NEAB -2(12)

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И. М. СЕЧЕНОВА

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY
(formerly I. M. Sechenov Physiological Journal)
96 · N 9 · 2010

ФИЗИОЛОГИЯ СИНАПСА: ОТ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МОДУЛЕЙ ДО РЕТРОГРАДНОЙ МОДУЛЯЦИИ

© П. Д. Брежестовский

Средиземноморский институт нейробиологии, INSERM U-901,
Марсель, Франция,
e-mail: pbreges@inmed.univ-mrs.fr

Синапс — сложноорганизованная, специализированная структура, с помощью которой осуществляется быстрое и высокоизбирательное взаимодействие между клетками. Функционирование синапсов, изменения их числа и эффективности лежат в основе восприятия, обработки и закрепления информации, в основе поведения живых организмов. 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. Для нормального функционирования синапсов в нервной системе млекопитающих природа создала около 2000 белков. Ключевыми из них являются рецептор-управляемые и потенциал-зависимые каналы, а также белки, осуществляющие точную колокализацию необходимых синаптических компонент в ограниченном пространстве синапса. Сила синаптической передачи может быть модифицирована благодаря различным факторам, включающим специфический характер активности. Пластичность возбуждающих синапсов непосредственно связана с изменением актинового цитоскелета, активностью кальций-кальмодулин-зависимой киназы CaMKII и функциональных компонент дендритных шипиков. На молекулярном уровне эта регуляция может достигаться изменением локализации синаптических компонент, обратной посттрансляционной модификацией (фосфорилированием, гликозилированием) и степенью экспрессии функциональных белков при изменении кинетики их синтеза и деградации. Интеграция этих процессов может приводить к длительным изменениям эффективности синапсов, лежащих в основе пластичности и памяти.

Ключевые слова: память, синапс, молекулярный модуль, синаптическая мембрана.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 96. № 9. С. 841—860. 2010

R. D. Bregestovski. PHYSIOLOGY OF SYNAPSE: FROM MOLECULAR MODULES TO RETROGRADE MODULATION. Institut de Neurobiologie de la Mediterranee (INMED), 13273 Marseille, France; pbreges@inmed.univ-mrs.fr.

Synapses are highly organized, specific structures assuring rapid and highly selective interactions between cells. Synaptic transmission involves the release of neurotransmitter from presynaptic neurons and its detection by specific ligand-gated ion channels at the surface membrane of postsynaptic neurons. The protenomic analysis shows that for self-formation and functioning of synapses nearly 2000 proteins are involved in mammalian brain. The core complex in excitatory synapses includes glutamate receptors, potassium channels, CaMKII, scaffolding protein and actin. These proteins exist as part of a highly organized protein complex known as the postsynaptic density (PSD). The coordinated functioning of the different PSD components determines the strength of signalling between the pre- and postsynaptic neurons. Synaptic plasticity is

regulated by changes in the amount of receptors on the postsynaptic membrane, changes in the shape and size of dendritic spines, posttranslational modification of PSD components, modulation kinetics of synthesis and degradation of proteins. Integration of these processes leads to long-lasting changes in synaptic function and neuronal networks underlying learning-related plasticity, memory and information treatment in nervous system of multicellular organisms.

Key words: memory, molecular module, synapse, sympathetic membrane.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 96. N 9. P. 841—860. 2010

Мозг человека представляет собой нейрональную 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} [10]. Химические синапсы осуществляют взаимодействие между клетками, трансформируя действие химических передатчиков в электрические сигналы. Эти сигналы преобразуются в специфические паттерны нейрональной активности и модулируют внутриклеточные события, благодаря которым происходят изменения свойств нейронов и нейронных сетей. Функционирование синапсов, измененения их морфологии, числа и эффективности лежат в основе восприятия, обработки и закрепления информации, в основе поведения. Эти принципы касаются не только человека и млекопитающих, но и всего многообразия многоклеточных организмов, имеющих нервную систему.

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.

В данном обзоре будет представлена новая информация об устройстве синаптических комплексов о разнообразии белков, формирующих эти структуры, о молекулярных микродоменах постсинаптической плотности; о дендритных шипиках, их роли в синаптической пластичности и ретроградной модуляции синапсов.

СИНАПС — НЕМНОГО ИСТОРИИ

Синапс — сложноорганизованная, специализированная структура, с помощью которой осуществляется быстрое и высокоизбирательное взаимодействие между клетками. Благодаря этим структурам, содержащим потенциал-зависимые и рецептор-управляемые ионные каналы, электрические сигналы распространяются и обрабатываются нервной системой организмов. Электрический сигнал — потенциал действия — генерируется как результат кратковременной активации натриевых каналов и распространяется по аксону к нервному окончанию. Деполяризация пресинаптического окончания приводит к активации кальций (Ca^{2+})-избирательных ионных каналов. Входящий в пресинапс Ca^{2+} запускает выброс квантов нейромедиатора. Выделившийся из пресинаптической клетки нейромедиатор взаимодействует со специфическими рецепторами, представляющими собой трансмембранные рецептор-управляемые каналы в постсинаптической мембране. Связывание лигандов с рецепторами приводит к открытию этих специализированных белковых комплексов, позволяя ионам проходить через мембрану, изменять потенциал клетки и таким образом осуществлять быструю передачу сигнала

между клетками [2]. Цепочка этих событий — азбучная истина, результат многолетних поисков сотен исследователей.

История развития представлений о передаче сигналов между клетками, о синапсе и его физиологической роли уходит в прошлые столетия. Подобно судьбе многих научных концепций, доказательство существования синапсов и их ключевой роли в функционировании нейронных сетей сопровождали страстные споры, ошибки, интуитивные догадки, а также развитие новых экспериментальных методов исследования. За детальным изложением я отсылаю читателей к специализированным обзорам [23, 52], а здесь коснусь кратко только некоторых ключевых моментов.

Начало нейрофизиологии положили работы прежде всего трех замечательных исследователей: Луиджи Гальвани (1737—1798), который открыл электричество в биологических организмах; Эмиля дю Буа-Реймона (1818—1896), обнаружившего потенциалы действия, а также впервые (1877 г.) высказавшего предположение о химической природе нервно-мышечной передачи, и Германа фон Геймгольца (1821—1894), сделавшего первые оценки скорости распространения электрического сигнала. В 1791 г. Гальвани писал, что «животное электричество» содержится: «если не во всех, то в большинстве частей животных, но проявляется больше всего в мышцах и нервах. Своеобразным и ранее не признанным является то, что оно (электричество), по-видимому, протекает от мышц к нервам или скорее, наоборот, от вторых к первым...» ([28], цит. по: [52]). В этих словах уже содержатся не только предположения важной физиологической роли «животного электричества», представленного «в большинстве частей животных», но и предсказание преимущественной направленности распространения электрического сигнала.

Последующие исследования, особенно работы Альберта фон Колликера [Albert von Kolliker (1817—1905)] и Рудольфа Вирхова [Rudolf Ludwig Carl Virchow (1821—1902)], позволили сформулировать «клеточную доктрину», согласно которой клетки должны рассматриваться как отдельные, изолированные элементы тела. Знаменитое выражение Вирхова «omnis cellula e cellula» («все клетки происходят из клеток») лаконично суммирует эти представления.

Несмотря на общий триумф клеточной теории, во второй половине XIX в. разгорелись споры о том, каким образом клетки, в частности нейроны, взаимодействуют друг с другом. Предложенная в 1871 г. Иосифом фон Герлахом [Josef von Gerlach (1820—1896)] «ретикулярная теория» предполагала, что нервные окончания одних клеток имеют «протоплазматические удлинения», которые проникают в другие клетки и таким образом образуют непрерывную нервную сеть — синцитий. Эту теорию поддерживал и развивал итальянец Камильо Гольджи [Camillo Golgi (1844—1926)], основатель гистологических методов исследования, впервые применивший хром-серебряный метод окрашивания препаратов нервной ткани для микроскопии.

В противовес этим представлениям испанский исследователь Сантьяго Раймон и Кахал [Santiago Ramon y Cajal (1852—1934)] привел серию убедительных морфологических свидетельств того, что «каждая нервная клетка является совершенно автономным образованием» (Cajal, 1888; цит. по: [52]). Одним из убедительных аргументов являлась гистологическая визуализация звездчатых клеток мозжечка, которые образуют корзинообразные структуры вокруг тела клеток Пуркинье (рис. 1). Работы Кахала были перепроверены, приняты и развиты многими гистологами, включая Вильгельма Гиса [Wilhelm His (1831—1904)], который ввел в 1889 г. термин «дендриты» и фон Колликера, одного из «отцов» клеточной доктрины, который в 1896 г. предложил термин «аксоны» (от «axis-cylinders»).

