

УЧАСТИЕ ПРЕСИНАПТИЧЕСКИХ НИКОТИНОВЫХ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ АЛЬФА7-ТИПА В ТОРМОЖЕНИИ ВЫБРОСА АЦЕТИЛХОЛИНА ПРИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОТОРНЫХ СИНАПСОВ МЫШИ

© 2019 г. А. Е. Гайдуков¹, *, П. О. Богачева¹, О. П. Балезина¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Поступила в редакцию 22.02.2018 г.

После доработки 02.04.2018 г.

Принята к публикации 09.04.2018 г.

В моторных синапсах диафрагмы мыши регистрировали миниатюрные и вызванные стимуляцией диафрагмального нерва многоквантовые потенциалы концевой пластинки (МПКП и ПКП соответственно). В ответ на продолжительную непрерывную ритмическую стимуляцию (50 Гц в течение 40 с) наблюдали депрессию синаптической передачи в виде постепенного двухфазного уменьшения квантового состава ПКП по ходу залпа. Вслед за быстрым снижением квантового состава ПКП до 50% от значения для первого ПКП в залпе (ПКП1) в первые 10 с активности, далее происходил более медленный спад квантового состава ПКП до 35–40% от значения для ПКП1 к 40-й с стимуляции. Блокирование никотиновых холинорецепторов $\alpha 7$ -типа метилликаконитином (20 нМ), как и рианодиновых рецепторов рианодином (3 мкМ) или кальций-активируемых калиевых каналов низкой проводимости SK-типа апамином (1 мкМ), существенно ослабляло развитие депрессии, так что к концу 10-й с стимуляции квантовый состав ПКП уменьшался не более чем до 65–70% от значения для ПКП1 и удерживался на этом уровне в течение следующих 30 с стимуляции. Сделано заключение, что в холинергических моторных синапсах мыши механизм кратковременной депрессии передачи может заключаться в аутоингибировании квантовой секреции ацетилхолина со стороны эндогенных ацетилхолина/холина, активирующих $\alpha 7$ никотиновые холинорецепторы и запускающих сигнальный каскад с участием пресинаптических рианодиновых рецепторов и SK-каналов.

Ключевые слова: ацетилхолин, никотиновые холинорецепторы $\alpha 7$ -типа, квантовый состав, рианодиновые рецепторы, кальций-активируемые K^+ -каналы SK-типа

DOI: 10.1134/S1027813319010084

ВВЕДЕНИЕ

Никотиновые холинорецепторы $\alpha 7$ -типа ($\alpha 7$ -нХР) — это гомопентамерные ионотропные ацетилхолиновые рецепторы, способные функционировать также в метаботропном режиме [1]. Эти рецепторы способны активироваться в ответ на действие не только ацетилхолина (АХ), но и холина как их избирательного агониста [2–4]. Кроме того, их отличительной чертой является относительно высокая проводимость для ионов Ca^{2+} [5–7]. Пресинаптические $\alpha 7$ -нХР выявлены в разных по химизму синапсах центральной нервной системы, где они участвуют в регуляции секреции АХ и других медиаторов [8, 9]. В периферических моторных синапсах мы также выявили активацию пресинаптических $\alpha 7$ -нХР при аппликации

экзогенного холина, что приводит к уменьшению квантовой секреции АХ. Были установлены возможные механизмы этого торможения с участием пресинаптических $\alpha 7$ -нХР, последующей активацией рианодиновых рецепторов (РиР) и Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов SK-типа нервных терминалей [10, 11]. Однако способность эндогенного ацетилхолина или холина активировать пресинаптические $\alpha 7$ -нХР и вызывать аутоингибирование квантовой секреции АХ оставалось не изученной. В предыдущих исследованиях мы показали, что короткая залповая ритмическая активность моторных синапсов (при стимуляции нерва с частотой 50 Гц в течение 1 с) не приводит к активации пресинаптических $\alpha 7$ -нХР, поскольку их блокаторы — метилликаконитин (MLA) и α -кобратоксин — в этих условиях не изменяют уровень секреции АХ и рисунок ритмически генерируемых потенциалов концевой пластинки по ходу коротких залпов [10]. Было сделано предположение о

* Адресат для корреспонденции: 119234 Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, тел.: (495) 939-27-92, e-mail: gaydukov@gmail.com.

необходимости более продолжительной синаптической активности для накопления эндогенных АХ/холина в синаптической щели и активации пресинаптических $\alpha 7$ -нХР как регуляторов выброса медиатора. Для проверки этой гипотезы в данной работе проводили длительную (в течение 40 с) непрерывную высокочастотную (50 Гц) стимуляцию моторных синапсов и исследовали возможность активации в этих условиях $\alpha 7$ -нХР и запуска реакций, приводящих к снижению выброса АХ и развитию депрессии синаптической передачи.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На изолированных “рассеченных” нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы (*m. diaphragma*—*n. phrenicus*) взрослых мышей обоих полов (линия 129/Sv) проводили исследования спонтанной и вызванной секреции ацетилхолина. Содержание мышей осуществлялось в соответствии с директивой 86/609/ЕЕС по обращению человека с лабораторными животными, протокол экспериментов был одобрен комиссией по биоэтике биологического факультета МГУ. Мыши умерщвлялись посредством быстрого обезглавливания.

