

СВОЙСТВА ПРЕСИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ АКТИНА

© 2023 И.В. Кудряшова

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
117485 Москва, Россия; электронная почта: iv_kudryashova@mail.ru*

Поступила в редакцию 03.10.2022

После доработки 12.12.2022

Принята к публикации 13.12.2022

На переживающих срезах гиппокампа крыс методом парной стимуляции исследовали изменение свойств пресинаптической кратковременной пластичности на фоне блокады деполимеризации и активации полимеризации актина. Тестирование синаптической передачи CA3-CA1 в режиме парной стимуляции с межстимульным интервалом 70 мс производилось до и на фоне джасплакинолида, ингибитора деполимеризации, применяемого также для индукции полимеризации актина. Увеличение амплитуды ответа при аппликации джасплакинолида сопровождалось снижением фасилитации при парной стимуляции (PPF), что свидетельствует о пресинаптических механизмах потенциации. Эффект усиливался пропорционально величине исходной PPF. Учитывая известные механизмы, лежащие в основе PPF, можно предположить, что при низкой вероятности выброса медиатора дополнительная полимеризация актиновых филаментов способствует её увеличению. Иначе изменялись менее типичные для поля CA1 реакции на парную стимуляцию (PPF около 1 или даже парная депрессия), и джасплакинолид увеличивал амплитуду второго, но не первого в паре ответа, так что соотношение амплитуд второго и первого ответа даже увеличивалось в среднем с 0,8 до 1. Предполагается, что, помимо основного эффекта, на фоне джасплакинолида снижается влияние факторов, способствующих парной депрессии. Так или иначе, полимеризация актина приводит к потенциации синаптических реакций, хотя паттерн активации может различаться в зависимости от исходных свойств пресинаптической пластичности. В заключение: комплексный эффект джасплакинолида, помимо увеличения вероятности выброса медиатора, включает и другие зависимые от полимеризации актина механизмы, в том числе лежащие в основе кратковременной синаптической депрессии при парной стимуляции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гиппокамп, пресинаптическая пластичность, кратковременная фасилитация при парной стимуляции, кратковременная депрессия при парной стимуляции, полимеризация актина, джасплакинолид.

DOI: 10.31857/S0320972523030089, **EDN:** QWVKJP

ВВЕДЕНИЕ

Структура синапса поддерживается высокодинамичным «молекулярным ансамблем», включающим скелетные, каркасные (scaffold) и якорные белки, которые являются основой для встраивания и поддержания сигнальных и регуляторных белков, определяющих эффективность синапса и в том числе секрецию медиатора [1]. Простое увеличение эффективности проведения, которое, согласно концептуальным представлениям, может быть основой обучения и памяти, является лишь начальным этапом долговременных модифи-

каций, и для эффективной консолидации необходима реорганизация и обновление синаптических структур или даже синапсов [2, 3].

Молекулярной основой структурной пластичности синапсов является реорганизация актинового цитоскелета [4–6]. В частности, зависимые от актина модификации обнаружены при исследовании долговременной синаптической потенциации (LTP), в том числе и в CA1 [7]. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что полимеризация актина после высокочастотного

Принятые сокращения: LTP – долговременная потенциация; PPD – кратковременная депрессия при парной стимуляции; PPF – кратковременная фасилитация при парной стимуляции; PPR – соотношение амплитуд второго и первого ответа.

раздражения значительно улучшает эффективность поддержания ЛТР [7–11]. Большинство этих работ сообщают о полимеризации актина постсинаптического компартмента, тогда как потенциальный вклад пресинаптического компартмента никак не обсуждается. Между тем об участии актина в пресинаптических модификациях свидетельствуют эксперименты на беспозвоночных животных [12, 13]. Учитывая достаточно обоснованные представления об эволюционно консервативных механизмах регуляции, аналогичные зависимые от актина перестройки могут быть обнаружены и в синапсах позвоночных животных, включая пресинаптические модификации [1, 5, 14, 15, 16].

Наряду с постсинаптическими механизмами ЛТР, высокочастотное раздражение синаптических входов может приводить к увеличению пресинаптического высвобождения медиатора [17–20]. Известно, что ЛТР синапсов СА3-СА1 в равной степени зависит от постсинаптических и пресинаптических модификаций [21–24]. Конкретные механизмы неизвестны, однако очевидно, что реорганизация синаптических контактов подразумевает скоординированность структурных модификаций пресинаптического и постсинаптического компартмента [3]. Ранее было обнаружено, что поддержание ЛТР улучшается при условии посттетанического снижения PPF [25], что, как известно, считается признаком увеличения вероятности выброса медиатора [26, 27]. Вполне вероятно, что полимеризация пресинаптического актина, так же как и в постсинапсе, может иметь отношение к процессам консолидации.

Роль реполимеризации актина в регуляции пресинаптических функций достаточно хорошо изучена в экспериментах на культуре нервных клеток, включая исследования синапсов гиппокампа [14, 15, 28, 29]. Однако использование ингибиторов полимеризации и деполимеризации в электрофизиологических экспериментах на срезах и *in vivo* не всегда приводит к однозначным результатам, и наблюдаемые при этом пресинаптические модификации зачастую не соответствуют теоретическим ожиданиям. Это означает, что в эффекты ингибиторов вмешивается множество дополнительных факторов, каждый из которых необходимо контролировать в отдельности. Предполагается, что одним из существенных факторов разнообразия эффектов может быть исходное состояние синапса.

Для данного корреляционного исследования в качестве контролируемого фактора был выбран показатель, позволяющий оценить вклад пресинаптического компонента в

изменения амплитуды синаптических потенциалов на фоне джасплакинолида. Согласно гипотезе остаточного кальция, феномен PPF имеет преимущественно пресинаптическую природу, и этот тест часто используется для определения изменения вероятности выброса медиатора [27, 30, 31]. Чтобы оценить, может ли полимеризация актина приводить к пресинаптическим модификациям в синапсах гиппокампа, на переживающих срезах гиппокампа крыс сравнивали соотношение амплитуд СА3-СА1 второй и первой реакций на парную стимуляцию (PPR) до и на фоне инкубации с джасплакинолидом, применяемым *in vitro* для индукции полимеризации актина [32]. Чтобы минимизировать вклад других пресинаптических и постсинаптических механизмов, включая суммацию с бисинаптическим тормозным постсинаптическим потенциалом (ТПСП), которые, наряду с зависимой от остаточного кальция пресинаптической фасилитацией моносинаптических возбуждающих входов, способны изменять реакцию на парную стимуляцию регистрируемых в поле СА1 экстраклеточных потенциалов, парная стимуляция производилась с межстимульным интервалом 70 мс. В данной работе представлен детальный корреляционный анализ эффектов джасплакинолида с учётом всех характеристик, включая особенности изменения амплитуды первого и второго в паре ответа, их соотношения и их исходно разную величину.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Крысы Wistar были получены из питомника «Столбовая» РАН (Московская обл.) и содержались в институтском виварии по 4–5 животных в каждой клетке. Животные имели неограниченный доступ к пище и воде, световая фаза суточного цикла продолжалась с 8:00 до 20:00. В работе использовали 14 животных 1–1,5-месячного возраста весом 100–150 г.

Процедура изготовления срезов. После быстрой декапитации черепную кость подрезали с затылочной стороны и отгибали в сторону. Острым лезвием кору надрезали по направлению от глаза к середине мозжечка. С помощью ручного слайсера извлекали несколько срезов перпендикулярно продольной оси гиппокампа. Вся процедура от начала декапитации до помещения срезов в перфузионную среду занимала не более 1,5–2 минут. Состав перфузионной среды (мМ): NaCl – 124; KCl – 5; MgSO₄ × 7H₂O – 1,3; CaCl₂ – 2,5; NaH₂PO₄ – 1;

NaHCO_3 – 26; D-глюкоза – 10; карбоген – 95% O_2 и 5% CO_2 ; pH 7,3–7,4, температура 32 °C. В каждом эксперименте было использовано 3–4 среза. Для стабилизации срезы одновременно инкубировали в экспериментальной камере в течение 1,5 часов без предъявления тестирующих раздражений.

Стимуляция и регистрация. Для регистрации фокальных потенциалов в пирамидном слое поля CA1 использовали стеклянные микроэлектроды, заполненные 0,33 М раствором хлористого натрия. Раздражающие биполярные электроды устанавливали в радиальном слое на коллатерали Шаффера. Тестирование фокальных потенциалов в течение всего времени регистрации производилось парными стимулами с межстимульным интервалом 70 мс. Чтобы увеличить разнообразие исходных PPF в срезах гиппокампа одного и того же животного, использовалась переменная интенсивность раздражения с поочерёдным тестированием реакций с амплитудой 50%, а также 30% и/или 70% от максимальной величины.

