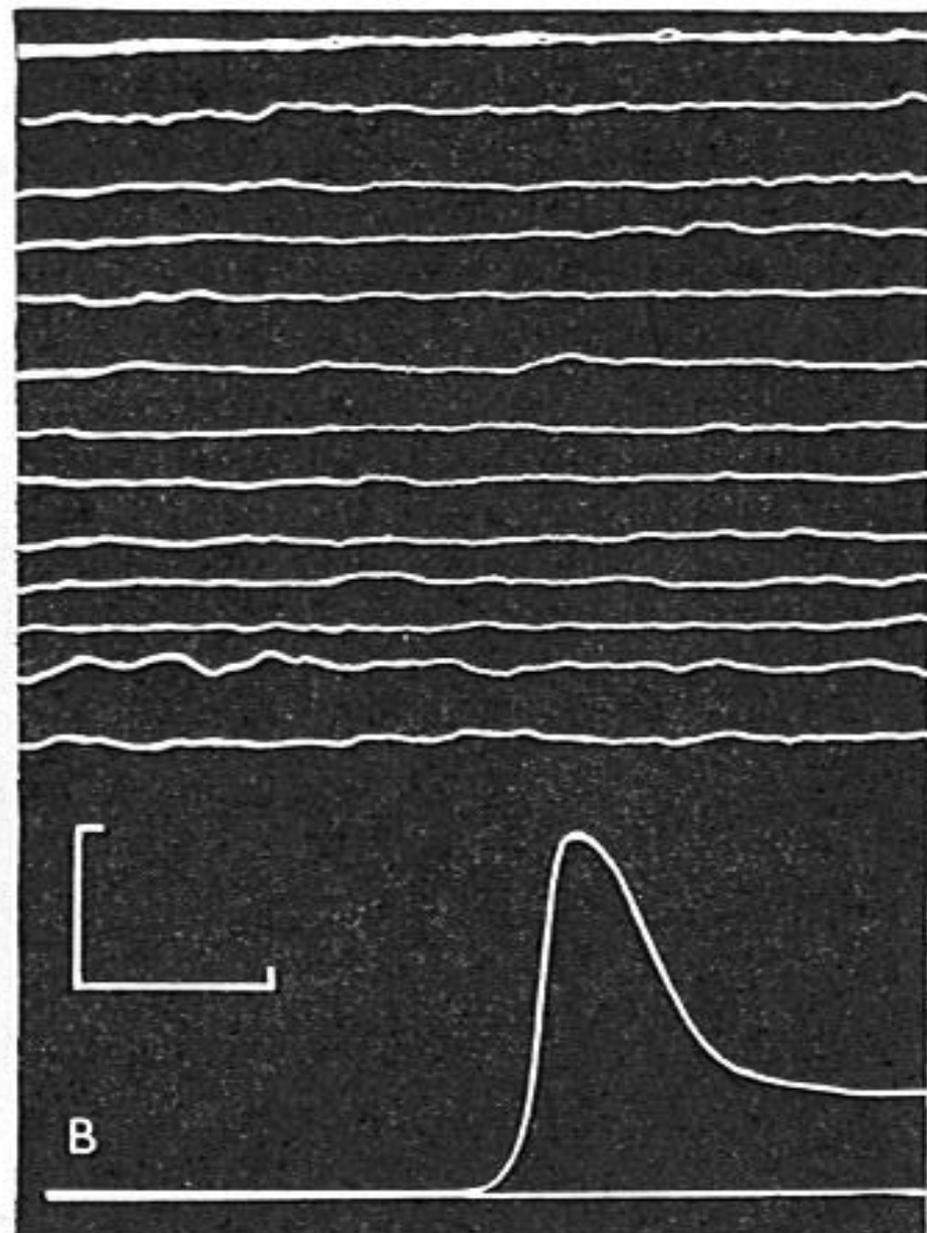
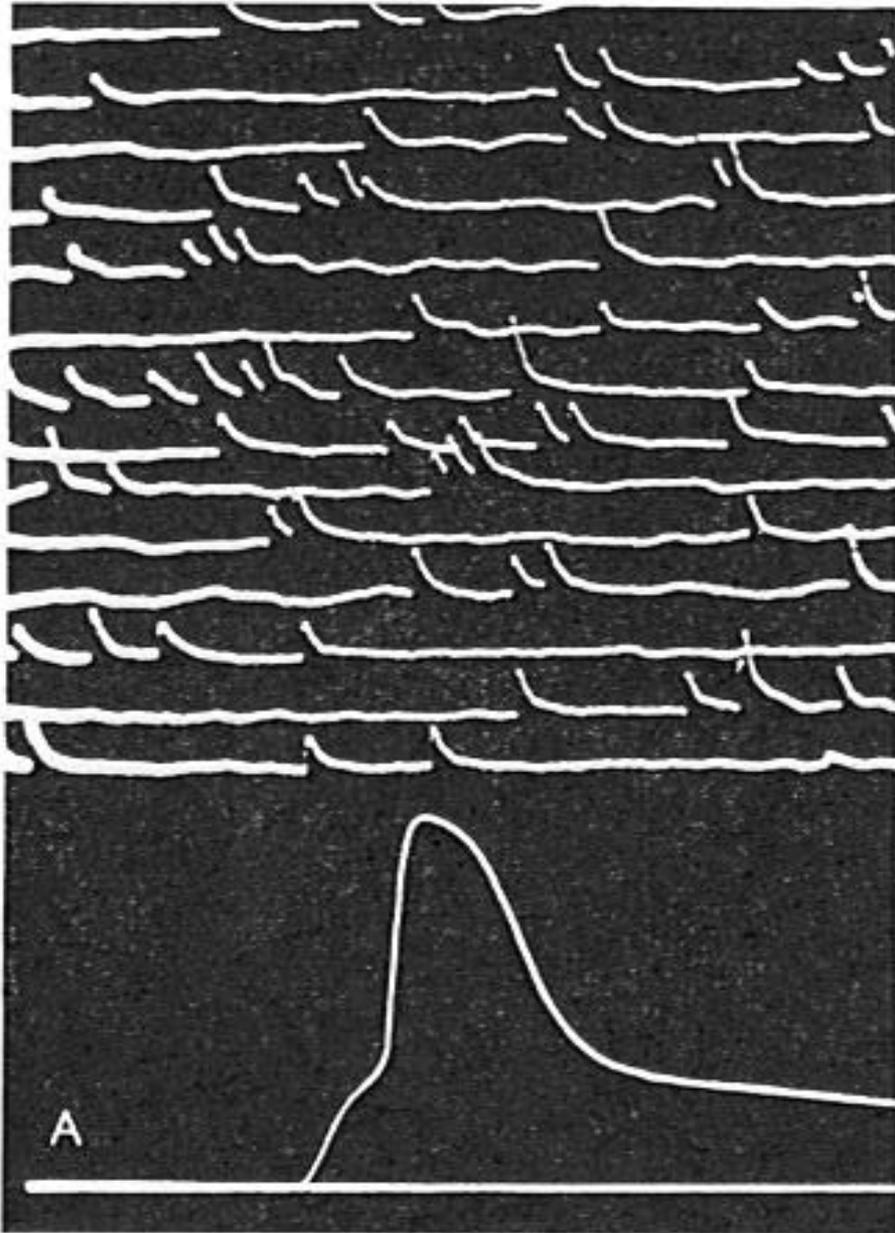
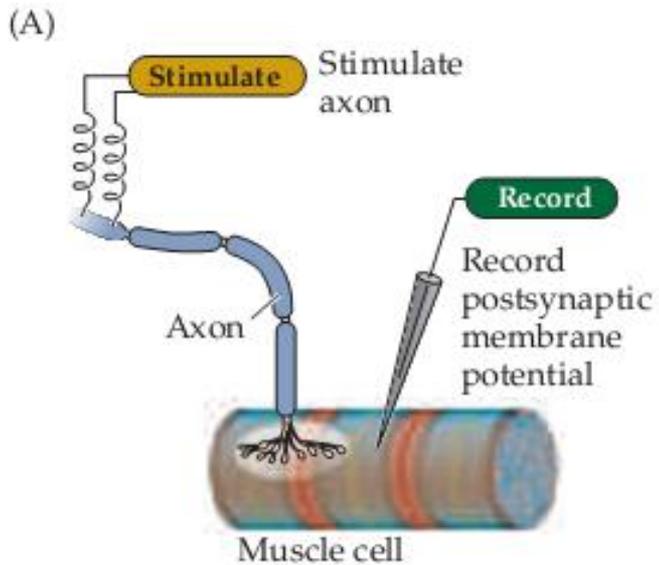




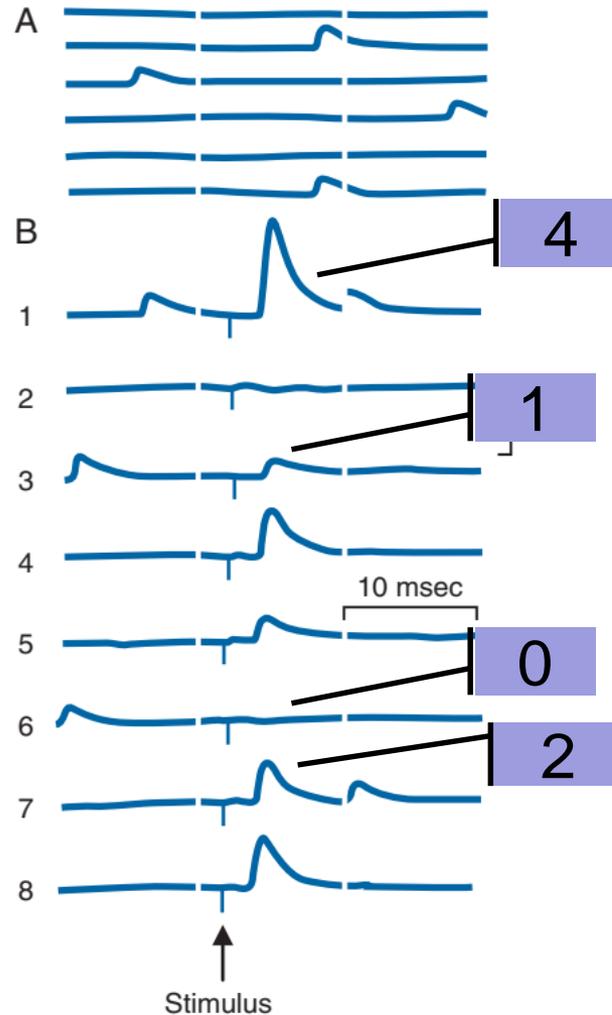
*A natureza probabilística da neurotransmissão*

# Identificação dos potenciais miniaturas da placa motora



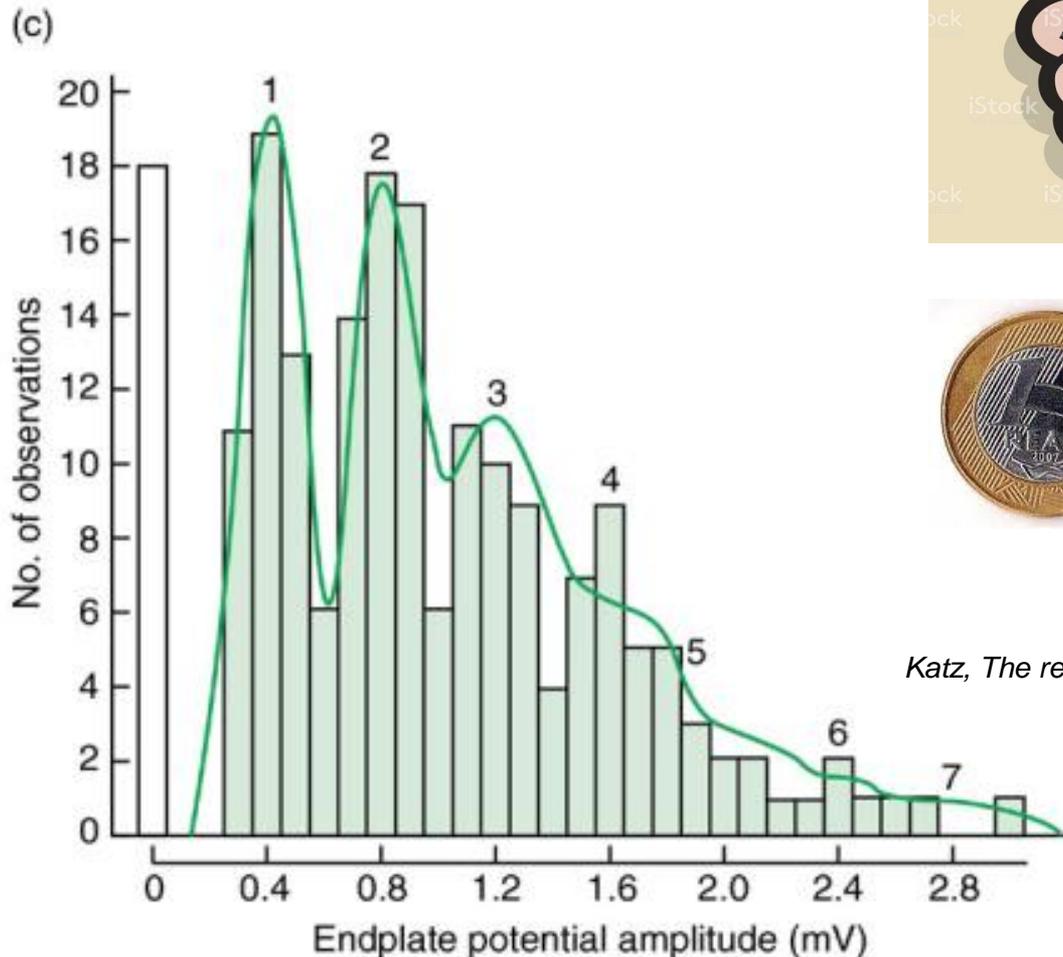


***Estímulo em 0,2  $Ca^{++}$  e 3  $Mg^{++}$***



# A natureza probabilística da neurotransmissão

A distribuição de amplitudes segue uma distribuição binomial (probabilística)



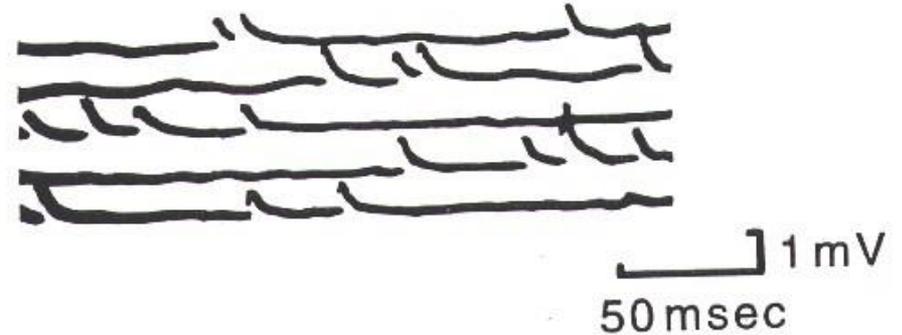
*Katz, The release of neural transmitter substances, 1969.*

# A natureza probabilística da neurotransmissão

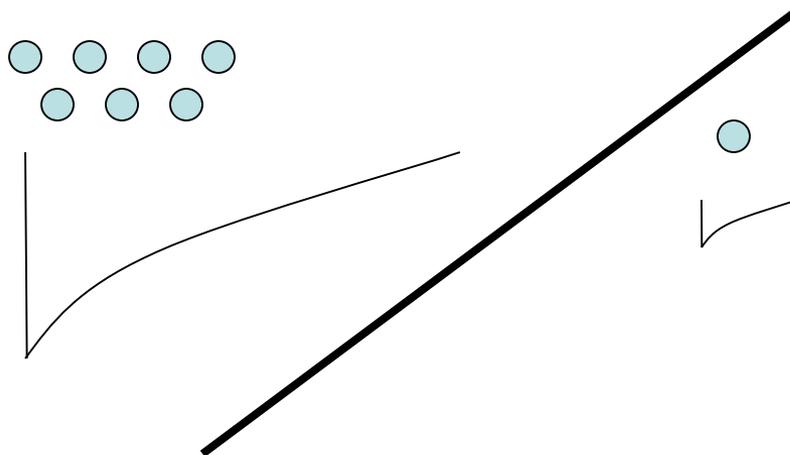
## neurotransmissão quantal (Del Castillo & Katz, 1954)

eventos miniatura = eventos sinápticos espontâneos

Eventos miniatura são eventos espontâneos que representam a liberação do conteúdo de uma vesícula = *quanta*



Um evento pós-sináptico é a soma de  $n$  eventos miniaturas ( $q$ )