Эксперименты проводили при температуре 20–22°C. Нервно-мышечный препарат левой половины диафрагмы с диафрагмальным нервом помещали в камеру объемом 3 мл и перфузировали оксигенированным (5% CO₂, 95% O₂) раствором Лайли для теплокровных животных [10]. Использовали стандартный протокол процедуры рассечения мышечных волокон на их концах [12], обеспечивающей возможность одновременной регистрации спонтанных миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) и нередуцированных потенциалов концевой пластинки (ПКП) с помощью внутриклеточных стеклянных микроэлектродов, заполненных 2.5 М КСl (сопротивление кончика 10–15 МОм). При анализе изменений ПКП в ходе ритмической активности синапсов диафрагмальный нерв стимулировали в течение 40 с сверхпороговыми импульсами длительностью 0.1 мс с частотой 50 Гц (2000 стимулов). Перерывы между стимуляциями составляли не менее 10 мин во избежание утомления синапса, и развитием снижения амплитуды и квантового состава ПКП по этой причине. В каждом синапсе регистрировали МПКП в течение 60 с непосредственно перед стимуляцией нерва (среднее значение амплитуд МПКП, зарегистрированных в этот период, использовали для вычисления квантового состава ПКП). Спонтанные и вызванные потенциалы концевой пластинки регистрировались с использованием усилителя Axoclamp-2B (Molecular Devices, США) и записывались при помощи аналого-цифрового преобразователя L-Card

E-154 с интерфейсом PowerGraph (L-Card, Россия) на жесткий диск компьютера. Полученные данные обрабатывали в программе MiniAnalysis (Synptosoft, США). В контроле регистрировали МПКП и ПКП от не менее пяти разных синапсов, после чего в перфузирующий раствор добавляли исследуемые вещества и проводили регистрацию синаптической активности от разных синапсов в течение 60–90 мин. Проводился мониторинг значения мембранного потенциала на всем протяжении регистрации сигналов в каждом отдельном синапсе, при его снижении более чем на 5 мВ регистрация прекращалась и сигналы от данного синапса не включались в выборку для дальнейшего анализа. В каждой серии экспериментов использовали не менее трех нервно-мышечных препаратов.

Оценивали мембранный потенциал мышечных волокон, амплитуду и временной ход МПКП и ПКП. Для нивелирования изменения движущей силы сдвига потенциала при изменениях мембранного потенциала проводили стандартизацию амплитуд МПКП и ПКП к мембранному потенциалу –50 мВ. Квантовый состав ПКП рассчитывали как отношение средней стандартизованной и скорректированной на нелинейную сумму амплитуды ПКП [13] к средней стандартизованной амплитуде МПКП. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием теста Д’Агостино–Пирсона. Значения мембранного потенциала, амплитуды МПКП, показателей временного хода постсинаптических потенциалов в случае нормально-распределенных величин оценивали с помощью t-критерия Стьюдента или однофакторного дисперсионного анализа, в случае распределения отличающегося от нормального использовали критерии Манна-Уитни и Краскела–Уоллеса. Для анализа амплитуды и квантового состава ПКП применяли двухфакторный дисперсионный анализ (с последующим применением апостериорных критериев Бонферрони и Тьюки). Уровень значимости отличий между двумя выборками составлял 0.05 (n – количество исследованных синапсов).

В работе использовали: блокатор $\alpha 7$ -нХР – MLA ([1 α ,4(S),6 β ,14 α ,16 β]-20-Этил-1,6,14,16-тетраметокси-4-[[[2-(3-метил-2,5-диоксо-1-пирролидинил)бензоил]окси]метил]аконитан-7,8-диолцитрат)); блокатор риаодиновых рецепторов – риаодин; блокатор SK-типа кальций-активируемых калиевых каналов – апамин. Все реактивы – Тocris, США.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во всех сериях экспериментов использовали длительную непрерывную залповую стимуляцию моторных синапсов в течение 40 с с частотой 50 Гц. Это приводит к развитию депрессии си-

