

КИББ ФИЦ КазНЦ РАН

Закирьянова Гузалия Фаритовна

Специальность: 03.03.01

Физиология

Перевод текста по специальности

15000 печатных знаков

QUANTAL FLUCTUATIONS IN CENTRAL MAMMALIAN SYNAPSES:  
FUNCTIONAL ROLE OF VESICULAR DOCKING SITES

Pulido C, Marty A. (2017) *Physiol Rev.*, pp. 1403-1430

Специалист, проверивший перевод  
ст.преп. Ахметова Айслу Гарифовна

" 8 " май 2018 г.

 (Ахметова А.Г.)

Казань, 2018

## В. Подсчет стыковочных сайтов в простых гамкергических синапсах.

Последние года разработаны новые методы, чтобы отдельно исследовать простые синапсы. Один из подходов включает идентификацию кандидатов в простых синапсах между синаптически связанными нейронами с помощью пре- и постсинаптических нейритов. Затем локальную пресинаптическую стимуляцию получают путем удаления кальция лазерным освещением пятна. Кажется, это число имеет верхний предел при любом заданном простом синапсе, который интерпретируется как отражающий количество стыковочных сайтов. Таким образом, в простых синапсах MLI-MLI, оцениваемое количество стыковочных сайтов варьирует между простыми синапсами с диапазоном 1-6.

Лазерная стимуляция может быть отрегулирована таким образом, что каждый опыт на вход кальция высвобождает все стыкованные везикулы. Повторяя такие испытания, можно получить ряд значений для числа закрепленных везикул в данном простом синапсе. Эти измерения показали, что количество пристыкованных везикул варьирует между опытами, что указывает на то, что заполнение места стыковки составляет 1 в покое [со значением, оцененным в 0,7; другое значение, полученное с помощью немного другого метода, было 0,45]. Этот вывод имеет важные последствия касательно механизмов, лежащих в основе краткосрочной синаптической пластичности, как обсуждается ниже.

## С. Подсчет стыковочных сайтов в простых глутаматергических синапсах.

Во многих синапсах глутаматергические PSCs очень быстрые, показывающие постоянное время затухания 1 мс или меньше. Для таких синапсов синаптический джиттер происходит в той же временной шкале, что и спад PSC, таким образом, предоставляя временное разделение между последовательными PSC. В срезах мозжечка можно воспользоваться регулярным расположением параллельных волокон для стимуляции синапсов отдельных параллельных MLI-волокон с использованием минимальной стимуляции. Выполняя деконволюцию пачек PSC с использованием среднего квантового ответа в качестве модели, можно непосредственно подсчитать квантовые компоненты в отдельных простых синапсах (синяя линия на рис. 12В, ссылка 75)

Прямой везикулярный подсчет предлагает средство для изучения статистики везикулярного высвобождения, которая мало затронута синаптическим джиттером или высоким уровнем заполнения рецепторов. В простых синапсах между пресинаптическими параллельными волокнами и постсинаптическими MLI этот подход проявляет биномиальную статистику, а не статистику распространения Пуассона. Максимальное количество высвобожденных везикул указывает на наличие нескольких стыковочных сайтов, число которых варьирует среди синапсов от 2 до 10. В показанном примере это число равно 3. Заметим, что в матрице, представляющий



количество высвобожденных везикул в зависимости от номера стимула и размаха числа, значение 3 было получено шесть раз, тогда как значение 4 никогда не наблюдалось. Эти эксперименты показывают, что в простых глутаматергических синапсах, как и при простых ГАМКергических синапсах, несколько независимых стыковочных сайтов имеют общий набор постсинаптических рецепторов.