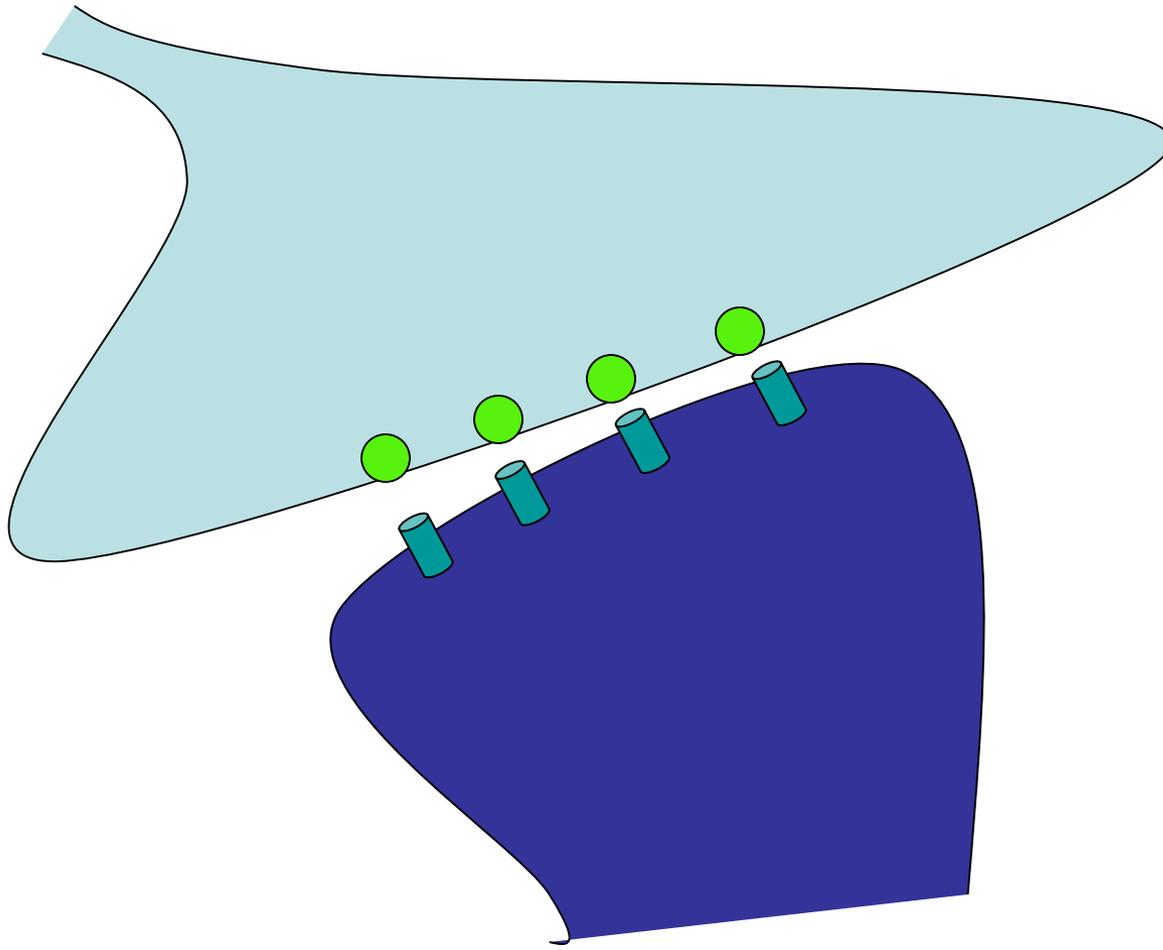


# A exocitose é um fenômeno probabilístico

Cada vesícula tem uma Probabilidade de Liberação ( $P_r$ ) intrínica

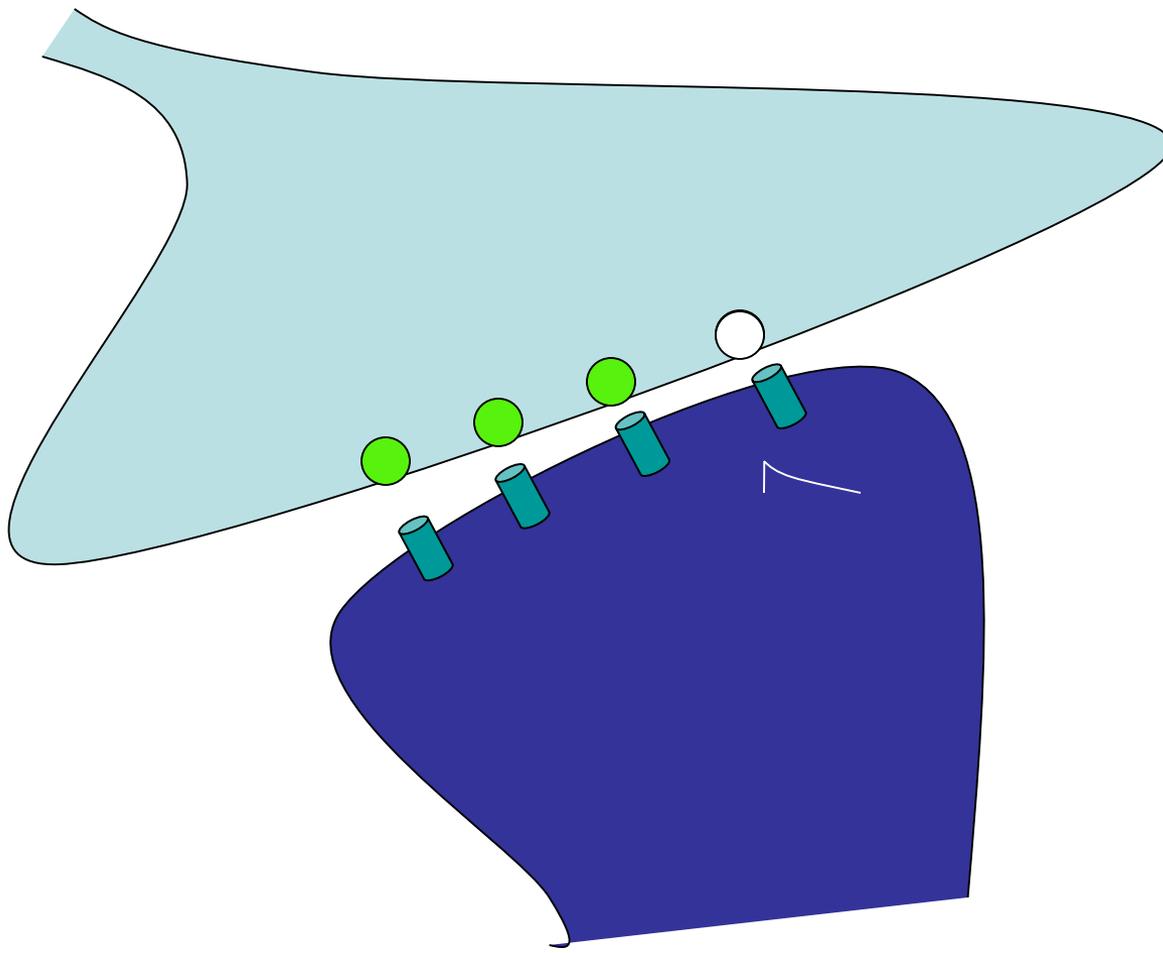
-A  $P_r$  depende do estado fisiológico da sinapse.

-A  $P_r$  de cada vesícula independe da outra



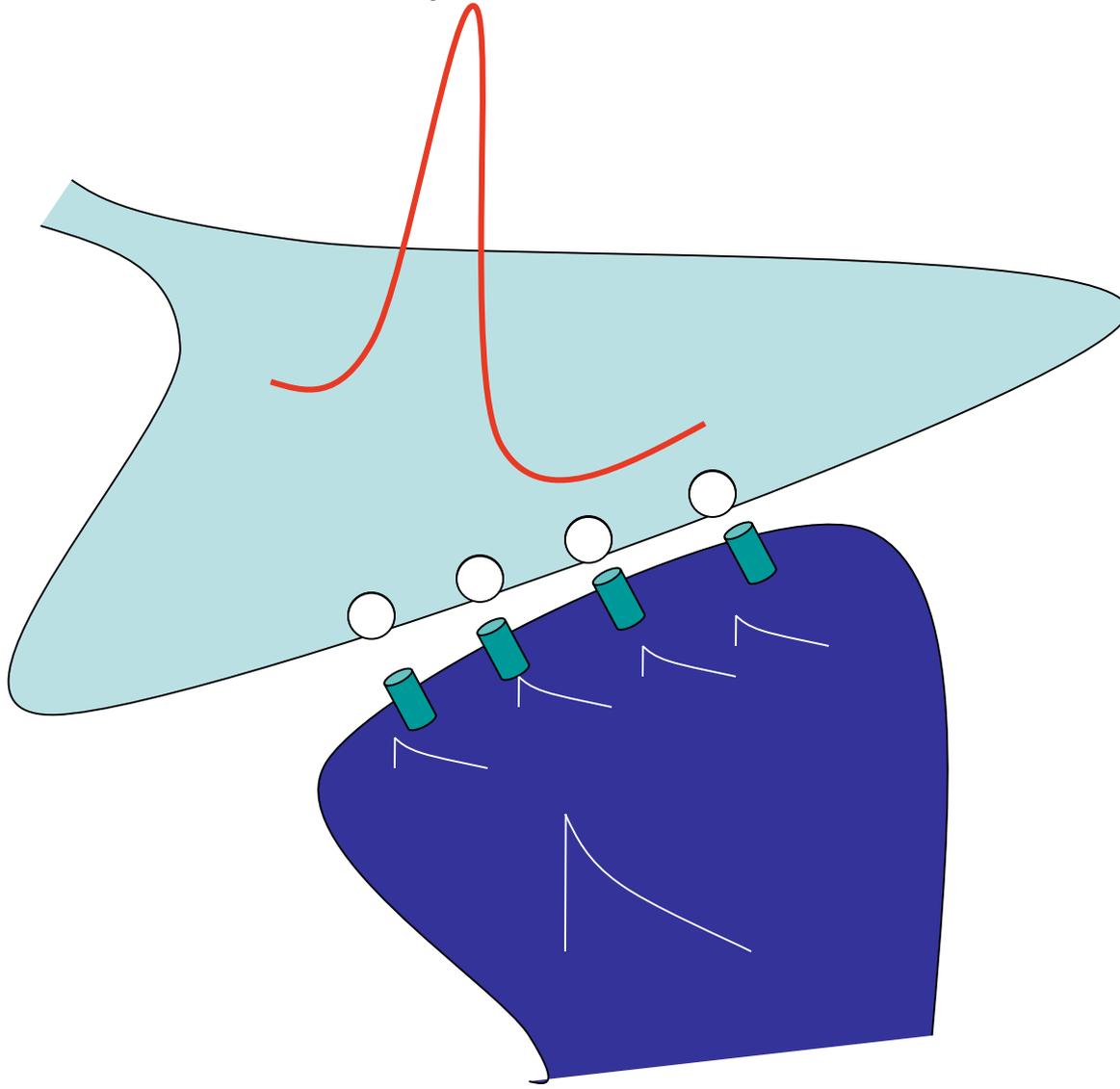
# REPOUSO

*Pr* muito baixa = excitose ocorre raramente (minis)



# POTENCIAL DE AÇÃO

*Pr* aumentada = excitação provavelmente ocorrerá



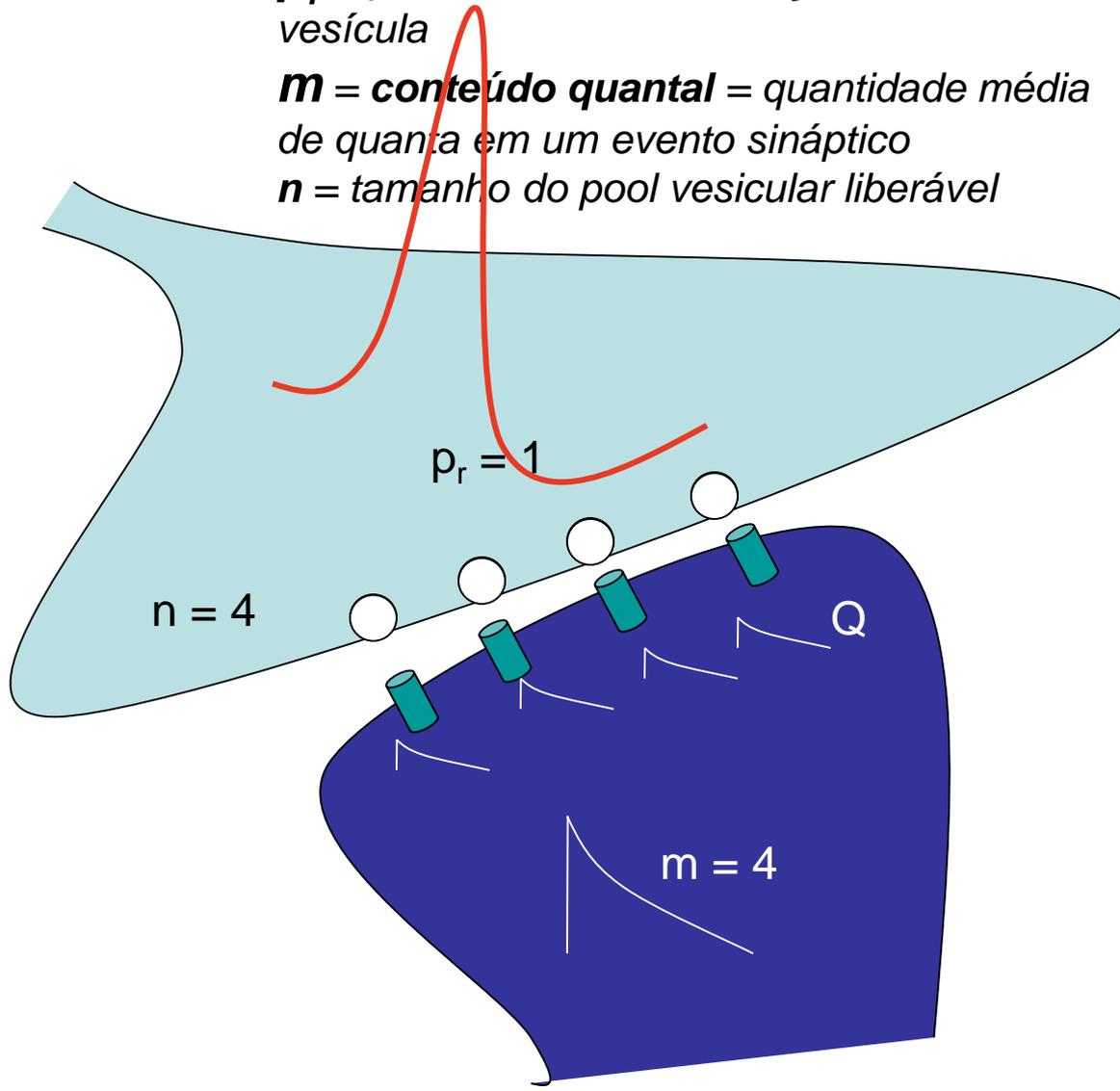
# Parâmetros quantais

**Q** = **tamanho quantal** = amplitude média dos eventos miniatura = quanta

**p<sub>r</sub>** = probabilidade de liberação de uma vesícula

**m** = **conteúdo quantal** = quantidade média de quanta em um evento sináptico

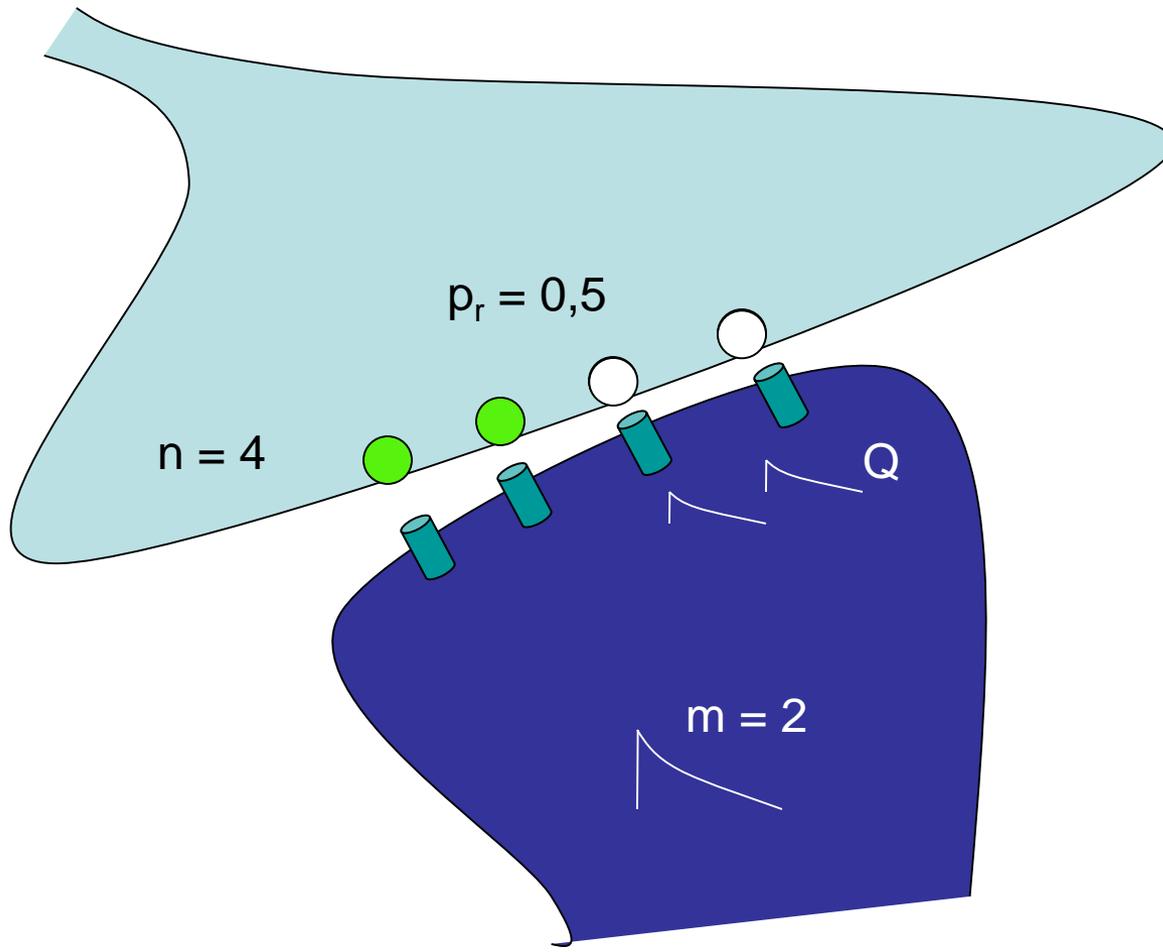
**n** = tamanho do pool vesicular liberável



