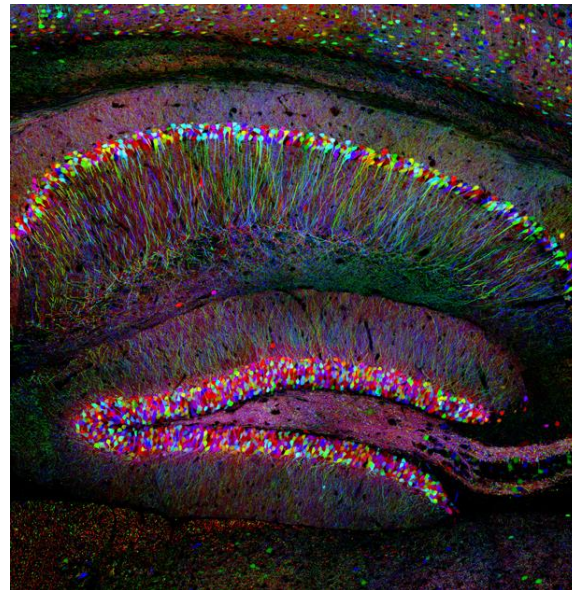


Synaptická plasticita: Mechanismy LTP a LTD v hipokampu

Pokroky v neurovědách

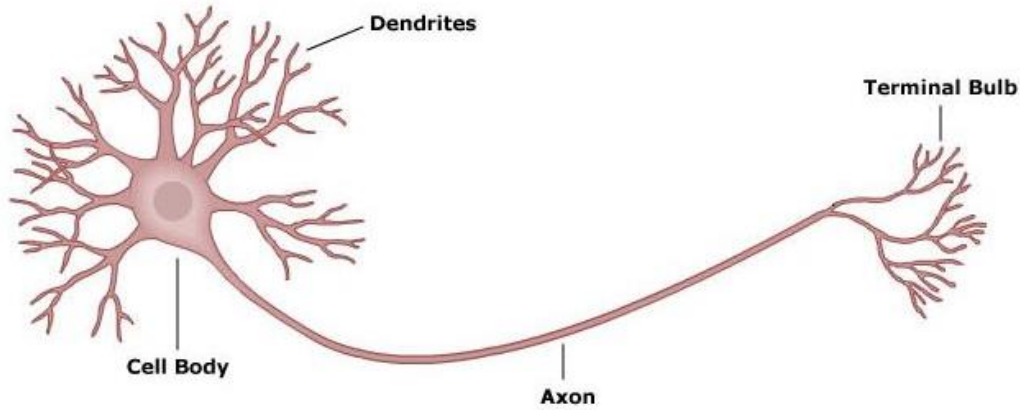
Miloslav Kořínek, PhD



Obsah přednášky

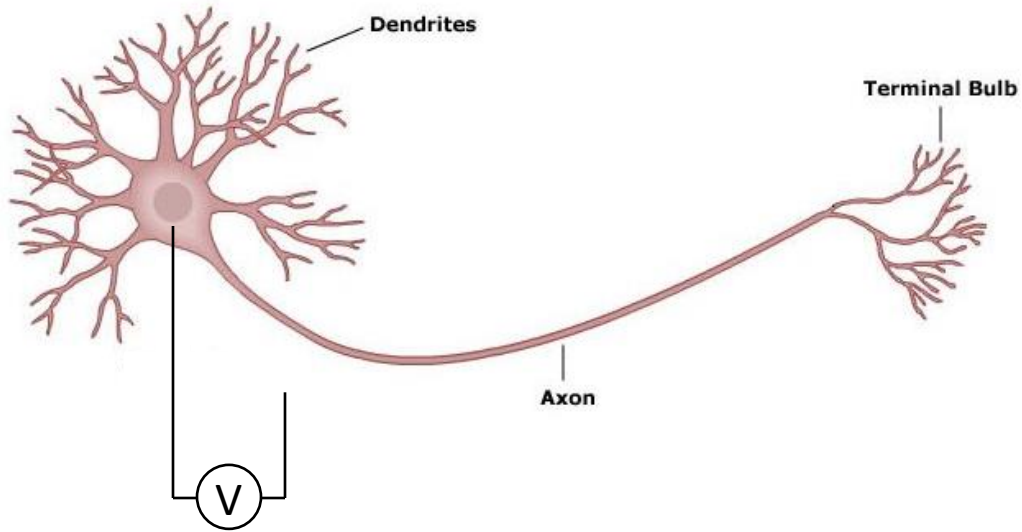
- 1) Synaptický přenos
- 2) Co to je plasticita
- 3) Dlouhodobá potenciace v hipokampu
- 4) Dlouhodobá deprese v hipokampu

Ionty v neuronu a okolo něj

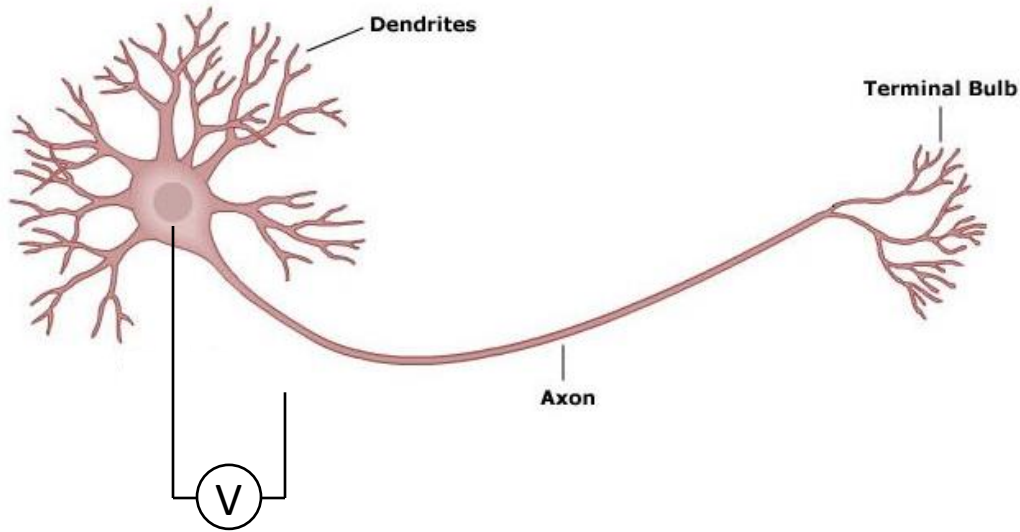


Cytoplazmatická membrána je skvělý izolant.

Ionty v neuronu a okolo něj

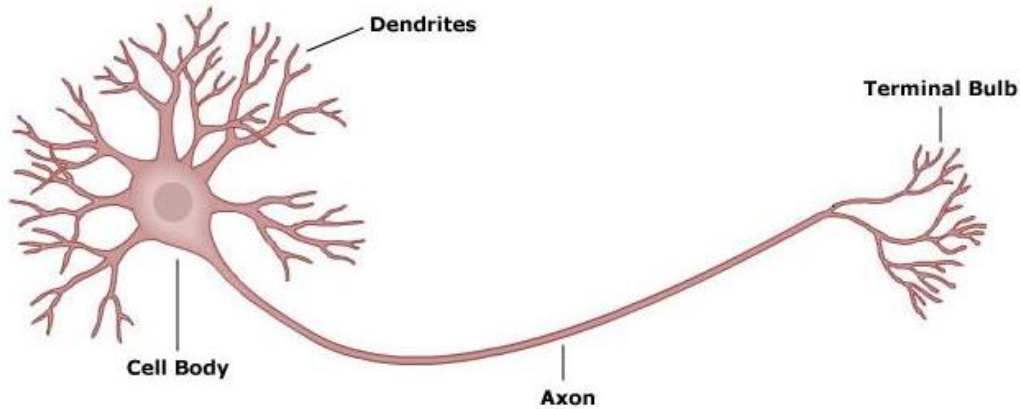


Ionty v neuronu a okolo něj



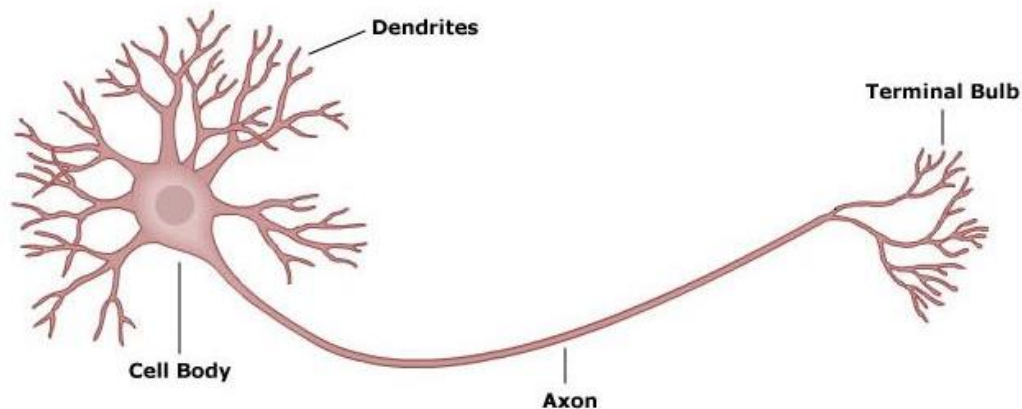
Klidový membránový potenciál = -70 až -80 mV

