

## РОЛЬ ДЕПОЛИМЕРИЗАЦИИ АКТИНА В ИЗМЕНЕНИИ ТОРМОЗНЫХ ВЛИЯНИЙ НА ДОЛГОВРЕМЕННУЮ ПОТЕНЦИАЦИЮ ВОЗБУЖДАЮЩИХ СИНАПСОВ ГИППОКАМПА КРЫС

© 2024 г. И. В. Кудряшова<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН», Москва, Россия

\*e-mail: iv\_kudryashova@mail.ru

Поступила в редакцию 22.03.2024 г.

После доработки: 15.05.2024 г.

Принята к публикации 22.07.2024 г.

Для исследования изменения эффективности торможения при долговременной потенциации в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс был использован метод парной стимуляции. Коэффициенты торможения вычисляли по соотношению зависимых и независимых от ТПСП реакций. В экспериментальной группе срезов тетанизация коллатералей Шаффера производилась на фоне джасплакинолида, ингибитора деполимеризации, применяемого также для индукции полимеризации актина. Обнаружено, что особенности развития CA1 LTP при индукции на фоне блокады деполимеризации актина включают изменение динамики модификаций тормозного компонента реакций на парную стимуляцию. Первоначальное усиление торможения зависело от его исходного уровня, и изменения при аппликации джасплакиналида до начала тетанизации могут быть главной причиной межгрупповых различий. Поэтому этот фактор учитывался при анализе изменений, специфичных для блокады ранней фазы деполимеризации актина. Показано, что к ним относится нарушение процесса растормаживания в фазе консолидации и поддержания LTP. Предполагается, что координирующая роль актинового цитоскелета определяет сбалансированность долговременных модификаций возбуждающих и тормозных синапсов.

**Ключевые слова:** гиппокамп, долговременная потенциация, дестабилизации синапсов, деполимеризация актина, джасплакинолид, растормаживание, бисинаптическое торможение

**DOI:** 10.31857/S0044467724060033

Способность синапса поддерживать относительно стабильное состояние и менять его в зависимости от индивидуального опыта находится под контролем образующих нейронный ансамбль клеток. К ним относятся разнообразные интернейроны и глиальные клетки. Их функции в нейросетевой пластичности не всегда достаточно изучены, за исключением некоторых видов тормозных интернейронов. Возбуждающий сигнал, поступающий к пирамидным нейронам гиппокампа и других ассоциативных отделов мозга, нередко сопровождается одновременной активацией тормозных интернейронов. Их синапсы оканчиваются на дендритах и соме тех же пирамидных клеток (Bloss et al., 2016; Rivasenga et al., 2022). Для нестабильных сетей «обучающихся» систем нейронов с высоким адаптационным потенциалом особое значение приобретают синапсы, расположенные на дендритах (Bloss et al., 2016; Rivasenga et al., 2022).

Феномен долговременной синаптической потенциации (LTP) представляет одну из наиболее распространенных моделей долговременной синаптической пластичности, которая позволяет выявить механизмы, лежащие в основе увеличения синаптической эффективности. Активация ключевых для синаптической пластичности ферментов происходит при изменении внутриклеточного содержания кальция. Гиперполяризация нейрона ограничивает приток кальция в дендритные компартменты, в том числе может приводить к снижению вероятности открытия NMDA каналов (Bartley, Dobrunz, 2015; Rivasenga et al., 2022). Слишком сильное торможение может в той или иной степени препятствовать достижению необходимой для консолидации LTP пороговой концентрации внутриклеточного кальция (Кудряшова, 2015; Gandolfi et al., 2020).

Выступая в качестве ограничителя длительного поддержания модификаций, которые происходят

при активации возбуждающих синапсов (Кудряшова, 2015; Gandolfi et al., 2020), тормозные синапсы и сами способны к модификациям при изменении уровня активации нейронов (Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Ravasenga et al., 2022). Не только возбуждающие, но и тормозные синапсы реагируют на высокочастотное раздражение, и их эффективность тоже меняется в ходе LTP (Ormond, Woodin, 2009; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Ravasenga et al., 2022). Проблема участия тормозных синапсов в LTP-зависимых перестройках включает исследования механизмов изменения их эффективности, которые происходят в фазе консолидации и контролируют поддержание LTP. Было обнаружено, что потенциация возбуждающих синапсов часто сопровождается депрессией тормозных потенциалов (Lu et al., 2000; Ormond, Woodin, 2009; Кудряшова, 2015; Hennequin et al., 2017; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). По некоторым данным, растормаживание совпадает с началом процесса консолидации (Ormond, Woodin, 2009; Кудряшова, 2015). При этом эффект растормаживания может выступать не только, или даже не столько как фактор, определяющий порог модификаций, но и как дополнительный фактор, стимулирующий структурную пластичность (Кудряшова, 2015; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020), тем самым обеспечивая поддержание LTP возбуждающих синапсов (Ormond, Woodin, 2009; Кудряшова, 2015).

Другим известным фактором консолидации является дестабилизация синапсов (Кудряшова, 2015). Согласно представлениям о структурной реорганизации синапсов как основе долговременной пластичности, для начала преобразований необходима их предварительная дестабилизация (Ouyang et al., 2005; Meyer et al., 2014; Кудряшова, 2019). Дестабилизация синапсов, которая происходит вскоре после индукции LTP, тесно связана с реорганизацией актинового цитоскелета (Ouyang et al., 2005; Cingolani, Goda, 2008; Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Yan et al., 2016; Borovac et al., 2018; Кудряшова, 2019; Runge et al., 2020). Данные электрофизиологических экспериментов свидетельствуют о том, что реполимеризация актина необходима для долговременной пластичности возбуждающих синапсов (Ouyang et al., 2005; Ramachandran, Frey, 2009). В том числе зависимые от актина модификации обнаружены при исследовании LTP, включая LTP поля CA1 (Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Galvez et al., 2016).

Стабильное состояние сигнальных и регуляторных белков, определяющих эффективность синапса, поддерживается их взаимодействием со скелетными, стеллажными и якорными белками (Pizzarelli et al., 2020). Как правило, специальные белки, взаимодействующие с полимеризованным актином, обеспечивают устойчивость актиновых филаментов, в том числе и специфичные для тормозных

синапсов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Yan et al., 2016). Молекулярной основой дестабилизации синапсов является деполимеризация актина (Cingolani, Goda, 2008; Ouyang et al., 2005; Кудряшова, 2019; Borovac et al., 2018). В реакции принимают участие множество регуляторных белков, в целом образуя сложную систему регуляции процессов деполимеризации и полимеризации актина (Cingolani, Goda, 2008; Lin, Webb, 2009; Gordon-Weeks, Fournier, 2014). Тот факт, что деполимеризующие актин регуляторные белки реагируют на активацию NMDA рецепторов, свидетельствует в пользу их участия в синаптической пластичности (Cingolani, Goda, 2008). В частности, для начала процесса деполимеризации необходимо дефосфорилирование кофилина (Lin, Webb 2009; Gu et al., 2010). Показано, что дефосфорилирование кофилина и, соответственно, снижение содержания F-актина в дендритных шипиках происходит при достаточно интенсивной активации нейронов (Cingolani, Goda, 2008; Rex et al., 2010; Cao et al., 2017). Что касается LTP, этот эффект может быть обнаружен уже через 5 минут, но не позже чем через 30 минут после тетанизации (Ouyang et al., 2005; Borovac et al., 2018). Блокада NMDA рецепторов приостанавливает все реакции, связанные с дефосфорилированием кофилина и деполимеризацией актина (Ouyang et al., 2005). Дополнительные подтверждения зависимых от актина механизмов консолидации были получены в экспериментах с использованием ингибиторов полимеризации и деполимеризации. В частности, было обнаружено, что тетанизация на фоне блокатора деполимеризации актина джасплакинолида блокирует транспорт СaMKII в дендритные шипики и ослабляет LTP, что свидетельствует в пользу гипотезы о необходимости деполимеризации актина в фазе дестабилизации (Ouyang et al., 2005; Rex et al., 2010).

Проблема участия деполимеризации актина и растормаживания в качестве условий, от которых зависит успешность консолидации LTP, предусматривает определение степени согласованности этих двух факторов с точки зрения их совместного влияния на длительность поддержания LTP. Вместе с тем остается открытым вопрос о влиянии деполимеризации актина на посттетанические модификации тормозных синапсов, хотя и известно, что актиновый цитоскелет имеет непосредственное отношение к подавляющему большинству постсинаптических модификаций, включая динамическую реорганизацию постсинаптических структур, удаление, встраивание и стабилизацию ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Maynard, Triller, 2019; Pizzarelli et al., 2020; Кудряшова, 2023). К тому же процедуры, влияющие на реполимеризацию актина, меняют активность не только возбуждающих, но и тормозных синапсов (Gandolfi et al., 2020; Кудряшова, 2022). Это предполагает возможность

влияния структурных перестроек в фазе консолидации на эффективность не только возбуждающих, но и расположенных на шипиках тормозных синапсов. Исходя из этого, можно предположить, что эффект растормаживания в фазе консолидации и поддержания LTP может быть следствием деполимеризации актина сразу после тетанизации. С другой стороны, посттетанические модификации возбуждающих и тормозных синапсов могут развиваться независимо друг от друга, как реакция на кальциевый сигнал (Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022; Ravasenga et al., 2022). К тому же, как правило, одни и те же ферменты являются источником постсинаптических модификаций возбуждающих и тормозных синапсов, и, в частности, интенсивная активация NMDA рецепторов, обеспечивающая встраивание глутаматных рецепторов, приводит к дефосфорилированию ГАМК<sub>A</sub> рецепторов и снижению амплитуды ТПСП (Marsden et al., 2010). Все эти механизмы могут обеспечивать зависимость эффекта растормаживания от деполимеризации актина.

В пирамидных нейронах поля CA1 в ответ на стимуляцию коллатералей Шаффера регистрируется сложный постсинаптический потенциал, который состоит из первоначального ВПСП, на фоне которого развивается более поздний ТПСП. ТПСП генерируется тормозными интернейронами поля CA1, которые, так же как и пирамидные нейроны, иннервируются коллатералами Шаффера (Ormond, Woodin, 2009). В частности, тормозные интернейроны гиппокампа вовлечены в кратковременную пластичность при парной стимуляции. При этом тормозные потенциалы ограничивают возможность генерации потенциала действия определенным интервалом времени. Поэтому при парной стимуляции с достаточно короткими межстимульными интервалами пресинаптическая фасилитация (paired pulse facilitation, далее PPF), суммируясь с тормозным потенциалом, не в состоянии обеспечить максимально возможный прирост амплитуды постсинаптического ответа, причем генерация высокоамплитудных ТПСП может приводить к отсутствию PPF или даже кратковременной депрессии (paired pulse depression, PPD) возбуждающих синапсов. Об участии тормозных синапсов в кратковременной пластичности в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс свидетельствует тот факт, что эффект подавления PPF при коротких межстимульных интервалах блокируется бикукулином (Кудряшова, 2015). Соответственно, по соотношению зависимых и независимых от ТПСП реакций на парную стимуляцию можно количественно определить вклад тормозных потенциалов в модуляцию свойств кратковременной пластичности. В нашей работе эффект кратковременного подавления PPF<sub>15</sub> относительно PPF<sub>70</sub> был использован для вычисления «коэффициентов

торможения» (Кудряшова, 2015; Кудряшова, 2022). Этот метод дает возможность проследить динамику взаимодействия LTP зависимых модификаций возбуждающих и тормозных синапсов, в том числе и при блокаде ранней фазы деполимеризации актина.

Ингибитор деполимеризации актина джасплакинолид проникает через клеточную мембрану (Bubb et al., 2000), что в значительной степени снижает методические ограничения при исследовании функций актина в центральных синапсах высших позвоночных животных. Предполагалось, что как ингибитор деполимеризации джасплакинолид будет ограничивать дестабилизацию синапсов. Необходимо отметить, что непродолжительность фазы деполимеризации создает методические трудности для определения возникающих при ее блокаде нарушений. К тому же джасплакинолид применяют *in vitro* не только как ингибитор деполимеризации, но и как активатор полимеризации актина (Bubb et al., 2000). Поэтому его эффекты зависят от момента аппликации. К сожалению, при исследовании LTP этот ингибитор используется чаще всего слишком поздно, так что момент предполагаемой деполимеризации актина в ответ на индуцирующие долговременную пластичность сигналы уже упущен. В частности, джасплакинолид улучшает LTP, предотвращая депотенциацию в фазе поддержания (Rex et al., 2010; Galvez et al., 2016). Более сложным представляется применение джасплакинолида для блокады ранней фазы LTP, связанной с деполимеризацией актина. В частности, влияние блокатора на процесс консолидации может осложниться действием сопутствующих факторов. Ранее показано, что предварительная инкубация с джасплакинолидом может изменять свойства синаптических реакций еще до тетанизации (Кудряшова, 2022; 2023), что делает выборки для сравнения LTP исходно неравнозначными. Такие изменения, несомненно, вносят вклад в последующие перестройки синаптической активности, и их необходимо учитывать при исследовании специфичных для дестабилизации синапсов нарушений.

