

# ФИЗИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ УПРАВЛЕНИЯ ПЛАСТИЧНОСТЬЮ СИНАПСОВ

Максимов Д.Ю.

Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН, Москва, Россия

jhanjaa@ipu.ru, dmmax@inbox.ru

*Аннотация. Предлагается модель, в которой морфологические изменения нейронных шипиков являются важным фактором нейронной пластичности и могут определять большие половины долговременного значения синаптического веса. Также рассматриваются некоторые молекулярные механизмы пластичности нейронов и обсуждаются противоречия с существующими моделями.*

*Ключевые слова: функциональная синаптическая пластичность, морфологическая пластичность шипиков, долговременная нейронная пластичность, переходная пластичность нейронов.*

## Введение

Большинство синаптических окончаний расположены на небольших выступах из дендритов – шипиках. Эти шипики очень мобильны и легко меняют свои размеры, которые коррелируют с изменением их синаптических весов [1, 2].

В распространенной модели пирамидальных нейронов мозга млекопитающих пластичность весов синапсов объясняется вставкой или удалением AMPA рецепторов в PSD и изменением их проводимости. Этот процесс зависит от закоривания этих рецепторов в PSD каркасными белками и активным цитоскелетом, что обеспечивается структурной перестройкой этих белков и цитоскелета. Соответственно, эта перестройка заодно увеличивает или уменьшает размер шипика и его.

Однако, само изменение размеров шипиков может влиять на синаптическую пластичность – нейронная мембрана традиционно может рассматриваться как конденсатор. С увеличением размеров шипика, растет площадь его поверхности и, следовательно, емкость конденсатора ( $C$ ). Таким образом, энергия в конденсаторе  $E = CU^2/2$  (где  $U$  – напряжение на мембране) будет больше<sup>1</sup>.

Поскольку перестройка цитоскелета, приводящая к изменениям размеров шипика, вызывается входом  $Ca^{2+}$  внутрь клетки или его экспрессией из внутриклеточного депо, то механизм, который вызывает эту перестройку может быть разным при разных концентрациях кальция – химические сигнальные пути зависят от концентрации кальция и способов ее изменения.

В докладе оценивается вклад структурной пластичности в синаптическую по известным экспериментальным данным и обсуждаются некоторые противоречия с существующими взглядами.

## 1. Физический механизм пластичности

Напряжение на конденсаторе связано с его зарядом  $q$  формулой  $U = q/C$ , где  $C$  – емкость конденсатора, а  $U$  – напряжение на нем. В свою очередь емкость конденсатора прямо пропорциональна площади его обкладок  $S$ . Для энергии имеем:

$$E = \frac{CU^2}{2} = \frac{q^2}{2C} \sim [q]^2 S \sim U^2 S. \quad (1)$$

Поскольку в большем шипике больше филаментного актина, который обеспечивает дополнительную плотность AMPAR (см. Разд. 1.1), то больший шипик может обеспечивать большую плотность тока и, следовательно, заряда для достижения большего усиления, чем меньший.

Обозначим

$$\hat{Q}_{\text{genorm}}^2 = \frac{S}{S} \hat{Q}^2; \hat{q}_{\text{genorm}}^2 = \frac{S}{S} q^2, \quad (2)$$

где все величины со шляпами относятся к измененному шипику (и далее так же).

Далее предполагаем, что плотность заряда,  $[q_{\text{dim}}]$ , зависящая только от размера, пропорциональна поверхностной плотности подходящих к мембране актиновых филаментов  $[N_{\text{surf}}]$ . Эта плотность связана с объемной плотностью F-актина  $[N]$  соотношением  $[N_{\text{surf}}] \sim r[N]$ . Поэтому, при нашем предположении:

---

<sup>1</sup> При этом будет больше и плотность быстрых натриевых каналов, которая и обеспечивает больший заряд и, следовательно, большее напряжение на мембране (см. ниже).

$$\frac{\dot{U}}{U} = \frac{[\dot{N}_{\text{surf}}]}{[N_{\text{surf}}]}, \quad (3)$$

что подтверждается экспериментально (Разд. 2).

Отсюда получается следующее выражение для чистого вклада размера шипика в его отклик на единичный входной импульс, в предположении, что объемная плотность  $[N]$  F-актина не зависит от размера<sup>2</sup>:

$$\Delta U_{\text{dim}} = \left(\frac{r}{r} - 1\right)U. \quad (4)$$

Это часть полного изменения напряжения на мембране шипика при его стимулировании, зависящая только от его морфологических изменений. Оценка в (4) неточная, поскольку каналы в шипике распределены неравномерно и, кроме того,  $[N] \neq [\dot{N}]$  в общем случае (ср. Разд. 2). Также предполагается, что шипик является шаровым конденсатором.

