

Fyziologie synapsí

Rostislav Tureček

Ústav experimentální medicíny, AVČR
Oddělení neurofyzologie sluchu

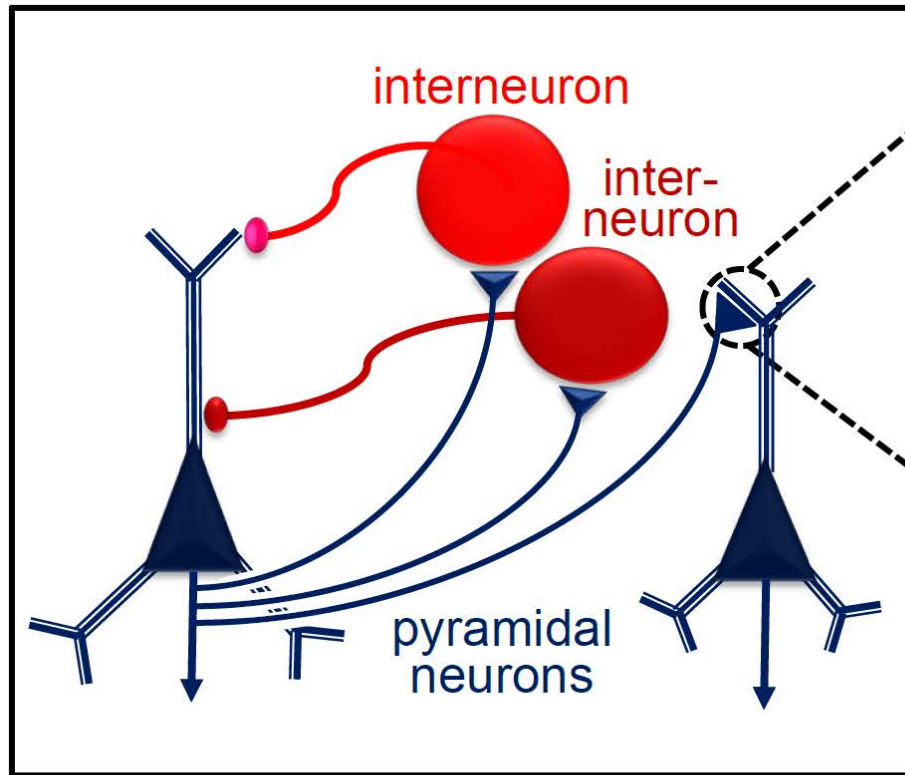
turecek@biomed.cas.cz

Signály v nervovém systému

1) Elektrické

2) Chemické

Thomas C. Südhof – Nobel Prize, 2013



Synapses: the basic computational units of the brain



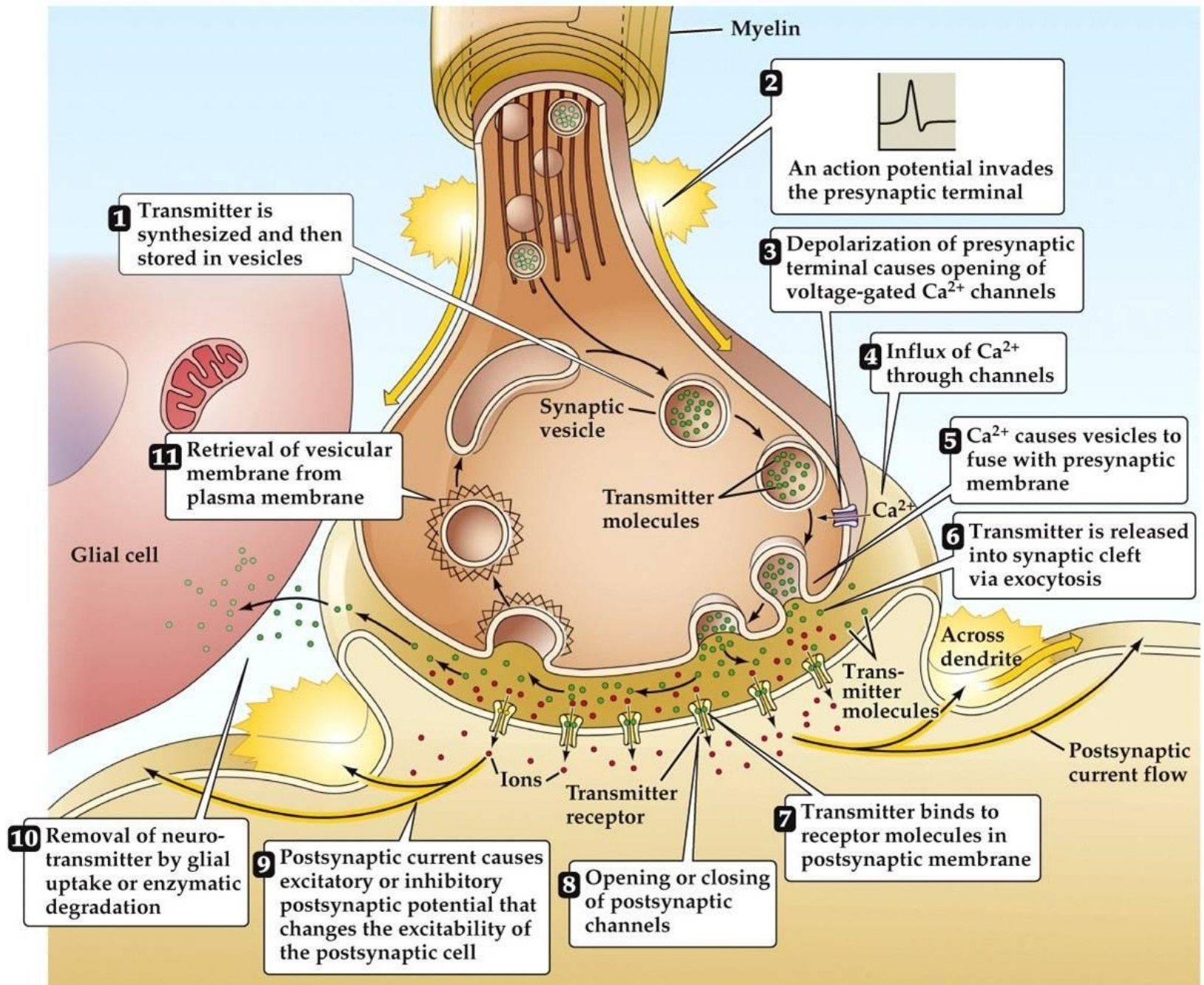
**Although synapses differ in properties,
all synapses operate by the same principle**

Bernard Katz - Nobel Prize, 1970

Principy přenosu na synapsích

- buňky uvolňují látky zvané neuropřenašeče (neboli mediátory), které jsou uloženy v synaptických váčcích v pre-synaptickém zakončení
- uvolnění mediátorů z váčků je spouštěno presynaptickou depolarizací, aktivací napětově-závislých Ca^{2+} -kanálů a zvýšením $[\text{Ca}^{2+}]$ v presynaptickém zakončení
- neuropřenašeče jsou přenášeny od presynaptické buňky k postsynaptické difuzí (okolní prostředí může být málo vodivé a proto nemůže být snadno překonáno elektrickými signály; toto prostředí bývá většinou nazýváno synaptickou štěrbinou)
- neuropřenašeče se na postsynaptické buňce váží k postsynaptickým receptorům, aktivují je a vyvolávají tak postsynaptickou odpověď

Synaptický přenos

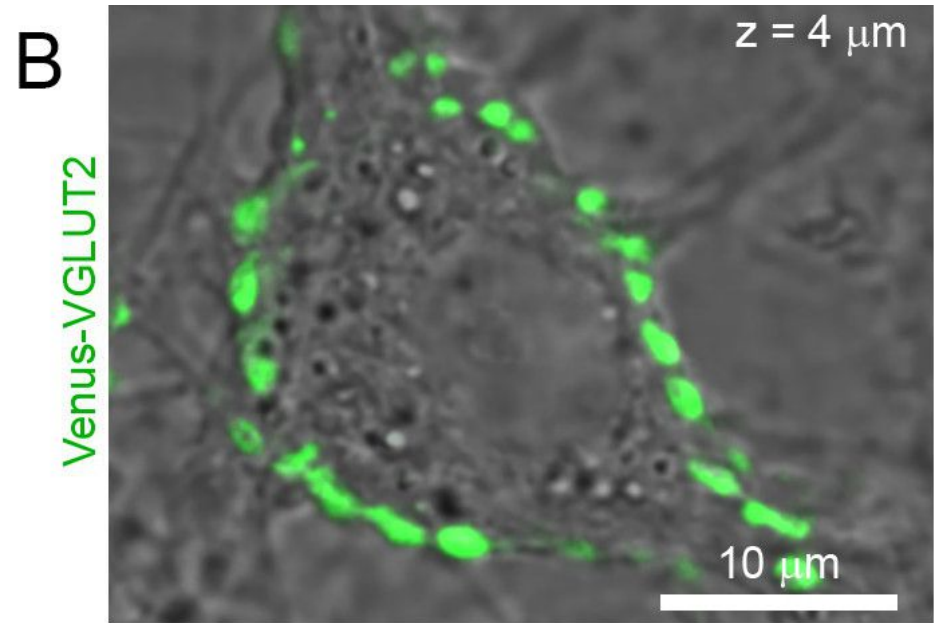
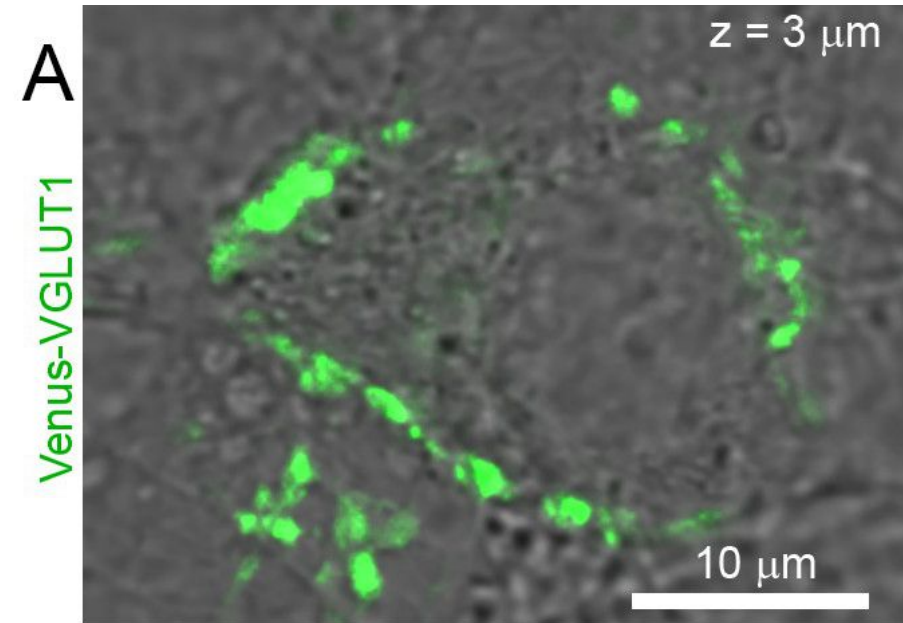


Neuropřenašeče

kritéria, která definují látky jako neuropřenašeče:

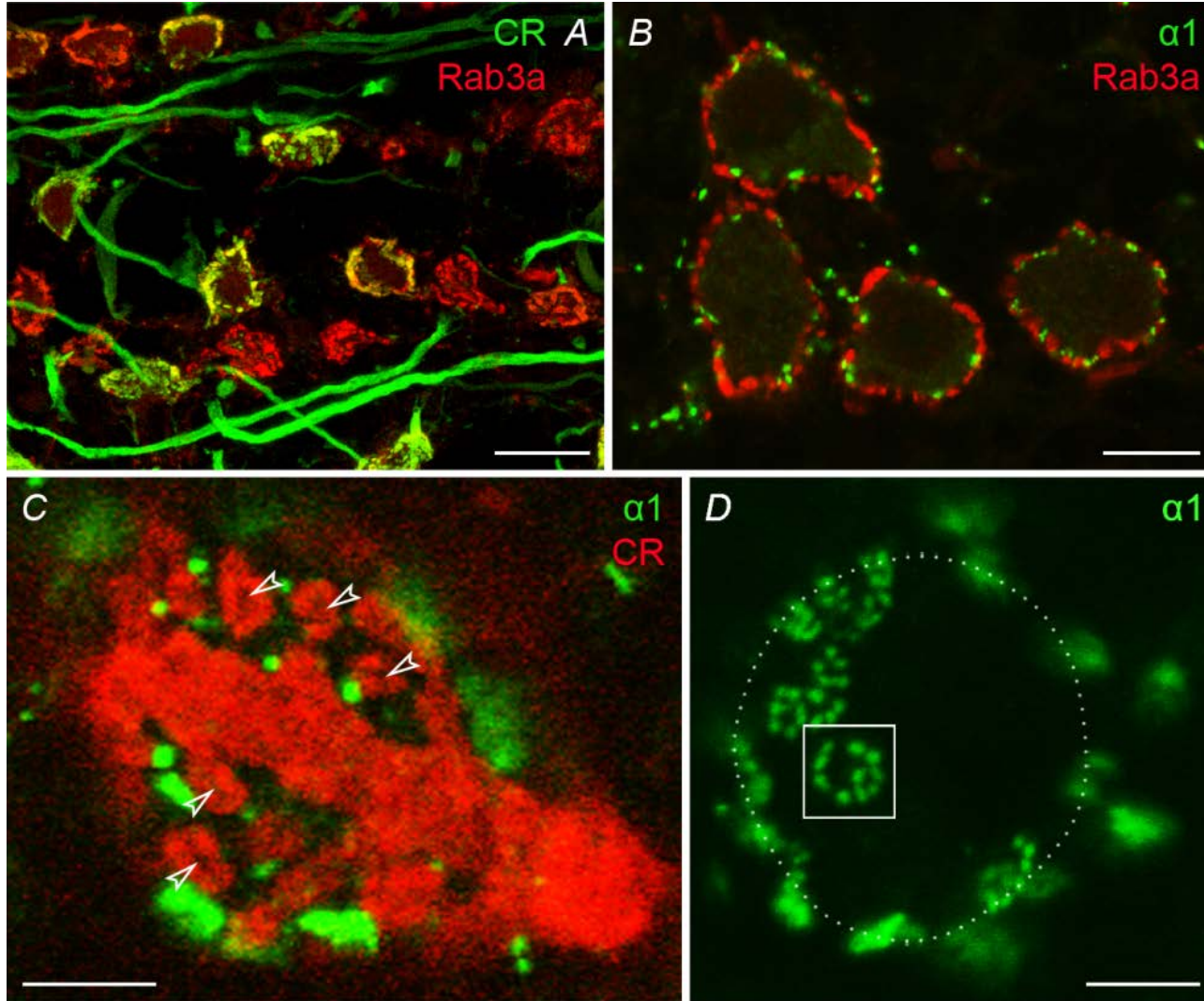
- látka musí být přítomna v presynaptickém neuronu (biochemický nebo imunocytochemický průkaz látky nebo enzymů),
- látka musí být uvolňována při presynaptické depolarizaci Ca^{2+} -závislým způsobem (elektrofyzilogické metody),
- specifické receptory pro látku musí být přítomny na postsynaptické buňce (elektrofyzilogické biochemické a imunocytochemické metody, aplikace exogenních agonistů a antagonistů)