#### Д. Наполненность стыковочных сайтов и синаптическая депрессия

Давно было признано, что во время пачки высокочастотной стимуляции, скорость выброса синаптических везикул превышает максимальную скорость, которую можно достичь для поставки новых везикул из резервных пулов. Это приводит к падению количества везикул, доступных для экзоцитоза, и является основной причиной синаптической депрессии. В парадигме RRP это рассматривается как уменьшение размера RRP. В парадигме стыковочных сайтов одно и то же явление описывается как падение средней вероятности заполнения места стыковки. Для коротких интервалов между стимулами, заполнением RRP (стыковочный сайт) можно пренебречь, а размер RRP (заполнение места стыковки) падает после одной стимуляции от его начального значения  $NRRP$  до нового значения  $NRRP(1-PV)$  [от исходного значения до нового значение  $(1-pex)$ ]. Если вероятность высвобождения остается постоянной, отношение парного импульса равно  $(1-PV)$  [соответственно  $(1-pex)$ ]. Это может принимать любое значение от 0 до 1 в зависимости от  $PV$  (соответственно  $pex$ ). Напротив, в одной парадигме один сайт-одна везикула выброс ограничен 1 везикулой на синапс, тогда как к  $ND$  состыкованы, так что  $PPR \geq 1-1/ND$ . Таким образом, если  $ND=3$ , то  $PPR \geq 0.66$  и если  $ND \geq 2$ , то  $PPR=0.5$ . Поскольку экспериментально измеренные значения  $PPR$  не показали, что они соблюдают это ограничение (например, 30), синаптическая депрессия более легко объясняется парадигмами стыковочного сайта или RRP, чем парадигмой один сайт-одна везикула.

#### Е. Наполненность стыковочных сайтов и синаптическое облегчение

Если наполненность стыковочных сайтов играет роль в синаптической депрессии, может ли это также быть важным для синаптического облегчения? Принято считать, что задержка кальция после каждого ПД, называемая остаточным кальцием, играет ключевую роль в облегчении, и предложено несколько механизмов действия остаточного кальция (обзор в 151). Одним из предлагаемых механизмов облегчения синапсов раков является увеличение наполненность стыковочных сайтов. Это выступает возможной гипотезой в центральных синапсах млекопитающих, а также в недавних данных, свидетельствующих о том, что в этих синапсах значительно меньше 1 в состоянии покоя. Если  $\delta < 1$ , существует вероятность того, что кальций-зависимый рекруитмент может увеличить этот параметр во время пачки. В соответствии с этим механизмом в простых



глутаматергических синапсах было обнаружено, что агенты, которые нарушают переход с места замещения на стыковочный сайт, например, латрункулин, отменяют облегчение. В совокупности эти результаты повышают вероятность того, что изменения в наполненности стыковочных сайтов могут сыграть важную роль в определении степени облегчения центральных синапсов млекопитающего.

#### Ф. Стыковочные сайты и сайты замещения

Метод подсчета везикул в простых глутаматергических синапсах открывает новые возможности для изучения статистики везикулярного высвобождения. В простых синапсах между параллельными волокнами и MLI было показано, что кумулятивное расхождение высвобождения во время пачки значительно ниже. Моделирование показывает, что этот результат несовместим с прямой поставкой стыковочных сайтов из большого пула функционально эквивалентных резервных пузырьков. Скорее, результаты указывают на высокоупорядоченный, последовательный запас везикул на каждый стыковочный сайт. В целом, данные предлагают модель с несколькими (~ 4) стыковочными сайтами для каждого простого синапса. Каждый стыковочный сайт связан с сайтом замещения, а после рекруитмента из резервного пула синаптические везикулы проходят последовательно через место замещения и связанный с ним до его освобождения. Latrunculin B и blebbistatin, два препарата, которые соответственно ингибируют актин и миозин II, препятствовали переходу с места замещения на стыковочный сайт, предполагая, что этот переход включает активный, зависимый от цитоскелета, кальций-зависимый процесс.