В 1888 г. Кахал впервые описал дендритные шипики (рис. 2, *А*). Он обнаружил эти структуры, используя протокол импрегнации серебром, предложенный Гольджи (главным оппонентом в споре об организации нейронных сетей в нер-

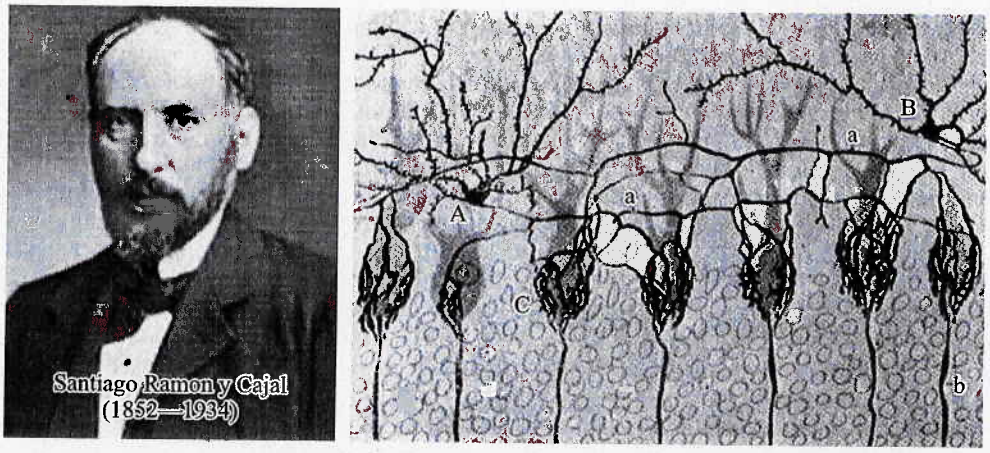


Рис. 1. Сантьяго Раймон и Кахал — пионер исследований организации нервной системы, первооткрыватель синаптических шипиков.

Справа: оригинальный рисунок из первой работы Кахала, опубликованной в 1888 г., в которой он постулирует нейрональную независимость, т. е. изолированность нейронов друг от друга. Срез мозжечка: A и B — звездчатые клетки из молекулярного слоя, чьи аксоны (a) формируют гнезда вокруг клеток Пуркинье (C).

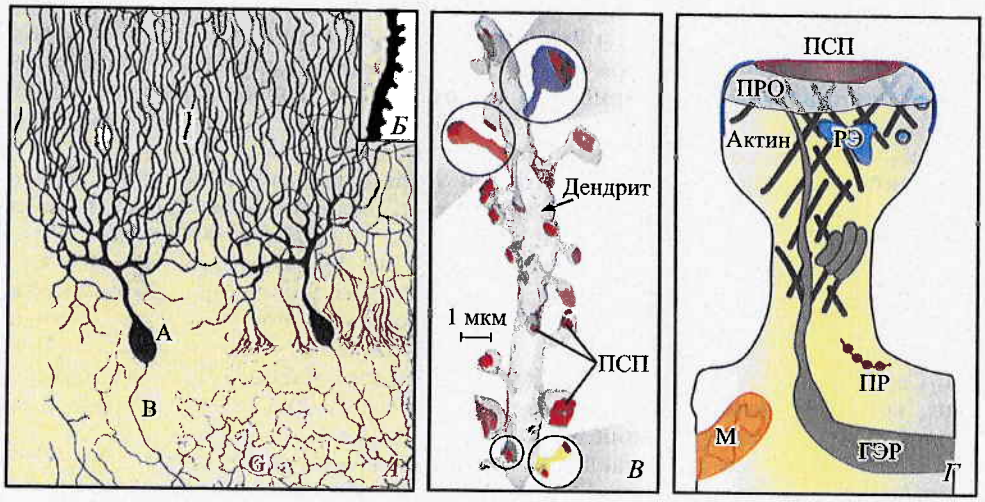


Рис. 2. Дендритные шипики.

А — оригинальный рисунок Кахала, показывающий дендритные разветвления и шипики клеток Пуркинье из мозжечка цыпленка (Cajal, 1888); *Б* (вставка) — увеличенный участок дендрита, иллюстрирующий расположение шипиков; *В* — современная трехмерная электронно-микроскопическая реконструкция дендрита гиппокампа, иллюстрирующая разные формы шипиков: голубой цвет — грибовидные; розовый — тонкие; зеленый — коренастые; желтый — разветвленные. Красным цветом показана постсинаптическая плотность (ПСП), размеры и форма которой также сильно варьируют ([11] с изменениями); *Г* — схематическая диаграмма грибовидного шипика, показывающая постсинаптическую плотность (ПСП — красный), перисинаптическую область мембраны (ПРО — голубой) и некоторые органеллы: рециклические эндососы (РЭ — синий), гладкий эндоплазматический ретикулум (ГЭР — зеленый), полирибосомы (ПР — красный), актин (коричневые трубочки) и митохондрии (М — оранжевый) ([72] с изменениями).

вной системе). Открытие дендритных шипиков сначала было подвергнуто сомнению, так как оппоненты в то время предполагали, что шипикообразные структуры являются артефактом используемого метода и представляют собой преципитаты серебра. Однако в последующих работах, используя другие методы окрашивания, в частности «метиленовый синий», Кахал убедительно доказал, что шипики представляют собой реальные морфологические образования на ответвлениях нейронов [29]. В 1890-х гг. исследования Кахала были подтверждены многими нейрогистологами. Они обнаруживали шипиковые микроструктуры разной формы: похожие на грибообразные выпячивания, кнопки, бутоны. Однако долгое время функция этих образований оставалась загадочной.

В 1892 г. Кахал сделал еще один важный вклад в нейронную теорию, точнее, в физиологию нервной системы, предложив «закон динамической поляризации нейронов». Он предположил, что информация протекает от дендритов к соме и затем — от сомы к аксонам. Эти работы легли в основу научных достижений Кахала, за которые он был удостоен в 1906 г. Нобелевской премии.

Важный вклад в выяснение принципов взаимодействия между нейронами сделал английский исследователь Чарльз Шеррингтон [Charles Scott Sherrington (1858—1952)]. Исследуя спинальные рефлексы, он пришел к выводу, что тонкие окончания одних клеток образуют контакты с сомой или дендритами других клеток. В обзоре, написанном для «Textbook of Physioloogy» (1897) он предложил новый термин: «синапс» (из греческого — «соединение») — специализированное место контакта между нервными клетками.

Эти работы заложили основу современным представлениям об устройстве нейрональных сетей мозга как структур, состоящих из отдельных нейронов и взаимодействующих с помощью синаптических контактов.

Более поздняя история была насыщена замечательными открытиями, связанными с выяснением природы нейромедиаторов (Dale, Loewi, Curtis, Whittaker, Krnjevic), установлением концепций химического синапса (Eccles, Katz, Axelrod, von Euler) и квантового выделения нейромедиатора (Katz, Fatt, Miledi), регистрацией одиночных каналов биологических мембран (Neher, Sakmann) и получением их кристаллической структуры (McKinnon, Gouaux). За эти исследования более 15 ученых были удостоены Нобелевских премий, но подробное изложение этих открытий — сюжет для другого рассказа.

СИНАПС — СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ

Пионерские исследования Кахала, Шеррингтона, их современников и последователей дали начало пониманию принципов организации нервной системы и разнообразия нейронов. Однако 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 [5, 17]. Таким образом, для нормального функционирования синапсов в нервной системе млекопитающих природа создала около 2000 белков! Ошеломляющая сложность, осознание которой приходит только в этом тысячелетии. Несмотря на то что молекулярная организация и механизмы функционирования многих ключевых синаптических белков и их комплексов исследованы достаточно глубоко, функции многих из них еще требуют своего выяснения.

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 сигналь-

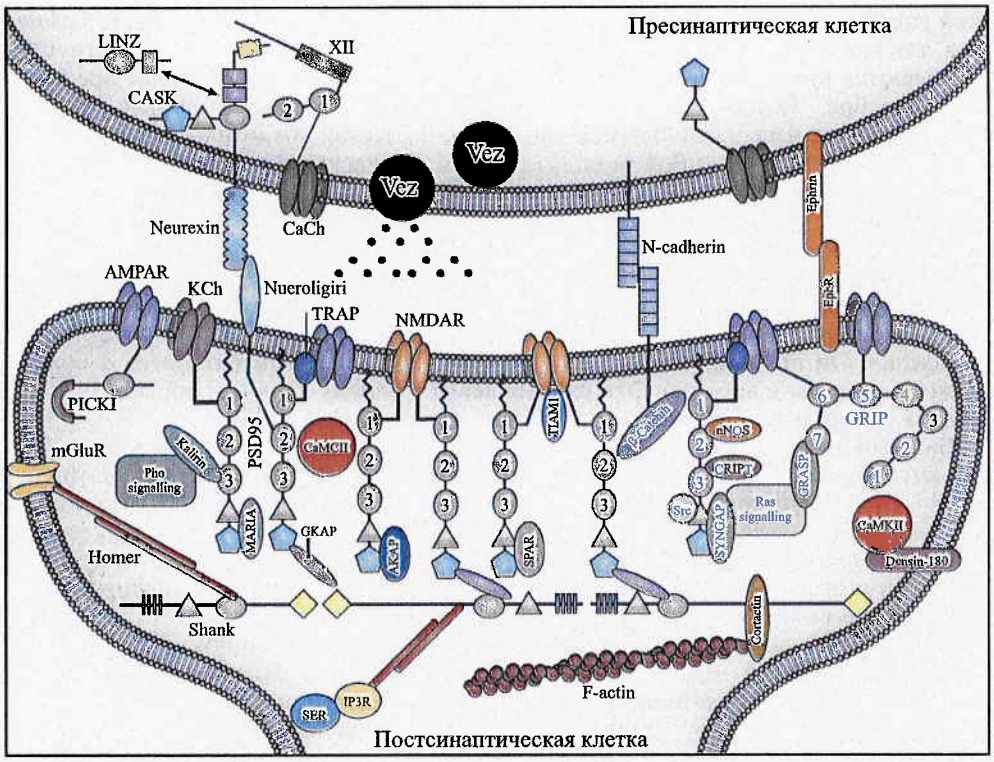


Рис. 3. Схема «многоэтажной» организации синапса и белок-белковых взаимодействий в постсинаптической плотности.