Используемые препараты. После стабилизации и контрольного тестирования повторное тестирование в каждом из срезов производилось на фоне аппликации джасплакинолида – проникающего через мембрану пептида, стабилизирующего актиновые филаменты («Sigma», США, Cat# J4580). Аликвоты исходного раствора замораживали при –20 °C и непосредственно перед употреблением растворяли в стандартном перфузионном растворе до конечной концентрации 0,2 мкМ. Не прекращая тестирования, этот раствор постепенно подвели к одному из срезов непосредственно в область регистрации в течение 20 мин с помощью программируемого микроинъектора без отключения основного протока. Такой способ подведения позволяет минимизировать эффект смены протока. Каждый следующий срез инкубировали индивидуально. Порядок тестирования зависел от расположения среза в экспериментальной камере, начиная с наиболее удалённого по ходу основного протока.

Статистический анализ. Измеряли амплитуду популяционного спайка первого в паре ответа (A_1) и усредняли по всем срезам в соответствии с моментом от начала аппликации. Результаты выражены в виде $M \pm SEM$. Дополнительно измеряли амплитуду второго в паре ответа (A_2) и вычисляли соотношение амплитуд второго и первого в паре ответа A_2/A_1 (PPR). Для определения статистической значимости влияния джасплакинолида был использован *t*-критерий Стьюдента для зависимых переменных. В подгруппах данных,

включающих реакции с исходно низкими или высокими значениями PPR, после разделения выборки утративших соответствие нормальному распределению, использовали критерий Вилкоксона для связанных пар наблюдений. Связь всех исследуемых показателей с их изменением на фоне джасплакинолида (ΔA_1 , ΔA_2 , ΔPPR) определяли с помощью вычисления коэффициентов корреляции Пирсона. Статистическая обработка данных производилась с помощью программного обеспечения STATISTICA12 («StatSoft», США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При сравнении средних величин по всей выборке в целом было обнаружено, что амплитуда первого в паре ответа на фоне джасплакинолида постепенно увеличивалась. Судя по изменению средних амплитуд, через 20 мин после начала подведения, например, тех, которые составляют половину от максимальной величины (рис. 1, *a*, $n = 14$, $1,39 \pm 0,1$ мВ до и $1,76 \pm 0,16$ мВ после начала подведения, $t = 2,33$, $p = 0,03$ для зависимых выборок; для сравнения: $1,27 \pm 0,15$ мВ до и $1,32 \pm 0,29$ мВ после подведения ДМСО, $n = 11$, $t = 0,27$, $p = 0,79$ для зависимых выборок), чаще преобладала потенциация, хотя результаты индивидуальных тестов сильно различались. Поэтому основная часть исследования была направлена на поиск факторов, определяющих индивидуальную вариабельность реакций на подведение джасплакинолида. Сравнение зависимости амплитуды ответа от входных характеристик до и на фоне джасплакинолида не выявило значимого влияния фактора интенсивности тестирующего раздражения на характер модификаций. Следовательно, разнообразие и нестабильность эффектов джасплакинолида определяется другими факторами. В частности, оказалось, что даже в одном и том же гиппокампе эффект потенциации больше зависел от особенностей исходных реакций на парную стимуляцию.

Поскольку потенциация на фоне джасплакинолида сопровождалась снижением PPF, далее представлен более детальный анализ этих результатов. Учитывая возможность интерференции пресинаптической потенциации с другими зависимыми от актина механизмами, необходимо было контролировать любую несогласованность изменения амплитуды первого и второго ответа и их соотношения. Корреляционный анализ показал, что главным фактором, определяющим различия в эффектах джасплакинолида, является величина исходной PPR.

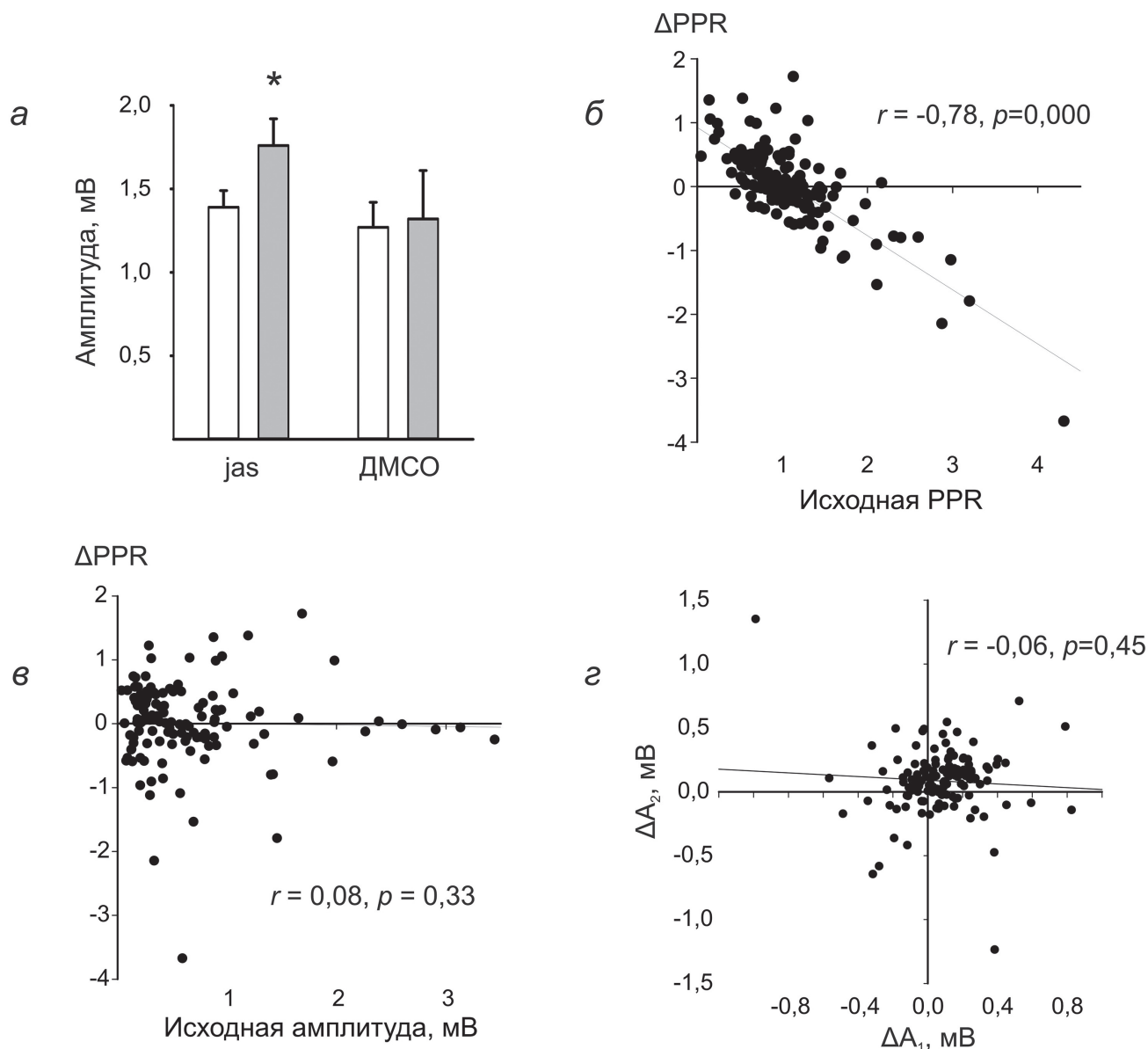


Рис. 1. Закономерности изменения величины PPR при аппликации джасплакинолида. *а*: Потенциация первого в паре ответа ($n = 14$). Ордината – амплитуда первого в паре ответа при средней интенсивности раздражения (половина от максимальной до подведения джасплакинолида). В качестве контроля представлены результаты аппликации ДМСО. Светлые столбики – до, тёмные столбики – через 20 мин после начала подведения. Результаты представлены в виде $M \pm SEM$. Отмечены значимые ($* p < 0,05$) отклонения относительно среднего контрольного уровня. *б, в*: Изменения PPR (ордината: $\Delta PPR = PPR_{дж} - PPR_{до}$) в зависимости от исходных параметров (абсцисса, *б*: исходные PPR, *в*: амплитуда первого в паре ответа до аппликации). *з*: Разница между величиной амплитуд до и после аппликации. Первая (абсцисса, $\Delta A_1 = A1_{дж} - A1_{до}$) и вторая (ордината, $\Delta A_2 = A2_{дж} - A2_{до}$) амплитуды меняются независимо

Точечная диаграмма на рис. 1, *б* иллюстрирует достаточно чёткую зависимость изменения PPR от величины PPR до аппликации. По всей выборке в целом коэффициент корреляции между исходной PPR и величиной её снижения составил $r = -0,78$, $p = 0,000$, $n = 139$. Очевидно, что чем больше исходная вероятность выброса медиатора приближается к максимальной, тем меньше возможность пресинаптической потенциации и, соответственно, снижения PPF. При этом изменения

PPR не зависели от исходной амплитуды ответа ($r = 0,08$, $p = 0,33$, $n = 139$, рис. 1, *в*). Следовательно, сам по себе уровень активации, в частности, создаваемый балансом возбуждения и торможения, вряд ли имеет отношение к разнообразию эффектов, и дефицит пресинаптической потенциации сиснапсов с исходно высокой вероятностью выброса медиатора может быть единственным объяснением обнаруженной в эксперименте корреляционной зависимости.