Vesikulární glutamátový transporter (vGluT)-v presynaptických terminálech



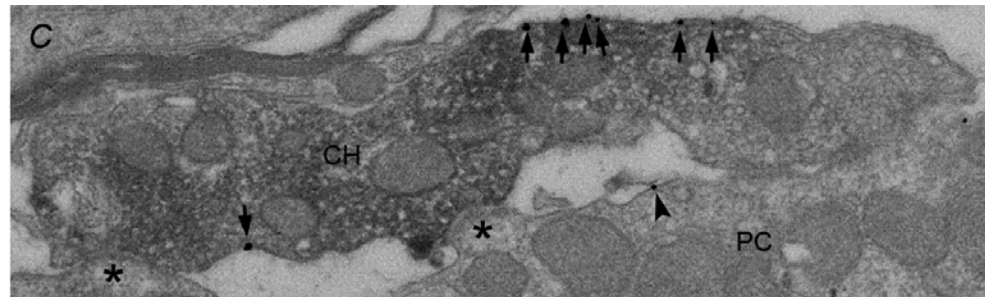
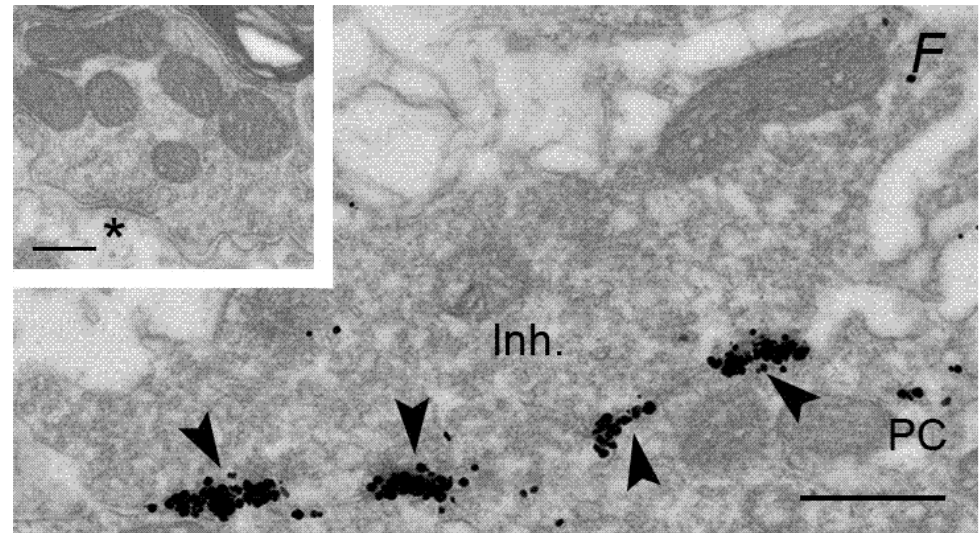
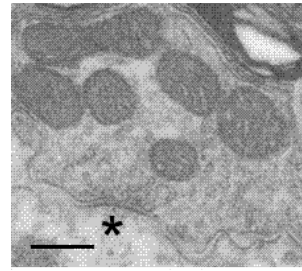
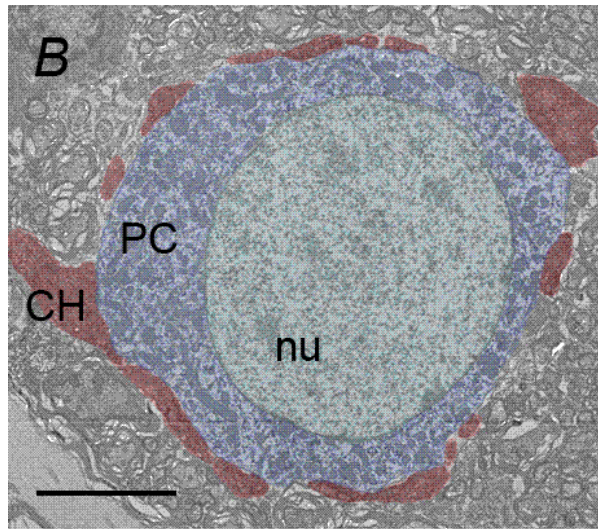
Lokalizace glycinových receptorů (GlyR) v nervové tkáni (imunohistochemie)

Konfokální mikroskopie

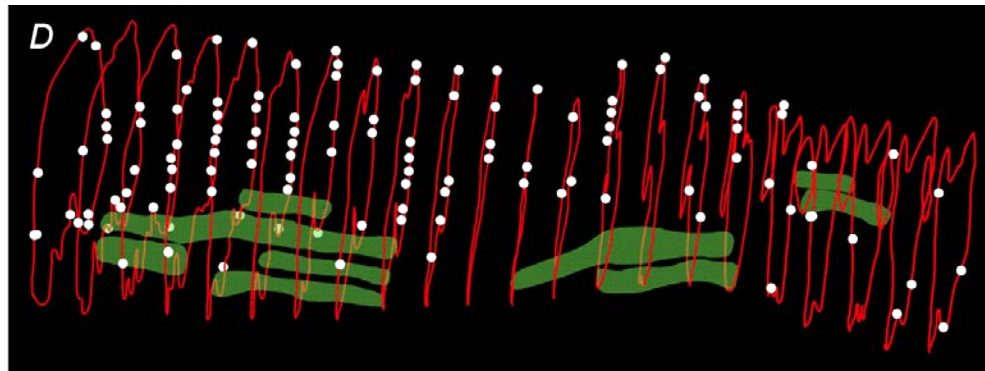


Hruskova et al., J. Neurosci. 2012

Imunoelektronová mikroskopie



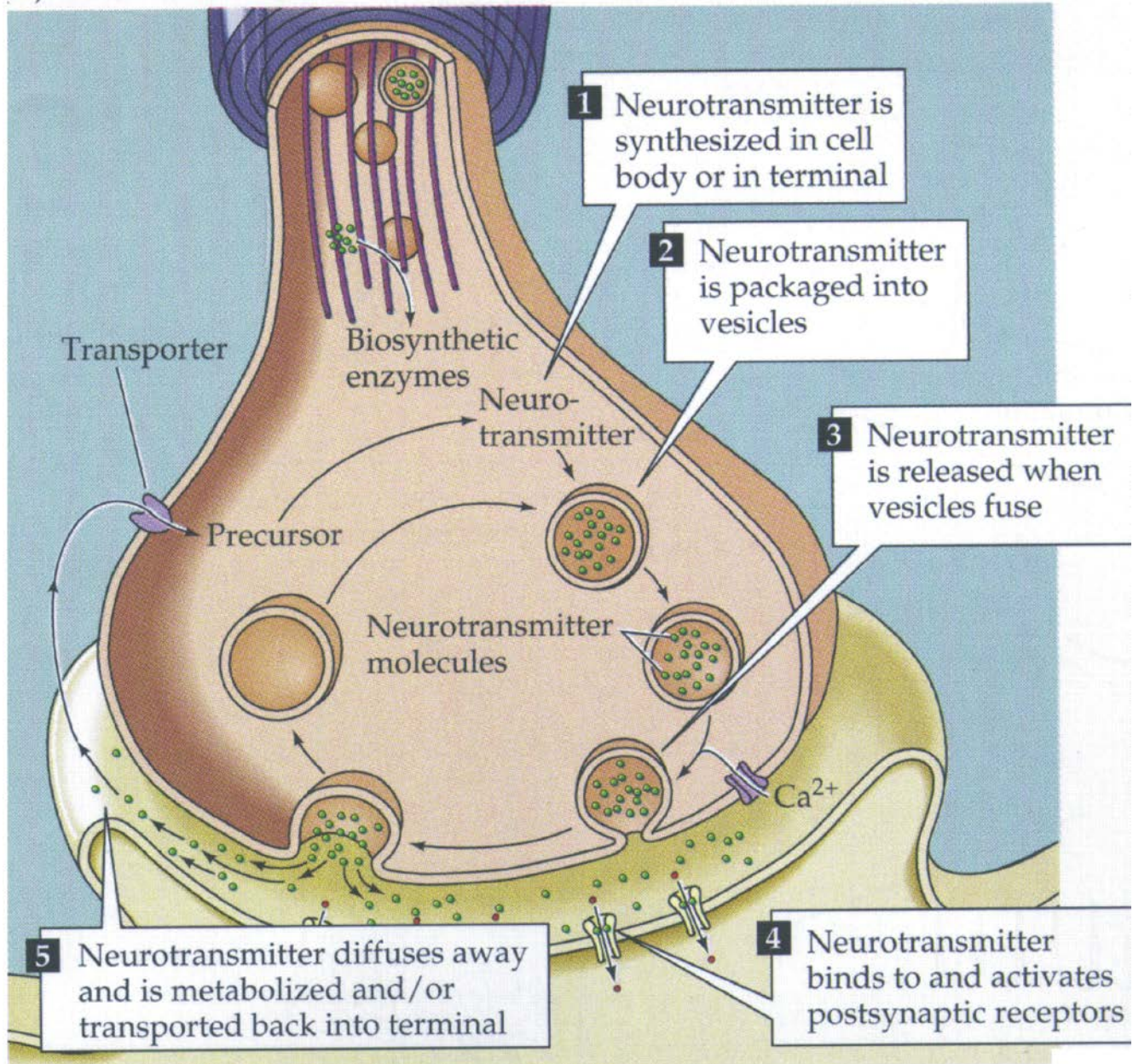
vGluT – peroxidáza
GlyR – zlaté částice



3D rekonstrukce
distribuce receptorů
v nervové tkáni

Syntéza a uložení neuro- přenašečů

A) LIFE CYCLE OF NEUROTRANSMITTER



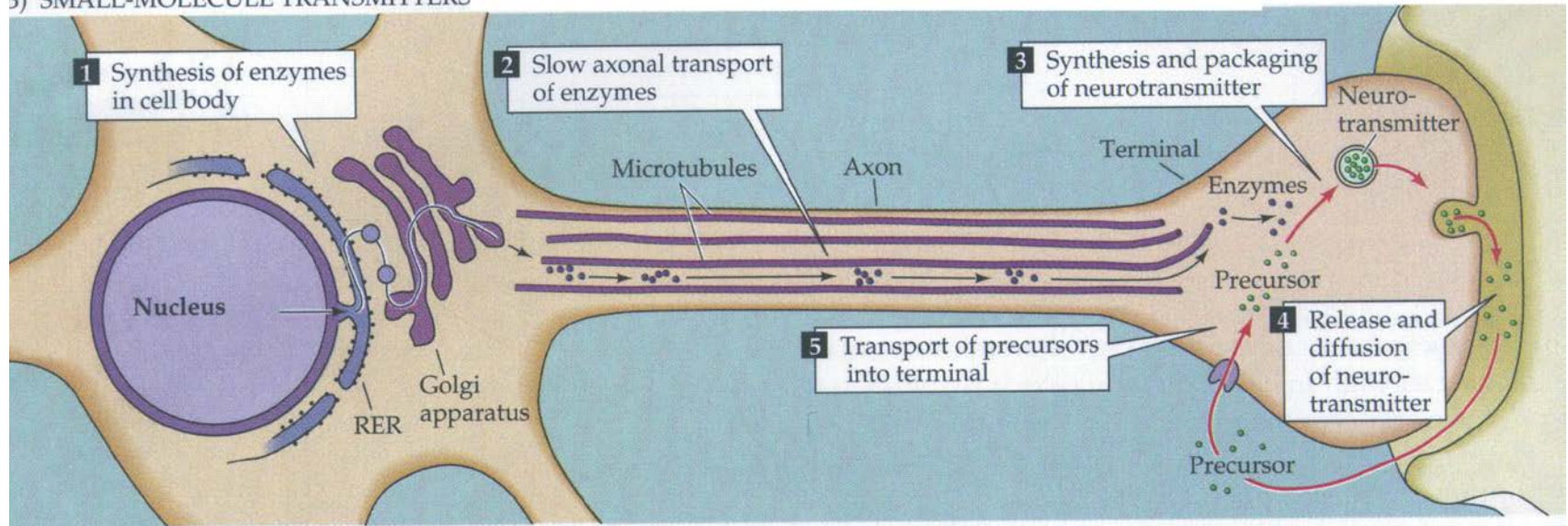
2 základní kategorie neuropřenašečů:

1. Mediátory s malou molekulovou váhou (např. ACh, GABA, glutamát, serotonin, histamin)
2. Neuropeptidy (tvořené několika až desítkami aminokyselin, např. substance P, neuropeptid Y, enkefaliny)

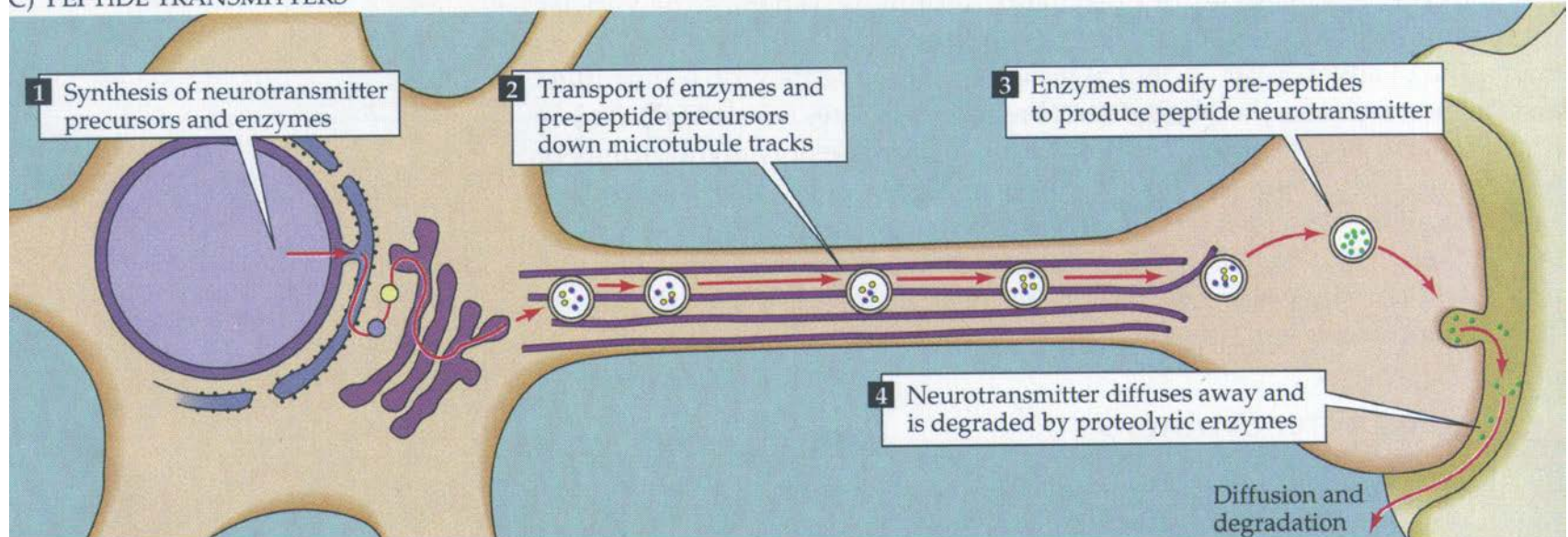
Co-transmitters – oba typy přenašečů společně uvolňované ze stejného zakončení nebo i stejného synaptického váčku