# Parâmetros quantais

$$m = np_r$$

$m$  = amplitude média do evento /  $Q$  (assumindo  $Q$  constante entre as zonas ativas)

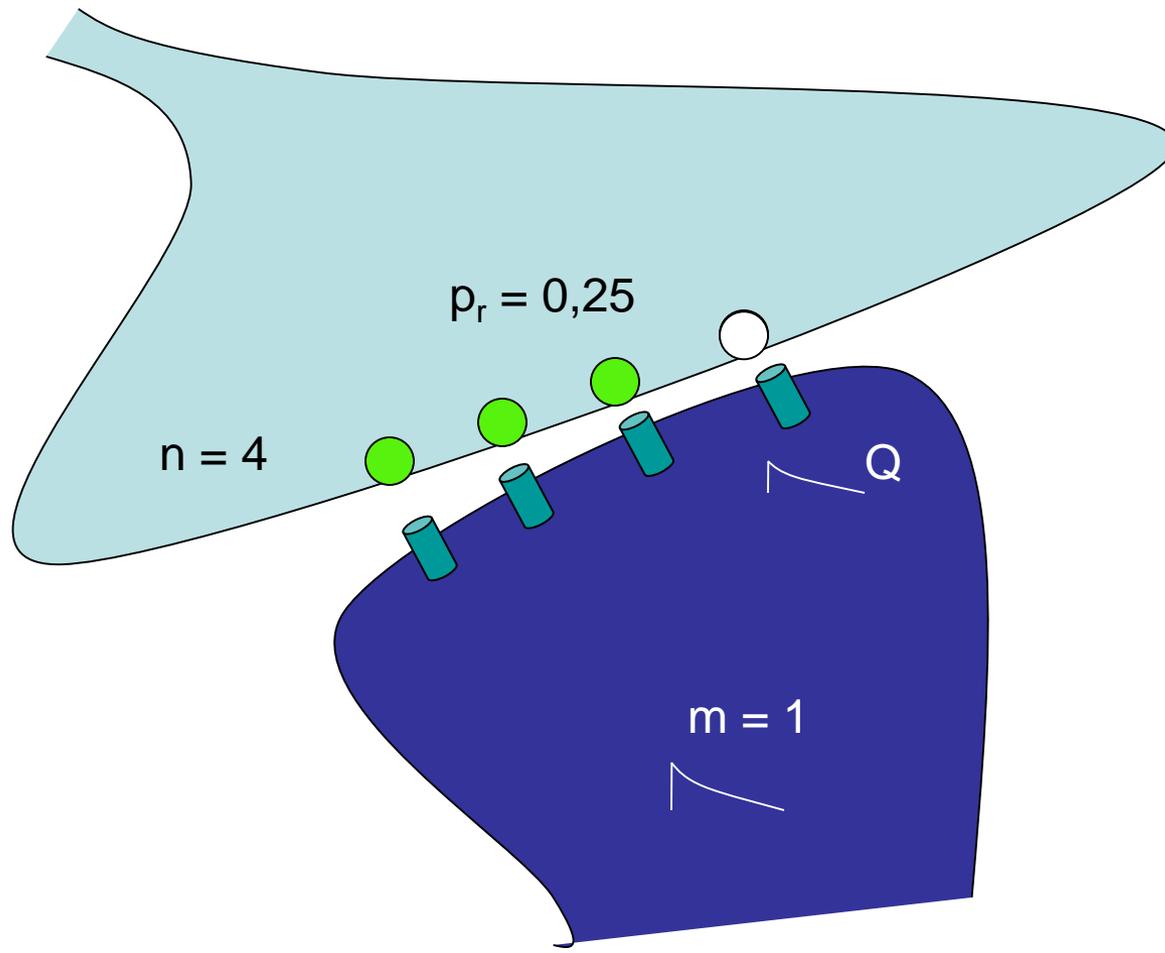


# Parâmetros quantais

$$m = np_r$$

$m$  = amplitude média do evento /  $Q$

(assumindo  $Q$  constante entre as zonas ativas)

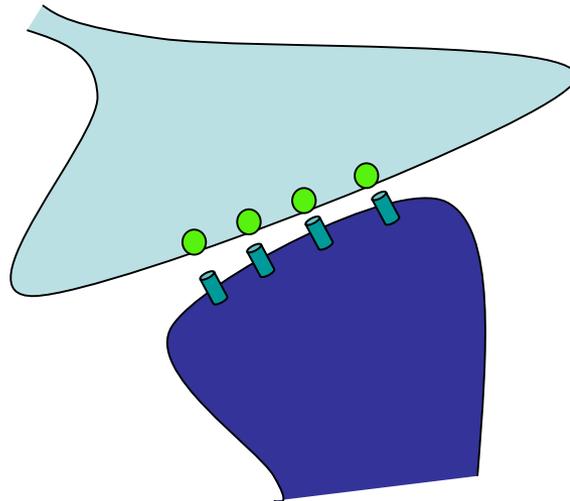


Calculando a probabilidade de obtermos 0,1,2,...,x quanta

**distribuição**  
**binomial**

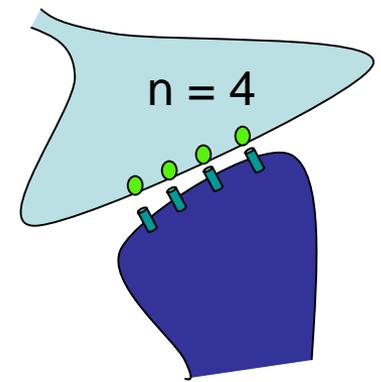
$$p(x) = \frac{n!}{(n-x)!x!} p_r^x (1-p_r)^{n-x}$$

- $p_r$  constante durante a medida.
- Apenas 2 possibilidades (falha ou sucesso).
- Um número fixo de  $n$ .
- Independência entre as  $p_r$  de cada vesícula

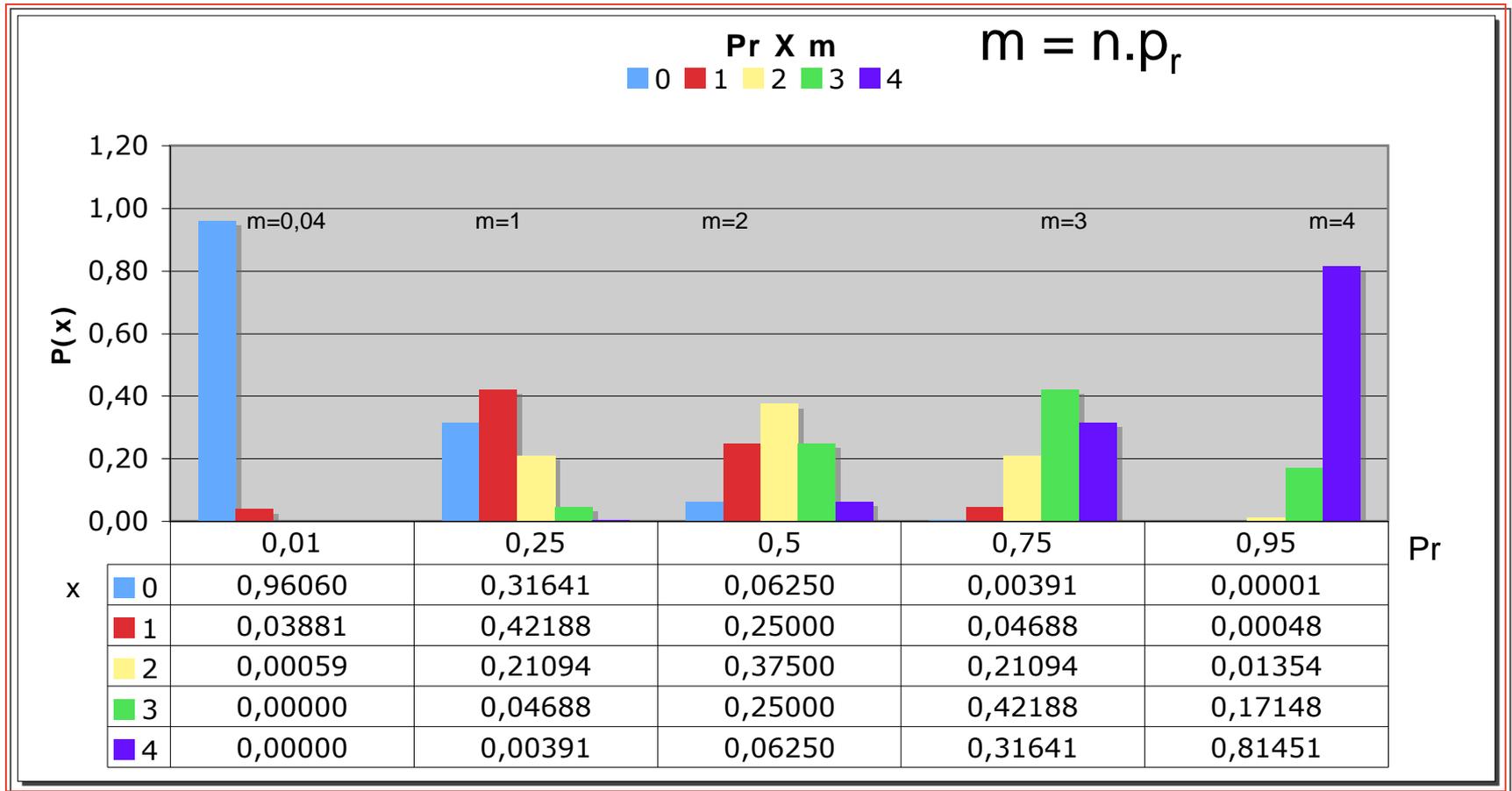


# distribuição binomial

$x = 0$  (falha), 1, 2, 3, 4



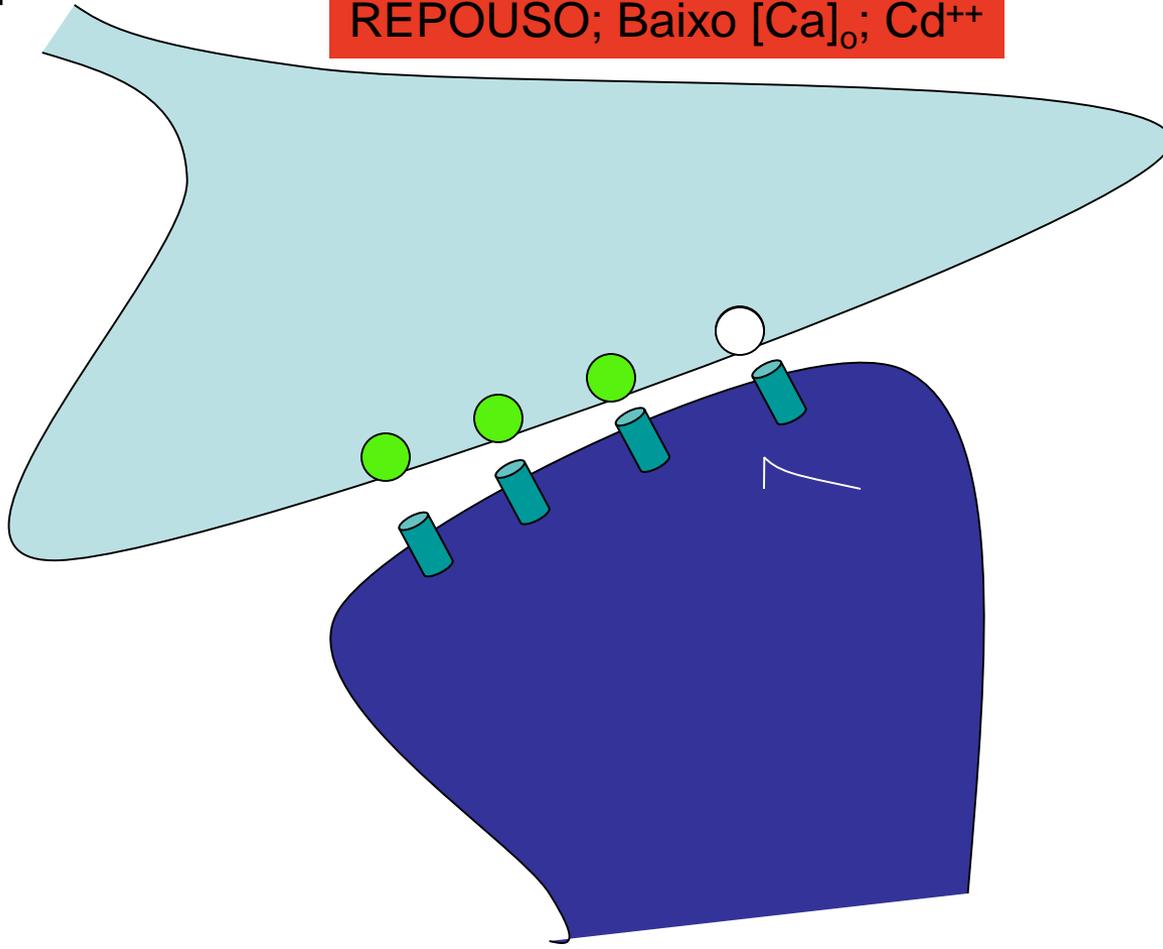
$$P(x) = \frac{n!}{(n-x)!x!} p_r^x (1-p_r)^{n-x}$$



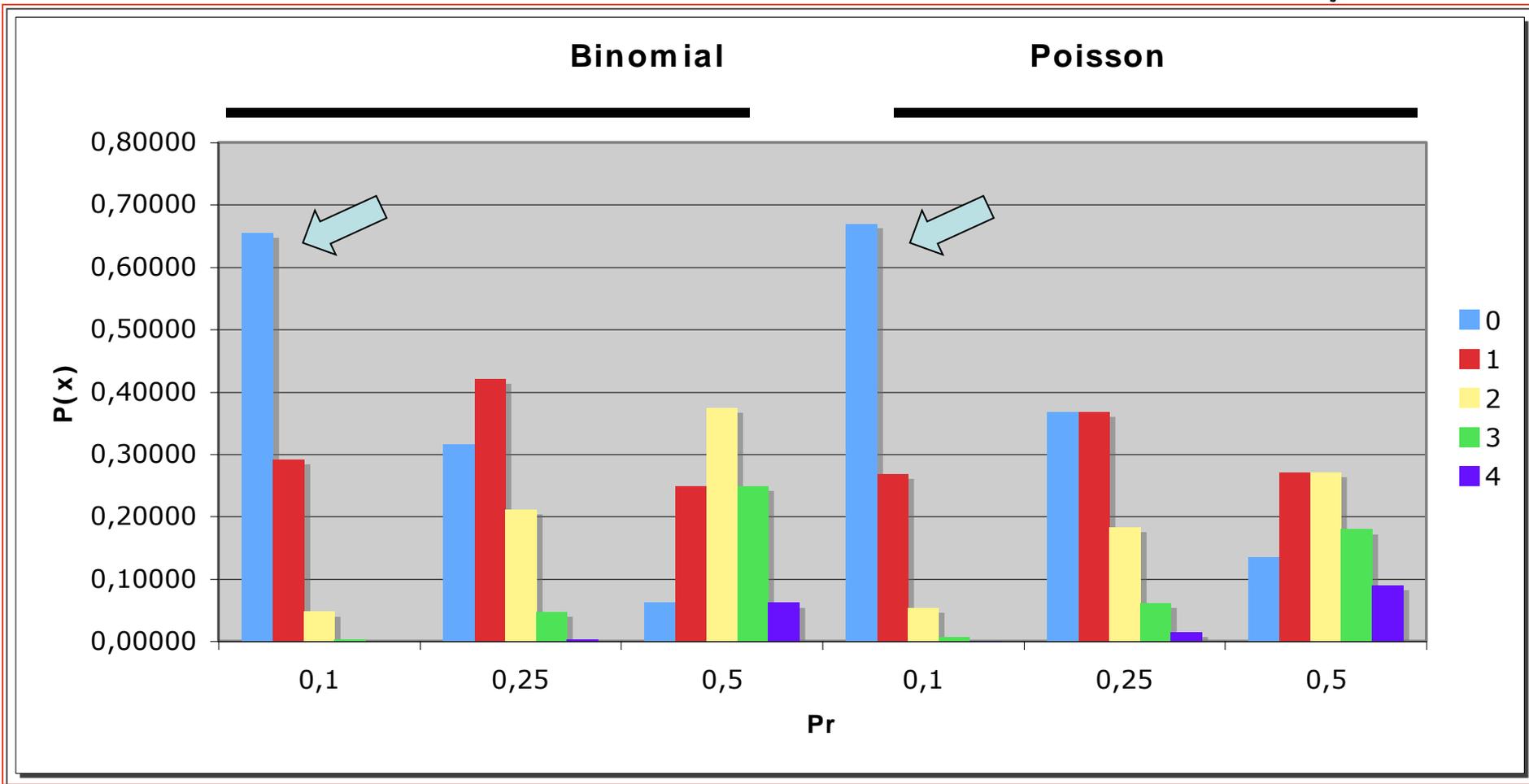
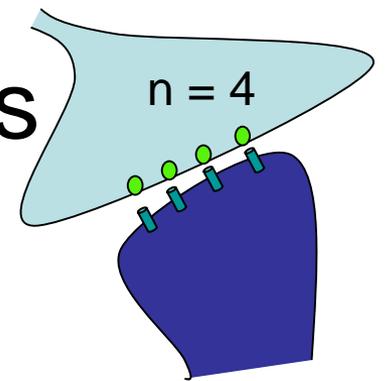
Quando a Pr  
é baixa  
podemos  
usar a  
distribuição  
de Poisson

$$p(x) = \frac{m^x e^{-m}}{x!}$$

REPOUSO; Baixo  $[Ca]_o$ ;  $Cd^{++}$



# Comparação das distribuições binomial e Poisson



# Quais são as vantagens da distribuição de Poisson?

$$p(x) = \frac{m^x e^{-m}}{x!}$$

- Não se baseia em variáveis desconhecidas (n e Pr).
  - m pode ser medido experimentalmente.
- Mais simples do que a análise binomial
- Um baixo Pr pode ser facilmente alcançado diminuindo-se o cálcio externo ou usando-se concentrações submáximas de TTX ou Cd<sup>++</sup>.