#### Г. Связь между количеством стыковочных сайтов и размером RRP в двухэтапной модели выброса

Количество стыковочных сайтов и размер RRP четко взаимосвязаны, но точное соотношение между этими двумя параметрами зависит как от определения, которое принимается за RRP, так и от принятой модели выброса. Если, например, рассматривать простую модель стыковки, где стыковочные везикулы непосредственно пополняются из резервного пула, то размер RRP – это количество закрепленных везикул, и применяется вышеупомянутое соотношение:  $NRRP = \delta ND$ . С другой стороны, в рамках двухступенчатой модели выброса на рисунке 12E необходимо указать, какие синаптические везикулы считаются принадлежащими к RRP. Если рассматривать только пристыкованные везикулы частью RRP, то снова применяется отношение:  $NRRP = \delta ND$ . Если считать, что обе пристыкованные везикулы и замещающие везикулы являются частью RRP (где они будут соответственно представлять FRP и SRP), то отношение становится  $NRRP = (\delta + p)ND$ , где  $p$  представлена как вероятность заполнения замещающих сайтов.



Эта двусмысленность относительно размера RRP в двухэтапной модели ухудшается благодаря очень быстрой скорости перехода синаптических пузырьков между местом замещения и местом стыковки. При параллельных волокнах-ML синапсах эта скорость оценивалась в  $\sim 180^{-1}$  с, что было больше, чем скорости повторного наполнения RRP, ранее оцениваемые в различных препаратах ( $2-80$  с $^{-1}$ ; обзор в ссылке 43). Учитывая эту очень быструю скорость замещения, стандартные методы оценки пула не могут различать два компонента RRP (пристыкованные везикулы против пула замещения).

Н. Функциональные корреляции количества стыковочных сайтов в простых синапсах

Простые синапсы проявляют заметные изменения в их морфологических и функциональных свойствах, а синаптический размер постепенно становится основным определяющим фактором межсинаптической изменчивости. Ряд исследований чашечки Held, на культурах гиппокампа и на срезах гиппокампа показывает, что размер активной зоны со-изменяется в зависимости от количества кальциевых каналов, расположенных в пресинаптической активной зоне, с количеством пристыкованных везикул и с вероятностью высвобождения вырощенных везикул.

Эффекты синаптического размера также были задокументированы в простых синапсах MLI-MLI. Как упоминалось ранее, можно моделировать циклирование стыковочных сайтов между пустыми и занятыми состояниями при пачечной стимуляции пачечной. Если несколько эквивалентных стыковочных сайтов функционируют параллельно, этот тип модели обеспечивает связь между шаблоном недостаточности во время пачки и количеством стыковочных сайтов. В недавнем исследовании в простых синапсах MLI-MLI, неудачи и успехи были определены в ответах на пачки ПД (Рис. 13А, 96). Эти результаты были использованы для определения количества стыковочных сайтов. Рисунок 13В иллюстрирует два простых синапса с соответствующими номерами стыковочных сайтов 1 (слева) и 6 (справа). Оценочное количество стыковочных сайтов с этим методом недостаточности дали результаты, согласующиеся с результатами, полученными ранее, с отказом кальция.

Интересно рассмотреть более подробно случай, когда  $ND=1$ , изображающий элементарный синапс (т. е. простой синапс, имеющий единственный стыковочный сайт, рис.13В, слева). Элементарный синапс не может высвободить более одной везикулы в ответ на потенциал действия и, таким образом, подчиняется ключевому принципу парадигмы один сайт-одна везикула. Прошли ли мы сейчас полный круг, вернувшись к нашей начальной точке? С одной стороны, верно, что предсказания парадигмы одного сайта-одной везикулы и парадигмы стыковочного сайта совпадают в элементарных синапсах. Однако, с другой стороны, элементарные синапсы



проявляются как крайний случай вариабельности синапсов, связанных с размерами. Их ограничение на одну везикулу не происходит от латерального торможения, а из-за того, что у них есть один стыковочный сайт. Как только  $ND$  превышает 1, предсказания парадигмы стыковочных сайтов отличаются от предсказаний одной парадигмы один сайт - одна везикула.