2 způsoby biosyntézy neuropřenašečů

3) SMALL-MOLECULE TRANSMITTERS



C) PEPTIDE TRANSMITTERS

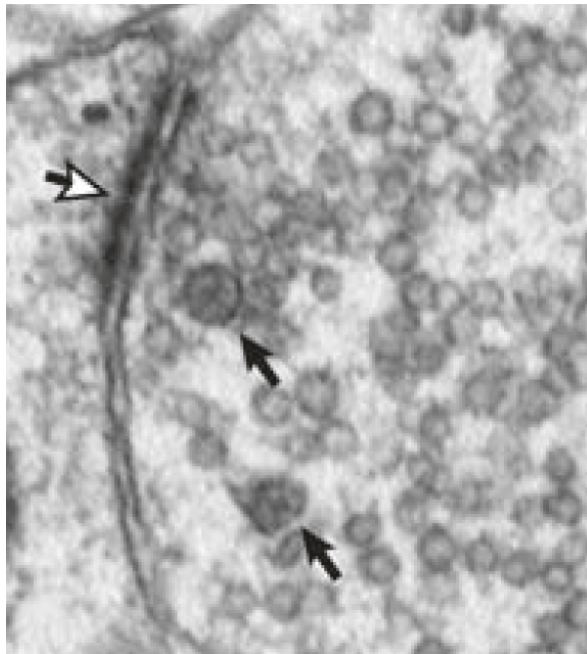


Spolupřenašeče (co-transmitters)

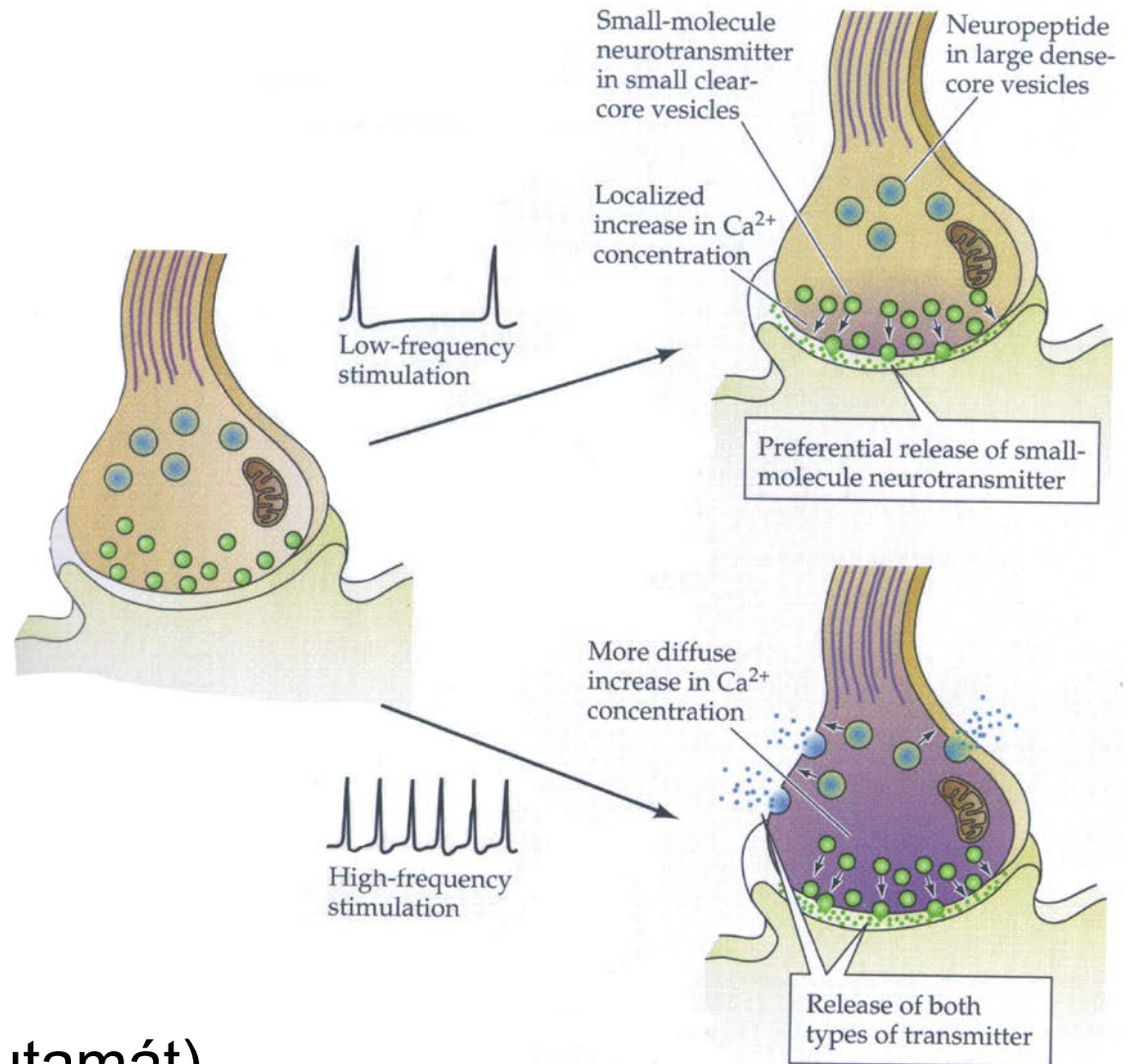
příklady:

GABA/somatostatin

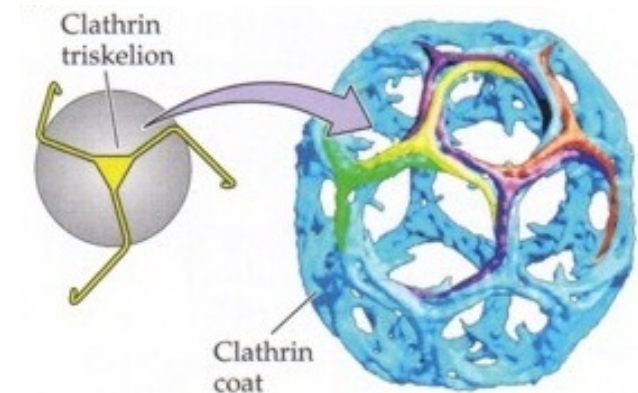
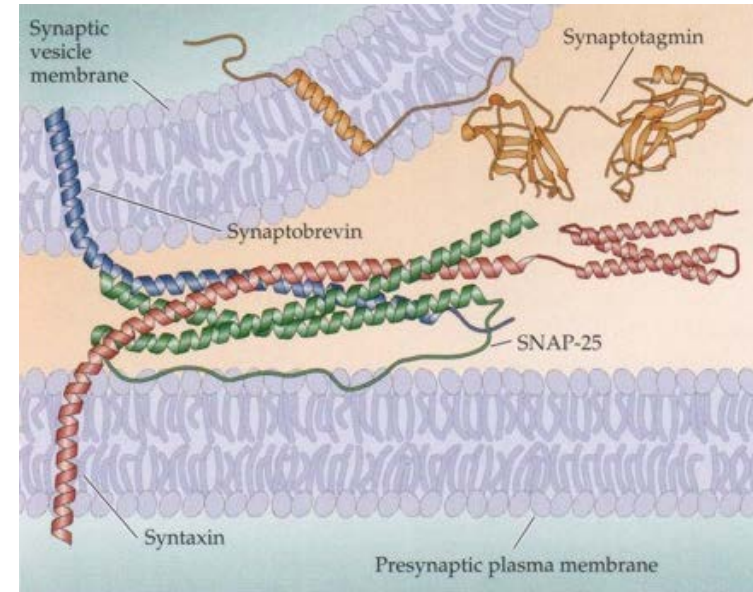
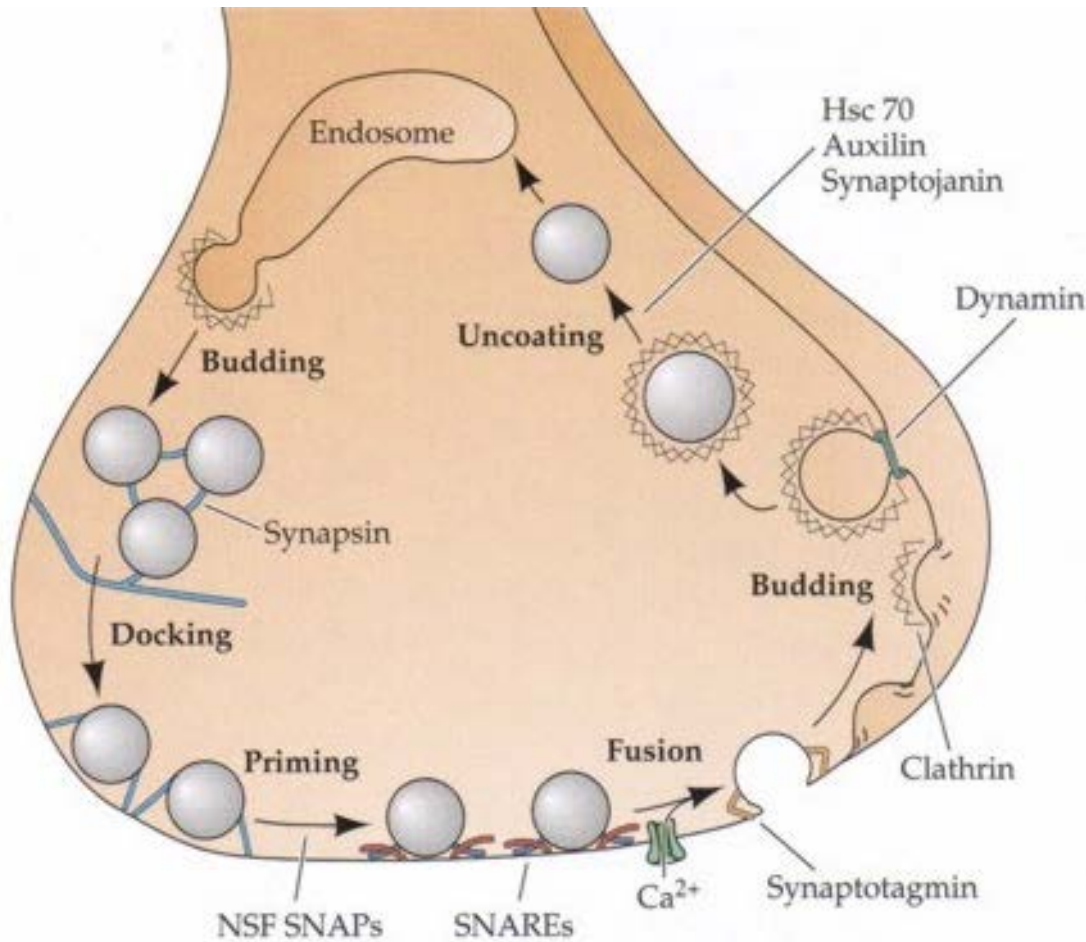
ACh/substance P



malé průhledné SV (glutamát)
velké denzní SV (neuropeptid)

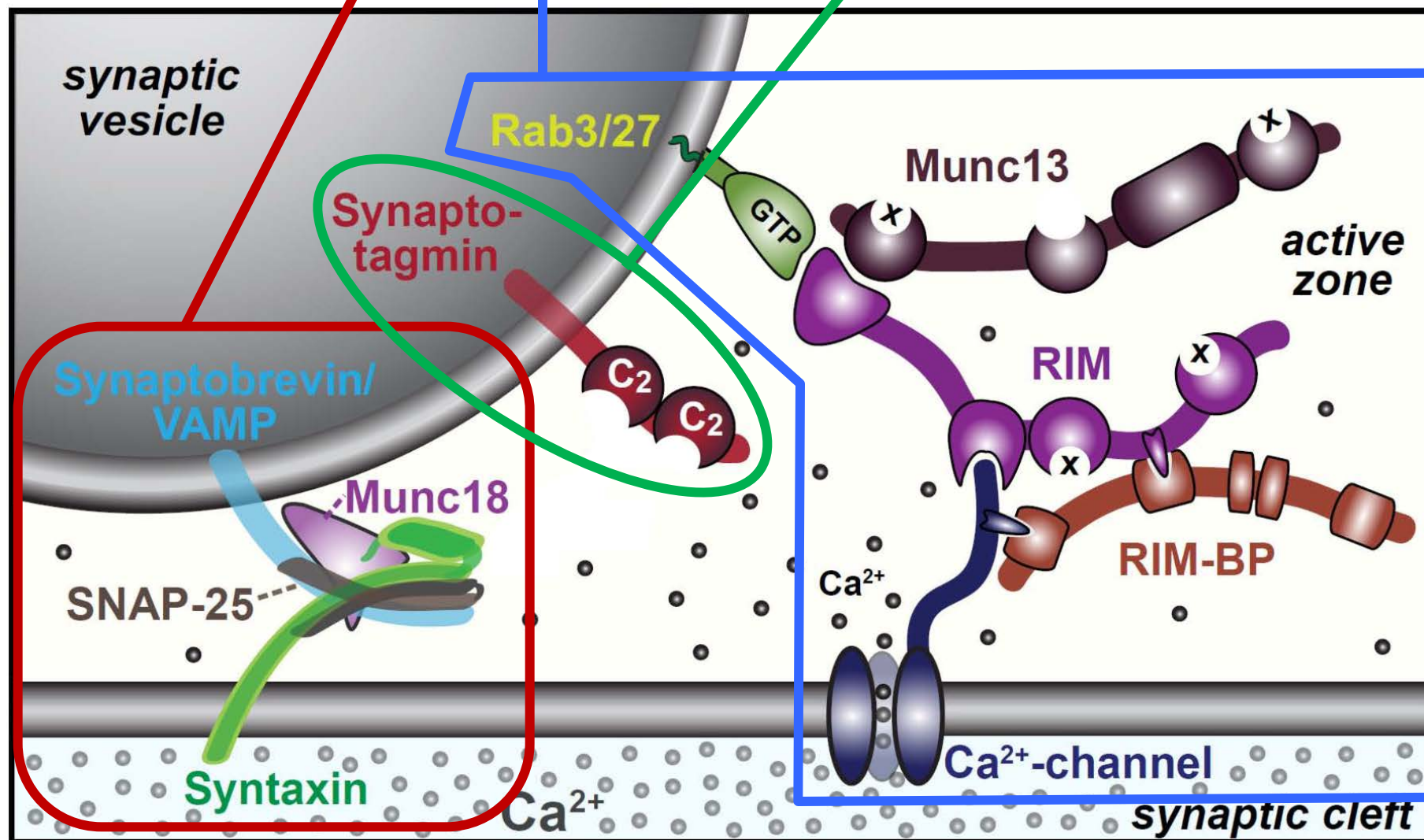


Lokální cyklus synaptických váčků (SV)

