

DŁUGOTRWAŁE WZMOCNIENIE SYNAPTYCZNE — FUNKCJONALNA MODYFIKACJA POŁĄCZEŃ MIĘDZY KOMÓRKAMI NERWOWYMI

ANDRZEJ WRÓBEL

Wprowadzenie; Cechy długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP) — opis klasycznego wzmocnienia w hipokampie; Postulowany mechanizm powstawania LTP; Czy LTP jest podstawą procesu zapamiętywania?; Długotrwałe osłabienie synaptyczne; Podsumowanie

WPROWADZENIE

Wyjaśnienie procesów leżących u podłoża pamięci i uczenia się od dawna fascynuje badaczy. Od kiedy Ramón y Cajal udowodnił, że mózg jest w istocie siecią złożoną z wielu komórek nerwowych powstało przypuszczenie, że informacja może być przechowywana w strukturze połączeń między nimi. W koncepcji tej, zapamiętywanie polega na zmianie siły (tzw. wagi synaptycznej) lub schematu połączeń między neuronami (p. rozdz. 7 i 14). Obserwacje uczenia się i warunkowania zwierząt doprowadziły Donalda Hebba do sformułowania hipotezy, w myśl której waga synaptyczna, określająca efektywność transmisji przez synapsę, mogłaby ulegać trwałemu wzmocnieniu, jeśli w procesie przetwarzania informacji aktywne byłyby obie komórki: pre- i postsynaptyczna.

W czasie doświadczeń elektrofizjologicznych prowadzonych na formacji hipokampa Terje Lømo z Uniwersytetu w Oslo zauważył, że elektryczna odpowiedź tkanki zakrętu zębatego rejestrowana po drażnieniu dochodzących do niej włókien zwiększa się, jeśli w międzyczasie włókna te pobudzono krótką serią impulsów o częstości kilkunastu herców. Następne doświadczenia wykazały, że zjawisko to polega na wzroście efektywności przewodzenia synaptycznego i może utrzymywać się przez wiele dni. Z tego powodu nazwano je długotrwałym wzmocnieniem synaptycznym (ang. long term potentiation — LTP).

Długotrwałość tej zmiany oraz fakt, że występuje ona w hipokampie — strukturze związanej od dawna z procesami uczenia się i pamięci sugerowały, że długotrwałe wzmocnienie synaptyczne jest formą plastyczności i badanie mechanizmów z nim związanych może być przydatne do zrozumienia powstawania śladu pamięciowego. Zjawisko to stało się więc od razu przedmiotem szczególnego zainteresowania i licznych badań. W LTP można wyróżnić mechanizmy związane z jego indukcją oraz utrzymywaniem się. Ten rozdział dotyczy przede wszystkim pierwszej fazy zjawiska; o drugiej czytelnik może dowiedzieć się więcej w rozdziale 9 i 10.

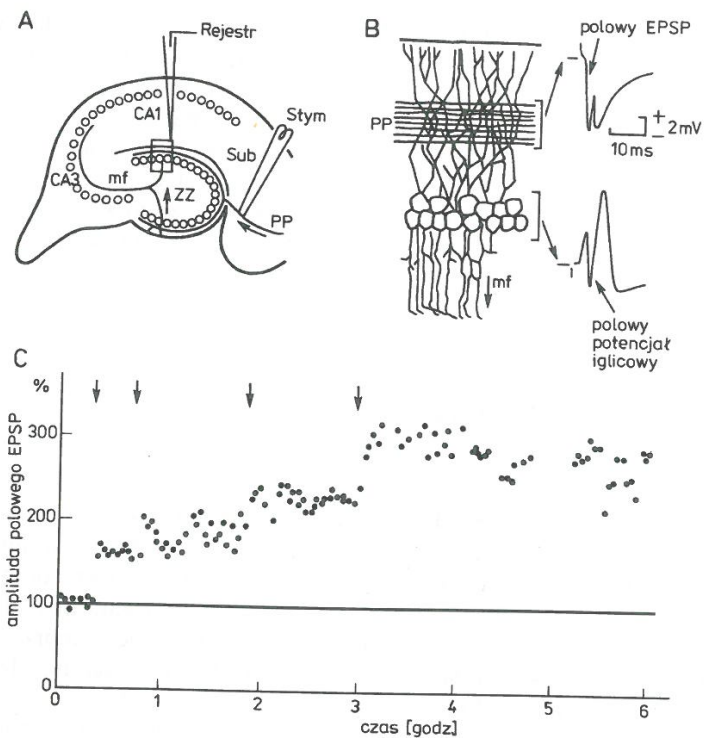
CECHY DŁUGOTRWAŁEGO WZMOCNIENIA SYNAPTYCZNEGO (LTP) — opis klasycznego wzmocnienia w hipokampie

Chociaż występowanie LTP udokumentowano w różnych strukturach mózgu (patrz niżej), to najczęstszym modelem doświadczalnym pozostaje wciąż hipokamp. Jest to uzasadnione nie tylko przywiązaniem do tradycji pierwszych doświadczeń. Hipokamp ma charakterystyczną warstwową budowę umożliwiającą precyzyjne umieszczenie elektrod w warstwie komórkowej lub synaptycznej (ryc. 8.1) — w zależności od wymogów doświadczenia. Jest przy tym bardzo podatny na indukcję wzmocnienia.

Doświadczenia można prowadzić *in vivo* — na zwierzętach pod narkozą lub z zaimplantowanymi na stałe (chronicznie) elektrodami albo *in vitro* — na skrawkach mózgu. Ta ostatnia metoda pozwala na precyzyjne (pod lupą) umieszczanie elektrod w wybranej części struktury i aplikowanie do płynu odżywczego, w którym przechowuje się skrawek, różnych substancji czynnych, na przykład blokerów odpowiednich receptorów. Wadą tej metody jest jednak fakt, że tkanka skrawka żyje tylko kilka godzin, a odkrywane prawidłowości są trudne do porównania z funkcjami właściwymi dla całego mózgu.