Влияние джасплакинолида на эффективность тормозных синапсов (Кудряшова, 2023) подразумевает возможность изменения закономерностей их участия в долговременной пластичности. Задачей работы было исследование влияния ингибитора деполимеризации актина джасплакинолида на посттетанические изменения тормозного компонента реакций как одного из существенных факторов консолидации LTP. С этой целью в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс была проанализирована динамика изменения коэффициентов торможения после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера в норме или на фоне джасплакинолида. Для выявления специфичных для фазы дестабилизации синапсов эффектов джасплакинолида различия

в величине тормозного компонента до тетанизации учитывались в качестве дополнительного действующего фактора.

## МЕТОДИКА

Электрофизиологические эксперименты проводились на переживающих срезах гиппокампа крыс Вистар массой 90–180 г. Состав перфузационной среды (мМ): NaCl 124; KCl 5; MgSO<sub>4</sub> \* 7H<sub>2</sub>O 1.3; CaCl<sub>2</sub> 2.5; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1; NaHCO<sub>3</sub> 26; D-глюкоза – 10; карбоген – 95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>; pH 7.3–7.4, температура 30° С. Для регистрации фокальных потенциалов в пирамидном слое поля CA1 использовались стеклянные микроЭлектроды, заполненные 0,33-ным раствором хлористого натрия. Раздражающие биполярные электроды устанавливали в радиальном слое на коллатерали Шаффера. Для индукции LTP применялось высокочастотное раздражение коллатералей Шаффера 100 Гц, 1 с. Во всех экспериментах для тетанизации использована максимальная интенсивность раздражения (14 В). До и в течение 1 ч после тетанизации тестирование моносинаптических фокальных потенциалов производилось каждые 30 с в режиме парной стимуляции с чередованием межстимульных интервалов 70 мс и 15 мс.

В экспериментальной группе срезов тетанизация коллатералей Шаффера производилась на фоне ингибитора деполимеризации и активатора полимеризации актина джасплакинолида (0.2 μM). Перфузия раствором, содержащим джасплакинолид, осуществлялась для каждого среза индивидуально. Не прекращая тестирования, этот раствор постепенно подводили к одному из срезов непосредственно в область регистрации в течение 20 минут с помощью программируемого микропомп-инъектора без отключения основного протока. Такой способ подведения позволяет минимизировать эффект смены протока. Порядок тестирования зависел от расположения среза в экспериментальной камере, начиная с наиболее удаленного по ходу основного протока. Чтобы минимизировать зависимость испытаний при тестировании срезов одного и того же животного, использовалась разная интенсивность раздражения. Срезы контрольных животных подвергались тем же процедурам, за исключением аппликации джасплакинолида. Учитывая тот факт, что активирующее или блокирующее консолидацию действие джасплакинолида зависит от момента аппликации, а главной мишенью при исследовании особенностей развития LTP в инкубированных с джасплакинолидом срезах была фаза деполимеризации актина, которая начинается почти сразу после индукции, тетанизация производилась через 5 мин после добавления в перфузционную среду джасплакинолида. Чтобы исключить активирующее

влияние на полимеризацию актина в фазе консолидации, подачу джасплакинолида прекращали через 15 минут после тетанизации.

Метод определения коэффициентов торможения основан на эффекте подавления PPF при коротких межстимульных интервалах. Для определения коэффициентов, характеризующих эффективность тормозных влияний, сравнивали парную фасилитацию при одной и той же интенсивности тестирующего раздражения, но с разными межстимульными интервалами. Вычисления производились на основании двух последовательных предъявлений парных стимулов, с межстимульным интервалом 15 мс и 70 мс, с измерением амплитуды популяционного спайка (как более зависимого от ТПСП показателя) первого и второго в паре ответа ( $A_{1(15\text{мс})}$ ,  $A_{1(70\text{мс})}$ ,  $A_{2(15\text{мс})}$ ,  $A_{2(70\text{мс})}$ ) и их соотношения (paired pulse ratio,  $PPR_{70} = A_{2(70\text{мс})}/A_{1(70\text{мс})}$ ,  $PPR_{15} = A_{2(15\text{мс})}/A_{1(15\text{мс})}$ ,  $PPR > 1$  и  $PPR < 1$  означали PPF или PPD соответственно). С целью оптимизации метода было использовано несколько зависимых от эффективности тормозных влияний количественных показателей. Для количественного сравнения величины прироста при разных межстимульных интервалах определяли разницу между  $PPR_{70}$  и  $PPR_{15}$  ( $PPR_{15} - PPR_{70}$ ) и амплитудами второго ответа ( $A_{2(15\text{мс})} - A_{2(70\text{мс})}$ ), а также соотношение амплитуд второго ответа ( $A_{2(15\text{мс})}/A_{2(70\text{мс})}$ ). Использование относительных показателей исключает влияние фактора индивидуальной вариабельности величины амплитуды ответа, в том числе из-за условий регистрации. Чтобы избежать деления на ноль, в данной работе для вычисления коэффициентов торможения использован показатель  $(A_{1(15\text{мс})} + A_{2(15\text{мс})})/(A_{1(70\text{мс})} + A_{2(70\text{мс})})$ . При этом следует заметить, что вычисление коэффициентов торможения по соотношению активности зависимых и независимых от ТПСП компонентов реакций подразумевает их обратную корреляцию с действительной величиной тормозных реакций.

Для более точного определения специфичных для дестабилизации изменений, при статистическом сравнении динамики LTP-зависимых модификаций в контрольных и инкубированных с джасплакинолидом срезах введен дополнительный фактор, учитывающий различия в эффективности тормозных влияний до тетанизации. Помимо всего прочего, это позволило контролировать межгрупповые различия, связанные с необходимостью аппликации джасплакинолида до тетанизации. Критерием распределения в ту или иную подгруппу была низкая или высокая (относительно среднего уровня всей выборки в целом) эффективность тормозных влияний непосредственно перед тетанизацией. Для определения статистической значимости влияния джасплакинолида на специфические характеристики LTP-зависимых модификаций были использованы Anova (Repeated Measure), двухфакторный Anova и t-критерий Стьюдента.

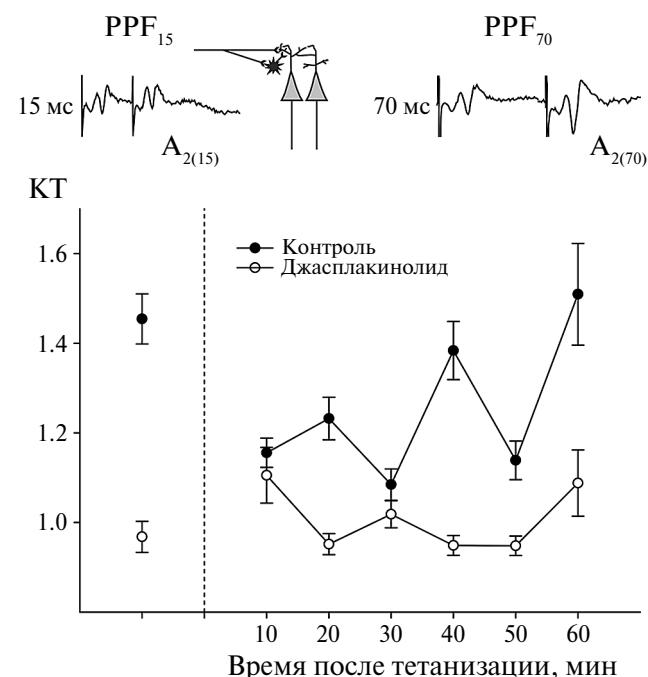
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании влияния джасплакинолида на свойства кратковременной пластичности в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс было обнаружено, что блокада деполимеризации и активация полимеризации актина увеличивает вероятность выброса медиатора возбуждающих синапсов и тормозный компонент реакции на парную стимуляцию (Кудряшова, 2022; 2023). При исследовании особенностей развития CA1 LTP в группе экспериментальных срезов тетанизация коллатералей Шаффера производилась на фоне джасплакинолида, и предварительное изменение входных характеристик может быть одной из причин дефицита LTP при его аппликации еще до начала тетанизации. Ранее было показано, что характерные для обработанных с джасплакинолидом срезов низкие значения PPF больше не меняются после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера, что в целом подтверждает возможность окклюзии пресинаптической LTP из-за исходно высокой вероятности выброса медиатора (Кудряшова, 2023). Различия в эффективности исходного торможения также, по-видимому, могут затруднять выявление эффектов, связанных с блокадой дестабилизации синапсов. Поэтому при статистическом сравнении LTP в контрольных и инкубированных с джасплакинолидом срезах необходимо контролировать разные свойства исходных выборок, и прежде всего – баланс возбуждения и торможения.

Для исследования динамики изменения коэффициентов торможения было использовано 10 контрольных и 14 экспериментальных животных. Сравнение средних величин LTP в контрольной и экспериментальной группах показало, что прирост амплитуды ответа после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера на фоне джасплакинолида был достоверно ниже ( $120 \pm 10\%$  и  $196 \pm 13\%$ ,  $F(1,238) = 29.61, p = 0.000$ ), и одним из возможных объяснений может быть окклюзия пресинаптической LTP. Пресинаптическая LTP в контрольных срезах сопровождалась снижением PPF, что свидетельствует об увеличении вероятности выброса медиатора. Достоверное снижение PPF наблюдалось сразу после тетанизации ( $2.34 \pm 0.07$  до и  $1.73 \pm 0.05$  после тетанизации,  $t = 7.02, p = 0.0000$  для зависимых переменных).

Одновременно с этим в контрольных срезах сразу после тетанизации обнаружено достоверное уменьшение коэффициентов торможения ( $1.45 \pm 0.05$  до и  $1.15 \pm 0.03$  после тетанизации,  $t = 5.78, p = 0.0000$  для зависимых переменных), что свидетельствует об усилении тормозных влияний. Такое же уменьшение коэффициентов торможения происходило после аппликации джасплакинолида еще до тетанизации, и, вероятно, поэтому их величина больше не снижалась (рис. 1). Так же как

посттетаническое снижение коэффициентов торможения в контрольных срезах, аналогичный эффект джасплакинолида тоже ассоциирован со снижением



**Рис. 1.** Динамика изменения коэффициентов торможения в поле CA1 после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера. Абсцисса – время после тетанизации, мин; ордината – абсолютные значения коэффициентов торможения  $(A_{1(15\text{ms})} + A_{2(15\text{ms})}) / (A_{1(70\text{ms})} + A_{2(70\text{ms})})$ . Обоснование выбора формулы для расчетов представлено в разделе «Методы». Здесь отметим, что снижение величины этого показателя, как следует из формулы, обозначает усиление тормозных влияний. Результаты представлены в виде  $M \pm S.E.M.$ . Пунктиром отмечен момент тетанизации. Темные символы – изменения в контрольной группе, светлые символы – изменения при тетанизации на фоне джасплакинолида. В верхней части рисунка представлены примеры реакций на парную стимуляцию с межстимульными интервалами 15 и 70 мс. Измеряемые величины обозначены используемыми в тексте символами. Схема объясняет возможность подавления  $PPF_{15}$  за счет бисинаптического ТПСП.

**Fig. 1.** The dynamics of inhibition coefficients in CA1 area changed after high frequency stimulation of Schaffer collaterals. Abscissa – time after tetanization, min; ordinate – absolute values of inhibition coefficients  $(A_{1(15\text{ms})} + A_{2(15\text{ms})}) / (A_{1(70\text{ms})} + A_{2(70\text{ms})})$ . This formula use is explained in the “Methods”. Note here that decreased value of this index, as follows from formula, means larger inhibition. The results are presented as mean  $\pm$  S. E. M. Dotted line indicates time point of tetanization. Dark symbols – control group; light symbols – experimental group, tetanization with jasplakinolide in perfusion medium. Experimental traces at the top represent responses to paired pulse stimulation with 15 ms and 70 ms interpulse intervals. Taken for measurement parameters indicated by the used in the text symbols. The scheme illustrates a possibility of  $PPF_{15}$  suppression by disynaptic IPSP.