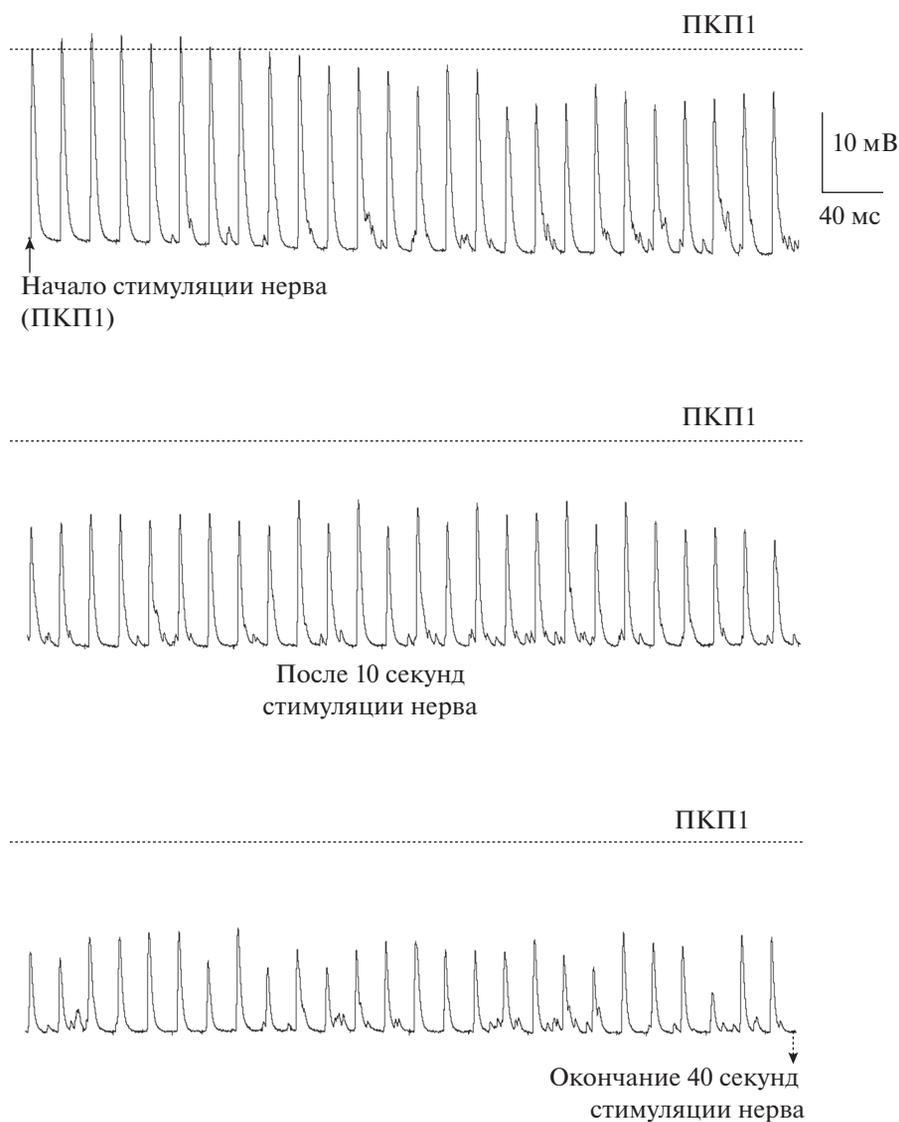


Рис. 1. Пример оригинальных записей ПКП в условиях длительной (40 с) высокочастотной (50 Гц) стимуляции диафрагмального нерва: в начале залпа (вверху), на 10-й с залпа (в середине) и в 40-й с залпа (внизу). Пунктирной линией показана амплитуда первого ПКП в залпе (ПКП1), стрелками показаны включение и выключение стимуляции.

наптической передачи и постепенному уменьшению амплитуды ПКП (рис. 1). Анализ средней амплитуды МПКП до залпа ПКП и после его окончания не выявил достоверных изменений — до залпа амплитуда МПКП составляла 1.01 ± 0.08 мВ, а после залпа — 0.97 ± 0.08 мВ ($n = 17$, $p > 0.05$). Расчет квантового состава ПКП на разных этапах по ходу залпа и развивающейся депрессии синаптической передачи показал, что уменьшение амплитуды ПКП имеет пресинаптическую природу и однозначно связано со снижением квантового состава ПКП на всем протяжении длительного высокочастотного залпа ПКП.

В течение первой секунды стимуляции изменения амплитуды и квантового ПКП выглядят

как кратковременный прирост значений этих параметров у второго-четвертого ПКП в залпе, с последующей незначительной и кратковременной депрессией в виде снижения амплитуды и квантового состава на 15–20%, и стабилизацией амплитуды и квантового состава ПКП на уровне 80–85% от ПКП1 в конце первой секунды залпа (рис. 1, 2). В случае продолжения непрерывной тетанической активности синапсов наблюдается неравномерный по динамике спад амплитуды и квантового состава ПКП, включающий, как минимум, две разные фазы. В течение первых 10 с тетанического залпа наблюдается быстрый спад квантового состава ПКП, в среднем, до 50% по сравнению с ПКП1 в залпе. По ходу дальнейшей

активности – в период от 10-й по 40-ю с стимуляции – спад квантового состава ПКП замедляется и происходит с более медленной динамикой. В результате, к 40-й с непрерывной тетанической стимуляции синапсов квантовый состав ПКП в контроле составляет порядка 35–40% от значений для ПКП1 (рис. 2–4). Избирательный блокатор $\alpha 7$ -нХР – MLA (20 нМ) по сравнению с контролем не вызывал достоверных изменений мембранного потенциала мышечных волокон (-35.65 ± 1.20 мВ ($n = 17$) в контроле и -36.76 ± 0.93 мВ ($n = 20$, $p > 0.05$) на фоне MLA), амплитуды МПКП и квантового состава ПКП1 (31.84 ± 2.60 в контроле и 30.61 ± 2.66 на фоне MLA). При заблокированных $\alpha 7$ -нХР сохраняется неизменным квантовый состав ПКП и рисунок залповой активности в течение первой секунды стимуляции (рис. 2). Далее, в присутствии MLA в период со 2-й по 10-ю с залповой активности синапсов, снижение квантового состава ПКП хотя и присутствовало, но постепенно становилось значительно менее выраженным, чем в контроле, и составило к концу 10-й секунды стимуляции $72.1 \pm 3.2\%$ по сравнению с ПКП1 (при том, что в контроле за этот же период квантовый состав ПКП период снижался до $54.4 \pm 3.1\%$ от значения для ПКП1 ($p < 0.05$)). Далее, с 10-й до 40-й с стимуляции значения квантового состава ПКП в залпе на фоне блокатора $\alpha 7$ -нХР уже достоверно не снижались (рис. 2). В результате, выявилось существенного ослабления – на 18–20% – первой фазы депрессии (снижения амплитуды и квантового состава ПКП в течение первых 10 с залповой активности моторных синапсов) и практически полное предотвращение дальнейшей (второй) фазы падения квантового состава ПКП при продолжающейся стимуляции синапсов (10–40 с стимуляции). Таким образом, блокирование $\alpha 7$ -нХР оказалось способно существенно сдерживать падение амплитуды и квантового состава ПКП по ходу залпа и удерживать их на уровне около 65% от значений для ПКП1 к 40-й с стимуляции, в отличие от снижения значений этих параметров для соответствующих ПКП до 40–35% в контроле (рис. 2).