# Quais são as desvantagens da distribuição de Poisson?

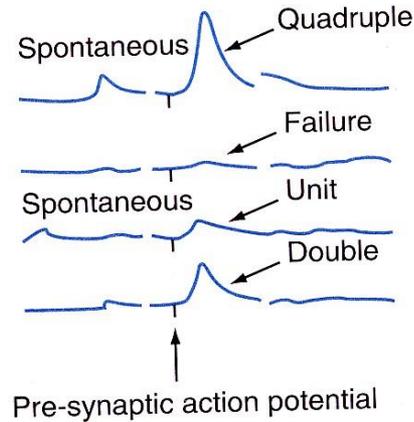
$$p(x) = \frac{m^x e^{-m}}{x!}$$

- Se limita a sinapses de baixo Pr, ou em condições de baixo Pr, que não necessariamente são as de interesse.

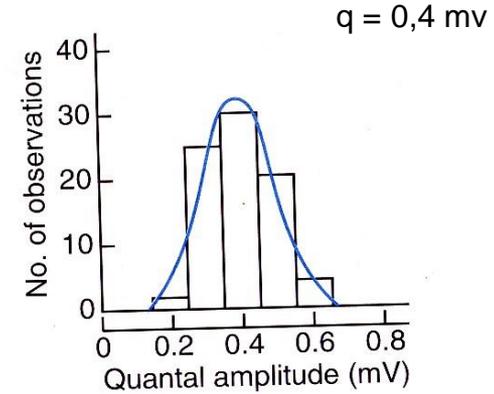
# Eventos miniatura evocados em baixo $[Ca]_o$ (baixo $p_r$ )

## Junção neuromuscular

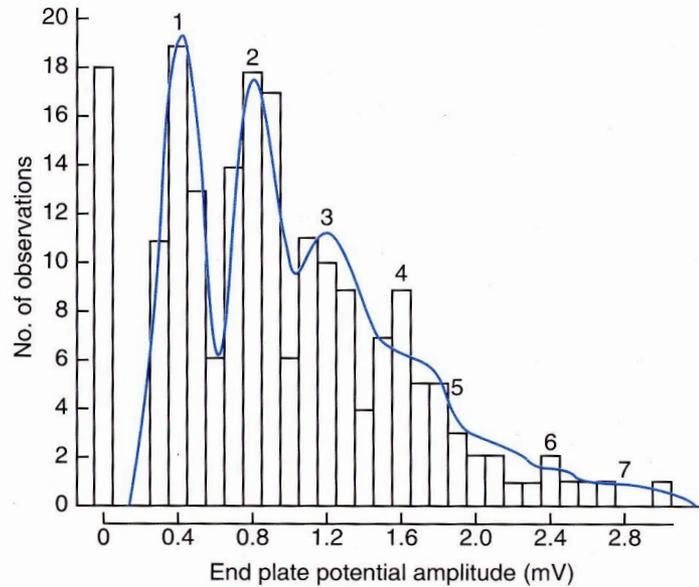
(a) Post-synaptic potentials



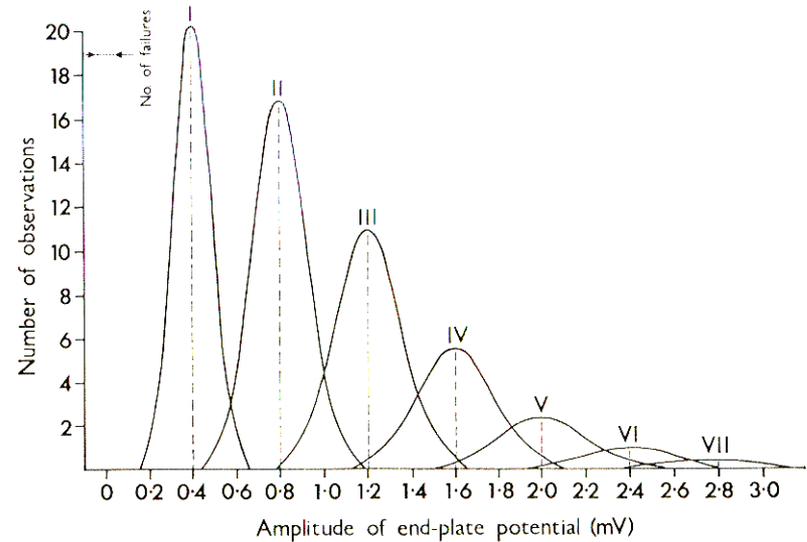
(b)



(c)



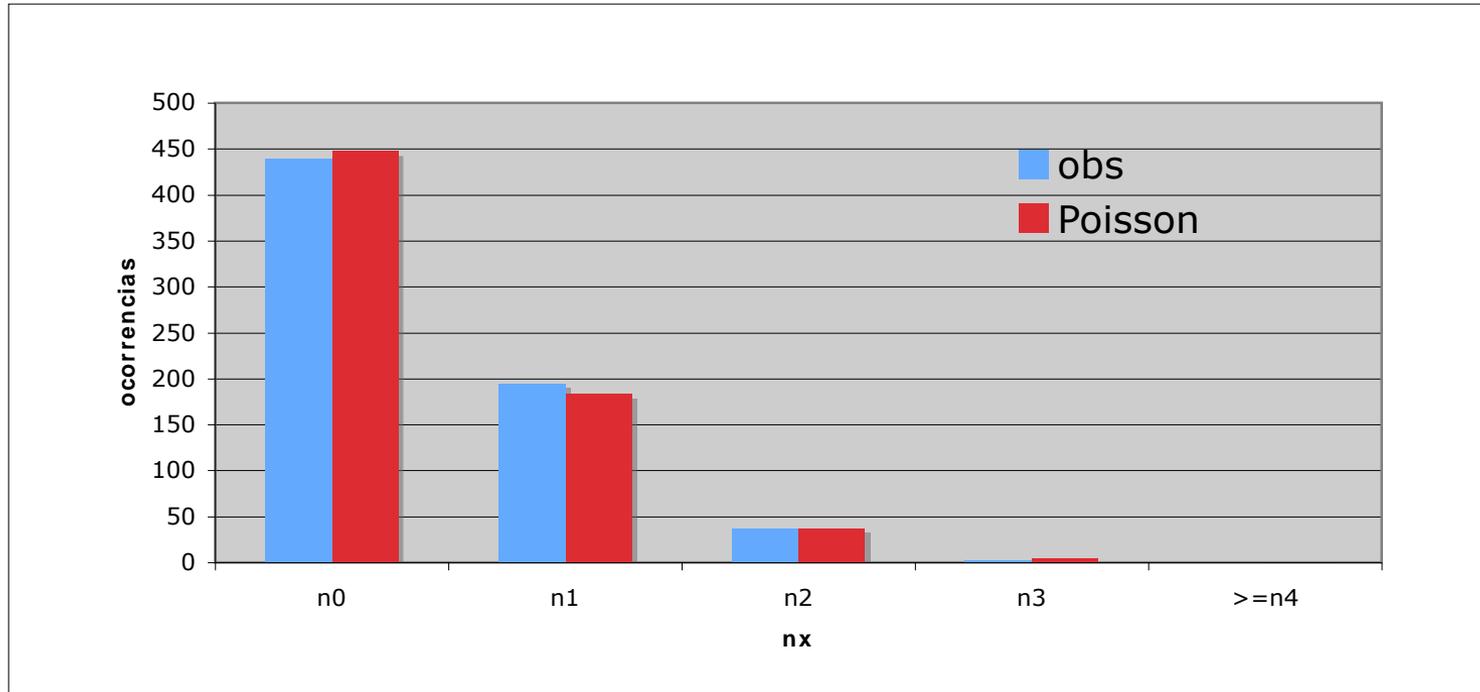
## Predição pela distribuição de Possion



# Distribuição de EPSPs na junção neuromuscular da rã em baixo cálcio versus predição de Poisson

$$p(x) = \frac{m^x e^{-m}}{x!}$$

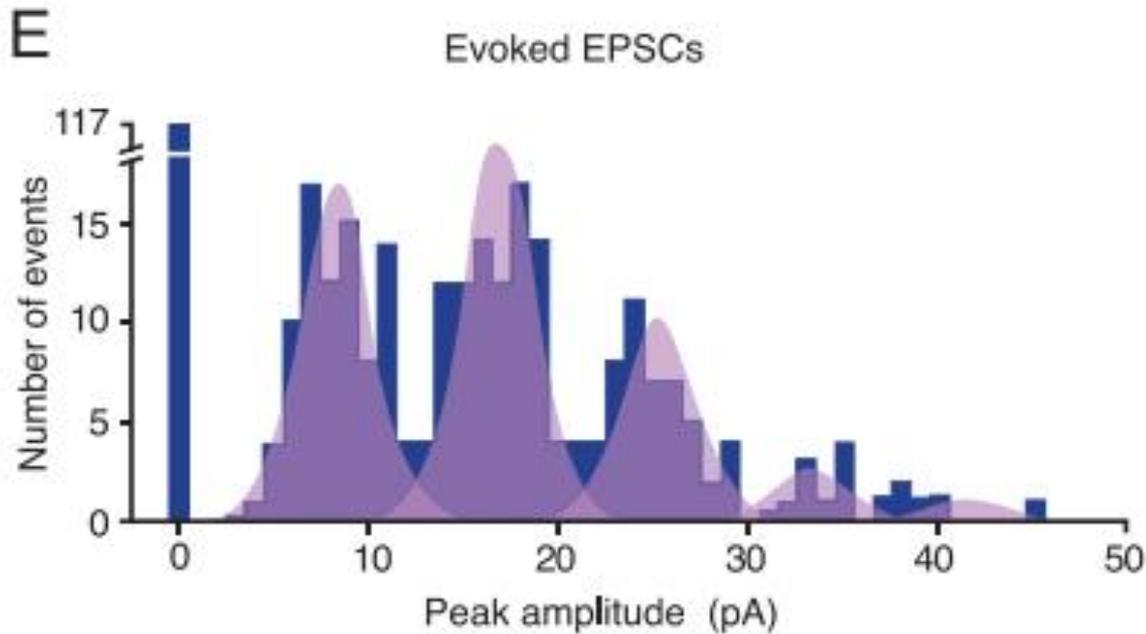
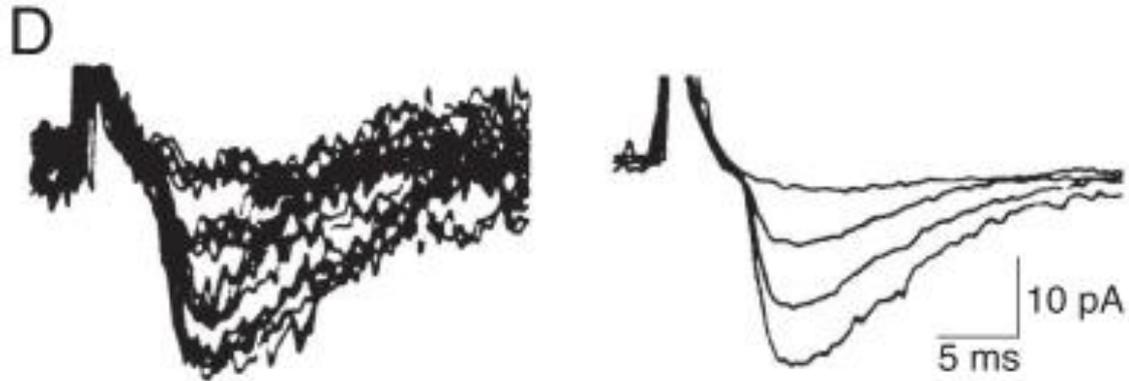
$$m = 0,41$$



Fonte: Katz, B. "The release of neural transmitter substances". 1969

E no sistema nervoso central?

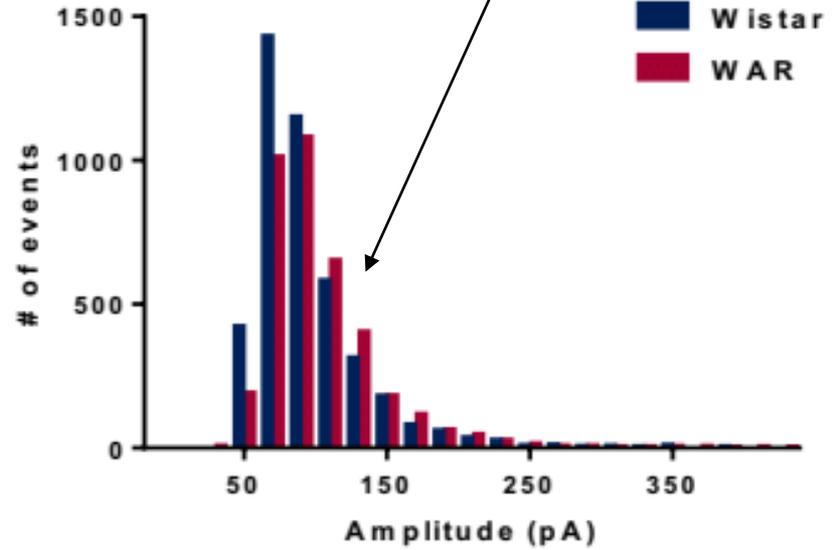
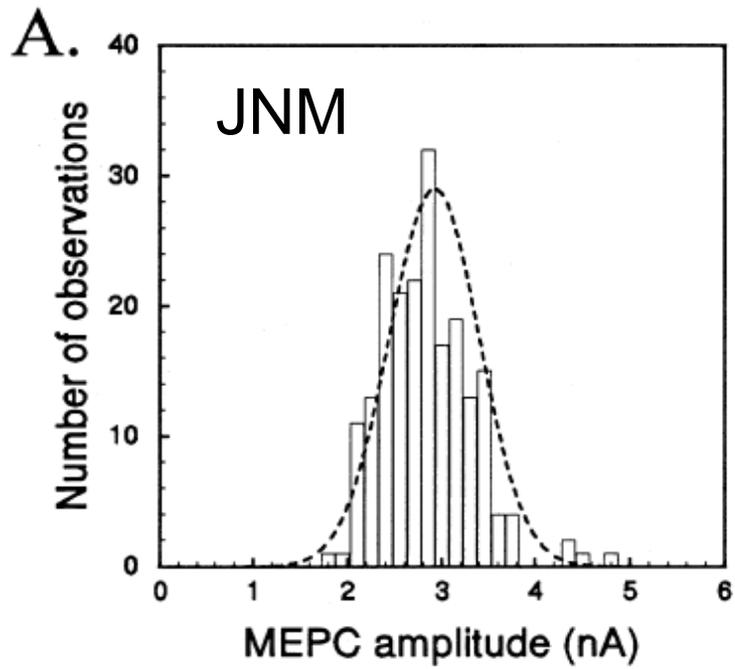
## EPSCs evocados talâmicos



Paulsen, O., Heggelund, P., 1994. The quantal size at retinogeniculate synapses determined from spontaneous and evoked EPSCs in guinea-pig thalamic slices. *J. Physiol.* 480, 505511, Pt 3

# miniaturas

# SNC

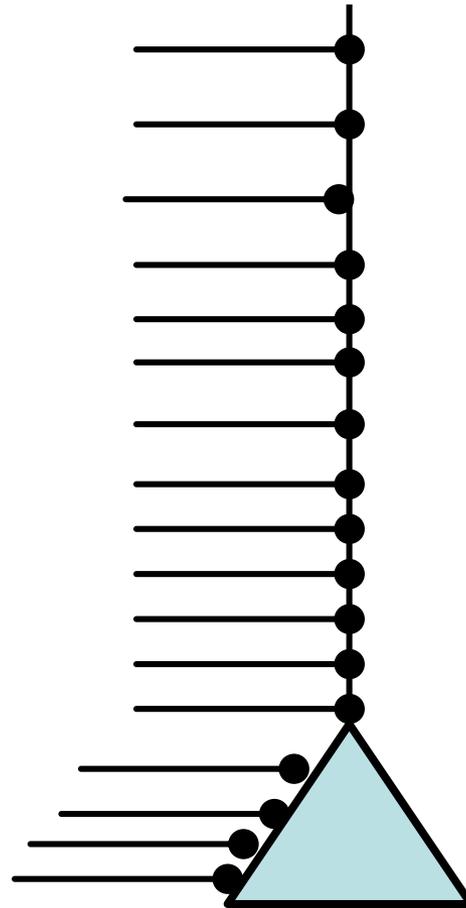


## Problemas nas medidas centrais

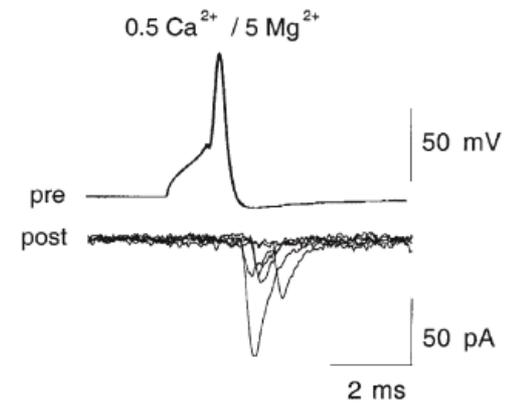
- Múltiplas sinapses com  $P_r$  e  $Q$  diferentes
- $Q$  pode ser influenciado pela posição da sinapse em relação ao eletrodo de registro, ou densidade diferente de receptores em diferentes sinapses.