Ionty v neuronu a okolo něj



	koncentrace IN (mM)	koncentrace OUT (mM)	
Na ⁺	12	140	
K ⁺	140	5	
Ca ²⁺	0,0001	2	

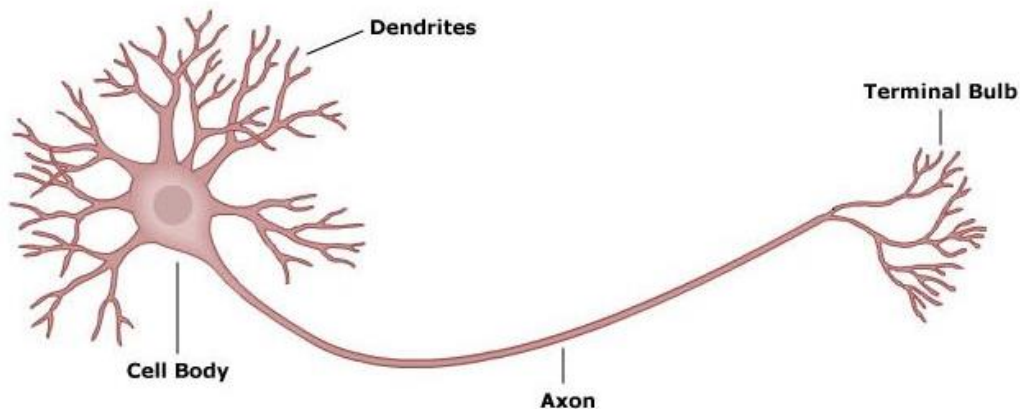
Ionty v neuronu a okolo něj



Řekněme, že membránový potenciál = -80 mV. Kam potečou ionty?

	koncentrace IN (mM)	koncentrace OUT (mM)	
Na ⁺	12	140	
K ⁺	140	5	
Ca ²⁺	0,0001	2	

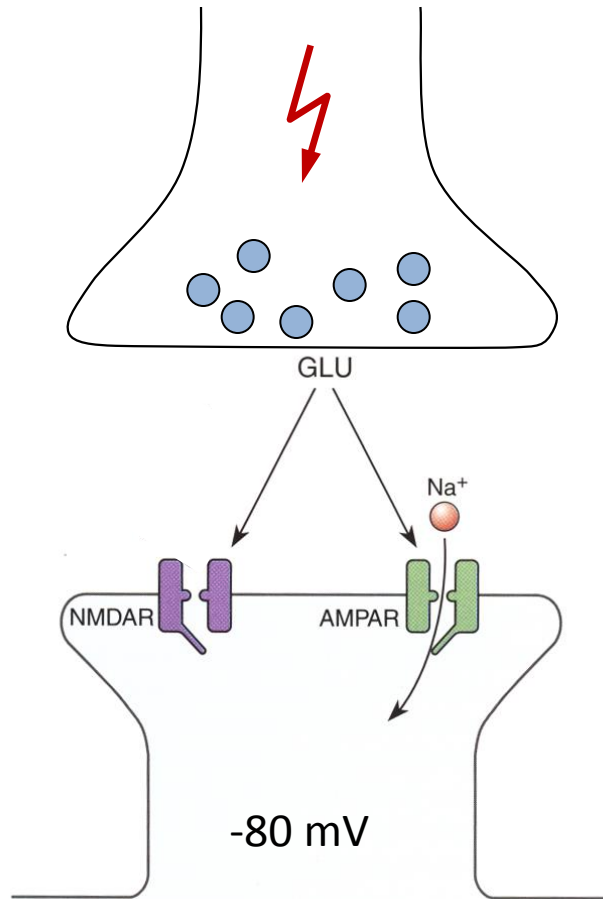
Ionty v neuronu a okolo něj



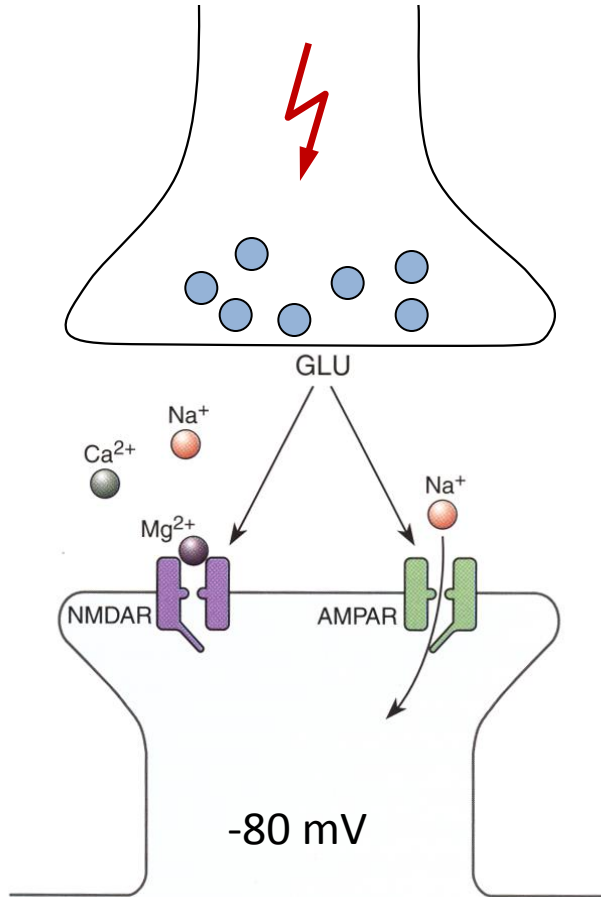
Membránový potenciál = -80 mV

	koncentrace IN (mM)	koncentrace OUT (mM)	reverzní potenciál
Na ⁺	12	140	+66 mV
K ⁺	140	5	-80 mV
Ca ²⁺	0,0001	2	+264 mV

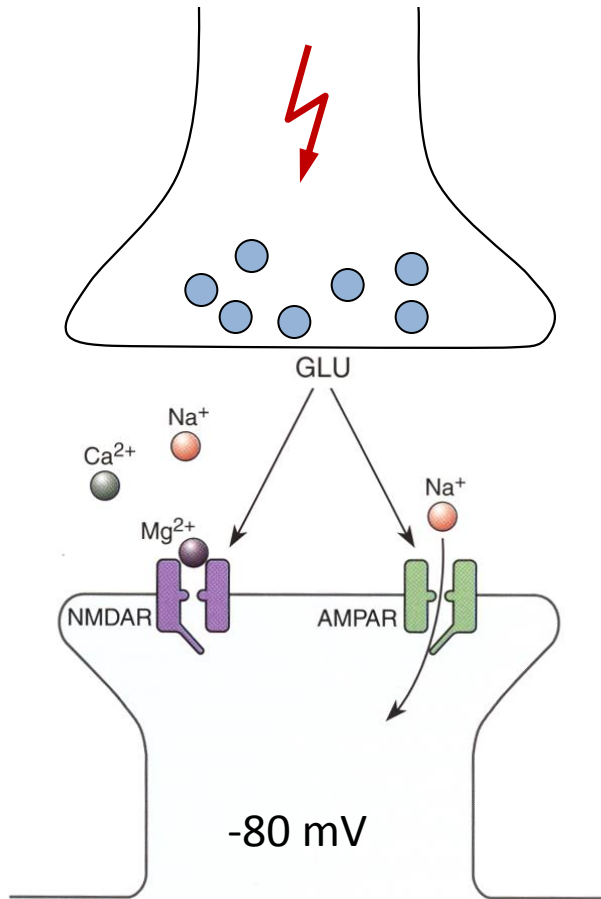
Synaptický přenos na glutamatergní synapsi