Полученные данные позволяют предположить, что в моторных синапсах мышцы имеет место режим продолжительной активности, при котором происходит активация $\alpha 7$ -нХР посредством эндогенных агонистов (АХ или образующегося из него холина) и которые осуществляют ауторегуляторное подавление секреции АХ из нервных терминалей по механизму отрицательной обратной связи.

Далее было исследовано возможное участие РиР и Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов низкой проводимости (СК-каналов) в реализации запускаемого при активации $\alpha 7$ -нХР подавления выброса АХ при длительных залпах ПКП.

Введение рианолина в перфузирующий раствор в концентрации 3 мкМ, вызывающей блокирование РиР [10, 14], не приводило к изменениям мембранного потенциала мышечных волокон и амплитудно-временных характеристик МПКП. Ранее мы неоднократно наблюдали, что по ходу коротких (50 Гц, 1 с) ритмических залпов ПКП в присутствии блокирующего РиР рианолина возможно снижение начального кратковременного облегчения, однако кратковременная депрессия и снижение значений квантового состава ПКП по ходу такого короткого залпа на 15–25% по сравнению с ПКП1 – сохраняется неизменным [10]. В течение первой секунды длительной тетанической стимуляции наблюдали аналогичную картину (рис. 3). Вместе с тем, к концу 10-й с ритмической синаптической активности в присутствии 3 мкМ рианолина снижение квантового состава ПКП становится достоверно менее выраженным (69–72% от ПКП1) по сравнению с контролем (50–52% от ПКП1, $p < 0.05$) (рис. 3). В последние 30 с тетанического залпа, с 10-й по 40-ю секунды, наблюдали стойкое удерживание амплитуды и квантового состава ПКП без значительного спада по сравнению с ПКП на 10-й с залпа. В результате, в присутствии рианолина величины квантового состава ПКП к концу залпа удерживались на уровне 60–65% от ПКП1 (тогда как в контроле составляли 35–40% от ПКП1). Такое протекторное действие рианолина, сдерживающее депрессию синаптической передачи и падение уровня вызванной квантовой секреции АХ в длинном залпе, было фактически не отличимо от вышеописанного действия блокатора $\alpha 7$ -нХР. Это позволяет предполагать наличие функционального сопряжения между активностью $\alpha 7$ -нХР и пресинаптических РиР, и их совместного участия в механизме торможения выброса АХ и депрессии передачи в моторных синапсах.

Блокатор СК-каналов апамин (1 мкМ) не вызывал достоверных изменений мембранного потенциала мышечных волокон, амплитудно-временных параметров МПКП (так, амплитуда МПКП составляла 0.92 ± 0.07 мВ ($n = 19$) в контроле и 0.96 ± 0.07 мВ ($n = 19$, $p > 0.05$) на фоне апамин) и амплитуды и квантового состава ПКП1. Значения квантового состава ПКП по ходу залпа в течение первой секунды тетанической стимуляции нерва не претерпевали достоверных изменений в присутствии апамин (рис. 4). Однако апамин сдерживал развитие депрессии синаптической передачи в условиях продолжительной тетанической активности синапсов на протяжении 40 с (рис. 4). При этом апамин, подобно блокаторам $\alpha 7$ -нХР и РиР, не только практически полностью предотвращал медленную фазу снижения квантового состава ПКП на протяжении последних 30 с

