Секция «Физиология человека и животных»

Определение механизма увеличения размера кванта ацетилхолина под действием КГРП, высвобождающегося при длительной высокочастотной активности в зрелых нервно-мышечных синапсах мыши

Научный руководитель – Богачева Полина Олеговна

Голикова Екатерина Андреевна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии человека и животных, Москва, Россия

E-mail: katushka123321@mail.ru

Известно, что в моторных и сенсорных нервных окончаниях скелетных мышц помимо холинергических везикул содержатся электроннoплотные везикулы (dense-core vesicles или DCV). Ранее показано, что интенсивная импульсная активность аксонов может приводить к экзоцитозу DCV везикул, в результате чего кальцитонин ген-родственный пептид (КГРП), содержащийся в них, выбрасывается в синаптическую щель и оказывает свои эффекты посредством активации специфических рецепторов. Это явление сопровождается увеличением размера кванта ацетилхолина, что проявляется в виде увеличения амплитуды спонтанных миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП), и предотвращается в экспериментах с использованием везамикола - блокатора накачки АХ в везикулу. Целью данного исследования являлось дальнейшее выяснение участников ранее неизвестного каскада реакций в нервных терминалях зрелых моторных синапсов мыши, запускаемого эндогенным КГРП и приводящего к увеличению размера кванта АХ.

В работе использовали стандартную микроэлектродную технику отведения МПКП в изолированных нервно-мышечных препаратах m.EDL мыши. Для стимуляции высвобождения эндогенного КГРП, раздражали нерв длинными залпами сверхпороговых импульсов (2 мин, 30 Гц) и далее регистрировали активность разных синапсов на протяжении 60 мин для последующей оценки постактивационных изменений амплитуды МПКП по сравнению с контролем. Данные группировались в интервалы по 10 минут.

Экзоцитоз DCV может избирательно запускаться кальций-активируемым выбросом Ca^{2+} из кальциевых депо терминалей. Мы блокировали рианодиновые рецепторы рианодином (1мкМ), что предотвращает выброс депонированного кальция. Рианодин (1 мкМ) сам по себе не оказал действия на параметры спонтанной секреции, однако полностью предотвратил постактивационный прирост амплитуды МПКП. Таким образом показано участие депонированного кальция в высвобождении эндогенного КГРП. Использование H89 (1мкМ) - ингибитора протеинкиназы А (ПКА) также полностью предотвращало прирост амплитуды МПКП в течение часа после стимуляции, что показывает, что ПКА также является важным звеном на пути к увеличению размера кванта АХ. Наконец интенсивная стимуляция рассеченного препарата m.EDL мыши не привела к изменениям в параметрах спонтанной секреции, что заставляет нас задуматься о том, откуда именно выделяется КГРП при длительной высокочастотной стимуляции. Нами рассматривается несколько возможных вариантов. Несмотря на то, что показано наличие DCV и КГРП в их составе в моторных терминалях, нельзя исключить возможное высвобождение пептида из сенсорных нервных окончаний мышечных волокон. Также нельзя исключать и возможность зависимого от КГРП участия других эндогенных пептидов, способных на пресинаптическом уровне увеличивать размер кванта АХ.

Таким образом, показано, что высвобождение КГРП является кальций зависимым процессом, а его эффект увеличения размера кванта АХ опосредован действием ПКА.

Дальнейшие детали механизма потенцирующего действия КГРП и источник его секреции предстоит выяснить в следующих экспериментах.