PPF возбуждающих синапсов и, вероятно, может объясняться активацией дополнительных тормозных интернейронов и синапсов при увеличении секреции медиатора. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что усиление торможения сразу после тетанизации наблюдается только при условии LTP и зависит от ее величины. Соответственно, значимая корреляция между первоначальным снижением коэффициентов торможения и величиной ранней LTP ( $r = -0.73, p < 0.000$ , рис.2, темные символы), скорее всего, определяется не причинно-следственной связью, а влиянием общего фактора, тем более что увеличение ТПСП скорее ограничивает прирост амплитуды ответа.

Та же закономерность и, в частности, значимая корреляция между первоначальным снижением коэффициентов торможения и величиной ранней LTP выявлялась также и в экспериментальной группе срезов ( $r = -0.45, p < 0.000$ , рис. 2, светлые символы). Однако при таком же уровне снижения коэффициентов торможения величина ранней потенциации на фоне джасплакинолида была существенно меньше. В рамках представлений, учитывающих исходное торможение как фактор, определяющий порог модификаций, это может быть связано не только с окклюзией

пресинаптической LTP из-за исходно высокой вероятности выброса медиатора, но и с увеличением порога индукции постсинаптических модификаций на фоне повышенной активности тормозных синапсов, наблюдавшейся после аппликации джасплакинолида.

Через 10 минут после тетанизации начинается рост коэффициентов торможения, и к 40-й минуте их величина в среднем достигает контрольного, а затем и более высокого уровня. Этот факт вряд ли может объясняться угашением пресинаптической LTP, тем более что значимое снижение PPF относительно исходного уровня сохранялось в среднем до конца регистрации (через час после тетанизации  $t = 5.39, p = 0.0000$  для зависимых переменных). В соответствии с литературными данными можно предположить, что на фоне пресинаптической потенциации появляются первые признаки постсинаптического растормаживания. Обращает на себя внимание тот факт, что такой же эффект растормаживания отсутствовал в экспериментальной группе срезов, за исключением почти значимой тенденции к увеличению коэффициентов торможения в первые 10 минут после тетанизации ( $0.97 \pm 0.03$  до и  $1.11 \pm 0.06$  после тетанизации,  $t = 1.9, p = 0.05$  для зависимых переменных). К тому же при дальнейшем тестировании не было обнаружено значимых различий между коэффициентами торможения до и после тетанизации, и лишь незначительный прирост наблюдался к 30-й ( $1.02 \pm 0.03, t = 1.07, p = 0.28$  для зависимых переменных) и 60-й минуте ( $1.09 \pm 0.07, t = 1.5, p = 0.13$  для зависимых переменных). Такая неустойчивость изменений не позволяет сделать окончательный вывод об их возможной причастности к эффекту растормаживания.

Чтобы исключить влияние фактора различий исходной величины коэффициентов торможения в контрольной и экспериментальной группе при статистическом сравнении посттетанических модификаций, были использованы относительные показатели  $\Delta Kt = Kt_{\text{посл}} - Kt_{\text{до}}$ . В фазе консолидации и поддержания LTP в контрольных срезах величина  $\Delta Kt$  постепенно увеличивалась (влияние фактора времени  $F(5,1190) = 8.07, p = 0.0000$ ), что свидетельствует о снижении тормозных влияний. В экспериментальной группе коэффициенты торможения оставались стабильными вне зависимости от тетанизации, что определяло практически нулевые значения  $\Delta Kt$  и их значимое отличие от контрольной группы ( $F(1,238) = 15.04, p = 0.0001$ ). С точки зрения задачи исследования решающее значение имеет статистическая значимость различий в динамике посттетанических модификаций (взаимодействие факторов «группа» х «порядковый номер тестирования»  $F(5,1190) = 6.35, p = 0.0000008$ ), что свидетельствует в пользу гипотезы о нарушении процессов растормаживания

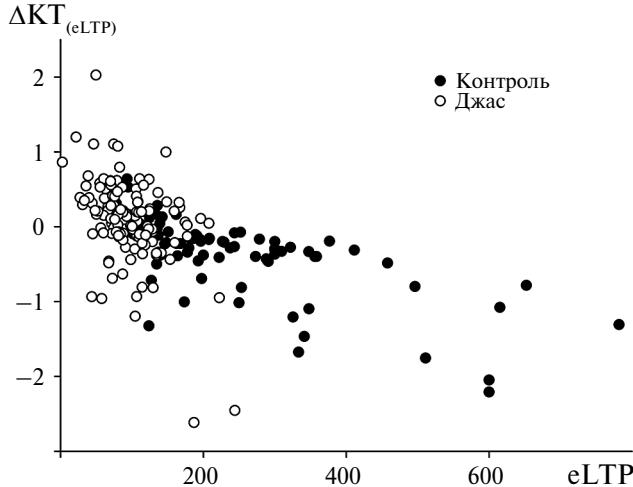


Рис. 2. Корреляция между первоначальным снижением коэффициентов торможения и величиной ранней LTP. Абсцисса – магнитуда ранней LTP через 15 мин после тетанизации; ордината – изменение коэффициентов торможения через 15 мин после тетанизации относительно исходной величины ( $Kt_{15\text{мин}} - Kt_{\text{до}}$ ). Обозначения групп – как на рис. 1.

Fig. 2. Correlation between posttetanic decrease of inhibition coefficients and early LTP magnitude. Abscissa – early LTP magnitude 15 min after tetanization; ordinate – differences between inhibition coefficients 15 min after tetanization and baseline value ( $Kt_{15\text{min}} - Kt_{\text{before}}$ ). Group symbols as in fig. 1.

при блокаде ранней фазы деполимеризации актина. Необходимо отметить, что неравноценность контрольной и экспериментальной выборки по величине исследуемых показателей еще до тетанизации (рис. 1) существенно усложняет задачу статистического сравнения посттетанических модификаций. Тем не менее удаление из экспериментальной выборки всех данных, которые по величине коэффициентов торможения до тетанизации лежали за пределами контрольной выборки, в целом не изменило результаты статистического анализа и выводы (различие между группами  $F(1,213) = 5.57, p = 0.0019$ , влияние фактора времени  $F(5,1065) = 8.35, p = 0.000000$ , взаимодействие факторов «группа» х «порядковый номер тестирования»  $F(5,1065) = 5.01, p = 0.00015$ ). Даже в более сбалансированной с контролем экспериментальной выборке тетанизация по-прежнему в среднем не оказывала заметного влияния на величину коэффициентов торможения и  $\Delta KT$  оставались в области нулевых значений в течение всего времени регистрации.

Чтобы убедиться, что отсутствие эффекта растормаживания в экспериментальной группе срезов не связано с исходно разной эффективностью тормозных влияний, для дальнейшего определения различий в динамике посттетанических модификаций были использованы подгруппы, сформированные с учетом величины коэффициентов торможения до тетанизации. Несмотря на общее усиление торможения на фоне джасплакинолида (рис. 1), в некоторых экспериментах его эффективность оставалась на достаточно низком уровне, сопоставимом с контрольными экспериментами, в которых величина коэффициентов торможения до тетанизации была выше среднего. Оказалось, что коэффициенты торможения более 1.17 (средний контрольный уровень) значимо снижались сразу после тетанизации не только в контроле, но и на фоне джасплакинолида (рис. 3, в контрольной подгруппе с  $1.71 \pm 0.06$  до  $1.22 \pm 0.04, t = 7.37, p = 0.000000$  для зависимых переменных и в экспериментальной подгруппе с  $1.61 \pm 0.13$  до  $0.97 \pm 0.07, t = 4.01, p = 0.0006$  для зависимых переменных). По величине спада  $\Delta KT$  контрольная и экспериментальная подгруппа в среднем не различались ( $-0.49 \pm 0.06$  и  $-0.64 \pm 0.15$  соответственно,  $t = 0.95, p = 0.34$  для независимых переменных). Это означает, что дефицит посттетанического снижения коэффициентов торможения по всей экспериментальной выборке в целом (рис. 1) не относится к эффектам джасплакинолида и, скорее всего, связан с максимальным возможным торможением еще до тетанизации. Действительно, посттетаническое снижение коэффициентов торможения меньше 1.17 отсутствует, в том числе и в соответствующей контрольной подгруппе ( $1.0 \pm 0.02$  до и  $1.04 \pm 0.03$  сразу после тетанизации,  $t = 1.05, p = 0.3$  для зависимых переменных), что

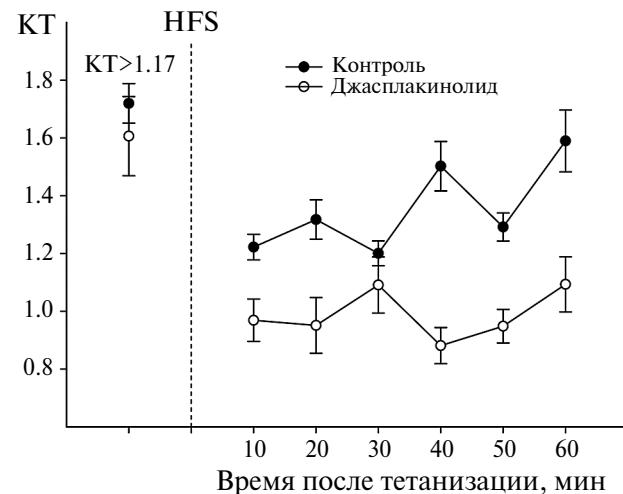
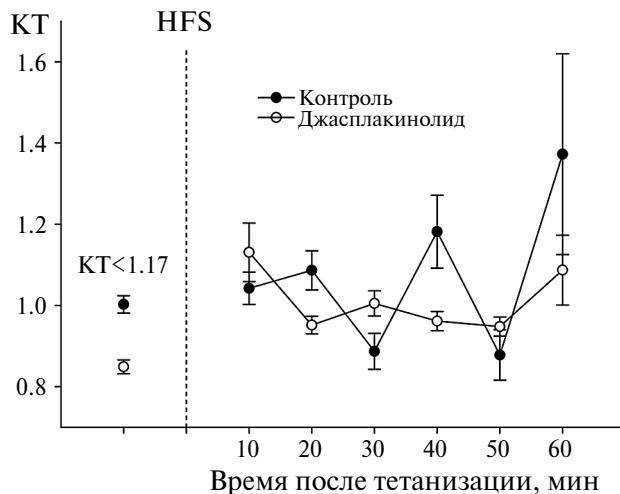


Рис. 3. Посттетаническое снижение коэффициентов при исходно слабом торможении. Для сравнения использованы только те эксперименты, в которых величина коэффициентов торможения до тетанизации больше общего среднего. Все обозначения как – на рис. 1.

Fig. 3. Posttetanic decrease of coefficients in case of initially low inhibition. Subgroups of slices with pretetanic coefficients more than general group mean were taken for comparison. All designs as in fig. 1.

тем не менее не препятствует дальнейшему растормаживанию в фазе консолидации и поддержания LTP (рис. 4). Этот факт свидетельствует о независимости растормаживания от ранних модификаций тормозного компонента реакций на парную стимуляцию.

Джасплакинолид при любых условиях предотвращал эффект растормаживания (рис. 3, 4), что подтверждает статистическая значимость взаимодействия факторов «подгруппа» х «порядковый номер тестирования» при исследовании динамики изменения  $\Delta KT$  в каждой из подгрупп ( $F(5,765) = 2.86, p = 0.014$  и  $F(5,415) = 2.82, p = 0.016$  при исходных коэффициентах торможения меньше или больше 1.17 соответственно). Слишком быстрый и кратковременный прирост коэффициентов торможения меньше 1.17 в экспериментальной группе ( $0.85 \pm 0.0$  до и  $1.13 \pm 0.07$  сразу после тетанизации,  $t = 3.84, p = 0.0002$  для зависимых переменных) вряд ли имеет отношение к основному процессу растормаживания и, скорее всего, объясняется «побочными» с точки зрения проверяемой гипотезы влияниями джасплакинолида. Все вместе дает основания полагать, что именно блокада ранней фазы деполимеризации актина, а не действие сопутствующих факторов нарушает процесс растормаживания и, следовательно, изменение баланса возбуждения и торможения в фазе консолидации и поддержания LTP тоже зависит от дестабилизации синапсов.



**Рис. 4.** Относительная стабильность КТ при исходно сильном торможении. Для сравнения использованы только те эксперименты, в которых величина коэффициентов торможения до тетанизации меньше общего среднего. Все обозначения – как на рис. 1.

