

Е. А. Колос, И. П. Григорьев, Д. Э. Коржевский

МАРКЕР СИНАПТИЧЕСКИХ КОНТАКТОВ — СИНАПТОФИЗИН

Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — д-р мед. наук Д. Э. Коржевский), отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

В обзоре обобщены современные данные о синаптофизине (СФ), его функциональной роли в клетке и использовании иммуноцитохимической реакции на этот белок для маркирования синаптических контактов. СФ — это трансмембранный гликопротеин мелких пресинаптических пузырьков нервных клеток и некоторых микровезикул в нейроэндокринных клетках. Приведенные литературные данные и собственный опыт авторов дают основания для заключения, что на сегодняшний день СФ является важнейшим маркером, позволяющим при помощи световой и конфокальной лазерной микроскопии получать достоверные данные о структурной организации синаптических структур ЦНС. Он незаменим также при исследовании эфферентной иннервации внутренних органов. Использование количественного анализа СФ-иммунопозитивных структур при помощи световой и конфокальной лазерной микроскопии позволяет решать ряд задач, которые ранее можно было решить только с использованием электронной микроскопии.

Ключевые слова: *нейроэндокринные клетки, нейроны, синапсы, синаптофизин*

В морфологическом исследовании нервной системы большое значение имеет выявление синаптических окончаний. В связи с малыми размерами синаптических терминалей (как правило, менее 1 мкм) до последнего времени изучать их можно было только в электронном микроскопе. Электронная микроскопия позволяет рассмотреть ультраструктурные особенности синапсов и их взаимоотношения с окружающими элементами нервной ткани [2, 7, 10], однако не даёт возможности оценить качественные и количественные характеристики распределения синаптических окончаний в том или ином отделе нервной системы в целом. Для изучения распределения синапсов в пределах крупных анатомических структур мозга можно было бы использовать световой микроскоп, но только при условии их селективной окраски. Хотя световая микроскопия и не позволяет в деталях рассмотреть синаптические окончания, современный уровень иммуноцитохимии даёт возможность маркировать определённые белки, специфически связанные с аксональными терминалями, и, тем самым, наглядно показать области их распределения с помощью светового и конфокального лазерного микроскопов. Известно несколько белков, связанных с синаптическими структурами. Первым из них был выделен и охарактеризован синаптофизин (СФ) [33, 43, 59].

Цель настоящего обзора — обобщение современных данных о синаптическом маркере (СФ), его функциональной роли в клетке и использовании иммуноцитохимической реакции на этот белок для маркирования синаптических контактов.

СФ (также известный как р38) — это трансмембранный гликопротеин мелких пресинаптических пузырьков нервных клеток и некоторых микровезикул в нейроэндокринных клетках [24]. Его молекулярная масса — 38 000 дальтон [58]. Он входит в группу MARVEL (MAL and Related proteins for

VEsicle trafficking and membrane Link) — семейства интегральных белков, связанных с мембраной [20]. В настоящее время СФ относят к семейству белков с четырьмя трансмембранными доменами, которое, помимо СФ, включает синаптогирин и синаптопорин. СФ является наиболее распространённым белком синаптических пузырьков, составляя около 10% от общего количества их белка [36]. С помощью ультраструктурной иммуноцитохимии СФ выявлен во всех малых (не содержащих пептиды) синаптических пузырьках в нервной системе, независимо от того, какой нейромедиатор они содержат, но не был обнаружен в мембранах крупных гранулярных пептид-содержащих пузырьков [25, 43, 56].

За пределами ЦНС СФ выявлен не только в аксонах нейронов, но и в дендритах [28, 49]. Однако локализация СФ в постсинаптических структурах не повсеместна. Отмечено присутствие СФ в чашевидных окончаниях клеток вестибулярного эпителия, которые являются постсинаптическими элементами [27, 48]. Также имеются данные о присутствии СФ в сенсорных окончаниях нейромышечного веретена и сухожилий [26]. Эти данные свидетельствуют о возможности выделения нейромедиаторов афферентными и постсинаптическими структурами, но они требуют детальной проверки.