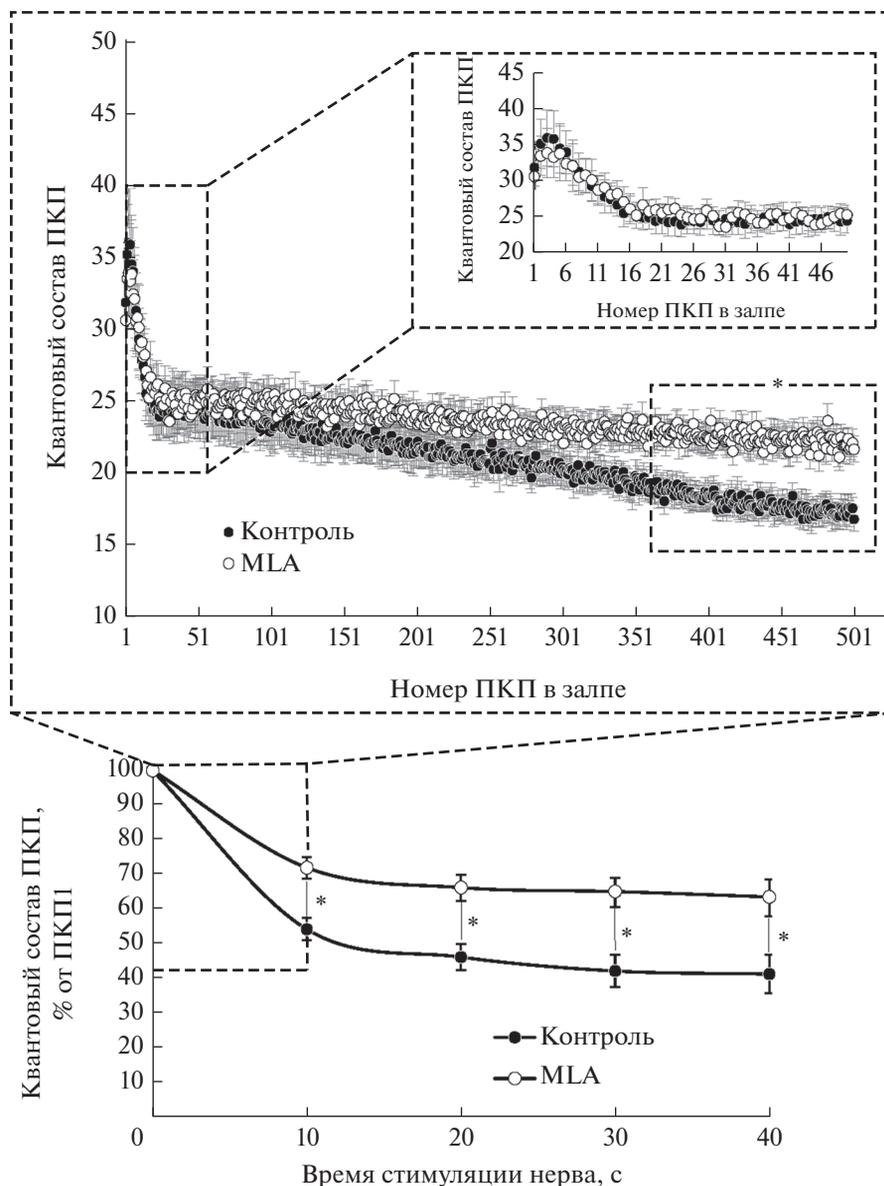


Рис. 2. Эффекты блокирования $\alpha 7$ -нХР при помощи метилиликаонитина (MLA) на нервно-мышечную передачу в условиях длительной тетанической активности синапсов (50 Гц, 40 с): верху – изменение квантового состава ПКП по ходу 10 с длительного ритмического залпа в контроле ($n = 17$) (●) и на фоне 20 нМ MLA ($n = 20$) (○), на врезке – квантовый состав ПКП в течение первой секунды длительного залпа ПКП; внизу – снижение квантового состава ПКП, нормализованного к ПКП1 (принят за 100%), по ходу длительного непрерывного залпа в контроле и на фоне MLA. * $p < 0.05$ по сравнению с контролем.

длинного залпа, но и существенно препятствовал снижению амплитуды и квантового состава ПКП на первой фазе депрессии (в интервале 2–10 с непрерывной тетанической активности синапсов). В присутствии апамина квантовый состав ПКП к 10-й с стимуляции снижался до 66–69% по сравнению с ПКП1, в отличие от спада до 49–52% в контроле ($p < 0.05$). Дальнейшее развитие депрессии в виде снижения квантового состава ПКП фактически останавливалось на фоне действия апамина и составило не более чем 57–60% от

ПКП1 в отличие от спада значения этого параметра до 35–37% в контроле (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что ярко выраженная депрессия передачи в условиях продолжительной (в течение десятков секунд) высокочастотной стимуляции моторных синапсов мышцы может быть в значительной степени

