

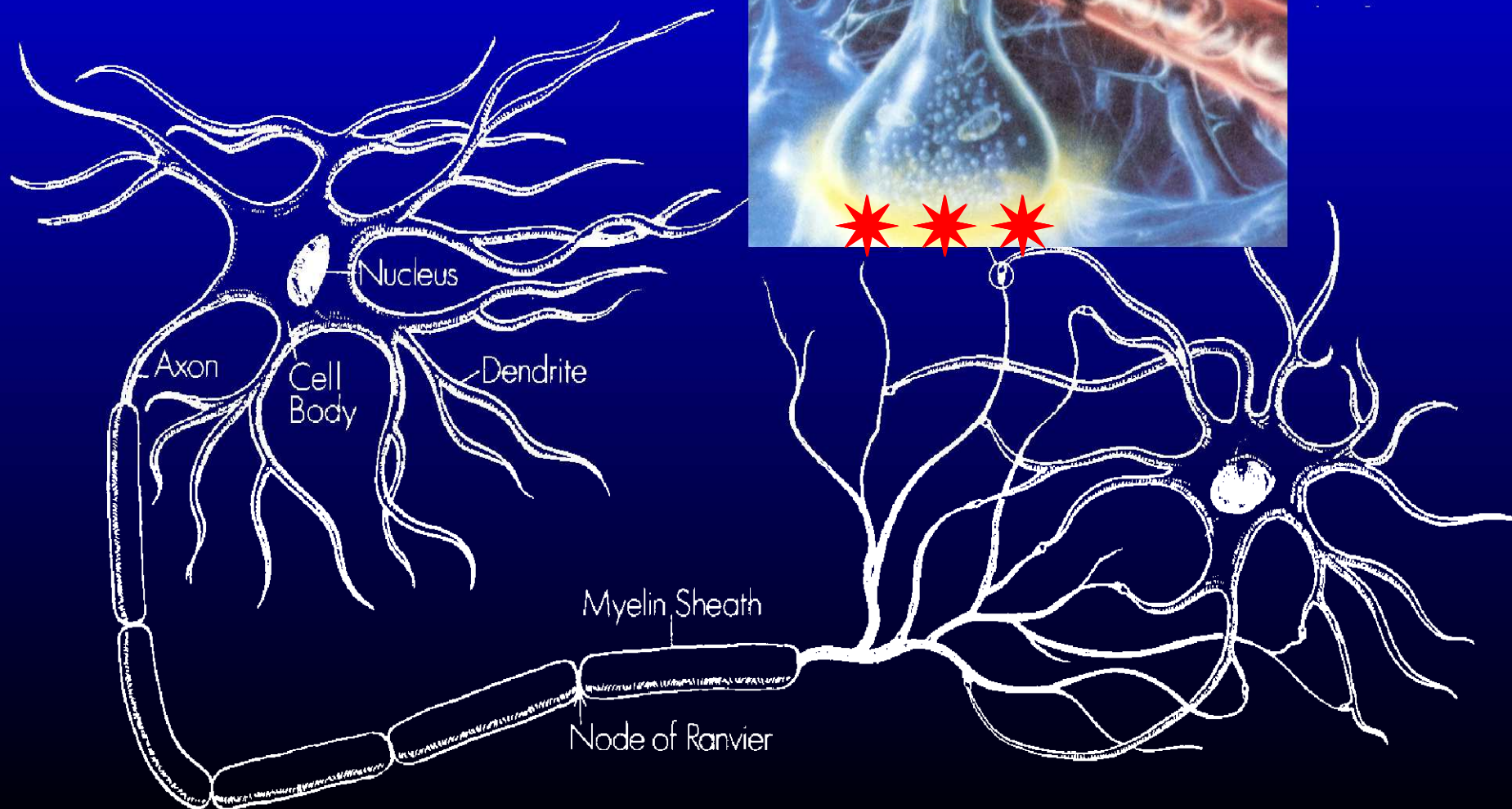
Synaptický a extrasynaptický přenos signálů a funkce extracelulární matrix

Lýdia Vargová

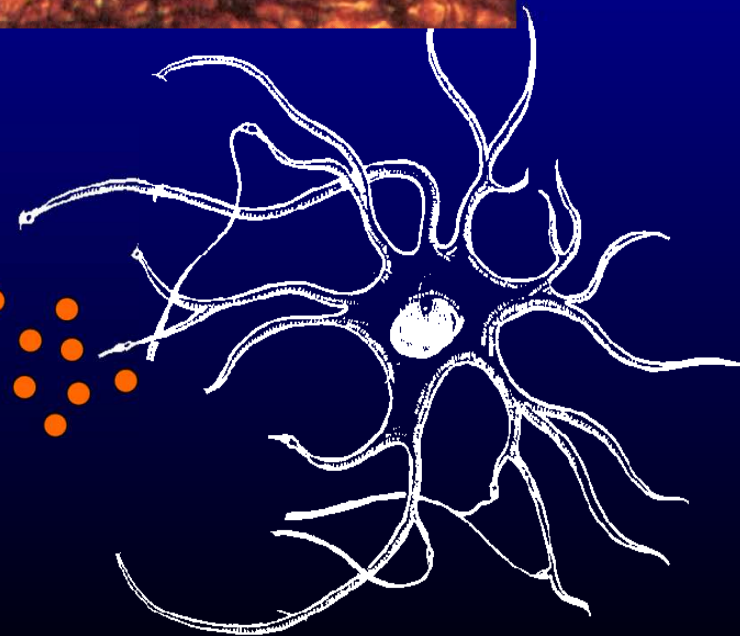
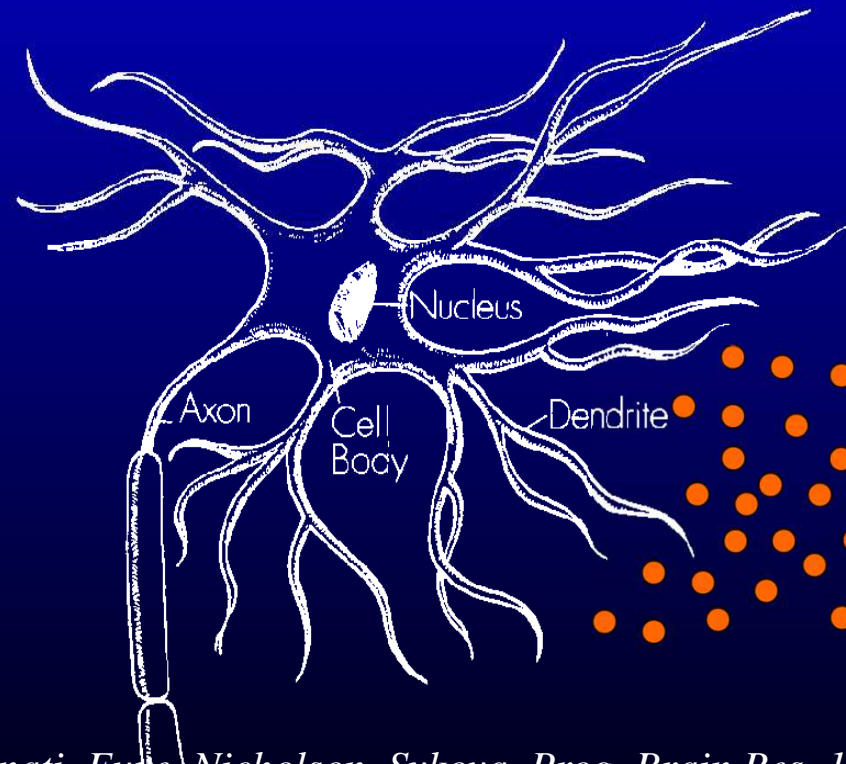
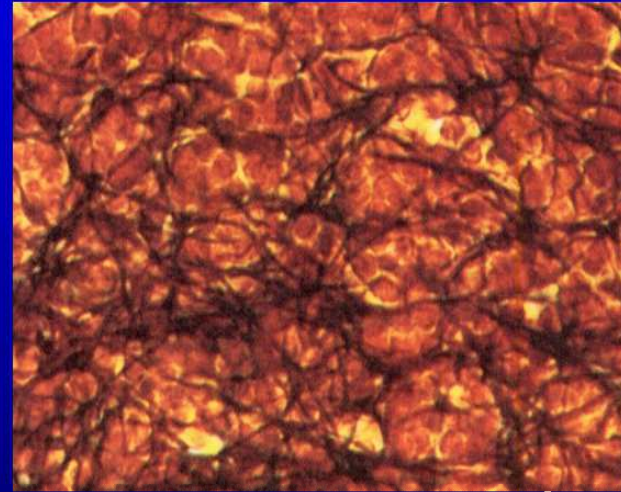
Ústav neurověd, 2. LF UK

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.

Synaptický přenos



Extrasynaptický přenos



Agnati, Fuxe, Nicholson, Sykova, Prog. Brain Res, 1991

Zoli, Janssen, Sykova, Agnati, Fuxe, TIPS 1999

Kiss and Vizi, TINS, 2001

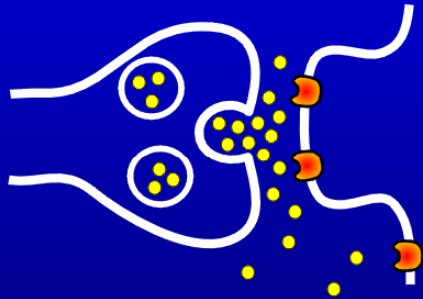
Nicholson and Sykova, TINS, 1998

Sykova, Neuroscience, 2004

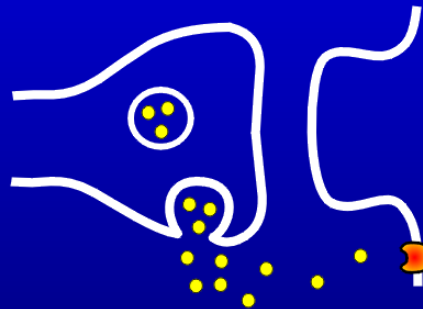
Sykova and Nicholson, Physiol. Rev, 2008

Zdroje neuroaktivních látek

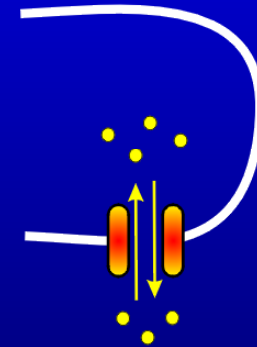
Intrasynaptic vesicular release (spillover)



Extrasynaptic vesicular release (neuropeptides)

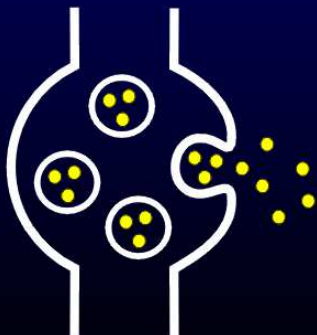


Ion currents (neurons and glia)

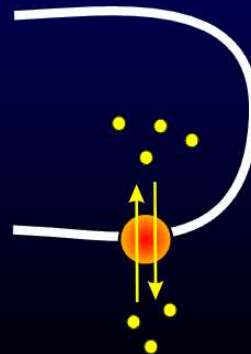


VT - Paracrine transmission (neurons and glia)

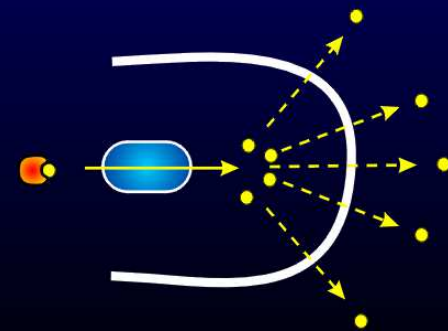
Non-junctional varicosities (catecholamines)



Transmitter uptake carriers (glutamate, GABA, dopamine)

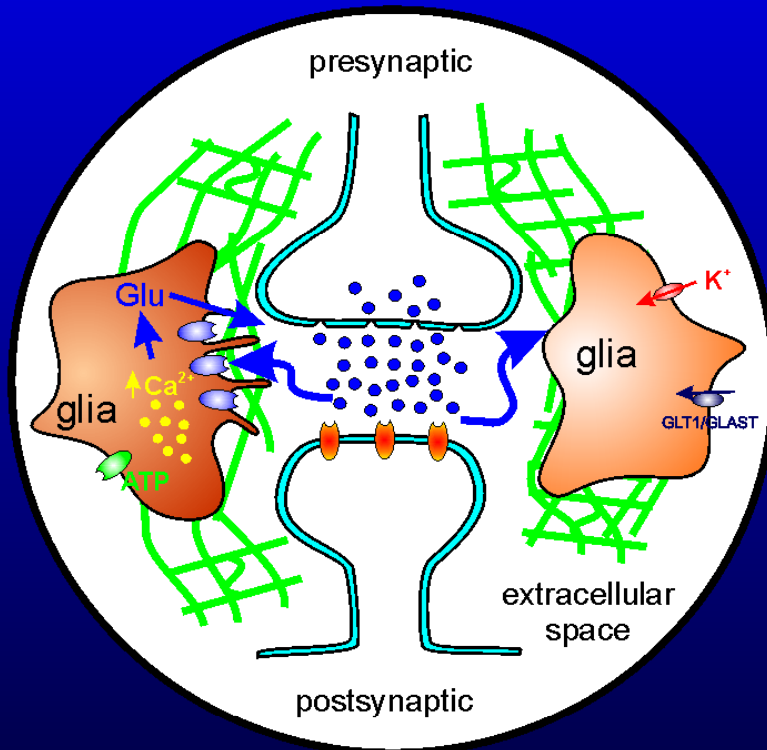


Gaseous transmitters (nitric oxide)

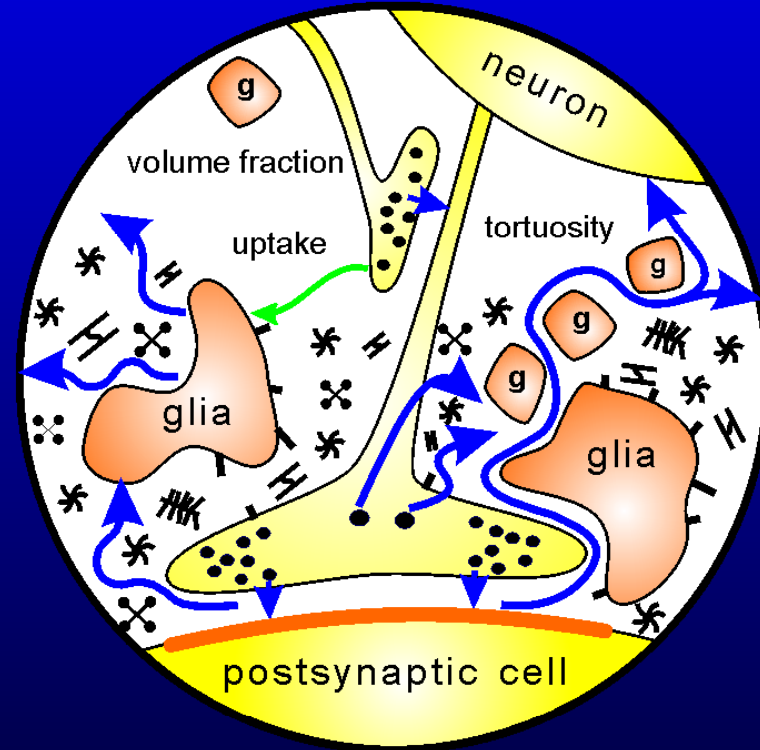


Mezibuněčná komunikace prostřednictvím difúze v ECP

Na krátkou vzdálenost



Na dlouhou vzdálenost



„Kvadrupartitní synapse“:

- presynaptické z.
- postsynaptické z.
- astrocyty
- extracelulární prostor, ECM

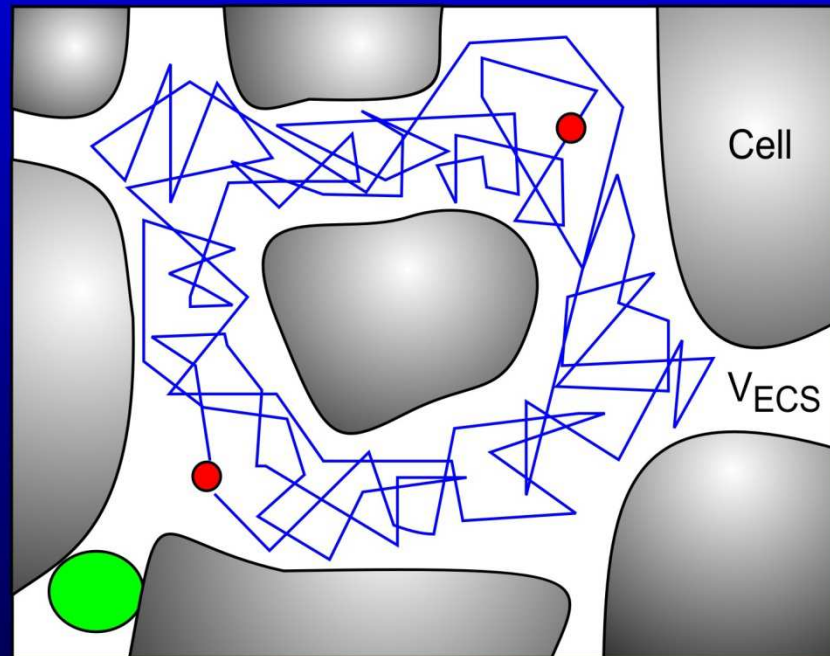
Diffusion coefficient	Source	Sink
$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{D}{\lambda^2} \nabla^2 C + \frac{Q}{\alpha} - f(C)$		
Tortuosity (tensor)	Volume fraction	e.g. Clearance, uptake or geometry
$\lambda = \sqrt{D/ADC}$	$\alpha = V_{ECS}/V_{TOT}$	