Показаны только основные классы белков. Положения пре- и постсинаптической мембраны фиксировано с помощью трансмембранных белков адгезии (Neurexin, Neuroligin, N-cadherin). Ионотропные глутаматные рецепторы (AMPAR 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.) показаны розовым цветом. Эти белки расположены точно под перисинаптической мембраной, из которой везикулы (Vez) выбрасывают нейромедиатор (глутамат). Вне ПСП, в пресинаптической зоне мембраны, встроены метаботропные 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 (F-actin) ([25] с разрешением).

ные молекулы. Ключевыми из них являются рецептор-управляемые и потенциал-зависимые каналы, а также белки, осуществляющие точную ко-локализацию необходимых синаптических компонент в ограниченном пространстве синапса.

Рассмотрим более подробно архитектуру и молекулярную организацию синапсов, основываясь в основном на примерах возбуждающих синапсов. Хотя многие элементы молекулярного состава и морфологической архитектуры тормозных синапсов отличаются, общие принципы, идеи структурной организации этих молекулярных блоков являются схожими.

На рис. 3 и 6 представлены схемы возбуждающего синапса. Нейромедиатор выбрасывается из пресинаптического окончания аксона и взаимодействует со специфическими рецепторами на поверхности мебраны постсинаптического нейрона. Глутамат, возбуждающий нейромедиатор в центральной нервной системе позвоночных, активирует два класса глутаматных рецепторов: а) ионотропные (имеющие ионные каналы), осуществляющие быструю синаптическую передачу;

б) Ж-белок сопряженные метаботропные рецепторы, запускающие в ответ на глутамат внутриклеточные сигнальные каскады и обеспечивающие медленные реакции.

Разные типы глутаматных рецепторов имеют разные биофизические и фармакологические свойства, отличаются топологией и проявляют различия в распределении на постсинаптической мембране [18, 53, 64, 81]. Основные типы ионотропных рецепторов — AMPA-(α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) и NMDA-(N-methyl-D-aspartic acid) рецепторы [85]. Эти агонист-активируемые каналы проницаемы для ионов натрия и калия, а также в разной степени для ионов Ca^{2+}. Благодаря трансмембранному ионному градиенту активация этих каналов вызывает преимущественный вход ионов натрия в клетку и, следовательно, ее деполяризацию, т. е. возбуждение.

Активация AMPA-рецепторов обеспечивает основную генерацию возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП), а NMDA-рецепторы обеспечивают длительные изменения в эффективности работы синапсов. NMDA-рецепторы обладают несколькими важными свойствами. Во-первых, один только глутамат не может их активировать. Для этого необходимо присутствие ко-агониста — глицина или D-серина [33, 42, 87]. Во-вторых, каналы NMDA-рецепторов блокируются потенциал-зависимым образом ионами магния (Mg^{2+}) [3, 4, 65]. Поэтому даже в присутствии глутамата и глицина при отрицательных потенциалах, близких к потенциалу покоя нейрона (около –70 мВ), эти каналы почти не пропускают ток. Блокирующее действие Mg^{2+} прекращается только при деполяризации нейрона, вызванной активацией AMPA-рецепторов или генерацией потенциалов действия. Таким образом, эти каналы представляют собой «детекторы совпадения событий» («coincidence detector»): только в сочетании с деполяризацией активация глутаматом и глицином приводит к их открыванию. В-третьих, NMDA-каналы высоко проницаемы для ионов Ca^{2+} [4], примерно 10 % тока протекающего через эти каналы осуществляется ионами Ca^{2+} [14]. Поэтому их активация вызывает запуск ряда Ca^{2+}-зависимых внутриклеточных процессов, некоторые из них являются ключевыми для регуляции синаптической пластичности.

Исследования последних лет позволили не только расширить наши представления о принципах функционирования синапса, но также получить многие количественные оценки молекулярной организации его основных микродоменов.

ПОСТСИНАПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ — КЛЮЧЕВОЙ МИКРОДОМЕН СИНАПСА

Архитектура и состав функциональных модулей синапса поражает точностью и целесообразностью организации. Огромное количество высокоспециализированных компонент располагается в определенных микродоменах и в результате формируется сложный, гармонично работающий молекулярный блок, осуществляющий передачу межклеточных сигналов (рис. 3).

Пресинаптическая область содержит синаптические везикулы диаметром примерно 40 нм. Они находятся в области утолщения пресинаптической мембраны: активной зоны, 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 экстрасинаптической адгезии и внутриклеточные постсинаптические компоненты, формирующие сложноорганизованный многокомпонентный белковый микродомен, называемый постсинаптической плотностью (ПСП, PSD — postsynaptic density) [38, 89]. На электронно-микроскопических фотографиях эта структура представляет собой диск шириной 200—800 нм (в среднем 300—400 нм) и толщиной 30—50 нм [72]. ПСП выполняет широкий спектр специализированных функций,

связанных с приемом, обработкой и регуляцией постсинаптических сигналов, а также модификацией размеров и морфологии шипиков.

В формирование ПСП и выполнение этим клеточным микродоменом специфических задач вовлечено огромное количество белков. Например, в препаратах мозга мыши, содержащих кору, средний мозг, мозжечек и гиппокамп, было идентифицировано от 700 до более 1500 разных белков, предположительно являющихся компонентами ПСП [17, 83]. Маловероятно, что один синапс может содержать все эти белки. Синапсы даже одного класса являются гетерогенными образованиями и, по-видимому, каждый синапс содержит часть этих белков, необходимых для его специфического функционирования. В любом случае очевидно, что ПСП является одним из наиболее сложных функциональных микродоменов эукариотической клетки.

В «ключевой комплекс» ПСП входит около 120 белков [26]. Многие из них были идентифицированы и анализированы ранее в электрофизиологических, биохимических, иммуноцитологических и молекулярно-биологических исследованиях. Они включают ионотропные (AMPA, NMDA) и метаботропные (mGluRs) рецепторы и калиевые каналы [17, 26, 41]. Среди них также кальций-калмодулин-зависимая протеин киназа II (CaMKII), синаптический Ras GTPase-активируемый белок I (SYNGAP I), актин и десятки других макромолекул, необходимых для функционирования синапса (рис. 3). Они классифицированы в несколько категорий: мембранные рецепторы; макромолекулы клеточной адгезии; сигнальные белки, включающие киназы, фосфатазы и их регуляторы; «арматурные» белки (scaffold proteins); белки цитоскелета и мембранного транспорта [16]. Многие из этих белков кодируются генами, мутационные изменения которых вызывают болезни и отклонение от нормы поведения человека [26].

Координированное функционирование разных компонент комплекса ПСП регулируется как внутри постсинапса, так и снаружи взаимодействием с пресинаптическими нейронами. На молекулярном уровне эта регуляция может достигаться изменением локализации белков [55, 74] обратной посттрансляционной модификацией, т. е. фосфорилированием [76], гликозилированием [84], и изменением экспрессии функциональных белков при изменении кинетики их синтеза и деградации [24]. Интеграция этих процессов может приводить к длительным изменениям эффективности синапсов, лежащих в основе пластичности и памяти [10, 30, 46, 55].

Например, плотность рецепторов NMDA имеет тенденцию к возрастанию в направлении к центру постсинаптической области, в то время как рецепторы AMPA расположены более гомогенно и их количество резко падает только у границы ПСП [39]. Как правило, метаботропные глутаматные рецепторы обрамляют территорию активного синапса, создавая в перисинаптической области как бы «кольцевую дорогу» вокруг ПСП. Такой характер распределения предполагает, что разные типы глутаматных рецепторов используют разные молекулярные модули для заякоривания в зоне синапса. Одной из функциональных причин такого распределения мы коснемся позже, в разделе ретроградной модуляции синаптической передачи.