### 1.1. Некоторые механизмы морфологической и синаптической пластичностей

При больших  $[Ca^{2+}]$  в шипиках –  $[Ca^{2+}] \gtrsim 2$  мкМ – наблюдается потенциация с параллельным увеличением размеров шипика. В этом случае активность  $Ca^{2+}/CaMKII$  превосходит активность  $CaN$  и актиновый цитоскелет растет. При  $[Ca^{2+}]$  – имеет место депрессия и преобладает активность  $CaN$ . В этом случае  $CaN$  активирует кофилин – основной фактор, деполимизирующий актиновые филаменты в цитоскелете, что приводит к уменьшению размеров шипиков [3, 4].

При больших  $[Ca^{2+}]$  происходит активация и перемещение  $CaMKII$  в PSD. Активированная  $CaMKII$  далее, по разным путям ингибирует кофилин. Но активированная  $CaMKII$  в PSD еще и улучшает проводимость AMPAR фосфорилируя их и увеличивает их количество, что способствует усилению входного сигнала. А активированный  $CaN$  наоборот дефосфорилирует AMPAR и уменьшает их количество.

С другой стороны,  $CaMKII$  участвует в активации  $RhoA$  и  $Cdc42$ , что так же приводит к ингибированию кофилина и еще к активации профилина, который усиливает полимеризацию актина. В результате актиновый цитоскелет растет, что увеличивает размеры шипика.

Однако,  $RhoA/Cdc42$  активируются не только посредством  $CaMKII$ . С одной стороны, они активируются непосредственно  $Ca^{2+}$ , поступающим от NMDA рецепторов. С другой, активность AMPAR активирует GTP-азы  $Rho$ -семейства – активное состояние этих GTP-аз управляется балансом между активностью некоторых белков, которые катализируют гидролиз GEF. А экспрессия GEF-H1 способствует активации  $RhoA$ . Однако, PKA деактивирует GEF-H1, но способствует перемещению  $GluA1$  в мембрану и увеличивает вероятность его открытия.

Также приток  $Ca^{2+}$  приводит к активации  $CaMKII/PKC$ , которые напрямую фосфорилируют  $GluA1$ , увеличивая проводимость  $GluA1$  и способствуя перемещению  $GluA1$  к PSD и закреплению их там. Еще PKC во взаимодействии с 4.1N протеином цитоскелета усиливает экзоцитоз  $GluA1$  содержащих AMPA рецепторов [5, 6]. Так что этот процесс зависит от роста цитоскелета. Кроме того, актин способствует транспорту к PSD и заякориванию там необходимых для сигналинга белков и  $CaMKII$ .

PKC типа  $\zeta$  ослабляет интернализацию AMPA рецепторов  $GluA2^3$ , связываясь с PICK1. Тем самым PKC $\zeta$  мешает взаимодействию PICK1 с AP2, поскольку PICK1 образует также комплекс с AP2, который необходим для эндоцитоза AMPAR.

Суммируя,  $RhoA/Cdc42$  активируются непосредственно активностью как NMDA, так и AMPA рецепторов, что приводит к изменениям актинового цитоскелета независимо от активации  $CaMKII$  или  $CaN$ . В свою очередь цитоскелет влияет на активность и количество AMPA рецепторов и весь этот процесс взаимодействия управляется притоком кальция по разным механизмам.

## 2. Оценки вклада нового механизма при разных протоколах стимуляции

### 2.1. Стимуляция с частотой 0.1 Гц

В [7] описана новая форма пластичности в пирамидальных нейронах L5, при которой непарная низкочастотная (0.1 Гц  $\times$  30-36 имп, EPSP 2 мВ) стимуляция током (3-7 мкА) дендритов пучка

<sup>2</sup>Обозначая  $\Delta U_{\text{dim}}$  часть, которая зависит только от изменений размера, и пренебрегая частью, которая не зависит от изменений размера имеем:  $\Delta U_{\text{dim}} + U = \dot{U}$ . Тогда из (3)  $\dot{U} = U_{\text{renorm}} = \frac{r}{r}U$ , откуда следует (4).

<sup>3</sup> хотя активированная PKC фосфорилирует  $GluA2$  (в S880), что увеличивает скорость эндоцитоза.