Предполагаемые функции СФ в клетке

Основные функции СФ связывают с формированием синаптических пузырьков, выделением из них нейромедиаторов и синаптогенезом. Известно, что мембрана синаптических пузырьков обогащена холестерином в сравнении с другими мембранами нейронов. Было показано, что одним из основных холестерин-связывающих белков пузырьков является СФ. На этом факте основывается мнение, что он является одним из ключевых белков, необходимых для биогенеза синаптических пузырьков [55].

Сведения об авторах:

Колос Елена Андреевна, Григорьев Игорь Павлович, Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: iemmorphol@yandex.ru), лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

Экзоцитоз содержимого синаптических пузырьков происходит при участии комплекса мембранных белков, которые обычно называют SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment protein REceptor). Этот комплекс включает синаптобrevин, который локализован в мембранах синаптических пузырьков, синтаксин-1 и белок SNAP25 (Synaptosomal-Associated Protein, 25 kD), которые локализованы, преимущественно, в синаптической мембране [21]. В процессе формирования комплекса SNARE важную роль играет взаимодействие СФ и синаптобrevина. Поэтому считается, что СФ выступает в роли внутреннего регулятора формирования комплекса SNARE [21] и, соответственно, регулятора экзоцитоза нейромедиатора из синаптических пузырьков. Взаимодействие пузырька с плазмолеммой происходит через формирование пор слияния. В этом процессе СФ также принимает непосредственное участие [25, 29]. Известны два механизма слияния пузырьков: полное и переходное (также известное как kiss-and-run). Ряд исследователей доказывают, что взаимодействие СФ с синаптобrevином может регулировать выбор между kiss-and-run и полным слиянием [20]. Когда синаптический пузырек закреплен на мембране, олигомеры СФ могут быть встроены в мембрану в месте слияния в комплексе с еще неизвестными компонентами плазмолеммы, что вызывает формирование каналов для быстрого освобождения нейромедиаторов во время kiss-and-run или полного слияния. В быстрых синапсах экзоцитоз регулируется ионами кальция. Известно, что цитоплазматический фрагмент СФ содержит кальций-связывающий сайт и, следовательно, может участвовать в кальций-зависимом пусковом механизме, который инициирует слияние мембраны пузырька с пресинаптической мембраной и выделение нейромедиатора в синаптическую щель [54].

Существуют косвенные данные, подтверждающие предположение о важной роли СФ в синаптогенезе. Установлено, что СФ появляется в аксональных конусах роста до формирования синапсов [38]. В ходе изучения процесса образования межклеточных контактов в культуре нервной ткани гиппокампа, содержащей клетки, лишенные СФ, было выявлено значительное снижение плотности расположения синапсов у мутантных клеток по сравнению с СФ-содержащими [53].

Несмотря на представленные доказательства важной роли СФ в нервной клетке, окончательное решение вопроса о его месте в регуляторных механизмах, связанных с выделением нейромедиаторов в нервной системе у млекопитающих, пока не найдено. Ответ на вопрос о функциях СФ существенно затруднен в связи с получением результатов исследований, выполненных на мышах, лишенных гена СФ (нокаутных животных) [40]. Оказалось, что присутствие СФ не является обязательным для функционирования синапсов. Позднее было установлено, что у таких мышей все же имеются некоторые несущественные признаки нарушения синаптических структур [52].

СФ как маркер синаптических структур

Несмотря на отсутствие определенности в решении вопроса о функциональной роли СФ в нервной клетке, иммуноцитохимическую реакцию на СФ широко используют в нейробиологических исследованиях для маркирования синаптических структур. Иммуногистохимическое выявление СФ применяется в исследованиях, касающихся как центральной, так и периферической нервной системы. В ЦНС, в структурах, где количество синапсов велико, а размеры их малы (менее 0,5 мкм) при использовании световой микроскопии трудно различить отдельные синапсы, но можно проводить

оценку плотности их расположения. При помощи сложной математической обработки и оптического сегментирования полученных изображений возможно осуществлять ранжирование выявляемых СФ-иммунопозитивных частиц [9]. Такой подход способствует объективизации представляемых данных и позволяет проводить сравнительный количественный анализ.

