

Физиологические аспекты молекулярной организации синапса

П.Д. Брежестовский

*Средиземноморский институт нейробиологии, Марсель, Франция;
piotr.bregestovski@univmed.fr*

Нейрональная организация мозга человека представляет собой сеть невероятной сложности, включающую 10^{11} нейронов, каждый из которых имеет порядка 10^4 синаптических входов и примерно такое же число выходов на другие нейроны. Таким образом, число синаптических контактов между нейронами достигает 10^{15} [4]. Химические синапсы осуществляют взаимодействие клеток, трансформируя действие химических передатчиков в электрические сигналы. Эти сигналы реализуются в специфические паттерны нейрональной активности и модулируют внутриклеточные события, благодаря которым происходят изменения свойств нейронов и нейронных сетей. Функционирование синапсов, изменения их морфологии, числа и эффективности лежит в основе восприятия, обработки и закрепления информации, в основе поведения. Электрофизиологические, фармакологические, электронно-микроскопические, иммуноцитохимические и другие исследования показали важность синапсов для формирования нейронных сетей и передачи межклеточной информации. На протяжении последних десятилетий представления о принципах формирования синапсов, их молекулярной организации и пластичности значительно расширились и углубились. Оказалось, что фундаментальные механизмы функционирования синапсов, а также молекулярные модули, формирующие эти структуры, являются высококонсервативными среди организмов из разных эволюционных ветвей, имеющих огромные различия в морфологии, физиологии и сложности организации нервных систем.

Уровень сложности и гармоничной многокомпонентной организации синапсов стал проявляться только в последнее десятилетие, с развитием молекулярных методов расшифровки полных геномов, с развитием протеомики – направления, оценивающего полные наборы белков организмов. Оказалось, что пресинаптический протеом мыши (набор белков, обеспечивающих формирование и функцию пресинапса) содержит несколько сот белков, а постсинаптический – еще сложнее: в его состав входит, по-видимому, около 1500 белков [1, 8]. Таким образом, для нормального функционирования синапсов в нервной системе млекопитающих природа создала около 2 000 белков.

В состав постсинаптической мембраны входят различные классы белков и белковых модулей, включая ионные каналы, рецепторы, транспортеры, адгезивные и цитоскелетные белки, киназы и фосфатазы, “арматурные” белки и сигнальные молекулы. Ключевыми из них являются рецепторуправляемые и потенциалзависимые каналы, а также белки, осуществляющие точную ко-локализацию необходимых синаптических компонент в ограниченном пространстве синапса.

Архитектура и состав функциональных модулей синапса поражает точностью и целесообразностью организации. Огромное количество высокоспециализированных компонент располагается в определённых микродоменах и в результате формируется сложный, гармонично работающий молекулярный блок, осуществляющий передачу межклеточных сигналов.

Пресинаптическая область содержит

синаптические везикулы диаметром примерно 40 нм. Они близко ассоциируются с утолщением пресинаптической мембраны: активной зоной в которой происходит экзоцитоз везикул, содержащих нейромедиатор. Пре- и постсинаптические области разделены щелью шириной 20-25 нм.

Точно под активной зоной находится постсинаптическая мембрана, белки экстра-синаптической адгезии и внутриклеточные постсинаптические компоненты, формирующие сложно организованный многокомпонентный белковый микродомен, называемый постсинаптическая плотность (ПСП, PSD - postsynaptic density) [13, 29]. На электронно-микроскопических фотографиях эта структура представляет собой диск шириной 200 – 800 нм (в среднем, 300-400 нм) и толщиной 30-50 нм (Sheng and Hoogenraad, 2007). ПСП выполняет широкий спектр специализированных функций, связанных с приемом, обработкой и регуляцией постсинаптических сигналов, а также модификацией размеров и морфологии шпиков.