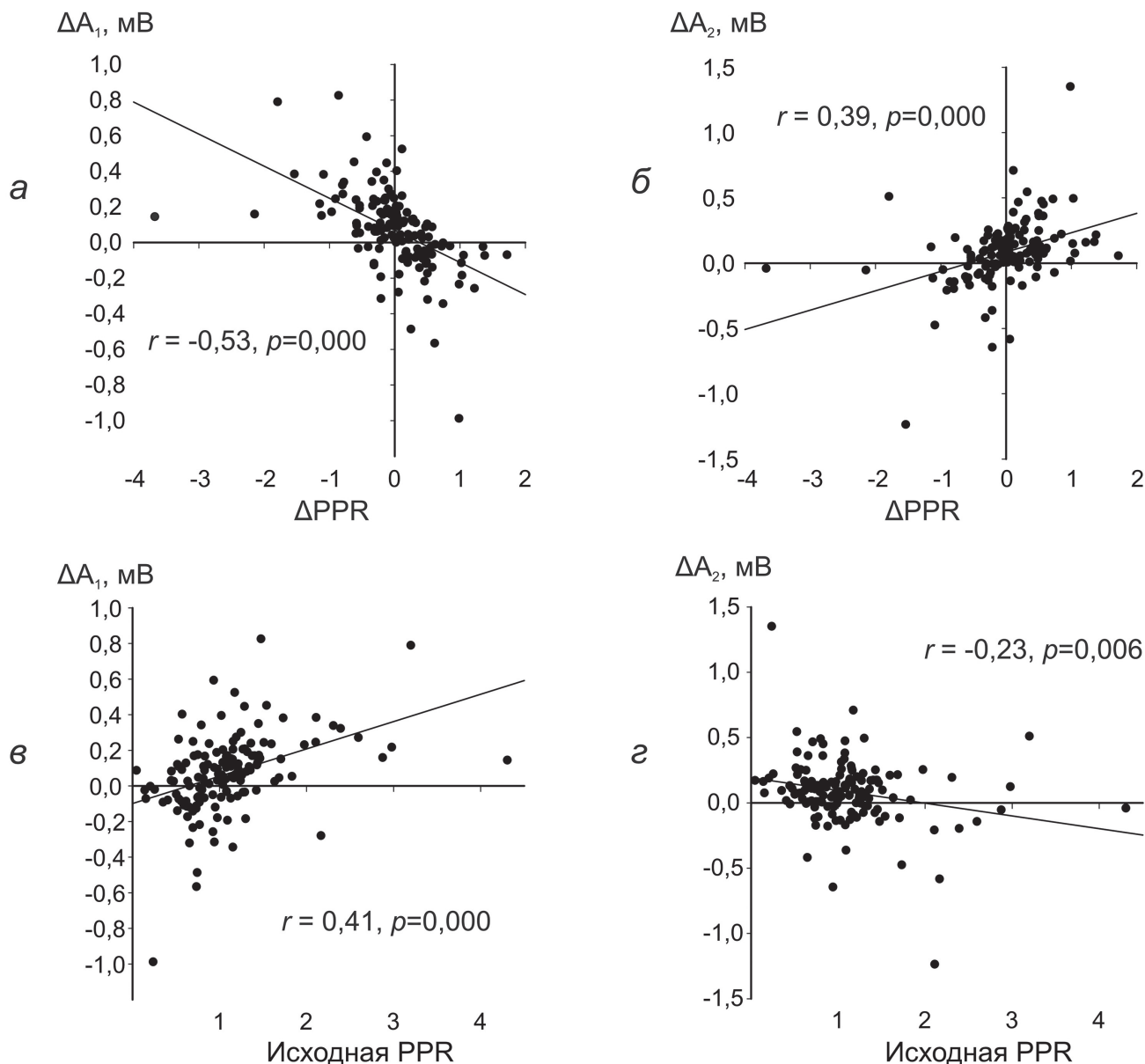


Рис. 2. Изменения первого и второго в паре ответа и их обратная связь с другими характеристиками. Абсцисса – изменения PPR ($PPR_{дж} - PPR_{до}$, а и б) и исходные PPR (в и г). Ордината – изменения первой (а и в, $\Delta A_1 = A1_{дж} - A1_{до}$) и второй (б и г, $\Delta A_2 = A2_{дж} - A2_{до}$) амплитуды в ответ на аппликацию джасплакинолида

Необходимо отметить, что определение вероятности выброса медиатора с помощью PPF-теста существенно усложняется в некоторых экспериментах из-за увеличения амплитуды второго в паре ответа. Действительно, небольшая, но значимая корреляция между изменением амплитуды второго ответа и PPR подтверждается статистически ($r = 0,38, p = 0,000, n = 139$). Существенно, что при парной стимуляции первый и второй потенциалы по-разному реагировали на подведение джасплакинолида ($r = -0,06, p = 0,45, n = 139$, рис. 1, з). Снижение величины PPF сопровождалось увеличением амплитуды первого в паре отве-

та ($r = -0,53, p = 0,000, n = 139$, рис. 2, а), что свидетельствует в пользу увеличения вероятности выброса медиатора. Однако потенциация второго в паре ответа сопровождалась увеличением PPR ($r = 0,39, p = 0,000, n = 139$, рис. 2, б). Если сравнивать с модификациями амплитуды первого ответа, соответствующие коэффициенты корреляции достоверно различались ($p < 0,001$) и были противоположны по знаку (рис. 2, а, б). Так или иначе, полимеризация актина в основном приводит к потенциации синаптических реакций, но паттерн активации может меняться в зависимости от исходной величины PPR. На рис. 2, в видно,

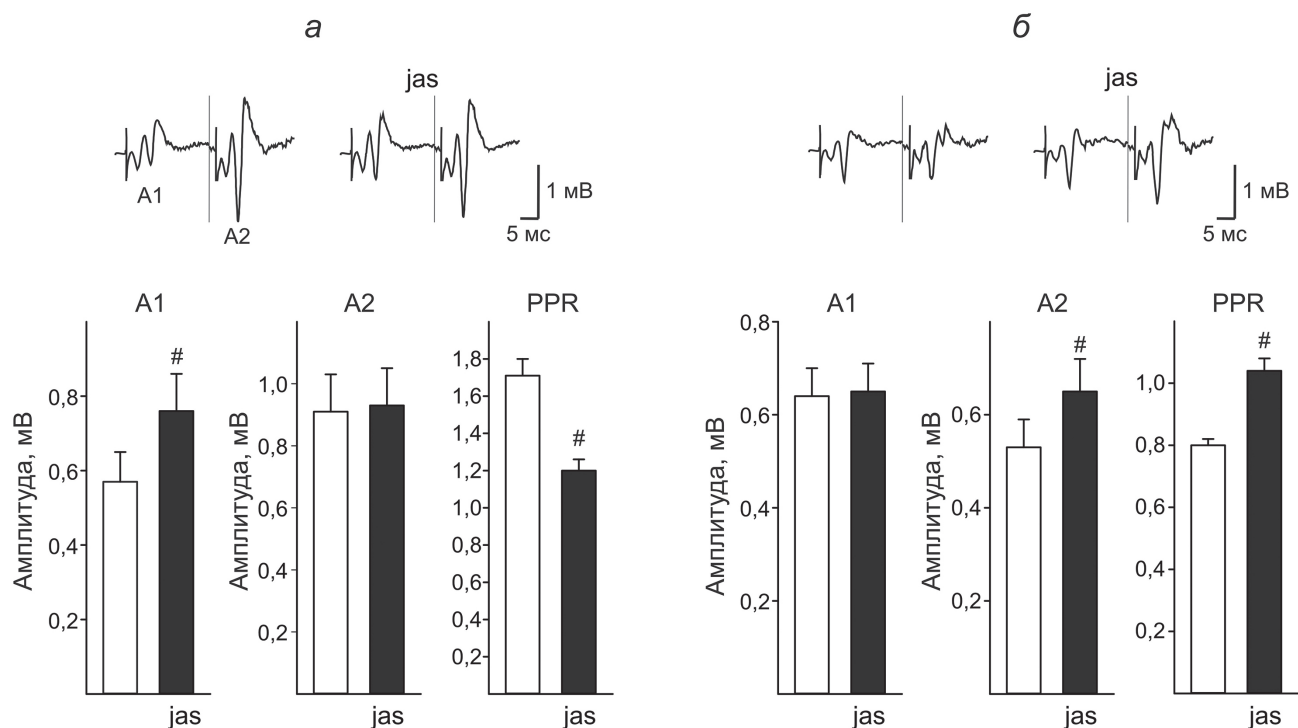


Рис. 3. Особенности влияния джасплакинолида на реакции с исходно высокими (*a*, $n = 45$) и низкими (*б*, $n = 94$) показателями PPR. Ордината – амплитуда первого (A1), второго (A2) в паре ответа и их соотношение (PPR). Результаты представлены в виде $M \pm SEM$. Светлые и тёмные столбики – амплитуда до и после аппликации джасплакинолида соответственно. Звёздочкой отмечена статистическая значимость каждого из эффектов джасплакинолида (тест Вилкоксона, *a* – подгруппа с исходно высокими значениями: A1 – $p < 0,007$, A2 – $p = 0,13$, PPR – $p < 0,000007$; *б* – подгруппа с исходно низкими значениями PPR: A1 – $p = 0,07$, A2 – $p < 0,0007$, PPR – $p < 0,007$). Примеры экспериментальных записей иллюстрируют типичные для соответствующей подгруппы реакции на парную стимуляцию с межстимульным интервалом 70 мс до и после аппликации джасплакинолида. Для удобства восприятия часть записи между первым и вторым предъявлением удалялась программой непосредственно при регистрации. Момент включения второго экрана отмечен вертикальной линией