Synaptický přenos na glutamatergní synapsi



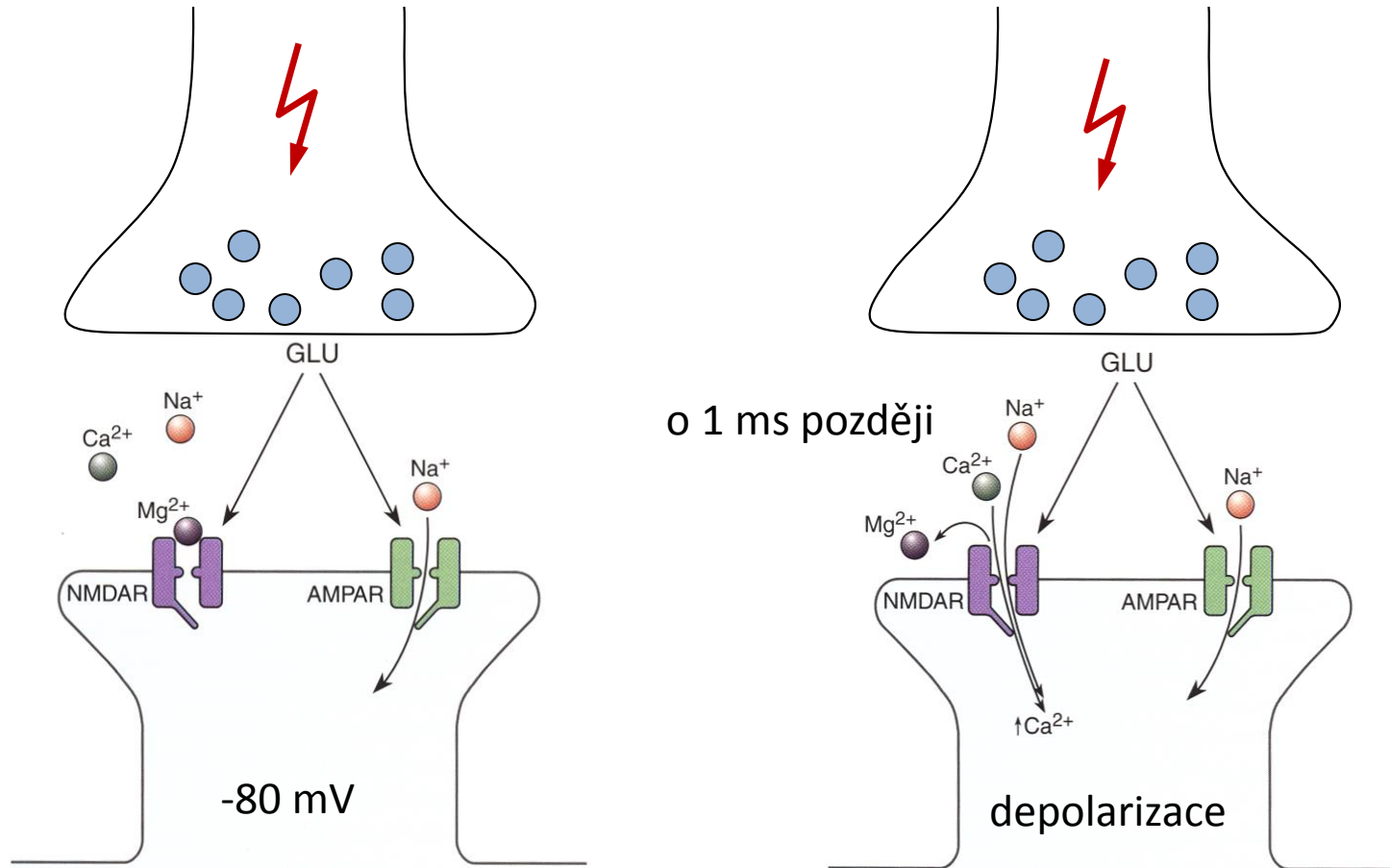
Synaptický přenos na glutamatergní synapsi



o 1 ms později

depolarizace

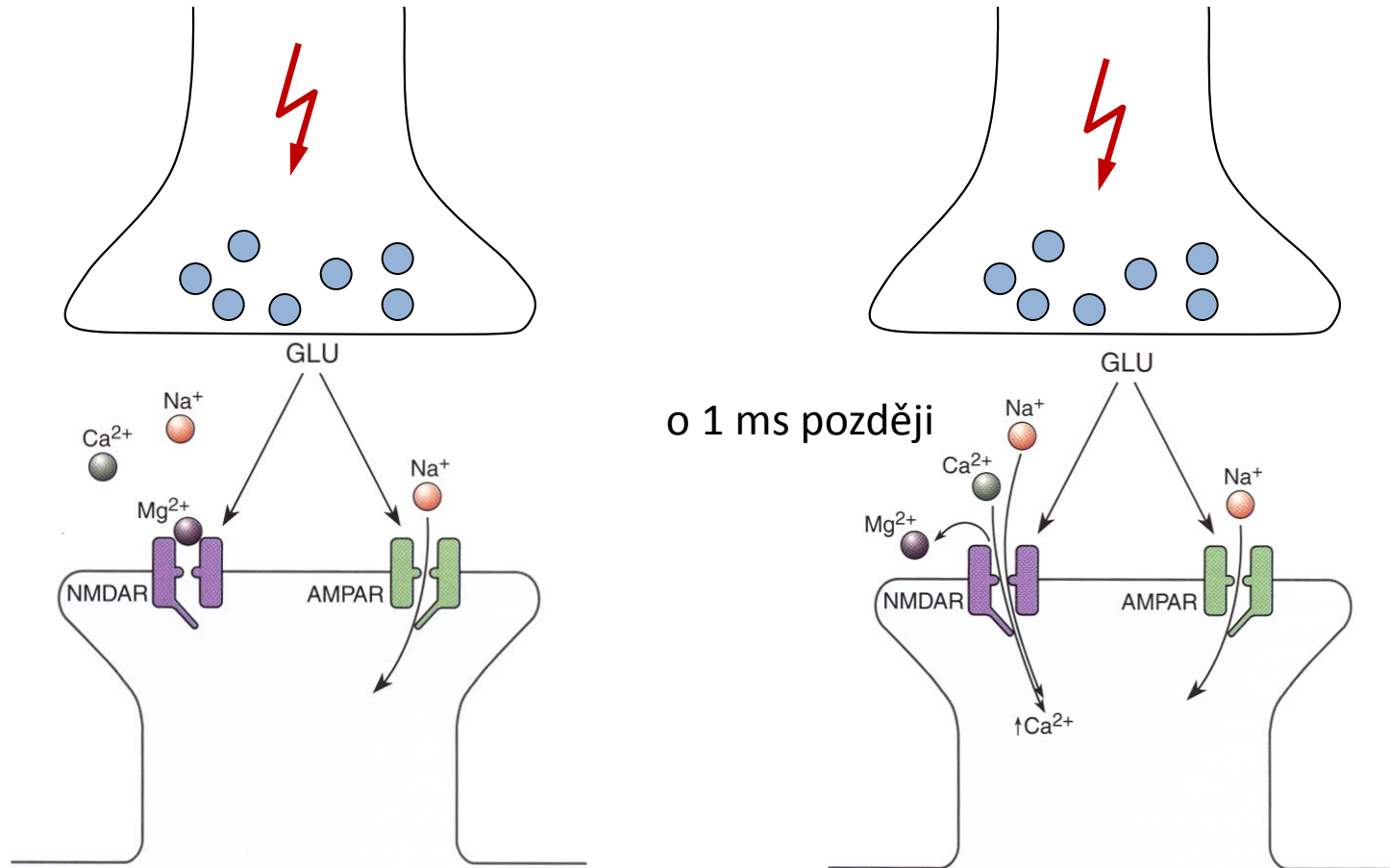
Synaptický přenos na glutamatergní synapsi



NMDA receptory jsou "coincidence detector".

Fungují až při současnou presynaptické stimulaci a postsynaptické depolarizaci.

Synaptický přenos na glutamatergní synapsi



- 1) Aktivace AMPA receptorů přispívá k depolarizaci neuronu.
- 2) Aktivace NMDA receptorů přispívá k depolarizaci neuronu + vnáší Ca^{2+} do dendritu.

Synaptický přenos na glutamatergní synapsi

NMDA receptory jsou “coincidence detector”. Signalizují současnou presynaptickou stimulaci a postsynaptickou depolarizaci

Ne každý AP, který přijde na axonální zakončení způsobí uvolnění váčku s neurotransmiterem

Ne každý synaptický přenos vyvolá odpálení AP – musí jich být desítky až stovky zároveň