Архитектура ПСП представляет собой как бы многоэтажное здание, в котором на

верхнем этаже находятся постсинаптические рецепторы, ионные каналы, молекулы синаптической адгезии и другие трансмембранные белки [24]. Следующие этажи формируют «арматурные», сигнальные, цитоскелетные и другие белки (рис. 1). По-видимому, такая организация и количественное соотношение белковых компонент потенциально обеспечивает структурную базу для физиологической регуляции эффективности синаптической передачи через модификацию числа рецепторов глутамата и функциональных микромодулей, обеспечивающих кратковременную и длительную пластичность синапсов.

Одним из фундаментальных свойств мозга является синаптическая пластичность – положительные или отрицательные изменения эффективности связи между нейронами в ответ на нейрональную активность. Это свойство является важным для формирования и функционирования нейронных сетей, процессов запоминания и обучения. В синапсах нейронов гиппокампа и других областях мозга обнаружено несколько форм синаптической пластичности. Основные из них: длительная потен-

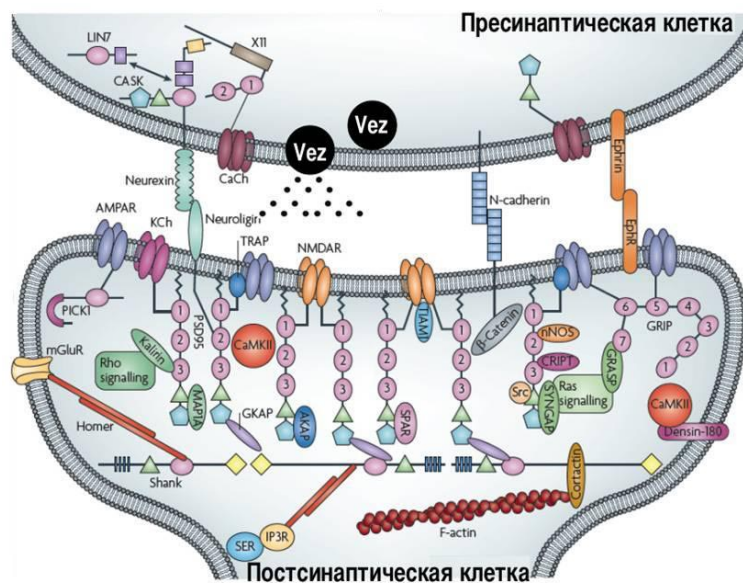


Рис. 1. Схема «многоэтажной» организации синапса и белок-белковых взаимодействий в постсинаптической плотности.

Показаны только основные классы белков. Положения пре- и постсинаптической мембраны фиксировано с помощью трансмембранных белков адгезии (Neurexin, neuroligin, N-cadherin). Ионотропные глутаматные рецепторы (AMPA и NMDAR), а также калиевые каналы (KCh) «заякорены» на PDZ-содержащие «арматурные» белки (PSD-95 и GRIP). PDZ-домены (1,2,3 и т.д.) расположены точно под пресинаптической мембраной, из которой везикулы (Vez) выбрасывают нейромедиатор (глутамат). Вне ПСП, в перисинаптической зоне мембраны встроены метаболитные глутаматные рецепторы (mGluR). Они также «заякорены» на «арматурный» белок

HOMER, который в свою очередь взаимодействует с PDZ-доменом Shank белка, имеющего повторяющиеся анкириновые домены и взаимодействующего с актиновыми филаментами (из Feng & Zhang, 2009)

циация и длительная депрессия [2, 17]. Длительная потенцияция – это процесс усиления синаптической связи. Длительная депрессия (LTD – long-term depression) – это длительное уменьшение синаптической активности. Пластические изменения при длительной потенциации или при длительной депрессии рассматриваются как модели процессов обучения и памяти [3, 18, 25], хотя последние, несомненно, намного более сложные явления.