что рост амплитуды первого в паре ответа на фоне джасплакинолида усиливался пропорционально величине исходной PPR ($r = 0,41$, $p = 0,000$, $n = 139$, рис. 2, в). Значимая корреляция является ещё одним аргументом в пользу того, что суммарная потенция снижается за счёт дефицита пресинаптической потенции синапсов с исходно высокой вероятностью выброса медиатора. Вместе с тем различия в исходной вероятности выброса медиатора не могут объяснить всех эффектов джасплакинолида и, в частности, увеличения амплитуды второго в паре ответа. В отличие от позитивной корреляции, обнаруженной для потенции первого ответа ($r = 0,41$, $p = 0,000$, $n = 139$, рис. 2, в), обращает на себя внимание обратная зависимость прироста амплитуды второго в паре ответа от исходной величины PPR ($r = -0,23$, $p = 0,006$, $n = 139$, рис. 2, з). Таким образом, в основе потенциации первого и второго ответа, скорее всего, лежат разные механизмы, и их преобладание зависит от исходных условий аппликации джасплакинолида.

Результаты корреляционного анализа показывают, что по результатам всей выборки в целом сравнение средних величин до и после аппликации джасплакинолида может приводить к неправильным выводам из-за неоднородности исходных условий его применения. На этом основании при статистическом анализе в данной работе было необходимо использовать исходную величину PPR в качестве одного из группирующих факторов. Критерием для разделения выборки служила величина исходной PPR = 1,2. В соответствии с этим критерием данные были сгруппированы в две отдельные выборки в зависимости от исходной величины PPR. Более типичной для CA3-CA1-синапсов реакцией на парную стимуляцию является, как правило, достаточно хорошо выраженная PPF. Примеры таких реакций на парную стимуляцию с межстимульным интервалом 70 мс до и на фоне джасплакинолида представлены на рис. 3, а. В ответ на аппликацию джасплакинолида такие реакции демонстрировали увеличение амплитуды первого в паре ответа с высокой степенью достовер-

ности (в среднем по подгруппе с $0,57 \pm 0,08$ мВ до $0,76 \pm 0,1$ мВ, $t = 6,14$, $p = 0,0000$ для зависимых выборок при сравнении амплитуд до и после аппликации). Амплитуда второго в паре ответа при этом оставалась неизменной (в среднем по подгруппе $0,91 \pm 0,12$ мВ до и $0,93 \pm 0,12$ мВ после аппликации, $t = 0,33$, $p = 0,74$ для зависимых выборок). В соответствии с этим происходило значимое снижение PPF (в среднем по подгруппе с $1,71 \pm 0,09$ до $1,2 \pm 0,06$, $t = 4,54$, $p = 0,00004$ для зависимых выборок), что свидетельствует в пользу участия полимеризации актина в регуляции вероятности выброса медиатора в типичных для поля CA1 условиях. Такого же снижения PPF не наблюдалось после инкубации с ДМСО ($1,77 \pm 0,23$ до и $2,36 \pm 0,59$ после подведения, $n = 11$, $t = 1,6$, $p = 0,13$ для зависимых выборок), хотя все срезы относились к подгруппе с исходно высокими значениями PPF.

Менее типичным для поля CA1 является отсутствие PPF или даже кратковременная депрессия (PPD). Примеры таких реакций представлены на рис. 3, б. В этих условиях джасплакинолид не оказывал заметного влияния на амплитуду первого в паре ответа (в среднем $0,64 \pm 0,06$ мВ до и $0,65 \pm 0,06$ мВ после аппликации, $t = 0,6$, $p = 0,55$ для зависимых выборок). При этом амплитуда второго ответа неожиданно увеличивалась в среднем с $0,53 \pm 0,06$ мВ до $0,65 \pm 0,07$ мВ ($t = 4,94$, $p = 0,000003$), так что соотношение амплитуд второго и первого ответа даже увеличивалось в среднем с $0,8 \pm 0,02$ до $1,04 \pm 0,04$ ($t = 5,34$, $p = 0,000001$ для зависимых выборок). Неизменность амплитуды первого ответа свидетельствует о том, что рост PPR не может быть связан со снижением вероятности выброса медиатора. Из этого следует, что на фоне джасплакинолида существенно снижается влияние факторов, способствующих парной депрессии. В целом, этот эффект тем меньше, чем больше исходная PPR. Слабая, хотя и значимая корреляция ($r = -0,23$, $p = 0,006$) демонстрирует, что, с одной стороны, влияние джасплакинолида на механизмы PPD может быть ограничено из-за отсутствия тормозного компонента ещё до аппликации, а с другой стороны, чёткая зависимость нарушается сопутствующими факторами, главным из которых, по-видимому, является изменение вероятности выброса медиатора. Действительно, после разделения всей выборки на подгруппы с разной величиной PPR и использования их в качестве одного из группирующих факторов статистический анализ (ANOVA для повторных измерений) подтвердил не только активирующее

влияние джасплакинолида на амплитуду первого ($F(1,137) = 27,25$, $p = 0,000001$) и второго ответа ($F(1,137) = 8,71$, $p = 0,003$) и снижение PPR ($F(1,137) = 7,04$, $p = 0,0008$) по всей выборке в целом, но и зависимость эффектов джасплакинолида от исходной величины PPR (взаимодействие факторов $F(1,137) = 20,40$, $p = 0,00001$, $F(1,137) = 5,52$, $p = 0,02$ и $F(1,137) = 54,88$, $p = 0,000000$ при оценке изменения A_1 , A_2 и PPR соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты показывают, что полимеризация актина сама по себе может стимулировать развитие синаптических модификаций в срезах гиппокампа относительно взрослых крыс. В отличие от предполагаемых механизмов, объясняющих способность джасплакинолида предотвращать депотенциацию LTP в гиппокампе взрослых крыс [7, 11], простое тестирование вряд ли может вызывать структурные изменения. Не исключено, что в основе наблюдаемых на фоне джасплакинолида изменений лежит гомеостатическая регуляция синаптических функций, которая обеспечивает восстановление оптимального уровня нейронной активности [33–36]. Такая возможность частично подтверждается при использовании дестабилизирующих актин препаратов [14, 28]. Примечательно, что и полимеризация, и деполимеризация не влекут за собой однозначных модификаций определённого типа [14, 29, 37, 38]. В частности, полимеризация актина на фоне джасплакинолида может усиливать или ослаблять синаптическую активность [7, 28, 38, 39]. Может быть, поэтому изменения не всегда выявляются при регистрации суммарной активности [8, 14, 40] из-за одновременной потенциации и депрессии в разных синапсах регистрируемой популяции нейронов [36, 41]. Соответственно, сравнение средних амплитуд до и после аппликации джасплакинолида, как показывают наши эксперименты, может быть малоэффективным в зависимости от преобладания того или иного эффекта. Корреляционный анализ в наших экспериментах демонстрирует, что вызываемая джасплакинолидом потенциация происходит преимущественно при условии исходно высокой PPF и, следовательно, низкой вероятности выброса медиатора. Вполне допустимо предположить, что реполимеризация актина лишь создаёт предпосылки для начала модификаций, и их характер соответствует «молекулярному профилю» синапса [29, 33].

В наших экспериментах потенциация низкоэффективных синапсов после аппликации джасплакинолида сопровождалась снижением величины PPF. В другой работе этот эффект также не был обнаружен при сравнении средних PPF, однако авторы не учитывали индивидуальную вариабельность реакций на подведение джасплакинолида [7]. Наши данные свидетельствуют о том, что изменения PPR могут иметь противоположную направленность в зависимости от исходной величины, и поэтому в среднем полученные эффекты могут колебаться, если выборка имеет разный состав, в частности, по исходной величине PPR. К тому же в большинстве экспериментальных исследований, в отличие от нашей работы, чаще всего отбирают для регистрации наиболее стандартные срезы. Различия в эффектах могут быть в какой-то степени связаны с используемым в нашей работе более щадящим изготовлением срезов.