Difúzní bariéry:

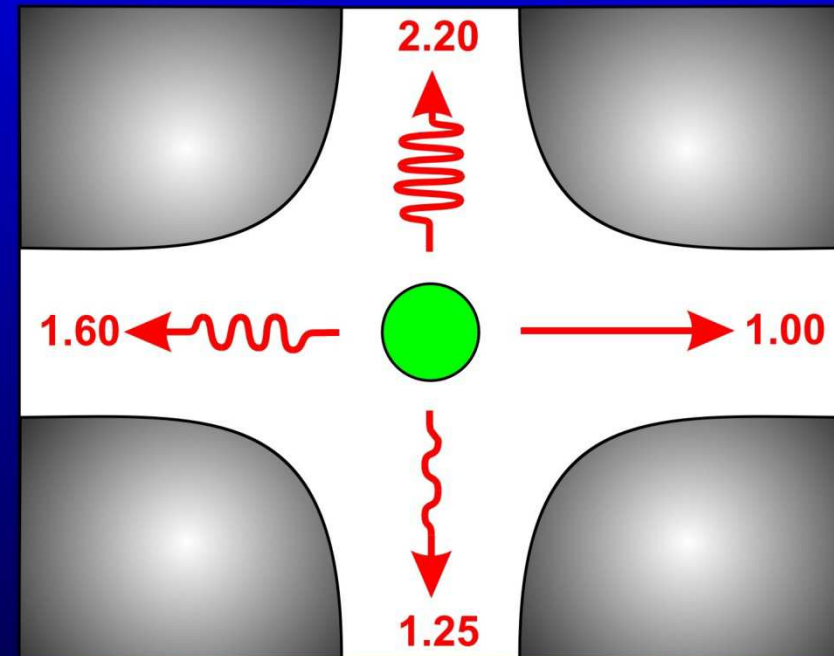
- gliální výběžky
- neuronální výběžky
- adhezní molekuly
- extracelulární matrix

Difúzní parametry extracelulárního prostoru

Volume fraction $\alpha = V_{ECS} / V_{TOT}$



Tortuosity $\lambda = (D/ADC)^{0.5}$



α = extracellular volume fraction

λ = tortuosity

k' = nonspecific uptake

Metody pro studium difúze látek v CNS

- *radiotracer*
- *měření tkáňového odporu*
- *optické zobrazování (fluorescentní barviva, průchod/rozptyl světla)*
- *iontoforetická TMA metoda v reálném čase (objemová frakce, ADC, tortuozita, uptake)*
- *Difúzně vážená MR (ADC_w)*

O: Jak se metody liší a lze výsledky srovnávat?

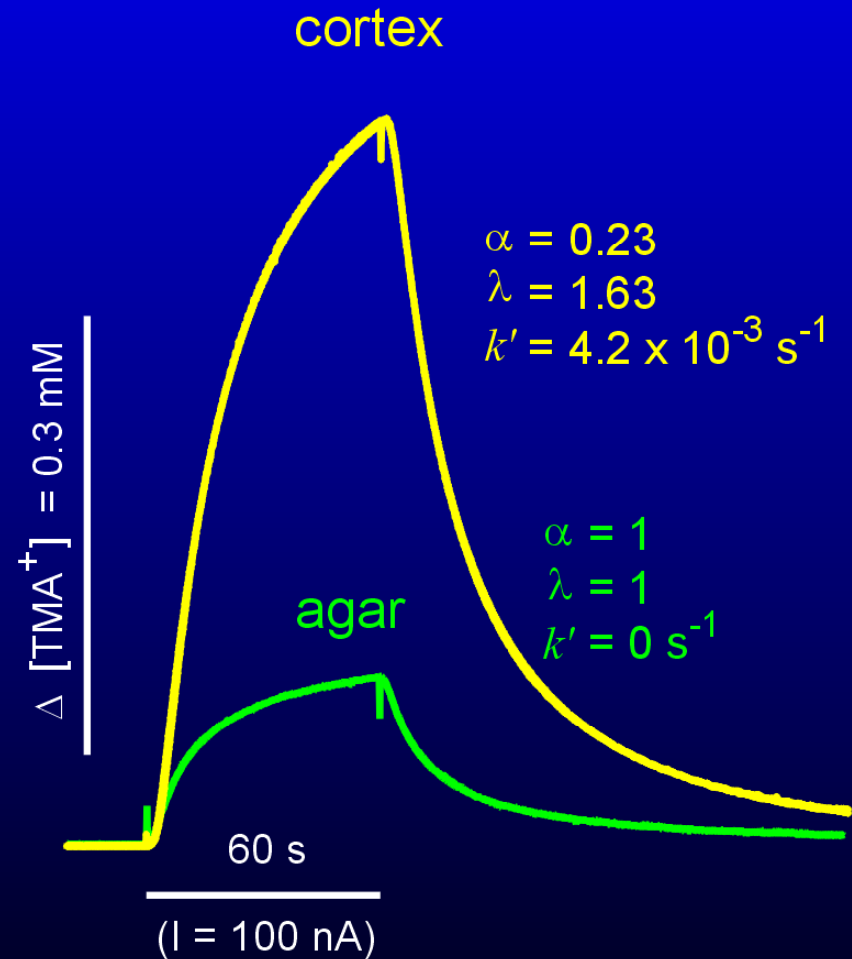
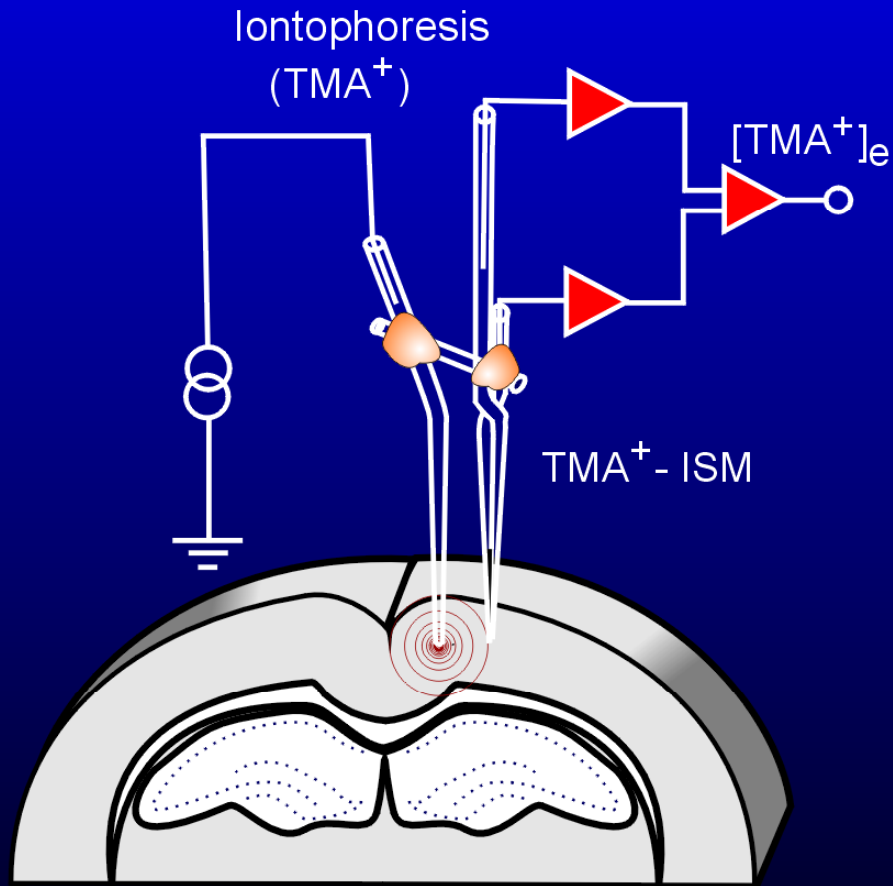
TMA iontoforetická metoda v reálném čase

- *Měří pouze v jednom kompartmentu (často extracelulárně)*
- *Absolutní hodnoty difúzních parametrů*
- *Malá oblast měření (50-250 μm)*
- *Vyšší rozlišení*

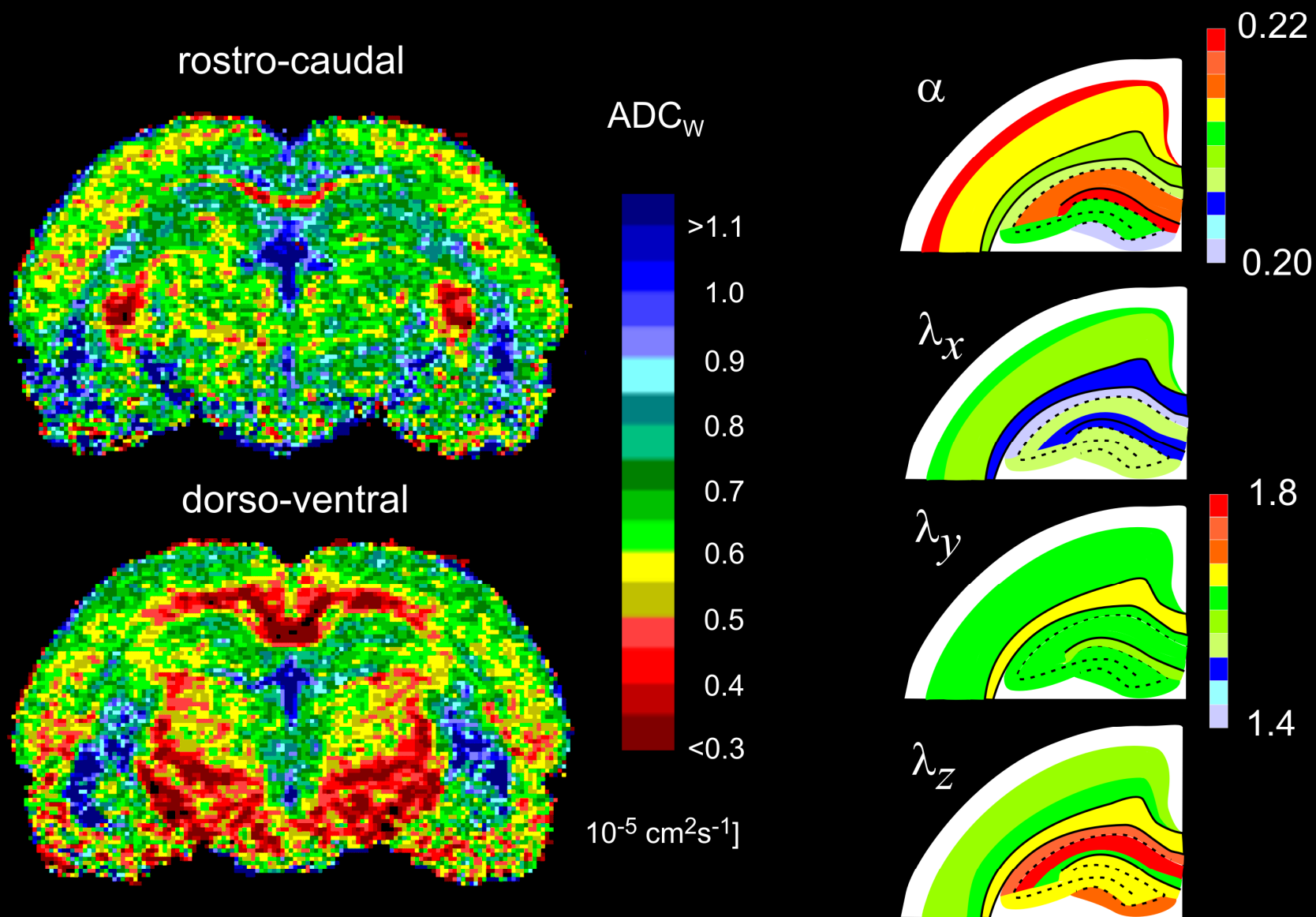
DW-MRI (ADC_w)

- *Zobrazení celého mozku*
- *Nižší rozlišení, změny ve velkých oblastech*
- *Nelze rozlišit změny v intra- a extracelulární difúzi*
- *Může odrážet změny extracelulárního objemu, tortuozity nebo obojí*

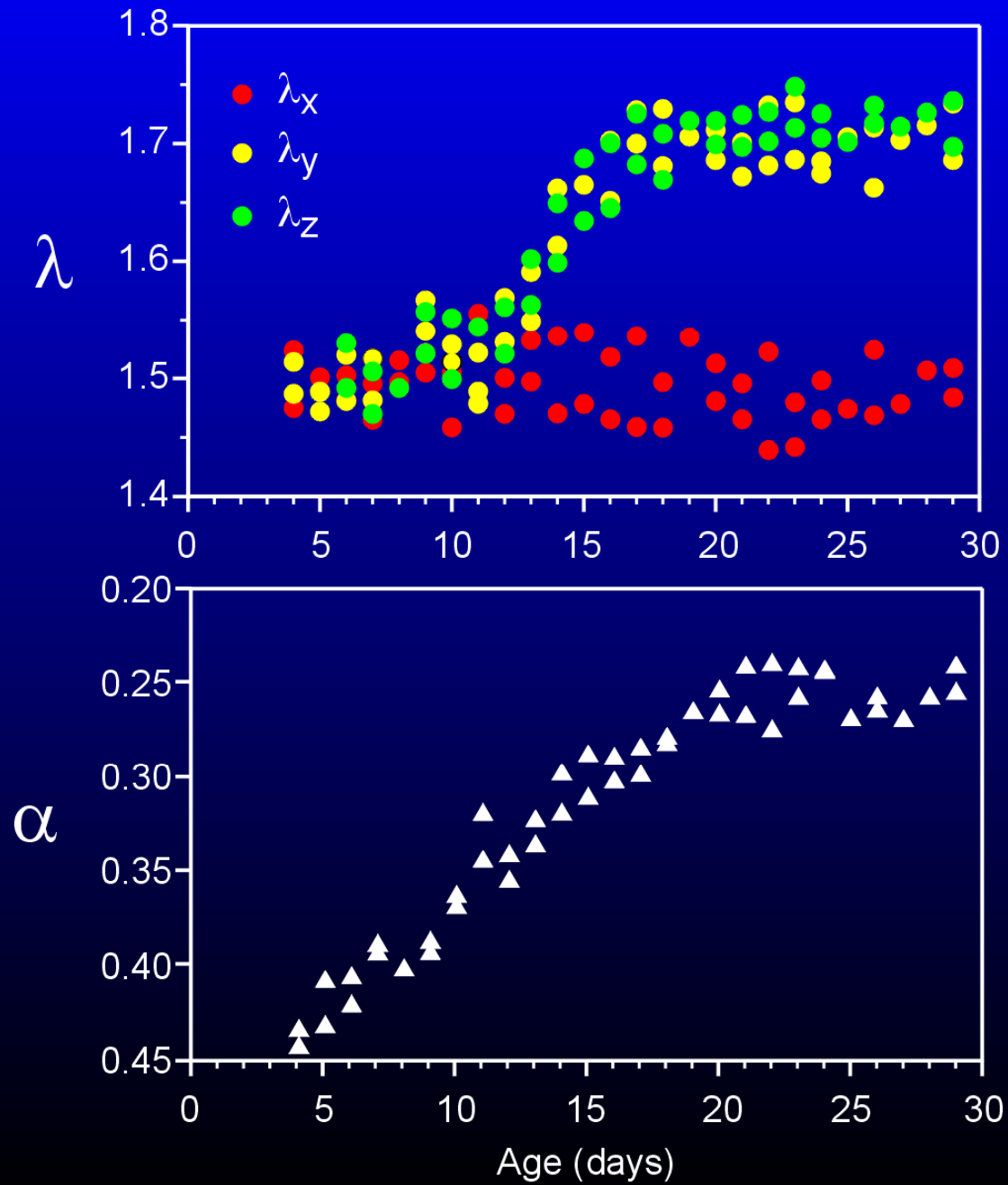
TMA iontoforetická metoda v reálném čase