Наиболее эффективно реакцию на СФ можно использовать при изучении крупных синапсов (0,5–2 мкм и более). Такие синапсы присутствуют не во всех структурах головного мозга [46]. Среди них особого внимания заслуживают сложные синаптические комплексы зернистого слоя мозжечка — клубочки, которые сформированы при участии терминалей моховидных (афферентных) волокон [62]. В настоящее время разработан методический подход, позволяющий успешно выявлять клубочки мозжечка у человека с помощью реакции на СФ и конфокальной лазерной микроскопии [1].

Для характеристики синаптического аппарата различных цитоархитектонических зон гиппокампа при проведении иммуноцитохимического исследования с использованием реакции на СФ может быть использовано 2 принципиально различных подхода — денситометрический и стереологический анализ [23]. В первом случае проведение исследования требует меньше трудозатрат, однако во втором случае результаты более информативны. Авторами исследования были получены интересные данные, касающиеся глубины проникновения антител при обработке срезов большой толщины (25 мкм). Оказалось, что эффективная реакция на СФ наблюдается на глубине до 13 мкм [23]. К сожалению, в данной статье нет сведений о сроках инкубации срезов с различными реактивами. Поэтому невозможно определить, обусловлено неполное окрашивание срезов свойствами маркера и особенностью ткани или вызвано недостаточной продолжительностью обработки в растворах иммуноцитохимических реагентов.

Наряду с другими маркерами, СФ успешно используется для изучения иннервации различных внутренних органов в норме и при патологии [14–18, 22, 51, 57]. В результате работ, посвященных изучению тимуса, было установлено, что в постнатальном периоде развития его тучные клетки сококализуются с СФ-иммунопозитивными нервными терминалями [3]. С использованием этого маркера выявлялись синаптические структуры в различных отделах сердца [17]. При этом, структура и характер распределения СФ-иммунопозитивных терминалей в оболочках сердца дают основание считать выявляемые структуры эфферентными. В пользу этого свидетельствует и сравнение результатов выявления СФ с результатами реакции на другой нейральный маркер — PGP 9,5 [19], при помощи которого можно определить и афферентные терминали. В этом контексте несколько странным кажется мнение F.C.Shenton и S.Puget о преимущественном накоплении СФ в афферентных нервных волокнах [51]. Столь различный взгляд специалистов на возможность присутствия СФ в афферентных и эфферентных нервных волокнах в периферической нервной системе свидетельствует об актуальности фундаментальных исследований синаптических белков и необходимости использования комплекса маркеров при анализе иннервации внутренних органов.

Очевидно, что экспрессия СФ во внутренних органах тесно связана с распределением в них нервных волокон и количеством синапсов. В связи с этим реакция на СФ часто применяется в онтогенетических исследованиях. Так, S.He и J.Yang [31] изучали развитие слухового аппарата у крысы с применением антител к СФ и синаптобrevину. С использо-

ванием специфических иммуногистохимических маркеров, включая СФ, описаны особенности развития сетчатки глаза у свиньи в эмбриогенезе [30]. Также в ряде исследований метод иммуноцитохимии применяется для оценки экспрессии белка синаптических пузырьков в развивающейся сетчатке глаза у человека, в головном мозгу у развивающихся крыс после пренатальной гипоксии и в условиях снижения количества серотонина [11, 13, 32, 42].

СФ, как маркер, широко используется в изучении нейромышечных синапсов [61]. Отдельно следует остановиться на использовании СФ при изучении дифференцировки нейрогенных клеток в культуре и *in vivo*. СФ, несомненно, является одним из наиболее надежных маркеров нейральной и нейроэндокринной дифференцировки [4]. Поэтому его широко используют при типировании нейроэндокринных опухолей [34, 35] и изучении развития органов нервной системы [47]. При изучении формирования связей центральной и периферической нервной системы в эмбриогенезе также широко применяется иммуногистохимическое выявление СФ. Установление связей между нейронами спинного мозга и чувствительных узлов спинномозговых нервов важно для завершения дифференцировки как тех, так и других. Обнаружено, что формирование синапсов между нервными волокнами чувствительных клеток узлов спинномозговых нервов и нейронами спинного мозга у крысы начинается на 19-е сутки пренатального развития [5].