приводила к длительной временной ( $86.3 \pm 7.3$  мин) потенциации EPSP ( $286.1 \pm 30.5\%$ ). При этом такая же стимуляция, но с частотой 0.033 Гц не приводила ни к каким изменениям. При таких низких частотах и малых амплитудах, накачки концентрации кальция серией импульсов не происходит и все усиление входного сигнала обеспечивается только увеличением размеров шипиков за счет активности RhoA/Cdc42 [8].

В этом случае

$$\frac{EPSP_{10сек}}{EPSP_{33сек}} \approx 2.86 = \frac{r_{10сек}}{r_{33сек}}. \quad (5)$$

Откуда

$$r_{10сек} \approx 2.86 r_{33сек}. \quad (6)$$

Также, при блокировании калиевых каналов, получается

$$r_{10сек, Kv4.2} \approx 0.87 r_{33сек}, \quad (7)$$

что обеспечивает наблюдаемое ослабление EPSP, несмотря на увеличение заряда на мембране.

Таким образом, потенцияция слабых EPSP ( $\sim 2$  мВ) при частоте 0.1 Гц обеспечивается в начале ростом цитоскелета только за счет активации RhoA/Cdc42 незначительным увеличением  $[Ca^{2+}]$ . Рост цитоскелета увеличивает экзоцитоз AMPA рецепторов, которые усиливают токи, а также обеспечивают дальнейший рост цитоскелета и его стабилизацию.

## 2.2. Тетаническая стимуляция

В [2] были проведены измерения размеров шипиков двумя методами: FRET (флуоресцентный резонансный перенос энергии между мономерами актина) и по интенсивности флуорофора Alexa 594, которые по отдельности используются в других исследованиях. В этом случае  $-100$  Гц  $\times$  1 сек, CA1 пирамидальные нейроны –имеем по методу FRET через 1.5, 15 и 30 мин:

$$r_{1.5мин} \approx 2r_0; r_{15мин} \approx 2r_0; r_{30мин} \approx 1.75r_0, \quad (8)$$

а измерения с помощью флуорофора дают:

$$r_{5мин} \geq 1.12r_0. \quad (9)$$

Интенсивность FRET показывает, насколько филаментного актина (F-актина) больше глобулярного (G-актина). Поэтому, измерение ширины по FRET показывает распределение филаментов актина, т.е. размеры цитоскелета, что, скорее всего, точнее определяет размеры шипика, чем неоднородное распределение флуорофора.

Примерно такие же результаты в [9]. В [10] использована стимуляция CA1 пирамидальных нейронов с флуорофором посредством TBS ( $(5 \times 100$  Гц)  $\times$  5 Гц, 1 сек;  $\Rightarrow$  EPSP =  $5 \div 8$  мВ) с умеренной постсинаптической деполяризацией. В этом случае усиление EPSP и увеличение размеров шипиков (флуорофор) измерялись параллельно:

$$r_{fluo} \approx 1.12r_0; EPSP_{45мин} \approx 2.44EPSP_0; EPSP_{5мин} \approx 1.6EPSP_0. \quad (10)$$

Тогда, в соответствии с (4), такое изменение размеров шипика дает следующий вклад в приращение EPSP (флуорофор):

$$EPSP_{fluo} \approx 1.12EPSP_0. \quad (11)$$

А если бы эти измерения размеров были выполнены по FRET, то, в соответствии с (8) - (9), имеем:

$$EPSP_{fret} \approx 1.75 \div 2EPSP_0. \quad (12)$$

Таким образом, после стимуляции, усиление входного сигнала, измеренное по FRET, обеспечивается практически только ростом цитоскелета.

## 2.3. Депрессия

При LTD происходит сокращение шипиков так же, как при LTP их увеличение [2] и др. работы. В этом случае имеем:

$$r_{fret} \approx 0.53r_0 \Rightarrow EPSP_{fret} \approx 0.53EPSP_0; EPSP_{45мин} \approx 0.64EPSP_0. \quad (13)$$

Видим, что опять изменения размеров, измеренные по FRET, примерно соответствуют уменьшению EPSP.

Измерения в [9] с помощью флюорофора дают

$$r_{fluor,45\text{мин}} \approx 0.7r_0 > r_{fluor,60\text{мин}} \Rightarrow EPSP_{fluor} \leq 0.7EPSP_0; EPSP_{45\text{мин}} \approx 0.61EPSP_0. \quad (14)$$

Здесь опять диапазон изменения размеров с помощью флюорофора меньше, чем по FRET.