**Fig. 4.** Relatively resistant coefficients in case of initially high inhibition. Subgroups of slices with pretetanic coefficients less than general group mean were taken for comparison. All designs as in fig. 1.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты в целом соответствуют концептуальным представлениям о координирующей роли актинового цитоскелета в нейросетевом обеспечении механизмов долговременной пластичности. При исследовании особенностей развития долговременной потенциации (LTP) в поле CA1 инкубированных с джасплакинолидом переживающих срезов гиппокампа крыс было обнаружено, что блокада деполимеризации актина влияет в том числе и на посттетанические изменения эффекта кратковременного подавления PPF<sub>15</sub> относительно PPF<sub>70</sub>. На этом основании предполагается, что последствия реорганизации актинового цитоскелета могут, по всей вероятности, распространяться на модификации участвующих в LTP тормозных синапсов.

Функции актинового цитоскелета в синаптических структурах и его способность к реорганизации под действием поступающих сигналов делает его одним из главных участников в формировании и поддержании специфического молекулярного состава пре- и постсинапса (Кудряшова, 2021; 2023). Иммобилизация рецепторов в зоне синаптического контакта поддерживается образованным актиновыми филаментами естественным барьером, ограничивающим утечку рецепторов и других белков, участвующих в образовании функционально активных комплексов (Ouyang et al., 2005;

Cingolani, Goda, 2008; Maynard, Triller, 2019). Относительная подвижность этих комплексов может быть спровоцирована двигательной активностью актиновых филаментов (Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019).

Очевидно, что изменение размера и формы шипиков при реорганизации актинового матрикса (Bosch et al., 2014; Yan et al., 2016; Borovac et al., 2018) влияет на функциональные характеристики расположенных на них рецепторов, в том числе менее стабильных в этом отношении ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Chiu et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020). Вместе с тем динамическая компартментализация сигнальных и регуляторных белков позволяет быстро адаптироваться к постоянно меняющимся условиям сигналинга (Cingolani, Goda, 2008; Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Petrini, Barberis, 2014; Yan et al., 2016). Наличие общих посредников предполагает возможность взаимодействия возбуждающих и тормозных синапсов в развитии долговременной пластичности. Необходимость временной деполимеризации актина связывают с его барьерными функциями (Ouyang et al., 2005). Актиновые филаменты служат надежным барьером для распространения ферментов за пределы их активной зоны, участвуют в захватывании необходимых для реализации синаптических функций белков (Ouyang et al., 2005; Ramachandran, Frey, 2009; Maynard, Triller, 2019). Ослабление этих функций, по мнению авторов, необходимо для избирательного проникновения в шипики связанных с долговременной пластичностью белков и белковых комплексов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014), в частности, для доставки СaМКII и глутаматных рецепторов (Ouyang et al., 2005; Gu et al., 2010; Rust et al., 2010). Видимо, по той же причине активация молекулярных механизмов при индукции LTP может распространять свое влияние на пластичность расположенных на шипиках тормозных синапсов, тем более что СaМКII и многие другие ключевые для LTP ферменты имеют непосредственное отношение к изменению их эффективности (Wei et al., 2004; Marsden et al., 2010; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022).

Результаты, полученные при тестировании коэффициентов торможения методом парной стимуляции (Кудряшова, 2015; 2022), в основном соответствуют этим представлениям. Вместе с тем, помимо ожидаемого при LTP-зависимых перестройках растормаживания, эффективность тормозных влияний увеличивалась сразу после тетанизации. Эта первоначальная реакция может быть прямым результатом потенциации возбуждающих синапсов, в частности увеличения секреции глутамата, и, предположительно, связана с активацией механизмов поддержания оптимального баланса между возбуждением и торможением (Sprekeler, 2017; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020). Тормозные

синапсы реагируют на повышенную спайковую активность нейронов, метаботропные пресинаптические и постсинаптические рецепторы отслеживают увеличение концентрации медиаторов (Hennequin et al., 2017; Sprekeler, 2017; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). В результате ТПСП может увеличиваться или снижаться в зависимости от уровня возбуждения нейронов и поступающих по возбуждающим и тормозным входам сигналов (Petrini, Barberis, 2014).

От условий активации зависит постсинаптическая локализация ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Bannai et al., 2015). Латеральная диффузия ГАМК<sub>A</sub> рецепторов считается главным фактором, определяющим их число в зоне синаптического контакта (Luscher et al., 2011; Petrini, Barberis, 2014; Maynard, Triller, 2019). В норме около половины тех рецепторов, которые имеют в своем составе типичные для ГАМКергических синапсов субъединицы, расположены вне зоны синаптического контакта. Такие рецепторы могут быть использованы как источник обновления синаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов и в качестве резервного пула при потенциации тормозной передачи (Kneussel, Hausrat, 2016). Интенсивная активация нейронов стимулирует процесс пополнения синаптического пула ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Petrini, Barberis, 1914), увеличивая скорость рециркуляции и вероятность транслокации ГАМК<sub>A</sub> рецепторов к зоне синаптического контакта (Luscher et al., 2011; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020). Стабильность синаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов поддерживается постсинаптическим стеллажным белком гефирином (Pizzarelli et al., 2020), который при NMDA-зависимой потенциации тормозных потенциалов накапливается в зоне синаптического контакта в течение первых 30 минут после индукции (Bannai et al., 2015; Pennacchietti et al., 2017; Pizzarelli et al., 2020). Потенциация ТПСП происходит в полном соответствии с его мобилизацией из экстрасинаптической зоны (Bannai et al., 2015; Pennacchietti et al., 2017; Mele et al., 2019). Вместе с тем в экстрасинаптической зоне существуют свои, не зависимые от гефирина, системы стабилизации ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Hausrat et al., 2015), локализация и функции которых связаны преимущественно с тоническим торможением (Mele et al., 2019). Полагают, что конкурентное зараживание ГАМК<sub>A</sub> рецепторов в синаптической и экстрасинаптической может иметь отношение к восстановлению баланса между возбуждением и торможением (Hausrat et al., 2015).

Судя по изменениям PPF, вероятность выброса медиатора увеличивается сразу после индукции LTP. Активация AMPA рецепторов ослабляет зараживание экстрасинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Hausrat et al., 2015). Их появление в составе синаптических рецепторов наблюдается при повышенной активности глутаматергических синапсов, что

сопровождается увеличением амплитуды и длительности ТПСП (Hausrat et al., 2015). Кроме того, усиление ГАМК<sub>A</sub> торможения при активации метаботропных глутаматных рецепторов может быть связано с механизмами регуляции восстановления ионного баланса, обеспечивающими ионную пластичность (Mahadevan, Woodin, 2016).

Наиболее существенное влияние глутамата на обновление постсинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов опосредовано NMDA рецепторами (Marsden et al., 2010), хотя вероятность латеральной диффузии меняется в зависимости от величины кальциевого сигнала (Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017). Слишком сильная и продолжительная активация и поступление кальция стимулирует мобильность ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Luscher et al., 2011), и только умеренный Ca<sup>2+</sup> сигнал способствует их иммобилизации (Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017). Устойчивость постсинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов повышается при их фосфорилировании (Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Mele et al., 2019). В фосфорилировании ГАМК<sub>A</sub> рецепторов участвуют СaМКII, протеинкиназы C, протеинкиназы A (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019), и их активация при индукции LTP может способствовать привлечению дополнительных экстрасинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов и потенциации тормозных синапсов (Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Xue et al., 2011; Hausrat et al., 2015; Mele et al., 2019). К тому же протеинкиназы облегчают доставку из внутриклеточных депо, экзоцитоз и встраивание дополнительных ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Chou et al., 2010; Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019). Повышенная спайковая активность и деполяризация нейронов приводят к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов, что дополнительно стимулирует экзоцитоз ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Saliba et al., 2009). Активация экзоцитоза увеличивает пул мембранных рецепторов и, как следствие, потенциальные возможности для потенциации тормозных синапсов (Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Kneussel, Hausrat, 2016; Mele et al., 2019).

Активация нейронов и глутаматергических синапсов на фоне фосфорилирования участвующими в LTP ферментами и изменения зависимой от фосфолипазы C фосфатазной активности ограничивает интернализацию ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Luscher et al., 2011; Rannals, Kapur, 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). При этом СaМКII сдерживает протеолиз рецепторов после интернализации. При дефиците эндоцитоза регулярное обновление в условиях активации приводит к увеличению общего числа участвующих в рециркуляции рецепторов, что, несомненно, вносит вклад в потенциацию тормозных синапсов (Bannai et al., 2015; Luscher et al., 2011; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019).

Принципы молекулярной организации пресинаптических функций ГАМКергических и глутаматергических синапсов имеют много общего (Кудряшова, 2021), включая участие актина в обеспечении секреторных функций (Bleckert et al., 2012). На этом основании можно ожидать, что также как и при тетанизации возбуждающих синапсов пресинаптические механизмы участвуют в потенциации тормозных синапсов при активации NMDA рецепторов (Xue et al., 2011; Yan et al., 2016). Кроме того, модификации расположенных на интернейронах синапсов, как известно, вносят дополнительный вклад в изменения бисинаптических тормозных потенциалов (Horn, Nicoll, 2018; Chiu et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020; Yap et al., 2020) и их увеличение может объясняться вовлечением в реакцию добавочных тормозных интернейронов и синапсов.

Все эти модификации так или иначе зависят от поддержки актинового цитоскелета (Кудряшова, 2023). К тому же любые модификации, включая кратковременные, нуждаются в зависимом от актина транспорте вновь синтезированных белков (Mele et al., 2019). Соответственно, аппликация джасплакинолида может изменять течение зависимых от актина модификаций, таких как транспорт и заакорчивание сигнальных молекул, подвижность ГАМК<sub>A</sub> рецепторов, их кластеризацию, латеральную диффузию и т.д. (Bannai et al., 2015), включая регуляцию ассоциированных с цитоскелетом белков и ферментов, ответственных за встраивание, интернализацию и заакорчивание ГАМК<sub>A</sub> рецепторов в экстрасинаптической зоне при оптимизации тормозного контроля (Кудряшова, 2023).

Представленные результаты свидетельствуют о том, что по сравнению с контролем при тех же условиях стимуляции на фоне джасплакинолида посттетанический прирост тормозного компонента даже увеличивается. Этот факт еще не означает, что посттетанская деполимеризация актина может иметь отношение к росту торможения ранней фазы LTP. Во-первых, джасплакинолид является не только блокатором деполимеризации, но и активатором полимеризации актина. Что еще более существенно, похожие изменения происходят при обычном тестировании на фоне джасплакинолида (Кудряшова, 2022), и его вынужденная аппликация до начала тетанизации побуждает контролировать синаптический фон до тетанизации при определении специфичных для дестабилизации синапсов изменений LTP.

Актиновые филаменты состоят из молекул полимеризованного F-актина, но в тех же компартментах обнаруживается достаточно много диффузно распространенного мономерного G-актина. При тетанизации эти мономеры используются для образования коротких, склонных к деполимеризации филаментов (Rex et al., 2010). Образование новых филаментов на фоне джасплакинолида улучшает

стабилизацию ГАМК<sub>A</sub> рецепторов и гефириновых комплексов в зоне синаптического контакта. При стабилизации актиновых филаментов снижается вероятность латеральной диффузии синаптических рецепторов. Вероятно, поэтому джасплакинолид ослабляет LTD тормозных синапсов (Galvez et al., 2016). К тому же полимеризация актина может способствовать мобилизации и встраиванию дополнительных ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Gu et al., 2010; Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Mele et al., 2019; Maynard, Triller, 2019), снижению интернализации при активации глутаматергических синапсов и, как следствие, увеличению общего пула мембранных рецепторов (Rannals, Kapur, 2011).

Активация полимеризации актина провоцирует увеличение объема и числа шипиков (Fukazawa et al., 2003; Matsuzaki et al., 2004; Chen et al., 2007; Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Bellot et al., 2014; Bosch et al., 2014; Borovac et al., 2018). Структурная пластичность шипиков развивается достаточно быстро, по некоторым данным – в течение нескольких минут активации (Lushnikova et al., 2011; Villa et al., 2016; Mele et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020). Джасплакинолид не препятствует росту шипиков (Rex et al., 2010), но ограничивает их элиминацию (Jaworski et al., 2009). Такое изменение баланса может, по-видимому, объяснить активирующее влияние джасплакинолида на эффективность расположенных на шипиках рецепторов, включая тормозные, тем более в условиях более интенсивного посттетанического обновления шипикового аппарата.

Вполне вероятно, что на фоне джасплакинолида улучшается доставка и компартментализация молекулярного обеспечения реакций, участвующих в мобилизации рецепторов (Ouyang et al., 2005; Кудряшова, 2022). Протеинкиназы долговременной пластичности возбуждающих синапсов способствуют увеличению мембранныго пула ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Marsden et al., 2010; Chou et al., 2010; Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). Известно, что при активации синапсов увеличивается плотность окружающих синаптические везикулы филаментов, причем их мобилизация из соседних областей дополняется образованием новых филаментов (Bleckert et al., 2012). Улучшение барьерных функций на фоне активатора полимеризации джасплакинолида может способствовать увеличению вероятности выброса медиатора.