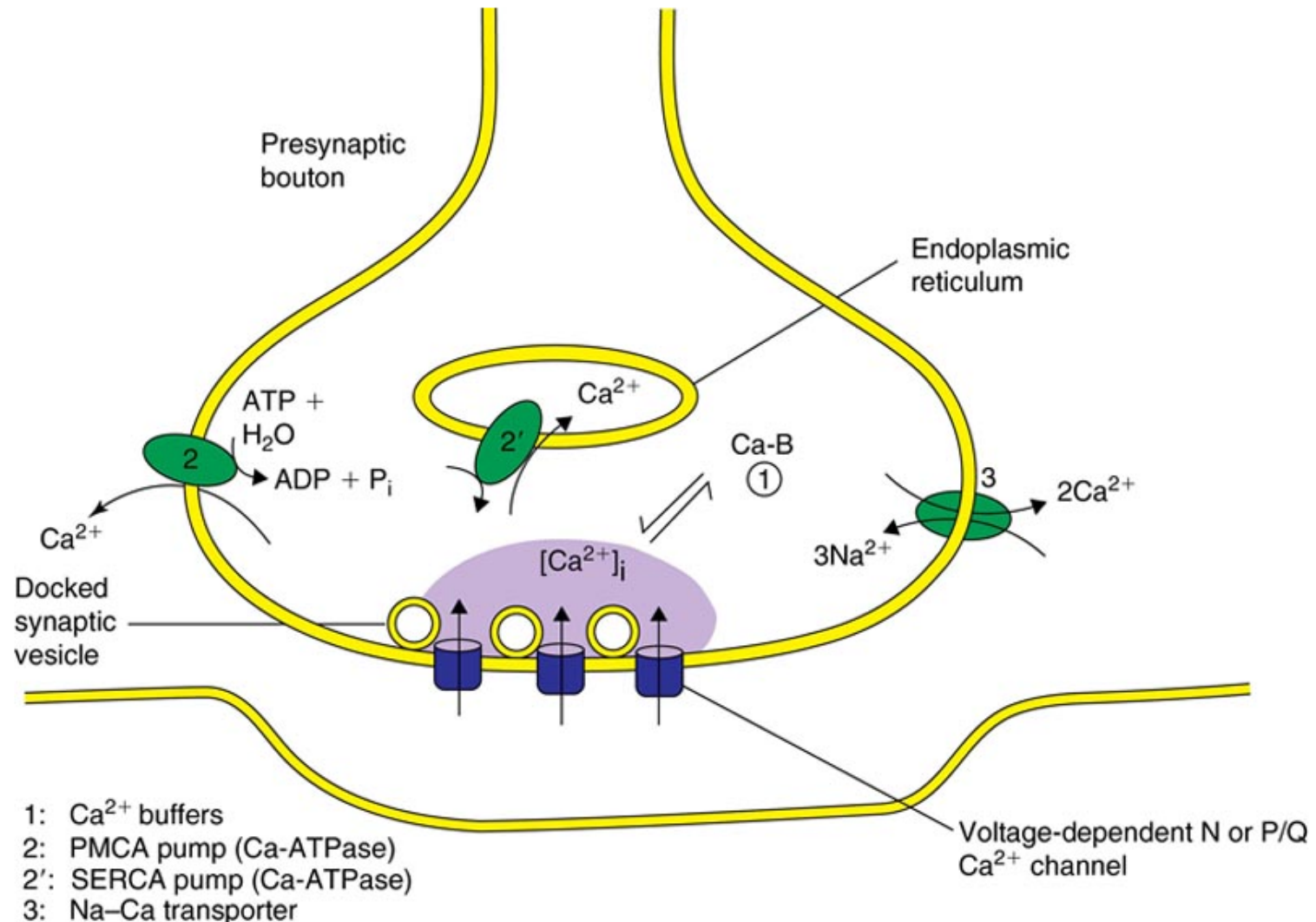


Clathrinový obal zvyšuje zakřivení membrány, což vede k vytvoření váčku. Dynamin umožňuje odškrcení váčku.

Presynaptický uvolňovací aparát provádí **fúzi**, **Ca²⁺-závislé spuštění** a **připoutání SV k Ca²⁺-kanálu**

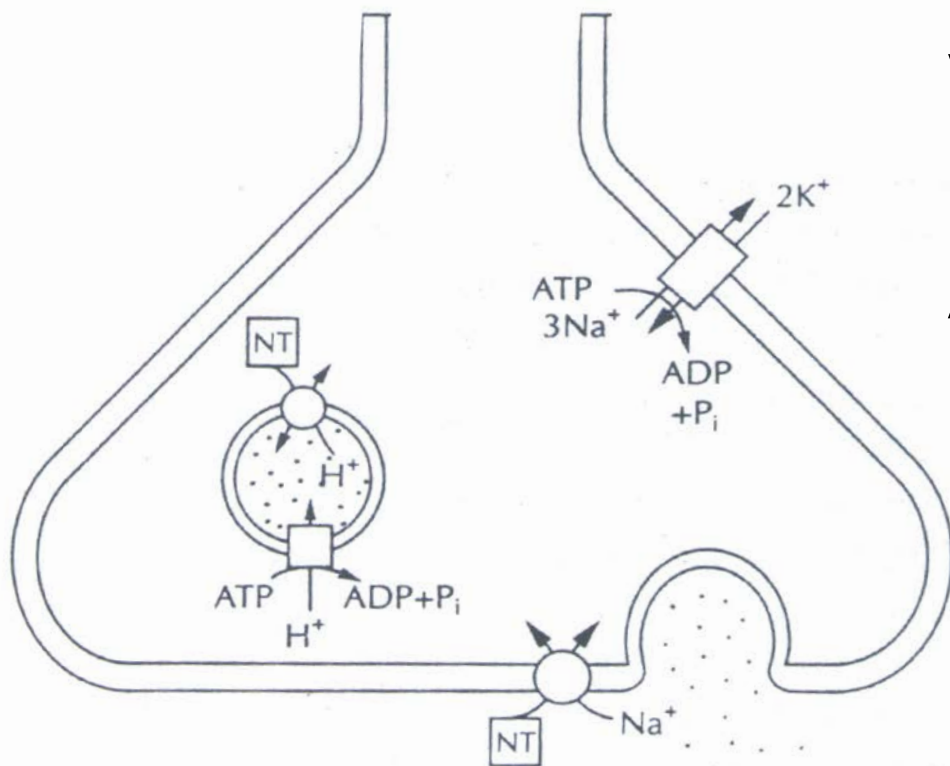


Mechanismy odstraňování presynaptických Ca^{2+}

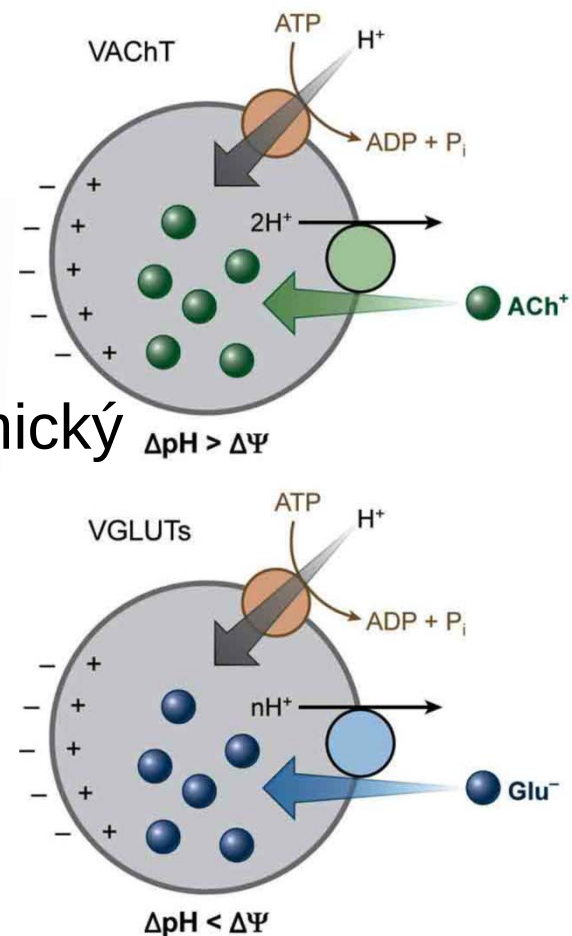


Zpětná absorpce mediátorů nervovým zakončením

- specifické transportní proteiny vyžadující Na^+ gradient

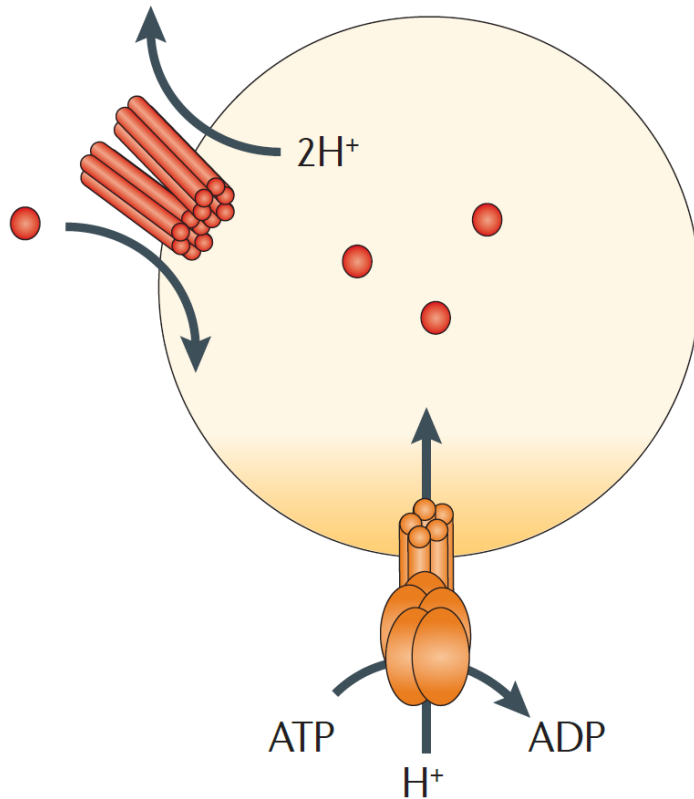


vesikulární přenašeče využívají elektrochemický gradient: ΔpH a $\Delta\Psi$ (rozdíl potenciálů)

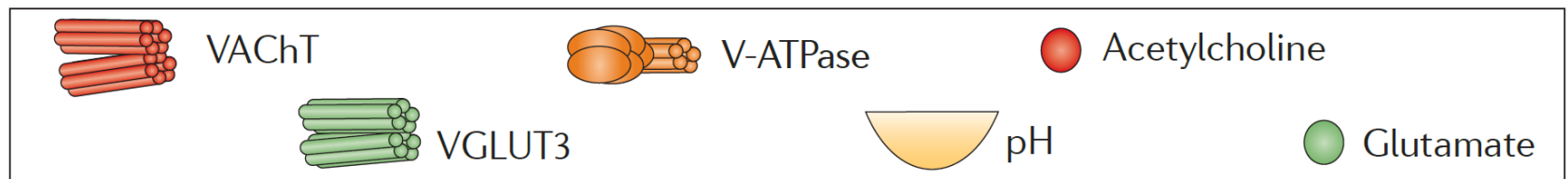
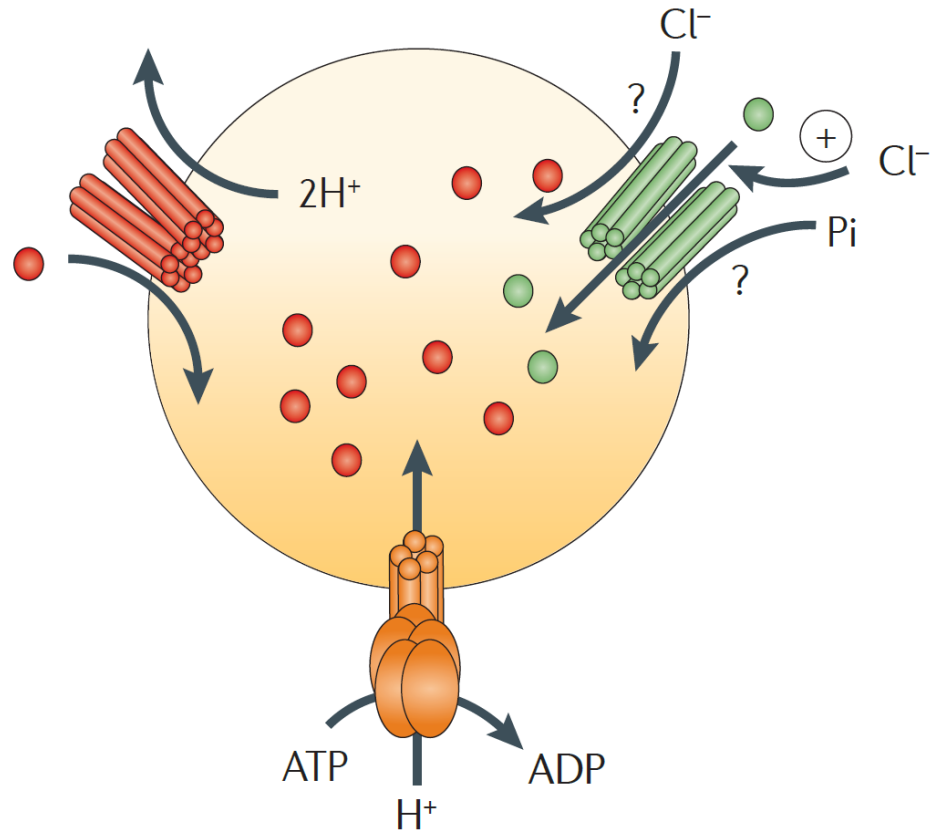


