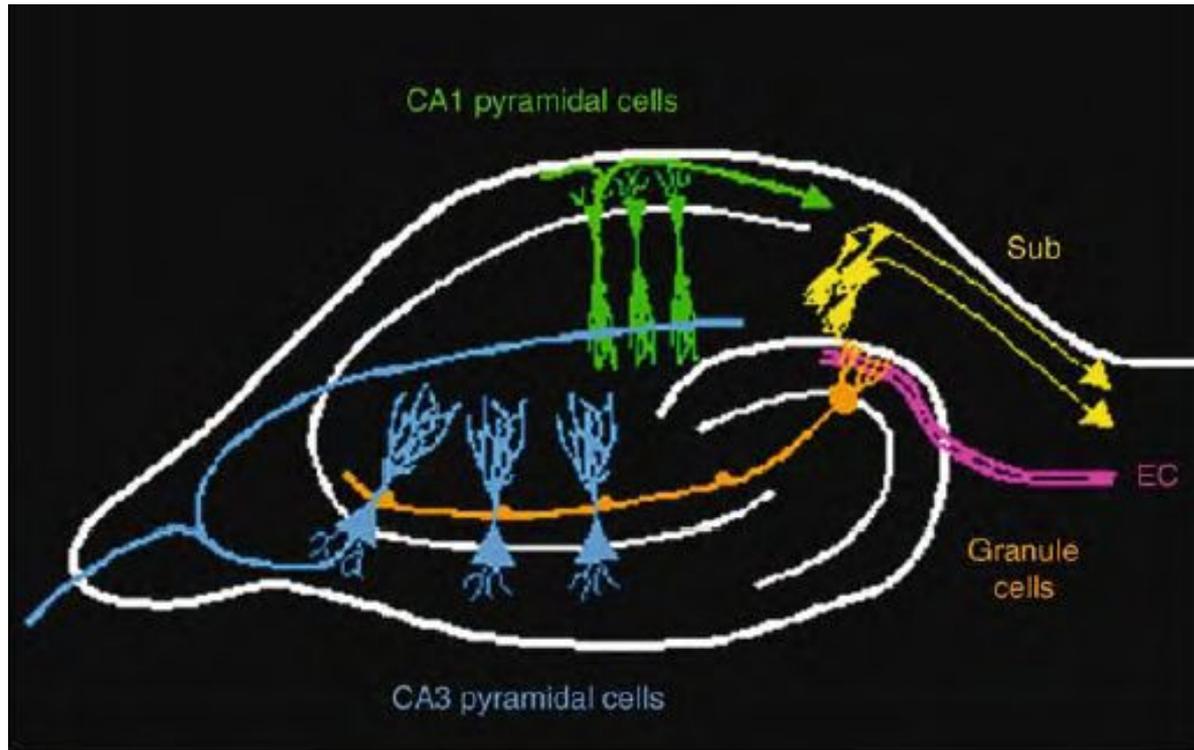
Переживающий срез гиппокампа



Установка для регистрации потенциалов от переживающих срезов гиппокампа



Hippocampal network and neuronal types



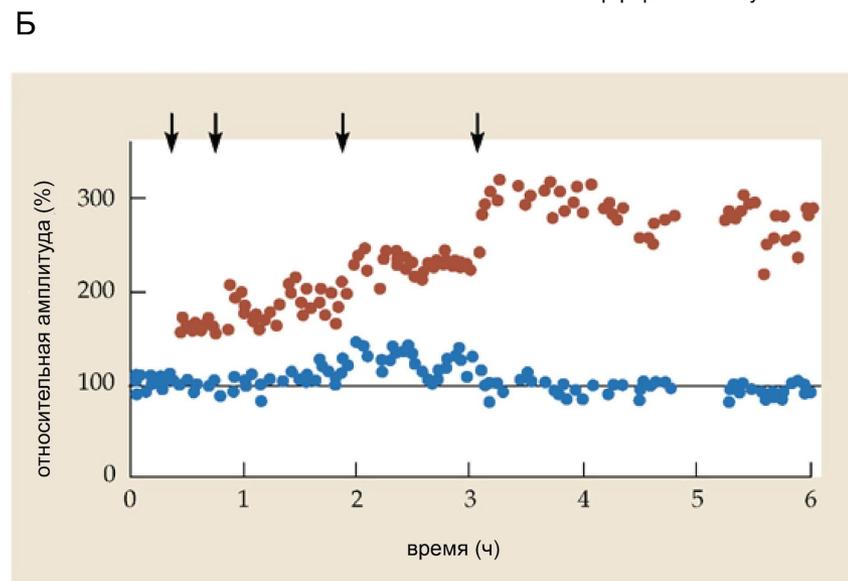
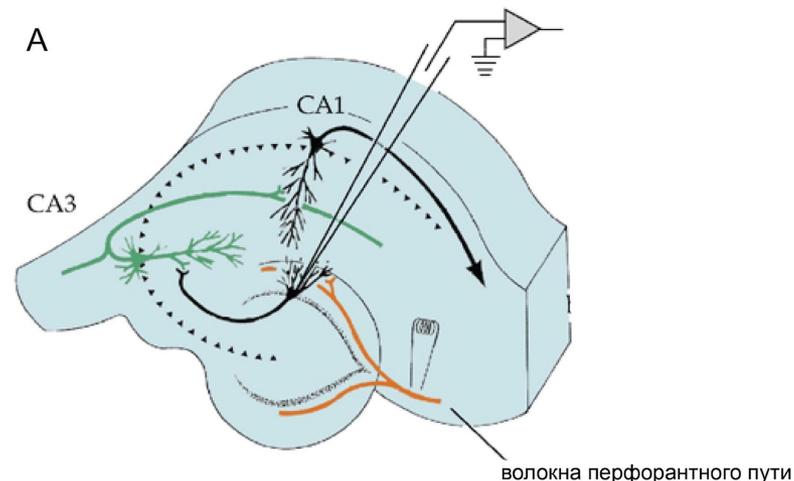
Schematic representation of an hippocampal section depicting the different fields and the main excitatory network. Afferents from entorhinal cortex (EC) innervate mainly dentate granule cells. The axons of the later innervate CA3 pyramidal neurons, which in turn innervate CA1 pyramidal cells. Axons from CA1 pyramidal neurons innervate the subiculum (Sub), which constitutes the main output gateway of the hippocampal complex.

Постсинаптическая пластичность

Гомосинаптическая ДВП в пирамидных клетках гиппокампа кролика

ДВП была впервые описана *T. Bliss & T. Lømo* (1973) в глутаматэргических синапсах гиппокампа.

Короткая высокочастотная стимуляция перфорантного пути (синаптического входа к зернистым клеткам зубчатой фасции) приводит к увеличению амплитуды суммарного постсинаптического ответа (*population EPSP*) этих клеток, которое сохраняется в течение десятков минут и часов, а при специальных условиях – дней, недель и даже месяцев, т.е. интервалов времени, сопоставимых с поведенческой памятью.

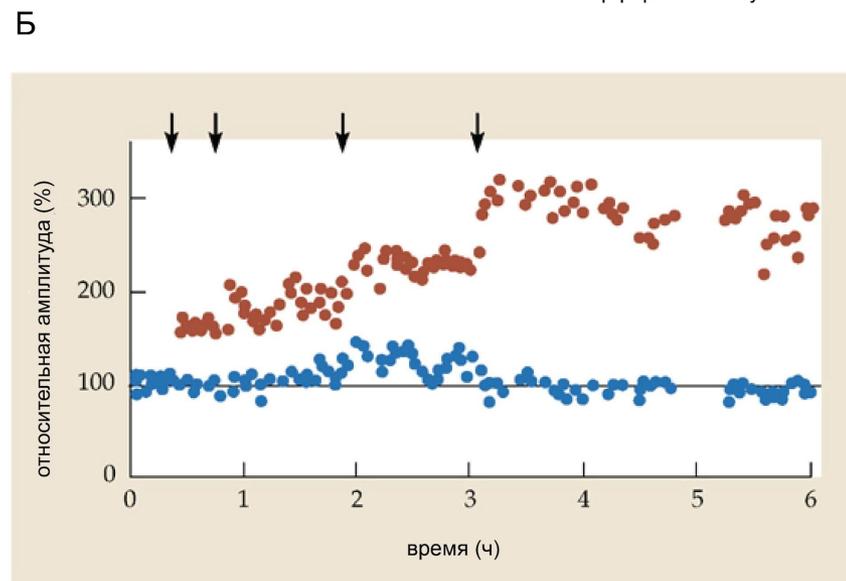
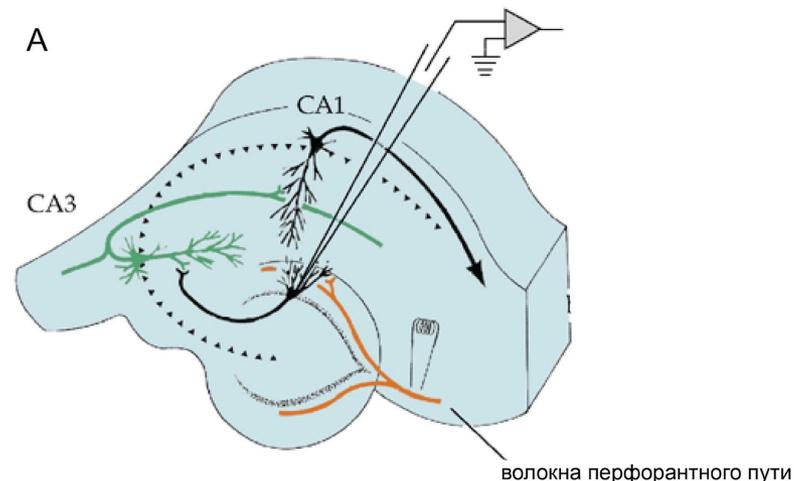


Постсинаптическая пластичность

Гомосинаптическая ДВП в пирамидных клетках гиппокампа

(А) Синаптические ответы на стимуляцию перфорантного пути регистрировали в гранулярных клетках зубчатой фасции.

(Б) Короткие тетанусы (15 стим./с в течение 10 с) наносятся в отмеченные стрелками моменты. После каждого тетануса отмечается относительное увеличение синаптического ответа (красные точки). В контрольной серии (без тетанусов) изменений синаптического ответа не наблюдается (синие точки).