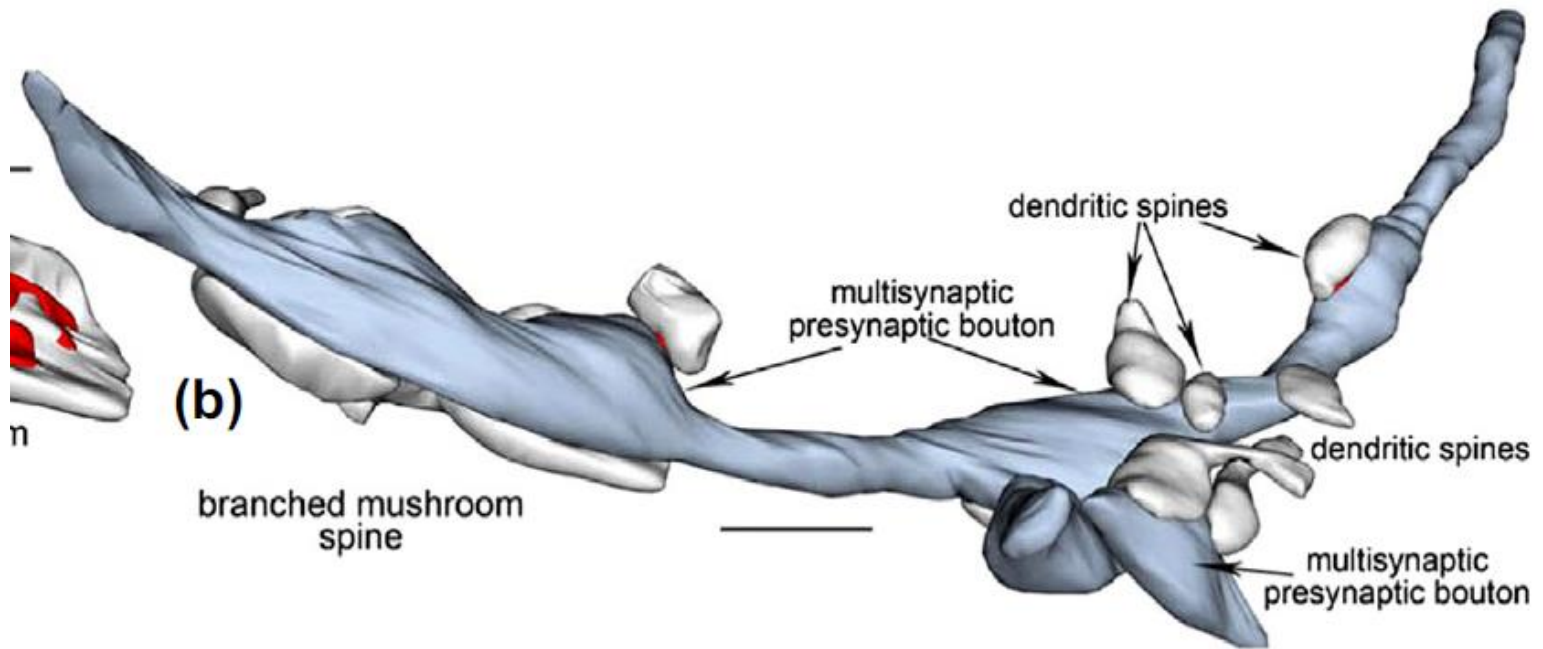
Síla synapse udává jakou depolarizaci postsynaptické buňky vyvolá AP, který přišel na axonální zakončení

posílení synapse = aktivace posílené synapse vyvolá větší depolarizaci postsynaptické buňky

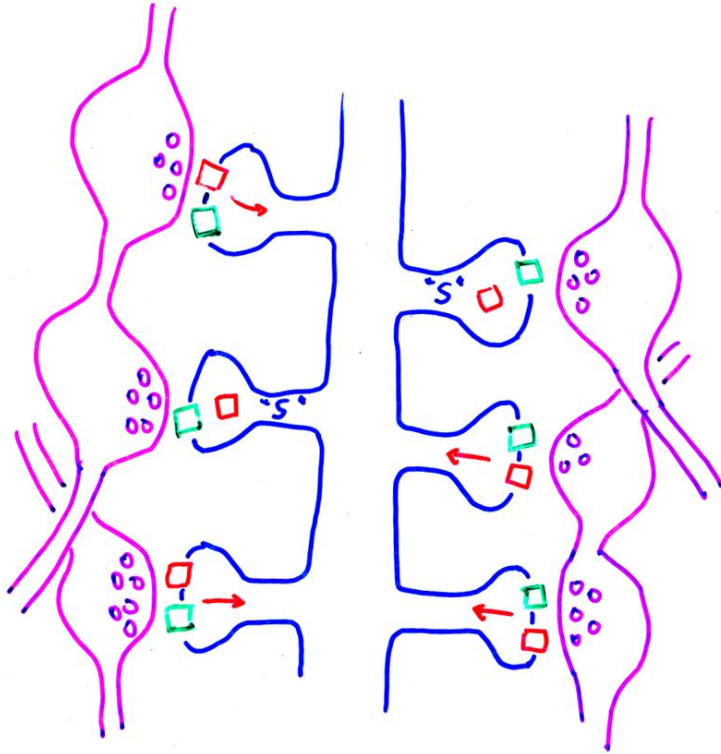
V mozku máme odhadem 100 000 až 1 000 000 miliard synapsí

Axon

rekonstrukce reálného axonu



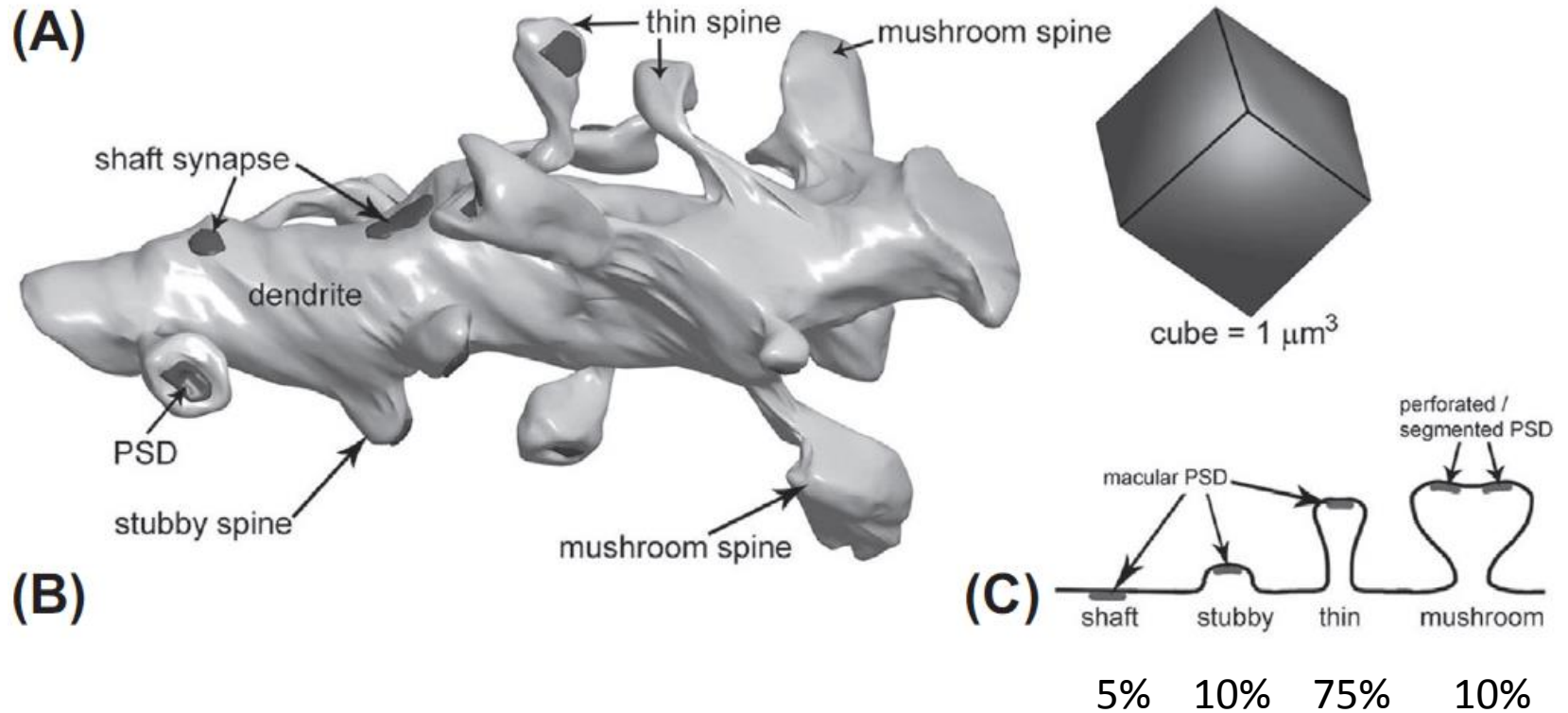
Axon



Dendrit

rekonstrukce 10 μm reálného dendritu

(Medvedev et al., 2010)



Nervová plasticita

Nervová plasticita je schopnost mozku měnit se v průběhu života v důsledku vývoje, zkušeností nebo poškození.

např.

- růst a diferenciaci mozku během prenatálního a postnatálního vývoje
- věkem vyvolané změny v mozku
- neurodegenerativní procesy v mozku
- reparace mozku po úrazu

Synaptická plasticita

Synaptická plasticita je schopnost synapsí měnit svoji strukturu, posilovat nebo oslabovat svoji funkci v důsledku jejich aktivity, vývoje nebo poškození.