Тот факт, что потенциация на фоне джасплакинолида сопровождается снижением PPF, согласуется с представлениями об участии полимеризации актина в регуляции вероятности выброса медиатора. Зависимость пресинаптической пластичности от полимеризации и деполимеризации актина обнаружена в исследованиях на нервной системе беспозвоночных животных [12, 38, 42] и развивающихся синапсах позвоночных животных, особенно в культуре нейронов гиппокампа [14, 15, 28, 29, 43]. В зрелых нейронах гиппокампа очевидного влияния полимеризации актина на пресинаптические функции пока не обнаружено [15, 28, 43]. Тем не менее невозможно полностью исключить, что зависимые от полимеризации актина модификации могут происходить локально при реорганизации отдельных синапсов, например, при долговременной пластичности. Очевидно, что активация полимеризации может быть менее заметна на фоне высокого содержания базового F-актина [15, 28], тем более что пресинаптический компартмент центральной нервной системы позвоночных животных в силу некоторых методических ограничений менее доступен для исследования.

В свете представлений об эволюционной консервативности организации секреторного аппарата [34, 35, 44], данные о пресинаптических функциях актина в нервной системе позвоночных животных, включая центральные синапсы, скорее всего, не отличаются от тех, которые получены более доступными методами [5, 13, 14, 34, 45–47]. Образованные F-актином пресинаптические филаменты

отвечают за транспорт и заякоривание везикул и секреторных белков, выступают в качестве барьера [5, 13, 15, 38, 43, 48, 49]. К сожалению, мало известно об участии актина в регуляции секреции медиатора в зрелых синапсах позвоночных животных [14–16]. Необходимость реполимеризации актина для рециркуляции и активного транспорта везикул и секреторных белков в активную зону пресинапса предполагает, что реорганизация актинового цитоскелета может влиять на пресинаптическую пластичность [13, 29, 34] и вероятность выброса медиатора [13, 28].

Дестабилизация синапсов способствует консолидации долговременных перестроек [3], но реполимеризация актина сама по себе не гарантирует специфичности модификаций [14, 16, 38]. По сути такие же, как в нашей работе, результаты, в частности, снижение PPR, были представлены в исследованиях на культуре нейронов гиппокампа, но при деполимеризации актина в ответ на подведение латрукулина А [14]. Джасплакинолид и другие активаторы полимеризации актина, включая естественные, демонстрируют большое разнообразие эффектов [7, 29, 37]. Учитывая данные других авторов [13, 35, 36], снижение PPF после подведения джасплакинолида можно объяснить стабилизацией F-актина, образованного вследствие гомеостатической потенциации низкоэффективных реакций. У позвоночных животных такой механизм явно имеет отношение к пластичности шипиков, что послужило развитию представлений о роли полимеризации актина в стабилизации первоначально лабильного состояния потенцированных синапсов [7].

Вероятность выброса медиатора определяется композиционным составом активной зоны [13, 33, 47, 50–54] с непосредственным участием тесно взаимодействующих с актином белков [29, 45, 51, 52]. В активной зоне присутствуют в том числе стимулирующие полимеризацию белки [14, 42, 47, 51, 55–57], что обеспечивает локальные перестройки по ходу активации [5, 13, 36, 38, 58–61]. Джасплакинолид способствует образованию актиновых филаментов [62, 63], причём пресинаптические терминалы в культуре нейронов гиппокампа демонстрируют прирост даже в отсутствие какой-либо дополнительной активации [15], что может влиять на изменение вероятности выброса медиатора при парной стимуляции [5, 13, 29, 38].

Необходимо отметить, что выявление модификаций, непосредственно связанных с изменением вероятности выброса медиатора, осложняется суммацией с бисинаптическим ТПСП.

Представленные в работе данные трудно интерпретировать без привлечения гипотезы об увеличении вероятности выброса медиатора. Потенциальная возможность влияния на пресинаптическую пластичность подтверждается литературными данными [64]. Вместе с тем влияние тормозного компонента, как правило, усиливается при увеличении интенсивности тестирующего раздражения и, соответственно, амплитуды ответа, и влияние этих факторов, несомненно, выявлялось бы корреляционным анализом, чего не наблюдается в эксперименте: изменения PPF зависели от их исходной величины, но не от исходной амплитуды или интенсивности раздражения. Безусловно, эффекты джасплакинолида не ограничиваются избирательным влиянием исключительно на возбуждающую или тормозную передачу. Более подробный анализ изменений ТПСП представлен в другой работе [65].

В рамках этих представлений определённые затруднения вызывает интерпретация модификаций второго в паре ответа. Маловероятно, что даже при исходно высокой вероятности секреции фасилитация при парной стимуляции может быть ограничена по причине истощения запасов медиатора [51, 66–68]. Необходимо, однако, отметить, что зависимое от актина пополнение запасов медиатора [5, 12, 14, 16, 29, 46, 49, 57, 69–72] вполне подходит для объяснения эффектов джасплакинолида, связанных с увеличением второго в паре ответа, тем более что полимеризация актина имеет отношение к механизмам мобилизации доступных для высвобождения синаптических везикул активной зоны пресинапса [29, 46, 51, 58, 60, 72]. Взаимодействие актиновых филаментов с пресинаптическими везикулами опосредовано синапсином [42, 70, 74]. Принудительная полимеризация актина и, как следствие, изменение опосредованных синапсином функций рециркуляции синаптических везикул [55, 56] может влиять на свойства кратковременной пластичности, в том числе при парной стимуляции [51, 75–77]. Известны также и некоторые другие интерферирующие с PPF механизмы, обеспечивающие дополнительный прирост [53, 54, 78] или подавление [54, 79–81] следующего постсинаптического потенциала, но их связь с полимеризацией актина пока не обнаружена. Неясно также, по какой причине упомянутые выше зависимые от актина механизмы активации PPF [14, 37, 53, 82–84] могли бы реагировать на подведение джасплакинолида только при условии более очевидной депрессии второго в паре ответа. При постсинаптической потенциации увеличивались бы оба

ответа, однако аппликация джасплакинолида приводит к потенциации либо первого, либо второго в паре ответа, причём в зависимости от исходной вероятности выброса медиатора.

Можно предположить, что действие джасплакинолида направлено на одни и те же механизмы, которые определяют вероятность выброса медиатора и фасилитацию при парной стимуляции. К ним относятся механизмы регуляции входящего в пресинапс кальция, который, собственно, и стимулирует выброс медиатора [30, 50, 51, 85–87]. В то же время остаточный кальций взаимодействует с Ca^{2+} -сенсорами, способными усиливать фасилитацию при парной стимуляции [30, 51, 54, 55, 68, 88, 89]. Оба механизма, а также величина доступного пула медиатора реагируют на увеличение проводимости пресинаптических кальциевых каналов [68, 72, 88–93], хотя и в разной степени в зависимости от наличия реагирующих на остаточный кальций Ca^{2+} -сенсоров [54, 85, 88, 92, 94]. Взаимодействие F-актина с регуляторными субъединицами кальциевых каналов [29, 95] не исключает возможного влияния джасплакинолида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Детальный анализ кратковременной пластичности при парной стимуляции в переживающих срезах гиппокампа, инкубированных с активатором полимеризации актина джасплакинолидом, дополняет данные других исследований об участии актина в пресинаптических функциях. PPF-тест выявил разнонаправленные модификации PPF в зависимости от характера пресинаптической активности до аппликации. Величина PPF в основном обратна пропорциональна вероятности выброса медиатора, и предполагаемое на этом основании увеличение вероятности выброса медиатора изначально низкоэффективных синапсов может быть связано либо с непосредственным активирующим действием джасплакинолида за счёт образования дополнительных филаментов, либо со стабилизацией тех модификаций, которые происходят вследствие гомеостатической регуляции пресинаптических функций [5, 38, 49, 90]. Однако это не может объяснить увеличения PPF в предположительно «высокоэффективных» синапсах, тем более что неизменная амплитуда первого ответа на фоне джасплакинолида свидетельствует против снижения вероятности выброса медиатора. Соответственно, потенцияция второго ответа может быть опосредована влиянием джасплакинолида на зависимые от F-актина механизмы кратковременной

пластичности при парной стимуляции, например, величину пула доступного медиатора или активность пресинаптических кальциевых каналов [29, 54]. Оба эффекта доминируют в зависимости от фоновой активности до аппликации джасплакинолида и имеют противоположную направленность, что, скорее всего, связано с асимптотическим ограничением прироста имеющих исходно высокие значения показателей. Так или иначе, актиновые филаменты обеспечивают транспорт, заякоривание и другие вспомогательные функции [51]. Интерпретация наших результатов в рамках представлений о роли F-актина в качестве существенного компонента сигнального комплекса активной зоны пресинапса приводит к заключению о влиянии джасплакинолида на компенсаторные модификации при активации девиантных синапсов.