Eksperymentalne zalety doświadczeń *in vitro* zadecydowały o tym, że podstawowe cechy LTP zostały opisane w doświadczeniach na skrawkach hipokampa. W jednym z typowych doświadczeń elektrodę stymulującą umieszcza się w drodze przesywającej (ang. perforant path) — złożonej z aferentnych włókien pobudzających strukturę hipokampa (ryc. 8.1). Odpowiedź postsynaptyczną rejestruje się zewnątrzkomórkowo z zakrętu zębatego, w postaci zbiorczego potencjału wywołanego z warstwy komórkowej (ang. population spike) lub zbiorczego potencjału synaptycznego z warstwy synaptycznej (ang. population EPSP). Za miarę wzmocnienia synaptycznego uważa się wzrost amplitudy któregośkolwiek z tych potencjałów lub zwiększenie nachylenia początkowej fazy zbiorczego EPSP. Przyjmuje się, że aby takie wzmocnienie uważać za LTP musi ono trwać przynajmniej około pół godziny.

Rycina 8.1 przedstawia doświadczenie wykonane w laboratorium Pera

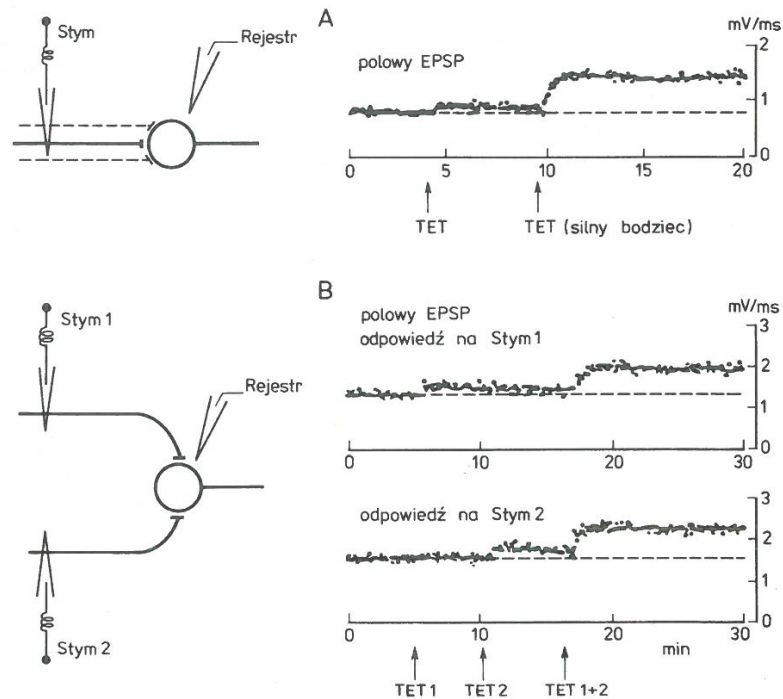


Ryc. 8.1. A — schematyczny obraz skrawka formacji hipokampa królika w cięciu strzałkowym, pokazujący położenie elektrod: drażniącej (Stym) drogi przesywającej (PP) i odbierającej (Rejestr) aktywność elektryczną z zakrętu zębatego (ZZ). B — powiększony fragment obrysowany prostokątem w części A, w celu uwidocznienia warstwowej budowy tkanki z włóknami drogi przesywającej stykającymi się z dendrytami apikalnymi komórek ziarnistych. Z prawej strony pokazano odpowiedzi połowe, uzyskane przez umieszczenie elektrody odbierającej albo w warstwie ciał komórkowych (przebieg dolny), albo w warstwie synaptycznej (przebieg górny). Strzałka wskazuje to zбочne połowe EPSP, którego wielkość lub nachylenie są mierzone w celu określenia stopnia wzmocnienia synaptycznego. C — amplituda połowego EPSP w funkcji czasu doświadczenia. Każdy punkt jest uśrednioną wartością z trzydziestu pomiarów na pojedynczą, testującą stymulację drogi przesywającej. Amplitudy podano w procentach wartości kontrolnej, przed pierwszą tetanizacją. Strzałki wskazują czas, w którym drogę przesywającą drażniono serią impulsów z częstotliwością 15 Hz, przez 10 s. Skróty: CA1, CA3 — pola komórek piramidowych; Sub — podpora; mf — włókna mszyste (wg Bliss i Lomo, 1973, zmodyf., za zgodą)

Andersena w Oslo przez Timothy Blissa i Terje Lomo. Indukowali oni LTP na synapsach zakrętu zębatego hipokampa królika poprzez drażnienie drogi przesywającej krótką serią impulsów elektrycznych o częstotliwości od 15 do 100 Hz (tetanizację). Dolny wykres pokazuje, jak w wyniku każdorazowej stymulacji taką serią wzrasta trwale amplituda zbiorczego EPSP, rejestrowanego z warstwy synaptycznej w odpowiedzi na drażnienie pojedynczym impulsem testującym.