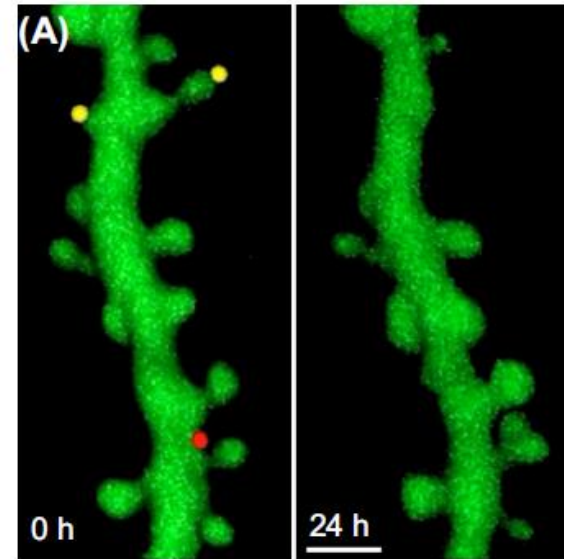
Např.

- vznik nové synapse (axonální zakončení + dendritický trn)
- zvětšení hlavičky dendritického trnu při časté aktivaci synapse
- zánik nepoužívané synapse
- zvýšení pravděpodobnosti uvolnění neurotransmitteru
- změna počtu iontových kanálů v postsynaptické membráně
- změna vodivosti postsynaptických iontových kanálů

Často aktivované synapse posilují svoji funkci.

Málo aktivované synapse ztrácejí svoji funkci, mohou i zaniknout.

Soudí se, že synaptická plasticita je podstatou paměti a učení



Vznik (červená) a zánik (žlutá) dendritických trnů.

Synaptická plasticita

Dělení

funkční plasticita – změna síly již existujících synapsí bez změny morfologie

strukturální plasticita – tvorba nových, zánik stávajících synapsí, změny morfologie synapsí

dlouhodobá plasticita – změny trvají hodiny až roky

krátkodobá plasticita – změny trvají milisekundy až minuty

Synaptická plasticita a učení

Santiago Ramón y Cajal (1894)

Učení nevyžaduje tvorbu nových neuronů.
Stačí posílení spojení mezi již existujícími
neurony



Synaptická plasticita a učení

Donald Hebb (1949)

“When an axon of cell A is near enough to excite a cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased.”

Neurons that fire together wire together.

Pacient H.M. (1950s)

Hipokampus je nezbytný pro paměť, zejména pro tvoření nových paměťových stop.

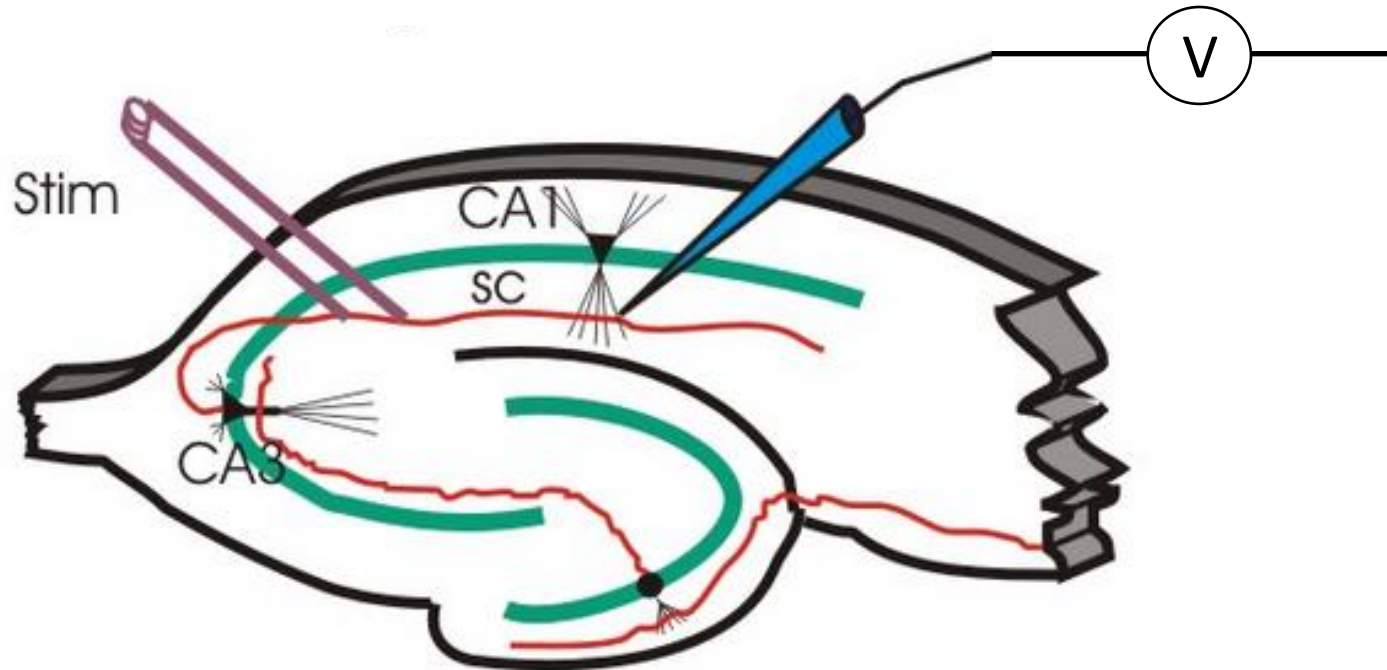
Bliss a Lømo (1973)

Popsali long-term potentiation (LTP) v hipokampu
- biologický fenomén v souladu s Hebbovou teorií

Long-term potentiation (LTP)

- Je to dlouhodobé posílení synapsí způsobené speciální stimulací těchto synapsí
- biologický fenomén v souladu s Hebbovou teorií
- patří mezi dlouhodobou plasticitu
- je to zajímavý buněčný model paměti/učení
- nejčastěji se studuje na akutních hipokampálních řízcích - praktický *in vitro* model LTP

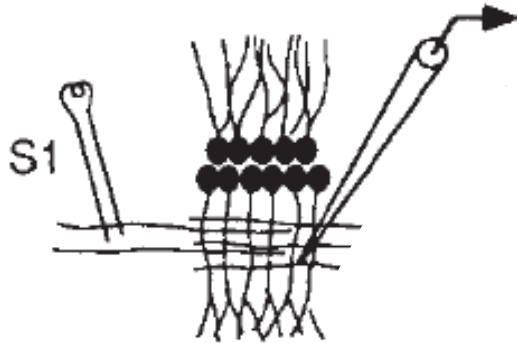
Akutní hipokampální řízky jako *in vitro* model pro studium LTP



Měřicí elektroda je umístěna extracelulárně (není zapíchnutá do neuronu).

Akutní hipokampální řízky jako *in vitro* model pro studium LTP

extracelulární snímání synaptického přenosu



Postup měření synaptického přenosu:

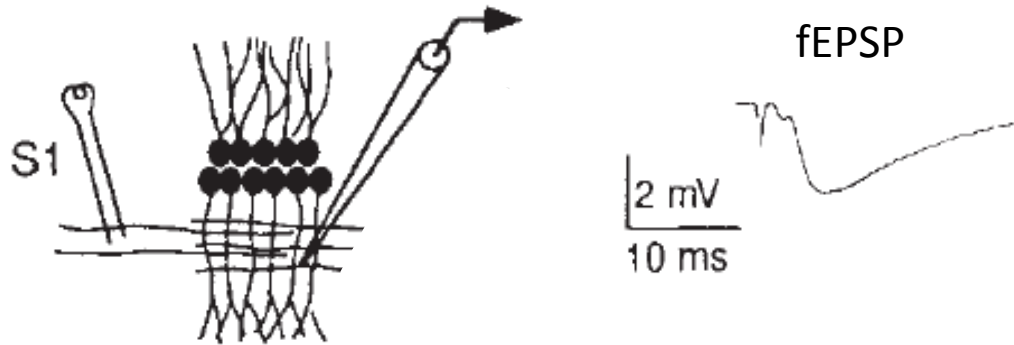
- 1) Stimulační elektrodou S1 odpálím v axonech AP (tisíce rovnoběžných axonů najednou)
- 2) AP jsou vedeny do synapsí, jejichž dendrity patří neuronům z CA1
- 3) Dochází k synaptickému přenosu mezi axony z CA3 a dendrity z CA1

Elektroda naměří, že v jejím okolí ubyly kladné náboje

- a) protože při AP teče Na^+ do axonů – to nás nezajímá
- b) protože při otevření AMPA a NMDA receptorů teče Na^+ a Ca^{2+} do dendritů