Вклад автора. И.В. Кудряшова – концепция, проведение экспериментов и написание текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2021–2023 гг. (AAAA-A17-117092040002-6). Дополнительное внешнее финансирование отсутствует.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Эксперименты с животными выполнены в соответствии с требованиями международного и национального законодательства в области защиты и использования животных в экспериментальных исследованиях. Протокол эксперимента утверждён Этической комиссией ИВНД и НФ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Choquet, D., and Triller, A. (2013) The dynamic synapse, *Neuron*, **80**, 691-703, doi: 10.1016/j.neuron.2013.10.013.
2. Meyer, D., Bonhoeffer, T., and Scheuss, V. (2014) Balance and stability of synaptic structures during synaptic plasticity, *Neuron*, **82**, 430-443, doi: 10.1016/j.neuron.2014.02.031.
3. Kudryashova, I. V. (2019) The molecular basis of destabilization of synapses as a factor of structural plasticity, *Neurochem. J.*, **13**, 3-13, doi: 10.1134/S1819712419010136.
4. Dillon, C., and Goda, Y. (2005) The actin cytoskeleton: integrating form and function at the synapse, *Annu. Rev. Neurosci.*, **28**, 25-55, doi: 10.1146/annurev.neuro.28.061604.135757.
5. Cingolani, L. A., and Goda, Y. (2008) Actin in action: the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy, *Nat. Rev. Neurosci.*, **9**, 344-356, doi: 10.1038/nrn2373.
6. Ramachandran, B., and Frey, J. U. (2009) Interfering with the actin network and its effect on long-term potentiation and synaptic tagging in hippocampal CA1 neurons in slices *in vitro*, *J. Neurosci.*, **29**, 12167-12173, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2045-09.2009.
7. Rex, C. S., Gavin, C. F., Rubio, M. D., Kramar, E. A., Chen, L. Y., et al. (2010) Myosin IIB regulates actin dynamics during synaptic plasticity and memory formation, *Neuron*, **67**, 603-617, doi: 10.1016/j.neuron.2010.07.016.
8. Krucker, T., Siggins, G. R., and Halpain, S. (2000) 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, doi: 10.1073/pnas.100139797.
9. Kramar, E. A., Lin, B., Rex, C. S., Gall, C. M., and Lynch, G. (2006) Integrin-driven actin polymerization consolidates long-term potentiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 5579-5584, doi: 10.1073/pnas.0601354103.
10. Messaoudi, E., Kanhema, T., Soule, J., Tiron, A., Dayte, G., et al. (2007) Sustained Arc/Arg3.1 synthesis controls long-term potentiation consolidation through regulation of local actin polymerization in the dentate gyrus *in vivo*, *J. Neurosci.*, **27**, 10445-10455, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2883-07.2007.
11. Galvez, B., Gross, N., and Sumikawa, K. (2016) Activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors protects potentiated synapses from depotentiation during theta pattern stimulation in the hippocampal CA1 region of rats, *Neuropharmacology*, **105**, 378-387, doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.02.008.
12. Shupliakov, O., Bloom, O., Gustafsson, J. S., Kjaerulff, O., Low, P., et al. (2002) Impaired recycling of synaptic vesicles after acute perturbation of the presynaptic actin cytoskeleton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14476-14481, doi: 10.1073/pnas.212381799.
13. Böhme, M. A., McCarthy, A. W., Grasskamp, A. T., Beuschel, C. B., Goel, P., et al. (2019) Rapid active zone remodeling consolidates presynaptic potentiation, *Nat. Commun.*, **10**, 1085, doi: 10.1038/s41467-019-08977-6.
14. Morales, M., Colicos, M. A., and Goda, Y. (2000) Actin-dependent regulation of neurotransmitter release at central synapses, *Neuron*, **27**, 539-550, doi: 10.1016/s0896-6273(00)00064-7.
15. Sankaranarayanan, S., Atluri, P. P., and Ryan, T. A. (2003) Actin has a molecular scaffolding, not propul-

- sive, role in presynaptic function, *Nat. Neurosci.*, **6**, 127-135, doi: 10.1038/nn1002.
16. Rust, M. B., and Maritzen, T. (2015) Relevance of presynaptic actin dynamics for synapse function and mouse behavior, *Exp. Cell Res.*, **335**, 165-171, doi: 10.1016/j.yexcr.2014.12.020.
17. Malinow, R., and Tsien, R. W. (1990) Presynaptic enhancement shown by whole-cell recordings of long-term potentiation in hippocampal slices, *Nature*, **46**, 177-180, doi: 10.1038/346177a0.
18. Malgaroli, A., Ting, A. E., Wendland, B., Bergamaschi, A., Villa, A., et al. (1995) Presynaptic component of long-term potentiation visualized at individual hippocampal synapses, *Science*, **268**, 1624-1628, doi: 10.1126/science.7777862.
19. Nicoll, R. A., and Malenka, R. C. (1995) Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus, *Nature*, **377**, 115-118, doi: 10.1038/377115a0.
20. Blundon, J. A., and Zakharenko, S. S. (2008) Dissecting the components of long-term potentiation, *Neuroscientist*, **14**, 598-608, doi: 10.1177/1073858408320643.
21. Sokolov, M. V., Rossokhin, A. V., Astrelin, A. V., Frey, J. U., and Voronin, L. L. (2002) Quantal analysis suggests strong involvement of presynaptic mechanisms during the initial maintenance of long-term potentiation in rat hippocampal CA1 area *in vitro*, *Brain Res.*, **957**, 61-75, doi: 10.1016/S0006-8993(02)03600-4.
22. Emptage, N. J., Reid, C. A., Fine, A., and Bliss, T. V. (2003) Optical quantal analysis reveals a presynaptic component of LTP at hippocampal Schaffer-associational synapses, *Neuron*, **38**, 797-804, doi: 10.1016/S0896-6273(03)00325-8.
23. Stanton, P. K., Winterer, J., Zhang, X. L., and Muller, W. (2005) Imaging LTP of presynaptic release of FM1-43 from the rapidly recycling vesicle pool of Schaffer collateral-CA1 synapses in rat hippocampal slices, *Eur. J. Neurosci.*, **22**, 2451-2461, doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04437.x.
24. Bayazitov, I. T., Richardson, R. J., Fricke, R. G., and Zakharenko, S. S. (2007) Slow presynaptic and fast postsynaptic components of compound long-term potentiation, *J. Neurosci.*, **27**, 11510-11521, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3077-07.2007.
25. Kudryashova, I. V., Onufriev, M. V., and Gulyaeva, N. V. (2014) Caspase-3 and calpain: differently directed involvement in presynaptic long-term plasticity, *Neurochem. J.*, **8**, 162-167, doi: 10.1134/S181971241403009X.
26. Kuhnt, U., and Voronin, L. L. (1994) Interaction between paired-pulse facilitation and long-term potentiation in area CA1 of guinea-pig hippocampal slices: application of quantal analysis, *Neuroscience*, **62**, 391-397, doi: 10.1016/0306-4522(94)90374-3.
27. Schulz, P. E., Cook, E. P., and Johnston, D. (1994) Changes in paired-pulse facilitation suggest presynaptic involvement in long-term potentiation, *J. Neurosci.*, **14**, 5325-5337, doi: 10.1523/JNEUROSCI.14-09-05325.1994.
28. Yao, J., Qi, J., and Chen, G. (2006) Actin-dependent activation of presynaptic silent synapses contributes to long-term synaptic plasticity in developing hippocampal neurons, *J. Neurosci.*, **26**, 8137-8147, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1183-06.2006.
29. Guzman, G. A., Guzman, R. E., Jordan, N., and Hidalgo, P. A. (2019) A tripartite interaction among the calcium channel α_1 - and β -subunits and F-actin increases the readily releasable pool of vesicles and its recovery after depletion, *Front. Cell Neurosci.*, **13**, 125, doi: 10.3389/fncel.2019.00125.
30. Zucker, R. S., and Regehr, W. G. (2002) Short-term synaptic plasticity, *Annu. Rev. Physiol.*, **64**, 355-405, doi: 10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547.
31. Fioravante, D., and Regehr, W. G. (2011) Short-term forms of presynaptic plasticity, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **21**, 269-274, doi: 10.1016/j.conb.2011.02.003.
32. Bubb, M. R., Spector, I., Beyer, B. B., and Fosen, K. M. (2000) Effects of jasplakinolide on the kinetics of actin polymerization. An explanation for certain *in vivo* observations, *J. Biol. Chem.*, **275**, 5163-5170, doi: 10.1074/jbc.275.7.5163.
33. Lazarevic, V., Pothula, S., Andres-Alonso, M., and Fejtova, A. (2013) Molecular mechanisms driving homeostatic plasticity of neurotransmitter release, *Front. Cell Neurosci.*, **7**, 244, doi: 10.3389/fncel.2013.00244.
34. Davis, G. W., and Muller, M. (2015) Homeostatic control of presynaptic neurotransmitter release, *Annu. Rev. Physiol.*, **77**, 251-270, doi: 10.1146/annurev-physiol-021014-071740.
35. Ortega, J. M., Genç, Ö., and Davis, G. W. (2018) Molecular mechanisms that stabilize short term synaptic plasticity during presynaptic homeostatic plasticity, *eLife*, **7**, e40385, doi: 10.7554/eLife.40385.
36. Goel, P., Bergeron, D. D., Böhme, M. A., Nunnally, L., Lehmann, M., et al. (2019) Homeostatic scaling of active zone scaffolds maintains global synaptic strength, *J. Cell Biol.*, **18**, 1706-1724, doi: 10.1083/jcb.201807165.
37. Ivanov, A., Esclapez, M., Pellegrino, Ch., Shirao, T., and Ferhat, L. (2009) Drebrin A regulates dendritic spine plasticity and synaptic function in mature cultured hippocampal neurons, *J. Cell Sci.*, **122**, 524-534, doi: 10.1242/jcs.033464.
38. Bleckert, A., Photowala, H., and Alford, S. (2012) Dual pools of actin at presynaptic terminals, *J. Neurophysiol.*, **107**, 3479-3492, doi: 10.1152/jn.00789.2011.
39. Andrade, A. L., and Rossi, D. J. (2010) Simulated ischaemia induces Ca^{2+} -independent glutamatergic vesicle release through actin filament depolymerization in area CA1 of the hippocampus, *J. Physiol.*, **588**, 1499-1514, doi: 10.1113/jphysiol.2010.187609.