Исследования последних лет показали, что в основе регуляции эффективности работы возбуждающих синапсов лежат морфологические и биохимические модификации дендритных шипиков. Оказалось, что дендритные шипики представляют собой сложно организованные субклеточные компартменты [5, 23, 26], являющиеся ключевыми блоками, которые обеспечивают локальный прием, обработку и контроль синаптической информации.

Дендритные шипики – это небольшие (0,5-2 мкм в длину) “выросты” из дендритов. Они содержат важные компоненты, обеспечивающие синаптическую пластичность, включая белки постсинаптической плотности, актиновый цитоскелет и разные органеллы. Анализ молекулярных механизмов морфогенеза и модуляции размеров шипиков позволил углубить понимание их роли в функционировании нервной системы, как морфологических структур, обеспечивающих синаптическую пластичность, лежащую в основе памяти и длительного хранения информации.

Кальцийзависимое изменение состояния цитоскелета в дендритах и шипиках является одним из ключевых факторов, регулирующих синаптическую пластичность. Было показано, что фармакологические стимулы, которые имитируют длительную потенциюцию уменьшают скорость латеральной диффузии, а стимулы, вызывающие длительную депрессию приводили к увеличению подвижности

рецепторов в синаптической зоне [27].

Предполагается, что структура шипиков зависит от состояния актина и регулируется благодаря координированной активности актин-связывающих белков. Было обнаружено, что в зависимости от характера стимуляции индивидуальные синапсы могут изменять морфологию и усиливать или уменьшать силу синаптической передачи за периоды времени от секунд до десятков часов [19, 21]. Было показано, что стимуляция, вызывающая длительную потенциюцию, приводит к увеличению объема головки шипиков и это сопровождается повышением формирования актиновых филаментов. Более того, разрушение актиновых филаментов деполимеризующими агентами предотвращает подвижность шипиков [19] и экспрессию длительной потенцииции, хотя не блокирует кратковременную потенциюцию [7, 14, 16]. Таким образом, физиологически пластичность возбуждающих синапсов непосредственно связана с морфогенезом, изменением актинового цитоскелета и функциональным состоянием дендритных шипиков (рис. 2).

Важной формой кратковременной пластичности является быстрая регуляция эффективности синаптической передачи осуществляемая путем ретроградной сигнализации. В возбуждающих и ингибиторных синапсах нервной системы позвоночных один из основных принципов ретроградной синаптической модуляции осуществляется через эндогенную каннабиноидную систему.

Молекулярная архитектура, лежащая в основе этого механизма оказалась высоко консервативной в разных типах синапсов. Торможение синаптической передачи, ретроградно индуцируемое эндоканнабиноидами, было показано для ГАМК- [10, 28], глутамат- и глицинергических [6, 20] синапсов. Таким образом, этот вид синаптической пластичности – широко распространенное явление в нервной системе