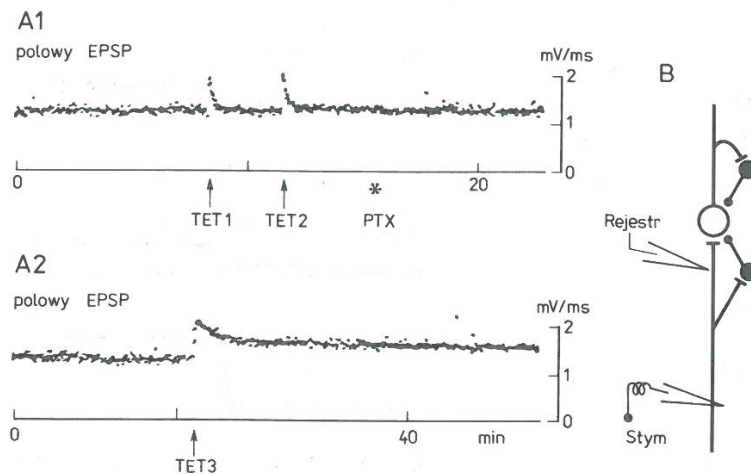
Dalsze intensywne badania ujawniły charakterystyczne cechy długotrwałego wzmocnienia synaptycznego: specyficzność, kooperatywność i asocjacyjność, przedstawione kolejno poniżej.

Podobnie jak inna forma zmian transmisji synaptycznej wywołwana powtarzaniem drażnienia włókien doprowadzających — wzmocnienie potężniejsze (ang. post-tetanic potentiation; PTP), LTP indukuje się jedynie na aktywowanym wejściu. Wykazano jednak, że procesy te są niezależne i opierają się na innych mechanizmach (por. niżej). Tetanizacja drogi doprowadzającej



Ryc. 8.2. Kooperatywność wejść w zakręcie zębatym hipokampa świnki morskiej. Doświadczenie na skrawku tkanki. Zmiany nachylenia początkowej części połowego EPSP w warstwie synaptycznej komórek ziarnistych. A — większe wzmocnienie synaptyczne uzyskuje się drażniąc drogę przesywającą silniejszym bodźcem, który pobudza większą liczbę dochodzących włókien, jak przedstawia schemat z lewej strony. Strzałki wskazują czas drażnienia serią 10 impulsów o częstotliwości 50 Hz (TET). B — asocjacyjność wejść. Dwie elektrody drażniące umieszczono w warstwie synaptycznej, z przeciwnych stron elektrody odbierającej, aby uzyskać możliwość niezależnego drażnienia różnych wejść. Z prawej strony przedstawiono wartości zmian połowego EPSP w odpowiedzi na bodźce testujące dostarczane naprzemiennie przez elektrody Stym1 i Stym2. Na rycinie zaznaczono czas, w którym przez obie elektrody podawano serie 15 impulsów (z częstotliwością 50 Hz i siłą równą wartości bodźca testującego) w kolejności: tylko przez Stym1 (TET1), tylko przez Stym2 (TET2) i w końcu przez obie jednocześnie (TET1+2). Należy zwrócić uwagę na większe i bardziej stabilne LTP wywołane wspólną tetanizacją obu wejść (wg Gustafsson i Wigström, 1988, zmodyf., za zgodą)

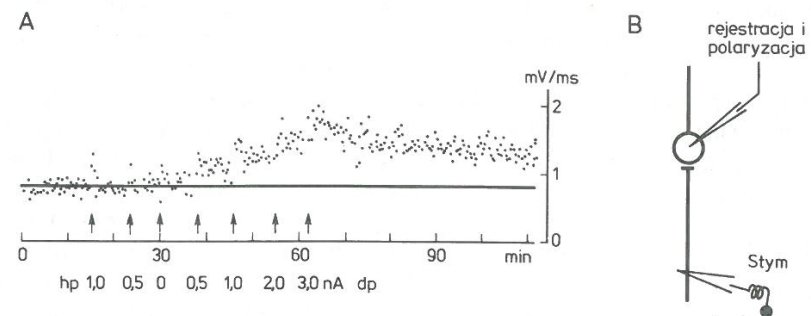
może wywoływać oba te wzmocnienia, z tym, że PTP wygasa po kilku minutach, a LTP trwa *in vitro* przez wiele godzin (ryc. 8.3 i 8.5), a *in vivo* nawet przez kilka dni lub tygodni. Funkcjonalna różnica między LTP a PTP uwidacznia się w tym, że LTP zależy od jednoczesnej aktywności na innych wejściach do komórki. Pokazano mianowicie, że większe wzmocnienie uzyskuje się wtedy, gdy tetanizacji poddaje się większą liczbę włókien aferentnych. Zjawisko to, nazywane zwykle kooperatywnością wejść, odnosi się do faktu, że wszystkie aferentne włókna współdziałają jednocześnie w indukcji LTP. Rekrutację dodatkowych włókien podczas tetanizacji uzyskuje się zwykle przez zwiększenie siły drażniącego bodźca (ryc. 8.2.A) lub jednoczesną aktywację kilku dróg doprowadzających. Ten ostatni sposób zwiększania wzmocnienia nazywa się niekiedy asocjacyjnością wejść lub kooperatywnością między różnymi drogami aferentnymi (ryc. 8.2.B). Słaba stymulacja dwóch wejść powoduje wzmocnienie odpowiedzi, gdy takie samo pobudzenie każdego z nich oddzielnie nie daje efektu lub daje bardzo słaby. Podobnie podczas silnej stymulacji jednych włókien, można uzyskać wzmocnienie odpowiedzi z innego wejścia jeśli zostanie ono lekko pobudzone. Rycina 8.2.B pokazuje również, że