40. Rex, C. S., Chen, L. Y., Sharma, A., Liu, J., Babayan, A. H., et al. (2009) Different Rho GTPase-dependent signaling pathways initiate sequential steps in the consolidation of long-term potentiation, *J. Cell Biol.*, **186**, 85-97, doi: 10.1083/jcb.200901084.
41. Gaviño, M. A., Ford, K. J., Archila, S., and Davis, G. W. (2015) Homeostatic synaptic depression is achieved through a regulated decrease in presynaptic calcium channel abundance, *eLife*, **4**, e05473, doi: 10.7554/eLife.05473.
42. Bloom, O., Evergren, E., Tomilin, N., Kjaerulff, O., Low, P., et al. (2003) Colocalization of synapsin and actin during synaptic vesicle recycling, *J. Cell Biol.*, **161**, 737-747, doi: 10.1083/jcb.200212140.
43. Zhang, W., and Benson, D. L. (2001) Stages of synapse development defined by dependence on F-actin, *J. Neurosci.*, **21**, 5169-5181, doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-14-05169.2001.
44. Ackermann, F., Waites, C. L., and Garner, C. C. (2015) Presynaptic active zones in invertebrates and vertebrates, *EMBO Rep.*, **16**, 923-938, doi: 10.15252/embr.201540434.
45. Südhof, T. C. (2012) The presynaptic active zone, *Neuron*, **75**, 11-25, doi: 10.1016/j.neuron.2012.06.012.
46. Lee, J. S., Ho, W. K., Neher, E., and Lee, S. H. (2013) Superpriming of synaptic vesicles after their recruitment to the readily releasable pool, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 15079-15084, doi: 10.1073/pnas.1314427110.
47. Ghelani, T., and Sigrist, S. J. (2018) Coupling the structural and functional assembly of synaptic release sites, *Front. Neuroanat.*, **12**, 81, doi: 10.3389/fnana.2018.00081.
48. Halpain, S. (2003) Actin in a supporting role, *Nat. Neurosci.*, **6**, 101-102, doi: 10.1038/nn0203-101.
49. Miki, T., Malagon, G., Pulido, C., Llano, I., Neher, E., et al. (2016) Actin- and myosin- dependent vesicle loading of presynaptic docking sites prior to exocytosis, *Neuron*, **91**, 808-823, doi: 10.1016/j.neuron.2016.07.033.
50. Holderith, N., Lorincz, A., Katona, G., Rózsa, B., Kulik, A., et al. (2012) Release probability of hippocampal glutamatergic terminals scales with the size of the active zone, *Nat. Neurosci.*, **15**, 988-997, doi: 10.1038/nn.3137.
51. Körber, Ch., and Kuner, Th. (2016) Molecular machines regulating the release probability of synaptic vesicles at the active zone, *Front. Synapt. Neurosci.*, **8**, 5, doi: 10.3389/fnsyn.2016.00005.
52. Bruckner, J. J., Zhan, H., Gratz, S. J., Rao, M., Ukken, F., et al. (2017) Fife organizes synaptic vesicles and calcium channels for high-probability neurotransmitter release, *J. Cell Biol.*, **216**, 231-246, doi: 10.1083/jcb.201601098.
53. Gustafsson, B., Ma, R., and Hanse, E. (2019) The small and dynamic pre-primed pool at the release site; A useful concept to understand release probability and short-term synaptic plasticity? *Front. Synapt. Neurosci.*, **11**, 7, doi: 10.3389/fnsyn.2019.00007.
54. Mochida, S. (2019) Presynaptic calcium channels, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 2217, doi: 10.3390/ijms20092217.
55. Leal-Ortiz, S., Waites, C. L., Terry-Lorenzo, R., Zamorano, P., Gundelfinger, E. D., et al. (2008) Piccolo modulation of synapsin1a dynamics regulates synaptic vesicle exocytosis, *J. Cell Biol.*, **181**, 831-846, doi: 10.1083/jcb.200711167.
56. Waites, C. L., Leal-Ortiz, S. A., Andlauer, T. F., Sigrist, S. J., and Garner, C. C. (2011) Piccolo regulates the dynamic assembly of presynaptic F-actin, *J. Neurosci.*, **31**, 14250-14263, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1835-11.2011.
57. Dason, J. S., Smith, A. J., Marin, L., and Charlton, M. P. (2014) Cholesterol and F-actin are required for clustering of recycling synaptic vesicle proteins in the presynaptic plasma membrane, *J. Physiol.*, **592**, 621-633, doi: 10.1113/jphysiol.2013.265447.
58. Sakaba, T., and Neher, E. (2003) Involvement of actin polymerization in vesicle recruitment at the calyx of Held synapse, *J. Neurosci.*, **23**, 837-846, doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-03-00837.2003.
59. Gundelfinger, E. D., and Fejtova, A. (2012) Molecular organization and plasticity of the cytomatrix at the active zone, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **22**, 423-430, doi: 10.1016/j.conb.2011.10.005.
60. Lee, J. S., Ho, W. K., and Lee, S. H. (2012) Actin-dependent rapid recruitment of reluctant synaptic vesicles into a fast-releasing vesicle pool, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, E765-E774, doi: 10.1073/pnas.1114072109.
61. Engholm-Keller, K., Waardenberg, A. J., Müller, J. A., Wark, J. R., Fernando, R. N., et al. (2019) The temporal profile of activity-dependent presynaptic phospho-signalling reveals long-lasting patterns of poststimulus regulation, *PLoS Biol.*, **17**, e3000170, doi: 10.1371/journal.pbio.3000170.
62. Okamoto, K., Nagai, T., Miyawaki, A., and Hayashi, Y. (2004) Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity, *Nat. Neurosci.*, **7**, 1104-1112, doi: 10.1038/nn1311.
63. Holzinger, A. (2009) Jasplakinolide: an actin-specific reagent that promotes actin polymerization, *Meth. Mol. Biol.*, **586**, 71-87, doi: 10.1007/978-1-60761-376-3_4.
64. Kudryashova, I. V. (2021) The reorganization of the actin matrix as a factor of presynaptic plasticity, *Neurochem. J.*, **15**, 217-225, doi: 10.1134/S1819712421030089.
65. Kudryashova, I. V. (2022) Inhibitory control of short-term plasticity during paired pulse stimulation depends on actin polymerization, *Neurochem. J.*, **16**, 136-146, doi: 10.1134/S1819712422020106.
66. Sun, H. Y., Li, Q., Bartley, A. F., and Dobrunz, L. E. (2018) Target-cell-specific short-term plasticity