Heterogenita a anizotropie



Corpus callosum



Ischemia

Demyelination

Transplants

Activity

Epilepsy

Trauma

Development

Inflammation

X-irradiation

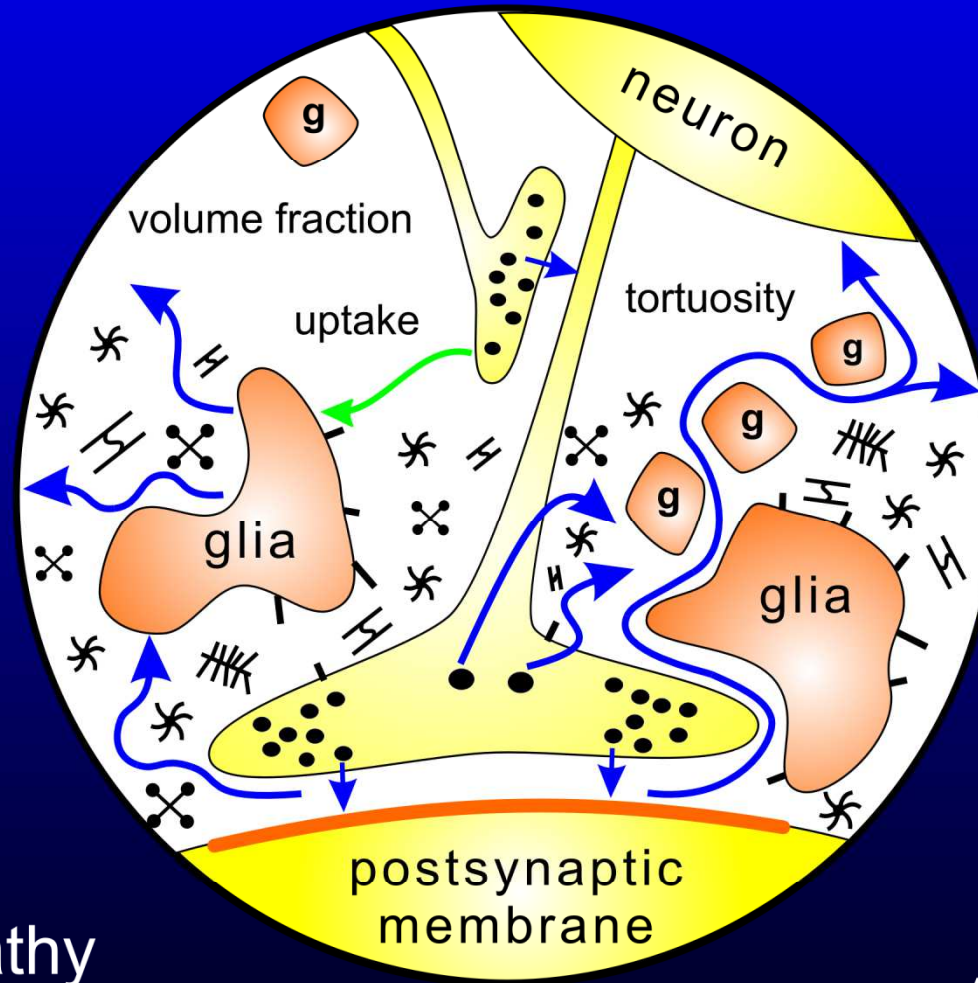
Encefalopathy
(AIDS)

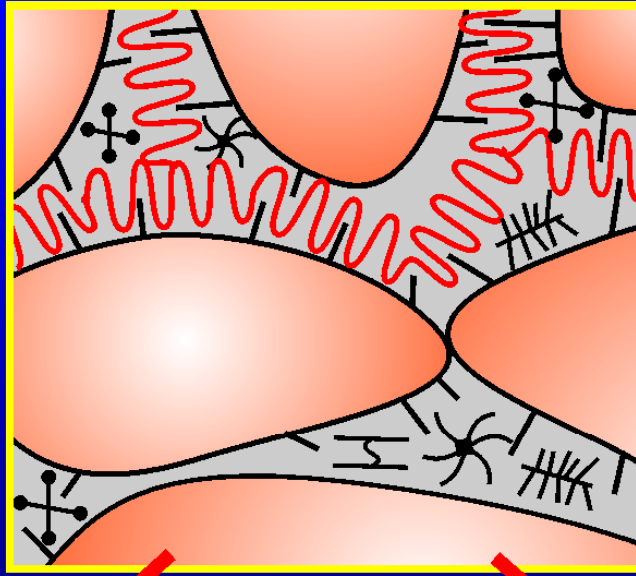
Tumors

Aging

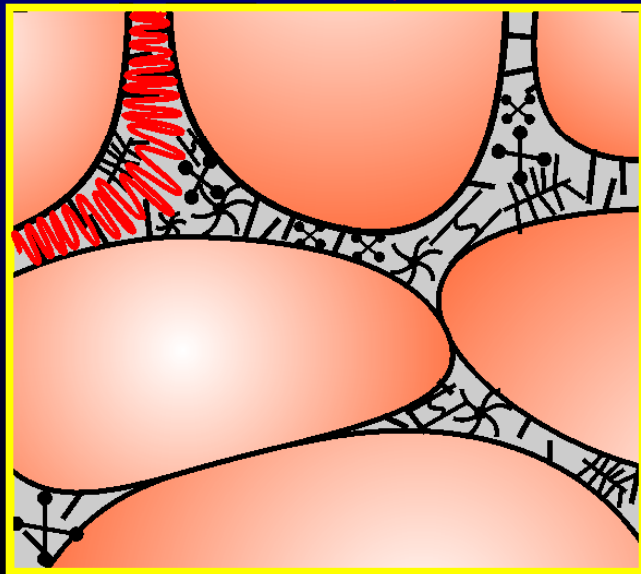
Plastic changes

ECM knockouts

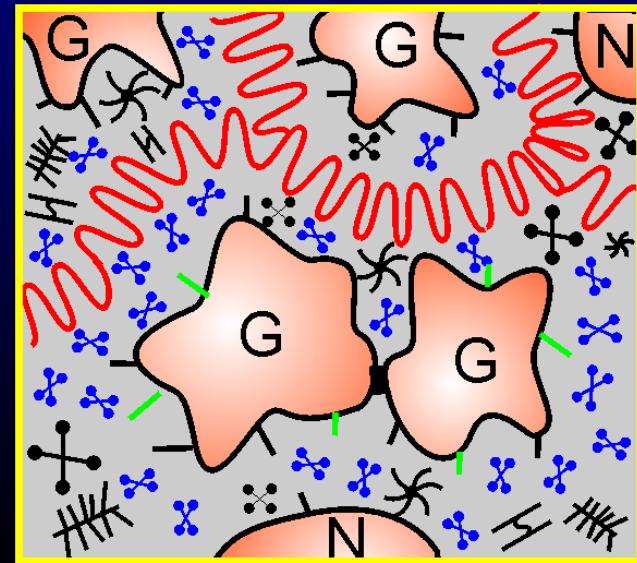




anoxia



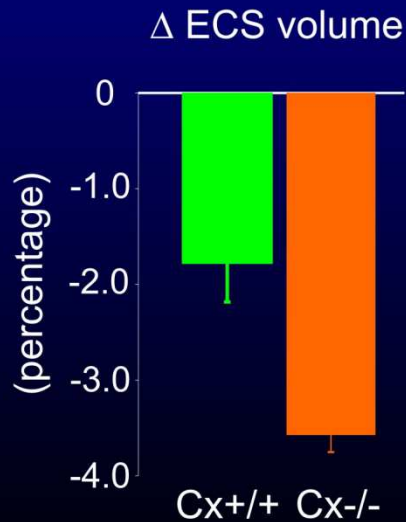
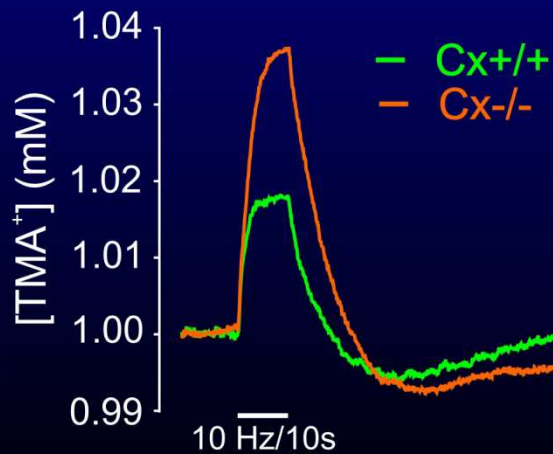
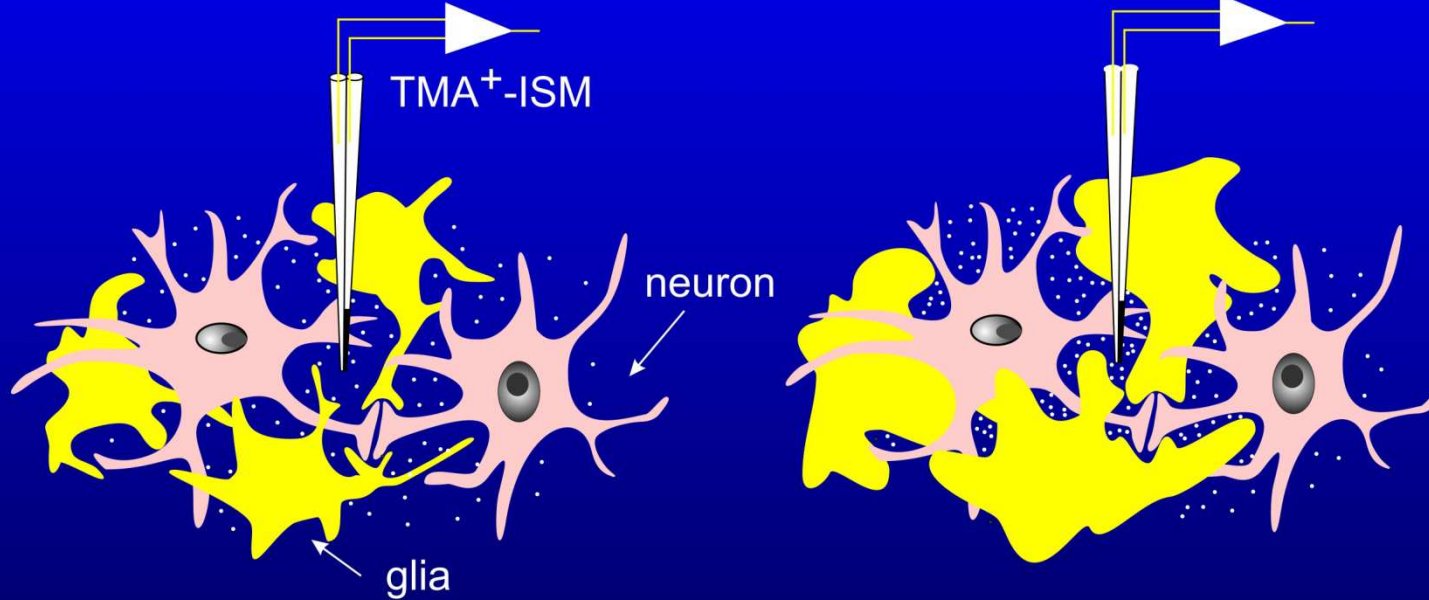
**cell death
gliosis**



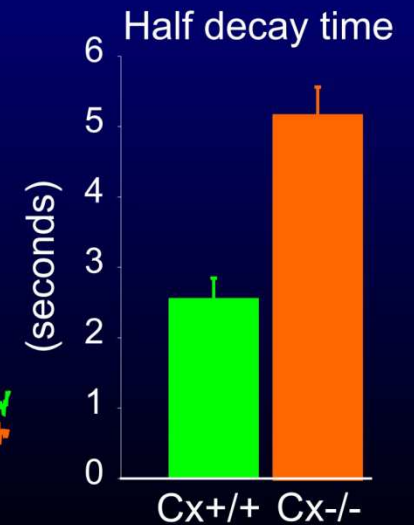
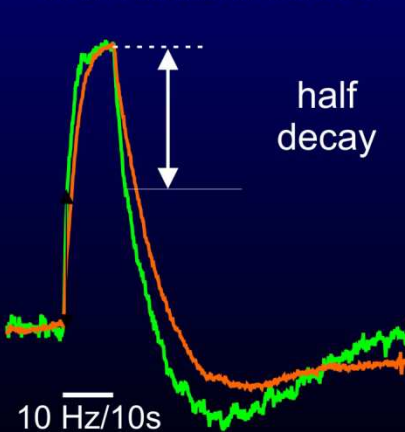
Změny extracelulárního objemu u Cx30^{-/-}-Cx43^{-/-} myši při stimulaci

Resting state

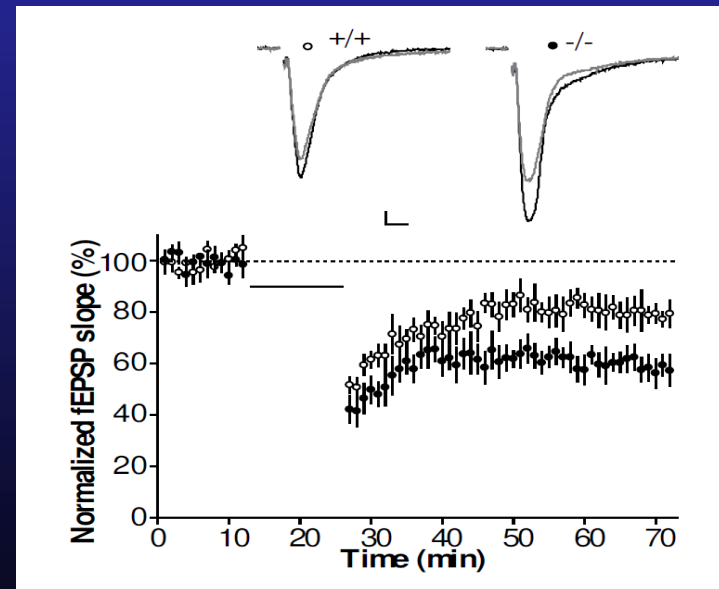
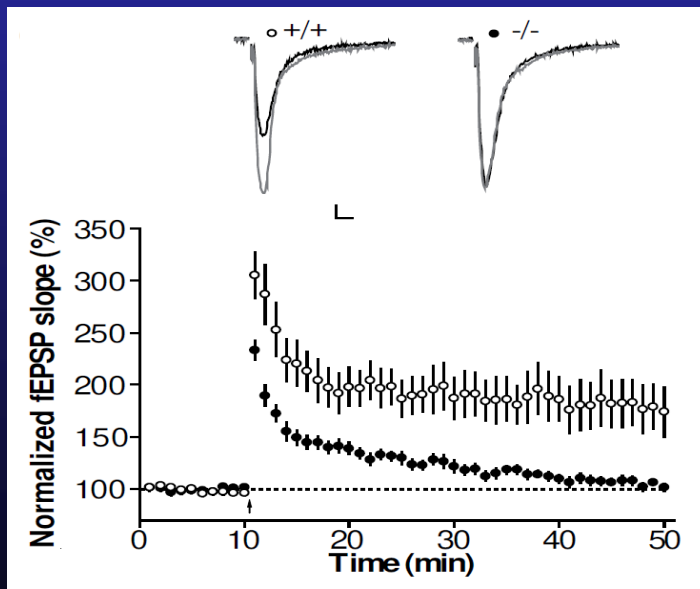
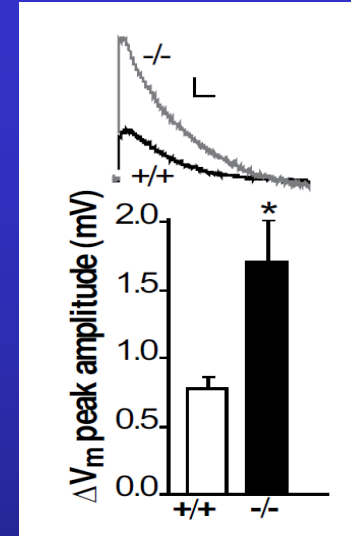
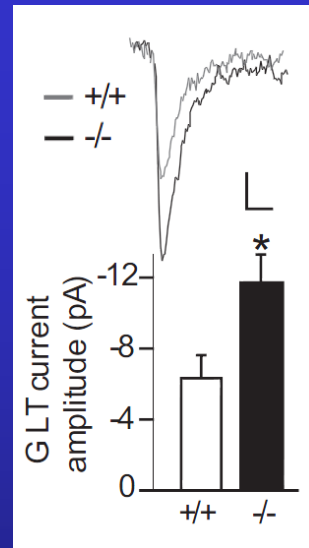
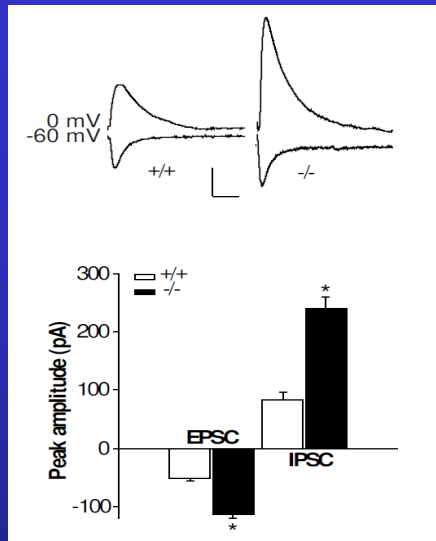
Activity