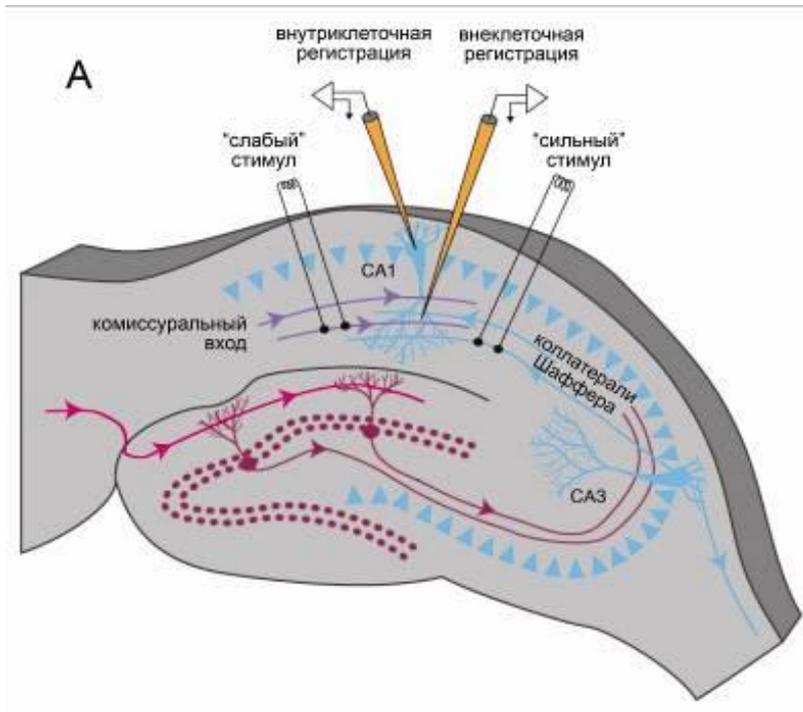
Постсинаптическая пластичность

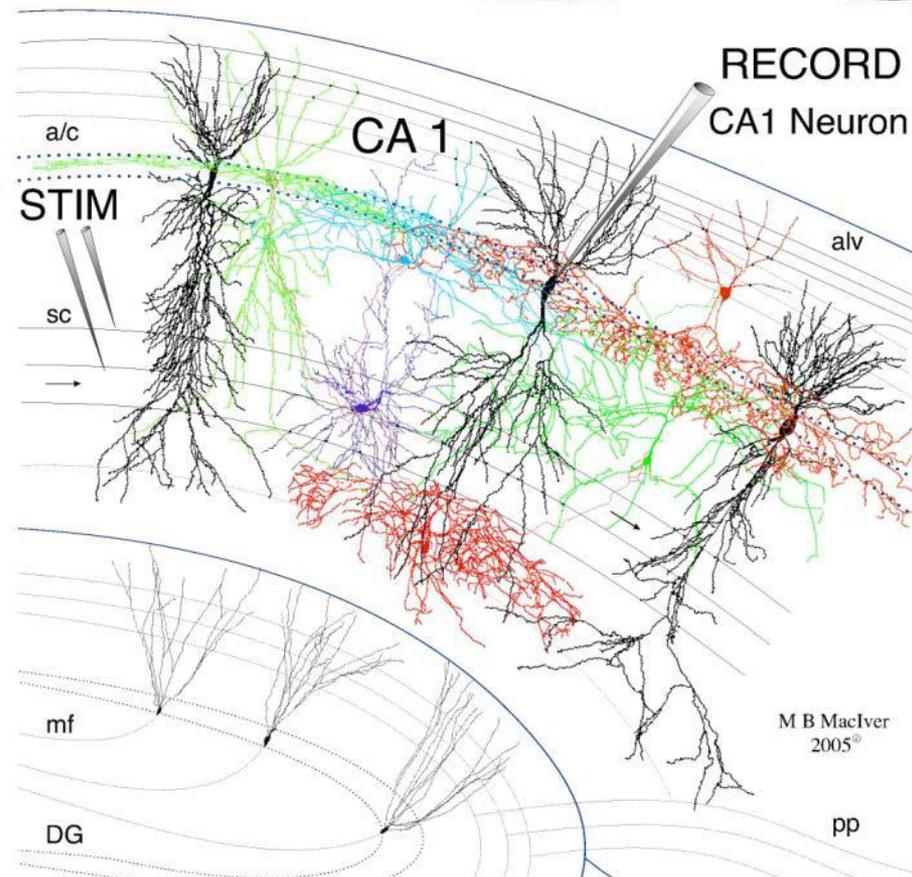
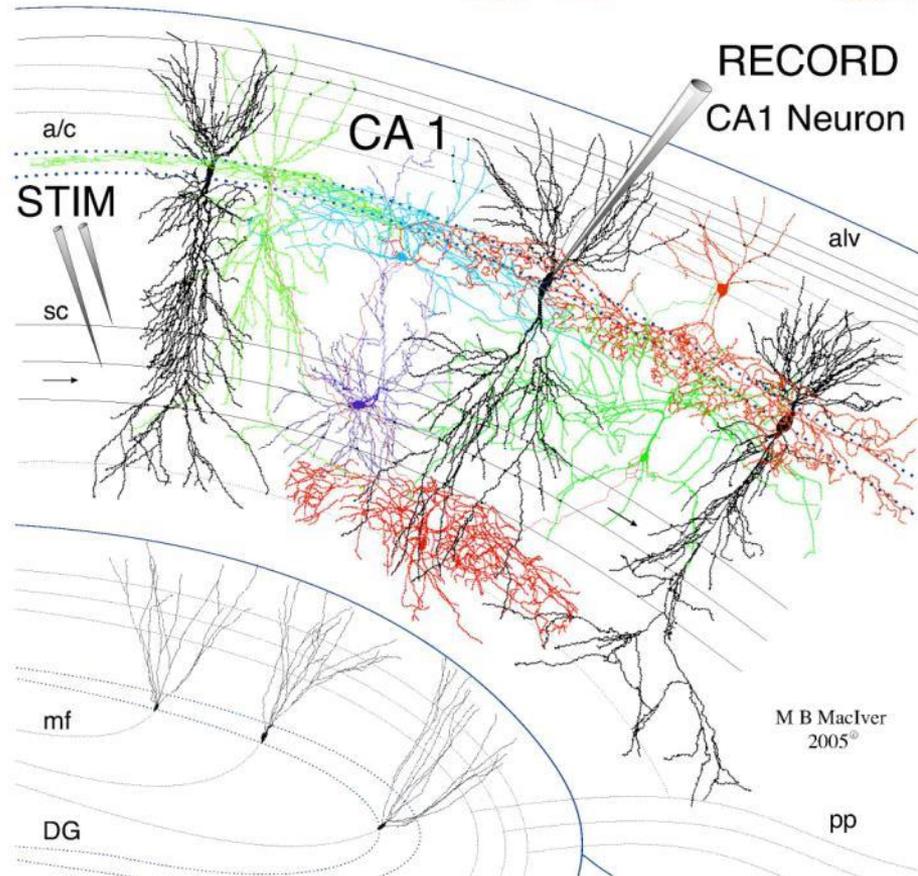
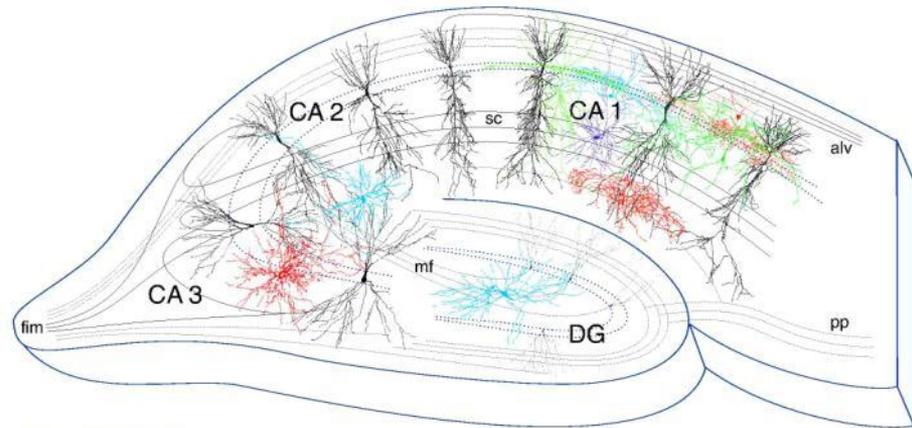
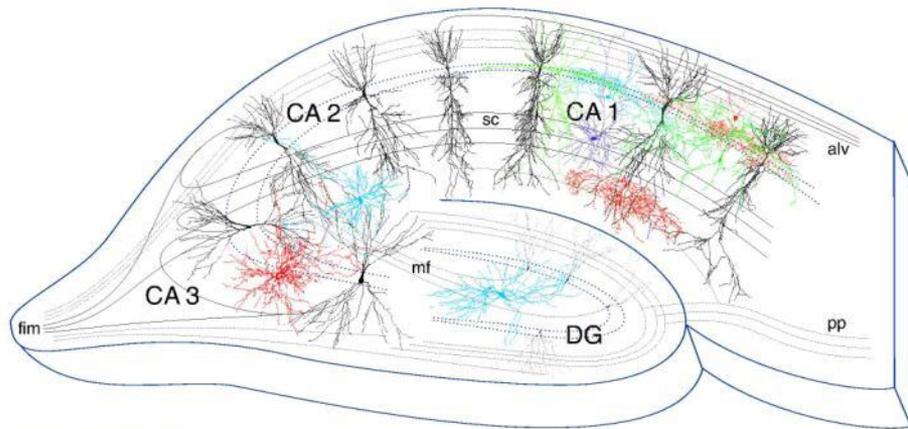
Ассоциативная ДВП в переживающих срезах гиппокампа кролика

представляет собой результат ассоциации возбуждения **двух афферентных путей**.

В экспериментах пирамидные нейроны поля CA1 стимулируют через два пути:

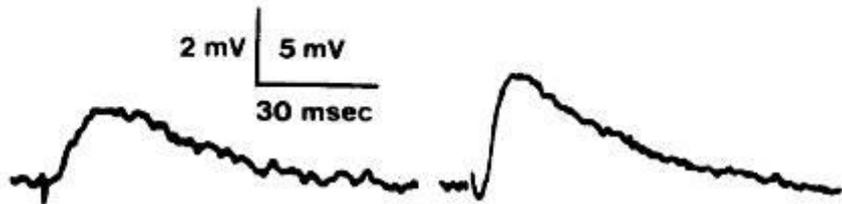
- 1) «слабая» стимуляция комиссуральных входов, которая вызывает слабый ПСП.
- 2) «сильная» стимуляция коллатералей Шаффера (входы от нейронов CA3), которая вызывает существенно больший ПСП.



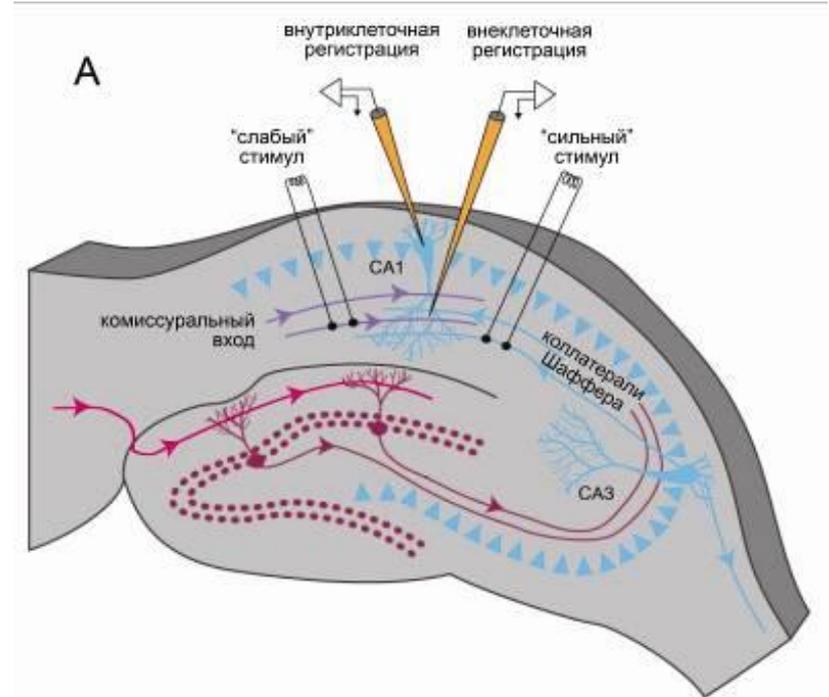
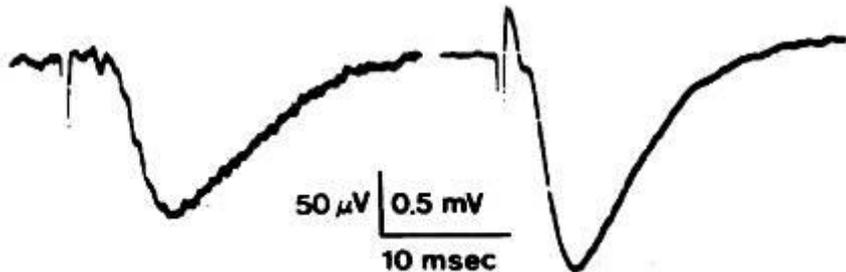


Постсинаптическая пластичность

Внутриклеточные ВПСП



Внеклеточные популяционные ВПСП

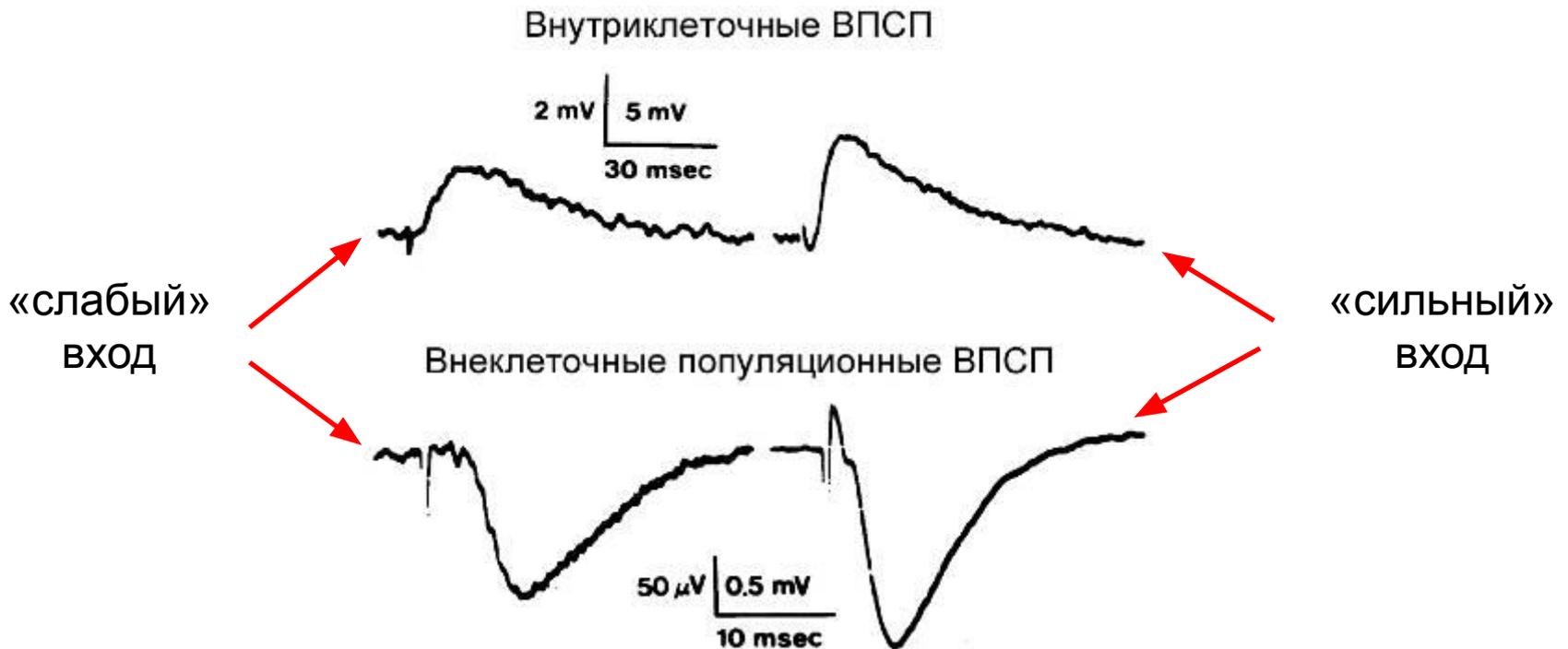


Антидромная стимуляция одиночным импульсом (0,1 мс, 5-20 мкА) через «слабый» вход вызвала ВПСП амплитудой 2-5 мВ (слева). При ортодромной стимуляции силу тока подбирали такой, чтобы он вызвал большие ответы относительно ответов при стимуляции «слабого» входа. Стимуляция через «сильный» вход (30-60 мкА) вызвала ВПСП в 2-5 раз большей амплитуды (справа).

Внеклеточные популяционные ВПСП при стимуляции «сильного» входа током 50-80 мкА (справа) были в 10 раз больше по амплитуде, чем при стимуляции «слабого» входа током 10-40 мкА (слева, амплитуда потенциалов 100-300 мкВ).