В плане структурной организации постсинаптическая плотность яляется сетью белковых филаментов и белковых модулей, представляющих собой ансамбли из большого числа специфически взаимодействующих друг с другом белков (рис. 3). Очень важными из них являются «арматурные» белки (scaffold proteins), макромолекулы, имеющие специализированные модули (например, PDZ домены) для взаимодействия с определенными белками и, таким образом, представляющие собой каркас, на котором строится «здание» ПСП. Например, «арматурный» белок PSD-95 имеет три PDZ домена, которые специфически «заякоривают» NMDA-рецепторы, калиевые каналы и ряд других молекул, обеспечивая их ко-локализацию (рис. 3). PSD-95 относится к семейству многодоменных мембранных белков, известных как мембран-ассоциированные гомологи гуанилаткиназы (MAGuKs). В целом они представляют так называемый MASC комплекс

(MAGuK Associated Signalling Complex) [31]. «Арматурными» белками являются также GKAP, SAP97, Shank и Homer (см. подробности в обзорах [25, 41]). «Арматурные» белки обеспечивают встраивание разных подтипов глутаматных рецепторов в определенные участки постсинаптической мембраны, регуляцию их относительного количества и плотности, встраивание и интернализацию и ряд других функций [64, 72]. Регулируемое встраивание глутаматных рецепторов в постсинаптическую мембрану или их интернализация в зоне ПСП служит важным механизмом, обеспечивающим пластичность синапса и нервной системы в целом.

Удивительными оказались данные о том, что количество «арматурных» белков в постсинаптической плотности значительно превышает число глутаматных рецепторов [64, 72]. Например, в возбуждающих синапсах мозга млекопитающих имеется в среднем около 20 NMDA-рецепторов. Их число примерно фиксировано. Число AMPA-рецепторов в постсинаптической мембране сильно варьирует — в пределах 1—200 рецепторов на синапс. Типичная ПСП содержит 300—600 MAGUK белков и примерно 150 других компонент, включая Shank белки, анкирины и другие молекулы, содержащие SH3 домены [25].

Таким образом, 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 [72]. Следующие этажи формируют «арматурные», сигнальные, цитоскелетные и другие белки (рис. 3). По-видимому, такая организация и количественное соотношение белковых компонент потенциально обеспечивают структурную базу для физиологической регуляции эффективности синаптической передачи через модификацию числа рецепторов глутамата и функциональных микромодулей, обеспечивающих кратковременную и длительную пластичность синапсов.

ПЛАСТИЧНОСТЬ СИНАПСА И ДЕНДРИТНЫЕ ШИПИКИ

Одним из фундаментальных свойств мозга является синаптическая пластичность — положительные или отрицательные изменения эффективности связи между нейронами в ответ на нейрональную активность. Другими словами, пластичность — это процесс усиления или ослабления передачи синаптического сигнала. Это свойство является важным для формирования и функционирования нейрональных сетей, процессов запоминания и обучения.

В синапсах нейронов гиппокампа и других областях мозга обнаружено несколько форм синаптической пластичности. Основные из них — *длительная потенциация* и *длительная депрессия* (рис. 4, *А*). Длительная потенциация — это процесс усиления синаптической связи. Явления синаптической потенциации были описаны давно. В спинном мозге Ллойд [51] обнаружил кратковременную потенциацию, которая длилась несколько минут. Позднее было показано, что при длительной тетанической стимуляции посттетаническая потенциация может сохраняться на протяжении часов [35, 78]. В 1973 г. Блисс и соавт. [8, 9] обнаружили явление посттетанической потенциации в синапсах гранулярных клеток зубчатой фасции гиппокампа кролика. После кратковременной высокочастотной стимуляции потенциация сохранялась на протяжении многих часов. Это явление удивительной синаптической пластичности было названо «длительная потенциация» (long-term potentiation, LTP) и вызвало огромный интерес. Позднее эта модель была использована в тысячах экспериментальных работ, анализирующих синаптическую пластичность в срезах гиппокампа и других участках мозга.

Длительная депрессия (LTD — long-term depression) — это длительное уменьшение синаптической активности (рис. 4). Если длительная потенциация вызывается короткой высокочастотной стимуляцией (1 с, 100 Гц), то длительная депрессия проявляется после стимуляции синапсов с низкой частотой (1 Гц) на протя-

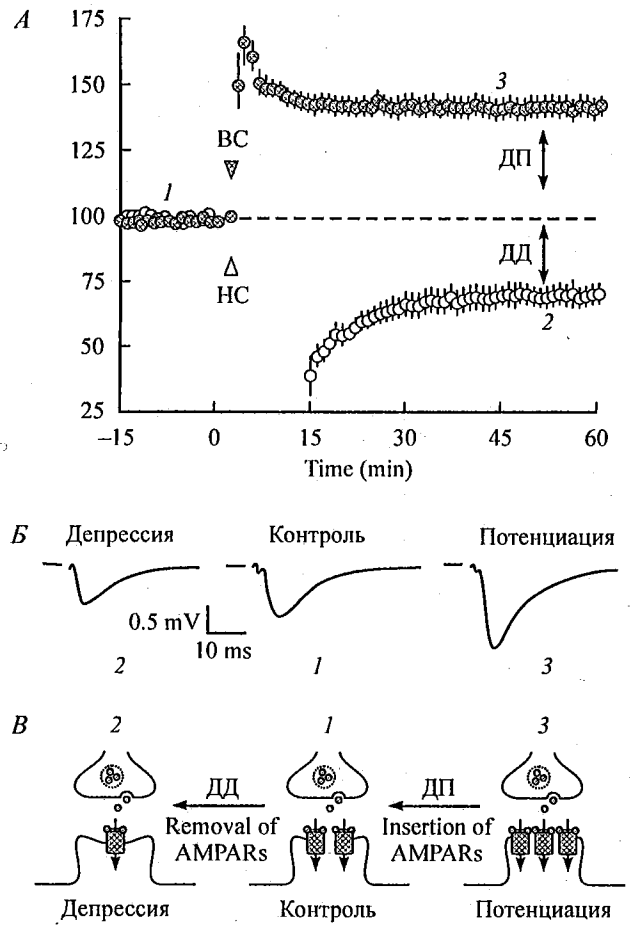


Рис. 4. Пластичность синапса: длительная потенциация и длительная депрессия.

А — примеры типичной длительной потенциации (ДП, *черные кружочки*) и длительной депрессии (ДД, *белые кружочки*), вызванные соответственно кратковременной высокочастотной стимуляцией (ВС) и длительной (15 мин) низкочастотной стимуляцией (НС); *Б* — примеры возбуждающих постсинаптических потенциалов, измеряемых от синапсов на базальном уровне (*1*), после протокола длительной депрессии (*2*) и длительной потенциации (*3*); *В* — иллюстрация встраивания и убирания АМРА-рецепторов при длительной потенциации (*3*) и депрессии (*2*) ([26] с изменениями и разрешением).

жении длительного периода времени (10—15 мин) [22]. Пластические изменения при длительной потенциации или при длительной депрессии рассматриваются как модели процессов обучения и памяти [7, 59, 73], хотя последние явления несомненно намного более сложные.

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 сложноорганизованные субклеточные компартменты [11, 71, 77], 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 (рис. 3). Размеры и форма шипиков значительно различа-

ются даже в пределах небольшого дендритного участка. В зависимости от формы, дендритные шипики разделили на несколько категорий (рис. 2, *В*).

1. «Грибовидные» шипики (mushroom spines) имеют большую, достаточно широкую головку и узкую шейку.

2. «Тонкие» шипики (thin spines) имеют небольшую головку и тонкую шейку.

3. «Коренастые» шипики имеют широкую шейку и головка на ее фоне не выделяется.

4. «Филоподии» представляют собой тонкие, длинные, вытянутые образования.

5. «Разветвленные» шипики (branched spines) имеют несколько головок, образованных от общего основания (шейки), являющиеся в основном многосинаптическими.

В серии работ К. Харрис, М. Стюарт, С. Попов и их соавт. [70, 71, 77] провели тщательный анализ ультраструктурной организации дендритных шипиков, дающий важную информацию о морфологической организации синапсов и некоторые количественные оценки. Плотность шипиков сильно варьирует и может достигать нескольких сот на кубический микрон. Например, в среднем молекулярном слое зубчатой фасции гиппокампа крысы имеется около 330 синапсов на кубический микрон. Из общего числа популяции шипиков в этом участке мозга крысы «тонкие» шипики составляют примерно 80 %, «грибовидные» шипики — около 12 %, остальные — многосинаптические структуры [71].

Из-за наличия вытянутой шейки шипики представляют собой микрокомпартменты, в которых биохимические изменения в районе одного синапса могут быть изолированными от других синапсов того же нейрона. Большие шипики могут иметь гладкий эндоплазматический ретикулум, полирибосомы, эндосомальные компартменты и находиться в окружении астроглии [11], что предполагает их высокую функциональную эффективность при действии глутамата, локальной регуляции ионов Ca^{2+}, встраивания и эндоцитоза рецепторов, а также взаимодействия с астроглией.