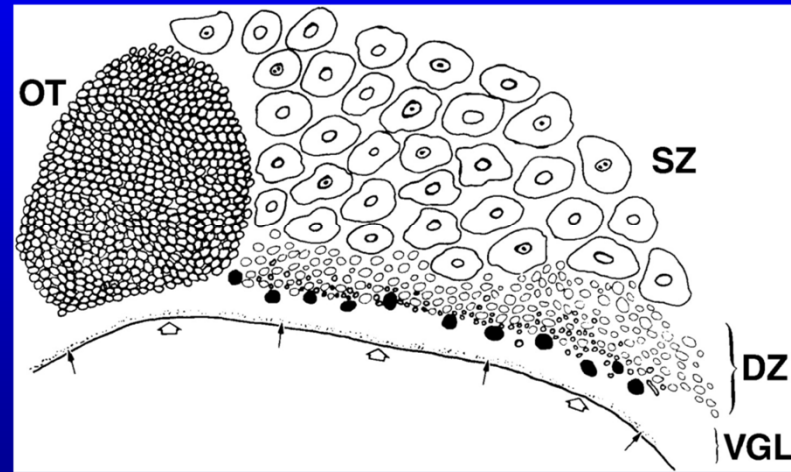
normalized traces



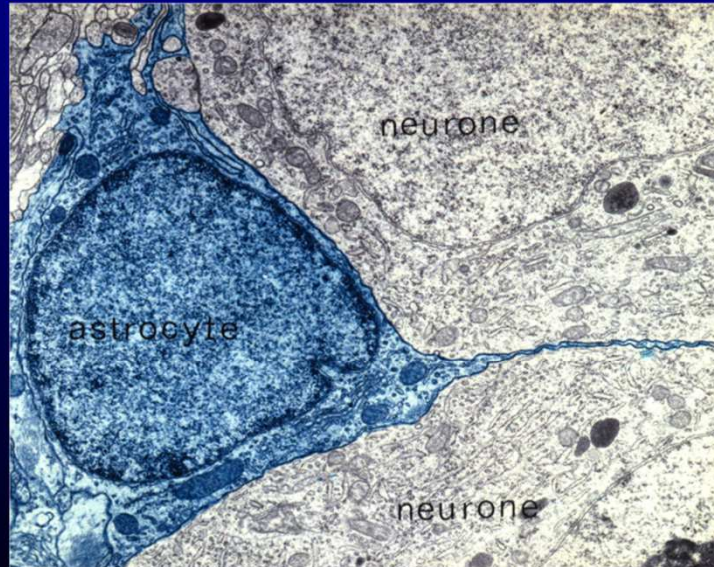
Zvýšená neuronální aktivita v hipokampu Cx30^{-/-}-Cx43^{-/-} myši



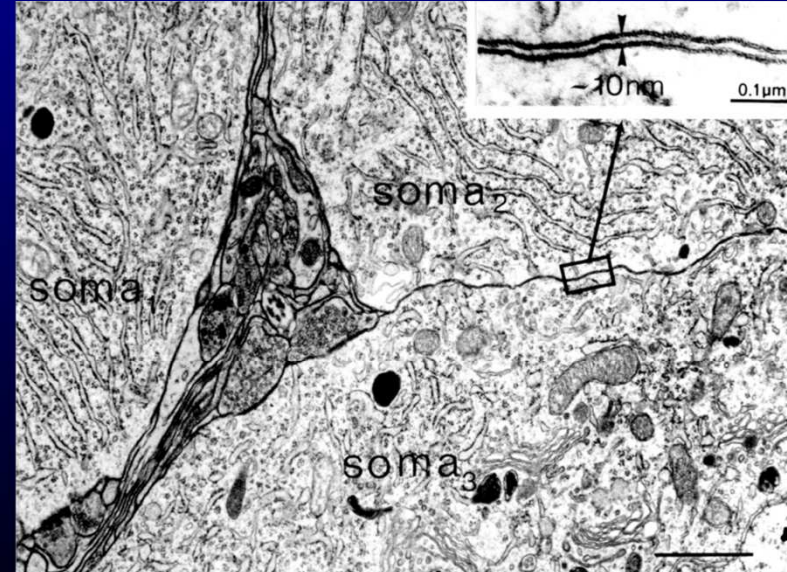
SON



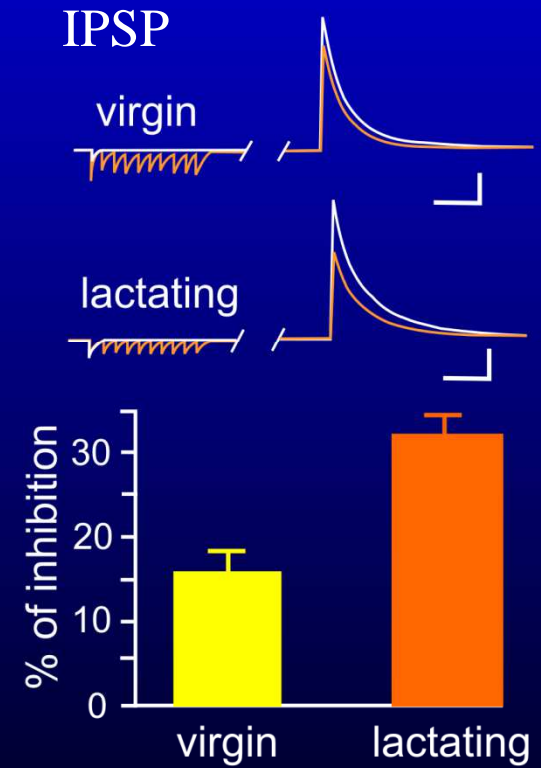
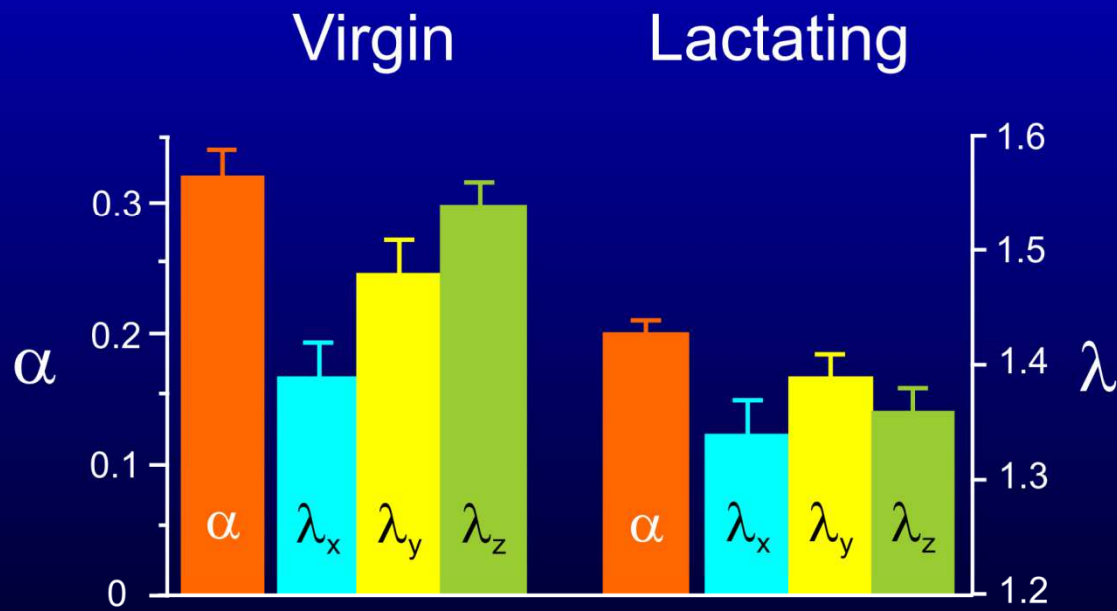
Kontrola



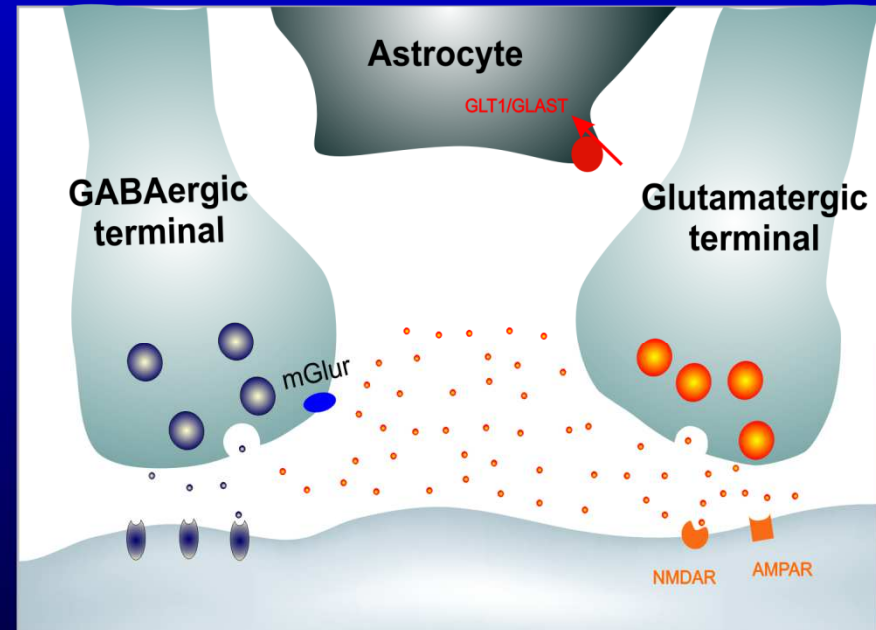
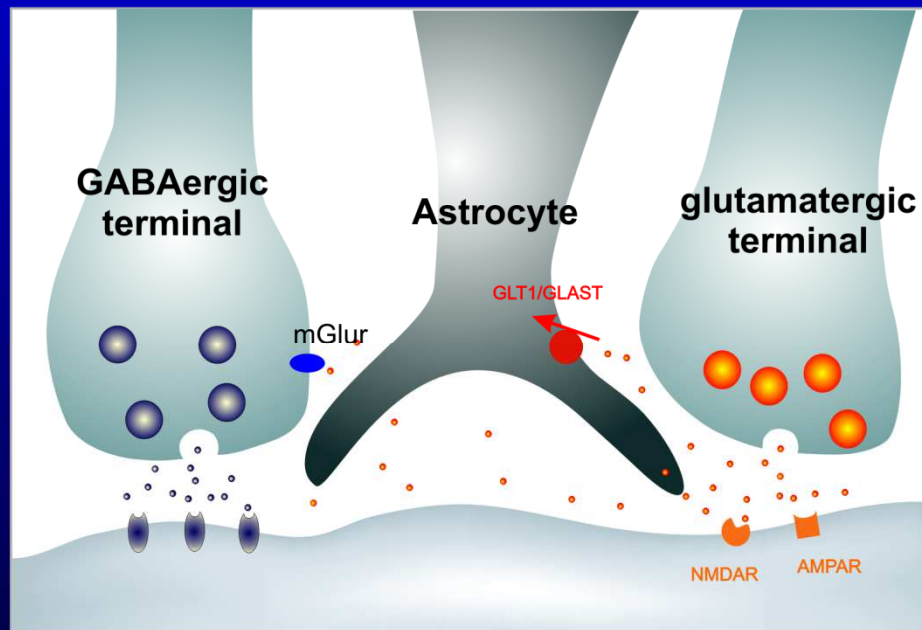
Laktace



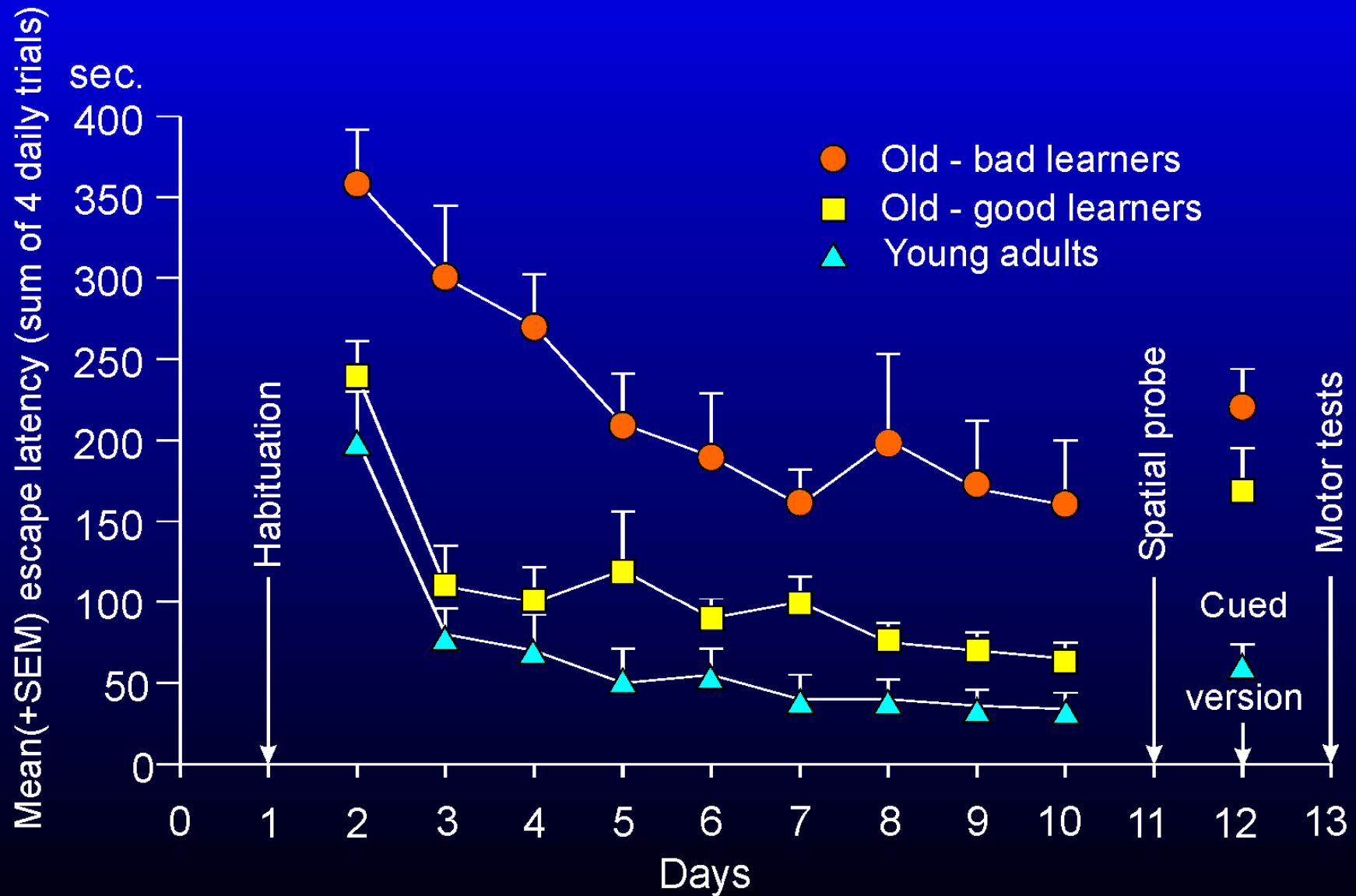
Difúzní parametry ECP a heterosynaptická deprese v SON potkana

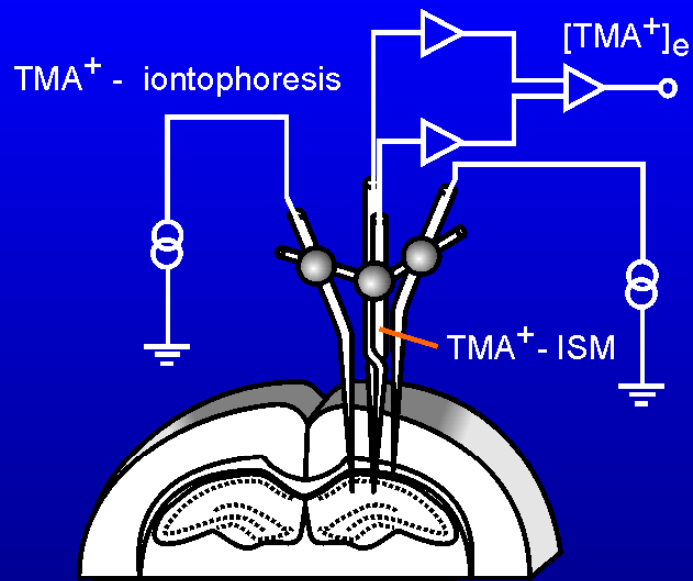


Hypotetický model heterosynaptické deprese v SON

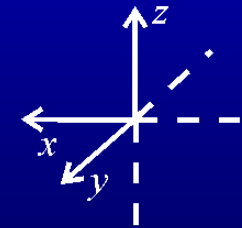
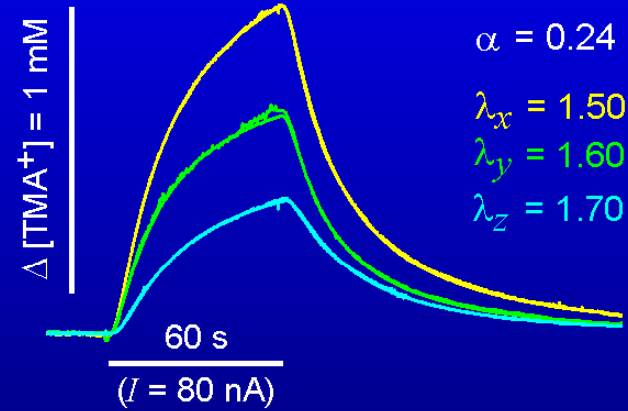