Интенсивная активация и деполяризация нейронов может облегчать полимеризацию актина (Gordon-Weeks, Fournier, 2014). Этому, по-видимому, способствует исходно слабое торможение. Тем не менее в некоторых экспериментах эффективность тормозных влияний не увеличивалась, как правило, это наблюдалось при исходно сильном торможении еще до тетанизации. Отсутствие посттетанического снижения

коэффициентов торможения в экспериментальной группе уже в первые минуты после тетанизации вряд ли может иметь отношение к блокаде посттетанической деполимеризации актина. Судя по всему, изменения на фоне джасплакинолида начинаются еще до тетанизации. В частности, увеличение эффективности тормозных влияний до максимального или почти максимального уровня не оставляет возможности для существенного посттетанического прироста. К тому же усиленная полимеризация на фоне джасплакинолида нарушает восстановление нормального баланса F- и G-актина, так что недостаточно высокое содержание свободного G-актина еще до начала тетанизации может влиять на LTP, ограничивая мобилизацию F-актина в фазе активного внутриклеточного транспорта. Кроме того, полимеризация актина стимулирует выброс медиатора (Yan et al., 2016; Кудряшова, 2021), и, вероятно, поэтому на фоне используемого в данной работе джасплакинолида в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс снижается PPF (Кудряшова, 2023). Поскольку аппликация джасплакинолида до тетанизации может приводить к увеличению вероятности выброса медиатора, снижается диапазон возможного прироста и, соответственно, метаботропные влияния пресинаптической LTP на посттетаническую потенциацию тормозных синапсов.

Вполне вероятно, что тормозные синапсы реагируют на изменение уровня активации и их модификации и до и сразу после тетанизации, предположительно, связаны с оптимизацией баланса между возбуждением и торможением. На основании обнаруженной ранее реакции на подведение джасплакинолида при сопоставлении свойств PPF и величины коэффициентов торможения предполагалось, что это тоже происходит с участием актина. Видимо, джасплакинолид может вмешиваться в процесс адаптации актинового цитоскелета к текущим условиям синаптической активности (Yan et al., 2016), стабилизируя те модификации, которые происходили в ходе тестирования. Об этом свидетельствуют неоднозначность эффектов джасплакинолида и их зависимость от исходных свойств торможения и возбуждения (Кудряшова, 2022; 2023). В частности, гомеостатическая потенциация тормозных синапсов вместе с ассоциированными с полимеризацией актина постсинаптическими модификациями могут быть причиной увеличения амплитуды ТПСП еще до тетанизации (Wei et al., 2004; Mele et al., 2019).

Таким образом, случайные или систематические отклонения в процессе гомеостатической регуляции баланса возбуждения и торможения на фоне используемого в данной работе джасплакинолида постепенно преобразуют «молекулярный фон» и другие особенности функционального состояния

участвующих в реакции синапсов. Комплекс таких модификаций включает изменение NMDA зависимой пластичности. Подвижность NMDA рецепторов относительно зоны синаптического контакта регулируется их взаимодействием с актиновым цитоскелетом (Rosenmund, Westbrook, 1993). Более надежное заякоривание удерживает синаптические NMDA рецепторы от диффузии в экстрасинаптическую область (Yan et al., 2016). Разный паттерн синаптической активации может приводить к изменению реакции на тетанизацию и, в частности, к увеличению порога индукции постсинаптических модификаций при повышенной активности тормозных синапсов. Это, по-видимому, определяет влияние джасплакинолида на вероятность тормозных модификаций ранней фазы LTP, в том числе и на ранние посттетанические изменения величины коэффициентов торможения. Поэтому при статистическом сравнении LTP в контрольных и инкубированных с джасплакинолидом срезах для определения различий, связанных именно с блокадой ранней фазы деполимеризации, необходимо контролировать разные свойства исходных выборок и, прежде всего, баланс возбуждения и торможения.

Проблема поддержания оптимального баланса активности возбуждающих и тормозных входов на фоне структурных модификаций достаточно редко обсуждается в работах, посвященных гомеостатической пластичности (Goel et al., 2019). В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что кратковременная пластичность тормозных синапсов чаще всего способствует восстановлению оптимального баланса между возбуждением и торможением (Sprekeler, 2017; Chiu et al., 2019; Goel et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). Однако эта закономерность не соблюдается или менее заметна при слишком сильной активации NMDA рецепторов, в том числе при индукции долговременной потенциации возбуждающих синапсов (Mapelli et al., 2016; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022), и вместо ожидаемого с точки зрения гипотезы о гомеостатической регуляции усиления тормозного контроля (Rannals, Kapur, 2011; Bannai et al., 2015; Hennequin et al., 2017; Chiu et al., 2019) наблюдается растормаживание (Lu et al., 2000; Кудряшова, 2015). В том числе регуляция баланса возбуждения и торможения нарушается при растормаживании в фазе косолидации и поддержания LTP. Не исключено, что это тоже происходит лишь в результате адаптации синапсов к изменению условий синаптического притока. Альтернативная гипотеза сводится к тому, что в LTP-зависимые перестройки вмешиваются другие факторы. Предполагалось, что одним из наиболее существенных факторов является ассоциированная с началом дестабилизации деполимеризация актина.

Учитывая тот факт, что длительность поддержания зависит от свойств ранней LTP, на этом фоне

трудно определить изменения, специфичные для блокады фазы деполимеризации актина. Тот факт, что растормаживание начинается после деполимеризации актина, сам по себе не опровергает относительной независимости этих модификаций и их влияния на процесс консолидации. Может ли растормаживание быть простым следствием ранних модификаций, независимо от дестабилизации синапсов, или же наблюдаемое при этом нарушение баланса возбуждения и торможения определяется вовлечением специфичных для консолидации факторов?

Действительно, некоторые механизмы кратковременной и долговременной депрессии тормозных синапсов вполне могут быть спровоцированы ранними модификациями, однако их зависимость от деполимеризации актина не всегда очевидна. Природа сигналов, которые при растормаживании фактически приводят к нарушению баланса возбуждения и торможения, до сих пор не исследована. Некоторые данные допускают возможность растормаживания в результате ранних модификаций. Известно, что CAMKII имеет непосредственное отношение к встраиванию AMPA рецепторов при NMDA зависимой потенциации глутаматергических синапсов. Однако при умеренной активации NMDA рецепторов преобладает транслокация CAMKII к зоне тормозного контакта, что способствует встраиванию дополнительных ГАМК<sub>A</sub> рецепторов и потенциации тормозных синапсов (Marsden et al., 2010; Xue et al., 2011). Считается, что характер модификаций определяется порогом активации кальцинейрина, ограничивающего взаимодействие CAMKII с тормозными синапсами (Marsden et al., 2010). Возможно, увеличение секреции глутамата обеспечивает дополнительную активацию NMDA рецепторов, достаточную для подключения механизмов растормаживания (Marsden et al., 2010; Mapelli et al., 2016; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). При этом обращает на себя внимание противоположное влияние метаботропных глутаматных и NMDA рецепторов на эффективность тормозных синапсов (Chapman et al., 2022). По имеющимся в настоящее время данным, можно лишь предполагать, как это соотносится с функцией регуляции баланса возбуждения и торможения.

Латеральная диффузия синаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов считается одним из основных механизмов растормаживания (Bannai et al., 2015; Maynard, Triller, 2019; Кудряшова, 2023). Было обнаружено, что снижение амплитуды ТПСП при активации NMDA рецепторов и кальцинейрина сопровождается декластеризацией и диффузией синаптических рецепторов в экстрасинаптическую область (Luscher et al., 2011), а калпаин-зависимый протеолиз участвует в LTD тех тормозных синапсов, которые расположены в зоне ранней потенциации

возбуждающих синапсов (Ravasenga et al., 2022). После высокочастотного раздражения декластеризация синаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов достигает максимума примерно через 10 минут (Muir et al., 2010). Гефирин более чем в три раза снижает скорость латеральной диффузии (Mukherjee et al., 2011). Тем не менее в условиях интенсивной активации нейронов могут быть обнаружены в том числе и латеральные перемещения гефирина (Hanus et al., 2006; Petrini, Barberis, 2014), что, как правило, коррелирует с депрессией тормозных синапсов (Muir et al., 2010; Bannai et al., 2015). В том числе при дефиците гефирина снижается амплитуда постсинаптических тормозных потенциалов, регистрируемых в ответ на стимуляцию экспрессирующих соматостатин и парвальбумин тормозных интернейронов, (Horn, Nicoll, 2018; Pizzarelli et al., 2020).

Процесс обновления синаптических рецепторов, включая транслокацию к зоне синаптического контакта, зависит от паттерна активации участвующих в модификациях ферментов, создаваемого активацией возбуждающих и тормозных синапсов (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). Очевидно, что, если преобладает отток рецепторов за пределы зоны синаптического контакта, это приводит к снижению амплитуды ТПСП (Muir et al., 2010; Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017). Действительно, состояние ферментных систем меняется при повышенной спайковой активности и деполяризации нейронов (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022), что создает предпосылки для изменения характера рециркуляции рецепторов. Вход кальция по потенциал-зависимым каналам оказывает дополнительное влияние на рециркуляцию рецепторов (Chapman et al., 2022), что может иметь отношение к наблюдаемому при этом снижению тормозных потенциалов (Ravasenga et al., 2022). Депрессия тормозных потенциалов при активации NMDA рецепторов чаще всего не сопровождается усилением эндокитоза ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Luscher et al., 2011). Однако накопление внеклеточного глутамата может тормозить встраивание экстрасинаптических рецепторов (Wu et al., 2021), тем самым нарушая баланс их обновления. Несмотря на отсутствие прямых экспериментальных подтверждений, этот механизм может, предположительно, участвовать в растормаживании под влиянием пресинаптической потенциации. Тем более что интернализация и встраивание ГАМК<sub>A</sub> рецепторов происходят в экстрасинаптической зоне и пластичность тормозных синапсов так или иначе сводится к их диффузии и стабилизации в зоне синаптического контакта (Bannai et al., 2015; Luscher et al., 2011; Kneussel, Hausrat, 2016; de Luca et al., 2017).

Интересно, что увеличение эффективности тормозных синапсов тоже может провоцировать снижение амплитуды ТПСП. Наиболее изучены

механизмы постсинаптической депрессии, связанные с увеличением секреции ГАМК. К постсинаптическим механизмам кратковременной депрессии тормозных потенциалов относится десенситизация постсинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов, значение которой возрастает при продолжительной стимуляции или большом квантовом содержании выделяемого медиатора (de Luca et al., 2017; Mele et al., 2019). Очевидно, что вместе с увеличением секреции растет вероятность активации расположенных в разных компартментах ГАМК<sub>B</sub> рецепторов (Wright et al., 2017; Mele et al., 2019). Их активация влияет на интеграцию ГАМК<sub>A</sub> рецепторов с гефириновым комплексом, внутриклеточный транспорт и другие процессы, участвующие в модификациях тормозных синапсов (Gerrow, Triller, 2014; Wright et al., 2017), в том числе и на секреторный аппарат пресинапса (Shao et al., 2022). В частности, при высокочастотном раздражении метаботропными влияниями опосредован тормозный контроль заякоривания менее специфичных для синаптической зоны ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Wright et al., 2017). При сильном торможении увеличивается вероятность латеральной диффузии синаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Muir et al., 2010; Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017), а экстрасинаптическое накопление ГАМК усиливает эндоцитоз (Marsden et al., 2010; Mele et al., 2019). Активация ГАМК<sub>B</sub> рецепторов по-разному влияет на высвобождение медиатора разными типами тормозных интернейронов (Shao et al., 2022).

В целом, все эти представления о возможных механизмах растормаживания основаны на предположениях о снижении эффективности тормозных синапсов. Между тем, даже высокоэффективные синапсы могут демонстрировать низкоамплитудные ТПСП при участии механизмов ионной пластиичности (Chamma et al., 2013; Hennequin et al., 2017; Wright et al., 2017; Al Awabdh et al., 2022). В частности, глутамат, ГАМК и изменения в уровне активации нейронов приводят к NMDA зависимому и  $Ca^{2+}$  зависимому перераспределению создающих хлорный градиент транспортеров (Chamma et al., 2013; Heubl et al., 2017; Al Awabdh et al., 2022). При определенных условиях транспортеры становятся доступными для калпаин-зависимого протеолиза (Puskarjov et al., 2012; Chamma et al., 2013), что может снижать общее число встроенных в мембрану транспортеров (Chamma et al., 2013). В том числе интернализации способствует активация ассоциированных с транспортерами ГАМК<sub>B</sub> рецепторов (Heubl et al., 2017; Wright et al., 2017). Этим объясняется зависимый от активации ГАМК<sub>B</sub> рецепторов деполяризационный сдвиг потенциала реверсии (Chamma et al., 2013; Wright et al., 2017).