Spolupřenašeče uvolňované stejným SV

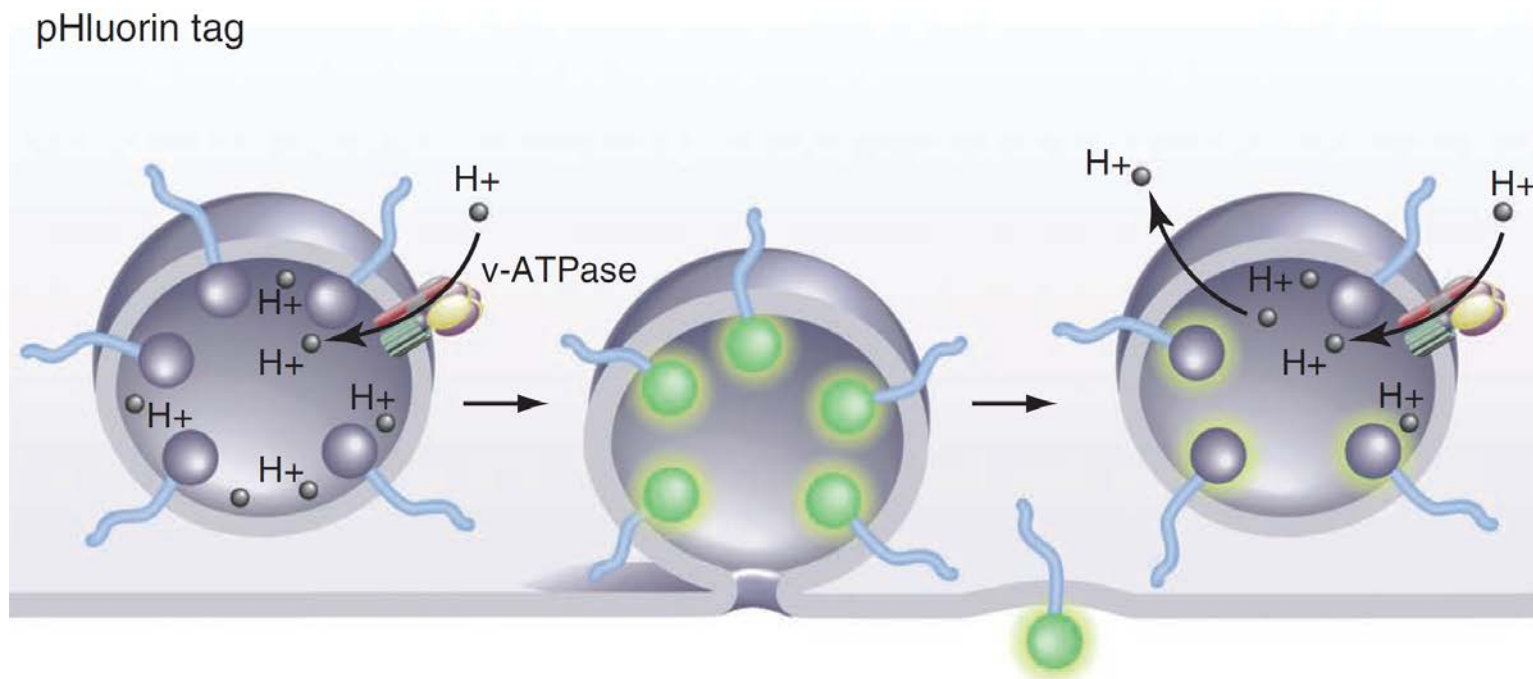
Acetylcholine vesicle



Acetylcholine-VGLUT3 vesicle



Optogenetika: monitorování recyklace SV



Poruchy exocytózy synaptických váčků → neurologická onemocnění

- myastenické syndromy, vyzn. se abnormálním syn. přenosem na nervosval. spojeních → svalová slabost. Př.: Lambert-Eaton myastenický syndrom (komplikace při rakovině plic) – autoimunitní reakce na presyn. VDCC, snížení uvolň. ACh, imunosupresíva
- vrožený myastenický syndrom – poruchy recyklace syn. váčků - snížení uvolň. ACh, inhibitory AChE

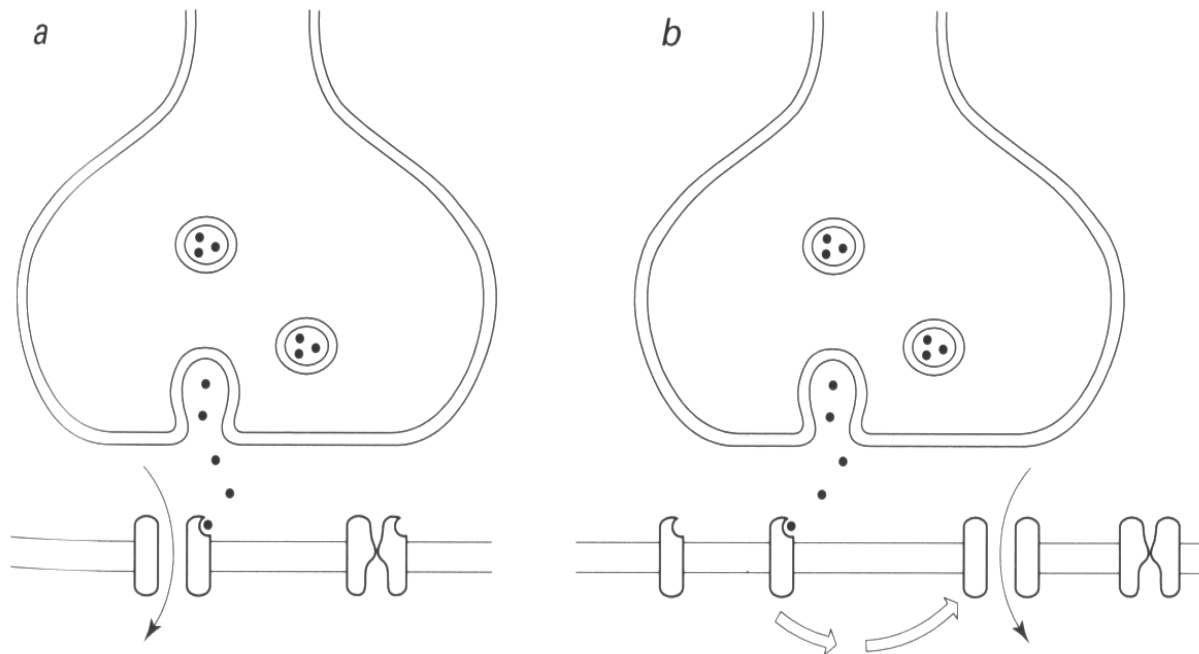
(pozn. myasthenia gravis – imunitní systém vytv. protilátky k nAChR → svalová slabost, inhibitory AChE)

Bakteriální toxiny a neurotoxiny:

- r. Clostridium - botulin (jeden z nejprudších jedů) a tetanus toxin, proteázy, štěpí SNARE
- botulismus - kontaminovaná potrava nebo infekce poranění, paralýza nervosval. synapsí, snížení uvolň. ACh, svalová slabost (diafragma), estetická medicína
- tetanus - infekce rány, blokáda uvolň. inhibičních mediátorů v míše → hyperexcitace kosterní svaloviny, tetanické kontrakce
- konotoxiny - mořský plž r. Conus, šipky, blok presynaptických Ca^{2+} kanálů

Postsynaptické receptory

Synaptický přenos: - rychlý: ligandem řízené kanály
- pomalý: metabotropní receptory

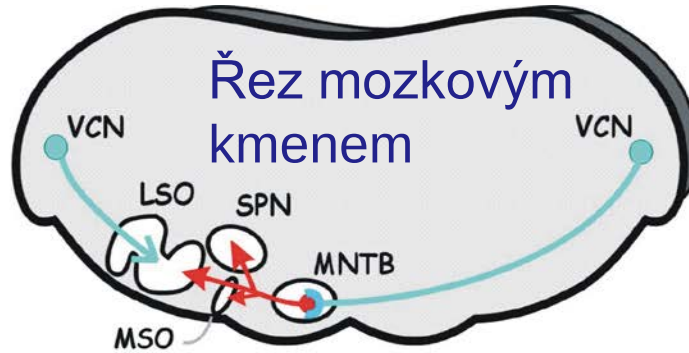
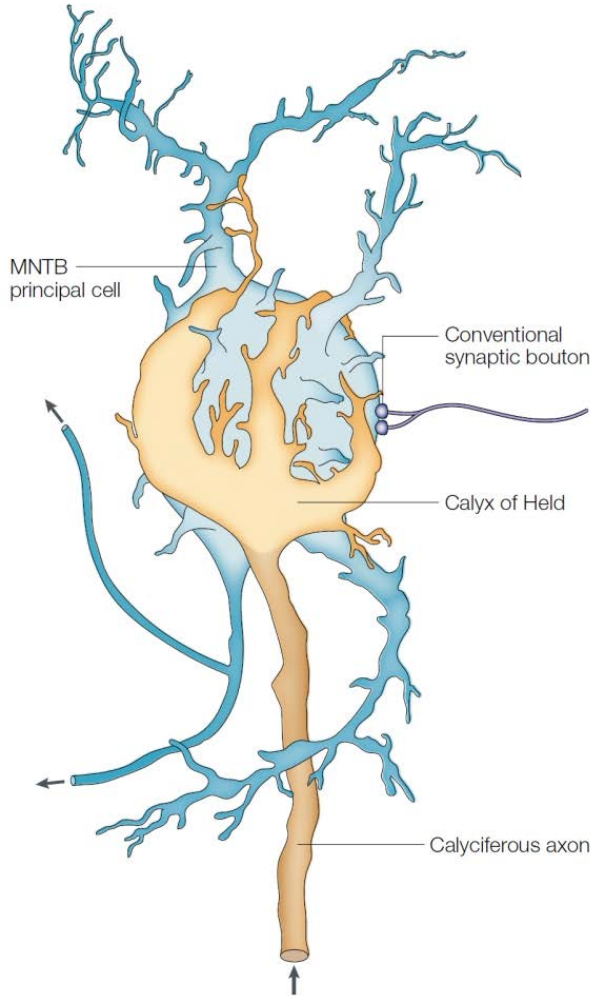


Ligandem řízené iontové kanály

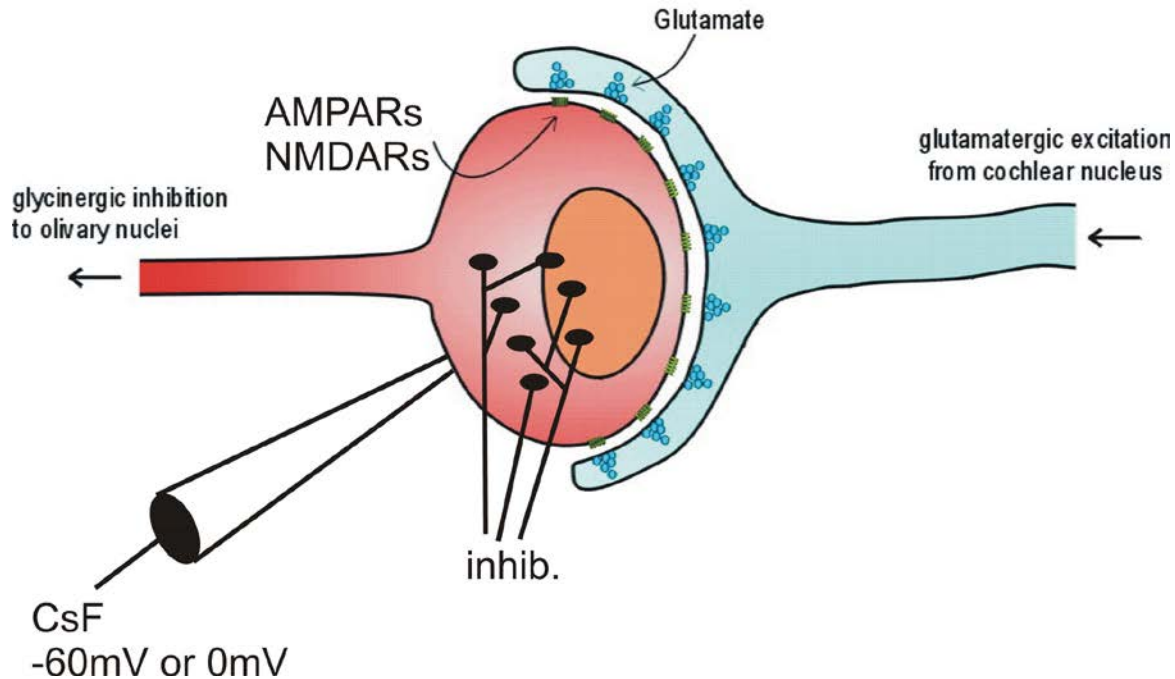
3 rodiny:

- cys-loop (GABA-A, GlyR, 5-HT, nAChR)
- Glutamátové (AMPA, KR, NMDA)
- ATP (P2X)