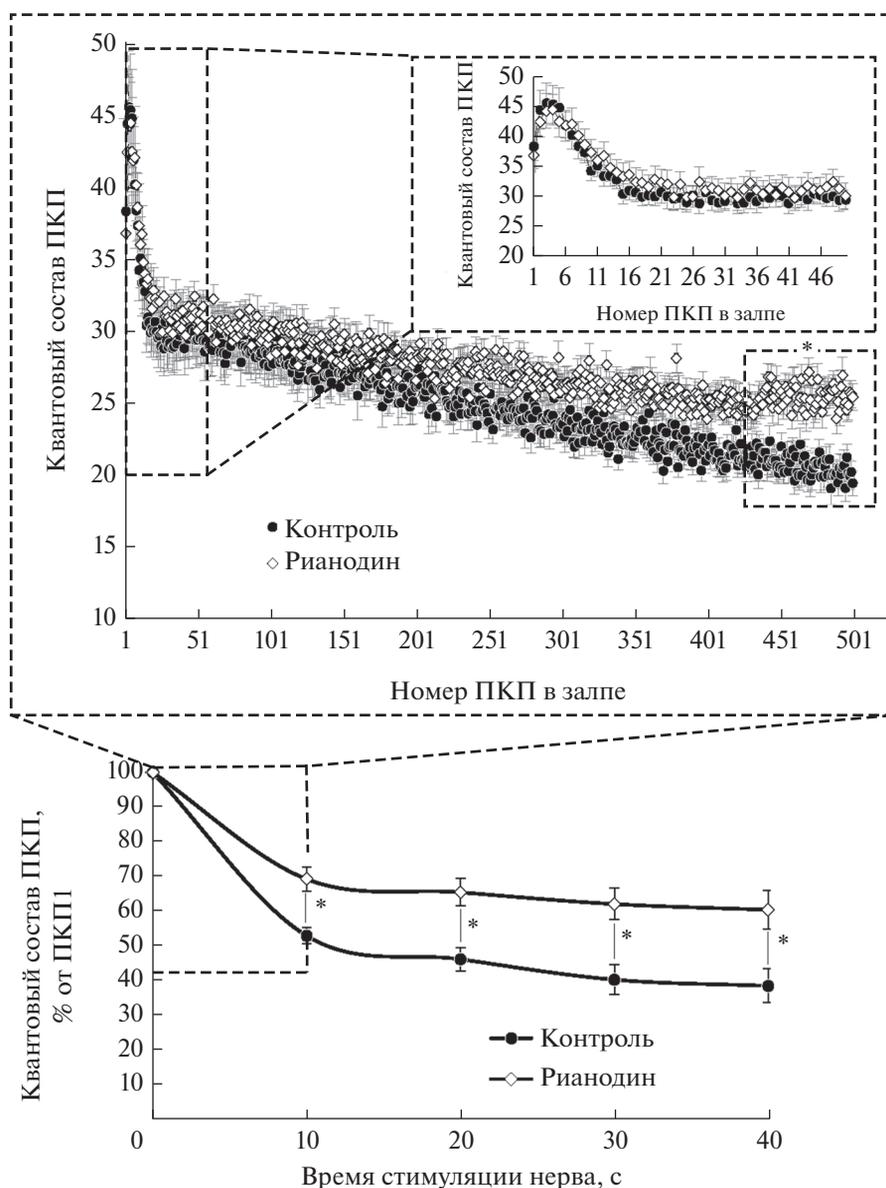


Рис. 3. Блокирование РиР при помощи 3 мкМ рианодина (MLA) снижает развитие депрессии передачи при длительной тетанической активности моторных синапсов (50 Гц, 40 с): сверху – изменение квантового состава ПКП по ходу 10 с длительного ритмического залпа в контроле ($n = 18$) (●) и на фоне рианодина ($n = 17$) (◇), на врезке – квантовый состав ПКП в течение первой секунды длительного залпа ПКП; внизу – снижение квантового состава ПКП, нормализованного к ПКП1 (принят за 100%), по ходу длительного непрерывного залпа в контроле и в присутствии рианодина. * $p < 0.05$ по сравнению с контролем.

предотвращена избирательной блокадой $\alpha 7$ -нХР, СК-каналов или РиР.

Тетаническая депрессия синаптической передачи как в центральных, так и периферических синапсах, считается одним из проявлением их кратковременной пластичности [15]. В качестве наиболее вероятной, но не единственной ее причины, называют постепенное истощение пула готовых к выбросу везикул [16–18], а также возможность постепенной инактивации мест экзоцитоза везикул в активных зонах [19, 20] или снижение

входа пресинаптического Ca^{2+} в районе активных зон из-за развивающейся инактивации быстрых потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов, работа которых необходима для запуска экзоцитоза [21–26]. Механизмы, обеспечивающие аутоингибирование секреции медиатора с помощью пресинаптических рецепторов – широко распространенный феномен, описанный в самых разных по химизму синапсах ЦНС [27, 28]. Аналогичный феномен, то есть срабатывание отрицательной обратной связи в холинергической передаче с участием АХ и его рецеп-

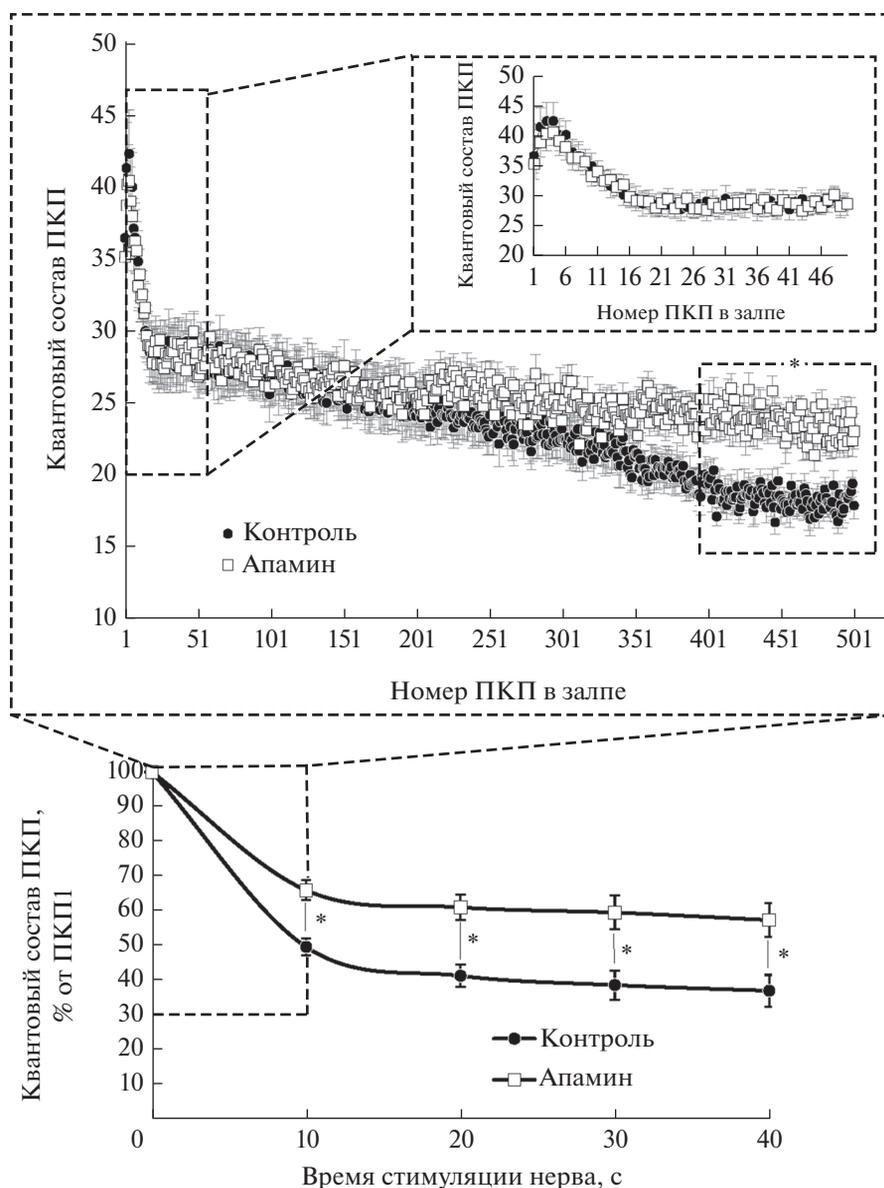


Рис. 4. Блокирование кальций-активируемых калиевых каналов SK-типа апамином (1 мкМ) в значительной степени уменьшает развитие синаптической депрессии при длительной тетанической активности моторных синапсов (50 Гц, 40 с): вверху – изменение квантового состава ПКП по ходу 10 с длительного ритмического залпа в контроле ($n = 19$) (●) и при действии апамина ($n = 19$) (□), на врезке – квантовый состав ПКП в течение первой секунды длительного залпа ПКП; внизу – снижение квантового состава ПКП, нормализованного к ПКП1 (принят за 100%), по ходу длительного непрерывного залпа в контроле и в присутствии апамина. * $p < 0.05$ по сравнению с контролем.