## 2.4. S<sub>DP</sub> пластичность

В [11] исследовалась пластичность (как синаптическая, так и морфологическая) L5 пирамидальных нейронов (2P; 40 × 0.5 Гц) во второй и третьей ветвях базальных дендритов на расстоянии 10-80 мкм от сомы. При этом uEPSP ~ 0.6 мВ сопровождалась по времени (+7 или +13 мс) bAP-ом, вызывающим зависимую от времени LTP (t-LTP). uEPSP ~ 0.5 мВ предвлялось по времени (-15 или -23 мс) bAP-ом, вызывающим зависимую от времени LTD (t-LTD). bAP доходил до шипиков с амплитудой ~ 14 мВ. Размеры шипиков измерялись с помощью флюорофора (Alexa Fluor 568). Активированные шипики в основном находились на второй и третьей ветви базальных дендритов.

К сожалению, в этой работе точность нужных здесь измерений очень низкая – статистическая значимость  $P \geq 0.38$ , хотя, несмотря на это авторы делают вывод, что существенных изменений размеров при LTP/LTD не наблюдается. В единственном визуально приемлемом случае LTP имеем (протокол до и после (pre – post) +13 мсек, одиночные шипики) такие оценки по экспериментальным данным:

$$EPSP_{fluor} \approx 1.03EPSP_0; EPSP_{fret} \approx 1.36 \div 1.84EPSP_0; EPSP_{15-25\text{мин}} \approx 1.21EPSP_0. \quad (15)$$

Однако, в разд. 2.2 такие изменения были вызваны тетанической стимуляцией, которая существенно повышает концентрацию кальция, а здесь использовалась стимуляция с частотой 0.5 Гц. Причем без bAP никакой пластичности практически не наблюдалось.

Из результатов [12] следует, что в проксимальных областях CA3 нейронов гиппокампа на расстоянии 20 ÷ 75 мкм от сомы, т.е. на таком же, как и в рассматриваемой работе, импульс, который приходится на фазу гиперполяризации другого импульса, вызывает большее поступление кальция, чем импульс, приходящийся на фазу деполяризации или до нее. Поэтому, при задержке bAP +7 мсек кальция больше, чем при задержке +13 мсек. А при задержке -15 мсек больше, чем при задержке -23 мсек.

Это значит, что при частотах и амплитудах сигналов, использовавшихся в [11], превышение концентрации кальция фонового значения очень незначительное, т.е. работает механизм Разд. 2.1. Мало кальция – усиление за счет увеличения размеров шипиков при активации RhoA/Cdc42, чуть кальция больше – увеличивается доля активированного CaN, шипики в размерах уменьшаются и сигнал ослабевает. Причем чем больше кальция, тем сильнее ослабевает входной сигнал [8].

## 3. Некоторые противоречия существующим взглядам

Во многих работах отмечалась возможность существования одного вида пластичности, при ингибировании другого. Однако, при внимательном рассмотрении выясняется, что условия экспериментов были такие, что влияли на обе пластичности. Коротко о механизмах ниже (подробнее см. [8]).

- Без увеличения AMPA токов, только на одном Ca<sup>2+</sup>, рост шипиков не стабилен и цитоскелет быстро сокращается из-за CaN. После этого оставшиеся натриевые каналы дают ~ 20% исходного усиления. Это ботокс, ингибиторы PKA (протеиновой киназы A), синтез белков и трансляции.
- Наоборот, LFS при ингибировании PP1 (т.е. при усилении натриевых токов) посредством ОА (окадаиновой кислоты) шипики сокращаются, но усилившиеся токи это компенсируют и LTD не наблюдается.
- Ингибирование полимеризации актина (цитохалазины, латрункулин, фаллоидин) ослабляет и его взаимодействие с AMPA рецепторами, что приводит к ослаблению AMPA токов. В результате поддержание LTP блокируется.
- Есть еще одна сложность с LTD – ряд экспериментов свидетельствует о независимости депрессии от морфологических изменений синапсов в зависимости от применяемого для блокировки вещества. Если для блокировки деполмеризации актина используется джасплакинолид (или циклоспорин А), то он блокирует и индуцирование LTD. Однако, при загрузке инсулина, пептидов Per2m и S3, и **после** LFS размеры шипиков не меняются, но, тем не менее, на EPSP это почти

никакого влияния не оказывает. Здесь можно предположить, что, (из механизма действия S3) кофилин-активирующие фосфатазы еще и ингибируют ослабление токов при LFS. Поэтому, когда S3 эти фосфатазы связывает, то токи дополнительно ослабляются, что имитирует сокращение размеров, которого в этом случае нет (поскольку кофилин активировать нечему). Инсулин и Per2m связывают NSF (N-этилmaleимид-чувствительные протеины слияния), что облегчает интернализацию GluA2-содержащих AMPA рецепторов и приводит к ослаблению токов. После LFS появляется много свободных ионов  $Ca^{2+}$ , которые конкурируют с Per2m и инсулином за связывание с NSF, что ослабляет интернализацию AMPAR рецепторов и парадоксальным образом усиливает токи. В результате опять сокращение размеров компенсирует усиление токов.