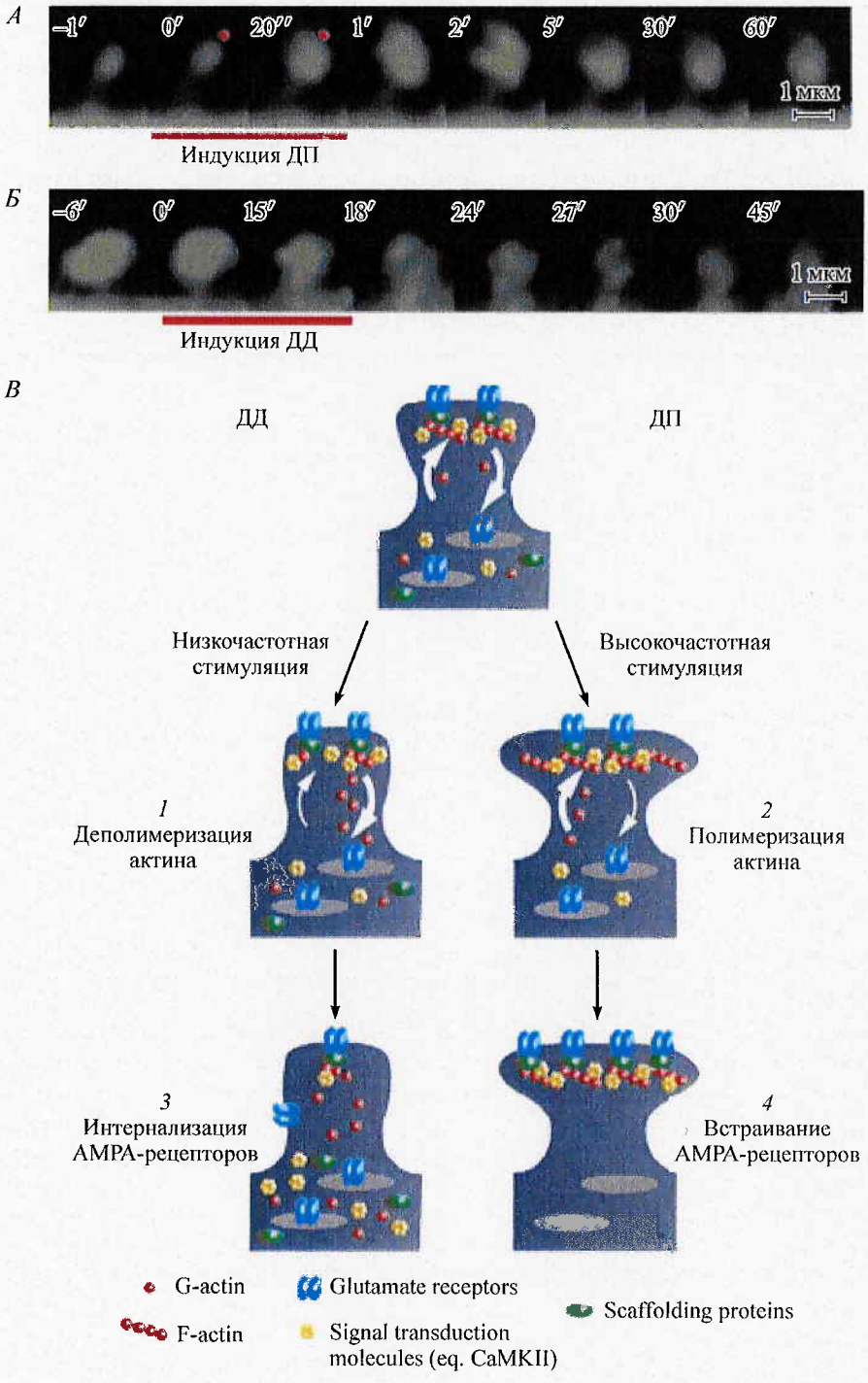
Анализ молекулярных механизмов морфогенеза и модуляции размеров шипиков позволил углубить понимание их роли в функционировании нервной системы как морфологических структур, обеспечивающих синаптическую пластичность, лежащую в основе памяти и длительного хранения информации.

ПЛАСТИЧНОСТЬ СИНАПСА И ЦИТОСКЕЛЕТ

Исследования физиологии возбуждающих синапсов выявили удивительную подвижность глутаматных рецепторов. Кроме интенсивно анализируемого в конце 90-х гг. механизма встраивания и интернализации глутаматных рецепторов [56, 57] в последние годы были обнаружены быстрые латеральные обмены AMPA-рецепторами между областью ПСП и внесинаптической зоной [80, 82]. Более того, оказалось, что скорость латеральной подвижности коррелирует с локальной активностью работы синапса. Было показано, что кратковременное резкое повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} (uncaging) уменьшает латеральную подвижность экстрасинаптических AMPA-рецепторов, в то время как снижение внутриклеточной концентации Ca^{2+} (хелатирование) приводит к возрастанию подвижности [64].

Более того, было показано, что фармакологические стимулы, которые имитируют длительную потенциацию, уменьшают скорость латеральной диффузии, а стимулы, вызывающие длительную депрессию, приводят к увеличению подвижности рецепторов в синаптической зоне [80]. Предполагается, что Ca^{2+}-зависимое изменение состояния цитоскелета в дендритах и шипиках является одним из ключевых факторов, влияющих на латеральную подвижность рецепторов.

Основным цитоскелетным белком в дендритных шипиках является актин [62]. Он выполняет две важные функции: как основной каркас механической стабиль-


А
–1′
0′
20″
1′
2′
5′
30′
60′
1 мкм
Индукция ДП
Б
–6′
0′
15′
18′
24′
27′
30′
45′
1 мкм
Индукция ДД
В
ДД
ДП
Низкочастотная стимуляция
Высокочастотная стимуляция
1
Деполимеризация актина
2
Полимеризация актина
3
Интернализация AMPA-рецепторов
4
Встраивание AMPA-рецепторов
G-actin
F-actin
Glutamate receptors
Signal transduction molecules (eq. CaMKII)
Scaffolding proteins

ности шипиков и как «арматурный» белок, к которому «заякориваются» многие другие белки ПСП. Актин существует в двух формах, находящихся в динамическом равновесии: G-актин — мономерная глобулярная форма и F-актин — филаменты, состоящие из разного числа мономеров актина. Это равновесие модулируется несколькими актин-связывающими белками. Некоторые из них, например коффилин (coffilin), стимулируют деполимеризацию F-актина; другие, например профилин (profilin), способствуют полимеризации, удлинению актиновых филаментов.

Предполагается, что структура шипиков зависит от состояния актина и регулируется благодаря координированной активности актин-связывающих белков. Основанием для этих предположений являются результаты работ, выполненных с помощью усовершенствованных методов флуоресцентной микроскопии, в особенности двухфотонной, в сочетании с использованием генетически кодируемых флуоресцентных зондов. Они позволили визуализировать процессы морфологических изменений дендритных шипиков в живой ткани в реальном процессе времени. 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 [62, 67]. Было показано, что стимуляция, вызывающая длительную потенциацию, приводит к увеличению объема головки шипиков, и это сопровождается повышением формирования актиновых филаментов (рис. 5). Протокол, вызывающий длительную потенциацию локально в районе одного дендритного шипика, приводил к быстрому увеличению его объема (за 20 с), который достигал максимума примерно за 60 с [61] (рис. 5, *А*). Изменение размеров шипиков сохранялось как минимум в течение часа.

Более того, было показано, что разрушение актиновых филаментов деполимеризующими агентами предотвращает подвижность шипиков [62] и экспрессию длительной потенциации, хотя не блокирует кратковременную потенциацию [15, 40, 44].

Прямое доказательство вовлечения актинового цитоскелета в синаптическую пластичность было получено с помощью флуоресцентного анализа, позволяющего визуализировать F-актин/ G-равновесие. Было показано, что локальная тетаническая стимуляция (протокол длительной потенциации) вызывает быстрый сдвиг равновесия в сторону F-актина, сопровождающийся увеличением головки шипика. И наоборот, протокол, вызывающий длительную депрессию, приводил к сдвигу равновесия в сторону G-актина [68]. Эти исследования дают основание предполагать, что актиновый цитоскелет является необходимым как для функциональной, так и для структурной длительной пластичности синапса.

Среди многих молекул, вовлеченных в синаптическую активность, одним из наиболее важных компонент длительной потенциации является кальций-калмодулин-зависимая киназа CaMKII [46, 47, 75]. Оказалось, что ингибирование этой се-

---

Рис. 5. 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 в размерах при протоколе длительной депрессии (*Б*) ([67] с изменениями); *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 организации компонент ПСП (*4*). Наоборот, длительная низкочастотная стимуляция (протокол длительной депрессии) приводит к сдвигу равновесия в сторону G-актина (слева). При этом происходит деполимеризация актиновых филаментов, уменьшение размеров шипиков (*1*), уменьшение числа AMPA-рецепторов в постсинаптической мембране (*3*) и снижение структурной организации компонент ПСП ([29] с изменениями и разрешением).

рин-треониновой киназы блокирует длительную потенциацию [32, 54, 58], а инъекция ее активной формы приводит к увеличению синаптических ответов, генерируемых через AMPA-рецепторы, и вызывает окклюзию длительной потенциации [50].