торов отмечен и в периферических синапсах, где эту роль приписывают пресинаптическим метаботропным мускариновым холинорецепторам 2 типа [29]. Возможный вклад и других, например, ионотропных нХР в механизм аутоингибирования выброса АХ также обсуждается [30–32]. Однако, возможное участие $\alpha 7$ -нХР в механизме аутоингибирования выброса АХ до сих пор осталось не исследованным. Мы впервые показали, что пресинаптические $\alpha 7$ -нХР могут, активируясь холином либо АХ, осуществлять ингибирование

АХ, но для этого требуются специальные условия. В частности, при кратковременной работе синапсов пресинаптические $\alpha 7$ -нХР, хотя и присутствуют на терминалях, но не участвуют в регуляции передачи. Однако они могут включаться в торможение выброса АХ в коротких залпах в ответ на аппликацию экзогенного холина [10, 11]. В данной работе мы впервые показали, что не только у экзогенного холина, но и у эндогенных холина/АХ есть такая же физиологическая функция, но реализуется она только в результате на-

копления АХ/холина в синаптической щели в условиях длительного высокочастотного залпа. Оказалось, что аутоингибирование выброса АХ с участием $\alpha 7$ -нХР предполагает запуск в нервных терминалах каскада реакций с участием пресинаптических РиР и кальций-активируемых K^+ -каналов SK-типа. Эндогенный холин обычно присутствует в синаптической зоне в диапазоне концентраций 1–10 мкМ, что недостаточно для активации $\alpha 7$ -нХР в отсутствие аллостерических модуляторов [33, 34]. Однако при длительной синаптической активности, вследствие продолжающегося гидролиза АХ, может, по-видимому, происходить накопление холина в околосинаптическом пространстве вплоть до концентраций в сотни мкМ, достаточных для активации $\alpha 7$ -нХР [35]. В центральных синапсах вовлечение пресинаптических $\alpha 7$ -нХР и вход ионов Ca^{2+} по ним, может, активируя РиР и выброс депонированного кальция в терминалах, приводить к облегчению секреции медиатора [1, 35, 36]. Однако в периферических синапсах, как мы показали, активность эндогенного холина, напротив, может приводить к торможению синхронной многоквантовой секреции АХ, причем, с участием пресинаптических РиР и калиевых каналов SK-типа. Это согласуется с описанными нами ранее механизмами подавления вызванного выброса АХ в моторных синапсах при действии на них экзогенного холина, которые также включает, наряду с активацией $\alpha 7$ -нХР, и активацию РиР и SK-каналов [10]. В литературе известны и другие примеры, когда активация $\alpha 7$ -нХР в нервных терминалах, способствуя входу ионов кальция по каналам $\alpha 7$ -нХР, приводит к активации РиР и далее – SK-каналов. Такой сигнальный каскад, в конечном итоге, вызывает гиперполяризацию мембраны и торможение секреции медиатора [37].

Хорошо известно, что, в отличие от центральных синапсов, для одиночных концевых пластинок млекопитающих характерна высокая вероятность выброса медиатора в ответ на одиночный нервный импульс [17, 18, 38]. Это обеспечивает высокий фактор надежности передачи, но, вместе с тем, неизбежно приводит к избыточным тратам АХ и везикулярного пула в ходе длительной работы. Аутоингибирование выброса АХ с участием эндогенного холина и $\alpha 7$ -нХР по принципу отрицательной обратной связи может служить адаптивным механизмом, оптимизирующим баланс между необходимым уровнем выброса АХ и его излишними расходами, что может продлевать адекватную работоспособность одиночной концевой пластинки в условиях ее продолжительной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые обнаруженные в нашей работе механизмы депрессии холинергической передачи с участием $\alpha 7$ -нХР и возможность ее предотвращения в значительной степени с помощью блокады $\alpha 7$ -нХР, РиР или SK-каналов представляют интерес как в теоретическом плане, так и в качестве возможной мишени для коррекции “утомления” передачи в моторных синапсах при их длительной работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kabbani N., Nichols R.A.* // Trends Pharmacol. Sci. 2018. V. 39. P. 354–366.
2. *Alkondon M., Pereira E.F., Cortes W.S., Maelicke A., Albuquerque E.X.* // Eur. J. Neurosci. 1997. V. 9. P. 2734–2742.
3. *Papke R.L., Porter Papke J.K.* // Br. J. Pharmacol. 2002. V. 137. P. 49–61.
4. *Uteshev V.V., Meyer E.M., Papke R.L.* // J. Neurophysiol. 2003. V. 89. P. 1797–1806.
5. *Shen J., Yakel J.L.* // Acta Pharmacol. Sin. 2009. V. 30. P. 673–680.
6. *Uteshev V.V.* In: Advances in Experimental Medicine and Biology, 2012. P. 603–638.
7. *Papke R.L.* // Biochem. Pharmacol. 2014. V. 89. P. 1–11.
8. *Dani J.A., Bertrand D.* // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2007. V. 47. P. 699–729.
9. *Koukoulis F., Maskos U.* // Biochem. Pharmacol. 2015. V. 97. P. 378–387.
10. *Gaydukov A.E., Bogacheva P.O., Tarasova E.O., Balezina O.P.* // Acta Naturae. 2014. V. 6. P. 110–115.
11. *Gaydukov A.E., Balezina O.P.* // Acta Naturae. V. 9. P. 110–113.
12. *Tarasova E.O., Miteva A.S., Gaidukov A.E., Balezina O.P.* // Biochem. Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol. 2015. V. 9. P. 318–328.
13. *McLachlan E.M., Martin A.R.* // J. Physiol. 1981. V. 311. P. 307–324.
14. *Gerasimova E., Lebedeva J., Yakovlev A., Zefirov A., Giniatullin R., Sitdikova G.* // Neuroscience. 2015. V. 303. P. 577–585.
15. *Regehr W.G.* // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2012. V. 4. P. a005702.
16. *Fioravante D., Regehr W.G.* // Curr. Opin. Neurobiol. 2011. V. 21. P. 269–274.
17. *Ruiz R., Cano R., Casanas J.J., Gaffield M.A., Betz W.J., Tabares L.* // J. Neurosci. 2011. V. 31. P. 2000–2008.
18. *Cano R., Ruiz R., Shen C., Tabares L., Betz W.J.* // Cell Calcium. 2012. V. 52. P. 321–326.
19. *Hosoi N., Holt M., Sakaba T.* // Neuron. 2009. V. 63. P. 216–229.
20. *Neher E.* // Front. Synaptic Neurosci. 2010. V. 2. P. 144.
21. *Forsythe I.D., Tsujimoto T., Barnes-Davies M., Cuttle M.F., Takahashi T.* // Neuron. 1998. V. 20. P. 797–807.
22. *Neher E., Sakaba T.* // Neuron. 2008. V. 59. P. 861–872.
23. *Mochida S., Few A.P., Scheuer T., Catterall W.A.* // Neuron. 2008. V. 57. P. 210–216.