позвоночных. Эндоканнабиноиды синтезируются в стимулируемых нейронах “по

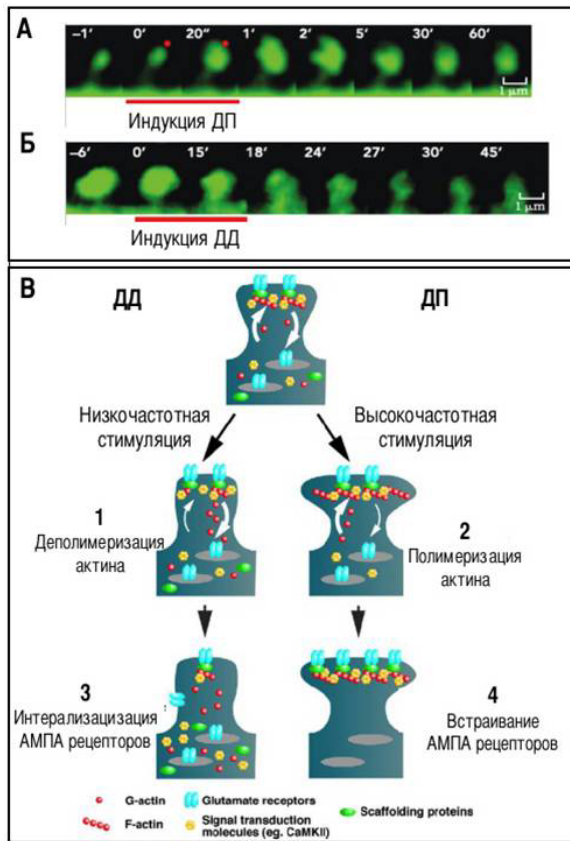


Рис.2. Цитоскелет и структурная пластичность дендритных шипиков.

А, Б: Визуализация GFP-актина в дендритах с помощью 2-фотонной микроскопии. Дендритные шипики увеличиваются в размерах при протоколе длительной потенциации (А) и уменьшаются при протоколе длительной депрессии (Б).

В: Схема основных преобразований при длительной потенциации и депрессии. Кратковременная высокочастотная стимуляция (протокол длительной потенциации), вызывает сдвиг равновесия в сторону F-актина (справа). Увеличение актиновых филаментов приводит к увеличению размеров шипика (2) возрастанию числа мест для взаимодействия с другими белками, встраиванию новых рецепторов в постсинаптическую мембрану и повышению структурной ПСП (4). Наоборот, длительная низкочастотная стимуляция (протокол длительной депрессии) приводит к сдвигу равновесия в сторону G-актина (слева). Происходит деполимеризации актиновых филаментов, уменьшение размеров шипиков (1), уменьшение числа АМПА-рецепторов в постсинаптической мембране (3) и снижению структурной организации компонент ПСП (из Hayashi & Majewska, 2005)

необходимости” (“on demand”) и по принципу отрицательной обратной связи, выполняют защитную функцию от сверхактивации выброса нейромедиатора из пресинаптического окончания и сильного возрастания активности синапса.

Интеграция этих процессов может приводить к длительным изменениям эффективности синапсов лежащих в основе пластичности и памяти.

Таким образом, функциональный синапс содержит огромное количество компонент, обеспечивающих транспорт и накопление нейромедиатора в везикулах, специфическую локализацию белков, обеспечивающих выброс везикул в синаптическую щель, кластеризацию специфических рецепторов в постсинаптической мембране, систему деградации и/или быстрого убирания нейромедиатора из синаптической щели и регуляции молекулярных доменов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bayes A., Grant S.G. Neuroproteomics: understanding the molecular organization and complexity of the brain // *Nature Rev. Neurosci.* – 2009. – **10**. – P.635–646.
2. Bear M.F., Kirkwood A. Neocortical long-term potentiation // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 1993. – **3**. – P.197–202.
3. Bliss T.V., Collingridge G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus // *Nature.* – 1993. – **361**. – P. 31–39.
4. Blitzer R.D., Iyengar R., Landau E.M. Postsynaptic signaling networks: cellular cogwheels underlying long-term plasticity // *Biol. Psychiatry.* – 2005. – **57**(2). – P. 113–119.
5. Bourne J.N., Harris K.M. Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines // *Annu Rev. Neurosci.* – 2008. – **31**. – P. 47–67.
6. Bregestovski P., Mukhtarov M. Synaptic function and modulation of glycine receptor channels in the hypothalamic nucleus // *Neurofiziol / Neurophysiol.* – 2007. – **39**(4/5). – P. 338–349.
7. Chen L.Y., Rex C.S., Casale M.S., Gall C.M., Lynch G. Changes in synaptic morphology accompany actin signaling during LTP // *J. Neurosci.* – 2007. – **27**. – P. 5363–5372.
8. Collins M.O., Husi H., Yu L., Brandon J.M., Anderson C.N., Blackstock W.P., Choudhary J.S., Grant S.G. Molecular characterization and comparison of the components and multiprotein complexes in the postsynaptic proteome // *J. Neurochem.* – 2006. – 97 (Suppl. 1). – P. 16–23.