CaMKII также вовлечена в структурную пластичность шипиков. Вход Ca^{2+} через NMDA-каналы и CaMKII вызывали длительную фазу увеличения размеров шипиков. В то же время низкочастотная стимуляция, вызывающая длительную депрессию синаптической передачи, приводила к уменьшению объема шипиков [67, 68]. Было также показано, что ингибиторы CaMKII предотвращают индуцируемое глутаматом увеличение дендритных шипиков, и этот процесс просходил вследствие регуляции CaMKII состояния актинового цитоскелета [61].

Таким образом, физиологически пластичность возбуждающих синапсов непосредственно связана с морфогенезом, изменением актинового цитоскелета и функциональным состоянием дендритных шипиков (рис. 5).

РЕТРОГРАДНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ — ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ СИНАПСОВ

Важной формой кратковременной пластичности является быстрая регуляция эффективности синаптической передачи, осуществляемая путем ретроградной сигнализации. Термин «ретроградная сигнализация» означает явления, в основе которых лежит механизм обратной связи: изменения в постсинаптическом нейроне индуцируют выработку сигнала, который передается обратно (ретроградно) на пресинапс и вызывает изменения эффективности его работы. Таким образом, ретроградная сигнализация представляет собой инструмент, с помощью которого постсинаптические нейроны обеспечивают эффективный контроль над сигналами от пресинапсов.

В возбуждающих и ингибиторных синапсах нервной системы позвоночных один из основных принципов ретроградной синаптической модуляции осуществляется через эндогенную каннабиноидную систему. Эта система и механизмы ретроградной регуляции подробно описаны в ряде обзоров [1, 20, 27, 36], поэтому здесь я коснусь кратко только некоторых аспектов.

В начале 1990-х гг., было обнаружено загадочное явление, названное довольно многословно: «индуцированное деполяризацией подавление торможения» (в английской транскрипции «depolarization-induced suppression of inhibition», DSI) [21, 60, 69]. В экспериментах на клетках Пуркинье срезов мозжечка [49], а затем на пирамидных нейронах поля CA1 срезов гиппокампа [69] было показано, что деполяризация постсинаптического нейрона вызывает обратимое угнетение ГАМК-ергических синаптических сигналов, длящееся в течение нескольких десятков секунд. Дальнейший анализ установил три важных свойства DSI: а) индуцируется постсинаптически; б) запускается в результате повышения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в постсинаптическом нейроне и в) проявляется как подавление выброса нейромедиатора из пресинаптических окончаний. Предполагалось, что в основе явления DSI лежит ретроградный фактор, который вырабатывается в постсинаптическом нейроне в ответ на повышение Ca^{2+}. Однако природа этого фактора долго оставалась загадочной.

Только в этом столетии произошел прорыв, когда несколько лабораторий привели доказательства, что Ca2+-индуцируемым ретроградным фактором, выделяющимся из постсинаптических нейронов, являются эндоканнабиноиды — эндогенно продуцируемые молекулы производные арахидоновой кислоты [19, 86]. В настоящее время предполагается существование нескольких эндоканнабиноидов, однако наиболее строго доказанными и изученными являются два: анандамид (АНА) от слова «ananda» («блаженство») и 2-арахидоноилглицерин (2-АГ). В центральной нервной системе млекопитающих, по-видимому, наиболее функционально

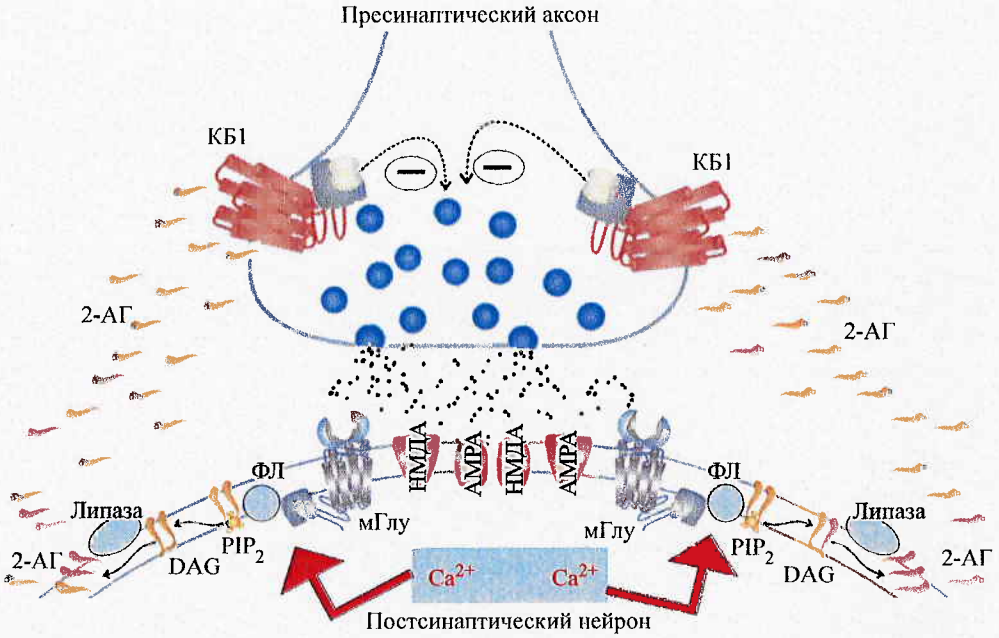


Рис. 6. Схема ретроградной модуляции синаптической передачи в глутаматергическом синапсе.

Выделяющийся из пресинаптического аксона глутамат активирует рецепторы на постсинаптической мембране, включая расположенные в пресинаптической области метаботропные глутаматные рецепторы (мГлу). Это стимулирует через Ж-альфа субъединицы активацию фосфолипазы С (ФЛ) и последующее возрастание образования диацилглицерола (DAG), который конвертируется диацилглицероллипазой (Липаза) в 2-АГ. Образовавшийся 2-АГ достигает постсинаптической мембраны и взаимодействует с каннабиноидными рецепторами (КБ1). Постсинаптический Ca^{2+} также может стимулировать производство 2-АГ стимуляцией фосфолипазы С (ФЛ) или другими путями, требующими своего выяснения. Возрастание этого Ca^{2+} может осуществляться при активации кальциевых каналов или NMDA-рецепторов. На постсинаптической мембране КБ1 рецепторы ингибируют аденилатциклазу и угнетают активность протеинкиназы А. В результате стимулируемое возрастание Ca^{2+} в пресинаптическом окончании уменьшается (--) и ингибируется выброс квантов нейромедиатора.

распространенным является 2-АГ [79]. Установлено, что основным биосинтетическим ферментом 2-АГ является диацилглицерол липаза-альфа (DGL-α).

Предполагается следующая цепочка событий, приводящих к ретроградной модуляции выброса нейромедиатора из пресинаптического окончания. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в деполяризованном постсинаптическом нейроне приводит к синтезу эндоканнабиноидов, их выходу из пресинаптической мембраны, диффузии через синаптическую щель и последующей активации каннабиноидных рецепторов, расположенных на пресинаптической мембране (рис. 6). Активация этих каннабиноидных рецепторов ведет к уменьшению стимулируемого роста концентрации Ca^{2+} в пресинаптическом окончании и в конечном итоге к уменьшению выброса нейромедиатора (рис. 6).

К настоящему времени клонированы два типа каннабиноидных рецепторов (КР1 и КР2). Они принадлежат к суперсемейству Ж-белок сопряженных рецепторов. В клетках центральной нервной системы обнаружены в основном КР1 , которые экспрессируются преимущественно на пресинаптических аксонных окончаниях [27]. Количественные оценки числа этих рецепторов поражают: пресинаптические терминали ГАМКергических синапсов гиппокампа содержат до 450 каннабиноидных рецепторов [66].

Молекулярная архитектура, лежащая в основе этого механизма, оказалась высококонсервативной в разных типах синапсов. Торможение синаптической передачи, ретроградно индуцируемое эндоканнабиноидами, было показано для ГАМКергических [19, 86], глутаматергических [43] и глицинергических [13, 63] синапсов. Таким образом, этот вид синаптической пластичности — широко распространенное явление в нервной системе позвоночных. Эндоканнабиноиды синтезируются в стимулируемых нейронах «по необходимости» («on demand») и по принципу отрицательной обратной связи выполняют защитную функцию от сверхактивации выброса нейромедиатора из пресинаптического окончания и сильного возрастания активности синапса.

Недавние исследования позволили обнаружить удивительную связь между микродоменной организацией дендритных шипиков и ретроградной модуляцией синаптической передачи. Оказалось, что важную роль в ретроградной сигнализации играют метаботропные глутаматные рецепторы (мГлуР) и диацилглицерол липаза [88]. Как уже отмечалось, мГлуР в отличие от AMPA и NMDA располагаются перисинаптически, т.е. вне зоны ПСП. Количественные нейроанатомические наблюдения показали, что метаботропные глутаматные рецепторы первого типа (мГлу1) и диацилглицерол липаза проявляют удивительно закономерную постсинаптическую ко-локализацию. Оба белка находятся перисинаптически в районе примерно 100 нанометровой зоны вокруг постсинаптической плотности [88]. Более того, оба белка имеют домены взаимодействия с одним и тем же «арматурным» белком — HOMER [12, 34].