Ryc. 8.3. Facylitacja indukcji LTP w polu CA1 hipokampa świnki morskiej, przy użyciu antagonisty GABA — pikrotoksyny. Doświadczenie na skrawku tkanki. A — zmiany nachylenia początkowej części połowego EPSP mierzone pojedynczym impulsem testującym w czasie doświadczenia. Odcinek rejestracji A2 jest bezpośrednim przedłużeniem A1. Dwie serie złożone z 10 impulsów każda (TET1 i TET2), wywołały jedynie szybko przemijające wzmocnienie (PTP, patrz tekst). W czasie zaznaczonym gwiazdką, do roztworu, w którym znajdował się skrawek, podano kroplę pikrotoksyny (PTX), co nie zmieniło nachylenia badanego EPSP. PTX powoduje jednak zniesienie hamowania postsynaptycznego i w efekcie następną serię 10 impulsów o tej samej sile wywołuje długotrwałą zmianę połowego EPSP. B — schemat pokazujący dwie różne drogi hamowania postsynaptycznego komórek piramidowych (duże, białe kółka) za pośrednictwem neuronów wstawkowych (czarne, mniejsze kółka). Elektroda rejestrująca umieszczona była w warstwie synaptycznej (wg Wigström i Gustafsson, 1986, zmodyf.).

indukcja LTP jest ograniczona do aktywowanego presynaptycznie wejścia, a więc specyficzna względem wzmacnianego połączenia. Jak wynika z powyższego opisu, do wywołania LTP wymagana jest pewna progowa wartość pobudzenia; należy tu dodać, że samo wzmocnienie jest zjawiskiem nasycającym się i powtarzająca się tetanizacja powoduje wzrost wzmocnienia tylko do ograniczonej wartości.

Kooperatywność LTP związana jest najprawdopodobniej z procesami postsynaptycznymi. Stwierdzono bowiem, że podanie pikrotoksyny, substancji blokującej hamowanie postsynaptyczne, znacznie obniża próg indukcji LTP. Rejestracje z takiego doświadczenia przedstawia rycina 8.3. Na początku, gdy skrawek znajduje się w normalnym roztworze fizjologicznym, krótkie serie tetanizujące wywołują jedynie krótkotrwałe wzmocnienie potetaniczne (PTP). Podanie do roztworu pikrotoksyny powoduje, że taka sama seria impulsów wywołuje dodatkowo LTP, nie zmieniając obserwowanego uprzednio PTP, zjawiska opartego, jak z tego wynika, na innym mechanizmie. W innym doświadczeniu stwierdzono, że zniesienie hamowania postsynaptycznego pozwala wywołać LTP po serii złożonej jedynie z dwu impulsów. Prawdopodobnie, w takiej sytuacji pierwszy z impulsów aferentnych powoduje wystarczającą depolaryzację postsynaptyczną do wywołania wzmocnienia. Gustafsson i Wigström wykazali, że pojedynczy impuls presynaptyczny w połączeniu ze sztucznie wytworzoną, odpowiednio wysoką depolaryzacją komórki postsynaptycznej, również wywołuje LTP. Rejestracje z takiego doświadczenia przedstawia rycina 8.4. Depolaryzacja niezbędna do wytworzenia LTP może powstać albo przez sumowanie czasowe EPSP, jak przy pobudzeniu



Ryc. 8.4. Zależność indukcji LTP w polu CA1 na skrawku hipokampa świnki morskiej, od polaryzacji błony komórki postsynaptycznej. A — pomiar początkowej części wewnątrzkomórkowego EPSP w odpowiedzi na kolejne bodźce testujące. Strzałki wskazują czas, w którym jednocześnie drażniono drogę doprowadzającą oraz polaryzowano komórkę postsynaptyczną przez umieszczoną w niej elektrodę. B — każdy taki epizod drażnienia składał się z pięciu serii impulsów (5 impulsów, z częstotliwością 50 Hz) nakładających się w czasie na bodziec polaryzujący komórkę przez okres 300 ms. Wartości prądu polaryzującego (nA) podano na dole ryciny; hp, dp — prąd hiperpolaryzujący i depolaryzujący błonę komórki (wg Gustafsson i Wigström, 1988, zmodyf., za zgodą Elsevier Trends Journals)

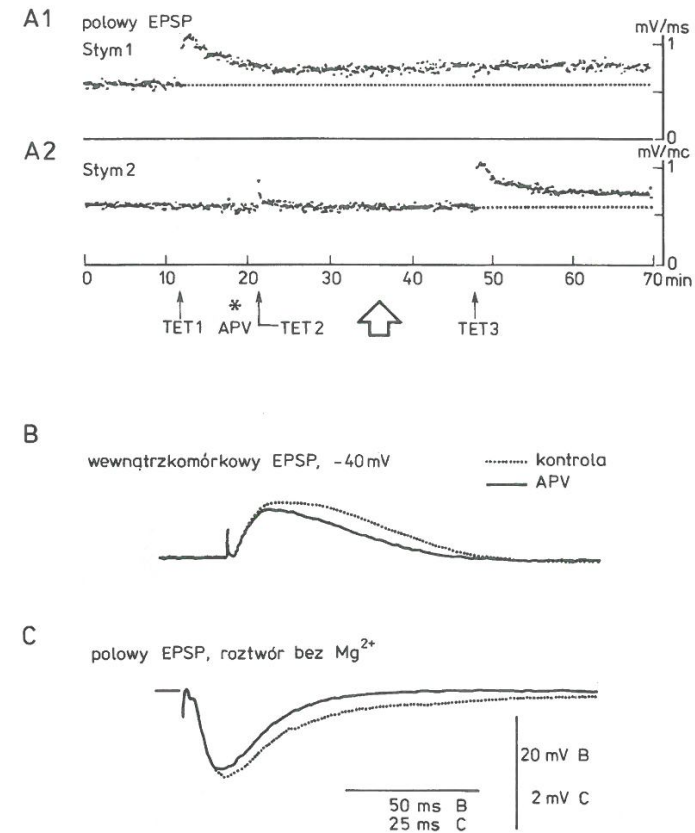
tetanicznym, lub sumowanie przestrzenne, jak przy asocjacji dwóch wejść — aby tylko komórka postsynaptyczna osiągnęła pewną progową depolaryzację wystarczającą do aktywacji wzmocnienia synaptycznego. Czynniki zapobiegające indukcji LTP okazały się natomiast odpowiednio: sztuczne utrzymywanie błony postsynaptycznej na poziomie potencjału spoczynkowego lub wyższym (hiperpolaryzacja) albo podanie do roztworu, w którym znajduje się skrawek, neurotransmitera hamującego (np. GABA).