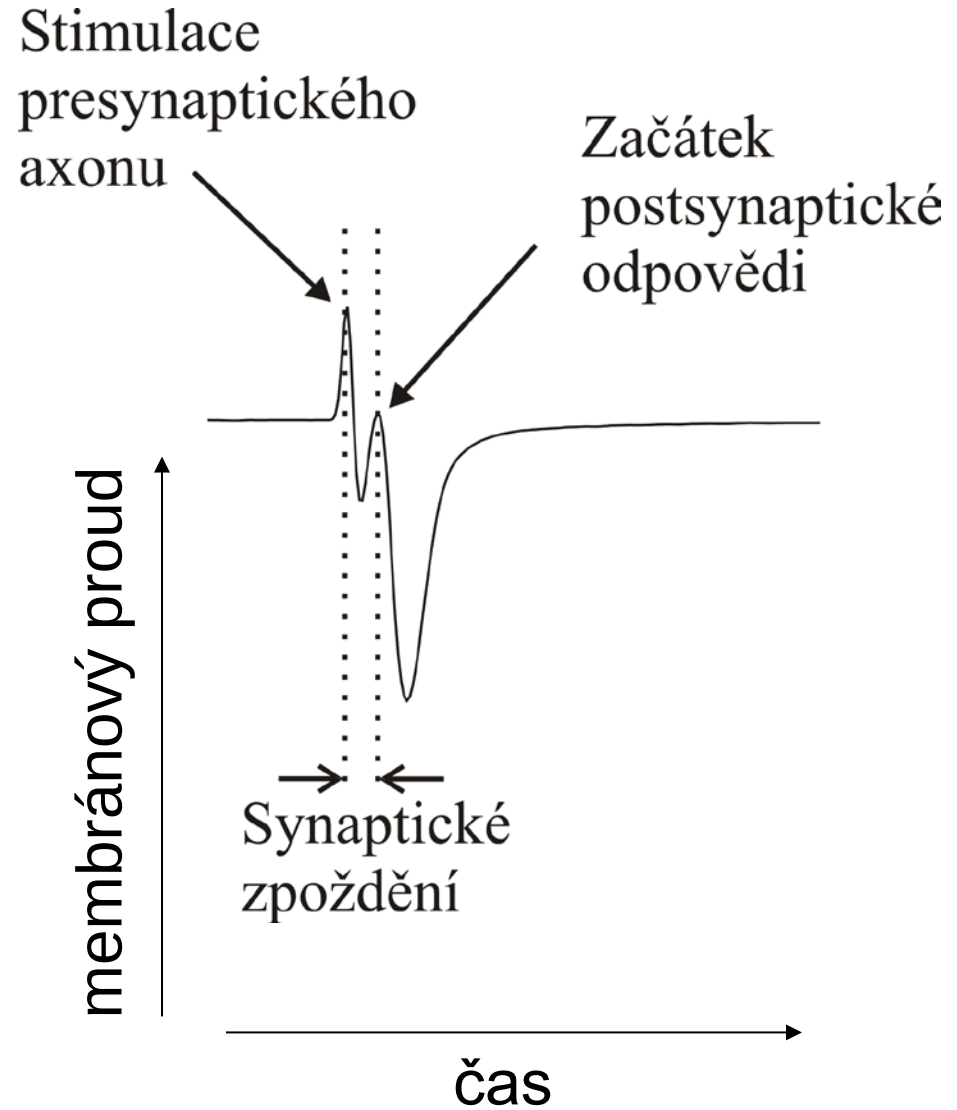
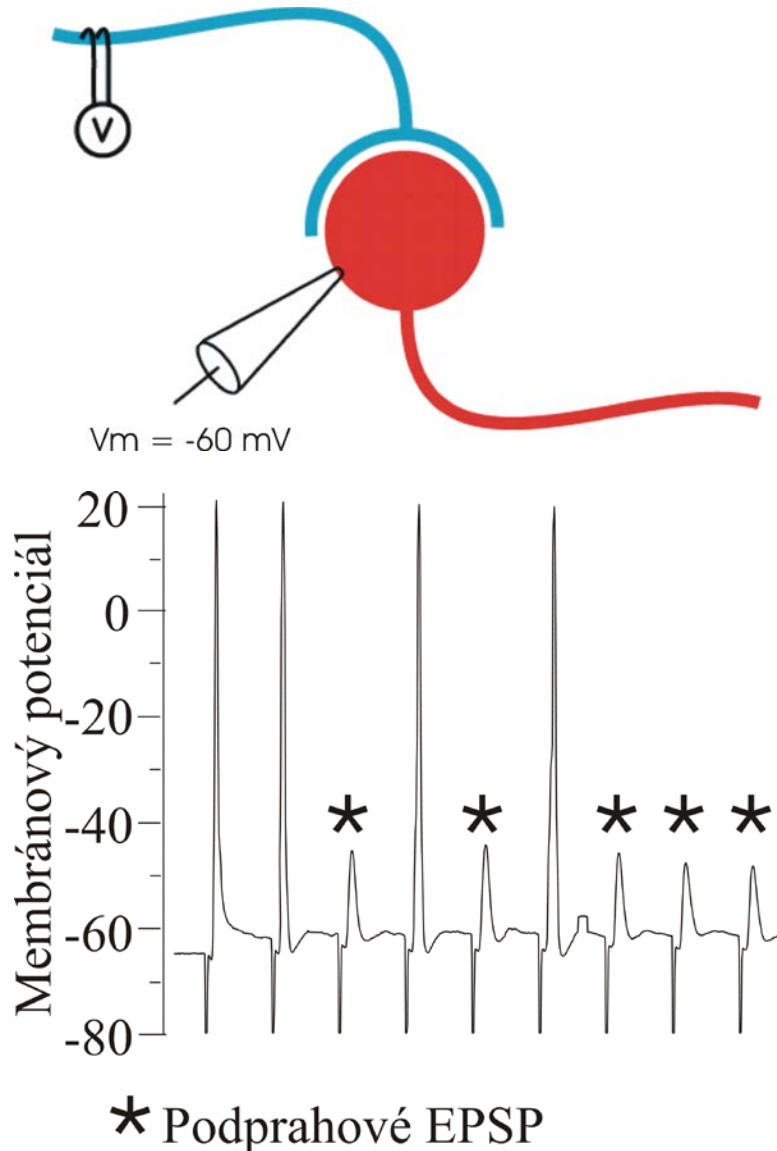
Rychlý synaptický přenos je často zkoumán s použitím živých řezů z mozkových tkání



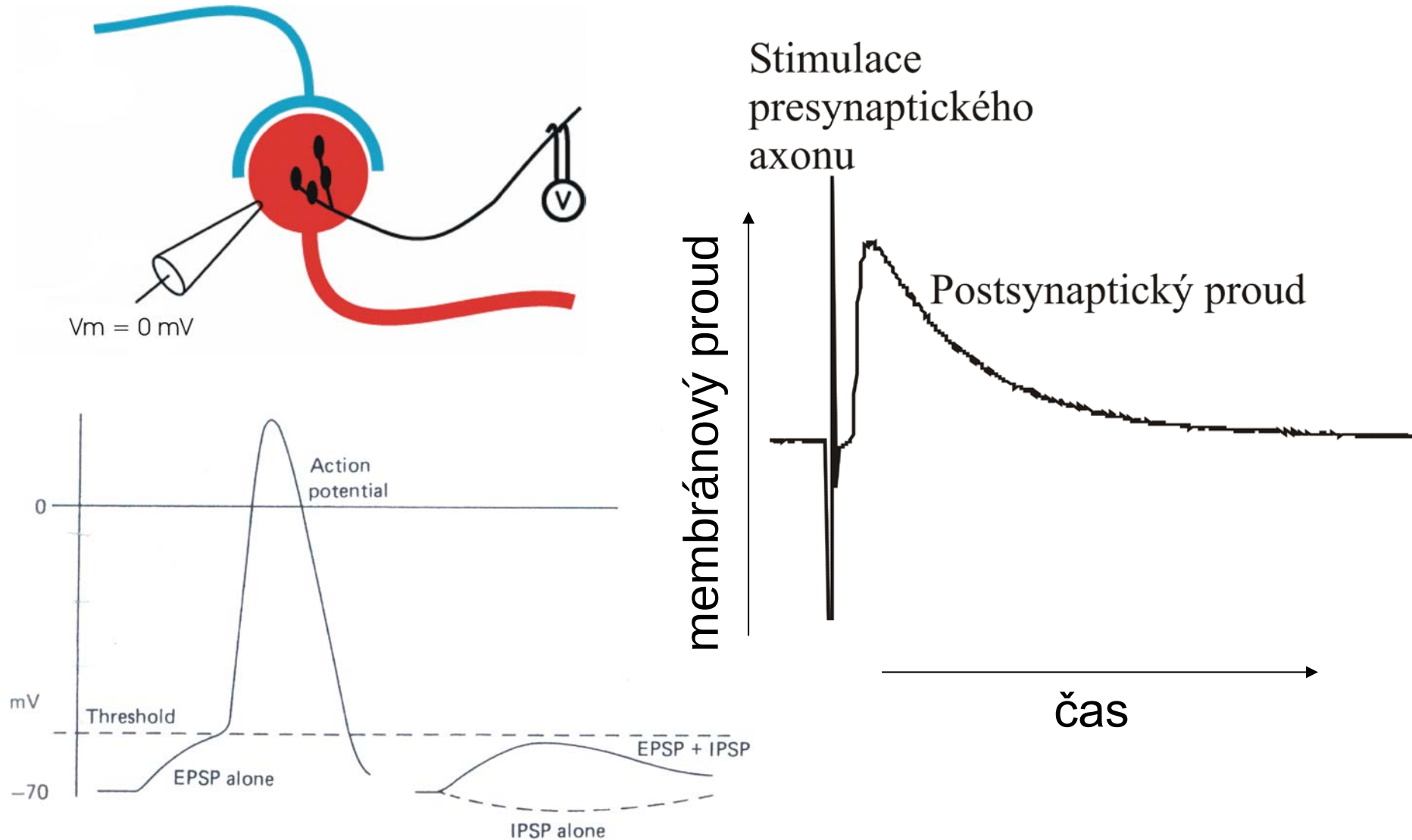
The calyx of Held



Excitační postsynaptický proud (EPSC) a potenciál (EPSP)

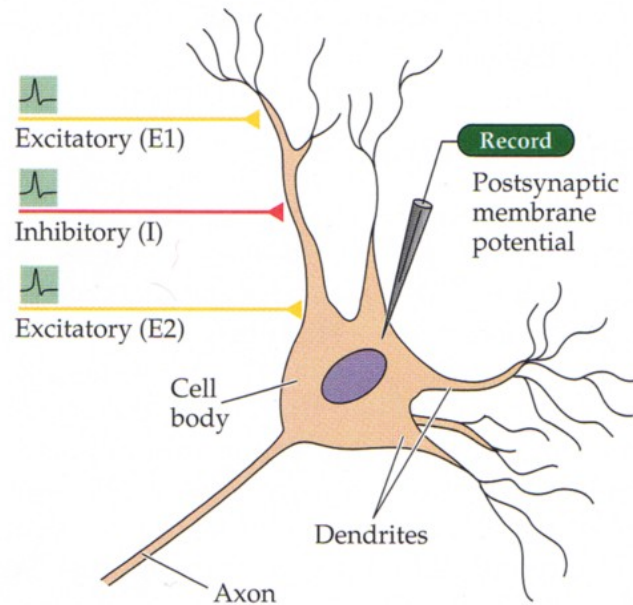


Inhibiční postsynaptický proud (IPSC) a potenciál (IPSP)

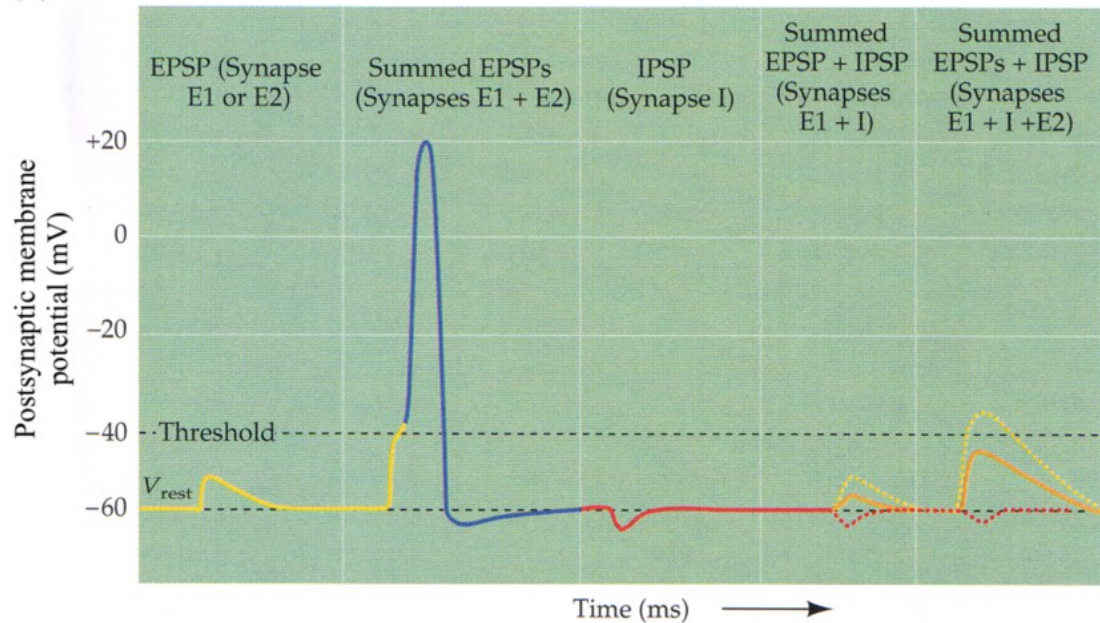


Summace postsynaptických potencialů

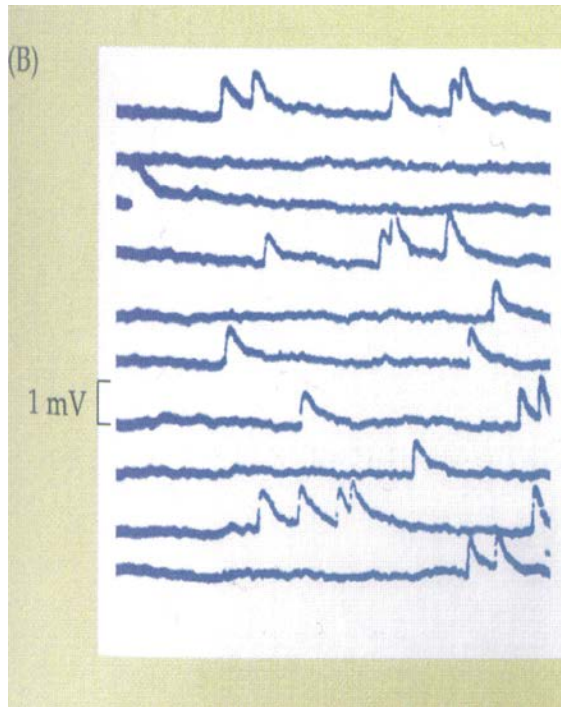
(A)



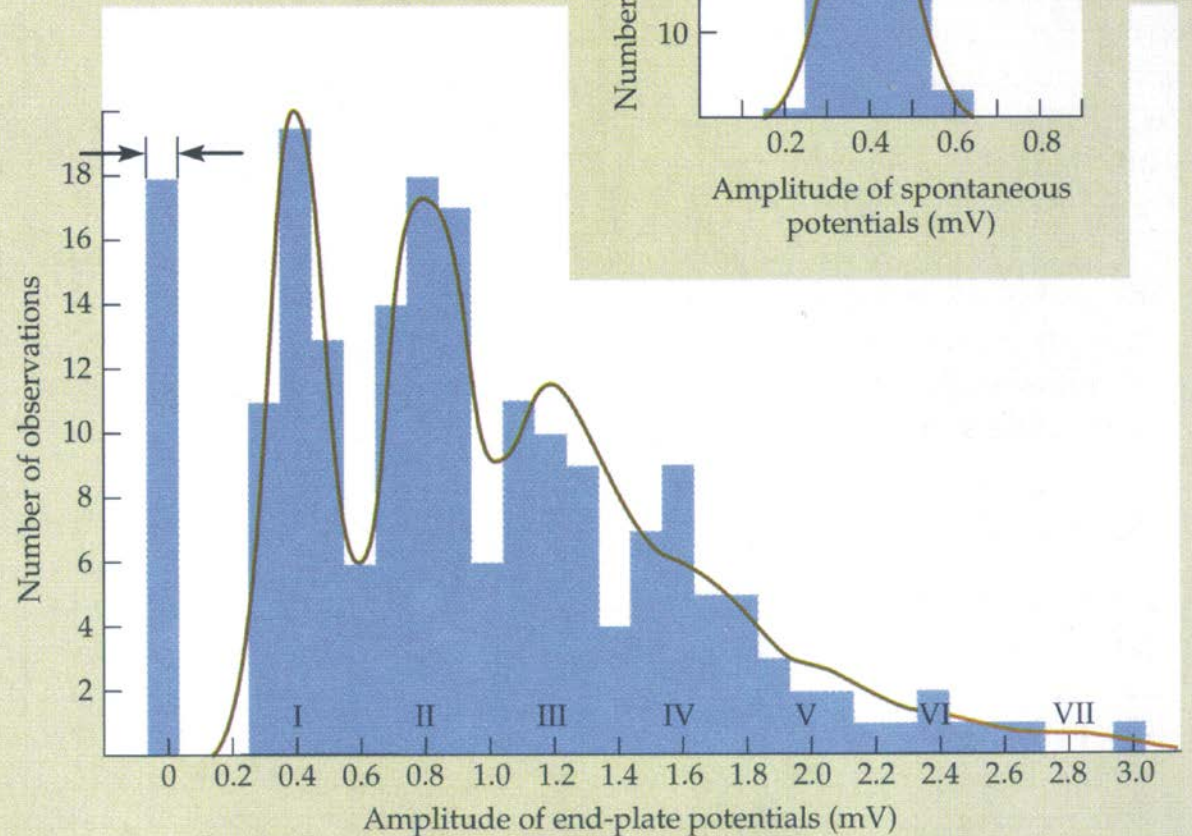
(B)