Эти данные позволили предположить следующий сценарий ретроградной модуляции эндоканнабиноидами (рис. 6, см. детали в [37]). Диффундирующий после выделения из пресинаптического окончания глутамат взаимодействует с мГлу рецепторами, которые через G-белковую систему активируют диацилглицеролипазу и стимулируют синтез 2-АГ. Синтезируемый таким образом эндоканнабиноид пересекает синаптическую щель и взаимодействует с пресинаптическими КБ1-рецепторами. Их активация вызывает уменьшение стимулируемого входа Ca^{2+} в пресинаптическое окончание и уменьшение везикулярного выброса нейромедиатора (рис. 6).

Многие детали этой цепочки событий требуют еще дальнейшего выяснения. В частности, каким образом липофильные молекулы 2-АГ покидают пресинаптическую мембрану для пересечения синаптической щели? Каким образом происходит стимуляция синтеза 2-АГ в ингибиторных синапсах? Однако данные по модуляции экспрессии HOMER белка, определению серингидролазы, разрушающей 2-АГ [6], находятся в согласии с этим интересным гипотетическим сценарием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В кратком обзоре невозможно охватить полученные в результате многолетних исследований данные и многообразие факторов, определяющих физиологию, структуру, функции и молекулярную организацию замечательного творения природы — синапса. Выделим в заключение только некоторые моменты.

В последние годы получены данные, позволившие расширить наше понимание функций синаптических контактов и свойств дендритов в синаптической и нейрональной пластичности. В отличие от ранее предполагаемой роли дендритов как пассивных проводников электрических сигналов оказалось, что они — активные проводники, модулирующие локально синаптическую активность, в большой степени благодаря особым образованиям — дендритным шипикам. Было обнаружено, что структурные, молекулярные, электрические и химические свойства дендритов определяют функциональный фундамент для суммирования активных синапсов и формируют иерархические взаимоотношения между синап-

тическими входами и нейрональным выходом. Молекулярные и физиологические механизмы, обеспечивающие модуляцию синаптических связей и дендритных функций, наделяют эту систему огромной гибкостью и мощностью. Обратная связь между активностью синапсов и окружающих участков дендритов, благодаря которой изменения силы синаптической связи регулируют дендритную возбудимость, являются важными факторами в формировании и функционировании нейрональных микросетей и создании длительных стабильных нейрональных связей.

Накопленная к настоящему времени информация открывает новые горизонты для формирования наших представлений о процессах запоминания и механизмах памяти. Связь между дендритами и пластичностью имеет важное значение для нейронального гомеостаза, и его нарушения могут приводить к ряду заболеваний, интенсивно изучаемых в последние годы.

Работа выполнена при поддержке гранта HEALTH-F2-2008-202088 (Neurocypres) Европейской 7-й Рамочной программы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] *Брежестовский П. Д., Хаспеков Л. Г.* Модуляция синаптической передачи, индуцируемая кальцием. Биологические мембраны. 24(1): 32—42. 2007.

[2] *Катц Б.* Нерв, мышца и синапс. М. Мир. 1968.

[3] *Ascher P., Bregestovski P., Nowak L.* N-methyl-D-aspartate-activated channels of mouse central neurones in magnesium-free solutions. J. Physiol. 399: 207—226. 1988.

[4] *Ascher P., Nowak L.*The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture. J. Physiol. 399: 247—266. 1988.

[5] *Bayes A., Grant S. G.* Neuroproteomics: understanding the molecular organization and complexity of the brain. Nature Rev. Neurosci. 10: 635—646. 2009.

[6 *Blankman J. L., Simon G.M., Cravatt B. F.* A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. Chem. Biol. 14: 1347—1356. 2007.

[7] *Bliss T. V., Collingridge G. L.* A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature. 361: 31—39. 1993.

[8] *Bliss T. V. P., Gardner-Medwin A. R.* Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J. Physiol. 232: 357—374. 1973.

[9] *Bliss T. V. P., Lomo T.* Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J. Physiol. (London). 232 (33): 1—56. 1973.

[10] *Blitzer R. D., Iyengar R., Landau E. M.* Postsynaptic signaling networks: cellular cogwheels underlying long-term plasticity. Biol. Psychiatry. 57(2):113—119. 2005.

[11] *Bourne J. N., Harris K. M.* Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines. Annu. Rev. Neurosci. 31: 47—67. 2008.

[12] *Brakeman P. R., Lanahan A. A., O'Brien R., Roche K., Barnes C. A., Huganir R. L., Worley P. F.* Homer: a protein that selectively binds metabotropic glutamate receptors. Nature. 386: 284—288. 1997.

[13] *Bregestovski P., Mukhtarov M.* Synaptic function and modulation of glycine receptor channels in the hypoglossal nucleus. Neurophysiol. 39(4/5): 338—349. 2007.

[14] *Burnashev N., Zhou Z., Neher E., Sakmann B.* Fractional calcium currents through recombinant GluR channels of the NMDA, AMPA and kainate receptor subtypes. J. Physiol. 485 (Pt 2): 403—418. 1995.

[15] *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. 27: 5363—5372. 2007.

[16] *Cheng D., Hoogenraad C. C., Rush J., Ramm E., Schlager M. A., Duong D. M., Xu P., Wijayawardana S. R., Hanfelt J., Nakagawa T., Sheng M., Peng J.* Relative and absolute quantification of postsynaptic density proteome isolated from rat forebrain and cerebellum. Mol. Cell Proteomics. 5: 1158—1170. 2006.

[17] *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. 97 (Suppl. 1): 16—23. 2006.

[18] *Cull-Candy S., Kelly L., Farrant M.* Regulation of Ca^{2+}-permeable AMPA receptors: synaptic plasticity and beyond. Curr. Opin. Neurobiol. 16(3):288—297. 2006.

[19] *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. 22: 200—208. 2002.

[20] *Diana M. A., Bregestovski P.* Calcium and endocannabinoids in the modulation of inhibitory synaptic transmission. Cell. Calcium. 37(5):497—505. 2005.

[21] *Diana M. A., Marty A.* Endocannabinoid-mediated short-term synaptic plasticity: depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) and depolarization-induced suppression of excitation (DSE). Br. J. Pharmacol. 142: 9—19. 2004.

[22] *Dudek S. M., Bear M. F.* Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89(10):4363—4367. 1992.

[23] *Eccles J. C.* Developing concepts of the synapses. J. Neurosci. 10(12):3769—3781. 1990.

[24] *Ehlers M. D.* Activity level controls postsynaptic composition and signaling via the ubiquitin-proteasome system. Nat. Neurosci. 6: 231—242. 2003.

[25] *Feng W., Zhang M.* Organization and dynamics of PDZ-domain-related supramodules in the postsynaptic density. Nat. Rev. Neurosci. 10(2):87—99. 2009.

[26] *Fernández E., Collins M. O., Uren R. T., Kopanitsa M. V., Komiyama N. H., Croning M. D., Zografos L., Armstrong J. D., Choudhary J. S., Grant S. G.* Targeted tandem affinity purification of PSD-95 recovers core postsynapticrecovers core postsynaptic complexes and schizophrenia susceptibility proteins. Mol. Syst. Biol. 5: 269. 2009.

[27] *Freund T. F., Katona I., Piomelli D.* Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. Physiol. Rev. 83:1017—1066. 2003.

[28] *Galvani L.* De viribus electricitatis in motu musculari commentaris. Bononien Sci. Art. Instit. Acad. Comm. 7:363—418. 1791.

[29] *Garcia-Lopez P., Garcia-Marin V., Freire M.* The discovery of dendritic spines by Cajal in 1888 and its relevance in the present neuroscience. Prog. Neurobiol. 83:110—130. 2007.

[30] *Howland J. G., Wang Y. T.* Synaptic plasticity in learning and memory: stress effects in the hippocampus. Prog. Brain Res. 169:145—158. 2008.

[31] *Husi H., Ward M. A., Choudhary J. S., Blackstock W. P., Grant S. G.* Proteomic analysis of NMDA receptor-adhesion protein signaling complexes. Nature Neurosci. 3: 661—669. 2000.

[32] *Ito I., Hidaka H., Sugiyama H.* Effects of KN-62, a specific inhibitor of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, on long-term potentiation in the rat hippocampus. Neurosci. Lett. 121: 119—121. 1991.

[33] *Johnson J. W., Ascher P.* Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. Nature. 325(6104):529—531. 1987.

[34] *Jung K. M., Astarita G., Zhu C., Wallace M., Mackie K., Piomelli D.* A key role for diacylglycerol lipase-α in metabotropic glutamate receptor-dependent endocannabinoid mobilization. Mol. Pharmacol. 72: 612—621. 2007.

[35] *Kandel E. R., Spencer W. A.* Cellular neurophysiological approaches in the study of learning. Physiol. Rev. 48:65—134. 1968.