#### 4. Заключение

По-видимому, механизм морфологической пластичности через активацию RhoA/Cdc42 имеет большее значение, чем считалось ранее. Также, функциональная пластичность обусловлена во многом именно этим механизмом морфологической пластичности, особенно в случае низких концентраций кальция. Однако для того, чтобы точнее оценить вклад морфологической пластичности в усиление сигнала в различных случаях, необходимо разобраться с точностью измерений размеров разными методами.

#### 5. Выражение благодарности

Автор очень признателен И.А. Чистопольскому (ИБР им. Н.К. Кольцова РАН) за подробное обсуждение аналогии нейрона с конденсатором, которое изменило представление автора о механизмах влияния структурной пластичности, а также всех участников семинара под руководством Л.Ю. Жиликовой в ИПУ им. В.А. Трапезникова РАН.

#### Литература

1. Oertner T.G., Matus A. Calcium regulation of actin dynamics in dendritic spines // *Cell Calcium*. – 2005. – Vol. 37 – P. 477–482. DOI: 10.1016/j.ceca.2005.01.016.
2. Okamoto K., Nagai T., Miyawaki A., Hyashi Y. Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity // *Nat. Neurosci.* – 2004. – Vol 7, № 10. – P. 1104–1112. DOI: 10.1038/nn1311.
3. Cingolani L.A., Goda Y. Actin in action: the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy // *Nature Rev. Neurosci.* – 2008. – Vol. 9. – P. 344–356. DOI: 10.1038/nrn2373.
4. Stein I.S., Zito K. Dendritic spine elimination: Molecular mechanisms and implications // *The Neuroscientist*. – 2019. – Vol. 25, № 1. – P. 27–47. DOI: 10.1177/1073858418769644.
5. Diering G.H., Huganir R.L. The AMPA receptor code of synaptic plasticity // *Neuron*. – 2018. – Vol. 100. – P. 314–329. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.10.018.
6. Baltaci S.B., Mogulkoc R., Baltaci A.K. Molecular mechanisms of early and late LTP // *Neurochem. Res.* – 2018. – Vol. 44. – P. 281–296. DOI: 10.1007/s11064-018-2695-4.
7. Sandler M., Shulman Y., Schiller J. A novel form of local plasticity in tuft dendrites of neocortical somatosensory layer 5 pyramidal neurons // *Neuron* – 2016. – Vol. 90, № 5. – P. 1028–42. DOI: 10.1016/j.neuron.2016.04.032.
8. Максимов Д.Ю. Механизмы функциональной и морфологической пластичности синапсов. Критический обзор, Препринт. URL [https://www.researchgate.net/publication/390581186\\_Mehanizmy\\_funkcionalnoj\\_i\\_morfologiceskoj\\_plasticnosti\\_sinapsov\\_Kriticeskij\\_obzor](https://www.researchgate.net/publication/390581186_Mehanizmy_funkcionalnoj_i_morfologiceskoj_plasticnosti_sinapsov_Kriticeskij_obzor) (дата обращения 22.05.2025).
9. Zhou Q., Homma K.J., Poo M.M. Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses // *Neuron* – 2004. – Vol. 44, № 5. – P. 749–757. DOI: 10.1016/j.neuron.2004.11.011.
10. Yang Y., bin Wang X., Frerking M., Zhou Q. Spine expansion and stabilization associated with long-term potentiation // *J Neurosci.* – 2008. – Vol. 28, № 22. – P. 5740–5751. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3998-07.2008.
11. Tazerart S., Mitchell D.E., Miranda-Rottmann S., Araya R. A spiketiming-dependent plasticity rule for dendritic spines // *Nat. Comm.* – 2020. – Vol. 11. – P. 4276. DOI: 10.1038/s41467-020-17861-7.
12. Brunner J., Szabadics J. Analogue modulation of back-propagating action potentials enables dendritic hybrid signaling // *Nat Commun.* – 2016. – Vol. 7 – P. 1–13. DOI: 10.1038/ncomms13033.