Постсинаптическая пластичность

Антидромная стимуляция одиночным импульсом (0,1 мс, 5-20 мкА) через «слабый» вход вызывала ВПСП амплитудой 2-5 мВ (слева). При ортодромной стимуляции силу тока подбирали такой, чтобы он вызвал большие ответы относительно ответов при стимуляции «слабого» входа. Стимуляция через «сильный» вход (30-60 мкА) вызывала ВПСП в 2-5 раз большей амплитуды (справа).



Внеклеточные популяционные ВПСП при стимуляции «сильного» входа током 50-80 мкА (справа) были в 10 раз больше по амплитуде (до 1,5 мВ), чем при стимуляции «слабого» входа током 10-40 мкА (слева, амплитуда потенциалов 100-300 мкВ).

Постсинаптическая пластичность

Ассоциативная ДВП в переживающих срезах гиппокампа кролика

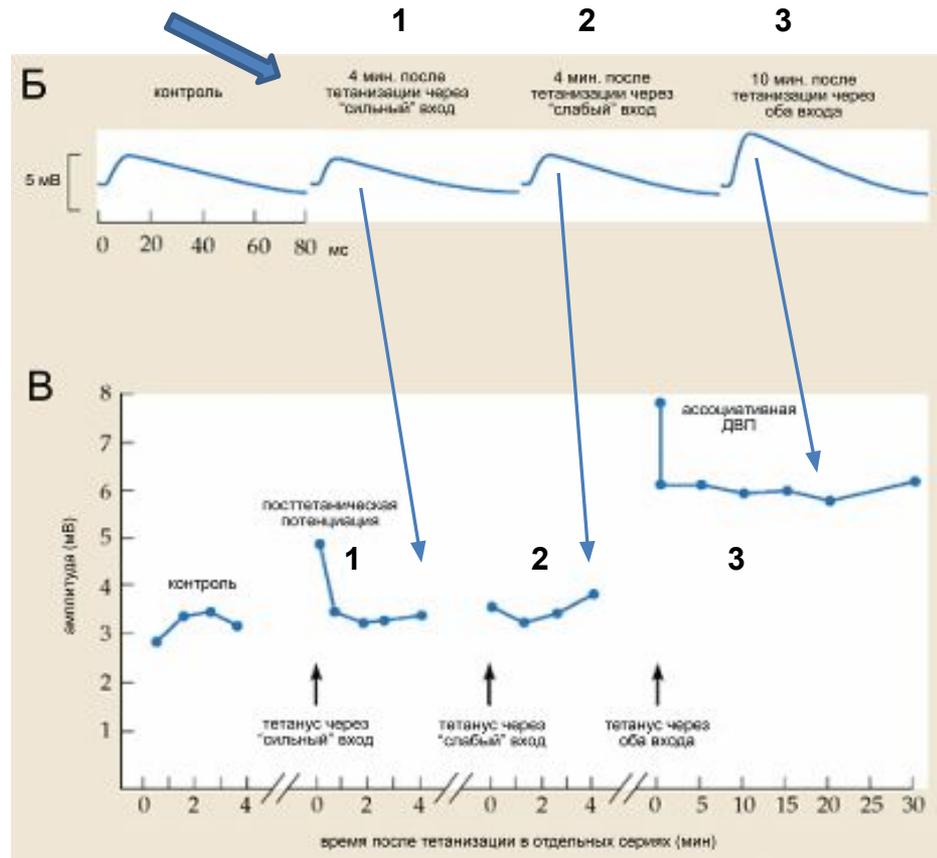
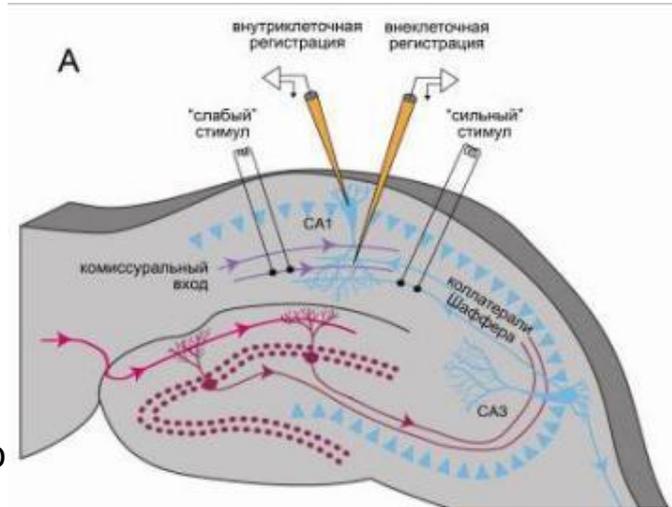
(1) Тетанизация залпом импульсов (100 Гц в течение 1 с, повторенный через 5 с) через «сильный» вход привела к (!) кратковременному усилению ответов, активируемых через этот же вход (гомосинаптическая ДВП).

Ответы на стимуляцию через «слабый» вход

(2) Тетанизация через «слабый» вход, также как и тетанизация через «сильный» вход не оказала влияния на величину ответа, вызываемого через «слабый» вход.

(3) После совместной стимуляции «сильного» и «слабого» входов наблюдалось существенное увеличение величины ответа в ответ на стимуляцию «слабого» входа, продолжающееся десятки минут.

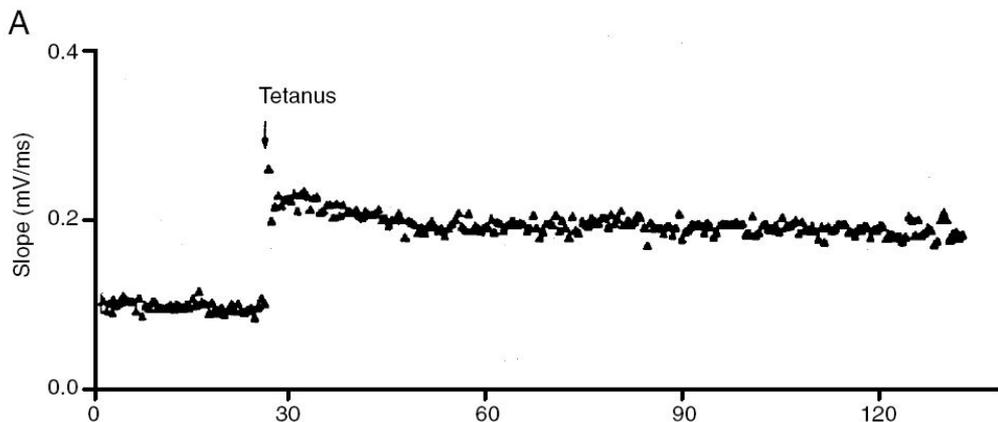
Этот феномен в современной нейробиологии рассматривается как **клеточный аналог ассоциативного обучения**, когда стимуляция «сильного» входа ассоциируется с безусловным, а стимуляция «слабого» входа – с условным стимулами.



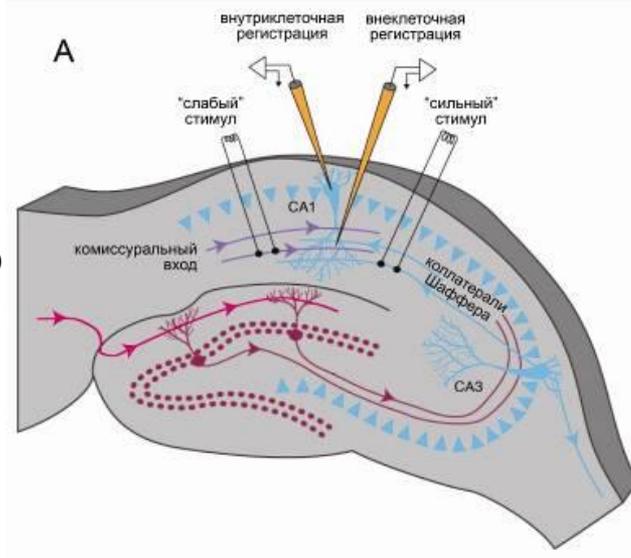
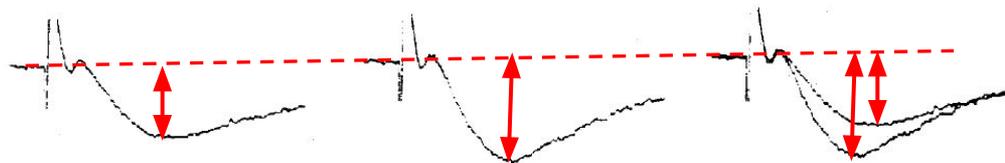
Постсинаптическая пластичность

Ассоциативная ДВП в переживающих срезах гиппокампа кролика

Усиление ответов нейрона поля СА1 (ПСП, В2) при стимуляции «слабого» входа после одновременной тетанизации через «сильный» и «слабый» вход по сравнению с контролем (В1, В3).



B1. Control B2. 90 min. B3. Superimposed



Постсинаптическая пластичность

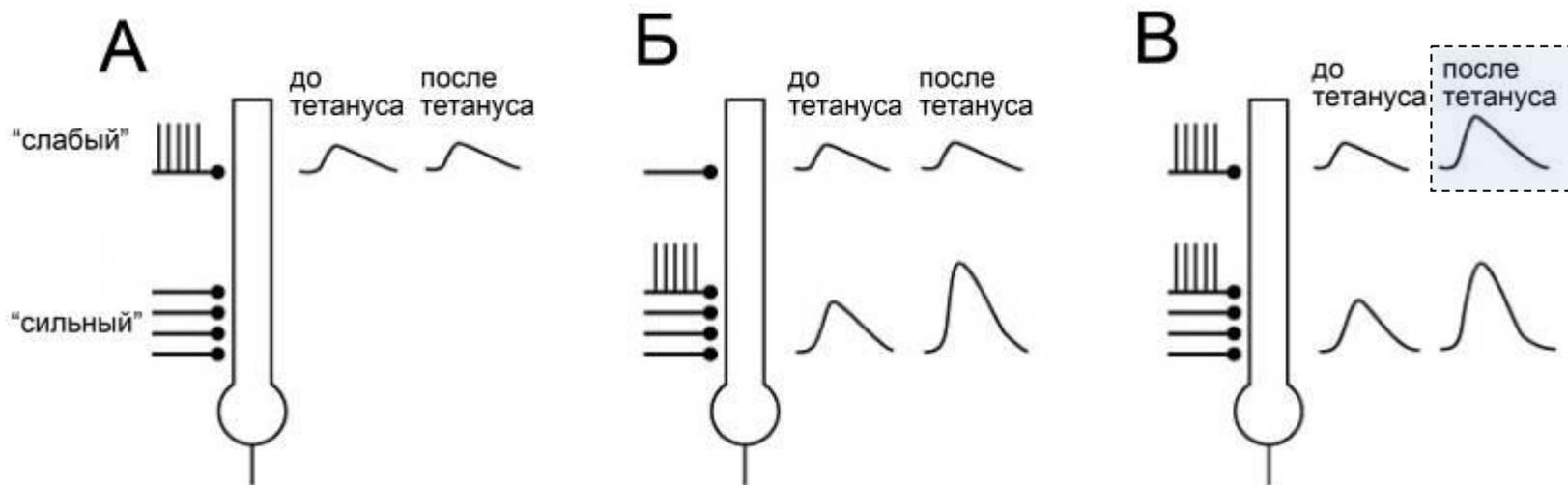
Модель **классического условного рефлекса** (ДВП) на нейронах гиппокампа

Пирамидные нейроны поля СА1 активируются через «**слабый**» и «**сильный**» входы. «**Слабый**» и «**сильный**» входы в модели условного рефлекса соответствуют **условному** и **безусловному** стимулам.

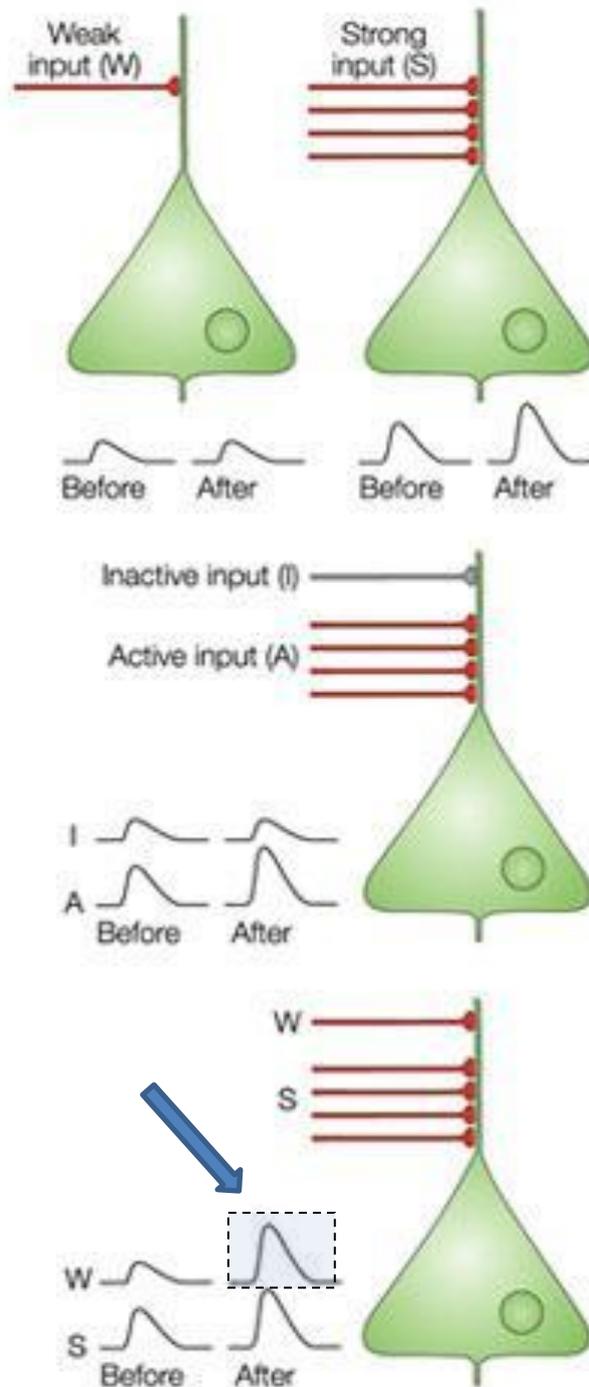
А. Тетаническая стимуляция только через «слабый» вход не вызывает усиления эффективности «слабого» синапса (ДВП) через этот путь.