Kvantové uvolnění neuropřenašeče



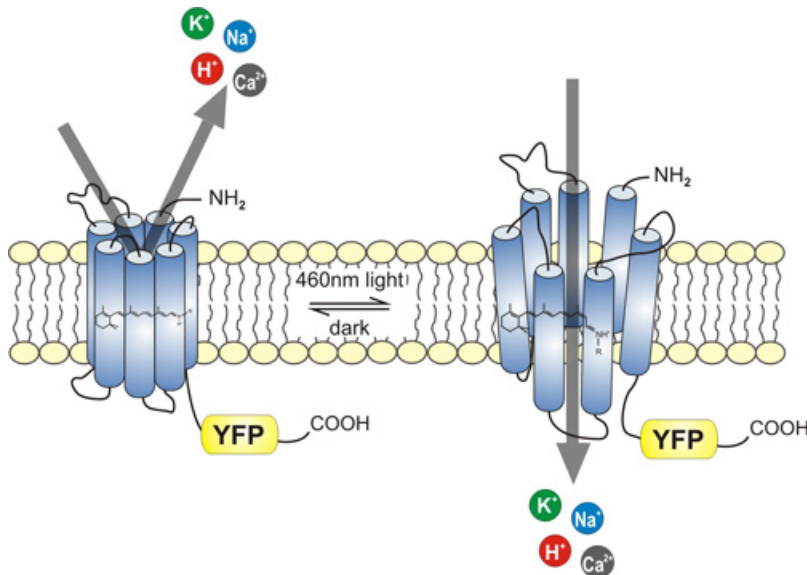
Evokované EPSP:
násobky mEPSP



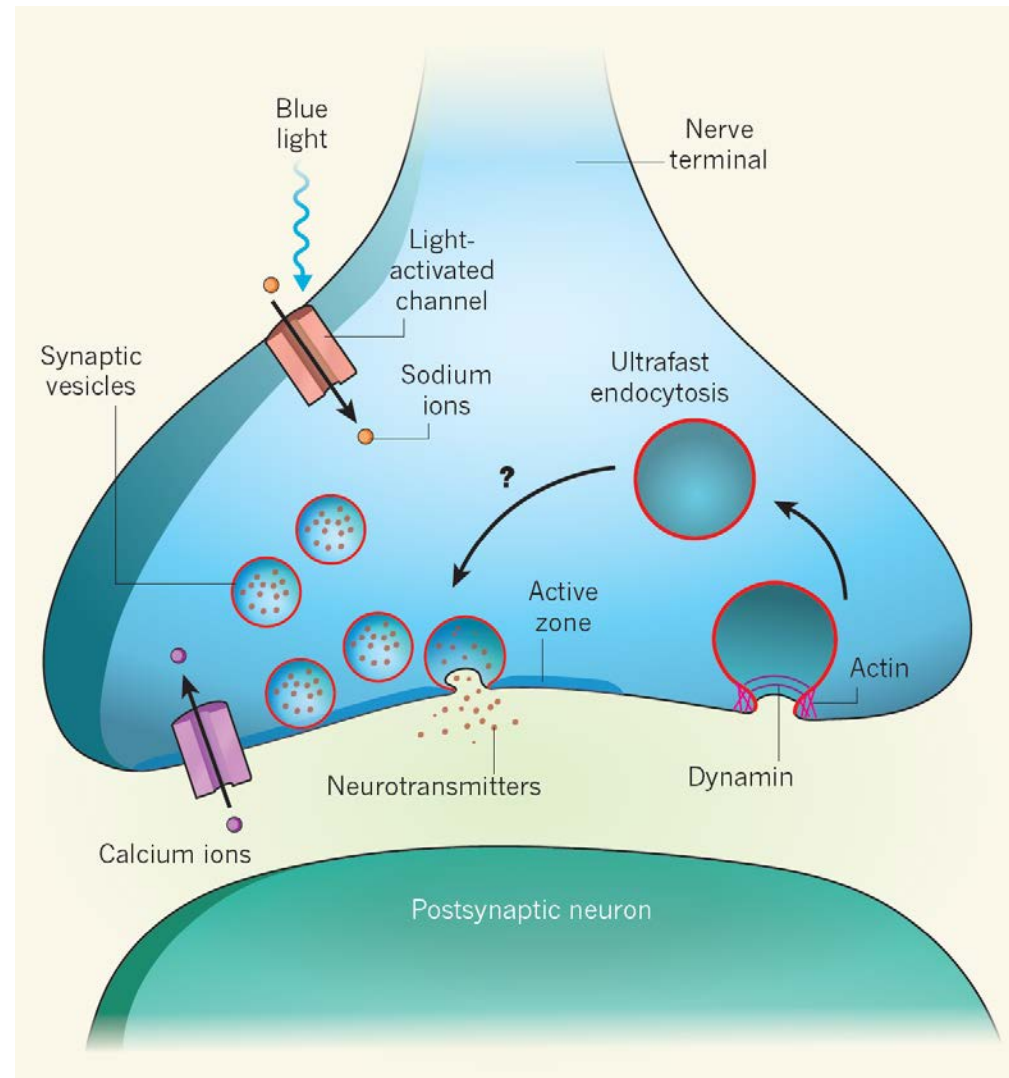
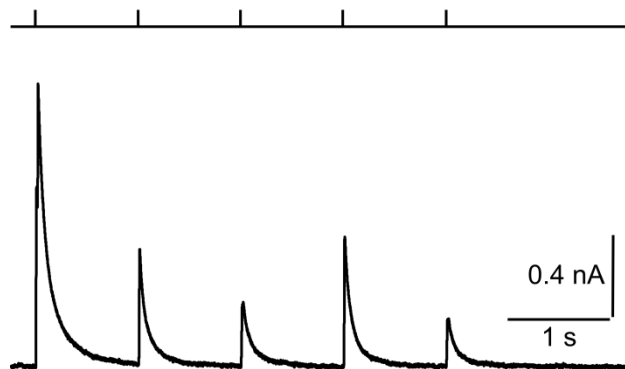
Miniaturní EPSP
vznikají uvolněním
jednoho synaptického
váčku

Optogenetická technika stimulace synaptického přenosu

Channelrhodopsin 2



blue light flashes



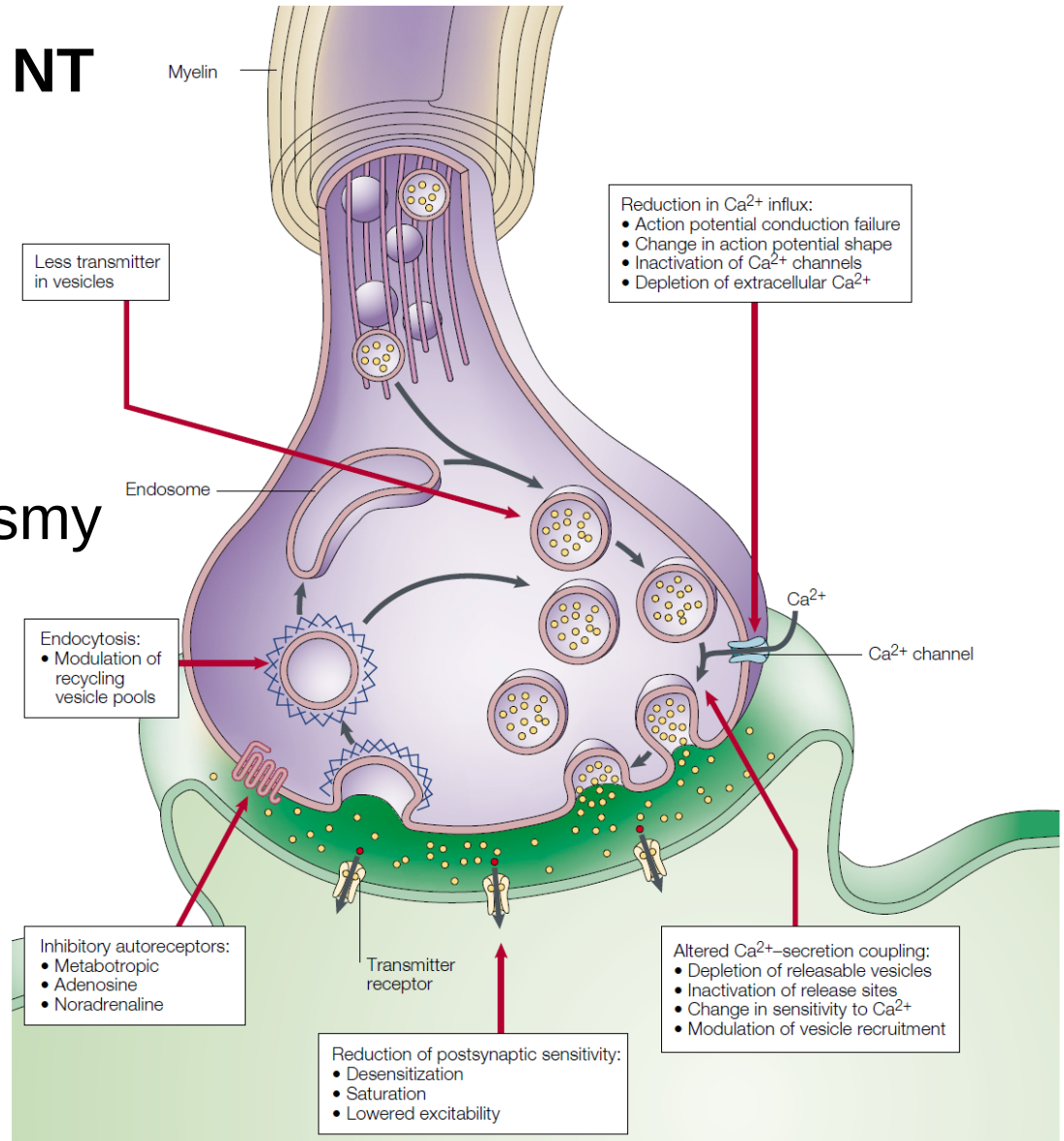
Nagel et al., PNAS, 2003

Plasticita synaptického přenosu

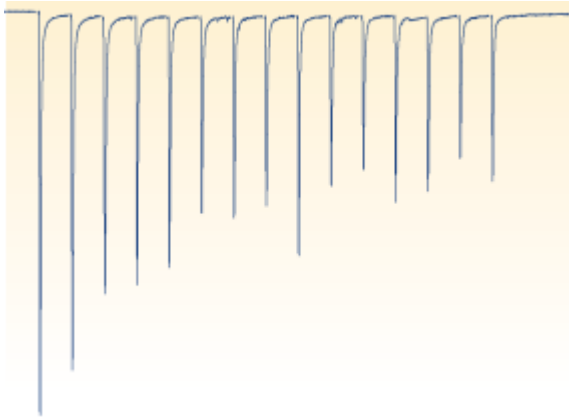
Cyklus SV nebo cyklus NT

- krátkodobá plasticita
vs.
dlouhodobá plasticita

- presynaptické mechanismy
vs.
postsynaptické mechanismy

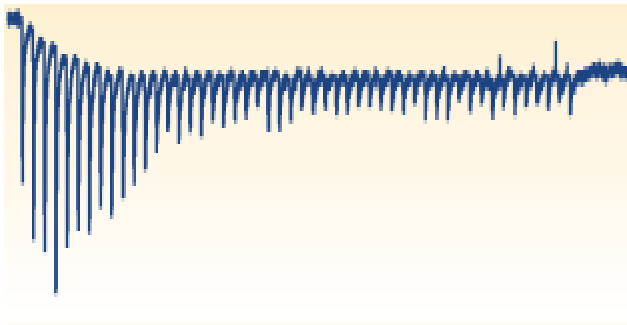


Krátkodobá synaptická plasticita



Presynaptická deprese – opakovaná stimulace presynaptického neuronu vede k přechodnému vyčerpání synaptických váčků. Pokles amplitudy EPSC.