9. Diana M.A., Levenes C., Mackie K., Marty A. Short-term retrograde inhibition of GABAergic synaptic currents in rat Purkinje cells is mediated by endogenous cannabinoids // *J. Neurosci.* – 2002. – **22**. – P. 200–208.
10. Diana M.A., Bregestovski P. Calcium and endocannabinoids in the modulation of inhibitory synaptic transmission // *Cell Calcium.* – 2005. **37**(5). – P. 497–505.
11. Feng W., Zhang M. Organization and dynamics of PDZ-domain-related supramolecules in the postsynaptic density // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2009. – **10**(2). – P. 87–99.
12. Hayashi Y., Majewska A.K. Dendritic spine geometry: functional implication and regulation // *Neuron.* – 2005. – **46**(4). – P. 529–532.
13. Kennedy M.J., Ehlers M.D. Organelles and trafficking machinery for postsynaptic plasticity // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2006. – **29**. P. 325–362.
14. Kim C.H., Lisman J.E. A role of actin filament in synaptic transmission and long-term potentiation // *J. Neurosci.* – 1999. – **19**. – P.: 4314–4324.
15. Kreitzer A.C., Regehr W.G. Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells // *Neuron.* – 2001. – **29**. – P. 717–727.
16. Krucker T., Siggins G.R., Halpain S. Dynamic actin filaments are required for stable long-term potentiation (LTP) in area CA1 of the hippocampus // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 2000. – **97**. – P. 6856–6861.
17. Linden D.J. Long-term synaptic depression in the mammalian brain // *Neuron.* – 1994. – **12**. – P. 457–472.
18. Malinow R. LTP: desperately seeking resolution // *Science.* – 1994. – **266**. – P.1195–1196.
19. Matus A. Actin-based plasticity in dendritic spines // *Science.* – **290**. – P. 754–758.
20. Mukhtarov M., Ragozzino D., Bregestovski P. Dual Ca²⁺ modulation of glycinergic synaptic currents in rodent hypoglossal motoneurons // *J. Physiol.* – 2005. (Lond). – **569**. – P. 817–831.
21. Okamoto K., Bosch M., Hayashi Y. The roles of CaMKII and F-actin in the structural plasticity of dendritic spines: a potential molecular identity of a synaptic tag? // *Physiology (Bethesda).* – 2009. – **24**. – P.357–366.
22. Okamoto K., Nagai T., Miyawaki A., Hayashi Y. Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity // *Nat. Neurosci.* – 2004. – **7**(10). – P.1104–1112.
23. Popov V.I., Stewart M.G. Complexity of contacts between synaptic boutons and dendritic spines in adult rat hippocampus: three-dimensional reconstructions from serial ultrathin sections in vivo // *Synapse.* – 2009. – **63**(5). – P.369–377.
24. Sheng, M., Hoogenraad C.C. The postsynaptic architecture of excitatory synapses: amore quantitative view // *Annu. Rev. Biochem.* – 2007. – **76**. – P. 823–847.
25. Sjöstrom P.J., Rancz E.A., Roth A., Häusser M. Dendritic excitability and synaptic plasticity // *Physiol. Rev.* – 2008. – **88**(2). – P. 769–840.
26. Sorra K.E., Harris K.M. Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines // *Hippocampus.* – 2000. – **10**(5). – P. 501–511.
27. Tardin C., Cognet L., Bats C., Lounis B., Choquet D. Direct imaging of lateral movements of AMPA receptors inside synapses // *EMBO J.* – 2003. – **22**(18). – P. 4656–4665.
28. Wilson R.I., Nicoll R.A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses // *Nature.* – 2001. – **410**. –P. 588–592.
29. Ziff E.B. Enlightening the postsynaptic density // *Neuron.* – 1997. – **9**. – P. 1163–1174.