Б. Тетаническая стимуляция только через «сильный» вход вызывает усиление эффективности «сильного» синапса (**гомосинаптическая ДВП**) через этот путь.

В. Тетаническая стимуляция через оба входа одновременно вызывает усиление эффективности «слабого» синапса (**ассоциативная ДВП**) через «слабый» путь.



Модель **классического условного рефлекса (ДВП)** на нейронах гиппокампа

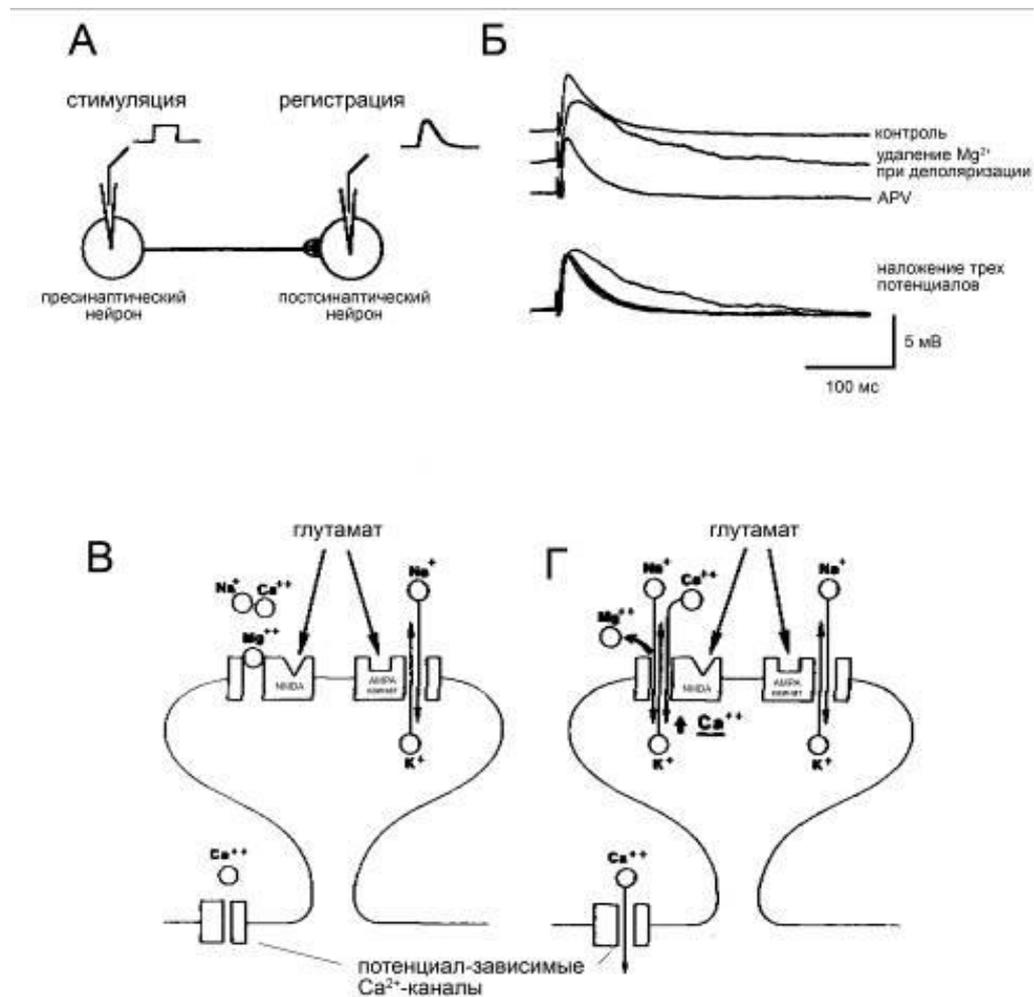


Постсинаптическая пластичность

Механизмы индукции ДВП

Возникновение ДВП связывают с дополнительным увеличением концентрации **внутриклеточного Ca^{2+}** в постсинаптическом нейроне, вызванным совместной стимуляцией нейронов поля CA1 через «сильный» и «слабый» афферентные входы.

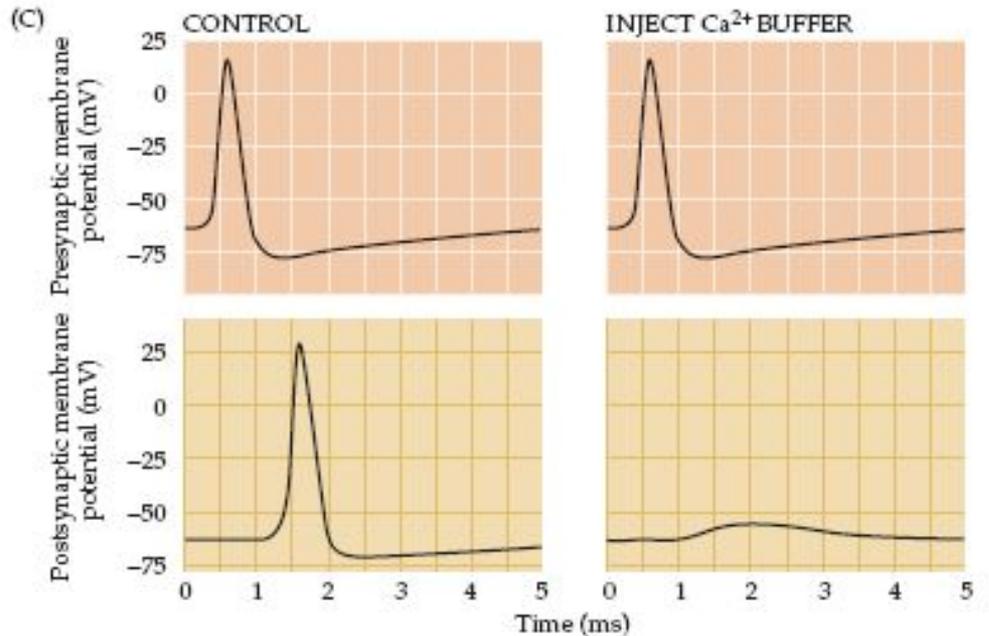
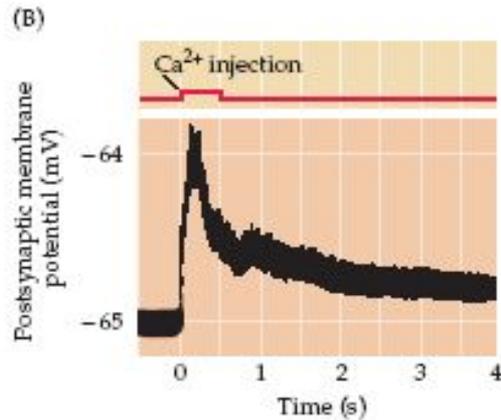
Механизмом увеличения концентрации **внутриклеточного Ca^{2+}** является активация глутаматных **NMDA-рецепторов**.



Постсинаптическая пластичность

Механизмы индукции ДВП

Ca²⁺-механизм индукции ДВП подтверждается также исследованиями, в которых показано устранение ДВП при внутриклеточном введении буферов (ВАРТА), блокирующих увеличение градиента Ca²⁺.



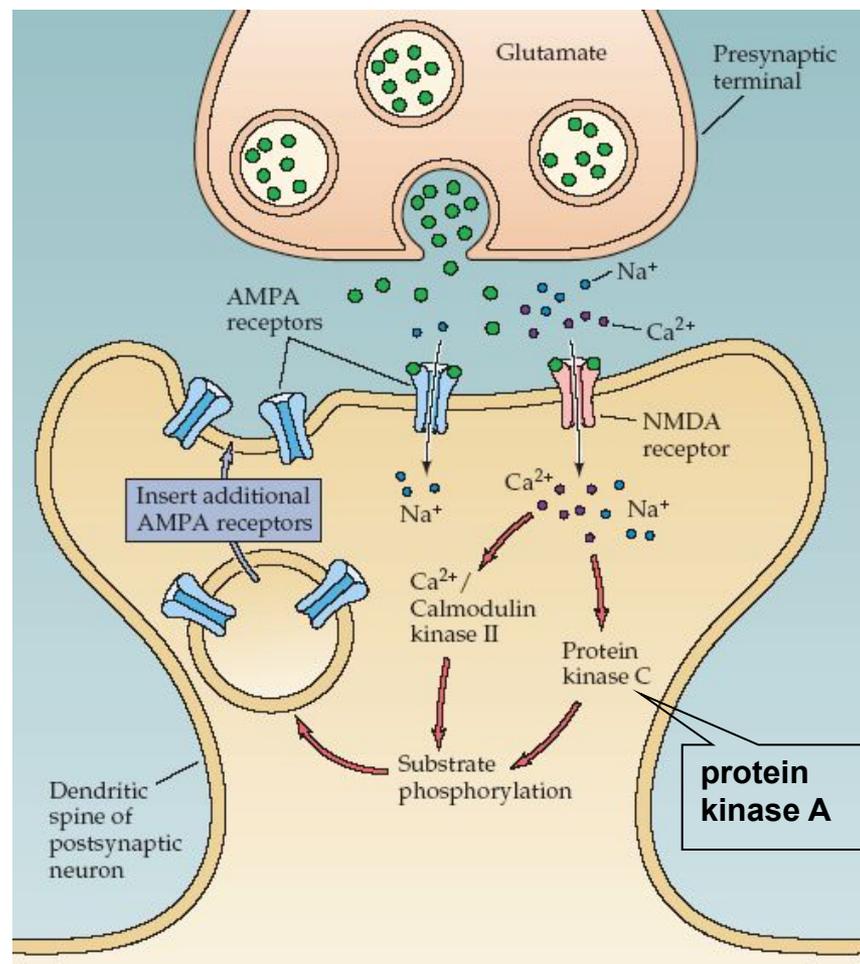
Постсинаптическая пластичность

Механизмы индукции ДВП

Кроме того, поток Ca^{2+} из внутриклеточных депо также может вызывать эффект ДВП. Внутриклеточный Ca^{2+} в повышенной концентрации может активировать целый ряд внутриклеточных каскадов.

Наиболее существенными для ДВП является активация СаМКII и цАМФ-зависимой PKA (цАМФ синтезируется при активации Ca^{2+} -зависимой аденилатциклазы). !!! На рис. неточность - д.б. **protein kinase A**).

Так, внутриклеточная инъекция блокаторов СаМКII и PKA блокирует индукцию ДВП.



Постсинаптическая пластичность

Молекулярные механизмы ДВП

Выделяют три механизма:

- 1) Регуляция количества синаптических рецепторов
- 2) Синтез новых рецепторов и рост новых синапсов
- 3) Роль Ca^{2+}

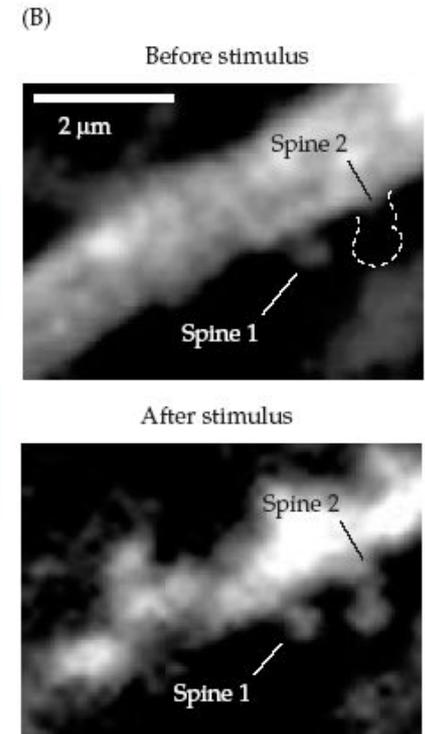
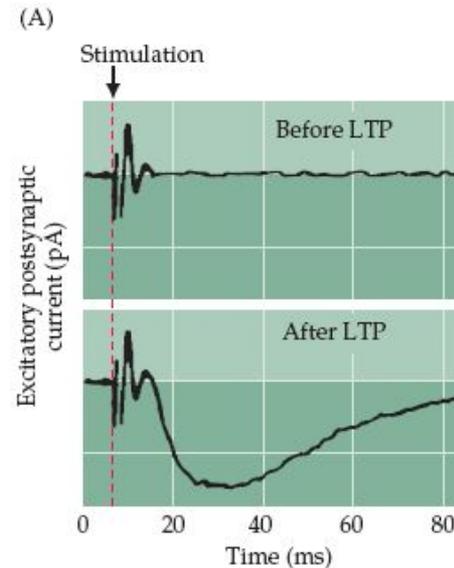
Постсинаптическая пластичность

Молекулярные механизмы ДВП.

Регуляция количества синаптических рецепторов

При индукции ДВП число AMPA-рецепторов в постсинаптических мембранах увеличивается. С использованием флуоресцентных красителей было показано встраивание новых меченых рецепторов в мембраны дендритных шипиков.

Высказываются предположения о том, что большое число шипиков являются «молчащими» и при тетанизации в их мембрану встраиваются новые AMPA-рецепторы, которые приводят к увеличению постсинаптических ответов.