### Saídas

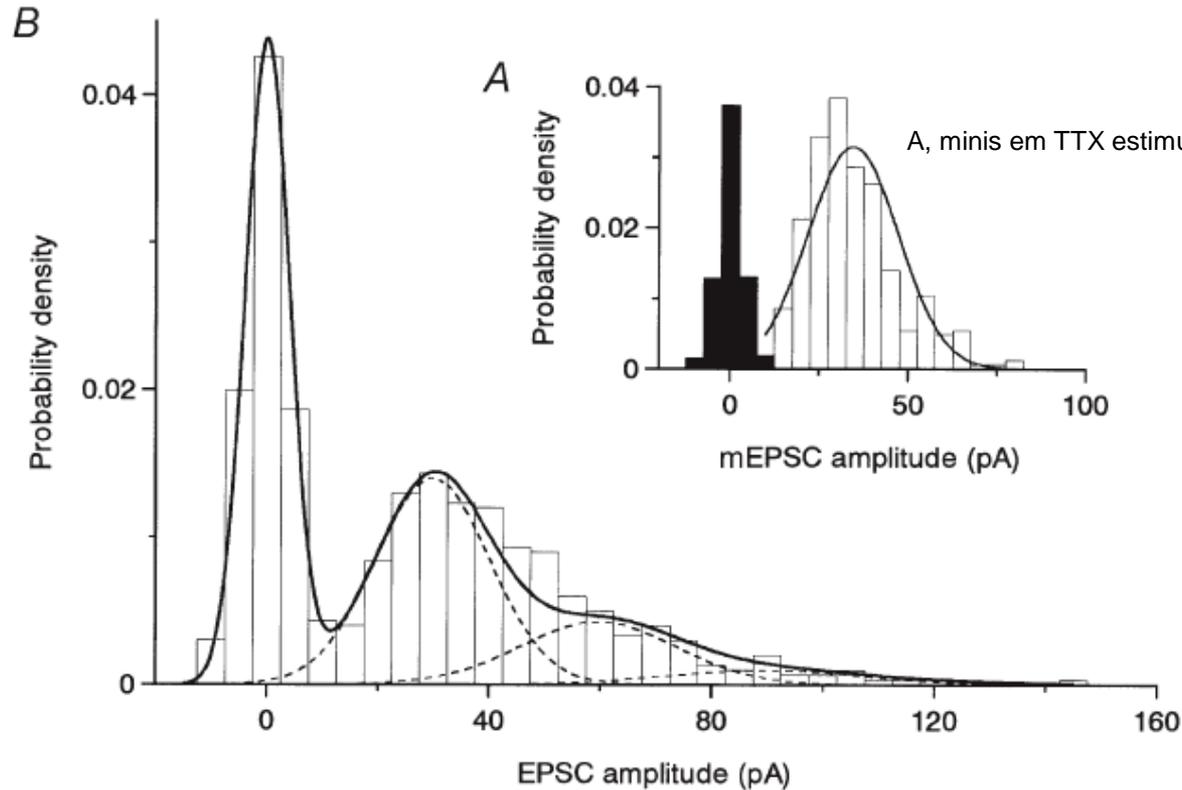
- Estudar vias bem determinadas.
- Duplos registros.
- Autapses.



# Análise quantal no cálice de Held



B, estimulação aferente. Registros in 0,65 mM Ca e 4,5 mM Mg. Ajuste pela distribuição de Poisson



*Journal of Physiology* (2001), 536.1, pp.189–197

Quantal components of the excitatory postsynaptic currents at a rat central auditory synapse

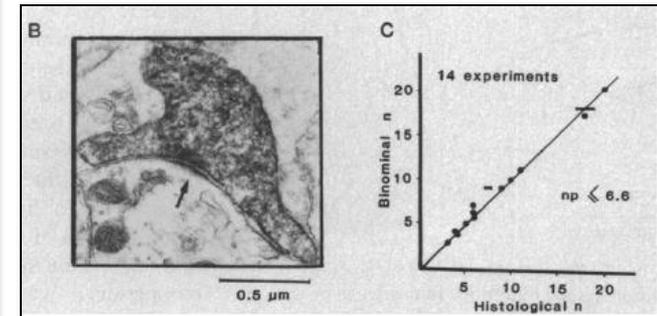
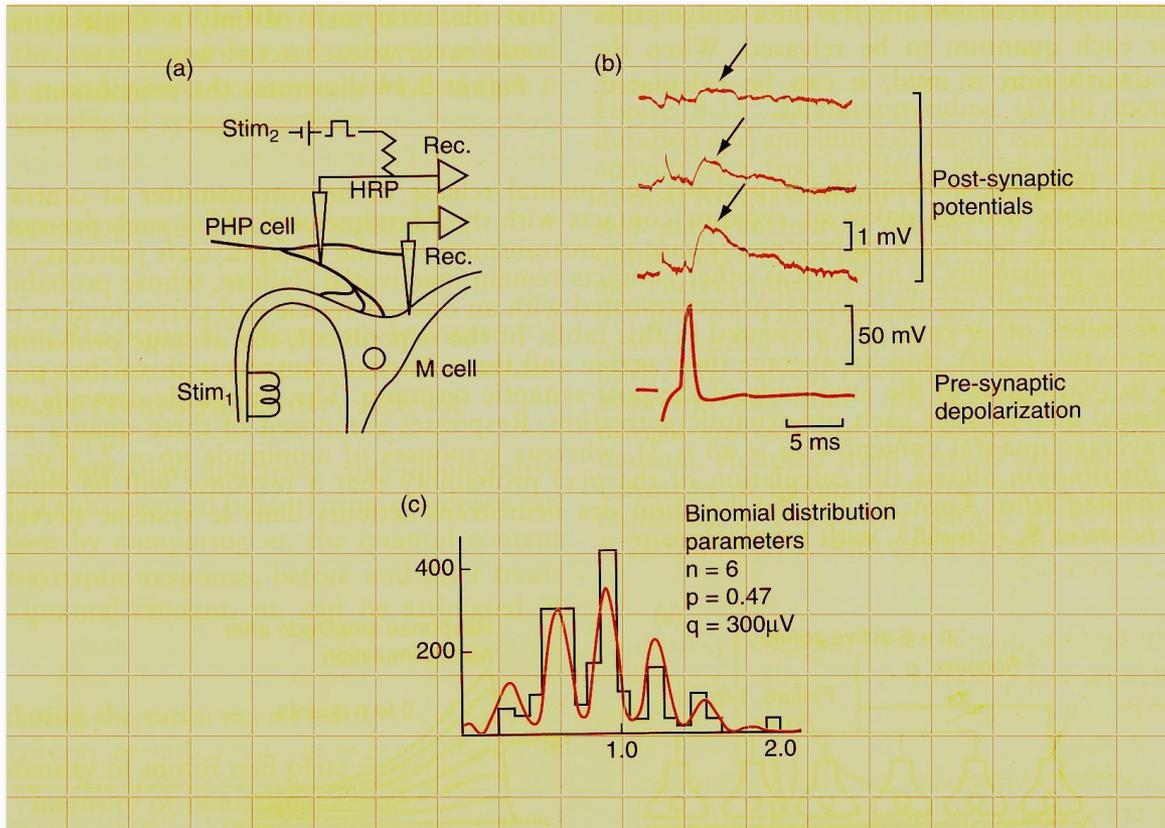
Yoshinori Sahara\*† and Tomoyuki Takahashi\*

# Neurotransmissão quantal no SNC – liberação univesicular

Aferentes glicinérgicos na célula de Mautner no bulbo de peixes teleósteos

Número de sinapse verificado morfologicamente. Nessa preparação, 1 sinapse contém 1 zona ativa.

**$n=n^{\circ}$  de sinapses Liberação univesicular.**



HENRI KORN  
ANTOINE TRILLER  
INSERM U 3, CHU Pitié-Salpêtrière,  
75634 Paris Cedex 13, France  
ALAIN MALLET  
INSERM U 194, CHU Pitié-Salpêtrière,  
75634 Paris Cedex 13  
DONALD S. FABER  
Division of Neurobiology,  
Department of Physiology, State  
University of New York, Buffalo 14214

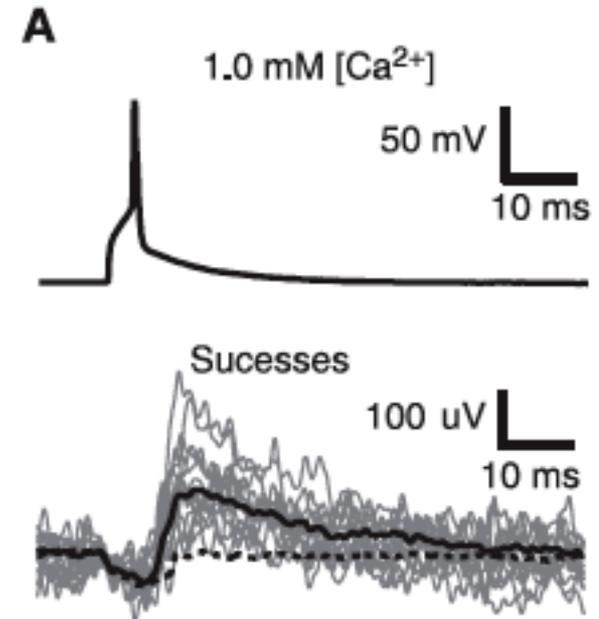
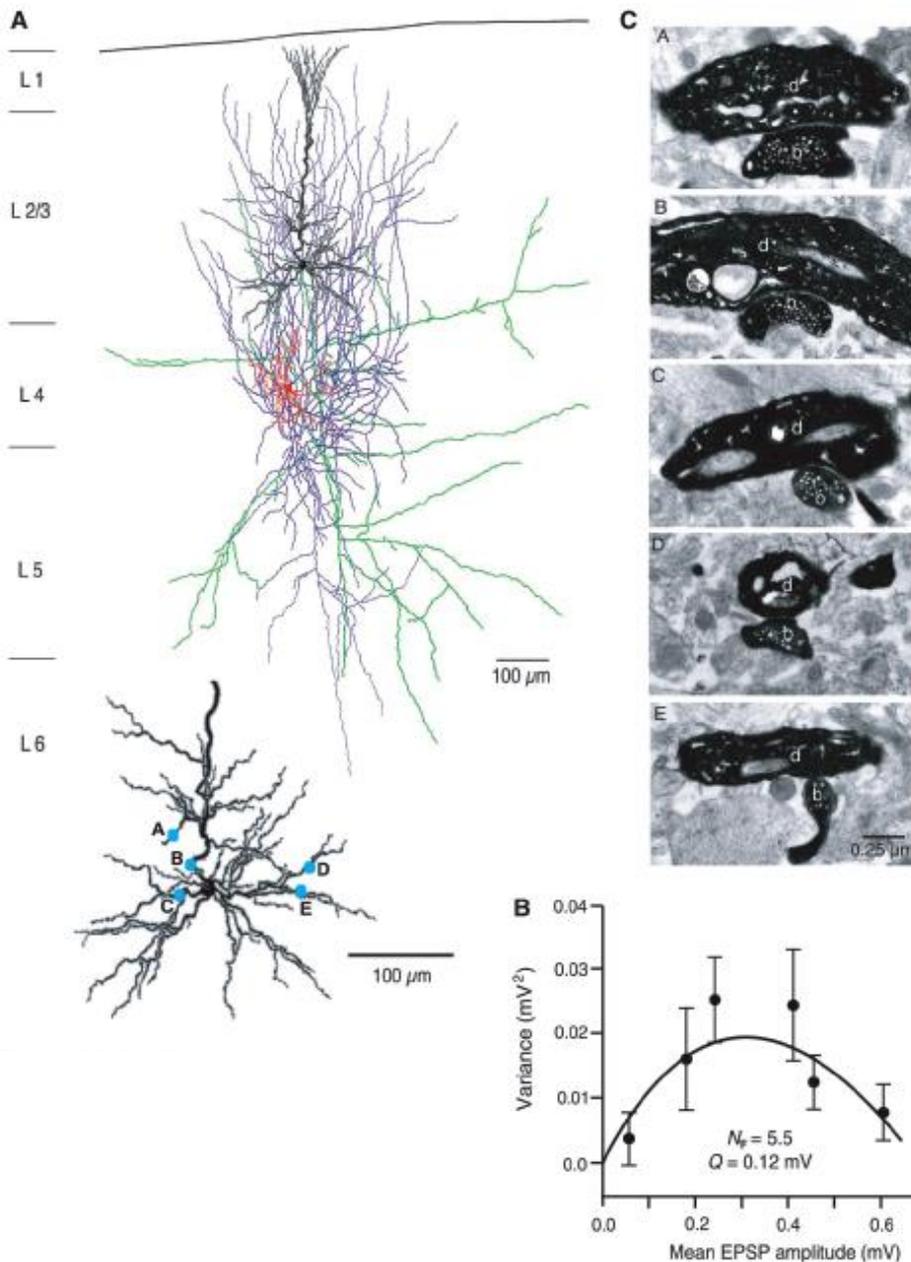
SCIENCE, VOL. 213, 21 AUGUST 1981

**Fluctuating Responses at a Central Synapse:  $n$  of Binomial Fit Predicts Number of Stained Presynaptic Boutons**

A liberação univescular é provavelmente a regra nas sinapses convencionais do SNC



High-Probability Uniquantal Transmission at Excitatory Synapses in Barrel Cortex  
 R. Angus Silver, *et al.*  
*Science* 302, 1981 (2003);  
 DOI: 10.1126/science.1087160



$$\sigma^2 = \left[ QV - \frac{QV^2(1+\alpha)}{V + N_F Q\alpha} \right] (1 + CV_{\text{Qt}}^2) + QV CV_{\text{Qt}}^2$$

n pode se estimado por medidas diretas de exocitose por alterações da capacitância da membrana pré-sináptica  
 exemplo: cálice de Held

$$Nv = \Delta C_m / (C_{m_s} \cdot \pi d^2)$$

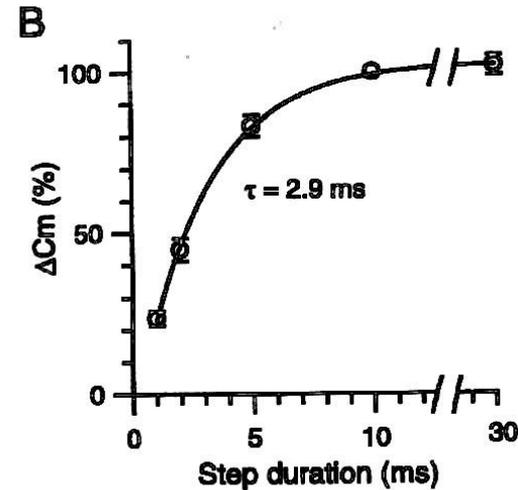
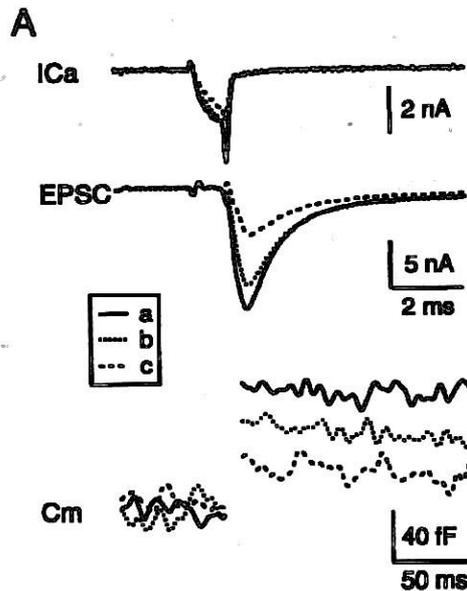
n=5200 vesículas

Nv = número de vesículas

$\Delta C_m$  = alteração da capacitância da membrana

$C_{m_s}$  = capacitância específica da membrana (10 fF/cm<sup>2</sup>)

d = diâmetro da vesícula sináptica (50 nm)