СФ в нейроэндокринных и других клетках

В настоящее время показано, что экспрессия СФ не ограничивается нейронами. Он был обнаружен в микровезикулах нейроэндокринных клеток нейрального и эпителиального типов. Описана экспрессия СФ в хромоаффинных клетках мозгового вещества надпочечников, в то время как в стероид-продуцирующих клетках коры надпочечников белок не определялся. Иммунопозитивными являются эндокринные клетки аденогипофиза, бронхов, пищеварительного тракта, клетки островков поджелудочной железы, С-клетки щитовидной железы, клетки околотитовидной железы [16, 37, 41, 43, 45]. СФ-иммунореактивность была определена в нейроэпителиальных тельцах легкого [12], которые рассматриваются, преимущественно, как сенсорные структуры. СФ присутствует и в клетках различных нейроэндокринных опухолей [35].

В нейроэндокринных клетках секреторные продукты хранятся в гранулах, которые можно рассматривать как эквивалент крупных (до 200 нм) пузырьков с электронно-плотным ядром, имеющихся в нейронах. Помимо них, нейроэндокринные клетки содержат отличающиеся от типичных секреторных гранул микровезикулы (менее 90 нм в диаметре), которые схожи с синаптическими пузырьками нейронов как по размерам, так и способу участия в экзо- и эндоцитозе. Из-за этих особенностей они были названы микровезикулами синаптического типа [56]. Именно они содержат СФ в эндокринных клетках, хотя некоторые исследователи сообщают о присутствии СФ и в мембранах хромоаффинных гранул [39, 44, 50, 60]. Среди работ, посвященных выявлению СФ в нейроэндокринных клетках, выделяется исследование А.В.Московского, который обнаружил в пульпе зуба у человека клетки, дающие положительную реакцию цитоплазмы на СФ. Кроме СФ-иммунопозитивных клеток, в пульпе зуба присутствовали и клетки, проявляющие реакцию на хромогранин А — общеизвестный маркер нейроэндокринных клеток. К сожалению, в этом исследовании не прово-

дилась идентификация возможных секреторных продуктов этих клеток [8].

Из других клеток (не являющихся ни нервными, ни эндокринными), экспрессирующих СФ, известно только о перисинусоидных, жиронакапливающих клетках (клетки Ито), печени, называемых D.Cassiman и соавт. звездчатыми клетками [24]. Данные исследователи не только установили, что СФ присутствует в этих клетках, но и рекомендовали его как новый маркер. В здоровой и поврежденной печени авторы изучили распределение СФ в интактных, а также в активированных перисинусоидных клетках у человека и крысы. Авторы продемонстрировали наличие множества электронно-прозрачных пузырьков в цитоплазме этих клеток у человека, сравнимых (по их мнению) с синаптическими пузырьками нейронов. Следует заметить, что выводы авторов нуждаются в скрупулезной проверке, поскольку для выявления СФ ими был использован всего один вариант поликлональных антител, а электронные микрофотографии даны без масштабных отрезков, что затрудняет оценку размеров обнаруженных пузырьков. Кроме того, полученные результаты не были подтверждены с использованием ультраструктурного иммуноцитохимического исследования.

Заключение

Приведенные литературные данные и собственный опыт авторов обзора дают основания для заключения, что на сегодняшний день СФ является важнейшим маркером синапсов, позволяющим при помощи световой и конфокальной лазерной микроскопии получать достоверные данные о структурной организации крупных синаптических структур ЦНС. Он незаменим и при исследовании эфферентной иннервации внутренних органов. Использование количественного анализа СФ-иммунопозитивных структур позволяет решать ряд задач, которые ранее можно было решить только с использованием электронной микроскопии. Особого внимания заслуживает неожиданная устойчивость СФ при использовании обычных и специальных методов фиксации [6, 47]. Ассоциация СФ с синаптическими и подобными им пузырьками нейроэндокринных клеток определяет его высокую специфичность как иммуноцитохимического маркера. Несмотря на недостаточную ясность значения СФ для формирования синаптических пузырьков и экзоцитоза нейромедиаторов, функциональная трактовка усиления и ослабления реакции на СФ не вызывает сомнения и определяется увеличением и, соответственно, уменьшением числа синаптических пузырьков и функционирующих синапсов.