24. Catterall W.A., Few A.P. // *Neuron*. 2008. V. 59. P. 882–901.
25. Nanou E., Yan J., Whitehead N.P., Kim M.J., Froehner S.C., Scheuer T., Catterall W.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2016. V. 113. P. 1068–1073.
26. Mochida S. // *Proc. Japan Acad. Ser. B*. 2017. V. 93. P. 802–820.
27. Castillo P.E. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. V. 4. P. a005728.
28. Atwood B.K., Lovinger D.M., Mathur B.N. // *Trends Neurosci.* 2014. V. 37. P. 663–673.
29. Tomàs J., Santafé M.M., Garcia N., Lanuza M.A., Tomàs M., Besalduch N., Obis T., Priego M., Hurtado E. // *J. Neurosci. Res.* 2014. V. 92. P. 543–554.
30. Prior C., Singh S. // *Br. J. Pharmacol.* 2000. V. 129. P. 1067–1074.
31. Oliveira L., Timóteo M.A., Correia-de-Sá P. // *Eur. J. Neurosci.* 2002. V. 15. P. 1728–1736.
32. Khaziev E., Samigullin D., Zhilyakov N., Fatikhov N., Bukharaeva E., Verkhratsky A., Nikolsky E. // *Front. Physiol.* 2016. V. 7. P. 621.
33. Parikh V., Sarter M. // *J. Neurochem.* 2006. V. 97. P. 488–503.
34. Gusev A.G., Uteshev V. V. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2010. V. 332. P. 588–598.
35. Corradi J., Bouzat C. // *Mol. Pharmacol.* 2016. V. 90. P. 288–299.
36. Sharma G., Vijayaraghavan S. // *Neuron*. 2003. V. 38. P. 929–939.
37. Griguoli M., Scuri R., Ragozzino D., Cherubini E. // *Eur. J. Neurosci.* 2009. V. 30. P. 1011–1022.
38. Davis G.W., Müller M. // *Annu. Rev. Physiol.* 2015. V. 77. P. 251–270.

Participation of Presynaptic Nicotine Alpha-7 Cholinergic Receptors in the Inhibition of Acetylcholine Release during Long-term Activity of Mouse Motor Synapses

A. E. Gaydukov^a, P. O. Bogacheva^a, and O. P. Balezina^a

^a*Department of human and animals physiology, Biological faculty, Moscow State University, Moscow, Russia*

In the motor synapses of the mouse diaphragm, we recorded the miniature endplate potentials (MEPPs) and multiquantal endplate potentials induced by stimulation of the phrenic nerve (EPPs). Prolonged continuous rhythmic stimulation (50 Hz for 40 seconds) caused a depression of the synaptic transmission in the form of a gradual biphasic decrease in the quantum content of EPPs in the train. A rapid decrease in the quantum content of the EPPs to 50% of the amplitude of the first EPPs in the train (EPP1) during the first 10 seconds of activity was followed by a slower decrease in the EPP quantum content to 35–40% of EPP1 by the 40th second of stimulation. Blockage of the $\alpha 7$ nicotinic cholinergic receptors by methyllycaconitine (20 nM) as well as ryanodine receptors by ryanodine (3 μ M) or small-conductance calcium-activated potassium channels of the SK-type by apamin (1 μ M) significantly reduced the development of depression; the EPP quantum content decreased to 65–70% of EPP1 by the 10th second of stimulation and maintained at this level for the next 30 seconds of stimulation. It was concluded that in mouse cholinergic motor synapses, the mechanism of transient depression of transmission may be autoinhibition of acetylcholine quantum secretion by endogenous acetylcholine/choline, which activates the $\alpha 7$ nicotinic cholinergic receptors and triggers the signaling cascade that involves presynaptic ryanodine receptors and SK channels.

Keywords: acetylcholine, $\alpha 7$ nicotinic cholinergic receptors, quantum content, ryanodine receptors, calcium-activated K^+ channels of the SK-type