

Потенциалзависимые кальциевые каналы разных типов в нервно-мышечных синапсах позвоночных и их вклад в модуляцию процесса нейросекреции

Е.Е. Никольский

*Казанский институт биохимии и биофизики РАН;
Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

Потенциалзависимые кальциевые каналы играют важную роль в синаптической передаче возбуждения, обеспечивая вход ионов кальция в пресинаптическое нервное окончание, инициирующего экзоцитоз нейромедиатора. Помимо количества высвобождаемых квантов медиатора (квантовый состав потенциалов постсинаптического ответа) важной характеристикой экзоцитоза является степень синхронности выделения отдельных квантов, формирующих многоквантовый ответ (кинетика секреции). Ранее нами была показана зависимость временных параметров секреции квантов медиатора от внеклеточной концентрации ионов кальция, однако оставалось невыясненным, при участии кальциевых каналов какого типа осуществляется модуляция квантового состава и кинетики секреции. Было принято считать, что в отличие от синапсов центральной нервной системы, где в реализации процесса нейросекреции участвуют потенциалзависимые кальциевые каналы разных типов, в синапсах периферической нервной системы зрелых животных экзоцитоз опосредован преимущественно одним типом кальциевых каналов. Для нервно-мышечного соединения теплокровных – это каналы $Ca_v2.1$, блокируемые токсином FTX и ω -агатоксином IVA, а для синапсов лягушки – каналы $Ca_v2.2$, блокатором которых является ω -контотоксин GVIA. Вместе с тем способность специфического блокатора $Ca_v2.1$ -каналов FTX снижать количество высвобождаемых квантов нейромедиатора в синапсах лягуш-

ки и эффекты дигидропиридинов, блокирующих $Ca_v1.2$ -каналы в развивающихся синапсах Хепорус, указывают на возможность участия кальциевых каналов других типов в регуляции экзоцитоза в периферическом синапсе холоднокровных. В свою очередь, в нервно-мышечном синапсе крысы иммуногистохимическими методами показано представительство потенциалзависимых кальциевых каналов $Ca_v2.2$, $Ca_v2.1$, $Ca_v2.3$ типов (Day et al., 1997), а в синапсах мышцы и рака выявлена модуляция экзоцитоза посредством изменения активности не только $Ca_v2.1$, но и $Ca_v2.2$ и $Ca_v1.2$ кальциевых каналов.

В настоящем исследовании для выявления типов потенциалзависимых кальциевых каналов, представленных в синапсах лягушки, крысы и мышцы был проведен иммуногистохимический анализ с использованием поликлональных антител против основных каналообразующих субъединиц $\alpha1A$ ($Ca_v2.1$), $\alpha1B$ ($Ca_v2.2$), $\alpha1C$ ($Ca_v1.2$), $\alpha1D$ ($Ca_v1.3$), $\alpha1E$ ($Ca_v2.3$). Оценку иммунофлуоресцентного окрашивания нервно-мышечных препаратов осуществляли с помощью лазерных сканирующих конфокальных микроскопов: Zeiss LSM 510 Meta (Carl Zeiss, Germany) и Leika SP-5 (Leika, Germany).

В синапсах кожно-грудинной мышцы лягушки выявлено специфическое окрашивание антителами к кальциевым каналам следующих типов: $Ca_v2.2$, $Ca_v2.1$, $Ca_v1.3$ и $Ca_v2.3$. Оно имело точечный характер и равномерно распределялось на всем

протяжении нервно-мышечного синапса. Таким образом, в нервно-мышечном синапсе лягушки кроме основного типа кальциевых каналов $Ca_v2.2$, выявлены каналы других типов ($Ca_v2.1$, $Ca_v1.3$ и $Ca_v2.3$). То факт, что под действием блокаторов обнаруженных типов кальциевых каналов уменьшался вход кальция в нервное окончание, оцененный с помощью флуоресцентных кальцийзависимых красителей, свидетельствует о пресинаптической локализации этих каналов. Для выявления вклада каналов разных типов в обеспечение процесса экзоцитоза квантов нейромедиатора с помощью электрофизиологических методов исследовали количество и степень синхронности высвобождения квантов ацетилхолина из двигательных нервных окончаний при блокировании обнаруженных иммуногистохимическими методами кальциевых каналов. Установлено, что в нервно-мышечном соединении лягушки блокирование $Ca_v2.2$, $Ca_v2.1$ и $Ca_v1.2$ -каналов специфическими блокаторами приводило как к снижению количества освобождаемых квантов, так и к уменьшению флуктуаций синаптических задержек, что указывает на синхронизацию процесса экзоцитоза синаптических везикул. Полученные данные свидетельствуют о том, что количество высвобождаемых квантов и временные параметры их секреции в синапсах лягушки регулируются как $Ca_v2.2$,

так и $Ca_v2.1$ и $Ca_v1.2$ кальциевыми каналами.

В синапсах диафрагмального препарата крысы иммуногистохимическое окрашивание специфическими антителами против $\alpha1C$ и $\alpha1D$ субъединиц $Ca_v1.2$ и $Ca_v1.3$ типов кальциевых каналов показало присутствие только каналов $Ca_v1.2$ типа. Таким образом, в нервно-мышечном синапсе диафрагмы крысы помимо основного типа $Ca_v2.1$ дополнительно обнаруживаются кальциевые каналы $Ca_v1.2$ типа.

Анализ интенсивности окрашивания в синапсах диафрагмального препарата мышцы показал, что в этих синапсах присутствуют каналы $Ca_v2.1$ и $Ca_v2.2$ типов. При этом электрофизиологическими методами было установлено, что при редкой частоте стимуляции в условиях сниженного внеклеточного содержания ионов кальция, когда несинхронность секреции была существенно выражена, блокада $Ca_v2.1$ -каналов вызывала уменьшение количества выделяющихся квантов медиатора, не влияя на кинетику их выделения, тогда как блокада $Ca_v1.2$ -каналов снижала степень флуктуаций синаптических задержек, не изменяя количества выделившихся квантов.

Обсуждается возможная роль кальциевых каналов разных типов в регуляции количества выделяемых квантов и временного хода процесса нейросекреции.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и «Ведущая научная школа».