В отношении применения реакции на СФ при исследовании иннервации внутренних органов сохраняется неопределенность для трактовки функциональности выявляемых терминалей. Вероятно, дальнейшие исследования с использованием комплекса маркеров афферентных и эфферентных нервных волокон позволят пролить свет на загадочные несоответствия в этом вопросе.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 14-04-00049).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гилович Е.Г., Сухорукова Е.Г., Кирик О.В. и др. Выявление специализированных синаптических групп (гломерул) в мозжечке человека при помощи иммуноцитохимической реакции на синаптофизин и конфокальной лазерной микроскопии // Морфология. 2014. Т. 146, вып. 5. С. 73–77.

2. Григорьев И.П. Ультраструктурные перестройки в коре большого мозга после введения аскорбиновой кислоты в ликвор желудочков // *Арх. анат.* 1988. Т. 75, вып. 11. С. 26–32.
3. Гусельникова В.В., Сухорукова Е.Г., Федорова Е.А. и др. Метод одновременного выявления тучных клеток и нервных терминалей в тимусе лабораторных млекопитающих // *Морфология.* 2014. Т. 145, вып. 2. С. 70–73.
4. Кирик О.В., Петрова Е.С., Григорьев И.П., Колос Е.А. Маркеры дифференциации клеток, применяемые при изучении органов нервной системы // *Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство.* СПб.: СпецЛит, 2014. С. 68–89.
5. Колос Е.А., Коржевский Д.Э. Изучение нейрогенеза в спинномозговых ганглиях крысы с помощью иммуногистохимических маркеров дифференцировки // *Функциональная межполушарная асимметрия и пластичность мозга.* М.: НЦ РАН, 2012. С. 293–296.
6. Коржевский Д.Э., Сухорукова Е.Г., Гилерович Е.Г. и др. Преимущества и недостатки цинк-этанол-формальдегида как фиксатора для иммуноцитохимических исследований и конфокальной лазерной микроскопии // *Морфология.* 2013. Т. 143, вып. 2. С. 81–85.
7. Кучеренко Р.П., Отеллин В.А. Ультраструктура серотонинергической системы двигательной области коры большого мозга // *Арх. анат.* 1990. Т. 98, вып. 6. С. 26–29.
8. Московский А.В. Идентификация клеток с нейральными маркерами в пульпе зуба в норме и патологии // *Морфология.* 2007. Т. 131, вып. 3. С. 37–40.
9. Мыцик А.В., Акулинин В.А., Степанов С.С., Ларионов П.М. Возможности морфометрической характеристики синапсов неокортекса человека при иммуногистохимической верификации // *Сибирский мед. журн.* 2013. Т. 118, № 3. С. 66–69.
10. Отеллин В.А., Кучеренко Р.П., Гилерович Е.Г. и др. Морфологические перестройки в головном мозге, вызванные снижением уровня катехоламинов // *Журн. невропатол. и психиатр.* 1984. Т. 84, № 7. С. 978–981.
11. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Шишко Т.Т. Реакции межнейронных синапсов головного мозга крыс на воздействие гипоксии в ранний период новорожденности // *Морфология.* 2014. Т. 145, вып. 1. С. 7–12.
12. Сырцова М.А., Сухорукова Е.Г., Коржевский Д.Э. Нейроэпителиальные тельца легкого у крысы // *Морфология.* 2014. Т. 145, вып. 1. С. 60–62.
13. Хожай Л.И., Отеллин В.А. Синаптогенез в дорсальном ядре шва продолговатого мозга крысы в условиях дефицита серотонина // *Морфология.* 2012. Т. 142, вып. 6. С. 20–24.
14. Чумасов Е.И., Ворончихин П.А., Коржевский Д.Э. Иннервация сердечной поперечнополосатой мышечной ткани легочных вен крысы // *Морфология.* 2011. Т. 140, вып. 6. С. 53–55.
15. Чумасов Е.И., Ворончихин П.А., Коржевский Д.Э. Эфферентная иннервация сосудов и бронхов легкого крысы (иммуногистохимическое исследование) // *Морфология.* 2012. Т. 142, вып. 4. С. 49–53.
16. Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Петрова Е.С. и др. Морфологическое исследование поджелудочной железы при хроническом панкреатите с использованием иммуногистохимических маркеров // *Мед. академ. журн.* 2013. Т. 13, № 2. С. 71–77.
17. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Иннервация сердца крысы (иммуногистохимическое исследование) // *Морфология.* 2009. Т. 135, вып. 2. С. 33–37.
18. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Распределение и структурная организация автономных нервных аппаратов в поджелудочной железе крысы (иммуногистохимическое исследование) // *Морфология.* 2011. Т. 139, вып. 3. С. 51–57.
19. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Сухорукова Е.Г., Коржевский Д.Э. Распределение PGP9.5-иммунопозитивных нервных волокон в сердце человека // *Мед. академ. журн.* 2013. Т. 13, № 1. С. 61–66.
20. Arthur C.P., Stowell M.H. Structure of synaptophysin: a hexameric MARVEL-domain channel protein // *Structure.* 2007. Vol. 15, № 6. P. 707–714.
21. Becher A., Drenckhahn A., Pahner I. et al. The synaptophysin-synaptobrevin complex: a hallmark of synaptic vesicle maturation // *J. Neurosci.* 1999. Vol. 19, № 6. P. 1922–1931.
22. Böttner M., Harde J., Barrenschee M. et al. GDNF induces synaptic vesicle markers in enteric neurons // *Neurosci. Res.* 2013. Vol. 77, № 3. P. 128–136.
23. Calhoun M.E., Jucker M., Martin L.J. et al. Comparative evaluation of synaptophysin-based methods for quantification of synapses // *J. Neurocytol.* 1996. Vol. 25, № 12. P. 821–828.
24. Cassiman D., Van Pelt J., De Vos R. et al. Synaptophysin: A novel marker for human and rat hepatic stellate cells // *Am. J. Pathol.* 1999. Vol. 155, № 6. P. 1831–1839.
25. De Camilli P., Jahn R., Pathways to regulated exocytosis in neurons // *Annu. Rev. Physiol.* 1990. Vol. 52. P. 625–645.
26. De Camilli P., Vitadello M., Canevini M.P. et al. The synaptic vesicle proteins synapsin I and synaptophysin (protein P38) are concentrated both in efferent and afferent nerve endings of the skeletal muscle // *J. Neurosci.* 1988. Vol. 8, № 5. P. 1625–1631.
27. Dechesne C.J., Kauff C., Stettler O., Tavittan B. Rab3A immunolocalization in the mammalian vestibular end-organs during development and comparison with synaptophysin expression // *Brain Res. Dev. Brain. Res.* 1997. Vol. 99, № 1. P. 103–111.
28. Demêmes D., Seoane A., Venteo S., Desmadryl G. Efferent function of vestibular afferent endings? Similar localization of N-type calcium channels, synaptic vesicle and synaptic membrane-associated proteins // *Neuroscience.* 2000. Vol. 98, № 2. P. 377–384.
29. El Far O., Betz H. Synaptophysins: vesicular cation channels // *J. Physiol.* 2002. Vol. 539, № 2. P. 332.
30. Ghosh F., Taylor L., Arnér K. Exogenous glutamate modulates porcine retinal development in vitro // *Dev. Neurosci.* 2012. Vol. 34, № 5. P. 428–439.
31. He S., Yang J. Maturation of neurotransmission in the developing rat cochlea: immunohistochemical evidence from differential expression of synaptophysin and synaptobrevin 2 // *Eur. J. Histochem.* 2011. Vol. 55, № 1. P. 5–10.
32. Hendrickson A., Possin D., Vajzovic L., Toth C.A. Histologic development of the human fovea from midgestation to maturity // *Am. J. Ophthalmol.* 2012. Vol. 154, № 5. P. 767–778.
33. Jahn R., Schiebler W., Ouimet C., Greengard P. A 38,000-dalton membrane protein (p38) present in synaptic vesicles // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985. Vol. 82, № 12. P. 4137–4141.
34. Jensen S.M., Gazdar A.F., Cuttitta F. et al. A comparison of synaptophysin, chromogranin, and L-dopa decarboxylase as markers for neuroendocrine differentiation in lung cancer cell lines // *Cancer Res.* 1990. Vol. 50, № 18. P. 6068–6074.