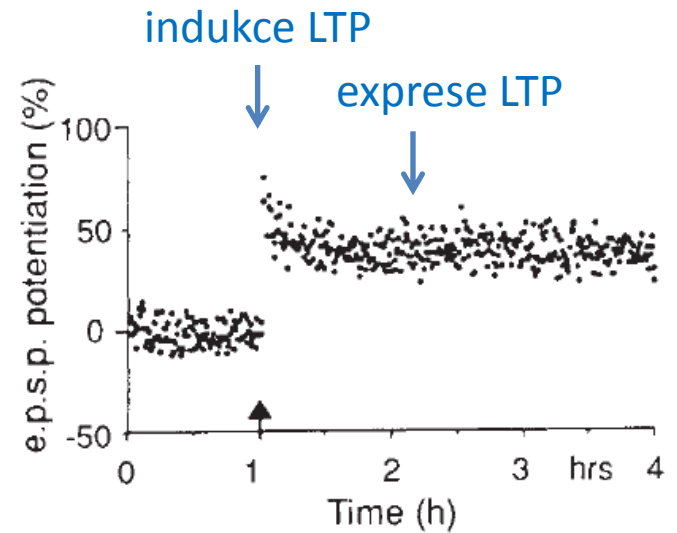
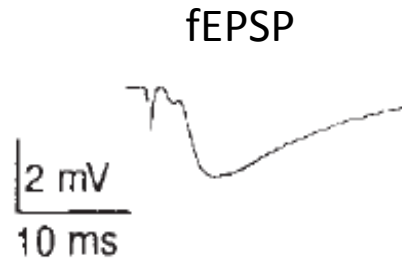
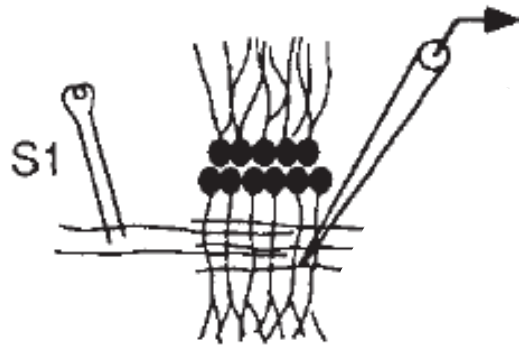
Akutní hipokampální řízky jako *in vitro* model pro studium LTP

extracelulární snímání synaptického přenosu



LTP experiment

extracelulární snímání synaptického přenosu



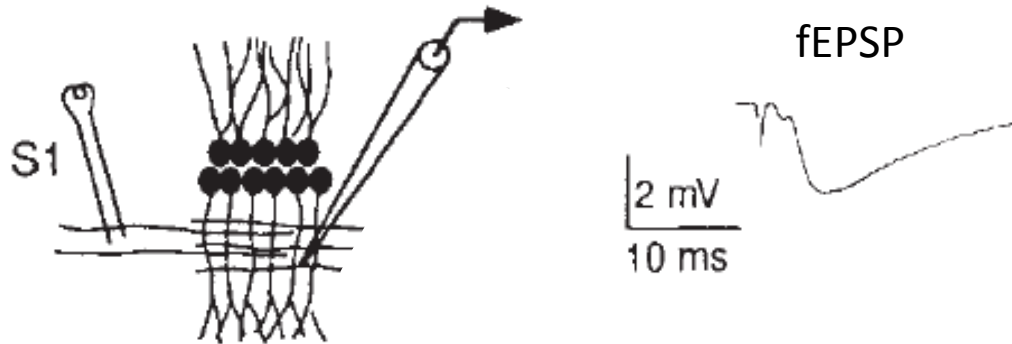
Bliss and Collingridge, 1993

Měření LTP

- 1) Měření kontrolních fEPSP
- 2) Indukce LTP = „tetanická“ stimulace = 100 Hz po dobu 1 sec
- 3) Měření potencionovaných fEPSP

LTP experiment

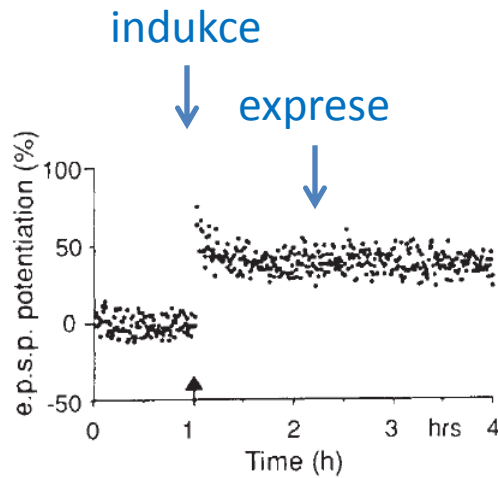
extracelulární snímání synaptického přenosu



intracelulární snímání – metoda terčíkového zámku (patch clamp)