Doświadczenia nad LTP doprowadziły więc do konkluzji, w zadziwiający sposób zgodnej z koncepcją Hebba, która do aktywacji połączenia między komórkami wymagała aktywności obu neuronów pre- i postsynaptycznego. Ostatnie doświadczenia wykonane między innymi w grupie Erica Kandel'a sugerują, że zwiększenie przewodnictwa może być również wynikiem działania na pobudzone zakończenia neuronu presynaptycznego substancji dyfundujących zwrótnie z neuronu postsynaptycznego (np. tlenu azotu). Te wyniki pozwoliły Kandelowi na rozważanie hipotezy, że długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP) może zależeć od dwu nakładających się mechanizmów: hebbowskiego, zmieniającego przewodnictwo błony postsynaptycznej i niehebbowskiego, zwiększającego uwalnianie transmittera w zależności od aktywności presynaptycznej (por. ryc. 8.6.B).

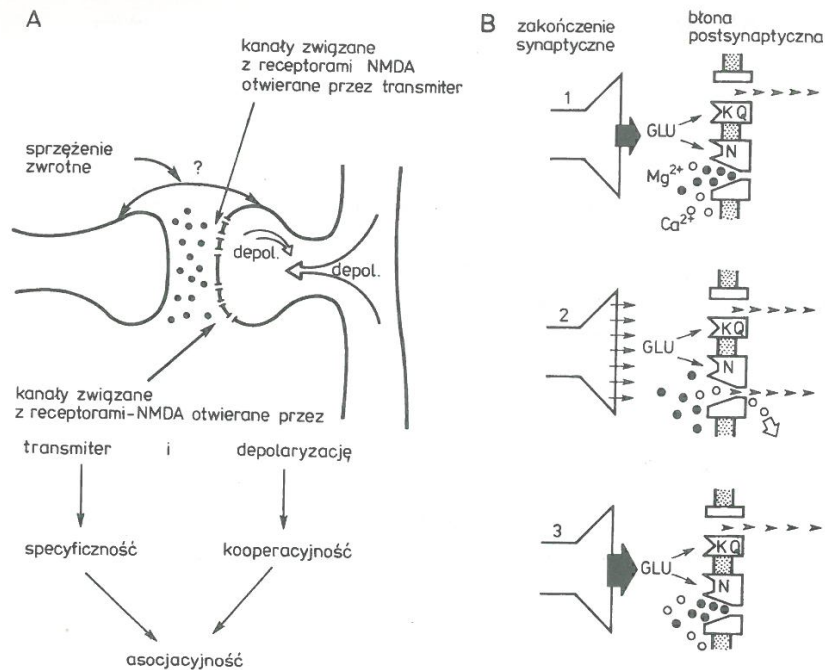
POSTULOWANY MECHANIZM POWSTAWANIA LTP

Najbardziej rozpowszechnionym przekaźnikiem pobudzającym w ośrodkowym układzie nerwowym, również w głównych szlakach neuronalnych hipokampa, jest kwas glutaminowy. Na błonie postsynaptycznej synaps komórek piramidowych i ziarnistych, które ulegają długotrwałemu wzmocnieniu, występują dwa typy funkcjonalnie i strukturalnie różnych receptorów tego przekaźnika, oba związane z kanałami jonowymi: nie-NMDA i NMDA oraz receptory metabotropowe, których udział jest istotny w późniejszych fazach, ale nie podczas indukcji LTP. O ile te pierwsze służą regularnej transmisji synaptycznej, receptory NMDA (tj. „wrażliwe” na kwas N-metylo-D-asparaginianowy) mają swój niekwestionowany udział w wywoływaniu LTP, gdyż ich zablokowanie przy użyciu antagonisty — APV (kwas 2-amino-5-fosfowalerianowy) całkowicie uniemożliwia wywołanie wzmocnienia (ryc. 8.5.A). Podanie APV po tetanizacji nie znosi natomiast wytworzonego uprzednio wzmocnienia. Te wyniki sugerują, że receptory NMDA, kluczowe dla indukcji LTP, nie są potrzebne do utrzymania wzmocnienia synaptycznego. Ogólnie rzecz biorąc, aktywacja receptorów NMDA podlega tym samym zasadom, co dyskutowana wyżej indukcja LTP. Stąd hipoteza dotycząca mechanizmu powstawania wzmocnienia synaptycznego oparta została w znacznym stopniu na tym podobieństwie.

Wykazano, że kanały związane z receptorami NMDA są jedną z dróg, którą do komórki mogą dostać się jony wapnia. Jony te pełnią kluczową rolę