Менее изучено влияние ранних модификаций на нейросетевые механизмы, вмешательство

которых может приостановить гомеостатическую потенциацию тормозных потенциалов, в первую очередь на функциональную интеграцию тормозных интернейронов (Horn, Nicoll, 2018; Chiu et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020; Yap et al., 2020) и взаимодействие с другими медиаторными системами. Полагают, что при NMDA зависимой потенциации одновременно с активацией синапсов на пирамидных нейронах может снижаться эффективность синапсов возбуждающих интернейроны бисинаптического пути (McBain, Kauer, 2009). Иногда эффект растормаживания объясняют подключением тормозных интернейронов другого типа, образующих тормозные синапсы на парвальбумин- и соматостатин-содержащих интернейронах (Hernández-Frausto et al., 2023). Включение в рецепторный комплекс гетерогенных рецепторов других медиаторных систем обеспечивает системные влияния (Shrivastava et al., 2011; Bannai et al., 2015; Chiu et al., 2019; Mele et al., 2019; Runge et al., 2020). К тому же секреция ГАМК и возбудимость тормозных интернейронов находится под контролем разнообразных пресинаптических рецепторов (Galvez et al., 2016; Pizzarelli et al., 2020). Системная регуляция дополняется также модулирующими влияниями некоторых медиаторных систем на активность транспортеров (Mahadevan, Woodin, 2016). Не исключено, что гомеостатическое влияние потенциации возбуждающих синапсов на тормозную передачу компенсируется вмешательством других видов нейросетевой пластиичности.

Многое еще не ясно, однако целый ряд фактов дает основание полагать, что дестабилизация возбуждающих синапсов при интенсивной активации NMDA рецепторов (Ouyang et al., 2005; Meyer et al., 2014; Кудряшова, 2019) может иметь отношение к наблюдаемому в тот же период времени рассогласованию в системе поддержания баланса возбуждения и торможения. Эксперименты подтверждают, что некоторые структурные и функциональные изменения при деполимеризации актина могут подавлять величину тормозных потенциалов. Образованные при деполимеризации актина мономеры способны более свободно перемещаться (Lin, Webb, 2009), и их отток в другие дендритные компартменты может приводить к сморщиванию или даже элиминации шипика (Cingolani, Goda, 2008; Gordon-Weeks, Fournier, 2014). Очевидно, что вместе с этим исчезают и расположенные на шипике рецепторы. Дестабилизирующие F-актин сигналы облегчают подвижность локальных участков клеточной мембраны (Lin, Webb, 2009; Yan et al., 2016; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019), что способствует увеличению коэффициентов латеральной диффузии расположенных на них рецепторов (Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Mele et al., 2019). Причем ГАМК<sub>A</sub> рецепторы намного менее

устойчивы (Chiu et al., 2019; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019) по сравнению с расположеными на том же шипике глутаматными рецепторами (Gu et al., 2010; Rust et al., 2010; Chiu et al., 2019).

Ослабление барьерных функций при деполимеризации актина нарушает компартментализацию  $\text{Ca}^{2+}$  зависимых реакций, что приводит к изменению паттерна активации кальций-зависимых ферментов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Mele et al., 2019), в том числе контролирующих латеральную диффузию и заакоривание ГАМК<sub>A</sub> рецепторов, эндоцитоз и другие механизмы депрессии (Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Haustrat et al., 2015; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). К предполагаемым механизмам снижения амплитуды ТПСП относится зависимый от  $\text{CaMKII}$  (Marsden et al., 2010) и протеинкиназы Сε эндоцитоз ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Chou et al., 2010; Luscher et al., 2011). Для сравнения деполимеризация актина усиливает интернализацию глутаматных рецепторов, причем блокатор деполимеризации джасплакинолид блокирует их эндоцитоз (Tong et al., 2018). Все эти данные дают основание предполагать, что в аналогичных условиях деполимеризация актина может приводить к нарушению баланса обновления и снижению общего числа встроенных в мембрану ГАМК<sub>A</sub> рецепторов.

В рамках данного исследования наиболее интересным представляется тот факт, что деполимеризация актина может менять характер гомеостатической регуляции. В дополнение к снижению актиновой поддержки рецепторного аппарата постсинапса нарушается стабилизирующее влияние медиаторов. В частности, было обнаружено, что активация соматостатинсодержащих интернейронов или аппликация ГАМК стимулируют образование новых кластеров гефирина (Oh et al., 2016). Взаимодействие ГАМК<sub>B</sub> рецепторов с одной из регуляторных субъединиц комплекса белков, поддерживающих связь интегринов с цитоскелетом, способствует более надежной стабилизации рецепторов в зоне синаптического контакта (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019) и потенциации синапсов при увеличении содержания ГАМК (Mele et al., 2019). Эта функция ГАМК<sub>B</sub> рецепторов, видимо, может нарушаться вследствие разобщения с актиновым цитоскелетом.

Активация возбуждающих и тормозных синапсов по-разному влияет на заакоривание экстрасинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов (Haustrat et al., 2015). В частности, ГАМК стимулирует, а активация AMPA рецепторов снижает фосфорилирование белков, опосредующих связь экстрасинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов с актиновым цитоскелетом (Haustrat et al., 2015). Регуляция их взаимодействия с актиновым цитоскелетом в ходе текущей активности вполне подходит в качестве механизма переключения пластичности

тормозных синапсов с потенциации на депрессию. С другой стороны, после активации NMDA рецепторов баланс синаптических и экстрасинаптических ГАМК<sub>A</sub> рецепторов быстро восстанавливается (Luscher et al., 2011), что мало соответствует полученным результатам. Взаимодействие ГАМК<sub>A</sub> рецепторов с ключевыми для эндоцитоза адапторными и транспортными белками не исключает также возможности сокращения общего пула мембранных рецепторов после деполимеризации актина в условиях активного обновления всего рецепторного аппарата при долговременной пластичности (Marsden et al., 2010).

Деполимеризация актина сопровождается подавлением синаптических NMDA реакций (Rosenmund, Westbrook, 1993). Это объясняют ухудшением заакоривания (Yan et al., 2016), вследствие чего их влияние может распространяться на соседние области. Возможно, именно так достигается величина сигнала, порогового для индукции механизмов депрессии тормозных потенциалов. В результате депрессии возникает не только в активируемых, но и в соседних синапсах (Gandolfi et al., 2020; Rivasenga et al., 2022), что способствует развитию ассоциативных перестроек возбуждающих синапсов. Не исключено также, что одним из зависимых от актина механизмов растормаживания может быть пресинаптическая депрессия. Актин участвует в заакоривании транспортеров, обеспечивающих обратный захват ГАМК (Imoukhuede et al., 2009). Если действие сигналов направлено на разобщение этих транспортеров ГАМК с актином и другими скелетными белками (Imoukhuede et al., 2009), происходит их быстрая интернализация или латеральная диффузия, что, скорее всего, негативно сказывается на восстановлении пресинаптического запаса ГАМК за счет обратного захвата (Hartmann et al., 2008).

Изменение условий фосфорилирования и дефосфорилирования при деполимеризации актина, несомненно, может вносить поправки в характер модификаций, основанных на ионной пластичности (Mahadevan, Woodin, 2016; Heubl et al., 2017; Wright et al., 2017). К тому же повышенная двигательная активность, а затем и увеличение объема шипиков могут быть причиной смещения K-Cl транспортеров и, как следствие, изменения потенциала реверсии для ГАМК (Chamma et al., 2013; Wright et al., 2017). В совокупности с ранними модификациями, включающими активацию метаботропных глутаматных и ГАМК<sub>B</sub> рецепторов, деполимеризация актина может, по-видимому, изменять дальнейшее течение основанных на ионной пластичности модификаций. Проблема заключается в том, что ионная пластичность в условиях реорганизации актинового цитоскелета не в состоянии объяснить зависимость такого механизма растормаживания от деполимеризации актина. Актиновые филаменты не участвуют

в заякоривании K-Cl транспортеров тормозных синапсов, и поэтому они, а также экстрасинаптические транспортеры более склонны к латеральной диффузии (Chamma et al., 2013). С другой стороны, часть транспортеров связывается с адапторными белками возбуждающих синапсов, обеспечивающих их взаимодействие с актином и более надежную стабилизацию (Li et al., 2007; Chamma et al., 2013; Al Awabdh et al., 2022). Причем функции транспортеров после их временного смещения к возбуждающим контактам в меньшей степени связаны с регуляцией ионного баланса (Chamma et al., 2013). Таким образом, актин имеет отношение к их заякориванию только в зоне глутаматергических (Gauvain et al., 2011; Chamma et al., 2013), но не ГАМКергических синапсов (Chamma et al., 2013; Al Awabdh et al., 2022). Соответственно, деполимеризация актина скорее увеличивает, чем снижает вероятность транслокации транспортеров к зоне тормозного контакта (Gauvain et al., 2011; Chamma et al., 2013). Не исключено, что лишение актиновой поддержки и приток K-Cl транспортеров к зоне тормозного контакта может иметь отношение к наблюдаемому в данной работе посттетаническому усилинию торможения, тем более что по последним данным, прямой контакт транспортеров с гефирином предполагает возможность их относительной стабилизации (Al Awabdh et al., 2022). Очевидно, что в фазе полимеризации актина заякоривание транспортеров в зоне глутаматергических синапсов и, соответственно, деполяризационный сдвиг потенциала реверсии могут только усиливаться.

Тот факт, что наиболее очевидный эффект растормаживания наблюдается в фазе полимеризации актина, не противоречит гипотезе о растормаживающем влиянии деполимеризации. Деполимеризация актина может способствовать началу формирования обновленного актинового матрикса (Ouyang et al., 2005). Достигнув критической концентрации, мономеры стремятся к образованию новых филаментов (Rex et al., 2010). Интересно, что на этом этапе содержание F-актина может даже увеличиваться, как это обнаружено при интенсивной синаптической активации, в том числе и при высокочастотном раздражении, применяемом для индукции LTP (Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010). При долговременной потенциации именно эти вновь образованные короткоживущие филаменты, как полагают, осуществляют направленный транспорт протеинов пластичности (Ouyang et al., 2005). Дефицит роста и развития этих новых филаментов при блокаде полимеризации актина нарушает процесс консолидации, прекращая рост шипиков и дендритный транспорт СaMKII, что может быть причиной депотенциации синаптических потенциалов (Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Galvez et al., 2016). Большая доступность СaMKII при

образовании новых филаментов дает основание предполагать, что это может облегчать транслокацию фермента к зоне тормозного контакта, достигая порога переключения механизмов пластичности с потенциации на депрессию. Вероятно, поэтому растормаживание продолжается в фазе активации полимеризации актина, которая наблюдается в течение 30–60 минут после индукции LTP и затем восстанавливается нормальный баланс F- и G-актина.

Считается, что при LTP увеличение образования F-актина обеспечивает рост шипиков (Fukazawa et al., 2003; Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Bosch et al., 2014). Полученные результаты сопоставимы с данными о дифференцированном влиянии активного спиногенеза на созревание возбуждающих и тормозных синапсов. Так, при нарушении экспрессии одного из ключевых для структурной пластичности шипиков регуляторных белков процесс образования новых шипиков на фоне повышенного содержания F-актина сопровождался увеличением амплитуды ВПСП, но ожидаемого роста амплитуды ТПСП в среднем не обнаружено (Ivanov et al., 2009). Авторы полагают, что такая несогласованность созревания рецепторного аппарата может стать причиной нарушения естественного баланса возбуждения и торможения (Ivanov et al., 2009).