Postsynaptická deprese – desensitizace receptorů

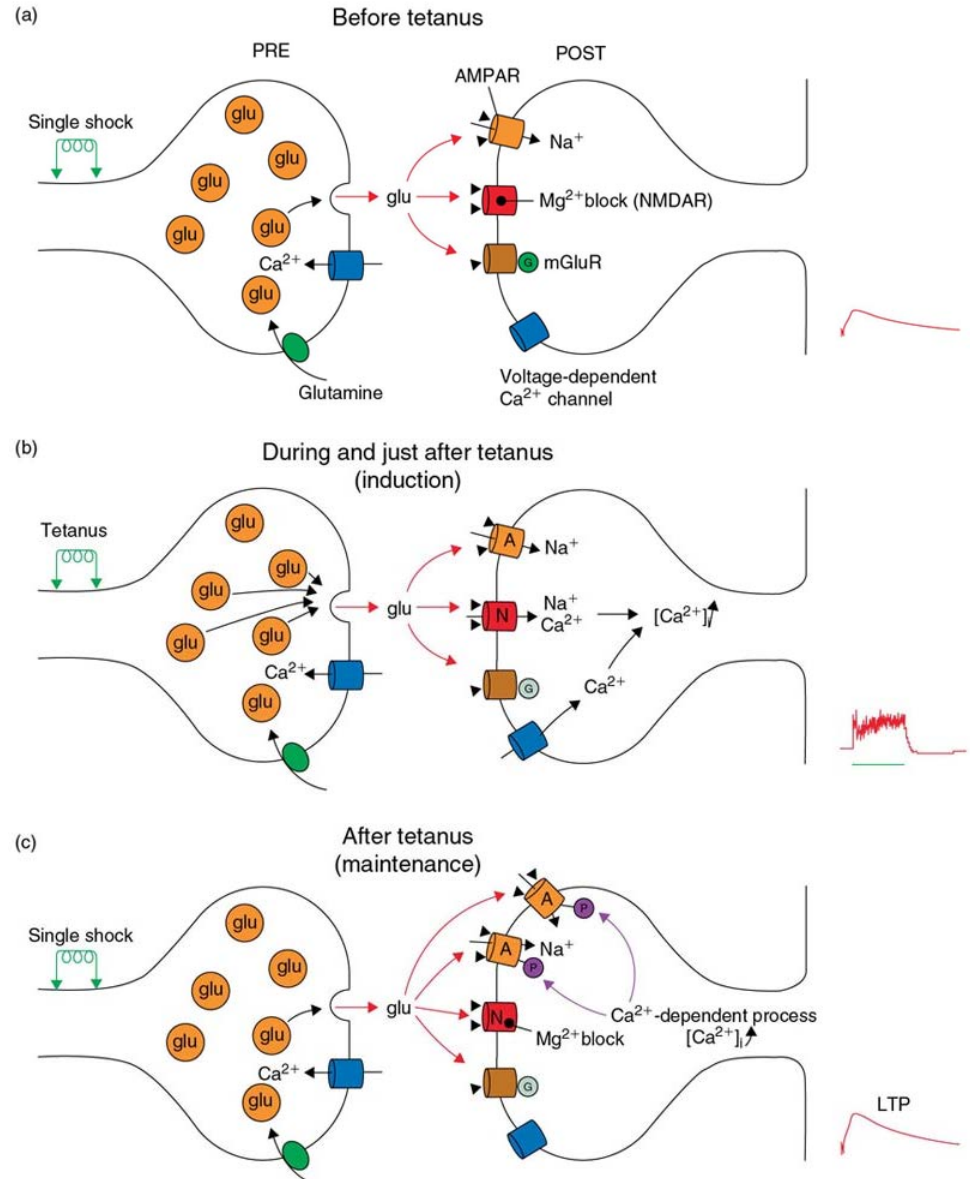


Facilitace – při vysokofrekvenční stimulaci dochází k nahromadění Ca v presynaptickém neuronu, což vede ke zvýšení pravděpodobnosti uvolnění synaptických váčků.

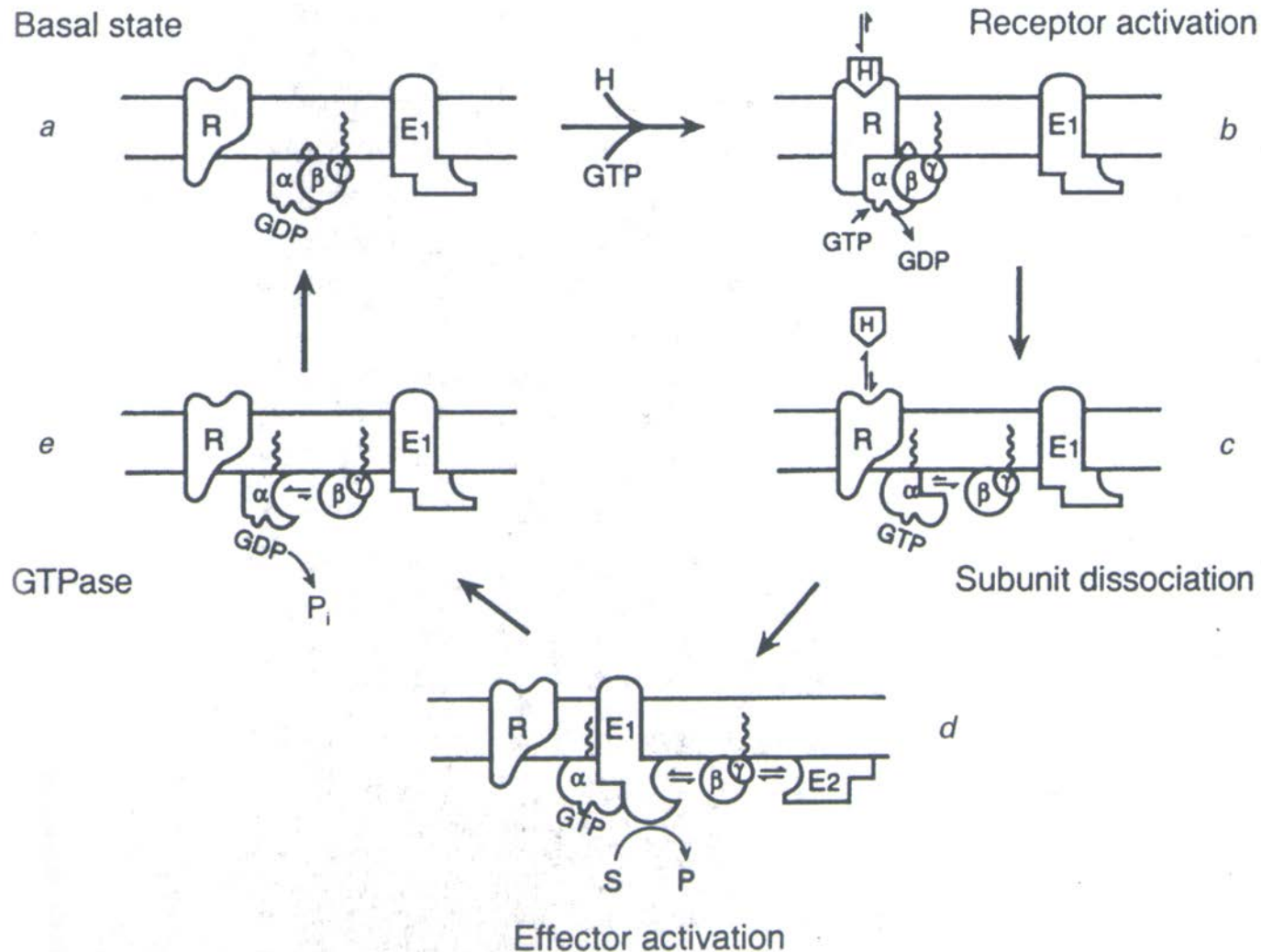
Dlouhodobá potenciace a deprese (LTP a LTD)

Silent synapses

NMDAR – Ca^{2+} signál –
-> CaMKII – inzerce nových
AMPA receptorů. Vysoko-
frekvenční stimulace – LTP
Nízkofrekvenční - LTD

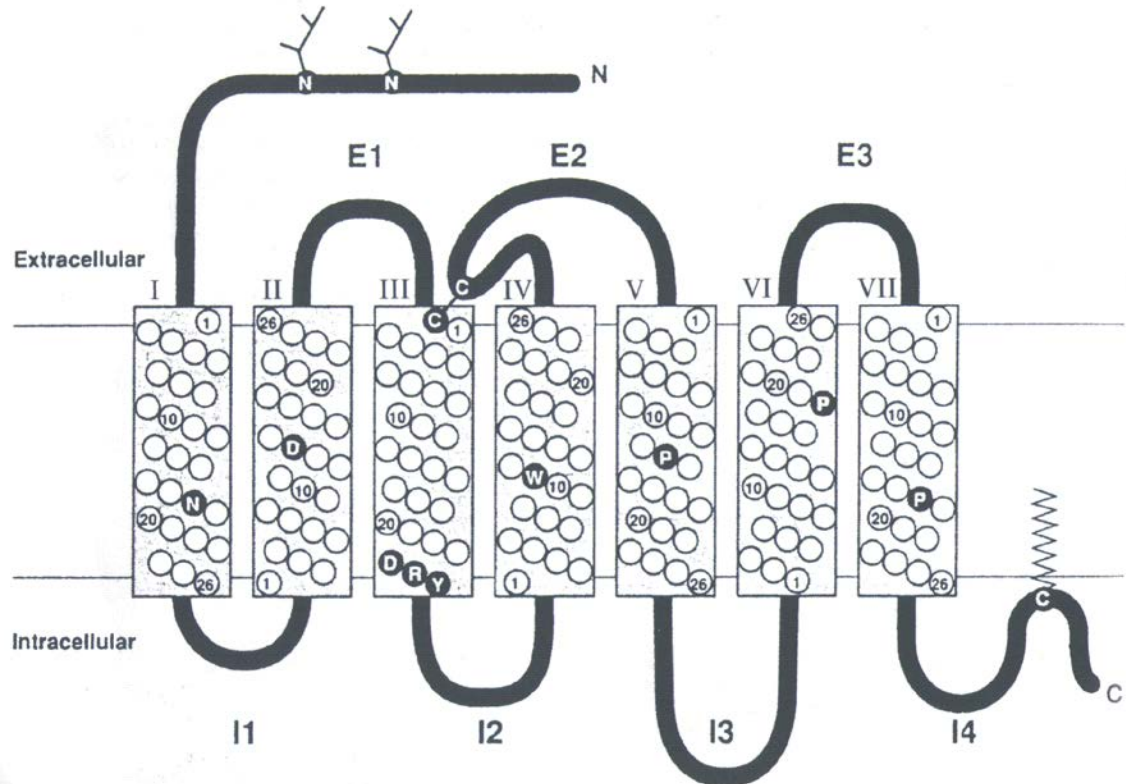
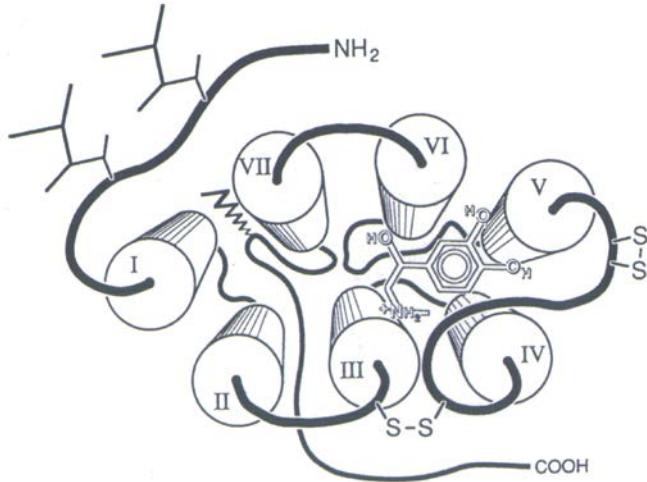


Pomalý synaptický přenos – receptory spřažené s G-proteiny (GPCR)



Topologie GPCR (heptahelikální)

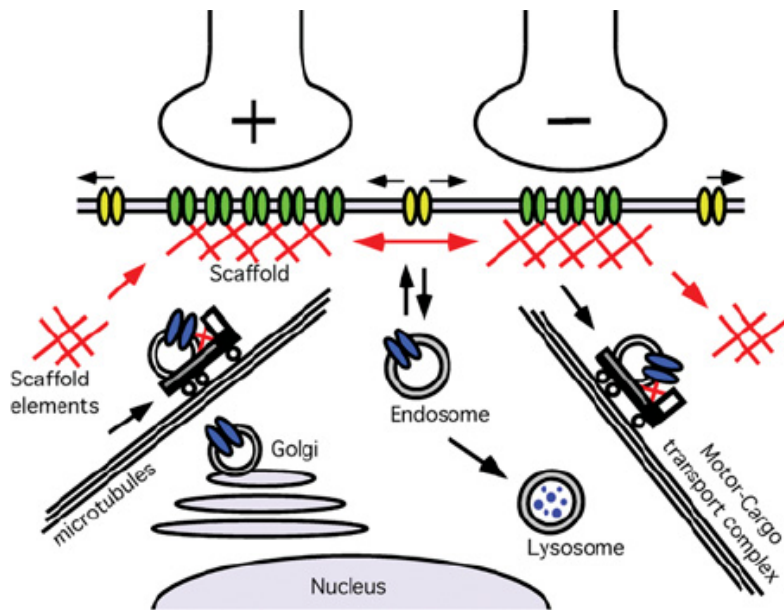
7 TM oblastí, 3 extracelulární a 3-4 intracelulární smyčky, vazebné místo pro agonisty s malou MW je v membráně mezi TM oblastmi, receptory pro peptidy – vazebné místo na prodlouženém N-konci, I2 – I4 (C-konec palmitován) jsou zapojeny v interakcích s G-proteiny.



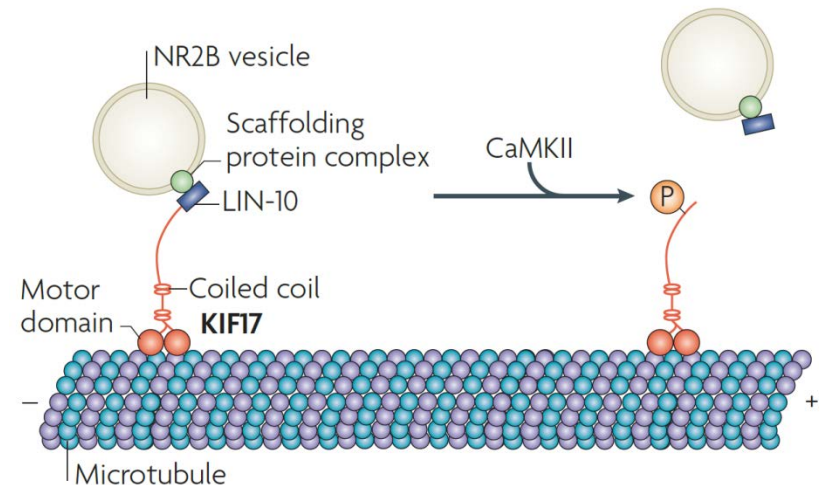
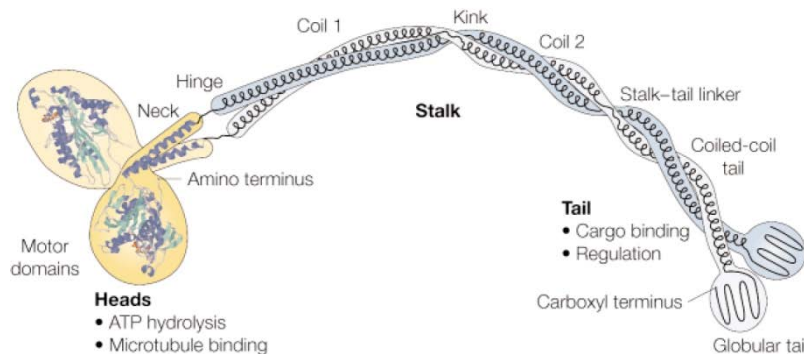
Třídění GPCR:

- A (rhodopsin-like) (acetylcholine, amines, peptides)
- B (secretin receptor family) (peptides, hormones)
- C (mGluR/pheromone) (glutamate, GABA)
- D (pheromone)
- E (cAMP receptors)
- Frizzled

Trafficking, targeting



Anterográdní a retrográdní transport. Mikrotubuly. Myosinové motorické proteiny, kinesin, dynein. Na aktivitě-závislé cílení. Ca – CaMKII – fosforylace motor. proteinů – odpojení váčků. Fosforylace mikrotubulů – přesměrování.



Woehlke, Nat. Rev. MCB, 2000
Hirokawa, Nat. Rev. MCB, 2009