Ryc. 8.5. Blokowanie indukcji LTP i wewnątrzkomórkowych odpowiedzi postsynaptycznych przez APV. A — wpływ APV na indukcję LTP w warstwie synaptycznej pola CA1 skrawka hipokampa świnki morskiej. A1 i A2 pokazują wartości początkowego nachylenia połowego EPSP mierzonego po naprzemiennej stymulacji dwu różnych wejść wg schematu, jak na ryc. 8.2.B. Wejście 1 (Stym1) było tetanizowane tylko raz, serią 10 impulsów o częstotliwości 50 Hz (strzałka TET1), co doprowadziło do wytworzenia LTP trwającego przez cały 60-minutowy okres doświadczenia. Po tej tetanizacji do roztworu dodano kroplę APV (gwiazdka), co nie wywołało zmian w początkowym nachyleniu połowego EPSP, ale całkowicie zablokowało możliwość indukcji LTP przez identyczną serię impulsów na wejściu 2 (TET2). Po 30-minutowym wymywaniu APV z roztworu, w którym znajdował się skrawek, wejście 2 zostało ponownie tetanizowane (TET3), tym razem powodując wzmocnienie podobne do obserwowanego uprzednio na wejściu 1. B — inny skrawek. Pojedyncze EPSP odbierane wewnątrzkomórkowo przed (linia kropkowana) i po (linia ciągła) dodaniu do roztworu APV. Neuron był sztucznie zdepolaryzowany do potencjału -40 mV dla uwidocznienia wkładu od prądu jonowego płynącego przez zależne od napięcia kanały związane z receptorami NMDA. C — inny skrawek. Połowy EPSP odbierany przed (linia kropkowana) i po (linia ciągła) podaniu do roztworu APV. Trzy godziny przed doświadczeniem skrawek umieszczono w roztworze nie zawierającym jonów magnezu (wg Wigström i Gustafsson, 1986, zmodyf.).



Ryc. 8.6. Hipotezy dotyczące indukcji LTP w hipokampie. A — mechanizmy specyficzności i kooperatywności wejść. Na jednym kolcu dendrytycznym znajdują się kanały związane zarówno z receptorami NMDA, jak i nie-NMDA. Te ostatnie otwierają się zawsze w wyniku działania transmitera, co prowadzi do powstania w komórce postsynaptycznej typowego EPSP. Otwarcie kanałów związanych z receptorami NMDA przez które do kolca komórki postsynaptycznej dostają się jony Ca^{2+} wymaga jednoczesnego działania transmitera i depolaryzacji postsynaptycznej. Depolaryzacja ta powstaje w części, w wyniku prądu jonowego płynącego przez kanały obu typów znajdujące się na kolcu, jak również przez wpływ heterosynaptycznego prądu, rozchodzącego się od innych, aktywnych synaps (wg Gustafsson i Wigström, 1988, zmodyf., za zgodą). B — trzy fazy indukcji LTP: 1 — aktywność o niskiej częstotliwości. Neurotransmitter (GLU) wiąże się z receptorami nie-NMDA (KQ) oraz NMDA (N). Kanały związane z receptorami NMDA są w zasadzie zablokowane przez jony magnezu (czarne kółka). Potencjały postsynaptyczne są generowane dzięki typowemu przewodnictwu jonów jednowartościowych przez kanały związane z receptorami nie-NMDA (czarne strzałki); 2 — w czasie tetanicznej aktywności presynaptycznej następuje depolaryzacja błony postsynaptycznej (jak w hipotezie A), która znosi blokadę kanałów NMDA, co z kolei aktywuje przewodnictwo jonów jednowartościowych oraz jonów wapnia (białe kółka i strzałka). Jony wapnia po wejściu do komórki postsynaptycznej aktywują procesy metaboliczne prowadzące do utrzymania wzmocnienia; 3 — po wywołaniu wzmocnienia, w trakcie regularnej, niskiej częstotliwości impulsacji presynaptycznej kanały związane z receptorami NMDA zostają ponownie zablokowane przez jony magnezu. Zmiany metaboliczne spowodowały jednak zwrotnie, zwiększenie uwalniania neurotransmitera (GLU, gruba strzałka), lub postsynaptycznie, zwiększenie przewodnictwa przez kanały związane z receptorami nie-NMDA (wg Collingridge, 1985, zmodyf.).

w hipotezie dotyczącej indukcji LTP, gdyż powszechnie uważa się, że ich wejście do komórki postsynaptycznej początkuje procesy prowadzące do wzrostu EPSP (patrz niżej oraz por. rozdz. 9). Istotnie, wstrzyknięcie do komórki chelatora (EGTA), specyficznie wiążącego jony wapnia, blokuje generację LTP. Kanał jonowy związany z receptorem NMDA staje się „przepuszczalny” dla jonów wapnia w wyniku jednoczesnego działania mediatora oraz postsynaptycznej depolaryzacji (ryc. 8.6.A). W warunkach spoczynkowych kanał ten jest blokowany przez jony magnezu, które są usuwane pod wpływem sił elektrostatycznych wytworzonych przez depolaryzację (ryc. 8.6.B). Taka kaskada zjawisk na błonie postsynaptycznej znajduje swoje potwierdzenie eksperymentalne w rejestracjach przedstawionych na rycinie 8.5. Składowa potencjału synaptycznego wynikająca z prądu płynącego przez kanały jonowe związane z receptorem NMDA uwidacznia się albo w warunkach depolaryzacji komórki postsynaptycznej (ryc. 8.5.B), albo w roztworze pozbawionym jonów magnezu (ryc. 8.5.C) jako różnica w stosunku do potencjału kontrolnego. Jak widać, ma ona znacznie dłuższą latencję i czas trwania od zasadniczej składowej produkowanej przez kanały nie-NMDA. Ta różnica w czasie aktywacji obu składowych zapobiega prawdopodobnie samowzmocnieniu połączenia synaptycznego jednym przekazywanym impulsem, bez udziału kooperatywnie wytwarzanej depolaryzacji z innych włókien (por. ryc. 8.6).

Wapń wnikający do komórki powoduje aktywację wielu procesów metabolicznych, które prowadzą do indukcji i utrzymania wzmocnienia (p. rozdz. 9). Dyskutuje się kilka możliwych mechanizmów służących utrzymaniu wzmocnienia. Dotyczą one albo potencjacji wydzielania transmitera z zakończeń presynaptycznych albo zwiększenia liczby lub pobudliwości elementów postsynaptycznych (ryc. 8.6.B). Pierwsza z tych możliwości doczekała się eksperymentalnego potwierdzenia, gdyż po tetanicznej stymulacji włókien doprowadzających stwierdza się (blokowany specyficznie przez APV) wzrost stężenia glutaminianu w przestrzeni międzykomórkowej, jak i średniej liczby rejestrowanych postsynaptycznie „porcji” neuroprzekaźnika.