Постсинаптическая пластичность

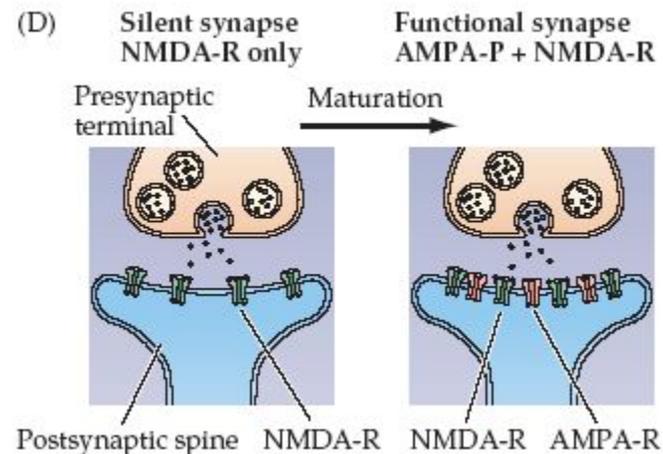
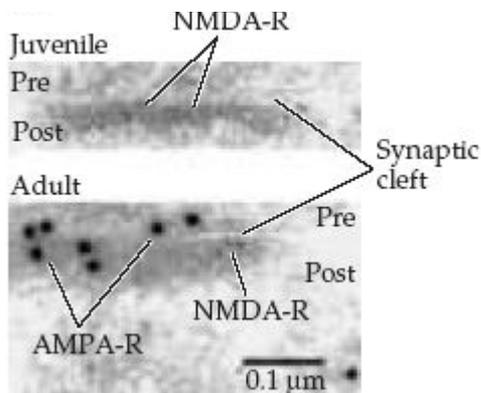
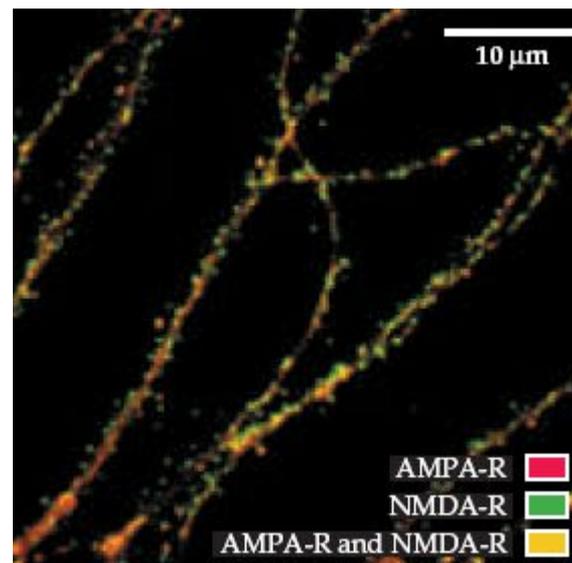
Молекулярные механизмы ДВП.

Регуляция количества синаптических рецепторов

Иммунофлуоресцентная локализация NMDA- (зеленые) и AMPA-рецепторов (красные) в нейроне культурального среза гиппокампа. Многие дендритические синапсы содержат только NMDA-рецепторы.

Большое число шипиков являются «молчащими», поскольку для активации NMDA-рецепторов необходима деполяризация.

При тетанизации в мембрану «молчащих» шипиков встраиваются новые AMPA-рецепторы, которые приводят к увеличению постсинаптических ответов.

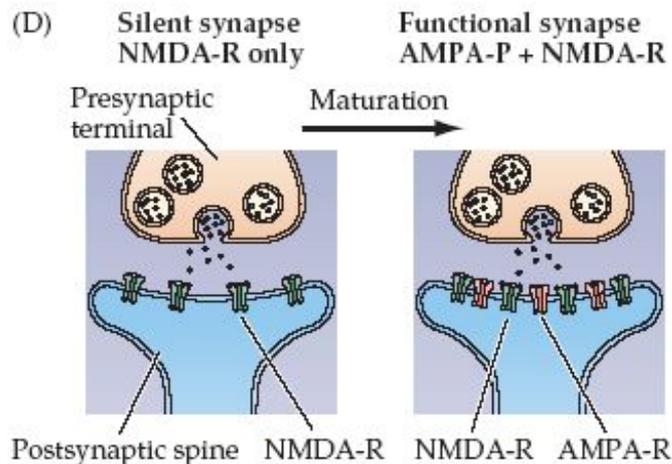
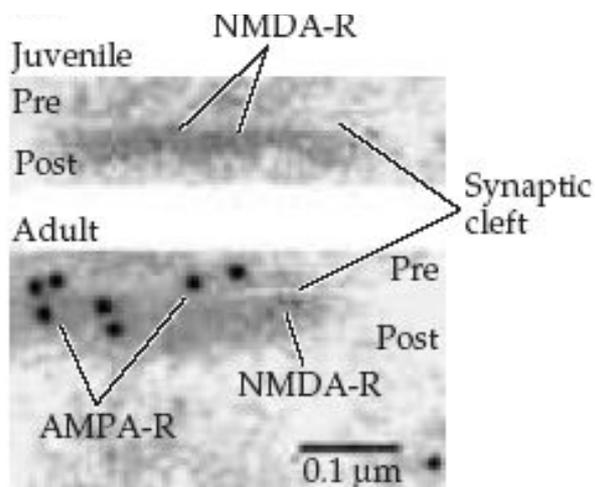


Постсинаптическая пластичность

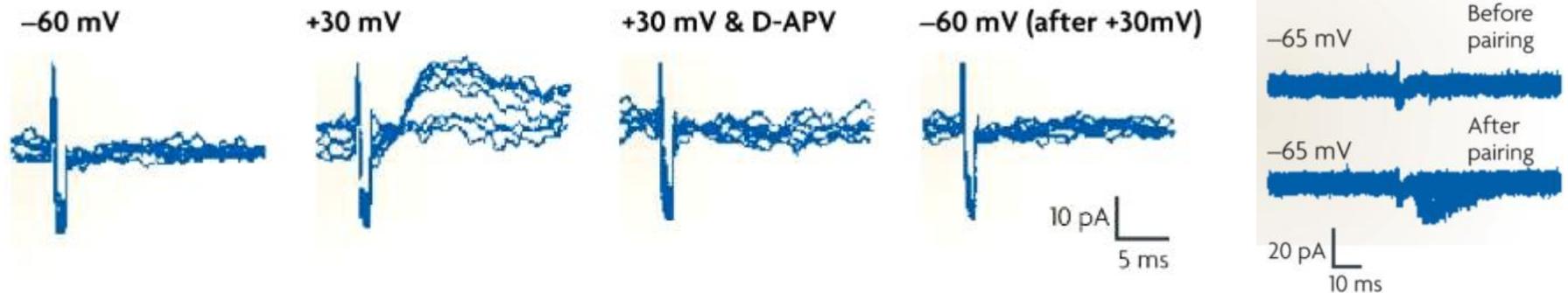
Молекулярные механизмы ДВП. *Синтез новых рецепторов*

Методами иммуногистохимии показано, что синапсы, образованные коллатеральными Шаффера и комиссуральными волокнами на нейронах CA1, содержат NMDA рецепторы, и только часть их содержит AMPA-рецепторы. ДВП приводит к встраиванию в мембраны вновь синтезированных AMPA-рецепторов.

Подтверждением тому являются данные, что ДВП уменьшается при инъекции в постсинаптическую клетку агентов, препятствующих слиянию мембран. Встраивание новых рецепторов в мембрану происходит в результате слияния мембранных транспортных систем (эндосом с новыми рецепторами) с клеточной мембраной. Это приводит к увеличению числа синапсов и, как было показано, к увеличению плотности шипиков.



Молчащие синапсы



«Молчащий» синапс не генерирует ВПСТ в ответ на его афферентную активацию при ПП, но генерирует их при деполяризации.

Приведены записи токов (метод локальной фиксации целой клетки, англ., *whole-cell mode patch clamp*) нейронов тонких переживающих срезов поля CA1 гиппокампа крысы. Записи слева направо:

- 1) подпороговая стимуляция афферентных путей при ПП (-60 мВ) не вызывает никаких ВПСТ, свидетельствуя об отсутствии постсинаптической проводимости;
- 2) стимуляция такой же интенсивности при деполяризации клетки (+30 мВ) вызывает относительно медленные ВПСТ;
- 3) эти ВПСТ исчезают при использовании селективного антагониста NMDA рецепторов APV, свидетельствуя о том, что эти токи проводятся исключительно через каналы NMDA рецепторов;
- 4) при повторной поляризации до уровня ПП клетка не генерирует никаких ВПСТ (так же как и на фрагменте 1).

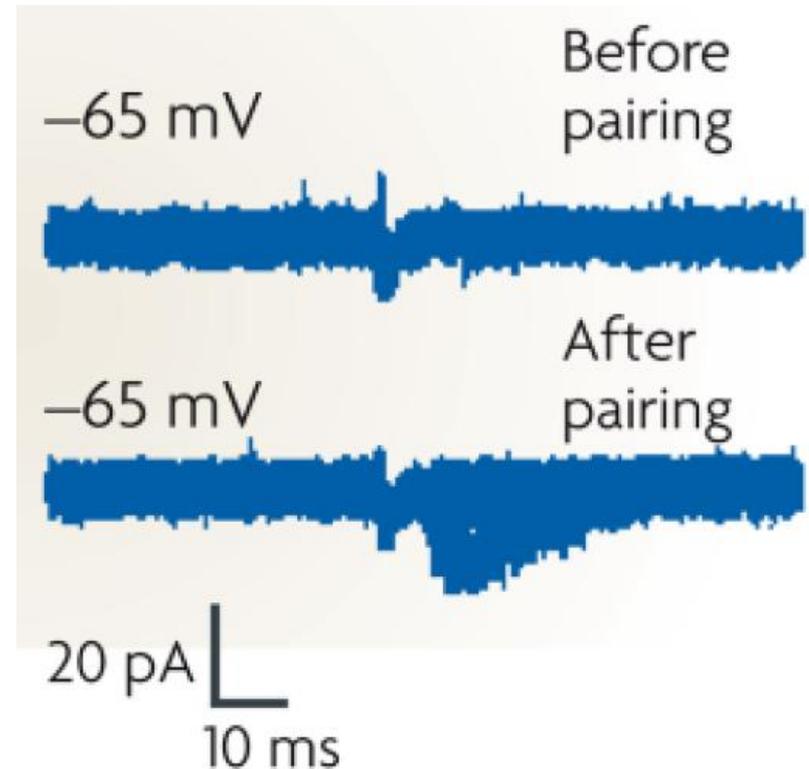
Таким образом, постсинаптические мембраны «молчащих» синапсов включают преимущественно NMDA рецепторы. Каждый фрагмент содержит несколько синхронизированных записей ВПСТ. Биполярные потенциалы соответствуют артефакту от стимуляции.

Молчащие синапсы

Пресинаптическая (афферентная) стимуляция (60 ПД с частотой 1 Гц) при ПП (-65 мВ) не вызывает ВПСТ.

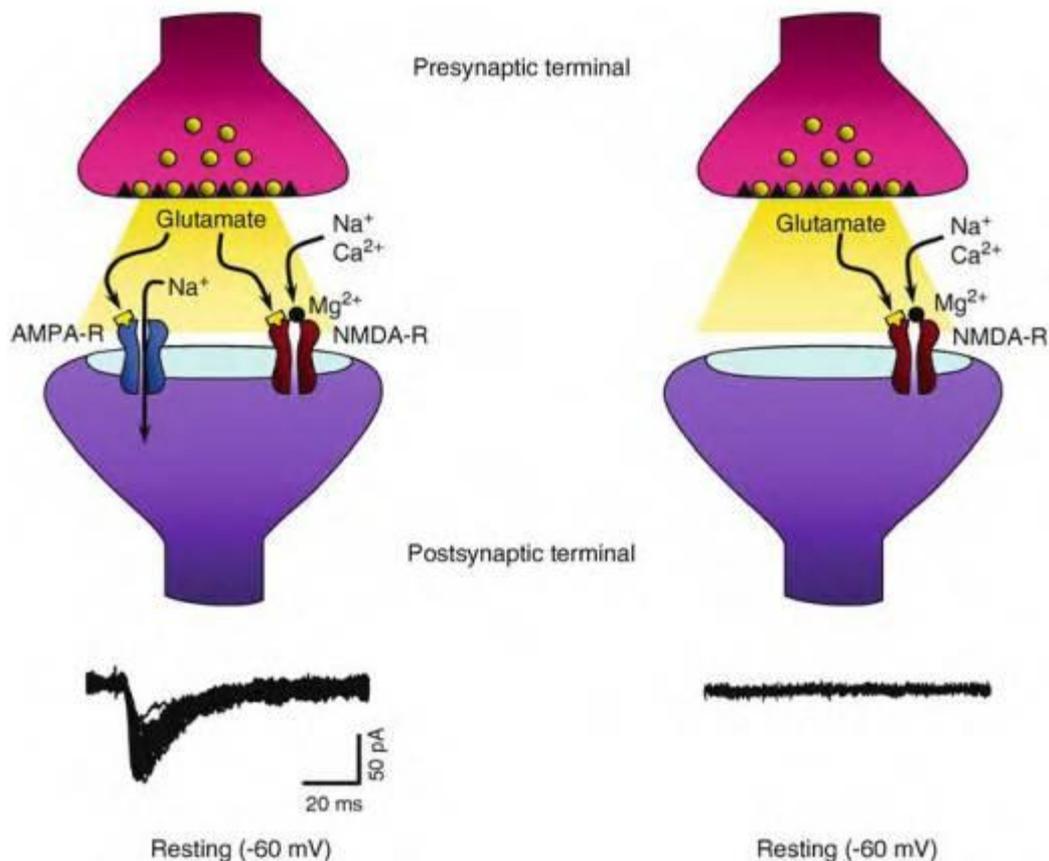
После афферентной стимуляции (60 ПД с частотой 1 Гц) на фоне **деполяризации** постсинаптической клетки на уровне 0 мВ (т.н. протокол парной стимуляции, вызывающий своеобразную генерализованную ДВП) при ПП (-65 мВ) в ответ на афферентную стимуляцию генерируются ВПСТ.

Это свидетельствует об активации только AMPA рецепторов, которые появились в постсинаптической мембране «молчащих» синапсов в результате их экзоцитоза из цитоплазматического пула эндосом с «новыми» рецепторами.