Behaviorální testování v MWM

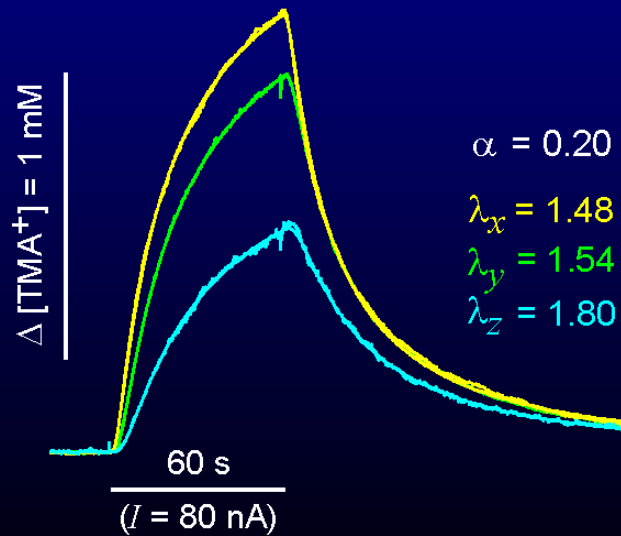




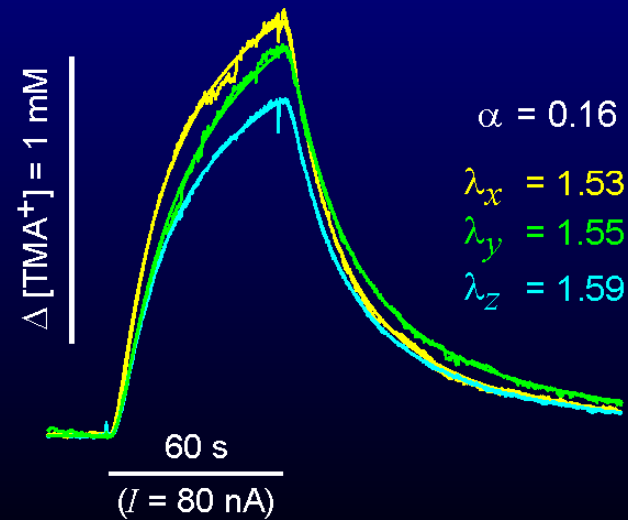
Adult



Aged superior learners



Aged inferior learners

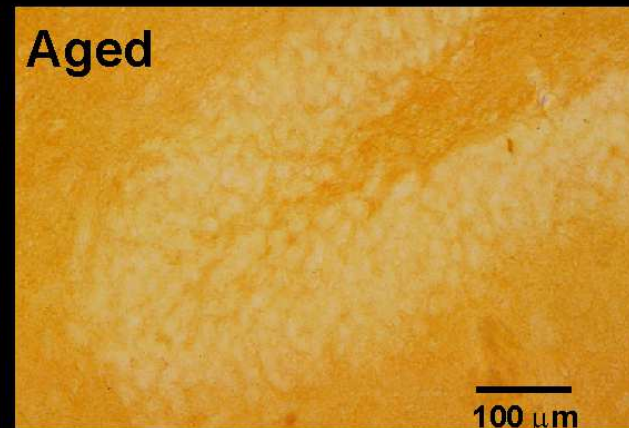
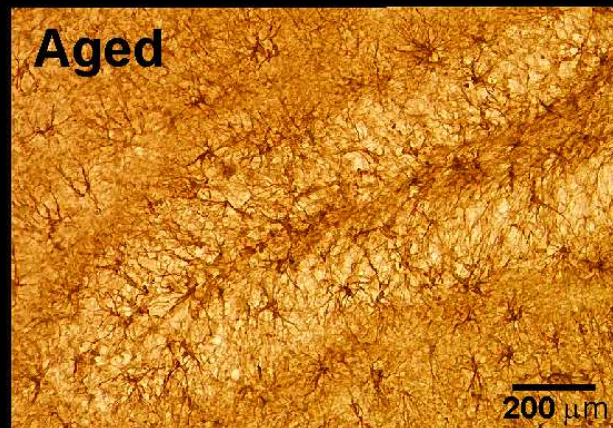
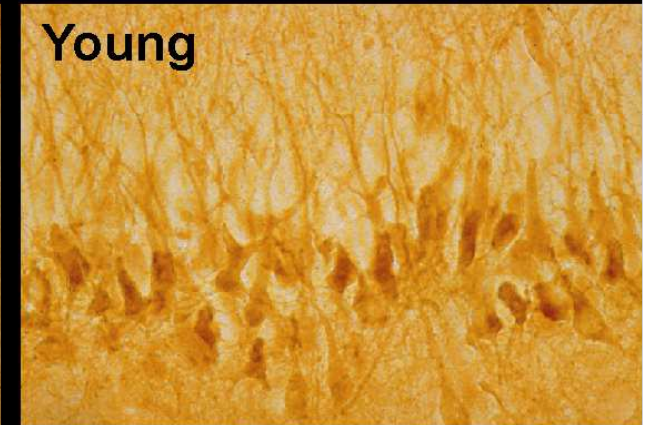
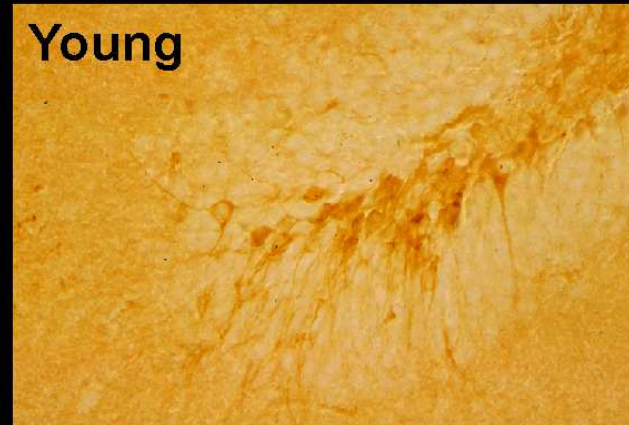
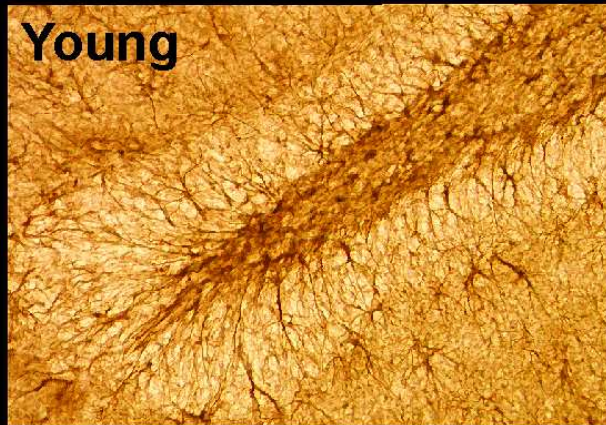


Strukturální změny astrocytů a extracelulární matrix v hipokampu potkana během stárnutí

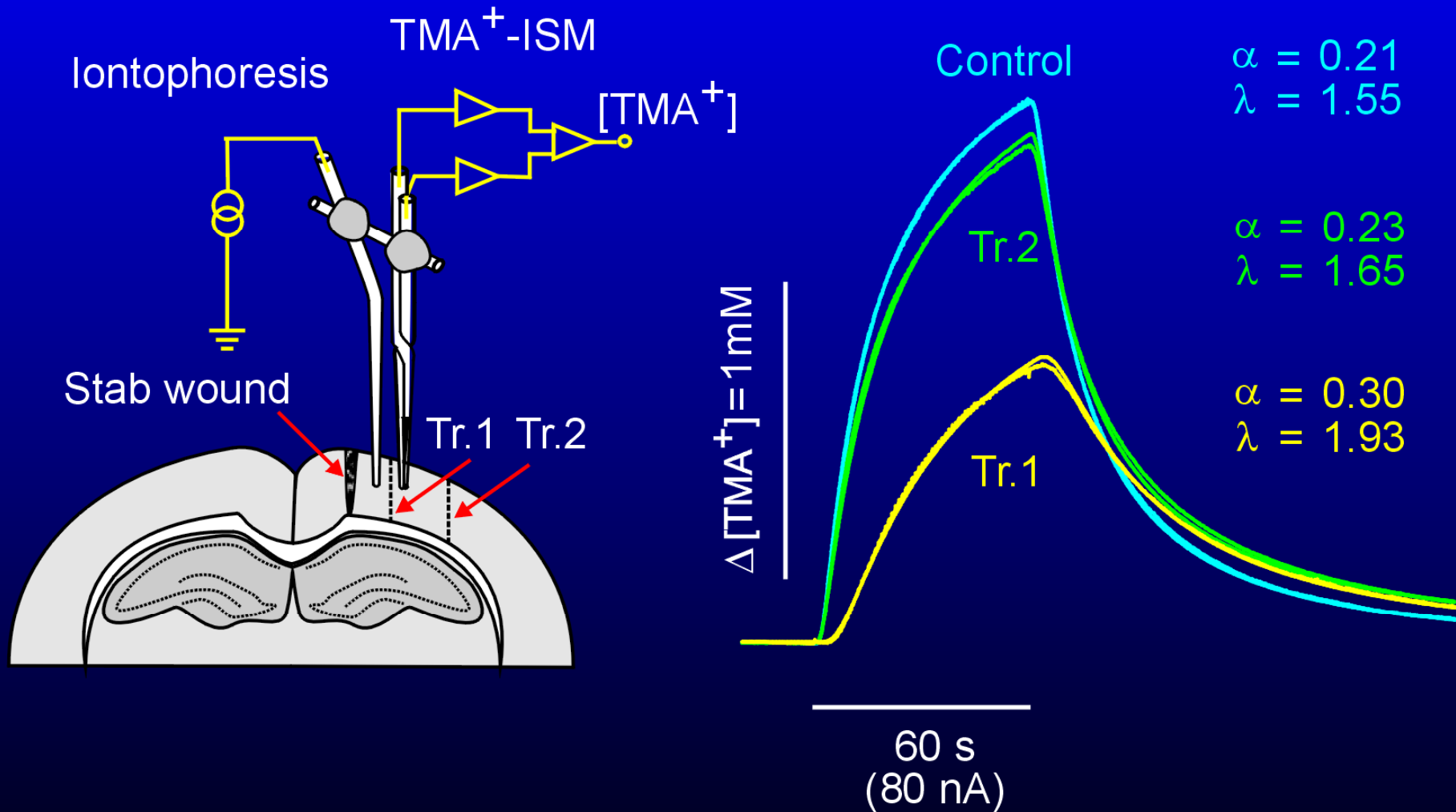
GFAP

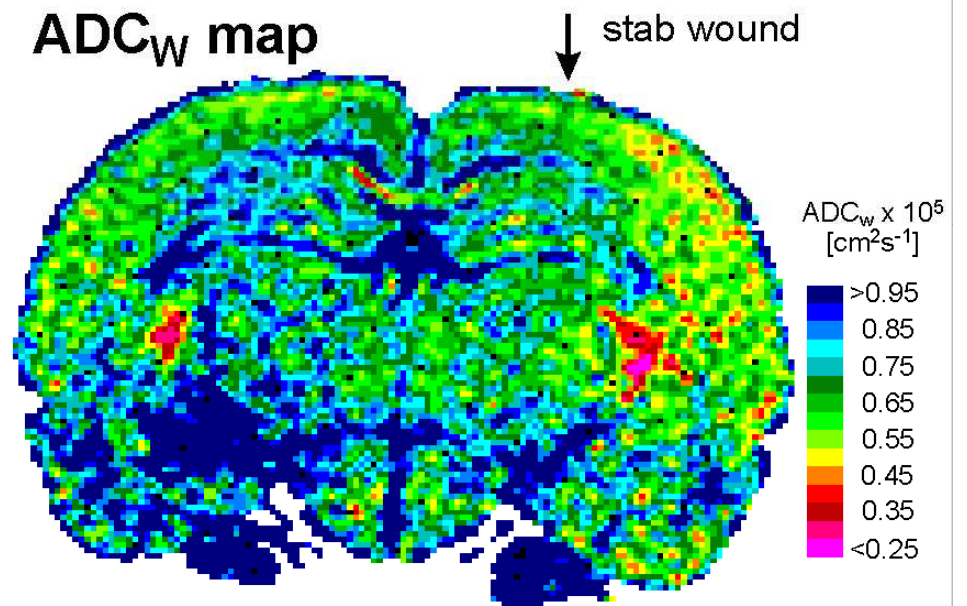
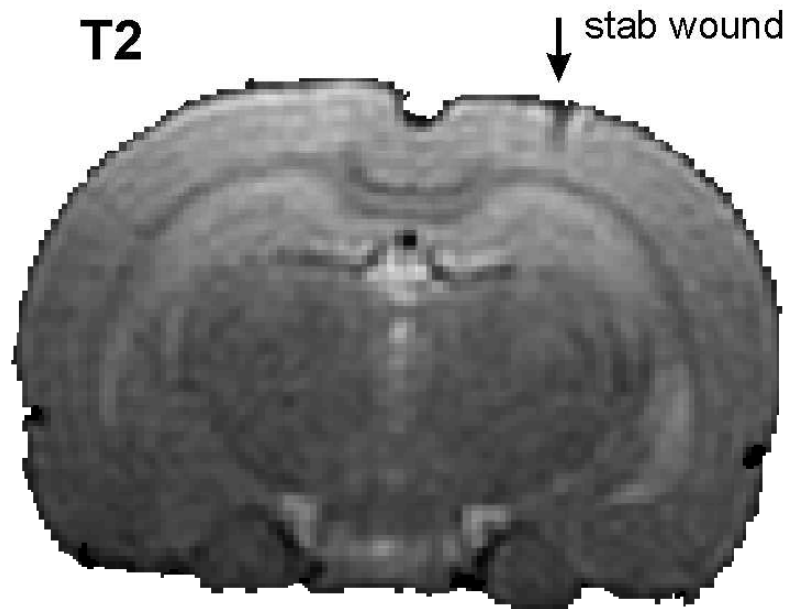
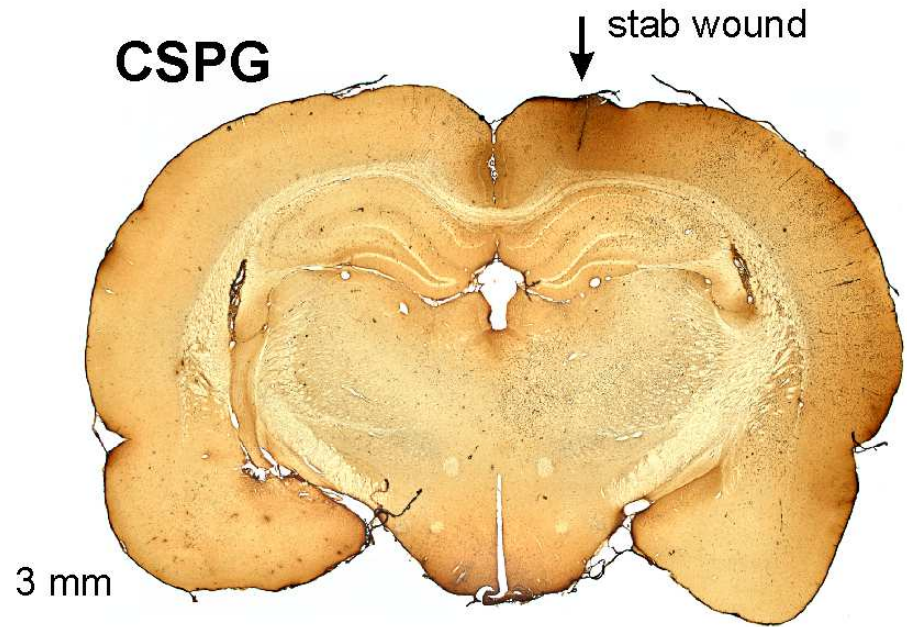
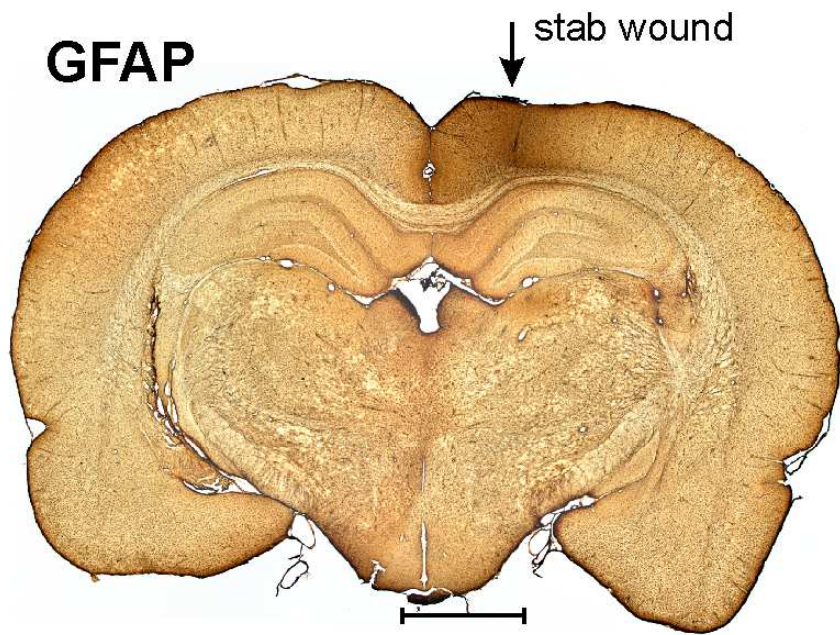
Fibronectin