W opisanych powyżej doświadczeniach badano powstawanie LTP na synapsach komórek zakrętu zębatego lub pola CA1. Wypada podkreślić, że w samym hipokampie (na synapsach neuronów piramidowych pola CA3) LTP indukuje się praktycznie bez udziału receptorów NMDA, prawdopodobnie za pomocą mechanizmów presynaptycznych. Opisany wyżej mechanizm indukcji tego zjawiska nie jest więc powszechny. Ponieważ LTP może utrzymywać się przez kilka tygodni, można przypuszczać, że w różnych okresach zjawisko to oparte może być na odmiennych procesach, o niejednakowo przebiegającej w czasie kinetyce. Taka hipoteza ma swoje uzasadnienie w tym, że czas trwania LTP zależy od siły z jaką zostało zaindukowane oraz szeregu innych czynników. Przemawia za nią również fakt, że u podłoża tego zjawiska leży najprawdopodobniej kilka niezależnych

mechanizmów, zarówno pre-, jak i postsynaptycznych. Wszystkie te procesy mogą zaczynać się równocześnie wtargnięciem jonów wapnia do komórki lub aktywować się kolejno.

Na koniec należy wspomnieć, że długotrwałe wzmocnienie synaptyczne zostało opisane w różnych strukturach ośrodkowego układu nerwowego, jak i w układzie obwodowym, zarówno u kręgowców, jak i bezkręgowców. Nie ma jednak wielu podstaw do stwierdzenia, że podobne zjawiska oparte są na tych samych mechanizmach. Tym niemniej w ostatnich latach, zarówno grupa Wolfa Singera (z Instytutu Badania Mózgu im. Maxa Plancka, we Frankfurcie), jak i inni badacze pokazali, że w nowej korze ssaków, strukturze, której udział w uczeniu się jest niepodważalny, zjawisko LTP oparte jest na mechanizmie związanym z receptorami NMDA, podobnie jak przedstawiono powyżej dla hipokampa.

CZY LTP JEST PODSTAWĄ PROCESU ZAPAMIĘTYWANIA?

Ogromne zainteresowanie, jakie od samego początku towarzyszyło badaniom długotrwałego wzmocnienia synaptycznego, było spowodowane nadzieją na to, że okaże się ono jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za pamięć. Niestety, liczne próby zmierzające do połączenia obu zjawisk nie są jeszcze dostatecznie przekonujące, przede wszystkim ze względu na uzyskiwane w nich sprzeczne wyniki lub trudności interpretacyjne. Uzyskano już jednak zachęcające rezultaty, zarówno w testach opartych na warunkowaniu klasycznym, jak i instrumentalnym, u zwierząt z wszczepionymi na stałe (chronicznie) elektrodami. W różnych układach doświadczalnych stwierdzano, że:

- 1 — w takich samych warunkach, w których następuje uczenie się, powstaje również wzmocnienie odpowiedniego połączenia synaptycznego;
- 2 — wzrostowi LTP towarzyszy poprawa wyników testów na uczenie się;
- 3 — czynniki blokujące indukcję wzmocnienia uniemożliwiają zapamiętywanie i odwrotnie.

Wszystkie te wyniki udało się otrzymać w jednym doświadczeniu, przeprowadzonym w laboratorium Serge Larocha (w Gif-sur-Yvette). Na początku szczury nauczono, aby po włożeniu do klatki doświadczalnej, naciskały raz za razem dźwignię, co było nagradzane, podawaną co pewien czas, peletką pokarmu. Ta podstawowa aktywność ruchowa ulegała zmniejszeniu, gdy przez podłogę, zwierzę otrzymywało lekki szok elektryczny w łapy, jako bodziec bezwarunkowy. Szok ten kojarzono następnie w czasie, z bodźcem warunkowym, którym była wysokoczęstotliwa seria impulsów elektrycznych drażniących drogę przesywającą, przez zaimplantowaną w okolicę hipokampa, elektrodę. Takie uczenie, już po drugiej sesji kojarzącej oba bodźce, powodowało w próbie testowej (na samotny bodziec warunkowy) jednoczesny spadek

aktywności pokarmowej zwierząt, czyli reakcję warunkową, oraz znaczące wzmocnienie synaptyczne rejestrowane inną elektrodą, umieszczoną w zakręcie zębatym hipokampa. W doświadczeniu tym uzyskano wyraźną korelację między poziomem wzmocnienia synaptycznego (LTP) a siłą reakcji na bodziec warunkowy (mierzoną obniżeniem częstotliwości naciskania na dźwignię). Podprogowy bodziec warunkowy, nie wywołujący połowego EPSP w zakręcie zębatym lub ciągle (chroniczne) podawanie APV zapobiegały nie tylko indukcji LTP, ale również uczeniu się. Dalsze intensywne badania, niewątpliwie, już niedługo, muszą doprowadzić do jasnego określenia związku długotrwałego wzmocnienia synaptycznego w hipokampie i innych strukturach ośrodkowego układu nerwowego z konsolidacją i przechowywaniem śladu pamięciowego.