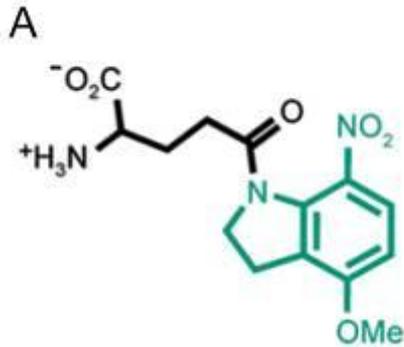
Молчащие синапсы

Функциональный глутаматэргический синапс (слева). В результате индукции ДВП происходит встраивание в мембрану новых AMPA рецепторов, что приводит к возникновению постсинаптического ответа в глутаматэргическом синапсе (запись снизу). Глутамат связывается с AMPA и NMDA рецепторами, но при ПП ответы возникают только за счет проводимости через AMPA рецепторы, поскольку в этих условиях NMDA рецепторы заблокированы внеклеточными ионами Mg^{2+} .



«Молчащий синапс» (справа). При ПП активация NMDA рецепторов не вызывает генерацию постсинаптических ответов (запись снизу).

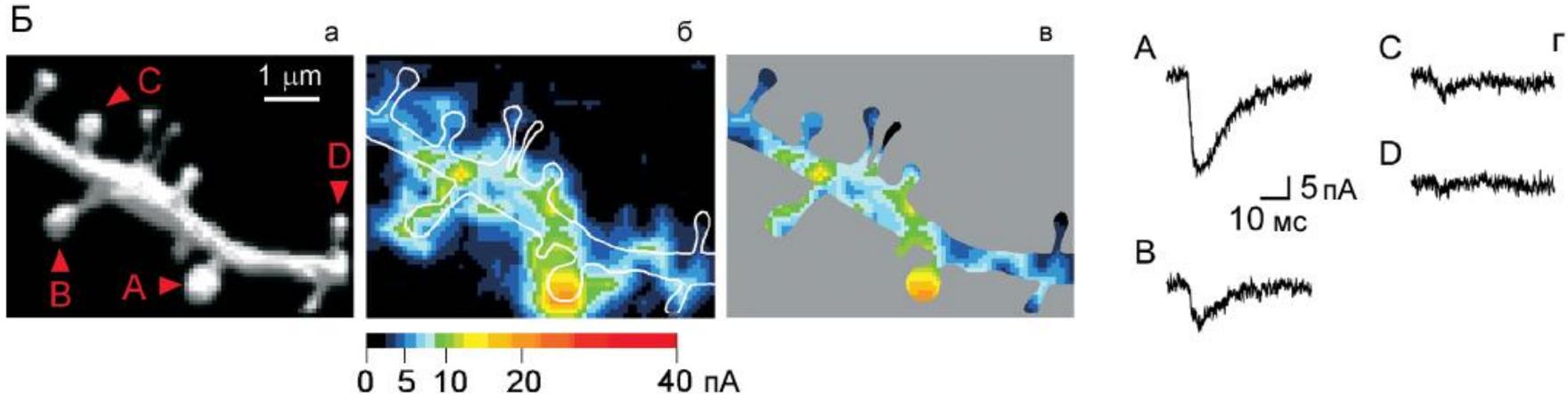
Геометрия шипиков



Геометрия шипиков и выраженность функциональных AMPA рецепторов в мембранах дендритных шипиков нейронов в переживающих срезах поля CA1 гиппокампа взрослых крыс.

Переживающие срезы помещали в среду, содержащую нефункциональный MNI-глутамат (А, глутамат, связанный с 4-метокси-7-нитроиндолиновой группой, англ., *4-Methoxy derivative of 7-NitroIndolino-glutamate*) и некоторые блокаторы, устраняющие лишние проводимости. Глутамат, соединенный с 4-метокси-7-нитроиндолиновым радикалом (в химической формуле выделен цветом), является нефункциональным и не связывается с глутаматными рецепторами.

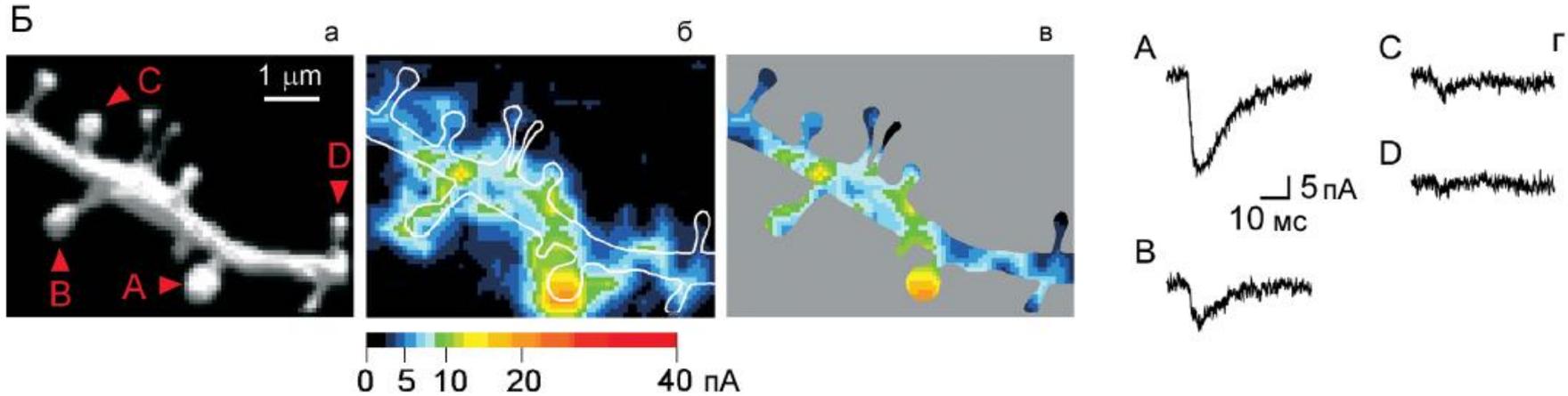
Геометрия шипиков



Геометрия шипиков и выраженность функциональных AMPA рецепторов в мембранах дендритных шипиков нейронов в переживающих срезах поля CA1 гиппокампа взрослых крыс.

Активность клеток регистрировали методом локальной фиксации целой клетки при ПП -65 мВ. Локальная стимуляция глутаматных рецепторов производилась с использованием методики двухфотонного фотолизиса MNI-глутамата. При освещении MNI-глутамата длинноволновым лазером (импульсами длительностью $7-10 \times 10^{-14}$ с) под действием двух фотонов ковалентная связь глутамата с 4-метокси-7-нитроиндолином разрывалась, и свободный глутамат мог связываться с рецепторами, вызывая ионную проводимость. Освещая лазером локальные участки дендритов и регистрируя ВПСТ, протекающие через активированные глутаматные рецепторы, производили картирование амплитуды ВПСТ по поверхности дендрита. С использованием другого сканирующего лазера получали флуоресцентное изображение фрагмента дендрита. Оба лазера проецировали в локальную область исследуемого среза гиппокампа.

Геометрия шипиков



а. Трехмерная реконструкция фрагмента дендрита с шипиками, полученная методом флуоресцентной сканирующей лазерной микроскопии.

б. Распределение чувствительности участков дендрита к глутамату. Чувствительность определяли по амплитуде ВПСТ (обозначена цветовой шкалой) в ответ на локальную стимуляцию дендрита методом двухфотонного фотолизиса MNI-глутамата. Белыми линиями обведены очертания дендритных структур.

в. Чувствительность к глутамату в контуре дендрита.

г. Записи ВПСТ в ответ на стимуляцию отдельных дендритов (ВПСТ и шипики (см. а) обозначены латинскими буквами). Относительно высокие по амплитуде ВПСТ регистрировали при стимуляции грибовидных шипиков (А, В), содержащих AMPA рецепторы. Тонкие шипики содержат главным образом «молчащие» синапсы с NMDA рецепторами, и при их стимуляции ВПСТ практически не регистрируются (С, D).

Геометрия шипиков

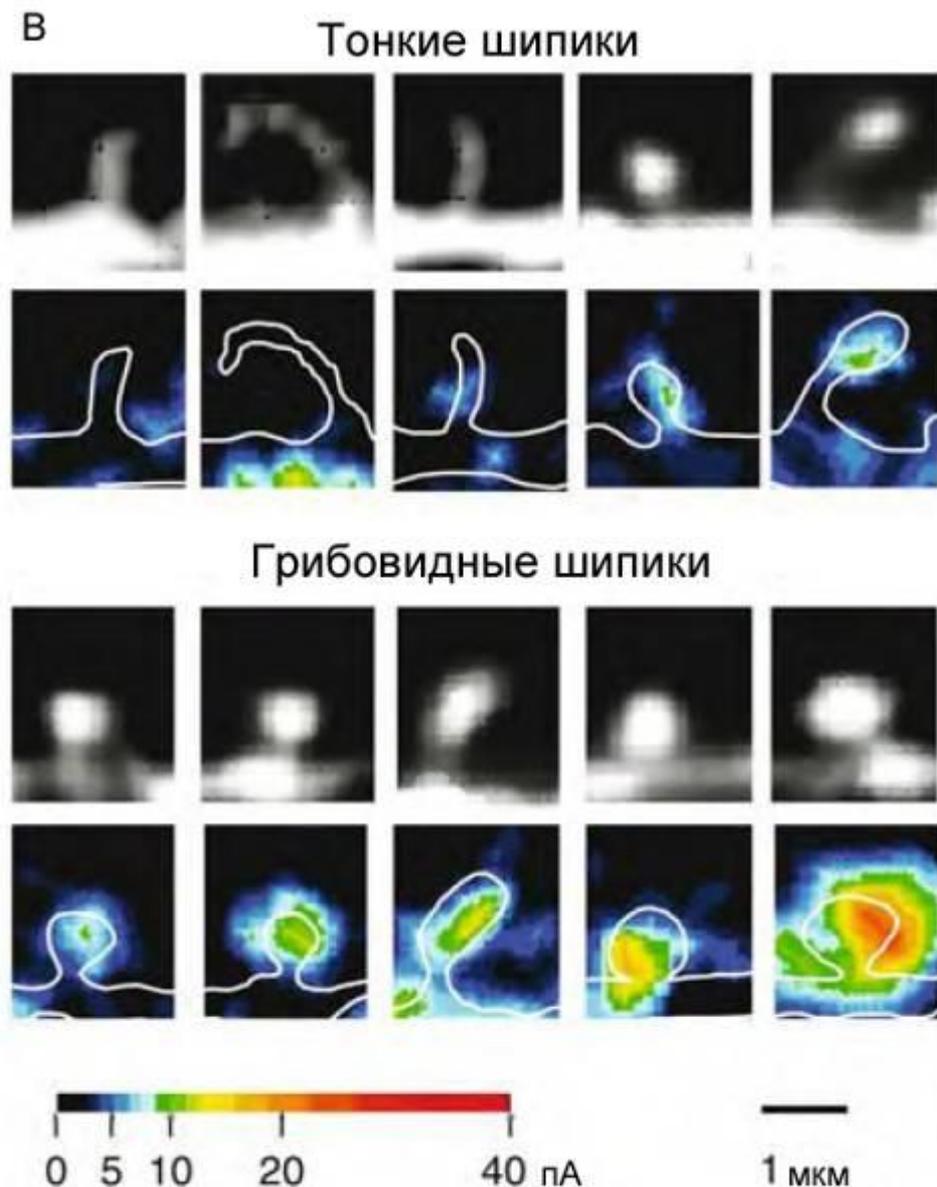
Верхние фрагменты - флуоресцентные изображения шипиков, полученные с использованием лазерного сканирующего микроскопа.

Нижние фрагменты – картирование глутамат-чувствительности мембраны шипика.

Чувствительность к глутамату представлена амплитудой ВПСТ, текущих через активированные глутаматные рецепторы (амплитуда обозначена цветовой шкалой).

Белыми линиями обведены очертания дендритных структур. Тонкие шипики формируют «молчащие» синапсы и содержат в своих мембранах преимущественно NMDA рецепторы, которые при активации глутаматом не проводят ника-ких токов (фрагменты 1-3) или токи незначительны (фрагменты 4,5).