Блокирующие деполимеризацию актина препараты приостанавливают двигательную активность (Holtmaat, Svoboda, 2009) и элиминацию шипиков (Jaworski et al., 2009) и, скорее всего, декомпартментализацию участвующих в модификациях посредников (Ouyang et al., 2005). К тому же джасплакинолид усиливает полимеризацию актина, что еще больше ограничивает распространение метаболитов (Ouyang et al., 2005). В сочетании с дефицитом G-актина как строительного материала для образования новых филаментов это может затруднить транспорт и транслокацию СaMKII к зоне тормозного контакта, и пороговый уровень активации, необходимый для индукции депрессии ТПСП, при стимуляции на фоне джасплакинолида так и не достигается (Marsden et al., 2010). Джасплакинолид улучшает заякоривание постсинаптических рецепторов, что может быть связано с дополнительной полимеризацией актина и, по всей вероятности, ограничивает отток рецепторов из зоны тормозного контакта. Очевидно, что все эти эффекты могут лежать в основе нарушения механизмов растормаживания. Вместе с тем определение эффектов джасплакинолида, специфичных для ранней фазы деполимеризации актина и, по всей вероятности, ограничивающих отток рецепторов из зоны тормозного контакта. Очевидно, что все эти эффекты могут лежать в основе нарушения механизмов растормаживания. Вместе с тем определение эффектов джасплакинолида, специфичных для ранней фазы деполимеризации актина и, по всей вероятности, ограничивающих отток рецепторов из зоны тормозного контакта.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для определения степени участия дестабилизации синапсов в LTP-зависимых перестройках тормозного компонента реакции на парную стимуляцию было проведено сравнение динамики пре- и посттетанического изменения коэффициентов торможения в норме и в условиях блокады деполимеризации актина. Изменение исходных свойств (Кудряшова, 2022; 2023) и характера ранних посттетанических модификаций возбуждающих и тормозных синапсов в инкубированных с джасплакинолидом срезах делает менее доступным непосредственное определение эффектов, специфичных для блокады деполимеризации применительно к дестабилизации синапсов. Обнаружено, что ранняя фаза LTP сопровождается усилением тормозных влияний, что, по-видимому, связано с восстановлением баланса возбуждения и торможения. Причем более существенная потенциация тормозного компонента в экспериментальных срезах свидетельствует об участии актина, хотя и не обязательно в связи с дестабилизацией синапсов. В том числе это относится к некоторым способствующим растормаживанию механизмам ранней потенциации и, прежде всего, к пресинаптической потенциации возбуждающих и тормозных синапсов, которая в состоянии обеспечить эффект растормаживания независимо от деполимеризации актина. Поскольку активирующее влияние джасплакинолида до тетанизации (Кудряшова, 2022; 2023) может ограничивать потенциальные возможности посттетанического прироста и, соответственно, растормаживающего действия пресинаптической LTP, поиск специфичных для фазы дестабилизации изменений основан на сравнении подгрупп, учитывающих различия в фоновой активности в качестве дополнительного фактора. Полученные данные дают основание полагать, что именно блокада ранней фазы деполимеризации актина, а не действие сопутствующих факторов нарушает процесс растормаживания. Предполагается, что при блокаде ранней фазы деполимеризации актина нарушается координирующая роль актинового цитоскелета, обеспечивающая временное изменение баланса возбуждения и торможения. Таким образом, комплекс зависимых от дестабилизации синапсов механизмов консолидации LTP включает снижение эффективности тормозных влияний.

## ВКЛАД АВТОРА

И.В.Кудряшова – концепция и дизайн исследования; проведение экспериментов; анализ и интерпретация данных; подготовка текста статьи.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2021–2023 годы (АААА-А17-117092040002-6). Дополнительное внешнее финансирование отсутствует.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит сотрудников лаборатории функциональной биохимии нервной системы за помощь в материальном и программном обеспечении экспериментальных исследований, а также сотрудников лаборатории нейрофизиологии обучения за помощь в техническом обеспечении экспериментальной установки и других лабораторий ИВНД и НФ РАН за содействие в обеспечении экспериментальными животными.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кудряшова И.В. Пластиность тормозных синапсов как фактор долговременных модификаций. Нейрохимия. 2015. 32 (3): 181–191.
- Кудряшова И.В. Использование парной стимуляции коллатералей Шаффера для количественного определения эффективности ГАМКергического торможения при экстраклеточной регистрации фокальных потенциалов в поле СА1 гиппокампа. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2015. 65 (2): 131–138.
- Кудряшова И.В. Молекулярные основы дестабилизации синапсов как фактор структурной пластиности. Нейрохимия. 2019. 36 (1): 3–13.
- Кудряшова И.В. Реорганизация актинового матрикса как фактор пресинаптической пластиности. Нейрохимия. 2021. 38 (3): 195–204.
- Кудряшова И.В. Тормозный контроль кратковременной пластиности при парной стимуляции

- зависит от полимеризации актина. Нейрохимия. 2022. 39 (2): 131–143.
- Кудряшова И.В. Координирующая роль актинового цитоскелета в кратковременной нейросетевой пластичности с участием возбуждающих и тормозных синапсов. Журн. Высш. Нервн. Деяг. 2023. 73 (5): 579–605.
- Кудряшова И.В. Свойства пресинаптической пластичности в зависимости от полимеризации актина. Биохимия. 2023. 88 (3): 477–490.
- Al Awabdh S., Donneger F., Goutierre M., Séveno M., Vigy O., Weinzettl P., Rousseau M., Moutkine I., Lévi S., Marin Ph., Poncer J.Ch. Gephyrin Interacts with the K-Cl Cotransporter KCC2 to regulate its surface expression and function in cortical neurons. *J. Neurosci.* 2022. 42 (22): 166–182.
- Bannai H., Niwa F., Sherwood M.W., Shrivastava A.N., Arizone M., Miyamoto A., Sugiura K., Lévi S. Bidirectional control of synaptic GABAAR clustering by glutamate and calcium. *Cell Rep.* 2015. 13: 2768–2780.
- Bartley A.F., Dobrunz L.E. Short-term plasticity regulates the excitation/inhibition ratio and the temporal window for spike integration in CA1 pyramidal cells. *Eur. J. Neurosci.* 2015. 41: 1402–1415.
- Bellot A., Guivernau B., Tajes M., Bosch-Morató M., Valls-Comamala V., Muñoz F.J. The structure and function of actin cytoskeleton in mature glutamatergic dendritic spines. *Brain Res.* 2014. 1573: 1–16.
- Bleckert A., Photowala H., Alford S. Dual pools of actin at presynaptic terminals. *J. Neurophysiol.* 2012. 107 (12): 3479–3492.
- Bloss E.B., Cembrowski M.S., Karsh B., Colonell J., Fetter R.D., Spruston N. Structured dendritic inhibition supports branch-selective integration in CA1 pyramidal cells. *Neuron.* 2016. 89: 1016–1030.
- Borovac J., Bosch M., Okamoto K. Regulation of actin dynamics during structural plasticity of dendritic spines: signaling messengers and actin-binding proteins. *Mol. Cell. Neurosci.* 2018. 91: 122–130.
- Bosch M., Castro J., Saneyoshi T., Matsuno H., Sur M., Hayashi Y. Structural and molecular remodeling of dendritic spine substructures during long-term potentiation. *Neuron.* 2014. 82: 444–459.
- Bubb M.R., Spector I., Beyer B.B., Fosen K.M. Effects of jasplakinolide on the kinetics of actin polymerization. An explanation for certain in vivo observations. *J. Biol. Chem.* 2000. 275: 5163–5170.
- Cao F., Zhou Z., Pan X., Leung C., Xie W., Collingridge G., Jia Z. Developmental regulation of hippocampal long-term depression by cofilin-mediated actin reorganization. *Neuropharmacology.* 2017. 112 (2): 66–75.
- Chamma I., Heubl M., Chevy Q., Renner M., Moutkine I., Eugène E., Poncer J.Ch., Lévi S. Activity-dependent regulation of the K/Cl transporter KCC2 membrane diffusion, clustering and function in hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 2013. 33: 15488–15503.
- Chapman C.A., Nuwer J.L., Jacob T.C. The Yin and Yang of GABAergic and Glutamatergic Synaptic Plasticity: Opposites in Balance by Crosstalk Mechanisms. *Front. Synapt. Neurosci.* 2022. 14: 911020.
- Chen L.Y., Rex C.S., Casale M.S., Gall C.M., Lynch G. Changes in synaptic morphology accompany actin signaling during LTP. *J. Neurosci.* 2007. 27: 5363–5372.
- Chiu C.Q., Barberis A., Higley M.J. Preserving the balance: Diverse forms of long-term GABAergic synaptic plasticity. *Nat. Rev. Neurosci.* 2019. 20: 272–281.
- Chou W-H., Wang D., McMahon T., Qi Z-H., Spong M., Zhang C., Shokat K.M., Messing R. GABA(A) receptor trafficking is regulated by PKCε and the N-ethylmaleimide-sensitive factor. *J. Neurosci.* 2010. 30: 13955–13965.
- Cingolani L.A., Goda Y. Actin in action: the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy. *Nat. Rev. Neurosci.* 2008. 9: 344–356.
- de Luca E., Ravasenga T., Petrini E.M., Polenghi A., Nieus T., Guazzi S., Barberis A. Inter-synaptic lateral diffusion of GABA(A) receptors shapes inhibitory synaptic currents. *Neuron.* 2017. 95 (1): 63–69.e5.
- Fukazawa Y., Saitoh Y., Ozawa F., Ohta Y., Mizuno K., Inokuchi K. Hippocampal LTP is accompanied by enhanced F-actin content within the dendritic spine that is essential for late LTP maintenance in vivo. *Neuron.* 2003. 38: 447–460.
- Galvez B., Gross N., Sumikawa K. Activation of α7 nicotinic acetylcholine receptors protects potentiated synapses from depotentiation during theta pattern stimulation in the hippocampal CA1 region of rats. *Neuropharmacology.* 2016. 105: 378–387.
- Gandolfi D., Bigiani A., Porro C.A., Mapelli J. Inhibitory plasticity: from molecules to computation and beyond. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. 21 (5): 1805.
- Gauvain G., Chamma I., Chevy Q., Cabezas C., Irinopoulou T., Bodrug N., Carnaud M., Lévi S., Poncer J.C. The neuronal K-Cl cotransporter KCC2 influences postsynaptic AMPA receptor content and lateral diffusion in dendritic spines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. 108: 15474–15479.
- Gerron K., Triller A. GABA<sub>A</sub> receptor subunit composition and competition at synapses are tuned by GABA<sub>B</sub> receptor activity. *Mol. Cell. Neurosci.* 2014. 60: 97–107.
- Goel P., Dufour Bergeron D., Böhme M.A., Nunnally L., Lehmann M., Buser C., Walter A.M., Sigrist S.J., Dickman D. Homeostatic scaling of active zone scaffolds maintains global synaptic strength. *J. Cell. Biol.* 2019. 218 (5): 1706–1724.
- Gordon-Weeks P.R., Fournier A.E. Neuronal cytoskeleton in synaptic plasticity and regeneration. *J. Neurochem.* 2014. 129: 206–212.
- Gu J.C., Lee W., Fan Y., Komlos D., Tang X., Sun Ch., Yu K., Hartzell H.C., Chen G., Bamburg J.R., Zheng J.Q. ADF/cofilin-mediated actin dynamics regulate AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Nat. Neurosci.* 2010. 13 (10): 1208–1215.
- Hanus C., Ehrenspäger M.-V., Triller A. Activity-dependent movements of postsynaptic scaffolds at inhibitory synapses. *J. Neurosci.* 2006. 26: 4586–4595.