DŁUGOTRWAŁE OSŁABIENIE SYNAPTYCZNE

Wielokrotne pobudzanie pewnych dróg prowadzić może również do innej formy plastyczności — długotrwałego osłabienia transmisji synaptycznej (LTD, ang. long term depression — tłumaczone często na długotrwałe osłabienie synaptyczne). Mechanizm i funkcja LTD jest jeszcze mniej znana niż LTP. Jego występowanie w hipokampie kojarzono najpierw z mechanizmem zabezpieczenia komórek przed zbyt dużym pobudzeniem. Niedawno Patrick Stenton i Terrence Sejnowski, z Uniwersytetu Johna Hopkinsa w Baltimore, przedstawili badania sugerujące, że mechanizm ten może mieć znaczenie w przypadku, gdy asocjacja dwu wejść do komórki piramidowej pola CA1 hipokampa jest ujemnie skorelowana w czasie, a więc w sytuacji przeciwnej do proponowanej przez Hebba. Teoretycznie, odpowiada to takiemu procesowi uczenia się, w którym dwa bodźce nigdy nie występują razem. W swej pracy, badacze z Baltimore indukowali LTD z częstością 5 Hz, drażniąc na zmianę, dwie drogi doprowadzające, jak na ryc. 8.2.B. W takiej sytuacji, bodziec testowy powodował pobudzenie komórek piramidowych w przeciwfazie do warunkowego (co 200 ms), to znaczy w chwili, gdy komórki te były zhiperpolaryzowane w wyniku hamowania postsynaptycznego (por. schemat na ryc. 8.3.B) oraz charakterystycznej dla nich hiperpolaryzacji następczej. Prawdopodobnie, istotne do zaindukowania LTD jest pobudzenie dowolnego z wejść, jednoczesne z odpowiednią polaryzacją komórki postsynaptycznej.

Zmianę wzmocnienia synaptycznego w zależności od wartości polaryzacji błony postsynaptycznej badano dokładniej na synapsach wzgórzowo-korowych komórek kory wzrokowej szczura (w Instytucie Maxa Plancka, we Frankfurcie). Doświadczenia te sugerują, że oba zjawiska: LTP i LTD mogą powstawać na tej samej synapsie (homosynaptycznie), gdy aktywność presynaptyczna zostanie skojarzona z odpowiednim stanem błony komórek korowych. I tak LTD indukuje się wtedy, gdy depolaryzacja błony postsynaptycznej przekracza pewien niewielki, krytyczny poziom, pozostając poniżej progu odblokowania

przewodnictwa jonowego, zależnego od receptorów NMDA, podczas gdy powstanie LTP wymaga przekroczenia tego progu. Gdyby przedstawiona hipoteza potwierdziła się w dalszych badaniach, pozwoliłaby zrozumieć komórkowe podłoże wielu zjawisk plastycznych w układzie nerwowym.

Miejscem, w którym mechanizm i rola LTD wydają się stosunkowo najlepiej poznane, jest mózdzek. W laboratorium Masao Ito na Uniwersytecie Tokijskim stwierdzono, że jednoczesne pobudzenie włókien prążkowych i równoległych prowadzi do długotrwałego osłabienia przewodnictwa synaptycznego z włókien równoległych do komórek Purkiniego. W tym układzie LTD wykazuje cechy podobne do LTP w hipokampie: kooperatywność i specyficzność wejścia oraz utrzymuje się co najmniej przez godzinę. Mechanizm molekularny leżący u podłoża LTD w mózdzku wydaje się również aktywowany przez jony wapnia dostające się do komórek postsynaptycznych, gdyż podanie chelatora jonów dwuwartościowych (EDTA) skutecznie blokuje indukcję LTD. W bogatej serii doświadczeń uczeni japońscy wykazali również, że zjawisko osłabienia synaptycznego w mózdzku, towarzyszy doskonaleniu zadań związanych z ruchem.

PODSUMOWANIE

W niniejszym rozdziale starano się pokazać, jak powtarzana stymulacja doprowadzających dróg glutaminergicznych w połączeniu z jednoczesną aktywacją komórek postsynaptycznych indukuje trwałe zmiany w transmisji synaptycznej — jej wzrost (LTP), lub spadek (LTD). W hipotezach dotyczących działania mózgu, badacze powołują się najczęściej na mechanizm LTP w związku z procesami uczenia się i pamięci, a zjawisko LTD używane jest jako typowy przykład plastyczności podczas doskonalenia zdolności ruchowych, gdzie uczenie się polega na ciągłym korygowaniu błędnego położenia.

LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA

- Artola, A., Bröcher, S., Singer, W.: Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature*, 1990, **347**; 69-72.
- Artola, A., Singer, W.: Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. *Nature*, 1987, **330**; 649-652.
- Bliss, T.V.P., Lomo, T.: Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.*, 1973, **232**; 331-356.
- Collingridge, G.L.: Long-term potentiation in the hippocampus: mechanisms of initiation and modulation by neurotransmitters. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1985, **6**; 407-411.
- Głązewski, S.: Długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP). Neuronalny mechanizm procesu zapamiętywania? *Kosmos*, 1990, **39**; 265-276.

Gustafsson, B., Wigström, H.: Physiological mechanisms underlying long-term potentiation. *TINS*, 1988, **11**; 156-162.

Ito, M.: Long-term depression. *Ann. Rev. Neuroscience*, 1989, **12**; 85-102.

Laroche, S., Doyere, V., Bloch, V.: Linear relation between the magnitude of long-term potentiation in the dentate gyrus and associative learning in the rat. A demonstration using commissural inhibition and local infusion of an *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Neuroscience*, 1989, **28**; 375-386.

Stenton, P.K., Sejnowski, T.J.: Associative long-term depression in the hippocampus induced by hebbian covariance. *Nature*, 1989, **339**; 215-218.

Wigström, H., Gustafsson, B.: Postsynaptic control of hippocampal long-term potentiation. *J. Physiol.*, (Paris), 1986, **81**; 228-236.