[36] *Kano M., Ohno-Shosaku T., Hashimotodani Y., Uchigashima M., Watanabe M.* Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. Physiol. Rev. 89(1):309—380. 2009.

[37] *Katona I., Freund T. F.* Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. Nat. Med. 14(9):923—930. 2008.

[38] *Kennedy M. J., Ehlers M. D.* Organelles and trafficking machinery for postsynaptic plasticity. Annu. Rev. Neurosci. 29:325—362. 2006.

[39] *Kharazia V. N., Weinberg R. J.* Tangential synaptic distribution of NMDA and AMPA receptors in rat neocortex. Neurosci. Lett. 238(1—2):41—44. 1997.

[40] *Kim C. H., Lisman J. E.* A role of actin filament in synaptic transmission and long-term potentiation. J. Neurosci. 19: 4314—4324. 1999.

[41] *Kim E., Sheng M.* PDZ domain proteins of synapses. Nature Rev. Neurosci. 5: 771—781. 2004.

[42] *Kleckner N. W., Dingledine R.* Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in *Xenopus oocytes*. Science. 241(4867):835—837. 1988.

[43] *Kreitzer A. C., Regehr W. G.* Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. Neuron. 29: 717—727. 2001.

[44] *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. 97: 6856—6861. 2000.

[45] *Linden D. J.* Long-term synaptic depression in the mammalian brain. Neuron. 12: 457—472. 1994.

[46] *Lisman J., Goldring M.* Evaluation of a model of long-term memory based on the properties of the Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase. J. Physiol. 83: 187—197. 1988.

[47] *Lisman J., Schulman H., Cline H.* The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. Nat. Rev. Neurosci. 3: 175—190. 2002.

[48] *Lisman J.* Long-term potentiation: outstanding questions and attempted synthesis. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 358(1432):829—842. 2003.

[49] *Llano I., Leresche N., Marty A.* Calcium entry increases the sensitivity of cerebellar Purkinje cells to applied GABA and decreases inhibitory synaptic currents. Neuron. 6: 565—574. 1991.

[50] *Lledo P. M., Hjelmstad G. O., Mukherji S., Soderling T. R., Malenka R. C., Nicoll R. A.* Calcium/calmodulindependent kinase II and long-term potentiation enhance synaptic transmission by the same mechanism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92: 11175—11179. 1995.

[51] *Lloyd D. P. C.* Post-tetanic potentiation of response in monosynaptic reflex pathways of the spinal cord. 1. Gen. Physiol. 33:147—170. 1949.

[52] *López-Muñoz F., Alamo C.* Historical evolution of the neurotransmission concept. J. Neural. Transm. 116(5):515—533. 2009.

[53] *Magazanik L. G.* Blockade of ion channels as an approach to studying AMPA receptor subtypes. Neurosci. Behav. Physiol. 30(1):27—35. 2000.

[54] *Malenka R. C., Kauer J. A., Perkel D. J., Mauk M. D., Kelly P. T., Nicoll R. A., Waxham M. N.* An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. Nature. 340: 554—557. 1989.

[55] *Malenka R. C.* Synaptic plasticity and AMPA receptor trafficking. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1003: 1—11. 2003.

[56] *Malinow R., Mainen Z. F., Hayashi Y.* LTP mechanisms: from silence to four-lane traffic. Curr. Opin. Neurobiol. 10(3):352—357. 2000.

[57] *Malinow R., Malenka R. C.* AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. Annu. Rev. Neurosci. 25:103—126. 2002.

[58] *Malinow R., Schulman H., Tsien R. W.* Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. Science. 245: 862—866. 1989.

[59] *Malinow R.* LTP: desperately seeking resolution. Science. 266: 1195—1196. 1994.

[60] *Marty A.* Llano I. Modulation of inhibitory synapses in the mammalian brain. Curr. Opin. Neurobiol. 5(3):335—341. 1995.

[61] *Matsuzaki M., Honkura N., Ellis-Davies G. C., Kasai H.* Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. Nature. 429: 761—766. 2004.

[62] *Matus A.* Actin-based plasticity in dendritic spines. Science. 290(5492):754—758. 2000.

[63] *Mukhtarov M., Ragozzino D., Bregestovski P.* Dual Ca^{2+} modulation of glycinergic synaptic currents in rodent hypoglossal motoneurons. J. Physiol. (Lond.). 569: 817—831. 2005.

[64] *Newpher T. M., Ehlers M. D.* Spine microdomains for postsynaptic signaling and plasticity. Trends Cell Biol. 19(5):218—227. 2009.

[65] *Nowak L., Bregestovski P., Ascher P., Herbet A., Prochiantz A.* Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. Nature. 307: 462—465. 1984.

[66] *Nyiri G., Cserep C., Szabadits E., Mackie K., Freund T. F.* CB1 cannabinoid receptors are enriched in the perisynaptic annulus and on preterminal segments of hippocampal GABAergic axons. Neuroscience. 136: 811—822. 2005.

[67] *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). 24:357—366. 2009.

[68] *Okamoto K., Nagai T., Miyawaki A., Hayashi Y.* Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity. Nat. Neurosci. 7(10):1104—1112. 2004.

[69] *Pitler T. A., Alger B. E.* Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABAA responses in hippocampal pyramidal cells. J. Neurosci. 12: 4122—4132. 1992.

[70] *Popov V., Medvedev N. I., Davies H. A., Stewart M. G.* Mitochondria form a filamentous reticular network in hippocampal dendrites but are present as discrete bodies in axons: a three-dimensional ultrastructural study. J. Comp. Neurol. 492(1):50—65. 2005.

[71] *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. 63(5):369—377. 2009.

[72] *Sheng M., Hoogenraad C. C.* The postsynaptic architecture of excitatory synapses: amore quantitative view. Annu. Rev. Biochem. 76: 823—847. 2007.

[73] *Sjöström P. J., Rancz E. A., Roth A., Häusser M.* Dendritic excitability and synaptic plasticity. Physiol. Rev. 88(2):769—840. 2008.

[74] *Smith K. E., Gibson E. S., Dell'Acqua M. L.* cAMP-dependent protein kinase postsynaptic localization regulated by NMDA receptor activation through translocation of an protein kinase A anchoring protein scaffold protein. J. Neurosci. 26: 2391—2402. 2006.

[75] *Soderling T. R.* Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II: role in learning and memory. Mol. Cell Biochem. 127—128: 93—101. 1993.

[76] *Soderling T. R., Derkach V. A.* Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. Trends Neurosci. 23: 75—80. 2000.

[77] *Sorra K. E., Harris K. M.* Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines. Hippocampus. 10(5):501—511. 2000.

[78] *Spencer W. A., Wigdor R.* Ultra-late PTP of monosynaptic reflex responses in cat. Physiologist. 8:278. 1965.

[79] *Sugiura T., Kishimoto S., Oka S., Gokoh M.* Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. Prog. Lipid Res. 45: 405—446. 2006.

[80] *Tardin C., Cognet L., Bats C., Lounis B., Choquet D.* Direct imaging of lateral movements of AMPA receptors inside synapses. EMBO J. 22(18):4656—4665. 2003.

[81] *Tikhonov D. B., Magazanik L. G.* Origin and molecular evolution of ionotropic glutamate receptors. Neurosci. Behav. Physiol. 39(8):763—773. 2009.

[82] *Triller A., Choquet D.* Surface trafficking of receptors between synaptic and extrasynaptic membranes: and yet they do move! Trends Neurosci. 28(3):133—139. 2005.

[83] *Trinidad J. C., Thalhammer A., Specht C. G, Lynn A. J., Baker P. R., Schoepfer R., Burlingame A. L.* Quantitative analysis of synaptic phosphorylation and protein expression. Mol. Cell Proteomics. 7: 684—696. 2008.

[84] *Vosseller K., Trinidad J. C., Chalkley R. J., Specht C. G., Thalhammer A., Lynn A. J., Snedecor J. O., Guan S., Medzihradszky K. F., Maltby D. A., Schoepfer R., Burlingame A. L.* O-Linked N-acetylglucosamine proteomics of postsynaptic density preparations using lectin weak affinity chromatography and mass spectrometry. Mol. Cell Proteomics. 5: 923—934. 2006.

[85] *Watkins J. C., Jane D. E.* The glutamate story. Br. J. Pharmacol. 147 (Suppl. 1):S100—S108. 2006.

[86] *Wilson R. I., Nicoll R. A.* Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. Nature. 410: 588—592. 2001.

[87] *Wolosker H.* NMDA receptor regulation by D-serine: new findings and perspectives. Mol. Neurobiol. 36(2):152—164. 2007.

[88] *Yoshida T.* et al. Localization of diacylglycerol lipase-alpha around postsynaptic spine suggests close proximity between production site of an endocannabinoid, 2—arachidonoyl-glycerol, and presynaptic cannabinoid CB1 receptor. J. Neurosci. 26: 4740—4751. 2006.

[89] *Ziff E. B.* Enlightening the postsynaptic density. Neuron. 19: 1163—1174. 1997.

Поступила 5 V 2010