Důležité vlastnosti LTP



Bliss and Collingridge, 1993

early LTP - trvání ~1h

- nevyžaduje syntézu proteinů

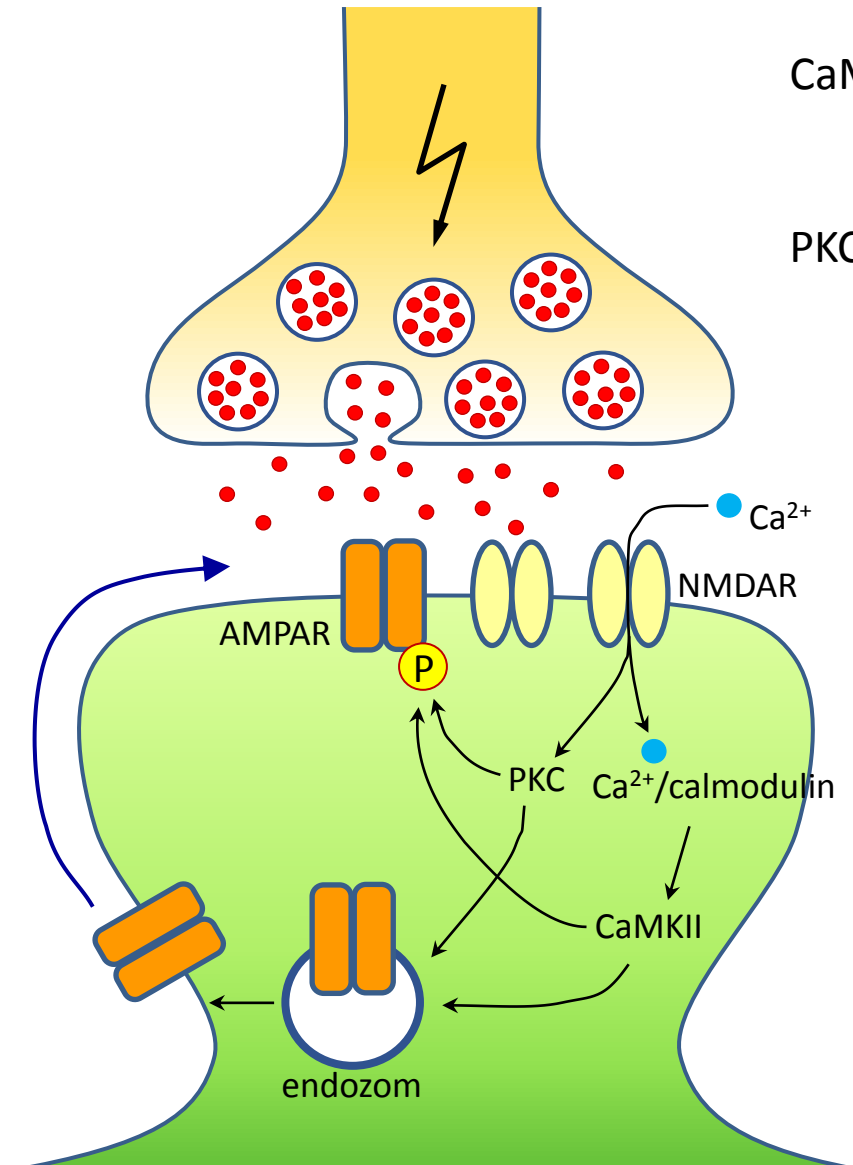
late LTP - trvání >2h

- závisí na transkripci genů a
na syntéze nových proteinů

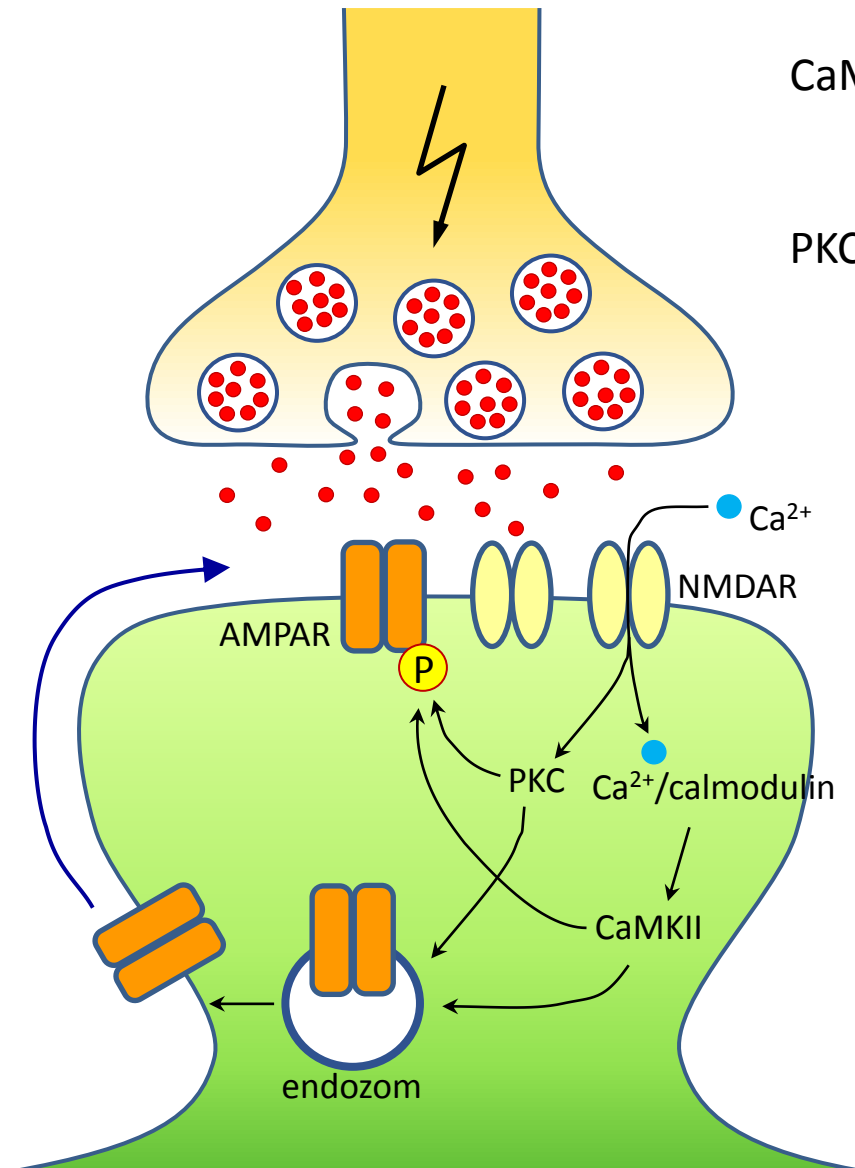
Jak probíhá early LTP

CaMKII – Kalcium/kalmodulin dependentní
proteinkináza II

PKC – proteinkináza C



Jak probíhá early LTP



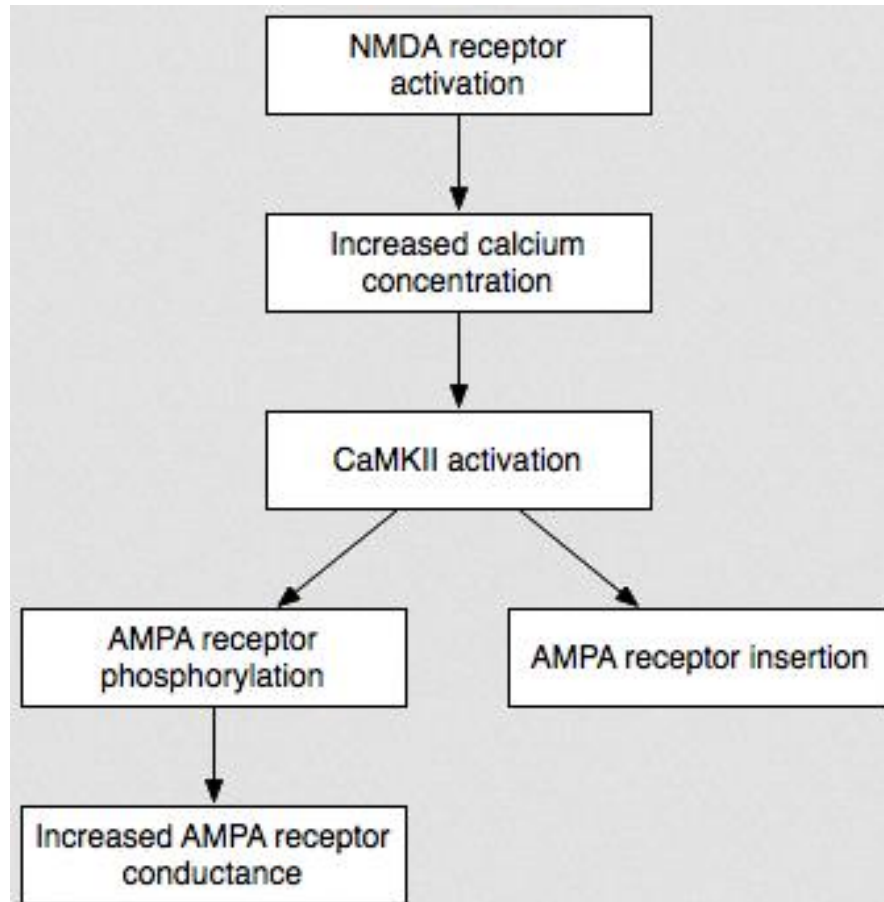
CaMKII – Kalcium/kalmodulin dependentní proteinkináza II

PKC – proteinkináza C

Molekulární princip early LTP je především postsynaptický:

- inserce nových AMPA receptorů
- zvýšení funkce AMPA receptorů jejich fosforylací

Early LTP



Late LTP

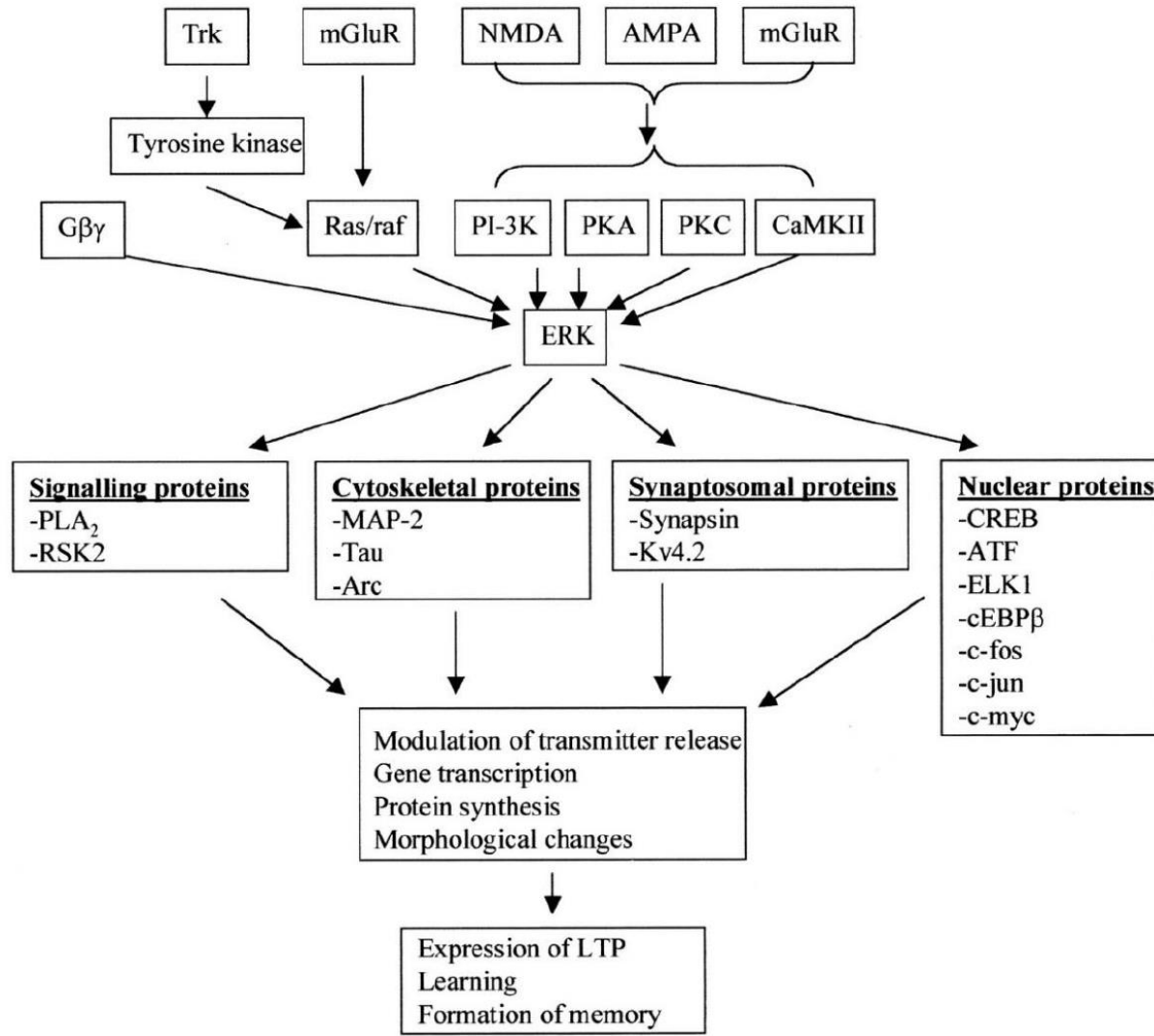
Late LTP spočívá v transkripci genů, syntéze nových proteinů a jejich dopravě do synapse

Jedná se např. o syntézu nových AMPA receptorů a proteinů postsynaptické denzity (PSD-95, Homer ..., protože dendritický trn se zvětšil)

Panuje shoda, že signální kaskády PKC, CaMKII a další vedou k aktivaci extracelulární signálem regulované kinázy (ERK (patří mezi MAPK))

ERK aktivuje transkripční faktory ...