CS PG



Experimentální poranění tkáně – „stab wound“





Extracelulární matrix

Kolageny

Glykoproteiny

Fibronektin, laminin, trombospondin, tenascin

Proteoglykany

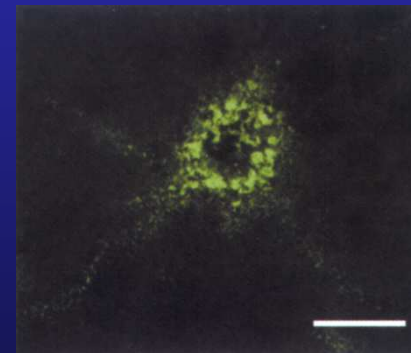
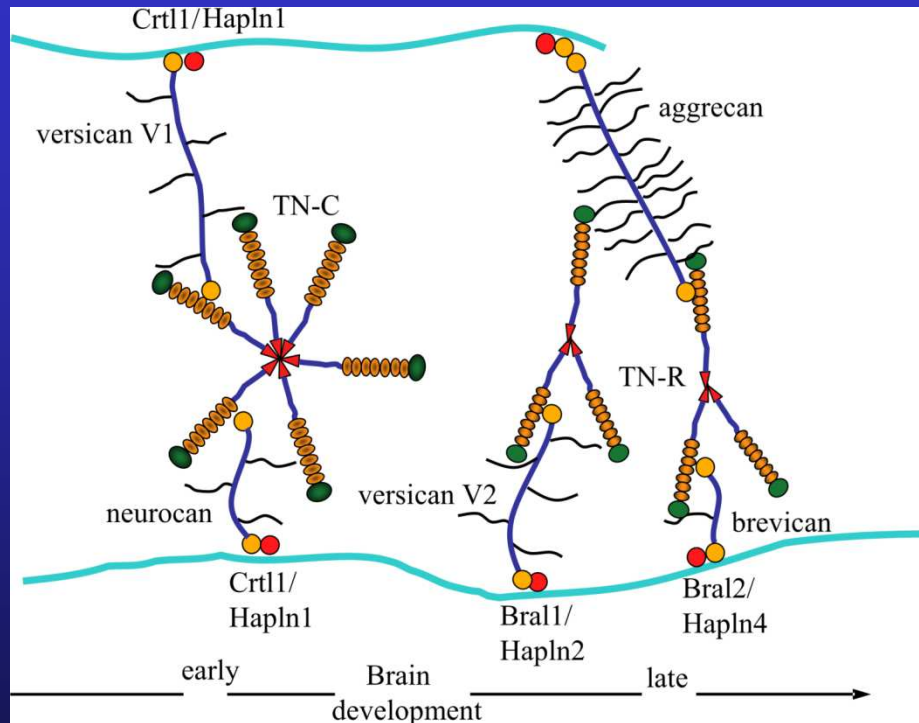
- vazba na hyauluronovou kyselinu

Chondroitinsulfát, heparansulfát, keratansulfát,
(lektikany: agrekan, versikan, brevikan, neurokan)

Adhezní molekuly a spojovací proteiny

NCAM, polysialová kyselina, Ctrl1, Bra11, LP3, Bra12

Hyaluronan-proteoglykanový komplex ECM

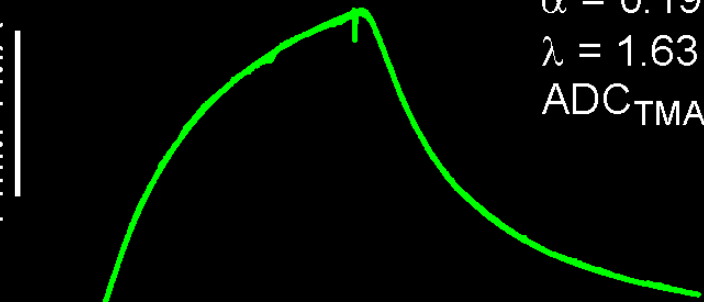


Oohashi T. et al., *J. Neurosci., Mol. Cell Neurosci.*, 2002

Dityatev, A., Schachner, M., *Nature Reviews /Neuroscience*, 2003

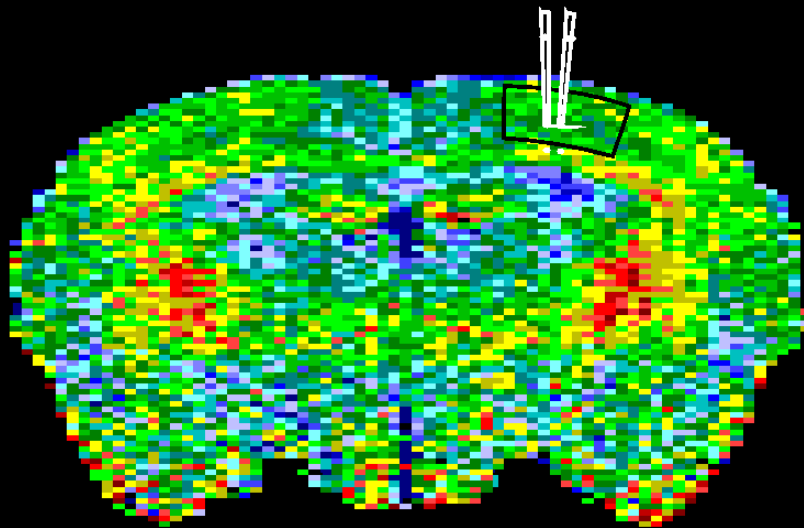
Tenascin R+/+

1 mM TMA⁺



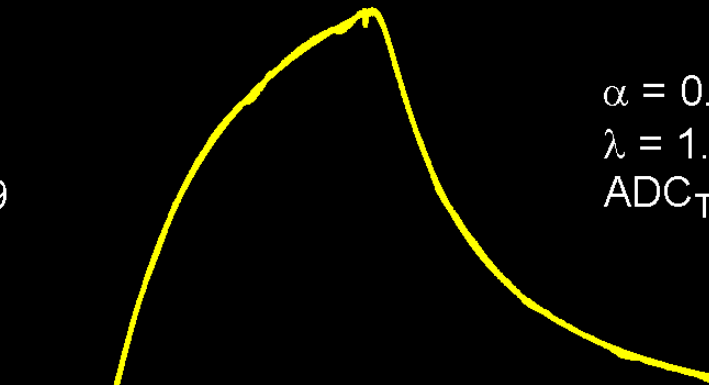
$\alpha = 0.19$
 $\lambda = 1.63$
 $ADC_{TMA} = 0.49$

40 s
180 nA



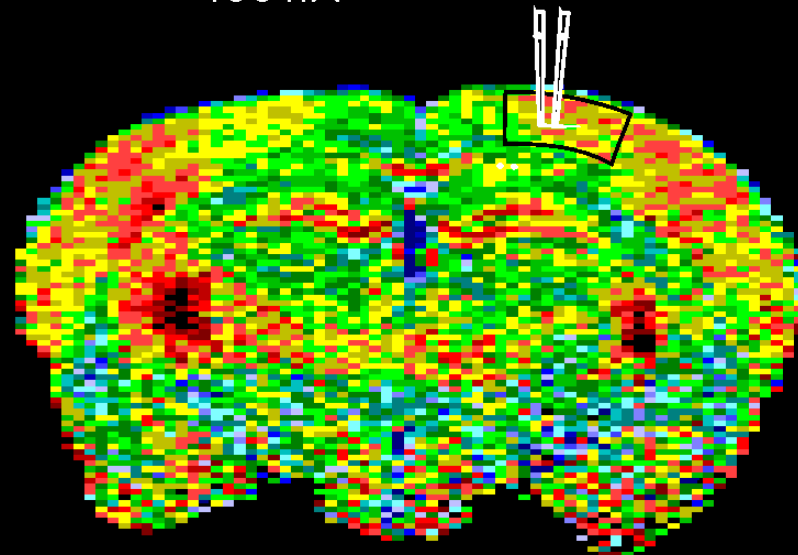
$ADC_W = 0.61$

Tenascin R-/-



$\alpha = 0.12$
 $\lambda = 1.53$
 $ADC_{TMA} = 0.56$

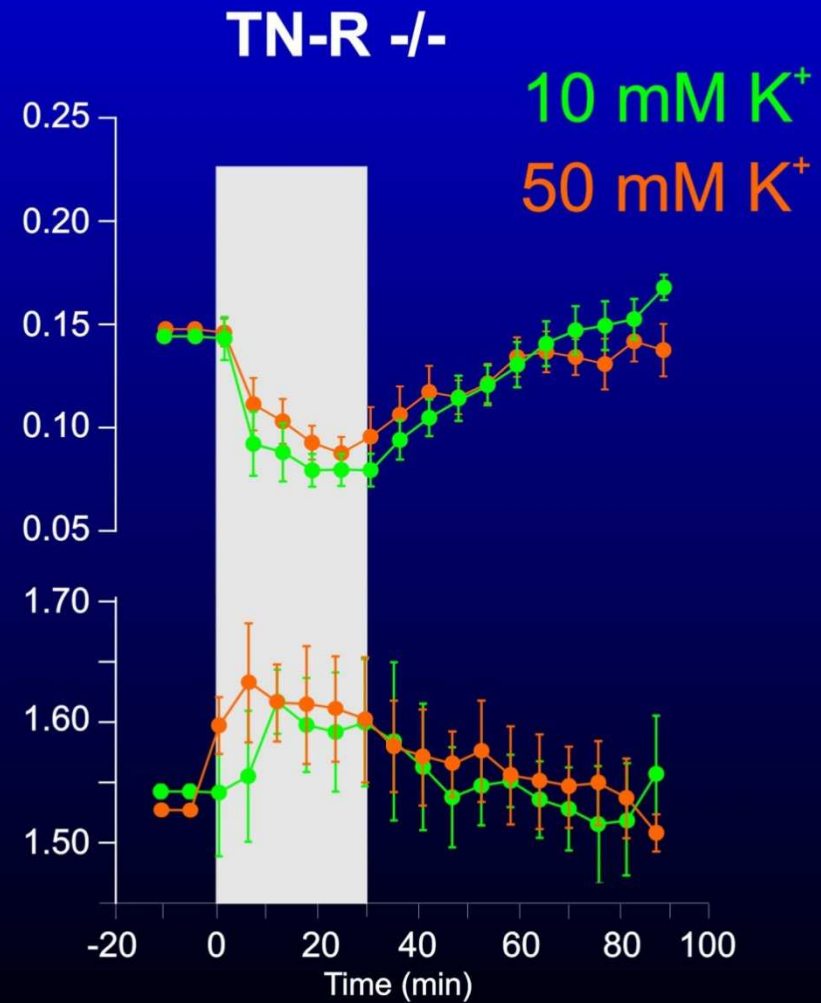
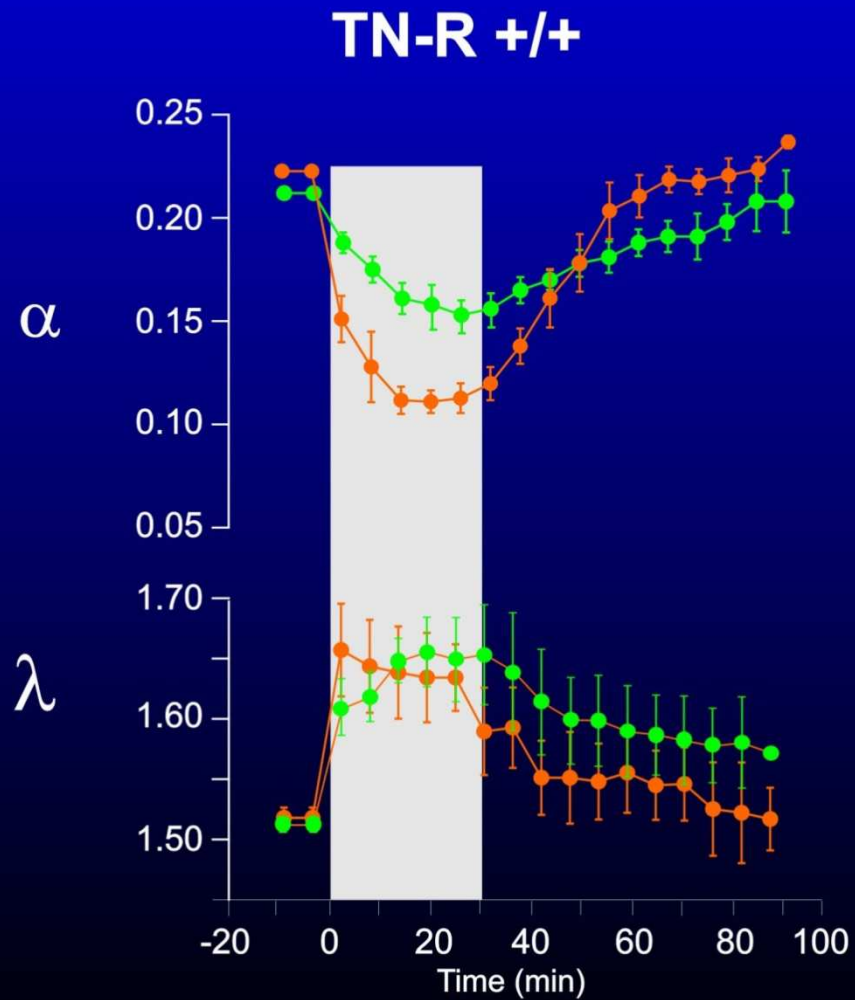
40 s
180 nA



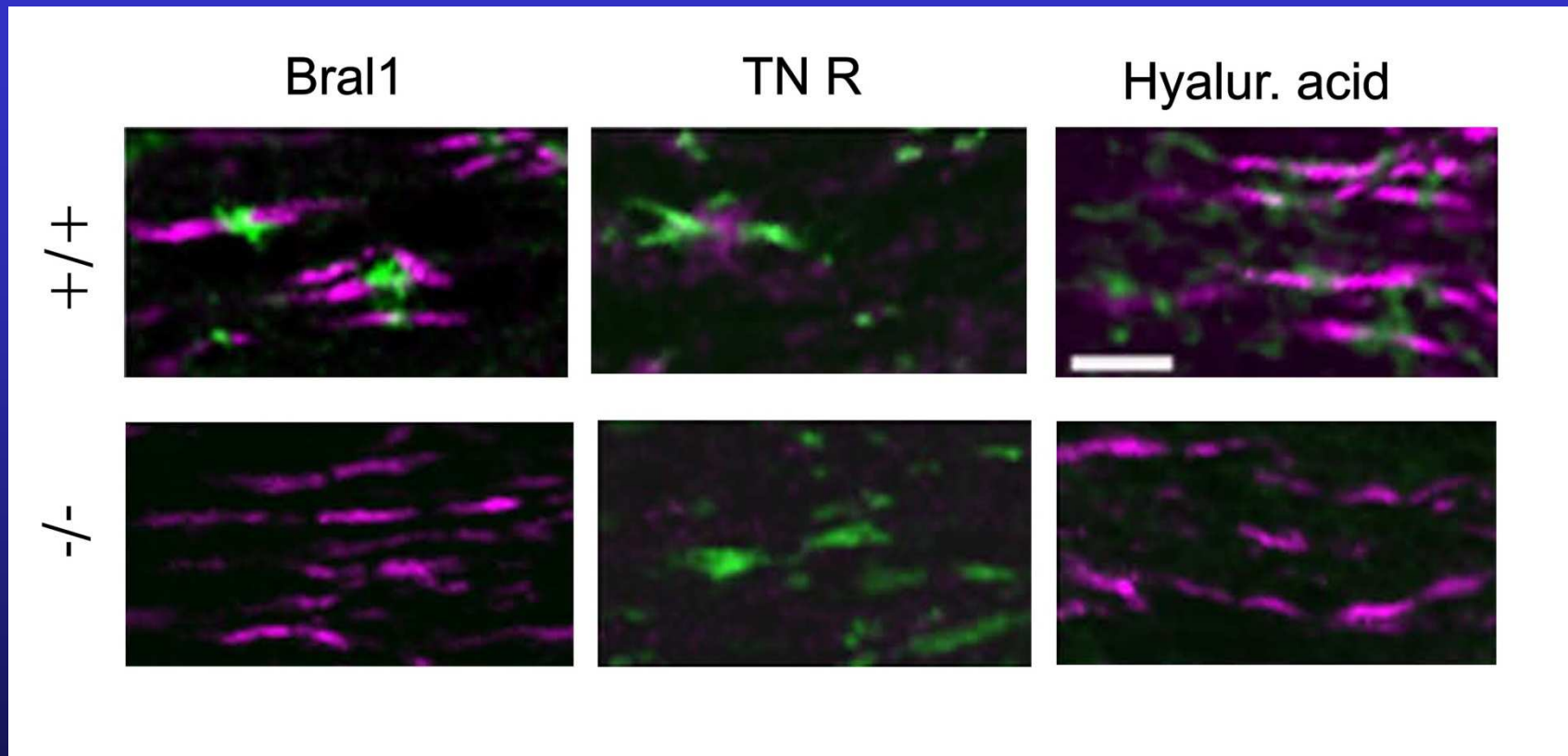
$ADC_W = 0.52$

>1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
<0.3
 $ADC_W \times 10^5 \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$