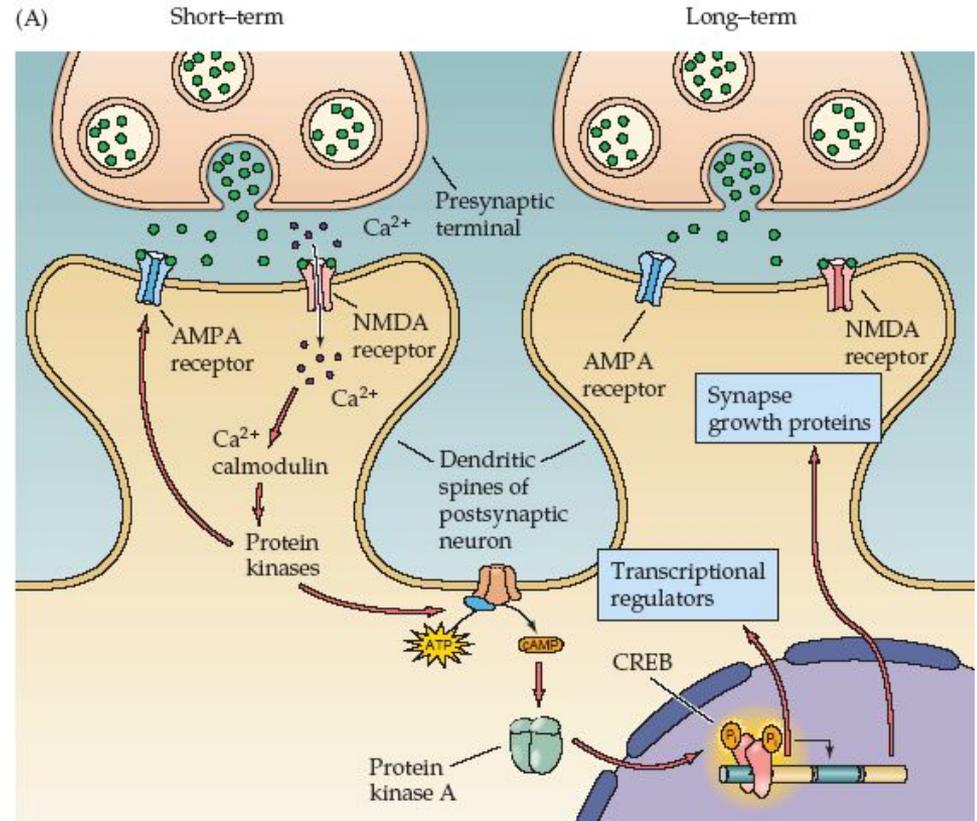
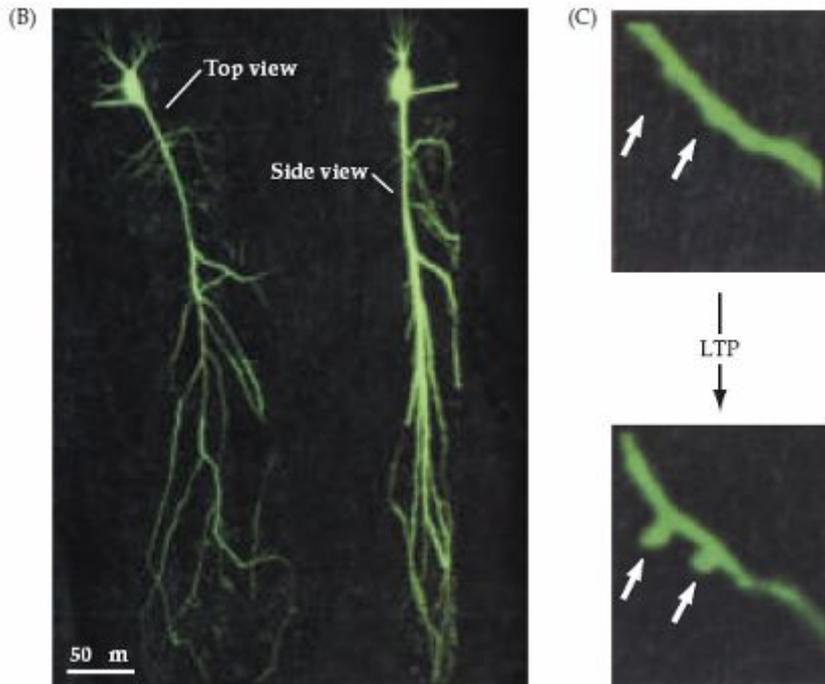
Грибовидные шипики содержат AMPA рецепторы, которые при активации глутаматом проводят значительные входящие токи.



Постсинаптическая пластичность

Молекулярные механизмы ДВП. *Рост новых синапсов*

При ДВП активируются **факторы транскрипции**, что приводит к синтезу ряда белков, которые обеспечивают рост новых шипиков (на С белые стрелки, выделены флуоресцентными красителями).



Постсинаптическая пластичность

Молекулярные механизмы ДВП. *Роль Ca^{2+}*

Высокая деполяризация после тетанизации в постсинаптических нейронах приводит к увеличению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Ca^{2+} в комплексе с кальмодулином активирует **CaMKII**, которая автофосфорилируется и сохраняет активность в течение долгого времени, даже после восстановления концентрации Ca^{2+} до начального уровня.

CaMKII оказывает эффекты на синаптическую передачу:

- 1) фосфорилирует **AMPA-рецепторы** в мембране, увеличивая их чувствительность и проводимость для ионов, способствуя таким образом усилению ответа рецептора;
- 2) облегчает **мобилизацию (рециклирование) пула резервных AMPA-рецепторов** из цитоплазмы в плазматическую мембрану, что приводит к увеличению доступных для активации глутаматом рецепторов.

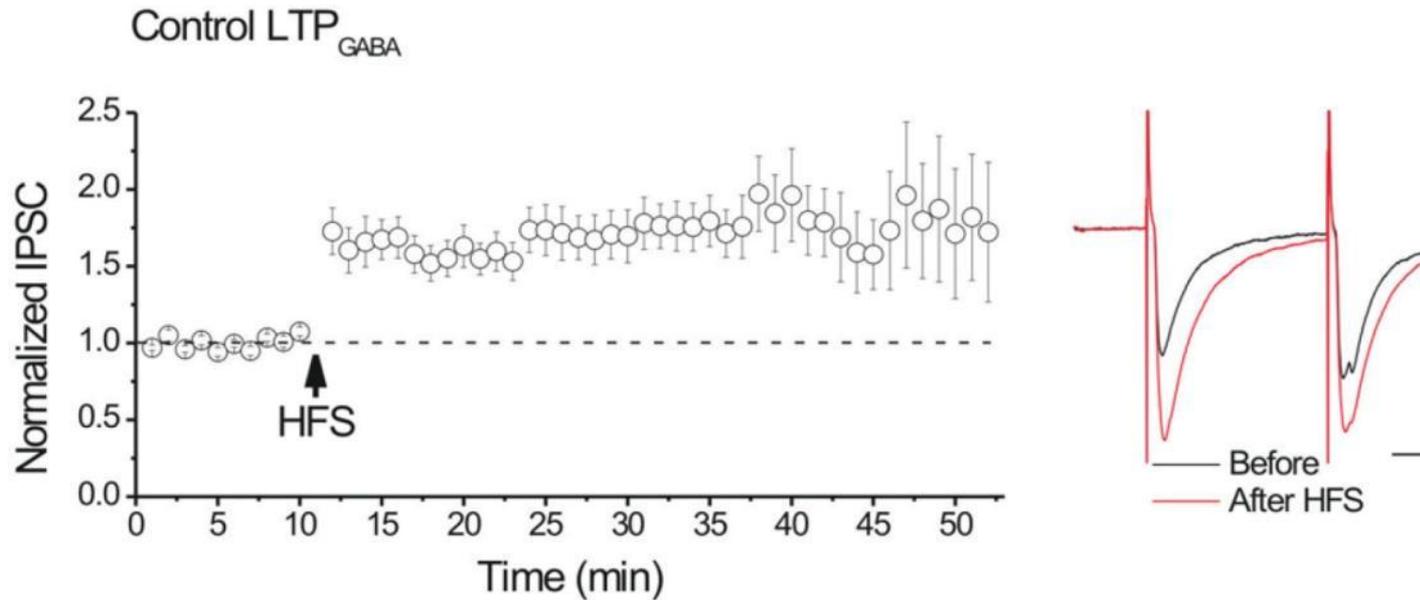
Постсинаптическая пластичность

Молекулярные механизмы ДВП. *Роль Ca^{2+}*

Относительно **кратковременные** изменения синаптической пластичности (до 3 ч) происходят за счет активации **Ca^{2+} -зависимых киназ** и **протеаз**, которые обеспечивают фосфорилирование мембранных канальных белков и белков цитоскелета, ответственных за рециклизацию AMPA-рецепторов из цитоплазматического пула.

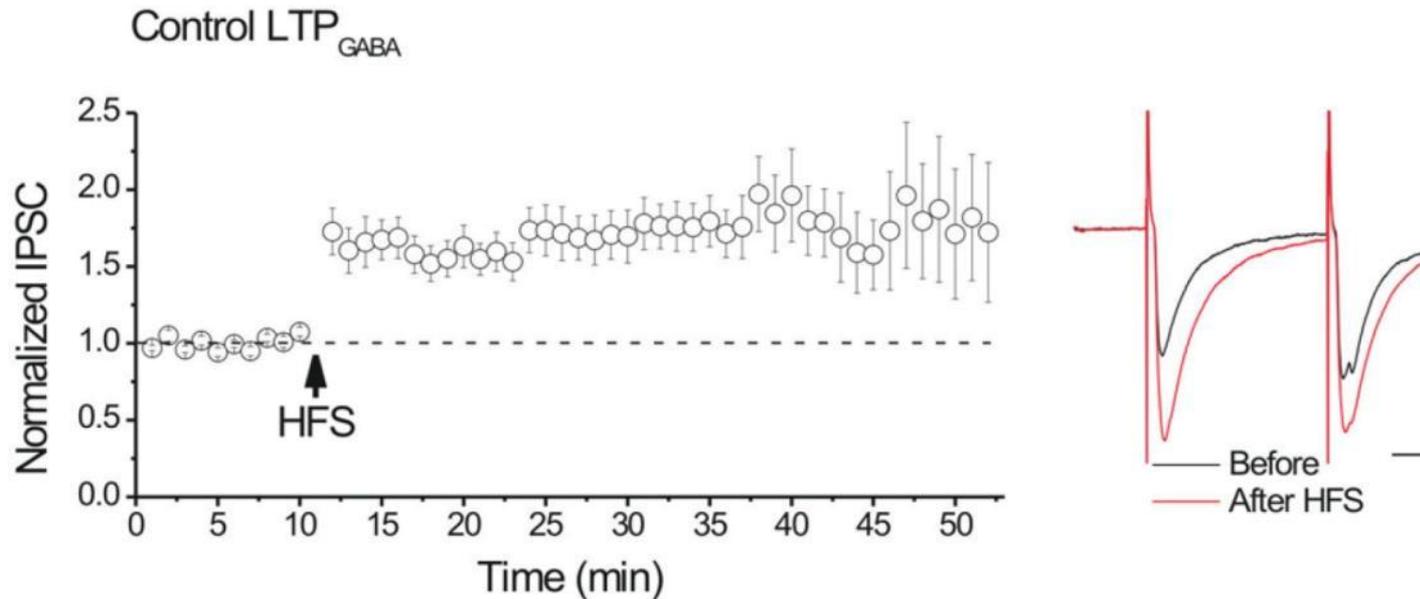
Длительные эффекты (более 3 ч) происходят за счет активации белкового синтеза. Ca^{2+} активирует Ca^{2+} -зависимую аденилатциклазу, затем активированная цАМФ протеин киназа А фосфорилирует регуляторный элемент (CREB), который, проникая в клеточное ядро, запускает синтез **новых глутаматных рецепторов**.

Потенциация в тормозных синапсах



Потенциация ТПСТ в дофаминергических нейронах вентральной области покрышки в переживающих продольных срезах среднего мозга крыс. ТПСТ в ответ на электрическую стимуляцию тормозных афферентов (на расстоянии 200-500 мкм рострально от места регистрации) регистрировали методом локальной фиксации целой клетки (англ., *whole-cell mode patch clamp*) при ПП -70 мВ.

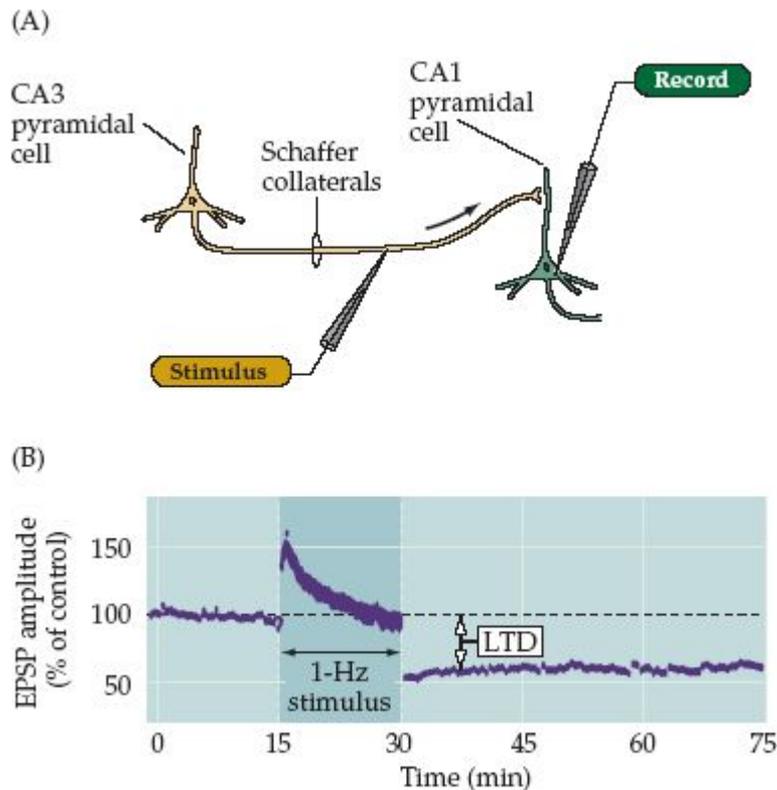
Потенциация в тормозных синапсах



Запускается в результате активации соседних глутаматергических синапсов (с NMDA и AMPA рецепторами), но при этом потенцируются ГАМК-эргические синапсы. Было показано, что такая ДВП_{ГАМК} не требует активации самих тормозных синапсов, т.к. она запускается в результате активации NMDA рецепторов в присутствии антагонистов ГАМК. Индукция ДВП_{ГАМК} происходит в результате повышения внутриклеточного Ca^{2+} благодаря активации NMDA рецепторов. Избыток Ca^{2+} вызывает активацию NO-синтазы, и синтезированный NO ретроградно активирует пресинаптический цГМФ каскад сигнализации. Блокада NMDA рецепторов (антагонистом APV) и связывание внутриклеточного Ca^{2+} (хелатом BAPTA) устраняют ДВП_{ГАМК}. Активация цГМФ-зависимой ПКГ II приводит к увеличению высвобождения ГАМК, однако механизм действия ПКГ на процесс экзоцитоза остается неизвестным.

Постсинаптическая депрессия

Долговременная постсинаптическая **депрессия** (ДВД) была открыта в синапсах коллатералей Шафера на нейронах поля CA1 гиппокампа в конце 1970-х г.г. Депрессия достигалась низкочастотной продолжительной стимуляцией входов – частота 1 Гц в течение 10-15 мин. ДВД устраняла эффект предшествующей ДВП и, наоборот.