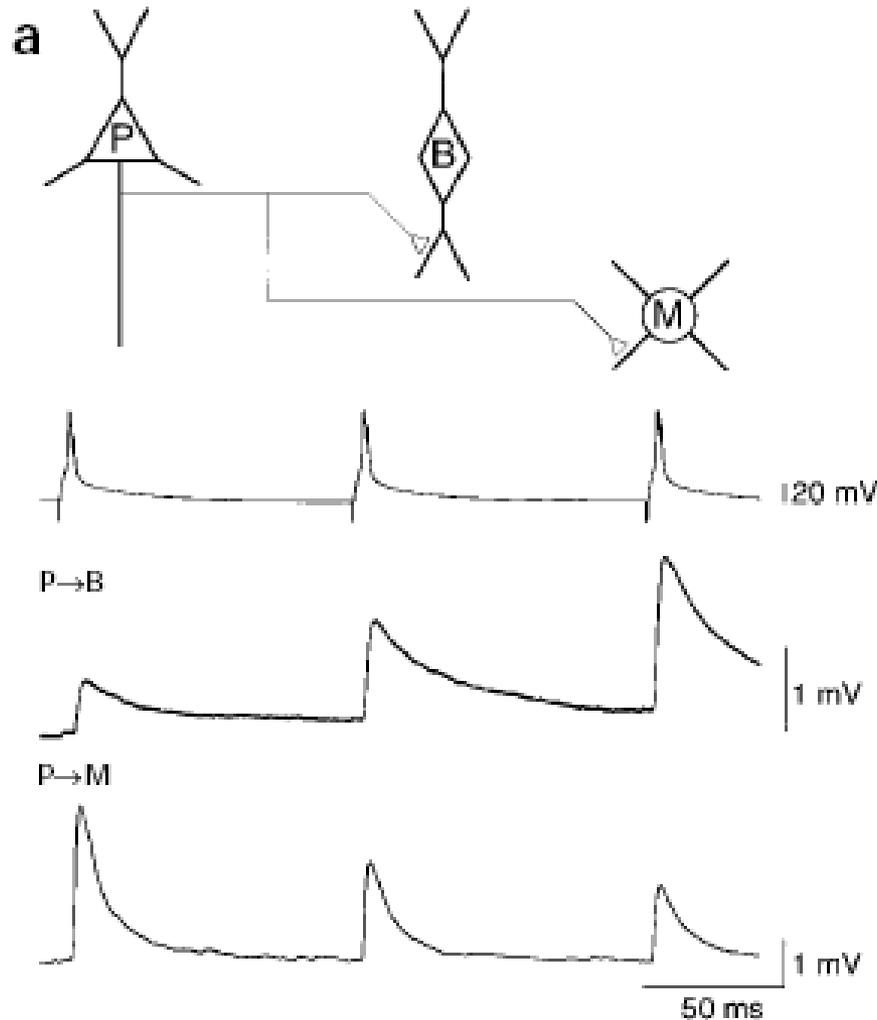




Efeito de alterações rápidas nos  
parâmetros quantais

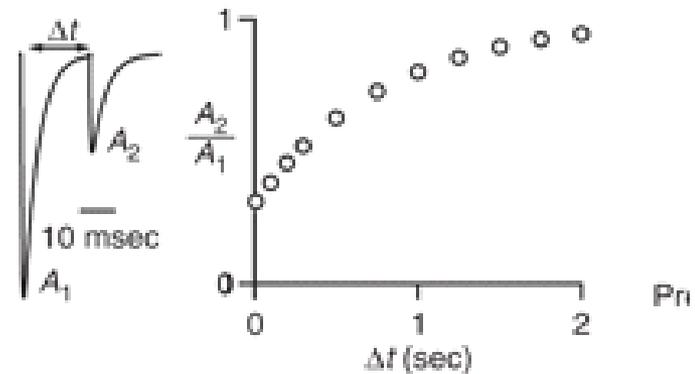
**Plasticidade a curto prazo**

# Facilitação e depressão das correntes sinápticas em resposta a estímulos próximos. Duração de segundos

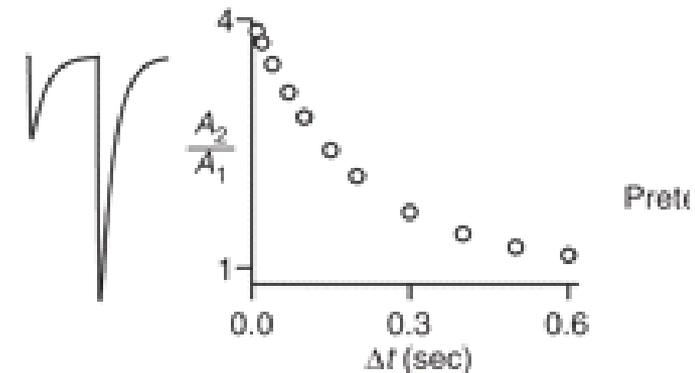


Exemplo: neurônio **A** que excita os neurônios **B** e **M** a cada 100 ms

**A** Short-lived depression



**C** Facilitation



# Pr = probabilidade de liberação de uma vesícula sináptica

Pr determina se há depressão ou facilitação

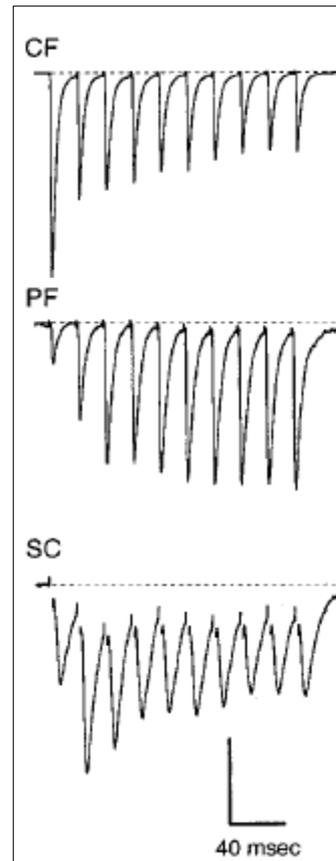
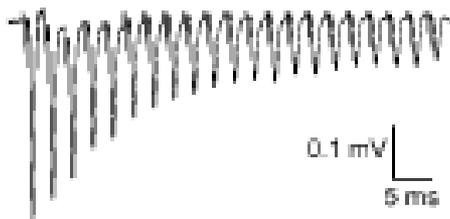
Pr pode variar de 0.01 a 0.9

**B** Tonic Sinapse com baixo Pr =  
facilitação



Sinapse com alto

**C** Phasic Pr = depressão



Climbing fiber-Purkinje cell

**Depressão**

Alto pr

Parallel fiber-Purkinje cell

**Facilitação**

Baixo pr  
n estável

CA3-CA1

Baixo pr  
queda do n

The Journal of Neuroscience, February 15, 2000, 20(4):1374-1385

## Interplay between Facilitation, Depression, and Residual Calcium at Three Presynaptic Terminals

Jeremy S. Dittman, Anatol C. Kreitzer, and Wade G. Regehr

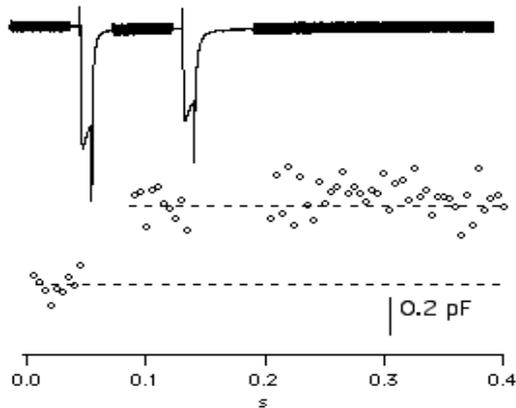
Department of Neurobiology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115

# Diminuição do pool liberável (n) leva a depressão sináptica

$$m = np_r$$

## Depressão da exocitose

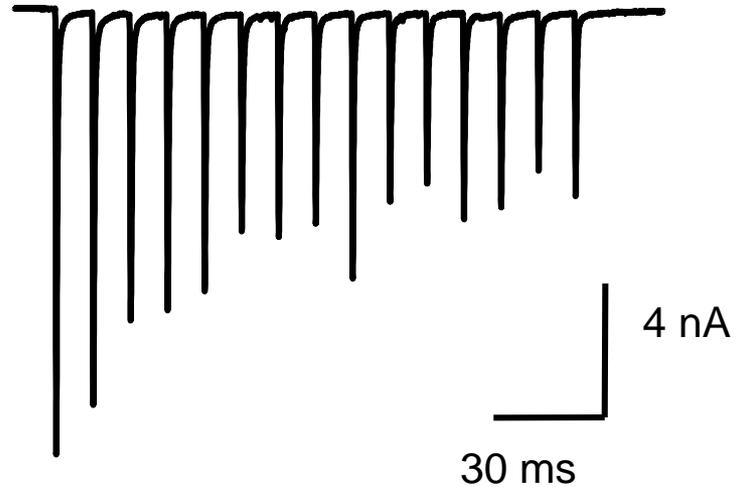
BAPTA 0.05 mM (p12)



Pré-sináptico

## Depressão sináptica a 100Hz.

Estímulo da fibra aferente

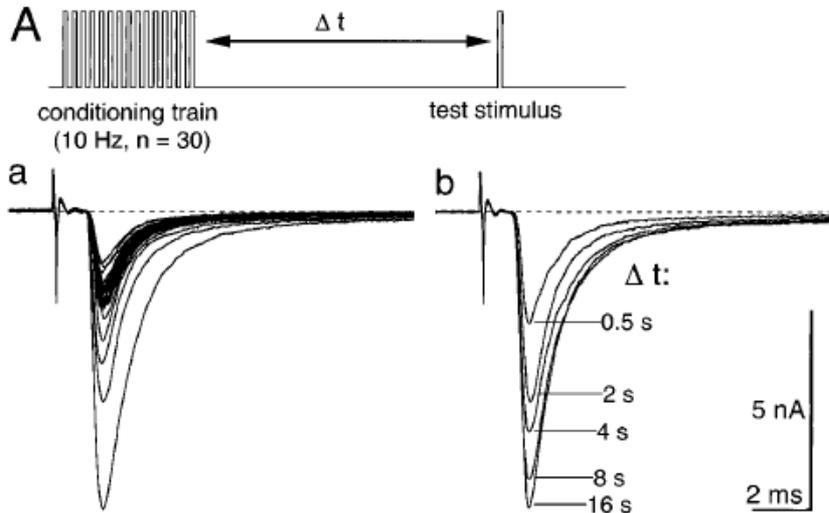


Pós-sináptico

Exemplo: cálice de Held

# A recuperação da depressão pode refletir o repleenchimento do *pool* liberável

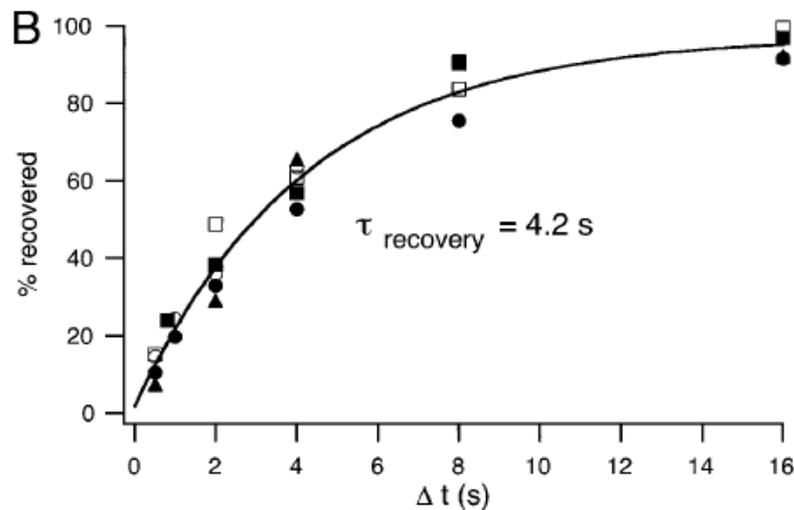
The Journal of Neuroscience, November 1, 1997, 17(21):8137-8146



## Presynaptic Depression at a Calyx Synapse: The Small Contribution of Metabotropic Glutamate Receptors

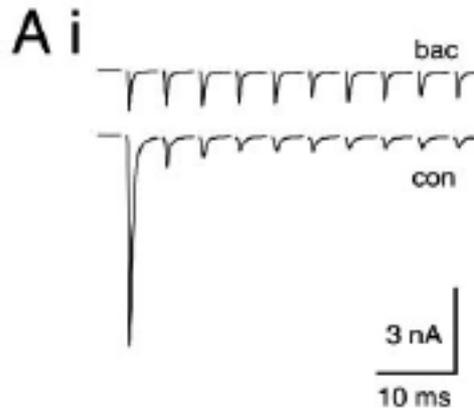
Henrique von Gersdorff, Ralf Schneggenburger, Sibylle Weis, and Erwin Neher

Department of Membrane Biophysics, Max Planck Institute for Biophysical Chemistry, D-37077 Göttingen, Germany

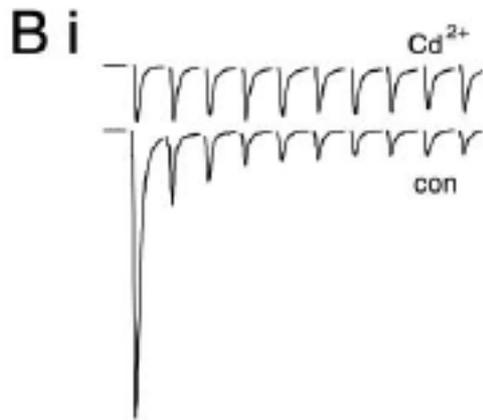


# Alterações na Pr mudam o padrão de depressão/facilitação na mesma sinapse

Baclofen (bac) inibe correntes de cálcio pré-sinápticas via receptores GABA<sub>B</sub>

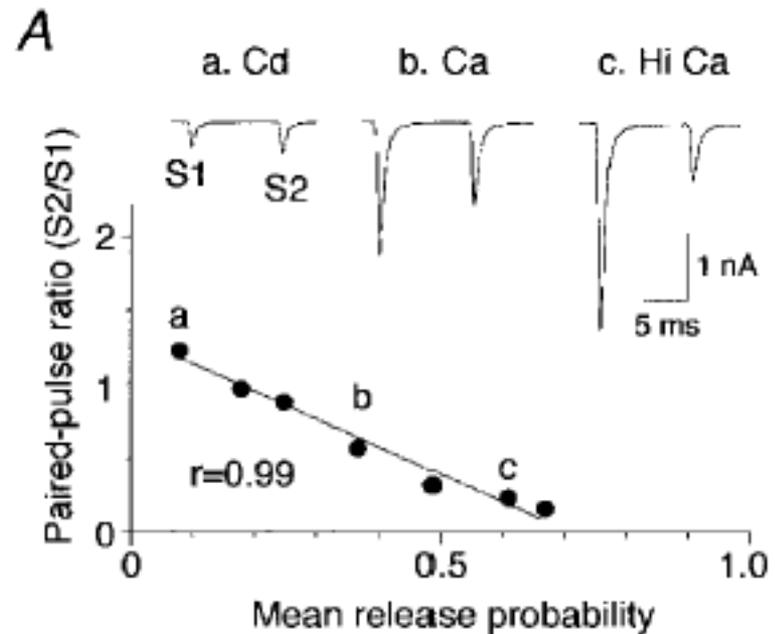


Cloreto de Cádmio (Cd<sup>2+</sup>) inibe correntes de cálcio pré-sinápticas diretamente



*Nucleo magnocelularis*

Alterações da Pr alteram a relação pulso pareado

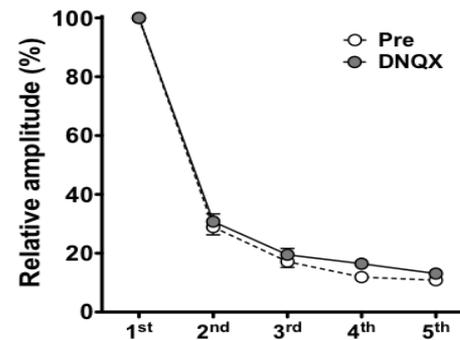
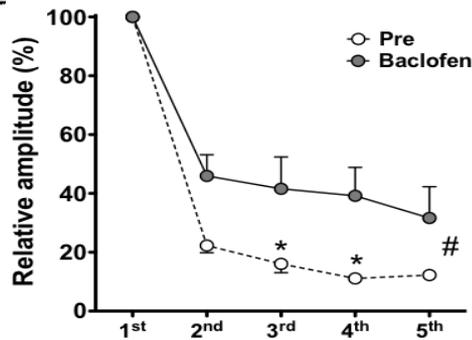
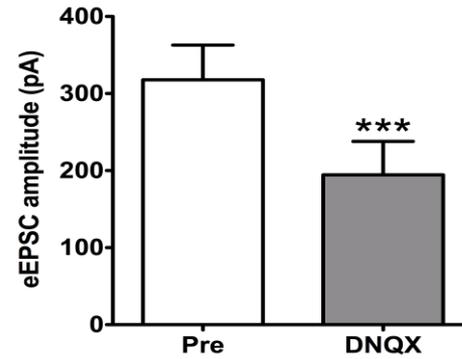
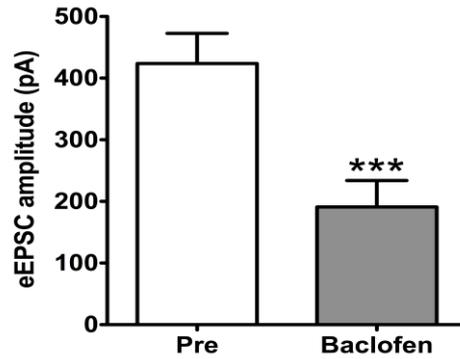
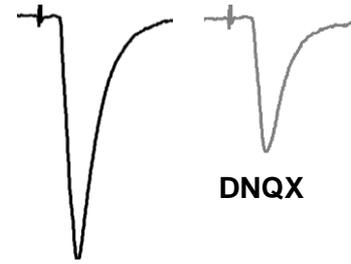
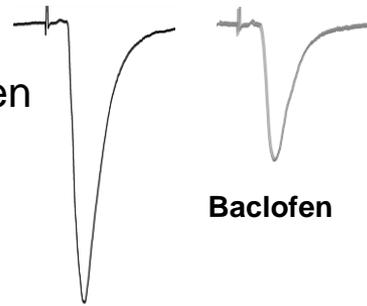