Late LTP



extracellular signal-regulated kinase (ERK) - aktivuje transkripční faktory
- patří mezi mitogenem aktivované proteinkinázy

Long-term potentiation (LTP)

- biologický fenomén v souladu s Hebbovou teorií
- patří mezi dlouhodobou plasticitu
- je to zajímavý buněčný model paměti/učení
- nejčastěji se studuje na akutních hipokampálních řízcích - praktický *in vitro* model LTP
- i v jiných částech mozku byla naměřena dlouhodobá plasticita (mozková kůra, mozeček, amygdala, ...)
- téměř všechny typy excitačních synapsí vykazují schopnost dlouhodobé plasticity

Pozor!

V jiných částech mozku existují i jiné molekulární mechanismy LTP.

Např. v jiné části hipokampu probíhá LTP nezávislá na NMDA receptorech, která závisí na mGluR.

Long-term depression (LTD)

Je to dlouhodobé oslabení synapsí způsobené speciální stimulací těchto synapsí

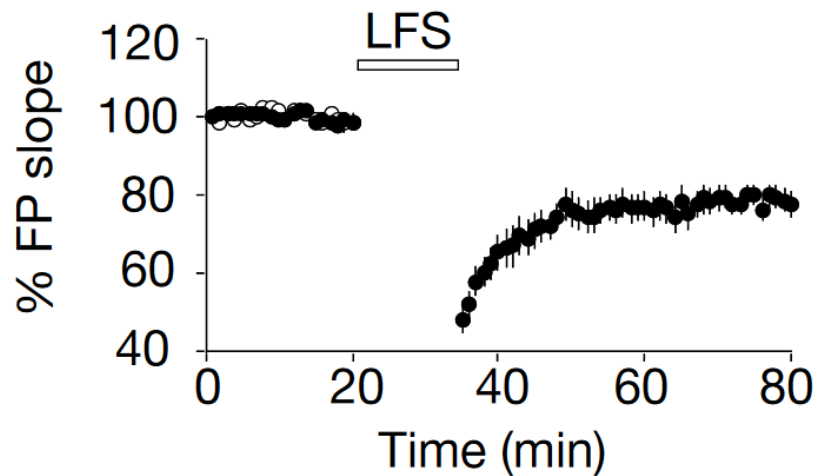
Měří se ve stejné oblasti hipokampu – stejné uspořádání experimentu

Indukce: 1 Hz stimulace CA3 axonů, 10 - 15 min (Low frequency stimulation)

Long-term depression (LTD)

Měří se ve stejné oblasti hipokampu – stejné uspořádání experimentu

Indukce: 1 Hz stimulace CA3 axonů, 10 - 15 min (Low frequency stimulation)



Kyoung Lee, 2000

Výsledek je dlouhodobý pokles fEPSP

Long-term depression (LTD)

Mechanismus CA3-CA1 synapsích hipokampu:

- vtok Ca^{2+} aktivuje Ca-závislé fosfatázy (hlavně kalcineurin)
- defosforylace AMPA receptorů,
- internalizace AMPA receptorů

V jiných částech mozku (kůra, striatum, mozeček, ...) je mechanismus naprosto odlišný!

Někde je např. LTD vyvoláno silnou synaptickou stimulací, někde nastává LTD vlivem presynaptických změn

Častý mechanismus: snížení počtu AMPA receptorů v postsynapsi

Shrnutí

- Existuje mnoho druhů plasticity (na úrovni celé nervové soustavy, na úrovni synapsí, krátkodobá, dlouhodobá)
- LTP a LTD v hipokampu zdaleka nejsou jediné formy plasticity

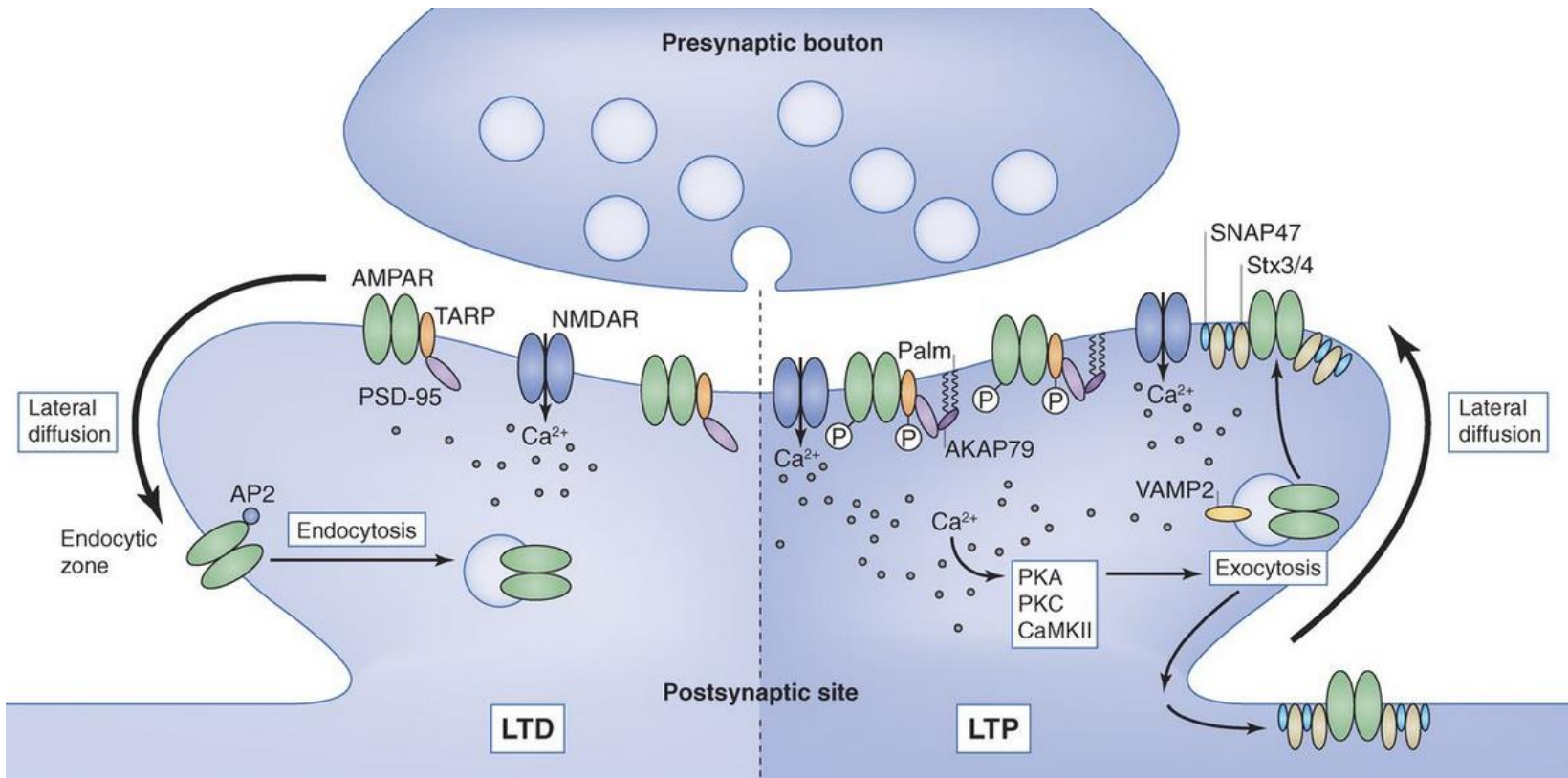
Shrnutí

- Existuje mnoho druhů plasticity (na úrovni celé nervové soustavy, na úrovni synapsí, krátkodobá, dlouhodobá)
- LTP a LTD v hipokampu zdaleka nejsou jediné formy plasticity

LTP a LTD v hipokampu

- Presynaptické uvolnění glutamátu aktivuje AMPA a NMDA receptory, do postsynapse vtéká Ca^{2+} .
- Indukce LTP vyžaduje hodně Ca^{2+} , indukce LTD vyžaduje málo Ca^{2+} .
- Při LTP se díky Ca^{2+} aktivuje CaMKII a intracelulární AMPA rec. jsou přidány do synapse.
- Při LTD se díky Ca^{2+} aktivuje Ca-závislá fosfatáza kalcineurin a AMPA receptory endocytují.
- Molekulární mechanismy LTP a LTD se v různých částech mozku liší

Shrnutí: LTP a LTD v hipokampu



XXxx

XXxxxx

XXxxx

XXxx