Ранее мы упоминали, что вариации в размерах квантов, как полагают, в основном отражают различия в размерах PSD, которые изменяются на один порядок величины от одного простого синапса к другому. Поскольку поверхность пресинаптической активной зоны и области PSD тесно коррелированы от одного простого синапса к другому (например, ссылка 113), большие размеры квантов связаны с большими пресинаптическими активными зонами. Если, в свою очередь, количество пресинаптических стыковочных сайтов увеличивается с размером активной зоны, что иллюстрируется результатами на рис. 8А, то ожидается положительная корреляция между количеством стыковочных сайтов и размерами квантов. Такая корреляция действительно наблюдается, что указывает на то, что поверхностная плотность стыковочных сайтов в различных активных зонах примерно постоянна. В целом число пред- и постсинаптических функциональных параметров коррелирует с количеством стыковочных сайтов, включая вероятность отказов, степень синаптической депрессии, размер кванта и постоянную времени распада PSC (96; рис. 13). Недавние результаты в кортикальных синапсах, сравнивающие количество стыковочных сайтов, полученных с анализом дисперсии в ткани человека и крысы, также указывают на масштабирование между номером сайта и синаптическим размером. В целом количество стыковочных сайтов является мощным фактором, лежащим в основе межсинаптической изменчивости, а вариации в числах стыковочных сайтов среди простых синапсов организуют серию согласованных различий как в пред-, так и в постсинаптических функциональных параметрах.

#### I. Почему несколько стыковочных сайтов на синапс?

Если заполнение рецептора велико, пик амплитуды тока сравнима для одиночных и множественных везикулярных ответов. Тогда может показаться парадоксальным иметь несколько стыковочных сайтов на синапс, и связанный MVR может появиться как обрезок. Однако сравнение, показанное на рис. 13В, между простым синапсом, имеющим единый стыковочный сайт, и другим, имеющим оценочное число шести стыковочных сайтов, предполагает возможные функциональные преимущества размещения нескольких стыковочных сайтов в одном простом синапсе.

Ограничение синаптической функции заключается в том, что запас везикул из резервных пулов в RRP является медленным процессом, происходящим в масштабе времени в сотни миллисекунд. Если синапс содержит один стыковочный сайт, то RRP ограничивается одним или двумя везикулами,

последнее значение в случае, когда рассматривается вспомогательная везикула, подобная SRP чашечки Held. Когда сталкивается с проблемой всплеска ПД, этот очень ограниченный запас синаптических везикул вскоре исчерпывается, так что синапс единственного стыковочного сайта не может сочетать надежность (низкий уровень отказа) и точность (устойчивый отклик). Как показано на рис. 13В, слева, такие синапсы имеют тенденцию к высокой частоте отказа и выраженной синаптической депрессии. Однако, если, несколько стыковочных сайтов работают параллельно, один стыковочный сайт может заменить неисправного соседа, что позволяет быть более низкой частоте отказов, так и менее тяжелой депрессии (рис. 13В, справа, 9б). Поскольку синаптическая депрессия слабее, синапс может позволить себе подождать до тех пор, пока RRP не будет пополнен из резервного пула. Кроме того, связывание сайта замещения с каждым местом стыковки с быстрым коэффициентом перехода между сайтом замены и местом стыковки примерно удваивает количество везикул, которое может доставить каждый стыковочный сайт в ответ на всплеск ПД, дальнейшее уменьшение синаптической депрессии и улучшение синаптической надежности. Таким образом, размещение нескольких стыковочных сайтов и связывание сайтов замещения с местами стыковки являются дополнительными и эффективными стратегиями для обеспечения непрерывной передачи сигнала в ответ на короткие пачки потенциалов действия.

## VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ: СТЫКОВОЧНЫЕ САЙТЫ – ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ЦЕНТРАЛЬНЫХ СИНАПСОВ

Адаптация квантовой теории синаптической передачи от нервно-мышечного соединения лягушки к центральным синапсам млекопитающего была удивительно долгим процессом, который все еще продолжается. Недавние исследования подтверждают раннее предложение Бернарда Каца о том, что везикулярное высвобождение происходит при конечном числе конкретных структур. Однако наши представления об этих структурах изменились, и в последние годы концентрация внимания постепенно перешла от отдельных синаптических бутонов к отдельным активным зонам и к единым стыковочным сайтам.

*Юлия Бухареева 7.41*