- reduces the excitatory drive onto CA1 interneurons relative to pyramidal cells during physiologically-derived spike trains, *Neuroscience*, **388**, 430-447, doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.07.051.
67. Sullivan, J. M. (2007) A simple depletion model of the readily releasable pool of synaptic vesicles cannot account for paired-pulse depression, *J. Neurophysiol.*, **97**, 948-950, doi: 10.1152/jn.00554.2006.
68. Catterall, W. A., Leal, K., and Nanou, E. (2013) Calcium channels and short-term synaptic plasticity, *J. Biol. Chem.*, **288**, 10742-10749, doi: 10.1074/jbc.R112.411645.
69. Kaksonen, M., Toret, C. P., and Drubin, D. G. (2006) Harnessing actin dynamics for clathrin-mediated endocytosis, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **7**, 404-414, doi: 10.1038/nrm1940.
70. Verstegen, A. M., Tagliatti, E., Lignani, G., Marte, A., Stoloro, T., et al. (2014) Phosphorylation of synapsin I by cyclin-dependent kinase-5 sets the ratio between the resting and recycling pools of synaptic vesicles at hippocampal synapses, *J. Neurosci.*, **34**, 7266-7280, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3973-13.2014.
71. Wu, X. S., Lee, S. H., Sheng, J., Zhang, Z., Zhao, W. D., et al. (2016) Actin is crucial for all kinetically distinguishable forms of endocytosis at synapses, *Neuron*, **92**, 1020-1035, doi: 10.1016/j.neuron.2016.10.014.
72. Kaeser, P. S., and Regehr, W. G. (2017) The readily releasable pool of synaptic vesicles, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **43**, 63-70, doi: 10.1016/j.conb.2016.12.012.
73. Bourne, J., Morgan, J. R., and Pieribone, V. A. (2006) Actin polymerization regulates clathrin coat maturation during early stages of synaptic vesicle recycling at lamprey synapses, *J. Comp. Neurol.*, **497**, 600-609, doi: 10.1002/cne.21006.
74. Bahler, M., and Greengard, P. (1987) Synapsin I bundles F-actin in a phosphorylation-dependent manner, *Nature*, **326**, 704-707, doi: 10.1038/326704a0.
75. Rosahl, T. W., Geppert, M., Spillane, D., Herz, J., Hammer, R. E., et al. (1993) Short-term synaptic plasticity is altered in mice lacking synapsin I, *Cell*, **75**, 661-670, doi: 10.1016/0092-8674(93)90487-b.
76. Vasileva, M., Horstmann, H., Geumann, C., Gitler, D., and Kuner, T. (2012) Synapsin-dependent reserved pool of synaptic vesicles supports replenishment of the readily releasable pool under intense synaptic transmission, *Eur. J. Neurosci.*, **36**, 3005-3020, doi: 10.1111/j.1460-9568.2012.08225.x.
77. Orlando, M., Lignani, G., Maragliano, L., Fassio, A., Onofri, F., et al. (2014) Functional role of ATP binding to synapsin I in synaptic vesicle trafficking and release dynamics, *J. Neurosci.*, **34**, 14752-14768, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1093-14.2014.
78. Watanabe, S., Rost, B. R., Camacho-Perez, M., Davis, M. W., Sohl-Kielczynski, B., et al. (2013) Ultrafast endocytosis at mouse hippocampal synapses, *Nature*, **504**, 242-247, doi: 10.1038/nature12809.
79. Rozov, A., and Burnashev, N. (1999) Polyamine-dependent facilitation of postsynaptic AMPA receptors counteracts paired-pulse depression, *Nature*, **401**, 594-598, doi: 10.1038/44151.
80. Brody, D. L., and Yue, D. T. (2000) Release-independent short-term synaptic depression in cultured hippocampal neurons, *J. Neurosci.*, **20**, 2480-2494, doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-07-02480.2000.
81. Nanou, E., and Catterall, W. A. (2018) Calcium channels, synaptic plasticity, and neuropsychiatric disease, *Neuron*, **98**, 466-481, doi: 10.1016/j.neuron.2018.03.017.
82. Chamberland, S., Evstratova, A., and Toth, K. (2014) Interplay between synchronization of multivesicular release and recruitment of additional release sites support short-term facilitation at hippocampal mossy fiber to CA3 pyramidal cells synapses, *J. Neurosci.*, **34**, 11032-11047, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0847-14.2014.
83. Rajappa, R., Gauthier-Kemper, A., Böning, D., Hüve, J., and Klingauf, J. (2016) Synaptophysin 1 clears synaptobrevin 2 from the presynaptic active zone to prevent short-term depression, *Cell Rep.*, **14**, 1369-1381, doi: 10.1016/j.celrep.2016.01.031.
84. Hruska, M., Henderson, N., Le Marchand, S. J., Jafri, H., and Dalva, M. B. (2018) Synaptic nanomodules underlie the organization and plasticity of spine synapses, *Nat. Neurosci.*, **21**, 671-682, doi: 10.1038/s41593-018-0138-9.
85. Catterall, W. A., and Few, A. P. (2008) Calcium channel regulation and presynaptic plasticity, *Neuron*, **59**, 882-901, doi: 10.1016/j.neuron.2008.09.005.
86. Eggermann, E., Bucurenciu, I., Goswami, S. P., and Jonas, P. (2012) Nanodomain coupling between Ca²⁺ channels and sensors of exocytosis at fast mammalian synapses, *Nat. Rev. Neurosci.*, **13**, 7-21, doi: 10.1038/nrn3125.
87. Scimemi, A., and Diamond, J. S. (2012) The number and organization of Ca²⁺ channels in the active zone shapes neurotransmitter release from schaffer collateral synapses, *J. Neurosci.*, **32**, 18157-18176, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3827-12.2012.
88. Yan, J., Leal, K., Magupalli, V. G., Nanou, E., Martinez, G. Q., et al. (2014) Modulation of Ca_v2.1 channels by neuronal calcium sensor-1 induces short-term synaptic facilitation, *Mol. Cell Neurosci.*, **63**, 124-131, doi: 10.1016/j.mcn.2014.11.001.
89. Nanou, E., Sullivan, J. M., Scheuer, T., and Catterall, W. A. (2016) Calcium sensor regulation of the Ca_v2.1 Ca²⁺ channel contributes to short-term synaptic plasticity in hippocampal neurons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 1062-1067, doi: 10.1073/pnas.1524636113.
90. Mochida, S. (2011) Activity-dependent regulation of synaptic vesicle exocytosis and presynaptic short-term plasticity, *Neurosci. Res.*, **70**, 16-23, doi: 10.1016/j.neures.2011.03.005.

91. Zhao, C., Dreosti, E., and Lagnado, L. (2011) Homeostatic synaptic plasticity through changes in presynaptic calcium influx, *J. Neurosci.*, **31**, 7492-7496, doi: 10.1523/JNEUROSCI.6636-10.2011.
92. Leal, K., Mochida, S., Scheuer, T., and Catterall, W. A. (2012) Fine-tuning synaptic plasticity by modulation of Ca_v2.1 channels with Ca²⁺ sensor proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 17069-17074, doi: 10.1073/pnas.1215172109.
93. Thanawala, M. S., and Regehr, W. G. (2013) Presynaptic calcium influx controls neurotransmitter release in part by regulating the effective size of the readily-releasable pool, *J. Neurosci.*, **33**, 4625-4633, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4031-12.2013.
94. Lee, A., Westenbroek, R. E., Haeseleer, F., Palczewski, K., Scheuer, T., et al. (2002) Differential modulation of Ca_v2.1 channels by calmodulin and Ca²⁺-binding protein 1, *Nat Neurosci.*, **5**, 210-217, doi: 10.1038/nn805.
95. Magupalli, V. G., Mochida, S., Yan, J., Jiang, X., Westenbroek, R. E., et al. (2013) Ca²⁺-independent activation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II bound to the C-terminal domain of Ca_v2.1 calcium channels, *J. Biol. Chem.*, **288**, 4637-4648, doi: 10.1074/jbc.M112.369058.

PRESYNAPTIC PLASTICITY IS ASSOCIATED WITH ACTIN POLYMERIZATION

I. V. Kudryashova

*Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System,
Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences,
117485 Moscow, Russia; e-mail: iv_kudryashova@mail.ru*

Modifications of presynaptic short-term plasticity as a result of actin polymerization were tested in rat hippocampal slices using a paired-pulse paradigm. Paired-pulse stimulation of Schaffer collaterals with 70 ms interpulse interval was continuously presented every 30 s before and during perfusion with jasplakinolide, an activator of actin polymerization. Jasplakinolide application resulted in the potentiation of CA3-CA1 responses accompanied by paired-pulse facilitation decrease, these effects suggesting presynaptic modifications. The jasplakinolide-induced potentiation significantly depended on the initial paired-pulse facilitation values. These data indicate that jasplakinolide-mediated changes in actin polymerization may promote high probability of release. Less typical for CA3-CA1 synapses responses with very low initial paired-pulse facilitation or paired-pulse depression (close to 1 or even lower) demonstrated the potentiation of the second, but not the first amplitude in a pair, paired-pulse ratio significantly increasing from 0.8 to 1.0 in average. This may suggest a negative impact of jasplakinolide on the mechanisms underlying paired-pulse depression. Nonetheless, actin polymerization promotes potentiation, though patterns of this activation may differ depending on initial input characteristics. We conclude that in addition to increased neurotransmitter release probability other mechanisms known to suppress paired pulse facilitation may be also involved in effects of jasplakinolide.

Keywords: hippocampus, presynaptic plasticity, paired-pulse facilitation, paired-pulse depression, actin polymerization, jasplakinolide