Постсинаптическая депрессия

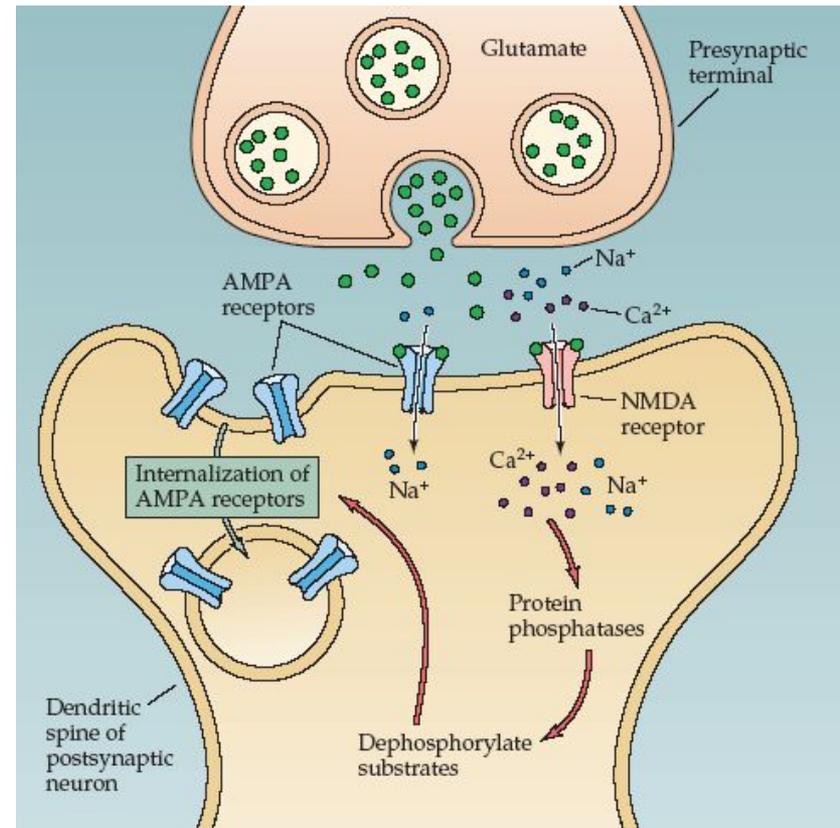
Механизм долговременной депрессии в гиппокампе с участием NMDA-рецепторов

Незначительное повышение концентрации Ca^{2+} активирует **протеин фосфатазы**, которые обеспечивают **интернализацию AMPA-рецепторов**, уменьшая чувствительность к глутамату.

Повышение концентрации Ca^{2+} происходит в результате активации **NMDA-рецепторов**.

Ингибирование фосфатаз устраняет ДВД и не влияет на ДВП.

Предполагается, что фосфатазы обратным образом влияют на внутриклеточные каскады, которые лежат в основе ДВП.



Постсинаптическая депрессия

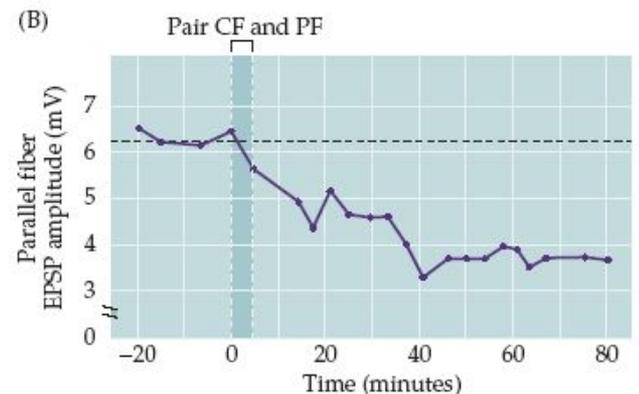
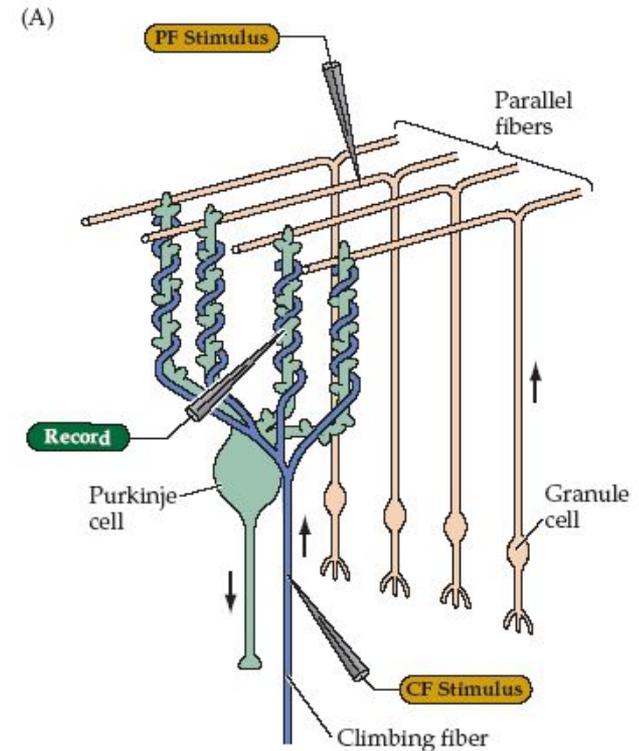
Долговременная депрессия в мозжечке

впервые описана в начале 1980-х г.г. в работах *M. Ito*

В клетках Пуркинье ДВД заключается в уменьшении амплитуды ВПСР в ответ на стимуляцию параллельных волокон (PF) от гранулярных клеток.

ДВД возникает в результате парной стимуляции параллельных волокон и лазающих волокон (CF) – модулирующих входов от клеток нижней оливы.

Лазающие волокна модулируют эффективность синапсов от параллельных волокон (от гранулярных клеток) на клетках Пуркинье. В свою очередь гранулярные клетки получают возбуждающие входы от мшистых волокон.



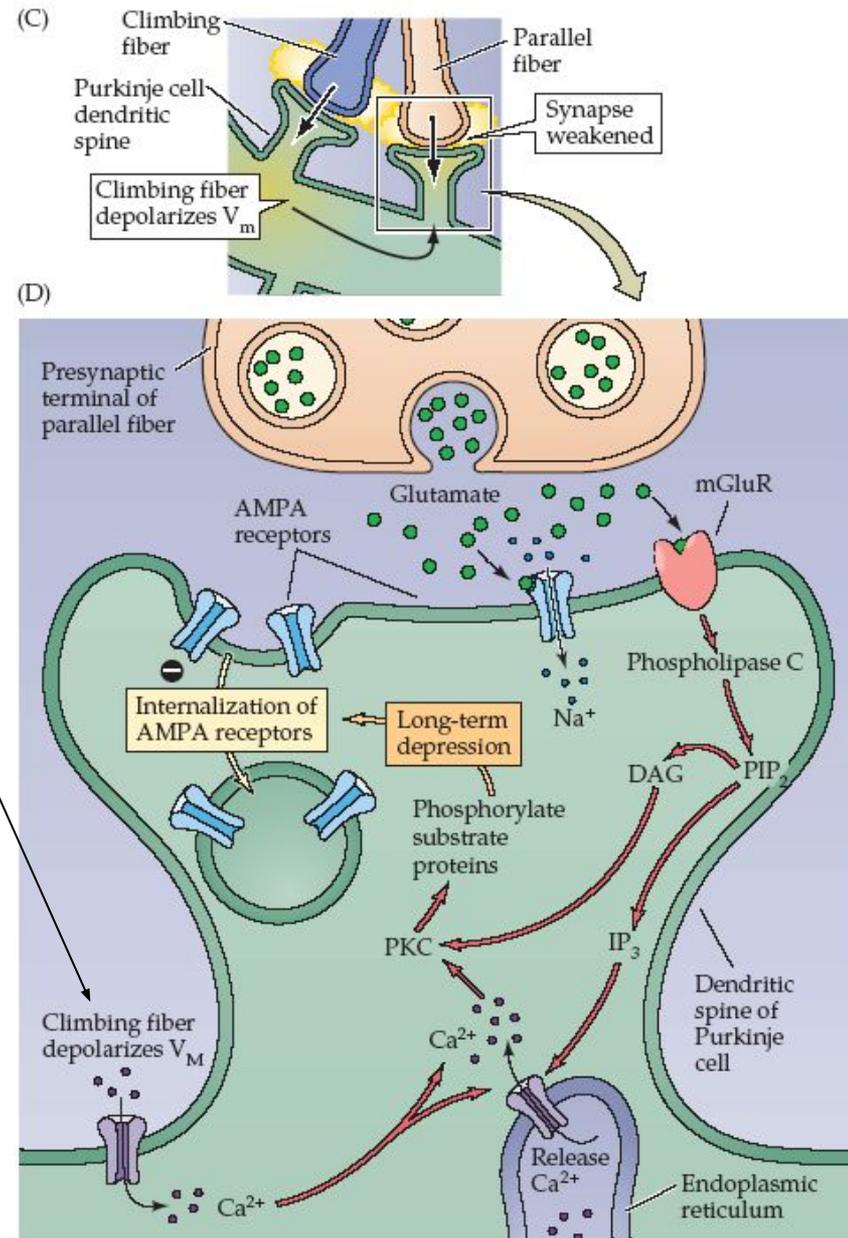
Постсинаптическая депрессия

Механизм долговременной депрессии в мозжечке с участием mGluR1

Лазящие волокна образуют на клетке Пуркинье большое число глутаматэргических синапсов. Их стимуляция приводит к исключительно высокой активации и, как следствие, высокой деполяризации клетки.

Последующая активация потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов приводит к значительному повышению концентрации внутриклеточного Ca^{2+} .

С точки зрения синаптических пластических эффектов афференты лазящих волокон представляют собой «**сильные**» синаптические входы.



Постсинаптическая депрессия

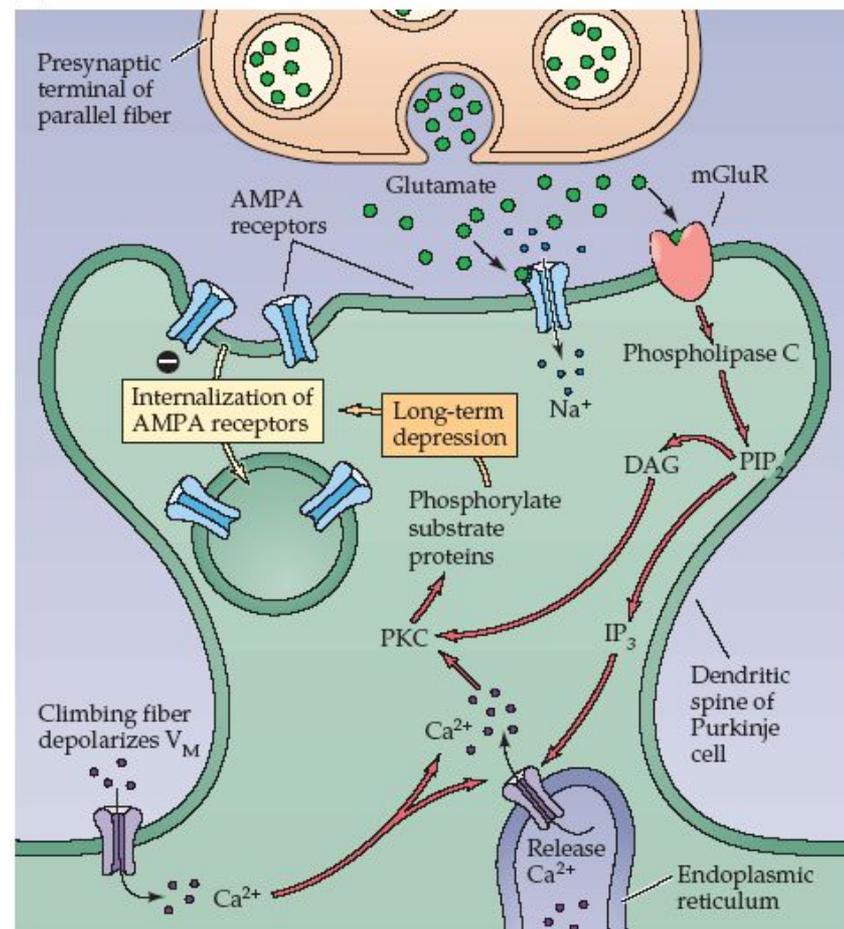
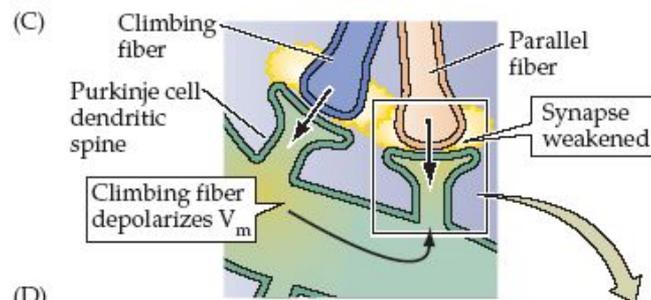
Механизм долговременной депрессии в мозжечке с участием mGluR1

Параллельные волокна формируют на клетке Пуркинью только один или два глутамат-эргических синапса, которые управляют AMPA-рецепторами и mGluR1.

AMPA-рецепторы деполяризуют клетку, в результате активируются потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы.

mGluR1 активируют фосфолипазу C. В результате каскада липидов Ca^{2+} высвобождается из внутриклеточных депо.

По эффективности синапс от параллельных волокон является «слабым» входом на клетках Пуркинью.



Постсинаптическая депрессия

Механизм долговременной депрессии в мозжечке с участием mGluR1

При совместной стимуляции «сильных» (лазающие волокна) и «слабых» (параллельные волокна) входов Ca^{2+} и ДАГ активируют ПКС, которая фосфорилирует постсинаптические AMPA-рецепторы и запускает их клатрин-зависимую интернализацию (эндоцитоз).

Это приводит к ослаблению синаптического входа от параллельных волокон, представляющему собой ДВД.