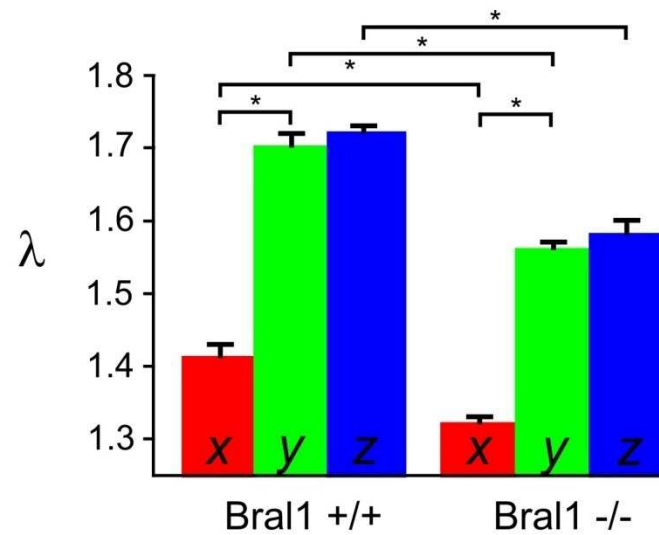
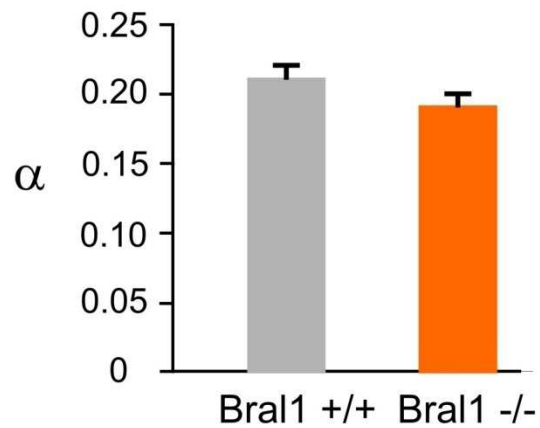
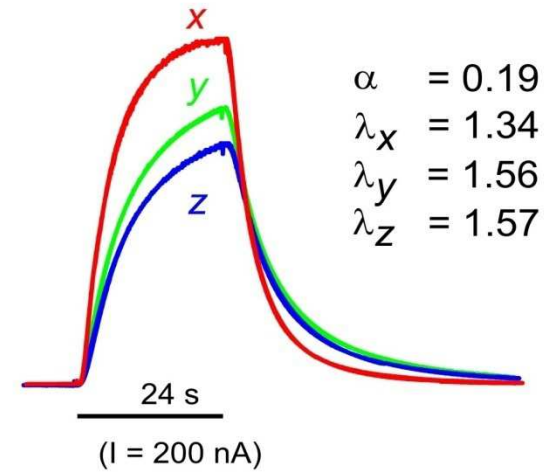
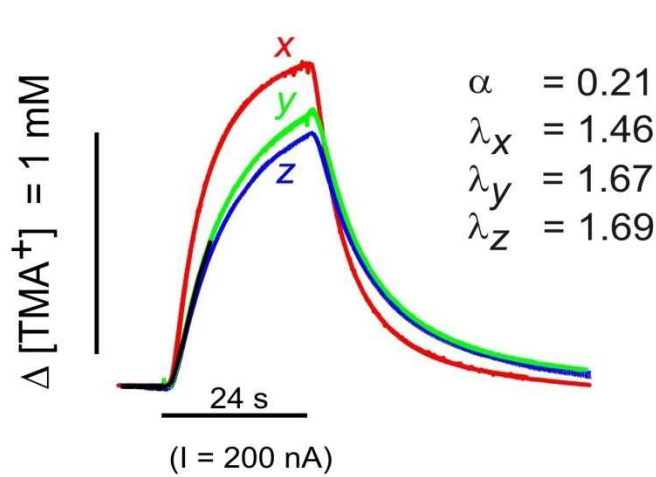
Vliv zvýšené koncentrace draslíku



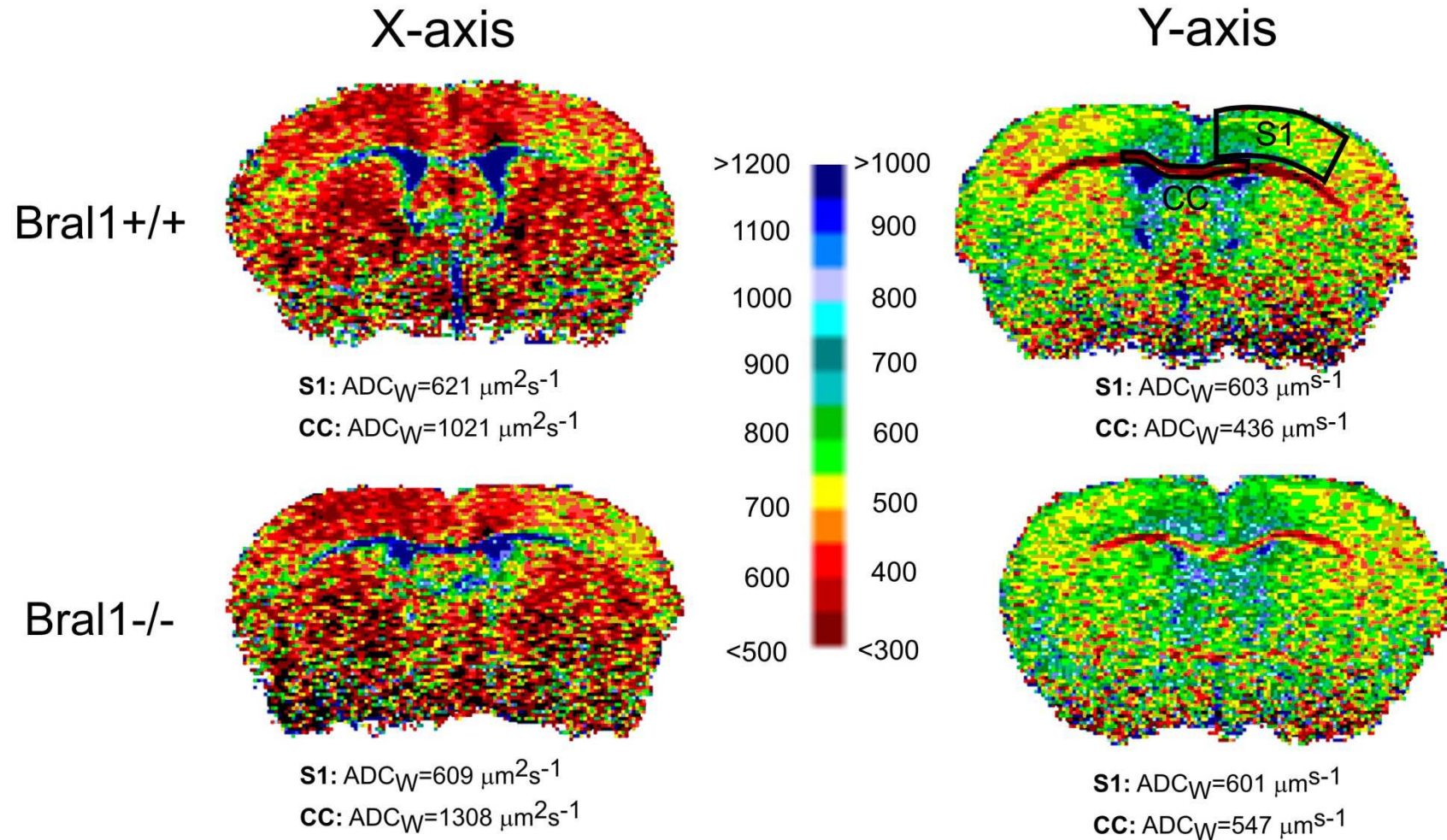
Bral1 stabilizuje komplexy ECM v Ranvierových zářezech



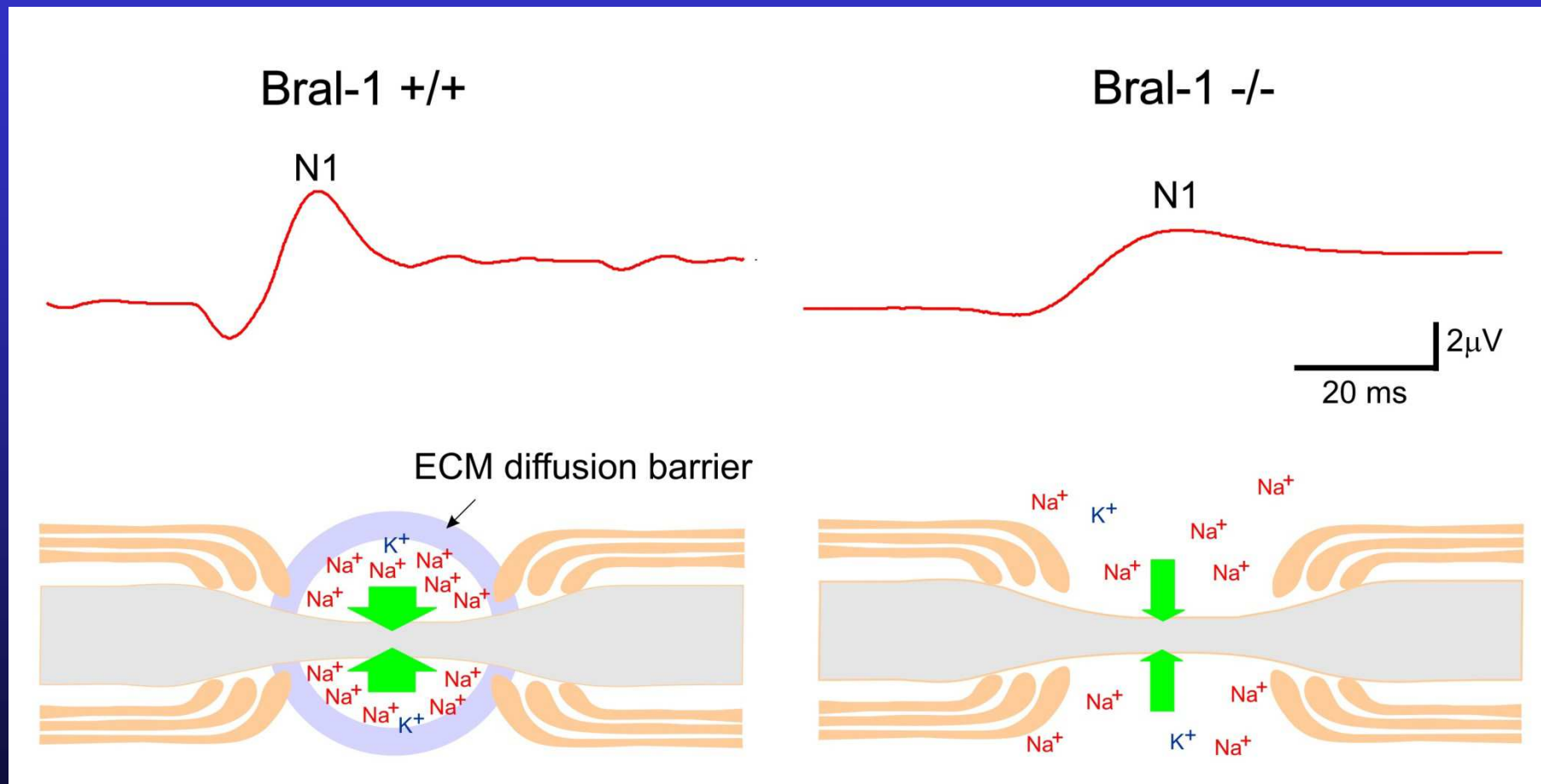
Dif. parametry v corpus callosum



Difúzně-vážená MR



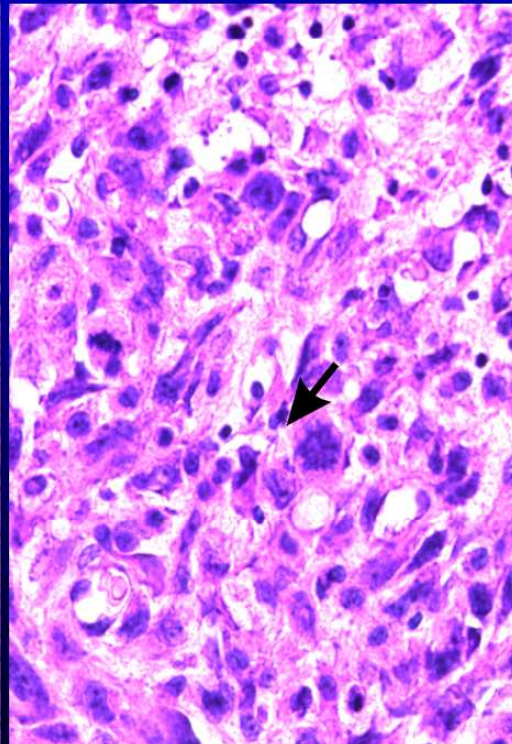
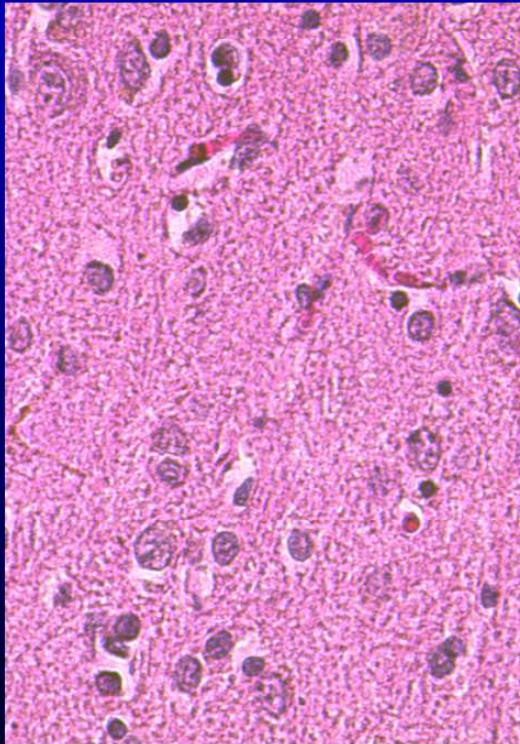
Zhoršená neuronální vodivost v Bral1 deficitním CC