*Endbulb of Held/Bushy cell - AVCN*

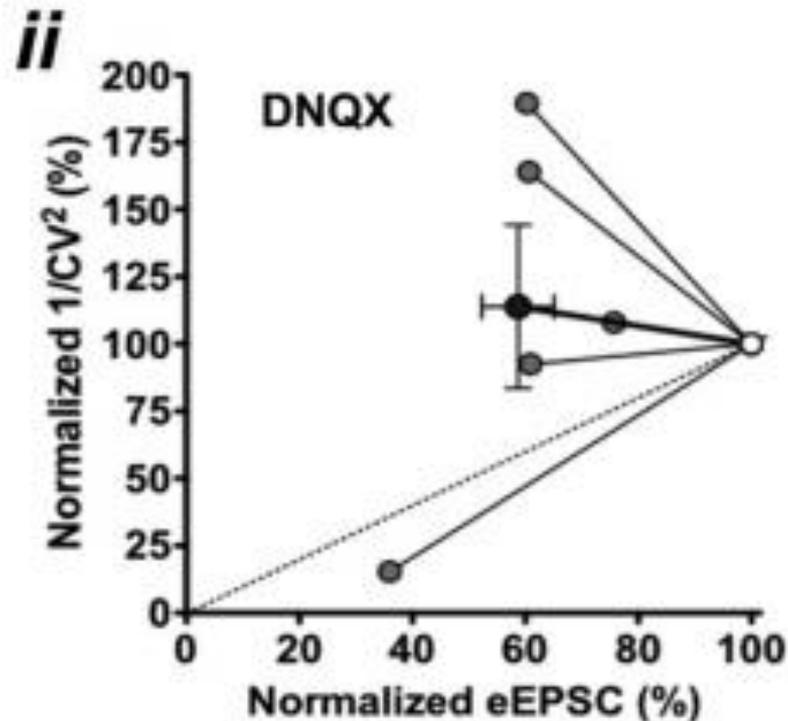
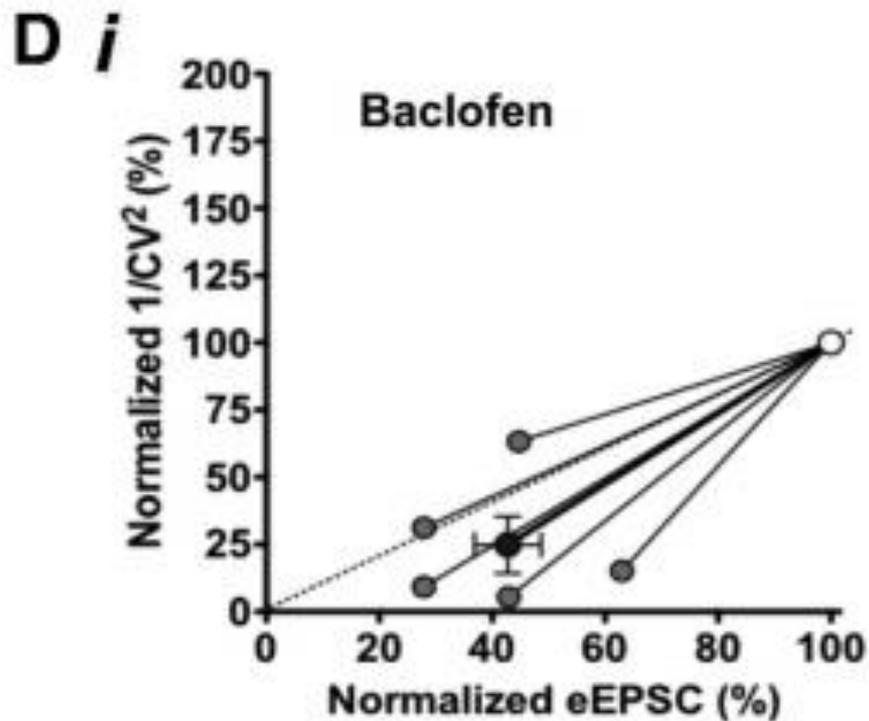
# Análise da depressão a curto prazo pode ajudar a definir o mecanismo da depressão

## Sinapses no NTS

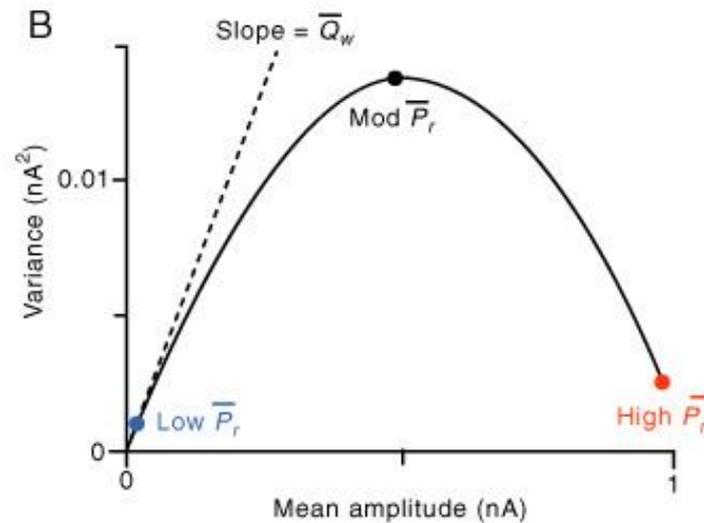
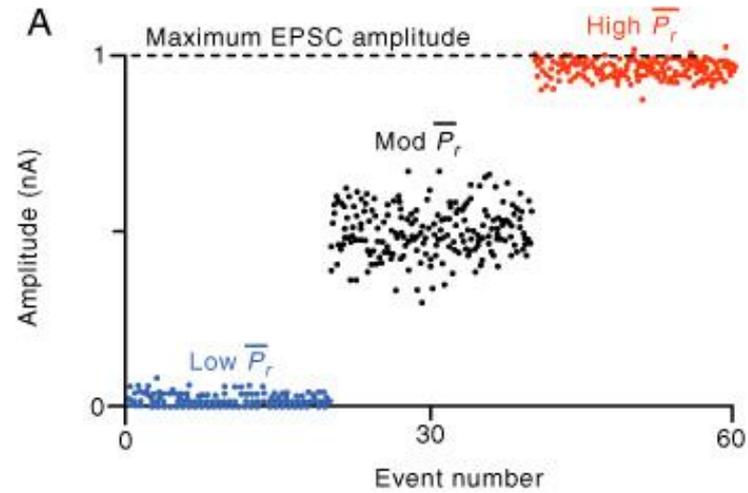
Inibição da Pr pelo baclofen



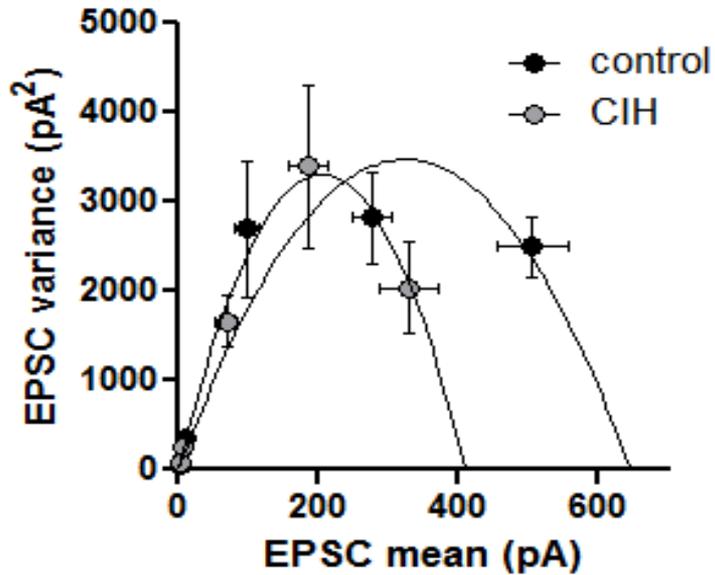
Alterações no coeficiente de variação ( $CV = \text{variância}/\text{media}$ ) indicam alterações pré-sinápticas (Pr ou n)



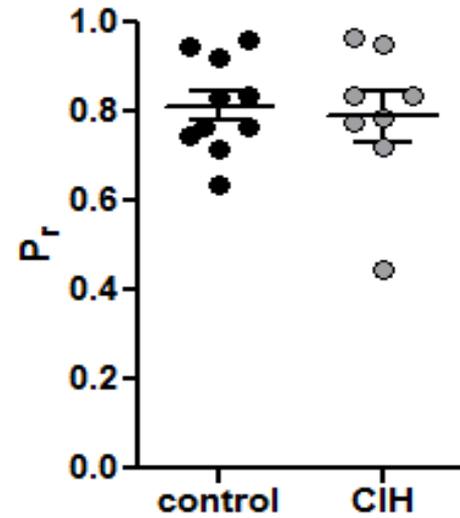
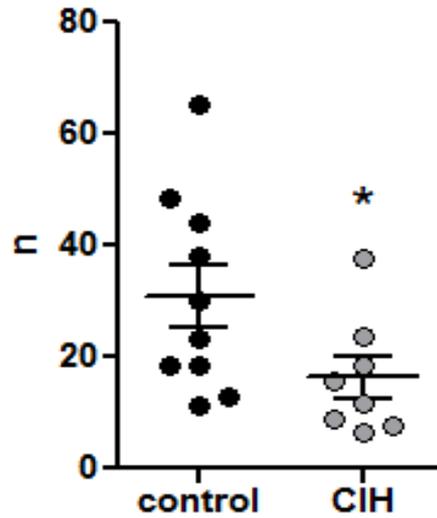
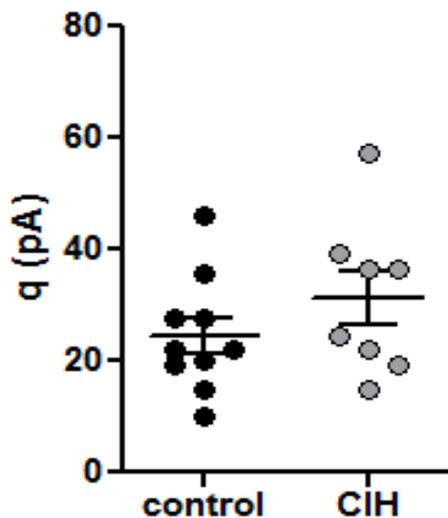
# Variações na Pr alteram a variância da corrente sináptica parabolicamente



Os parâmetros quantais podem ser estimados pela análise da relação da média do EPSC pela sua variância

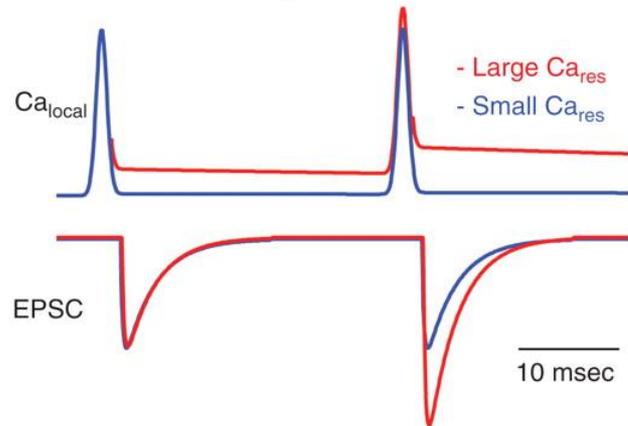


EPSCs no NTS registrados em 0,1 ; 0,25; 0,5; 1 e 2 mM Ca<sup>++</sup>

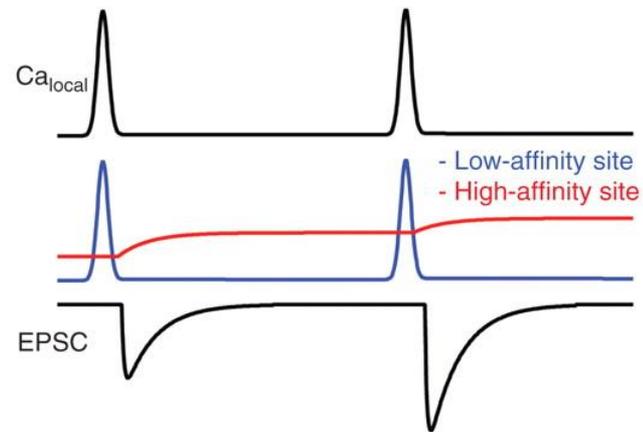


# Mecanismos de facilitação: dependência do cálcio residual

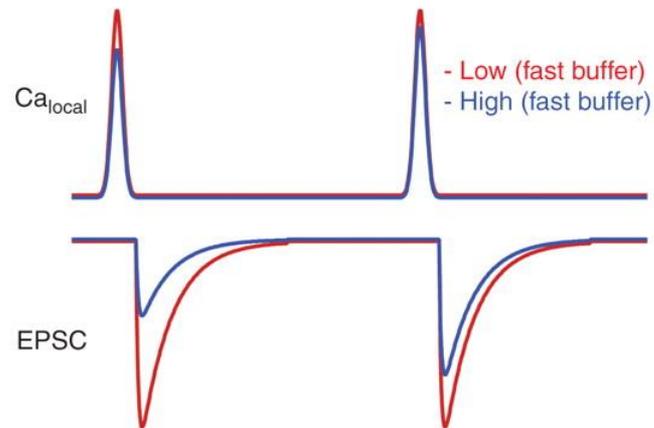
**A** Residual calcium hypothesis



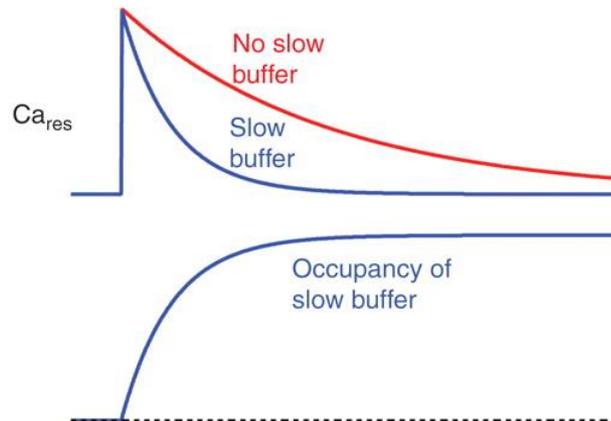
**B** High-affinity Ca-binding site



**C** Calcium buffer saturation

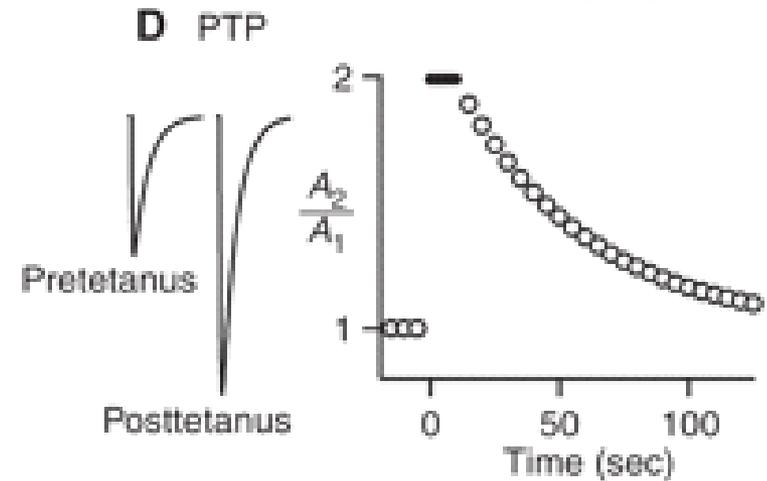
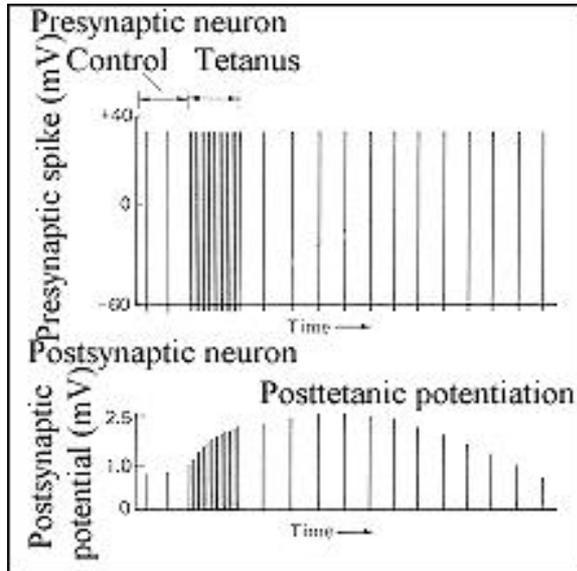


**D** Slow calcium buffer



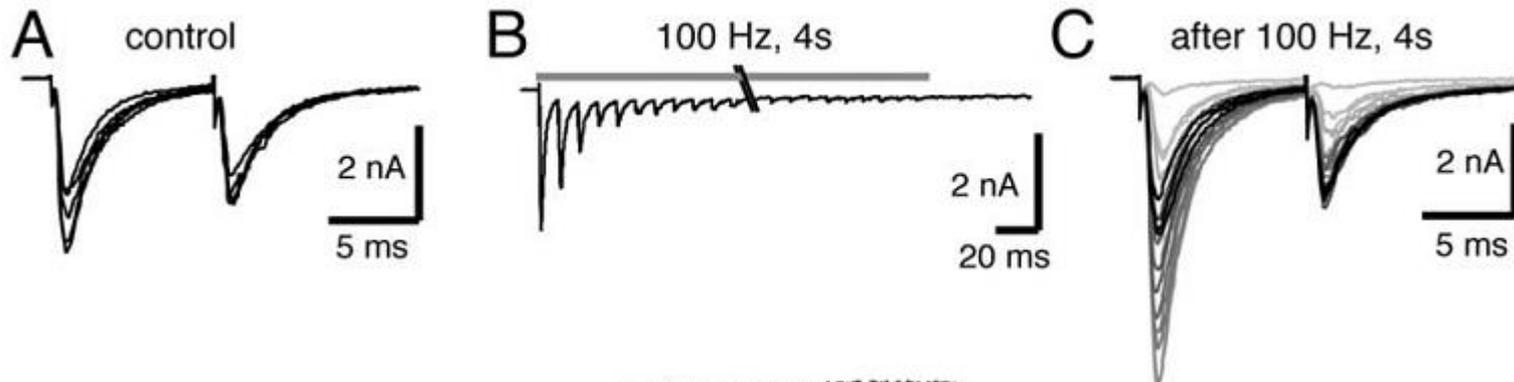
# Potenciação pós-tetânica: duração de até alguns minutos

Ela é estimulada por um trem de estímulos em alta frequência

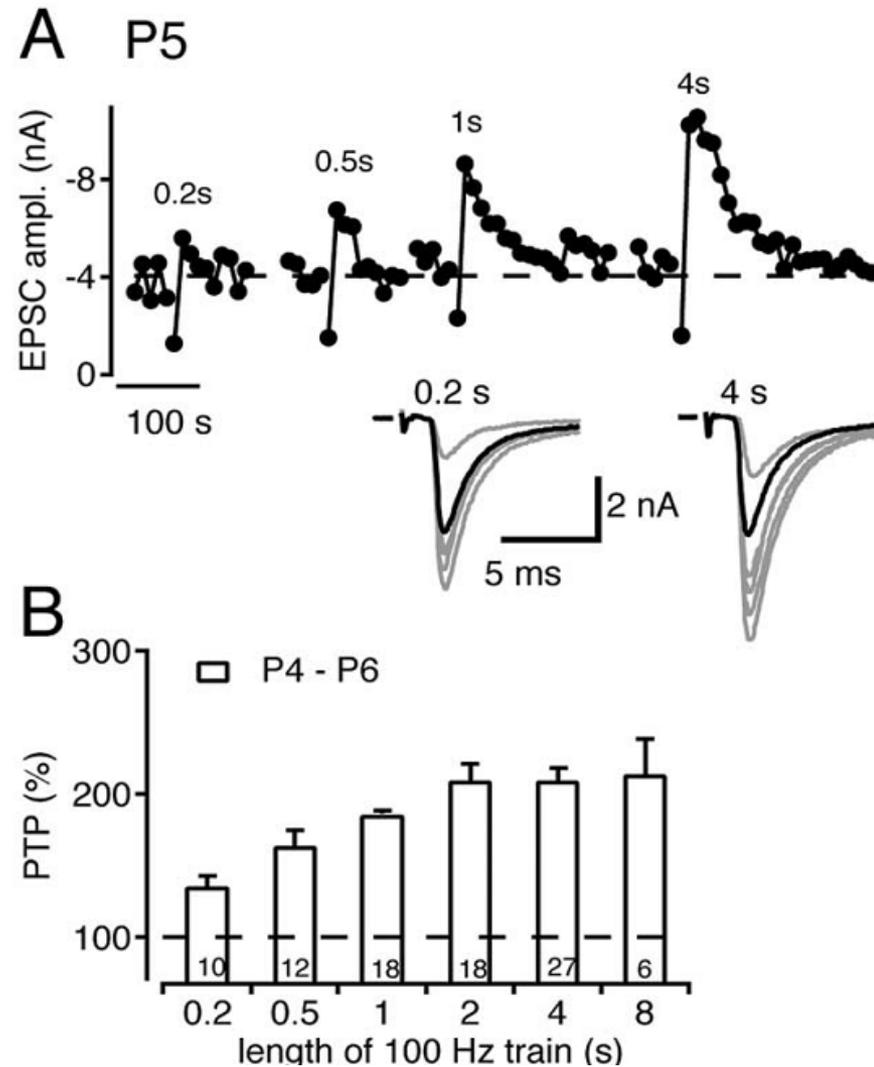


Korogod et al. • Posttetanic Potentiation at the Calyx of Held

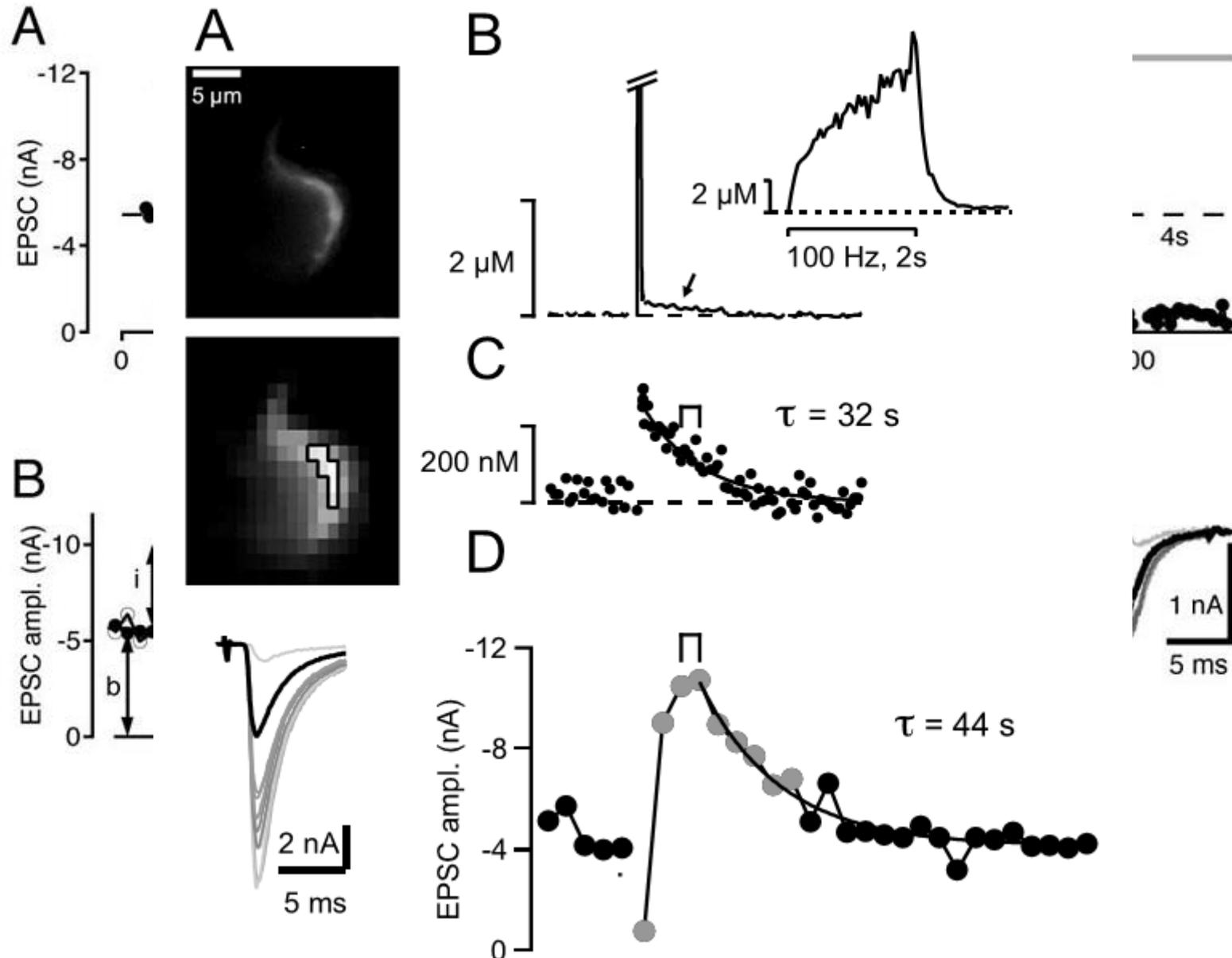
J. Neurosci., May 25, 2005 • 25(21):5127–5137 • 5133



# Potenciação pós-tetânica: Dependência da duração do estímulo tetânico

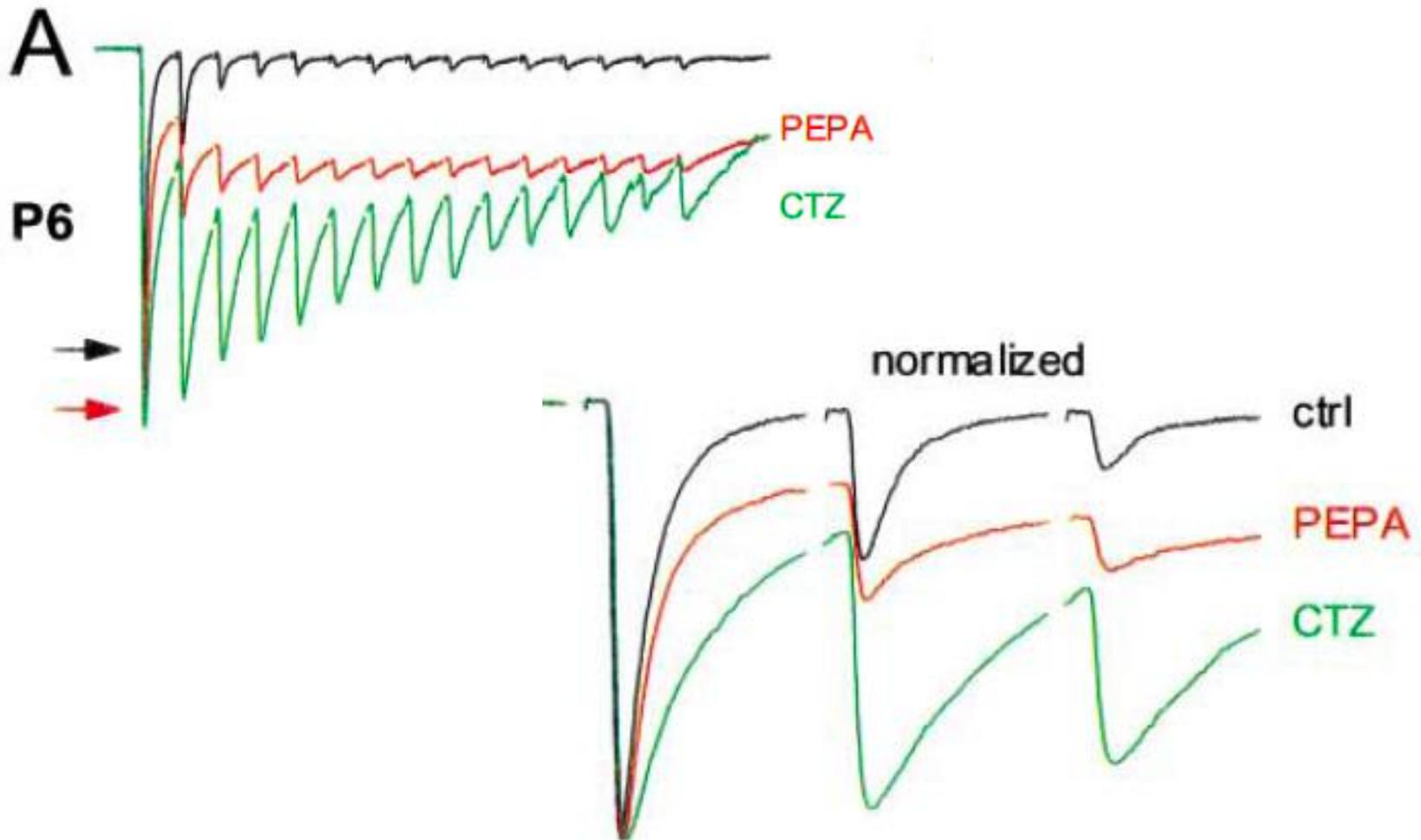


# Potenciação pós-tetânica: Dependência do cálcio

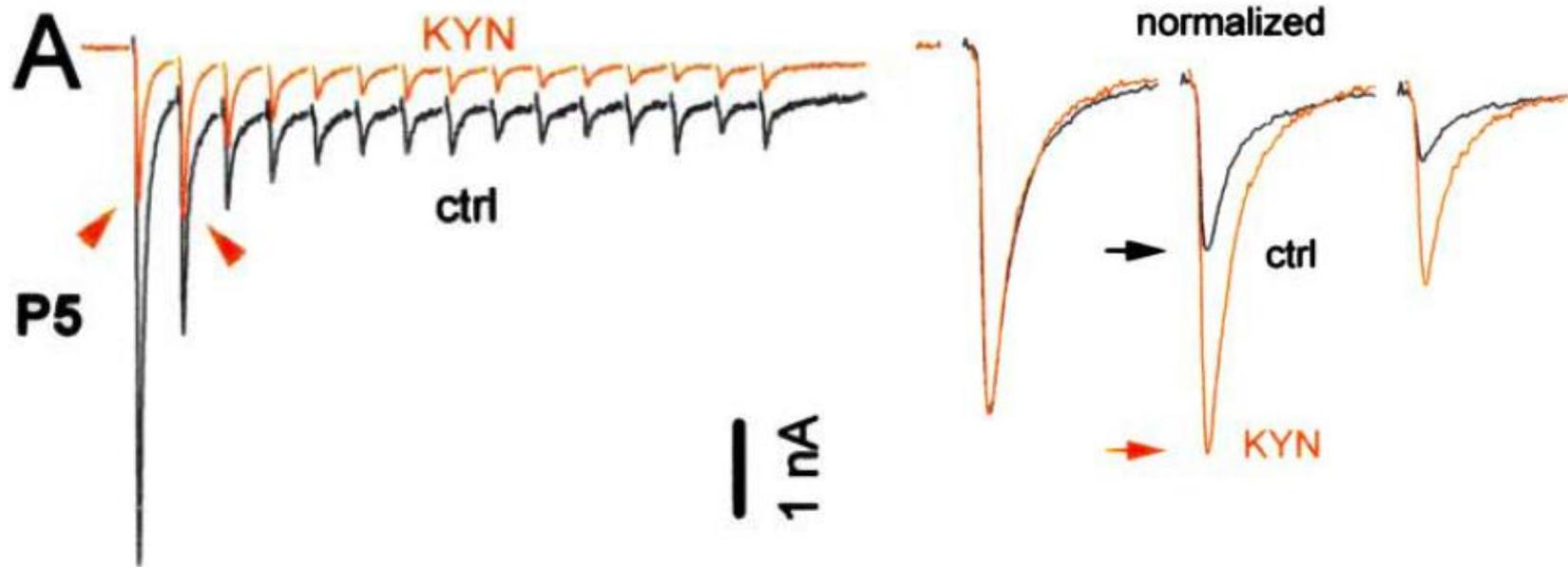


# CUIDADO!

A depressão sináptica pode também se dar devido a efeitos pós-sinápticos como a dessensibilização...



...e a saturação dos receptores



## Mecanismos pré-sinápticos da depressão

depleção vesicular

Inibição da fusão vesicular

inibição de canais de cálcio por receptores metabotrópicos

## Mecanismos pré-sinápticos da facilitação/potenciação:

acúmulo de cálcio basal no terminal

facilitação da mobilização de vesículas

---

### Porquê Pr é diferente?

- Sensibilidade da maquinaria de exocitose
  - Modulação por PKC, Cam/kinase, PKA, CBP
- Acoplamento entre os canais de cálcio e as vesículas
  - Canais P/Q são mais acoplados do que N e R
  - Tamponamento de cálcio pré-sináptico
- Diferentes estados modulatórios dos canais de cálcio (inibição tónica por proteínas G)
- Diferenças na duração do potencial de ação

# Elk Lake, Oregon





# Como calcular $m$ em uma situação de baixo Pr?

A)

- 1) Meça o número de falhas
- 2) Calcule a  $p(0)$ ; falhas/estímulos ( $n_0/N$ )
- 3)  $m$  igual ao logaritmo do inverso da  $p(0)$

$$p(x) = \frac{m^x e^{-m}}{x!}$$

$$p(0) = e^{-m}$$

$$m = \ln(p(0))^{-1}$$

- B) Calcule o número total de unidades e divida pelo número total de estímulos (N)

$$m = \frac{\sum (x n_x)}{\sum n_x}$$

$$m = (n_1 + 2n_2 + 3n_3 + \dots + x n_x) / N$$