35. Kasprzak A., Zabel M., Biczysko W. Selected markers (chromogranin A, neuron-specific enolase, synaptophysin, protein gene product 9.5) in diagnosis and prognosis of neuroendocrine pulmonary tumours // *Pol. J. Pathol.* 2007. Vol. 58, № 1. P. 23–33.
36. Kwon S.E., Chapman E.R. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons // *Neuron.* 2011. Vol. 70, № 5. P. 847–854.
37. Lahr G., Gratzl M. Membrane proteins as markers for normal and neoplastic endocrine cells // *Molecular diagnostics of cancer.* Berlin, New York, Springer-Verlag, 1993. P. 117–129.
38. Leclerc N., Beesley P.W., Brown I. et al. Synaptophysin expression during synaptogenesis in the rat cerebellar cortex // *J. Comp. Neurol.* 1989. Vol. 280. P. 197–212.
39. Lowe A.W., Madeddu L., Kelly R.B. Endocrine secretory granules and neuronal synaptic vesicles have three integral membrane proteins in common // *J. Cell. Biol.* 1988. Vol. 106, № 1. P. 51–59.
40. McMahon H.T., Bolshakov V.Y., Janz R. et al. Synaptophysin, a major synaptic vesicle protein, is not essential for neurotransmitter release // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93, № 10. P. 4760–4764.
41. Molenaar W.M., Baker D.L., Pleasure D. et al. The neuroendocrine and neural profiles of neuroblastomas, ganglioneuroblastomas, and ganglioneuromas // *Am. J. Pathol.* 1990. Vol. 136, № 2. P. 375–382.
42. Nag T.C., Wadhwa S. Differential expression of syntaxin-1 and synaptophysin in the developing and adult human retina // *J. Biosci.* 2001. Vol. 26, № 2. P. 179–191.
43. Navone F., Jahn R., Di Gioia G. et al. Protein p38: an integral membrane protein specific for small vesicles of neurons and neuroendocrine cells // *J. Cell Biol.* 1986. Vol. 103, № 6. P. 2511–2527.
44. Obendorf D., Schwarzenbrunner U., Fischer-Colbrie R. et al. In adrenal medulla synaptophysin (protein p38) is present in chromaffin granules and in a special vesicle population // *J. Neurochem.* 1988. Vol. 51, № 5, p.1573–1580.
45. Redecker P., Jörns A., Jahn R., Grube D. Synaptophysin immunoreactivity in the mammalian endocrine pancreas // *Cell Tissue Res.* 1991. Vol. 264, № 3. P. 461–467.
46. Rollenhagen A., Sätzler K., Rodríguez E.P. et al. Structural determinants of transmission at large hippocampal mossy fiber synapses // *J. Neurosci.* 2007. Vol. 27, № 39. P. 10434–10444.
47. Sarnat H.B. Clinical neuropathology practice guide 5–2013: markers of neuronal maturation // *Clin. Neuropathol.* 2013. Vol. 32, № 5. P. 340–369.
48. Scarfone E., Demêmes D., Jahn R. et al. Secretory function of the vestibular nerve calyx suggested by presence of vesicles, synapsin I, and synaptophysin // *J. Neurosci.* 1988. Vol. 8, № 12. P. 4640–4645.
49. Scarfone E., Demêmes D., Sans A. Synapsin I and Synaptophysin expression during ontogenesis of the mouse peripheral vestibular system // *J. Neurosci.* 1991. Vol. 11, № 5. P. 1173–1181.
50. Schmidle T., Weiler R., Desnos C. Synaptin/synaptophysin, p65 and SV2: their presence in adrenal chromaffin granules and sympathetic large dense core vesicles // *Biochim. Biophys. Acta.* 1991. Vol. 1060, № 3. P. 251–256.
51. Shenton F.C., Pyner S. Expression of transient receptor potential channels TRPC1 and TRPV4 in venoatrial endocardium of the rat heart // *Neuroscience.* 2014. Vol. 267. P. 195–204.