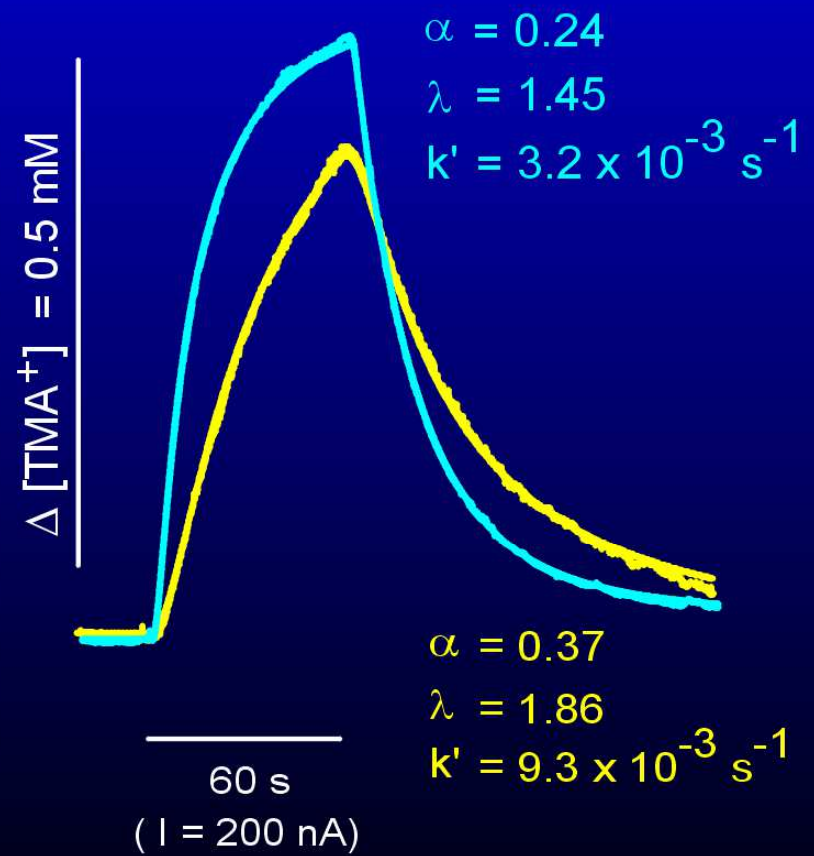
Lidská nádorová tkáň

Cortex

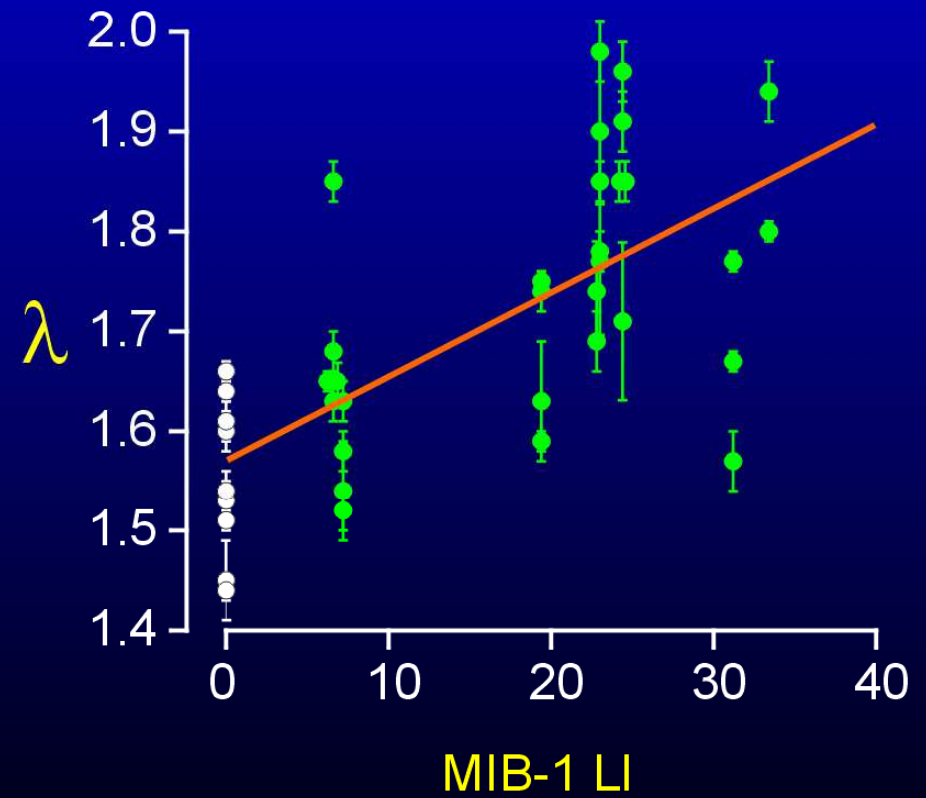
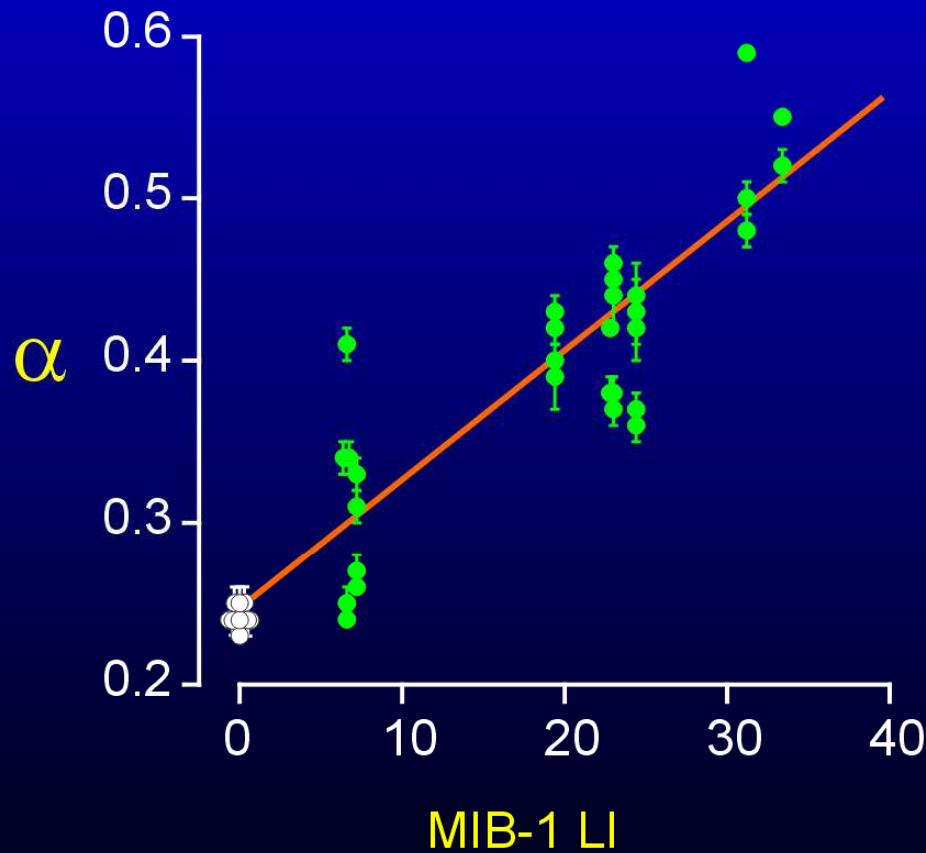
Glioblastoma



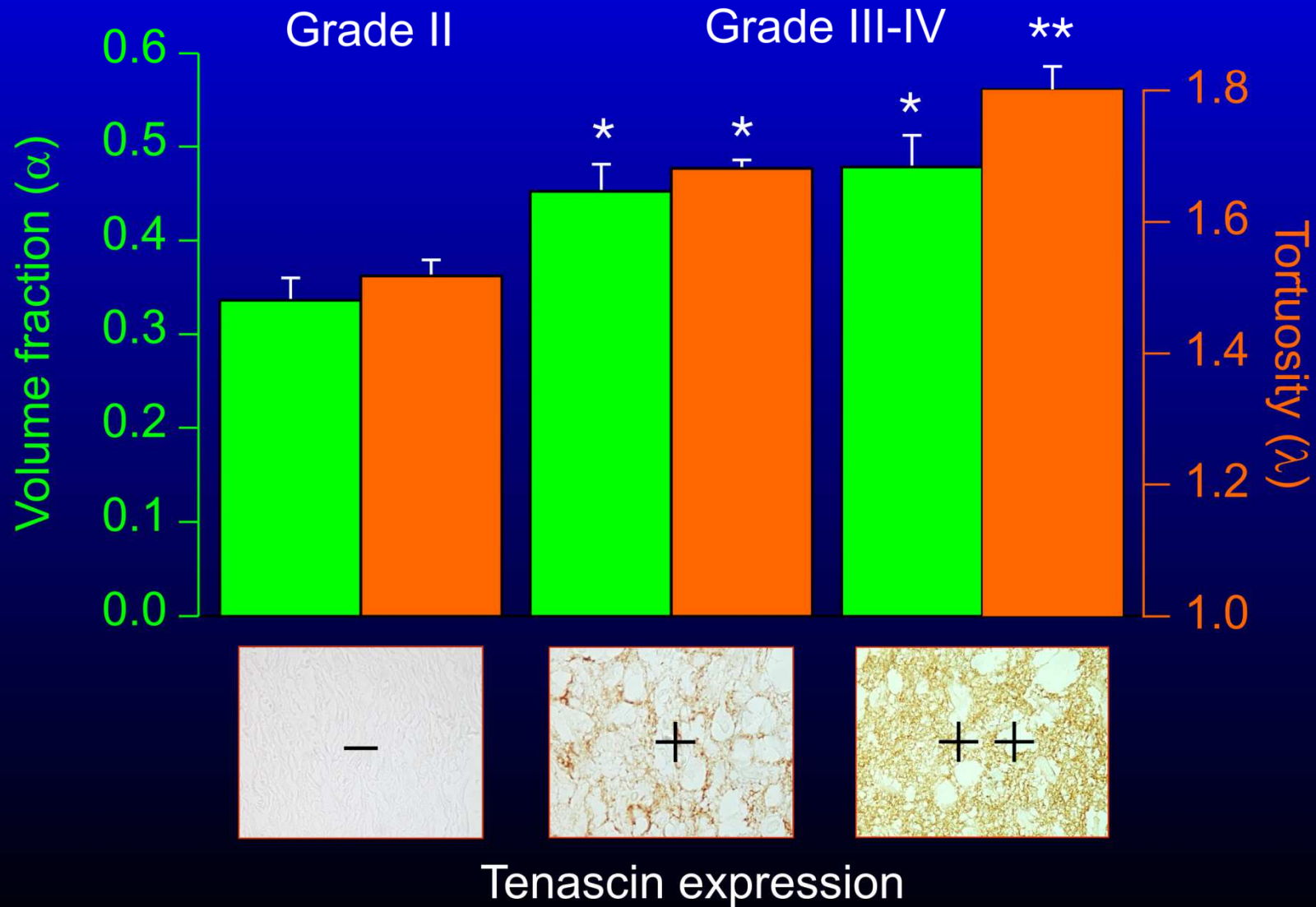
100 μm



Difúzní parametry ECP a stupeň malignity (WHO grade 2-4)



Difúzní parametry ECP a exprese ECM u astrocytomů



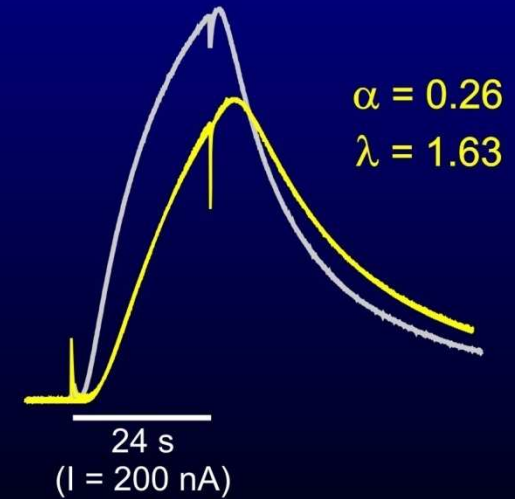
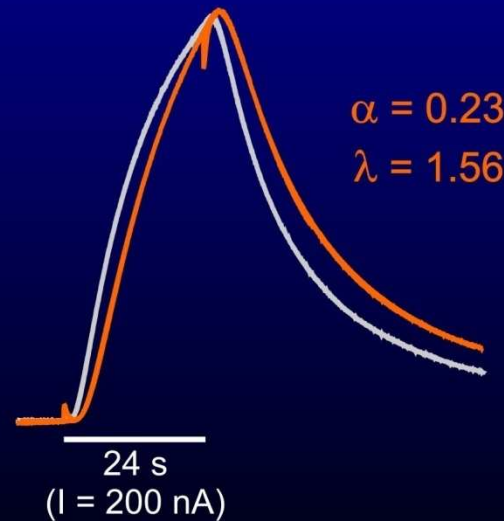
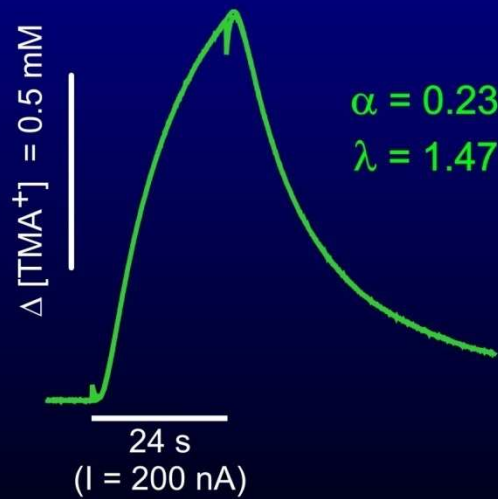
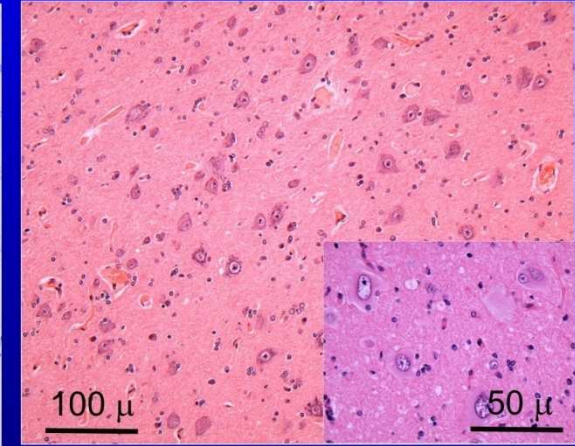
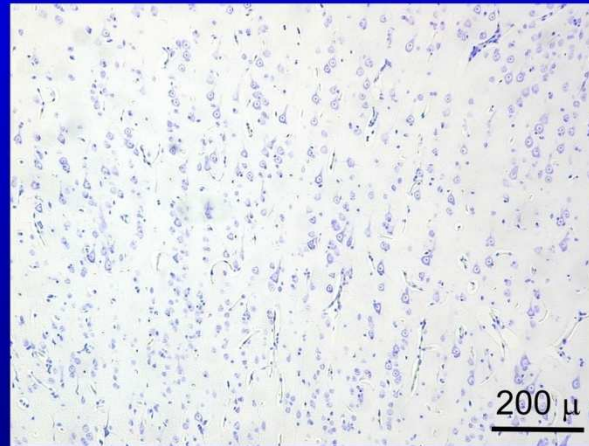
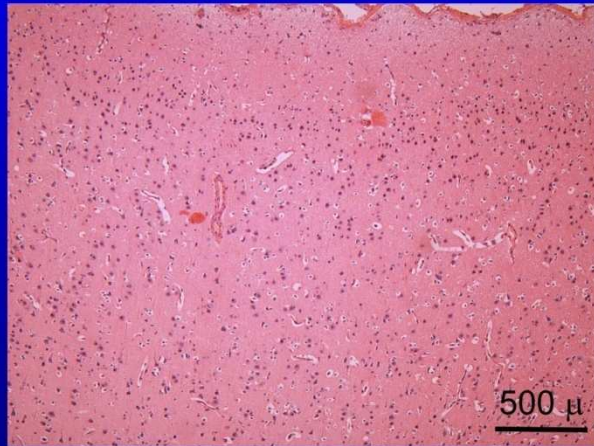
Difúzní parametry ECP v korových dyspláziích

Control

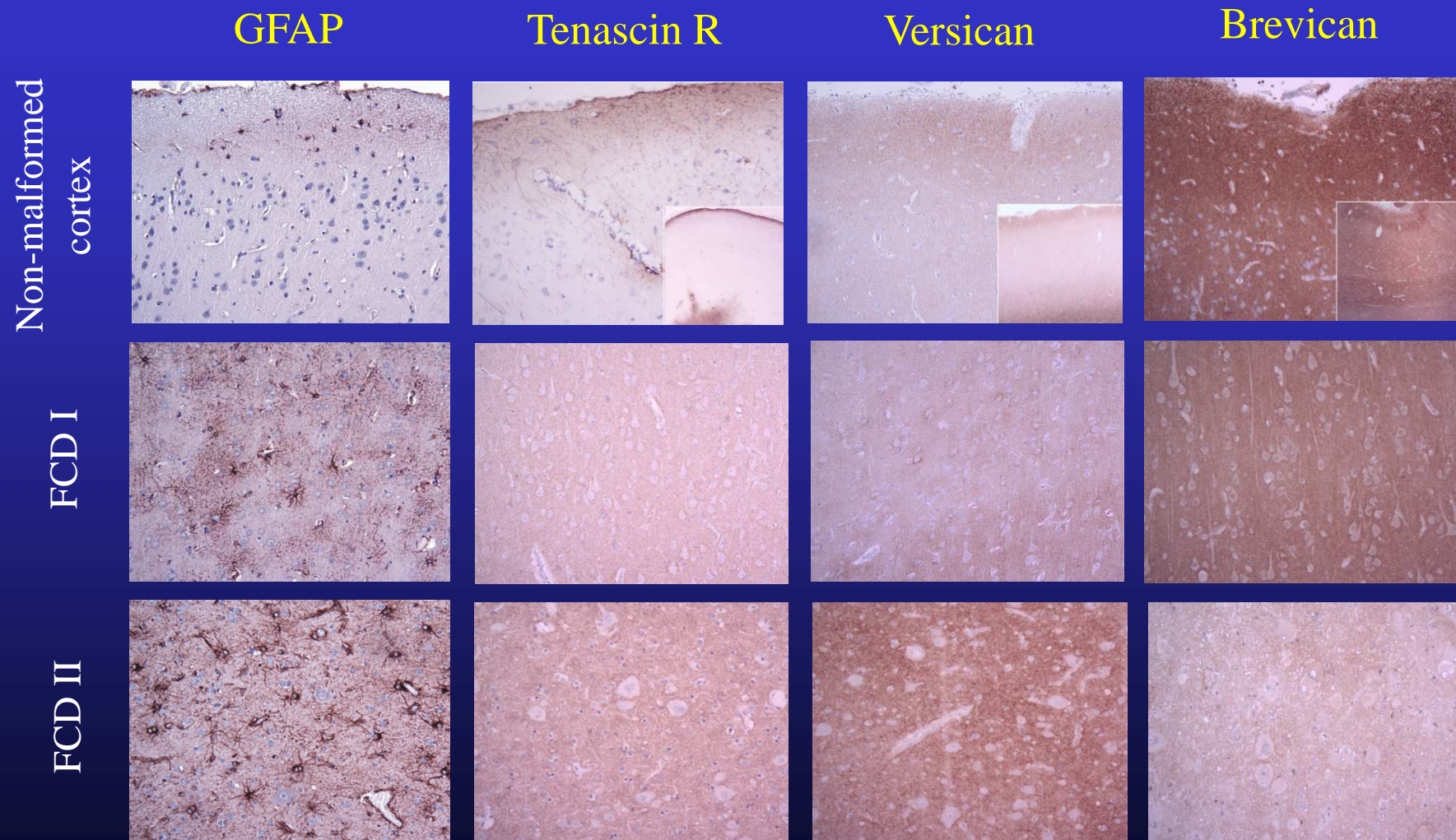
FCD I

FCD II

HE/CV



Změny glie a ECM v korových dyspláziích



Funkce ECM

- strukturální opora buněk
- udržování stálého objemu extracelulárního prostoru (funkce airbagu)
- vytváření perineurálních sítí – ukončení „kritického“ období ve vývoji – stop plasticitě
- funkce při vytváření synapsí – učení
- depozit iontů a růstových faktorů
- změny ECM během vývoje, stárnutí, astrogliózy a různých patologických stavů (tumory, epileptická tkáň, AD)

ZÁVĚRY I

Difúze neuroaktivních látek je základem nesynaptického „objemového“ přenosu. Difúzi v ECP za fyziologických i patologických stavů ovlivňují strukturální změny tkáně:

- Zúžení mezibuněčných štěrbin při zvětšení buněčného objemu (akutní změny)
- Změny orientace, počtu a tloušťky buněčných výběžků (plastické změny)
- Hypertrofie a proliferace gliálních výběžků vytvářejících difúzní bariéry (glióza)
- Kvalitativní a kvantitativní změny makromolekul extracelulární matrix (chronické změny)

ZÁVĚRY II

Změny difúzních bariér mohou ovlivňovat:

- Nesynaptický a zprostředkovaně i synaptický přenos
- Vnímavost tkáně k epileptogenním a toxickým vlivům
- Difúzi trofických faktorů a léků
- Produkci hormonů
- Migraci nádorových buněk
- Rychlost přenosu signálu po axonech