- Hartmann K., Bruehl C., Golovko T., Draguhn A.* Fast homeostatic plasticity of inhibition via activity-dependent vesicular filling. *PLoS One.* 2008. 3: e2979.
- Hausrat T.J., Muhia M., Gerrow K., Thomas Ph., Hirdes W., Tsukita S., Heisler F.F., Herich L., Dubroqua S., Breiden P., Feldon J., Schwarz J.R., Yee B.K., Smart T.G., Triller A., Kneussel M.* Radixin regulates synaptic GABA<sub>A</sub> receptor density and is essential for reversal learning and short-term memory. *Nat Commun.* 2015. 6: 6872.
- Hennequin G., Agnes E.J., Vogels T.P.* Inhibitory plasticity: Balance, control, and codependence. *Ann. Rev. Neurosci.* 2017. 25: 557–579.
- Hernández-Frausto M., Bilash O.M., Masurkar A.V., Basu J.* Local and long-range GABAergic circuits in hippocampal area CA1 and their link to Alzheimer's disease. *Front. Neural Circuit.* 2023. 17: 1223891.
- Heubl M., Zhang J., Pressey J.C., Al Awabdh S., Renner M., Gomez-Castro F., Moutkine I., Eugène E., Rousseau M., Kahle K.T., Poncer J.C., Lévi S.* GABA<sub>A</sub> receptor dependent synaptic inhibition rapidly tunes KCC2 activity via the Cl<sup>−</sup>-sensitive WNK1 kinase. *Nat. Commun.* 2017. 8: 1776.
- Holtmaat A., Svoboda K.* Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009. 10: 647–658.
- Horn M.E., Nicoll R.A.* Somatostatin and parvalbumin inhibitory synapses onto hippocampal pyramidal neurons are regulated by distinct mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. 115: 589–594.
- Imoukhuede P.I., Moss F.J., Michael D.J., Chow R.H., Lester H.A.* Ezrin mediates tethering of the gamma-aminobutyric acid transporter GAT1 to actin filaments via a C-terminal PDZ-interacting domain. *Biophys. J.* 2009. 96: 2949–2960.
- Ivanov A., Esclapez M., Pellegrino Ch., Shirao T., Ferhat L.* Drebrin A regulates dendritic spine plasticity and synaptic function in mature cultured hippocampal neurons. *J. Cell. Sci.* 2009. 122: 524–534.
- Jaworski J., Kapitein L.C., Gouveia S.M., Dordtland B.R., Wulf P.S., Grigoriev I., Camera P., Spangler S.A., Di Stefano P., Demmers J., Krugers H., Defilippi P., Akhmanova A., Hoogenraad C.C.* Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron.* 2009. 61: 85–100.
- Kneussel M., Hausrat T.J.* Postsynaptic neurotransmitter receptor reserve pools for synaptic potentiation. *Trend. Neurosci.* 2016. 39: 170–182.
- Li H., Khiroug S., Cai C., Ludwig A., Blaeser P., Kolikova J., Afzalov R., Coleman S.K., Lauri S., Airaksinen M.S., Keinänen K., Khiroug L., Saarma M., Kaila K., Rivera C.* KCC2 interacts with the dendritic cytoskeleton to promote spine development. *Neuron.* 2007. 56: 1019–1033.
- Lin W.H., Webb D.J.* Actin and actin-binding proteins: masters of dendritic spine formation, morphology, and function. *Open Neurosci. J.* 2009. 3: 54–66.
- Lu Y.M., Mansuy I.M., Kandel E.R., Roder J.* Calcineurin-mediated LTD of GABAergic inhibition underlies the increased excitability of CA1 neurons associated with LTP. *Neuron.* 2000. 26: 197–205.
- Luscher B., Fuchs T., Kilpatrick C.L.* GABA<sub>A</sub> receptor trafficking-mediated plasticity of inhibitory synapses. *Neuron.* 2011. 70: 385–409.
- Lushnikova I., Skibo G., Muller D., Nikonenko I.* Excitatory synaptic activity is associated with a rapid structural plasticity of inhibitory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. *Neuropharmacology.* 2011. 60: 757–764.
- Mahadevan V., Woodin M.A.* Regulation of neuronal chloride homeostasis by neuromodulators. *J. Physiol.* 2016. 594: 2593–2605.
- Mapelli J., Gandolfi D., Vilella A., Zoli M., Bigiani A.* Heterosynaptic GABAergic plasticity bidirectionally driven by the activity of pre- and postsynaptic NMDA receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. 113: 9898–9903.
- Marsden K.C., Shemesh A., Bayer K.U., Carroll R.C.* Selective translocation of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin protein kinase IIalpha (CaMKIIalpha) to inhibitory synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. 107: 20559–20564.
- Matsuzaki M., Honkura N., Ellis-Davies G.C., Kasai H.* Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature.* 2004. 429: 761–766.
- Maynard S.A., Triller A.* Inhibitory receptor diffusion dynamics. *Front. Mol. Neurosci.* 2019. 12: 313.
- McBain C.J., Kaue J.A.* Presynaptic plasticity: targeted control of inhibitory networks. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2009. 19 (3): 254–262.
- Mele M., Costa R.O., Duarte C.B.* Alterations in GABA<sub>A</sub>-receptor trafficking and synaptic dysfunction in brain disorders. *Front. Cell. Neurosci.* 2019. 13: 77.
- Meyer D., Bonhoeffer T., Scheuss V.* Balance and stability of synaptic structures during synaptic plasticity. *Neuron.* 2014. 82: 430–443.
- Muir J., Arancibia-Carcamo I.L., MacAskill A.F., Smith K.R., Griffin L.D., Kittler J.T.* NMDA receptors regulate GABA<sub>A</sub> receptor lateral mobility and clustering at inhibitory synapses through serine 327 on the 2 subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. 107: 16679–16684.
- Mukherjee J., Kretschmannova K., Gouzer G., Maric H.-M., Ramsden S., Tretter V., Harvey K., Davies P.A., Triller A., Schindelin H., Moss S.J.* The residence time of GABA<sub>A</sub>Rs at inhibitory synapses is determined by direct binding of the receptor 1 subunit to gephyrin. *J. Neurosci.* 2011. 31 (41): 14677–14687.
- Oh W.C., Lutzu S., Castillo P.E., Kwon H.B.* De novo synaptogenesis induced by GABA in the developing mouse cortex. *Science.* 2016. 353: 1037–1040.
- Ormond J., Woodin M.A.* Disinhibition mediates a form of hippocampal long-term potentiation in area CA1. *PLoS One.* 2009. 4: e7224.
- Ouyang Y., Wong M., Capani F., Rensing N., Lee C.-S., Liu Q., Neusch C., Martone M.E., Wu J.Y., Yamada K., Ellisman M.H., Choi D.W.* Transient decrease in F-actin may be necessary for translocation of proteins into dendritic spines. *Eur. J. Neurosci.* 2005. 22 (12): 2995–3005.
- Pennacchietti F., Vascon S., Nieus T., Rosillo C., Das S., Tyagarajan S.K., Diaspro A., Del Bue A., Petrini E.M.,*

- Barberis A., Zanacchi F.C.* Nanoscale molecular re-organization of the inhibitory postsynaptic density is a determinant of gabaergic synaptic potentiation. *J. Neurosci.* 2017. 37 (7): 1747–1756.
- Petrini E.M., Barberis A.* Diffusion dynamics of synaptic molecules during inhibitory postsynaptic plasticity. *Front. Cell. Neurosci.* 2014. 8: 300.
- Pizzarelli R., Griguoli M., Zacchi P., Petrini E.M., Barberis A., Cattaneo A., Cherubini E.* Tuning GABAergic inhibition: gephyrin molecular organization and functions. *Neuroscience*. 2020. 439: 125–136.
- Puskarjov M., Ahmad F., Kaila K., Blaesse P.* Activity-dependent cleavage of the K-Cl cotransporter KCC2 mediated by calcium-activated protease calpain. *J. Neurosci.* 2012. 32: 11356–11364.
- Ramachandran B., Frey J.U.* Interfering with the actin network and its effect on long-term potentiation and synaptic tagging in hippocampal CA1 neurons in slices *in vitro*. *J. Neurosci.* 2009. 29: 12167–12173.
- Rannals M.D., Kapur J.* Homeostatic strengthening of inhibitory synapses is mediated by the accumulation of GABA<sub>A</sub> receptors. *J. Neurosci.* 2011. 31 (48): 17701–17712.
- Ravasenga T., Ruben M., Regio V., Polenghi A., Petrini E.M., Barberis A.* Spatial regulation of coordinated excitatory and inhibitory synaptic plasticity at dendritic synapses. *Cell. Rep.* 2022. 38: 110347.
- Rex C.S., Gavin C.F., Rubio M.D., Kramar E.A., Chen L.Y., Jia Y., Huganir R.L., Muzyczka N., Gall C.M., Miller C.A., Lynch G., Rumbaugh G.* Myosin IIB regulates actin dynamics during synaptic plasticity and memory formation. *Neuron*. 2010. 67 (4): 603–617.
- Rosenmund C., Westbrook G.L.* Calcium-induced actin depolymerization reduces NMDA channel activity. *Neuron*. 1993. 10: 805–814.
- Runge K., Cardoso C., de Chevigny A.* Dendritic spine plasticity: Function and mechanisms. *Front. Synapt. Neurosci.* 2020. 12: 36.
- Rust M.B., Gurniak C.B., Renner M., Vara H., Morando L., Görlich A., Sassoè-Pognetto M., Banchaabouchi M.A., Giustetto M., Triller A., Choquet D., Witke W.* Learning, AMPA receptor mobility and synaptic plasticity depend on n-cofilin-mediated actin dynamics. *EMBO J.* 2010. 29 (11): 1889–1902.
- Saliba R.S., Gu Z., Yan Z., Moss S.J.* Blocking L-type voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels with dihydropyridines reduces gamma-aminobutyric acid type A receptor expression and synaptic inhibition. *J. Biol. Chem.* 2009. 284: 32544–32550.
- Shao C., Dong J., Zhao M., Liu S., Wang X., Yu Y., Fang L., Zhu Z., Chen Q., Xiao X., Zhang W.-N., Yang K.* Presynaptic GABA<sub>B</sub> receptors differentially modulate GABA release from cholecystokinin and parvalbumin interneurons onto CA1 pyramidal neurons: A cell type-specific labeling and activating study. *Neurosci. Lett.* 2022. 772: 136448.
- Shrivastava A.N., Triller A., Sieghart W.* GABA<sub>A</sub> receptors: post-synaptic co-localization and cross-talk with other receptors. *Front. Cell. Neurosci.* 2011. 5: 7.
- Sprekeler H.* Functional consequences of inhibitory plasticity: homeostasis, the excitation-inhibition balance and beyond. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2017. 43: 198–203.
- Tong L., Prieto G.A., Cotman C.W.* IL-1 $\beta$  suppresses cLTP-induced surface expression of GluA1 and actin polymerization via ceramide-mediated Src activation. *J. Neuroinflammation*. 2018. 15: 127.
- Villa K.L., Berry K.P., Subramanian J., Cha J.W., Oh W.C., Kwon H.B., Kubota Y., So P.T., Nedivi E.* Inhibitory synapses are repeatedly assembled and removed at persistent sites *in vivo*. *Neuron*. 2016. 89 (4): 756–769.
- Wei J., Zhang M., Zhu Y., Wang J.-H.* Ca(2+)-calmodulin signalling pathway up-regulates GABA synaptic transmission through cytoskeleton-mediated mechanisms. *Neuroscience*. 2004. 127 (3): 637–647.
- Wright R., Newey S.E., Ilie A., Wefelmyer W., Raimondo J.V., Ginham R., McIlhinney R.A.J., Akerman C.J.* Neuronal Chloride Regulation via KCC2 Is Modulated through a GABA<sub>B</sub> Receptor Protein Complex. *J. Neurosci.* 2017. 37 (22): 5447–5462.
- Wu K., Castellano D., Tian Q., Lu W.* Distinct regulation of tonic GABAergic inhibition by NMDA receptor subtypes. *Cell. Rep.* 2021. 37: 109960.
- Xue J.-G., Masuoka T., Gong X.-D., Chen K.-S., Yanagawa Y., Law S.K.A., Konishi S.* NMDA receptor activation enhances inhibitory GABAergic transmission onto hippocampal pyramidal neurons via presynaptic and postsynaptic mechanisms. *J. Neurophysiol.* 2011. 105 (6): 2897–2906.
- Yan Zh., Kim E., Datta D., Lewis D.A., Soderling S.H.* Synaptic actin dysregulation, a convergent mechanism of mental disorders? *J. Neurosci.* 2016. 36 (45): 11411–11417.
- Yap E.L., Pettit N.L., Davis C.P., Nagy M.A., Harmin D.A., Golden E., Dagliyan O., Lin C., Rudolph S., Sharma N., Griffith E.C., Harvey C.D., Greenberg M.E.* Bi-directional perisomatic inhibitory plasticity of a Fos neuronal network. *Nature*. 2020. 590: 115–121.

**THE ROLE OF ACTION DEPOLYMERIZATION  
IN THE CHANGES OF INHIBITORY CONTROL DURING LONG-TERM  
POTENTIATION OF EXCITATORY TRANSMISSION  
IN THE RAT HIPPOCAMPUS**

**I. V. Kudryashova<sup>a</sup>, #**

*<sup>a</sup>Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*  
*#e-mail: iv\_kudryashova@mail.ru*

The plasticity of inhibitory responses during CA3-CA1 long-term potentiation (LTP) in the rat hippocampal slices was studied by the method of paired-pulse stimulation. Coefficients of inhibition were estimated by the differences between IPSP dependent and independent paired-pulse plasticity. In the experimental group high frequency stimulation of Schaffer collaterals was delivered under jasplakinolide exposure, this inhibitor of actin depolymerization is used also as activator of actin polymerization. It was shown that the feature of LTP development after induction with blockade of actin depolymerization include altered modification profile of inhibition, specifically involved in responses to paired-pulse stimulation. Initial enhancement of inhibition depended on the value before tetanization. Therefore this factor may be responsible for between-group differences and it was taken into account in the evaluation of specific for posttetanic depolymerization changes. In result, this phase is related to disinhibition disorder during LTP consolidation and maintenance. It may be assumed that coordinating role of actin cytoskeleton is essential for balanced modifications of excitatory and inhibitory transmission during long-term plasticity.

**Keywords:** hippocampus, long-term potentiation, synaptic destabilization, actin depolymerization, jasplakinolide, disinhibition, disynaptic inhibitory potentials