52. Spiwox-Becker I., Vollrath L., Seeliger M.W. et al. Synaptic vesicle alterations in rod photoreceptors of synaptophysin-deficient mice // *Neuroscience.* 2001. Vol. 107, № 11. P. 127–142.
53. Tarsa L., Goda Y. Synaptophysin regulates activity-dependent synapse formation in cultured hippocampal neurons // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99, № 2. P. 1012–1016.
54. Thiel G. Synapsin I, synapsin II, and synaptophysin: marker proteins of synaptic vesicles // *Brain Pathol.* 1993. Vol. 3, № 1. P. 87–95.
55. Thiele C., Hannah M.J., Fahrenholz F., Huttner W.B. Cholesterol binds to synaptophysin and is required for biogenesis of synaptic vesicles // *Nat. Cell Biol.* 2000. Vol. 2, № 1. P. 42–49.
56. Thomas-Reetz A.C., De Camilli P. A role for synaptic vesicles in non-neuronal cells: clues from pancreatic beta cells and from chromaffin cells // *FASEB J.* 1994. Vol. 8, № 2. P. 209–216.
57. Tosios K.I., Nikolakis M., Prigkos A.C. et al. Nerve cell bodies and small ganglia in the connective tissue stroma of human submandibular glands // *Neurosci. Lett.* 2010. Vol. 475, № 1. P. 53–55.
58. Valtorta F., Pennuto M., Bonanomi D., Benfenati F. Synaptophysin: leading actor or walk-on role in synaptic vesicle exocytosis // *Bioessays.* 2004. Vol. 26, № 4. P. 445–453.
59. Wiedenmann B., Franke W.W. Identification and localization of synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles // *Cell.* 1985. Vol. 41, №3. P. 1017–1028.
60. Winkler H. The adrenal chromaffin granule: a model for large dense core vesicles of endocrine and nervous tissue // *J. Anat.* 1993. Vol. 183, № 2. P. 237–252.
61. Wu H., Mei L. Morphological analysis of neuromuscular junctions by immunofluorescent staining of whole-mount mouse diaphragms // *Methods Mol. Biol.* 2013. Vol. 1018. P. 277–285.
62. Xu-Friedman M.A., Regehr W.G. Ultrastructural contributions to desensitization at cerebellar mossy fiber to granule cell synapses // *J. Neurosci.* 2003. Vol. 23, № 6. P. 2182–2192.

Поступила в редакцию 21.04.2014

A SYNAPTIC MARKER SYNAPTOPHYSIN

Ye.A. Kolos, I.P. Grigoriyev, D.E. Korzhhevskiy

The review summarizes the current data on synaptophysin (SYP), its functional role in the cell and the use of SYP immunocytochemistry for labeling the synaptic contacts. SYP is a transmembrane glycoprotein found in small presynaptic vesicles of the nerve cells and in microvesicles of the neuroendocrine cells. Literature data and the authors' own experience suggest that currently SYP is an important synaptic marker, which allows, with the use of light and confocal laser microscopy, to obtain the reliable data on the morphological organization of the synaptic structures in the central nervous system. It is also indispensable in the study of the efferent innervation of the internal organs. Application of the quantitative analysis of SYP-immunopositive structures using light and confocal laser microscopy allows to solve some problems that previously could be solved only by using electron microscopy.

Key words: *neuroendocrine cells, neurons, synapses, synaptophysin*

Laboratory of the Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology, RAS North-Western Branch Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg