BRIEF REPORT

The Role of Astrocytic Cx43 in Baseline Synaptic Response and Short Term Synaptic Plasticity in CA1 Area of the Hippocampus

Mahgol Darvishmolla[1],
Negin Saeedi[2],
Soomaayeh Heysieattalab[3],
Narges Hosseinmardi[4],
Mahyar Janahmadi[5]

[1] MSc Student in Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] PhD Student in Physiology, Neuroscience Research Center, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Assistant Professor, Division of Cognitive Neuroscience, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[4] Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received November 23, 2021 ; Accepted May 8, 2021)

Abstract

Background and purpose: Astrocytic connexins (Cxs) play roles in ion diffusion to the extracellular milieu and in release of ATP and gliotransmitters including glutamate. Connexin 43 (Cx43) is one of the most abundant Cxs in brain tissue, especially in the hippocampus, so, we investigated its role on CA1 baseline synaptic response and short term synaptic plasticity.

Materials and methods: In this experimental study, bilateral intrahippocampal microinjection of TAT-Gap19, Cx43 blocker (1nmol/1µl) was performed for inhibition of hippocampal astrocytic connexin 43. Baseline synaptic response and short term synaptic plasticity were evaluated by field potential recording.

Results: According to two-way ANOVA, inhibition of hippocampal Cx43 did not have any effect on baseline synaptic response ($P>0.05$). TAT-Gap19 decreased paired pulse index (PPI) at 20 and 80 ms inter pulse intervals (IPI, Unpaired t-test, $P<0.05$), but it did not affect PPI at 200 ms IPI ($P>0.05$).

Conclusion: The results suggest that the function of hippocampal astrocytic Cx43 does not affect baseline synaptic response but affects short term synaptic plasticity in CA1 area of the hippocampus.

Keywords: hippocampus, astrocyte, connexin 43, short term synaptic plasticity, field potential recording

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31(198): 169-179 (Persian).

*** Corresponding Author: Narges Hosseinmardi-** School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: nargeshosseinmardi@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.198.7.9]

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و یکم شماره 198 تیر سال 1400 (179-169)

نقش کانکسین آستروسیتی 43 (Cx43) در پاسخ سیناپسی پایه و شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت ناحیه CA1 هیپوکمپ

مه‌گل درویش ملا[1]
نگین سعیدی[2]
سمیه حیثیت طلب[3]
نرگس حسین مردی[4]
مهیار جان احمدی[5]

چکیده

سابقه و هدف: کانکسین‌های آستروسیتی در انتشار یون‌ها از آستروسیت‌ها به فضای خارج، رهایش ATP و گلیوترانسمیتر ها از جمله گلوتامات نقش دارند. کانکسین آستروسیتی 43 (Cx43) فراوان ترین کانکسین در بافت مغز، به خصوص هیپوکمپ است. این مطالعه با هدف بررسی نقش کانکسین آستروسیتی 43 (Cx43) در پاسخ سیناپسی پایه و شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت ناحیه CA1 هیپوکمپ، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، جهت مهار Cx43 هیپوکمپ، TAT-Gap19، بلاکرهای کانال Cx43، (1nmol/1µl) به‌صورت دو طرفه در داخل هیپوکمپ پشتی تزریق شد. پاسخ سیناپسی پایه و شکل پذیری سیناپسی کوتاه مدت با تکنیک ثبت پتانسیل میدانی بررسی گردید.

یافته‌ها: بلاک Cx43 هیپوکمپ، پاسخ سیناپسی پایه را متأثر نکرد (P> 0/05، Two Way ANOVA). مهار این کانکسین سبب کاهش معنی‌دار شاخص زوج پالس در فواصل بین پالسی 20 و 80 میلی‌ثانیه شد (P< 0/05، Unpaired t-test)، اما بر این شاخص در فاصله بین پالسی 200 میلی‌ثانیه تأثیری نداشت (P> 0/05، Unpaired t-test).

استنتاج: نتایج حاکی از آن است که عملکرد کانکسین آستروسیتی 43 هیپوکمپ بر پاسخ سیناپسی پایه اثری ندارد اما شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت در ناحیه CA1 هیپوکمپ را متأثر می‌کند.

واژه های کلیدی: هیپوکمپ، آستروسیت، کانکسین 43، شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت، ثبت پتانسیل میدانی

مقدمه

آستروسیت‌ها فراوان‌ترین نوع سلول‌های گلیا هستند که در هومئوستاز فضای سیناپسی نقش دارند(4-1). این سلول‌ها قادر به سنتز و رهایش گلوتامات و گابا می‌باشند(7-5). کانکسون‌های عملکردی در رهایش غیر وزیکولی گلوتامات نقش مهمی دارند(8). کانکسون که از شش کانکسین تشکیل شده است، فضای داخل سلولی را به فضای خارج سلولی متصل می‌کنند و در تعیین حجم فضای خارج سلولی و تنظیم قدرت سیناپسی و

مولف مسئول: نرگس حسین مردی - تهران: دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی E-mail: nargeshosseinmardi@gmail.com
1. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
3. استادیار، گروه اعصاب علوم شناختی، دانشکده روانشناسی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
4. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
5. استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1399/9/3 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/9/4 تاریخ تصویب : 1400/2/18

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.198.7.9]

شکل‌پذیری سیناپسی نقش دارند(10،9). از بین انواع کانکسین‌ها، Cx30 و Cx43 در آستروسیت‌ها توزیع بیش‌تری دارند(11). این کانکسین فعالیت سیناپس‌های گلوتاماتی در ناحیه CA1 هیپوکمپ را تنظیم نموده و از طریق رهایش گلوتامات و ATP باعث تغییر فعالیت سیناپس‌های تحریکی می‌شود(12). سهم عملکرد فیزیولوژیک کانکسین 43 آستروسیتی در وضعیت استراحت در انتقال سیناپسی پایه و شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه‌مدت مشخص نشده است. این مطالعه با مهار کانکسین 43 هیپوکمپ، و با هدف بررسی نقش آن بر پاسخ سیناپسی پایه و شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه‌مدت CA1 انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. 1 میکرولیتر از محلول TAT-Gap19 (1 nmol) حل شده در بافر فسفات سالین (PBS[1]) به صورت دو طرفه در هیپوکمپ با مختصات (DV=2/5، ML=2/2، AP= -3/48) به‌مدت 9 روز تزریق گردید(13). در روز دهم ثبت پتانسیل میدانی in vivo (in vivo field potential recording) انجام شد. مسیر Schaffer Collateral با مختصات (DV = 3-3/5، ML= 3/1، AP= -3/1) تحریک و از stratum radiatum ناحیه CA1 با مختصات (DV = 2/5-3/5، ML= 1/8، AP= -2/8) ثبت گردید(14). پاسخ سیناپسی پایه با رسم منحنی Input/Output (I/O) بررسی شد. بررسی شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت با تحریکات زوج پالس با فواصل زمانی (Inter Pulse Interval: IPI) 20، 80 و 200 میلی ثانیه انجام شد. شیب fEPSP تعیین و شاخص زوج پالس (Paired Pulse Index: PPI) به صورت درصد شیب fEPSP دوم به شیب fEPSP اول (%fEPSP2/fEPSP1) محاسبه شد.

میانگین داده‌ها با آزمون Two Way ANOVA و Unpaired t-test مقایسه شدند. P< 0/05 به عنوان سطح معنی‌داری درنظرگرفته شد و نتایج به‌صورت Mean±SEM نشان داده شده است.

یافته ها و بحث

اثر بلاک کانکسین آستروسیتی 43 (Cx43) بر پاسخ سیناپسی پایه در ناحیه استراتوم رادیاتوم CA1 هیپوکمپ

میانگین شدت تحریک T، 2T، 3T، 4T و 5T در گروه دریافت‌کننده TAT-Gap19 با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت(P>0/05، Two way ANOVA) (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: شدت تحریک استفاده شده جهت برانگیختن پاسخ سیناپسی پایه در گروه دریافت کننده PBS و گروه دریافت کننده TAT-Gap19

گروه	I_T(μA)	I_{2T}(μA)	I_{3T}(μA)	I_{4T}(μA)	I_{5T}(μA)
PBS	69/4 ± 6/66	90/6 ± 10/19	115/2 ± 13/74	139/6 ± 17/08	170 ± 24/27
TAT-Gap19	93/85 ± 7/81	114/23 ± 8	135 ± 8/09	161/15 ± 9/71	184/62 ± 11/47

I_T: شدت تحریک لازم برای برانگیختن پاسخ آستانه.
I_{2T}، I_{3T}، I_{4T}، I_{5T}: شدت تحریک لازم برای برانگیختن پاسخ به میزان 2، 3، 4 و 5 برابر آستانه
تفاوت معنی داری بین شدت های تحریک در دو گروه دیده نشد (P> 0/05، Two way ANOVA).

پاسخ سیناپسی پایه در گروهی که کانکسین آستروسیتی 43 ناحیه CA1 آن‌ها با تزریق TAT-Gap19 مهار شد که نسبت به گروه کنترل (دریافت کننده بافر فسفات سالین) تفاوت معنی‌داری نداشت (P> 0/05، Two way ANOVA) (تصویر شماره 1).

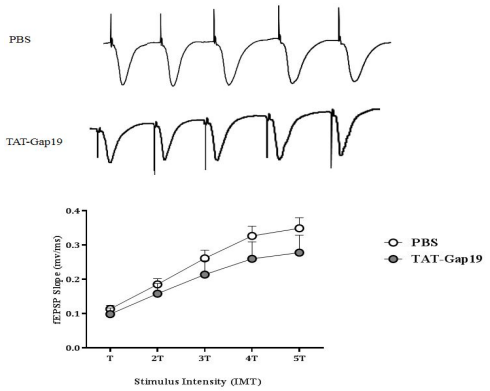
اثر بلاک کانکسین آستروسیتی 43 (Cx43) بر شکل‌پذیری سیناپسی کوتاه مدت

بلاک کانکسین آستروسیتی 43 تأثیری بر شاخص زوج پالس در IPI 200 میلی ثانیه نداشت (P> 0/05،

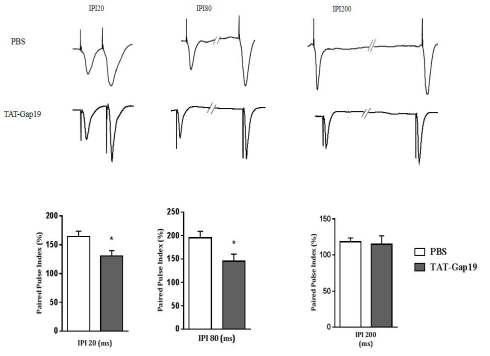
1. Phosphate Buffered Saline

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.198.7.9]

Unpaired t-test)، اما سبب کاهش معنی‌داری آن در IPI 20 (n =11، 9/2 ± 130/6 درصد) و 80 میلی‌ثانیه (n =13، 15/10± 145/2 درصد) نسبت به گروه کنترل (n =22، 8/9 ± 163/6 درصد) و (n =24، 11/80± 185 درصد) (P< 0/05، Unpaired t-test) (تصویر شماره 2).



تصویرشماره 1: پاسخ‌های سیناپسی پایه در ناحیه استراتوم رادیاتوم CA1 هیپوکمپ، بلاک کانکسین 43 تأثیری بر پاسخ سیناپسی پایه نداشت. شیب fEPSP در حیوانات کنترل (n = 24، PBS) و تیمار (n=13، TAT-Gap19) نشان داده شده است. آزمون آماری ANOVA تفاوت معنی‌داری در پاسخ سیناپسی پایه بین گروه‌ها نشان نداد. IMT (Integer multiples of the threshold intensity) به معنی ضریب صحیحی از شدت تحریک آستانه است. Trace ها نمونه‌ای از ثبت می‌باشد. مقیاس اندازه‌گیری: 10ms، 1 mV، P> 0/05.



تصویر شماره 2: شاخص زوج پالس (PPI) در فواصل بین دو پالس (IPI) 20، 80 و 200 میلی ثانیه مهار کانکسین 43 آستروسیتی سبب کاهش معنی‌داری در شاخص زوج پالس (PPI) در IPI 20 و 80 میلی‌ثانیه شد ولی تأثیری بر این شاخص در IPI 200 میلی‌ثانیه نداشت. Trace ها نمونه‌ای از ثبت می‌باشد. مقیاس اندازه‌گیری: 10ms، 1 mV، *P< 0/05، Unpaired t-test

نتایج نشان می‌دهد بلاک این کانکسین اگر چه پاسخ سیناپسی پایه در ناحیه CA1 هیپوکمپ را تغییر نداد اما سبب کاهش شاخص زوج پالس در IPI 20 و 80 میلی‌ثانیه شد. Gap19 یک نانوپپتید ساختگی با ساختار مشابه حلقه سیتوپلاسمی کانکسین 43 است که از اتصال حلقه‌ی سیتوپلاسمی کانکسین 43 به انتهای کربوکسیلیک آن جلوگیری کرده، به‌طور اختصاصی آن را مهار می‌کند و بر Gap junction ها اثر ندارد(15). TAT ترکیبی است که نفوذپذیری Gap19 را به داخل آستروسیت افزایش می‌دهد(13،16،17).

مهار کانکسین43 آستروسیتی CA1 تغییری در پاسخ سیناپسی پایه ایجاد نکرد(11). غیرفعال کردن ژن کانکسین 43 در قشر بشکه‌ای (Barrel) نیز در ایجاد پاسخ سیناپسی پایه تغییری ایجاد نمی‌کند(18). شبکه عصبی CA1 هیپوکمپ، مدارهای تحریکی و مهاری دارد که در شرایط in vivo فعال هستند. محتمل است با مهار کانکسین 43، تغییری در فعالیت این مدارهای تحریکی و مهاری رخ داده باشد و از آن‌جا که در ثبت پتانسیل میدانی برآیند این فرایندها ثبت می‌شود، تغییر معنی‌داری در سطح شبکه مشاهده نشده است. اگرچه رهایش گلوتامات بر انتقالات سیناپسی مؤثر است، اما به نظر می‌رسد رهایش گلوتامات از طریق کانکسین 43 تحت تأثیر عوامل جبران‌کننده قرار می‌گیرد که باعث تعدیل تأثیرات آن در فضای سیناپسی می‌شود. کانکسین30 نیز در تنظیم فضای سیناپسی نقش دارد(19). احتمال دارد فعالیت بیش‌تر کانکسین 30 در جهت حفظ حالت پایدار، کاهش رهایش گلوتامات ناشی از مهار کانکسین 43 را تا حدی جبران کرده باشد، در نتیجه تغییری در پاسخ سیناپسی پایه مشاهده نگردید.

تحریک زوج پالس راه مناسبی جهت ارزیابی تحریک‌پذیری مدار هیپوکمپی است(3). تعدیل زوج پالس، ساده‌ترین نوع شکل‌پذیری کوتاه مدت است که بسته به فاصله زمانی بین دو تحریک به شکل PPD (Paired Pulse Depression) و PPF

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.198.7.9]

(Paired Pulse Facilitation) اتفاق می‌افتد. فواصل 10 و 20 میلی‌ثانیه برای بررسی وقایع مهاری گیرنده GABAA مورد استفاده قرار می‌گیرد و فواصل طولانی‌تر (200 میلی‌ثانیه) با وقایع مهاری گیرنده GABAB مرتبط است(20). مهار کانکسین 43 شاخص زوج پالس در IPI 20 میلی‌ثانیه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. کانکسین 43 علاوه بر رهایش گلوتامات نقش به‌سزایی در رهایش ATP دارد(9). ارتباط عملکردی GABAA و گیرنده‌ی ATP (P2XR) نشان داده شده است(21). آگونیست گیرنده‌ی P2X، جریان‌های گابائرژیک را در نورون‌های هرمی کاهش می‌دهد(22). ATP از طریق گیرنده P2X، باعث تحریک رهایش گلوتامات می‌شود که اثرات مهاری گابا را کاهش می‌دهد(24،23). به‌نظر می‌رسد مهار کانکسین 43 از طریق کاهش رهایش ATP، فعالیت گیرنده‌های GABAA را افزایش داده و در نتیجه‌ی جریان‌های مهاری افزایش یافته است که کاهش شاخص زوج پالس در فاصله 20 میلی‌ثانیه مشاهده گردید. TAT-Gap19، PPI را در IPI 80 میلی‌ثانیه نیز کاهش داد. بزرگ‌تر بودن پاسخ دوم نسبت به پاسخ اول در اثر تسهیل رهایش پیک عصبی است. یون کلسیم آزاد باقی مانده در پایانه‌ها در اثر تحریک اول با یون کلسیم وارد شده از تحریک دوم، احتمال رهایش پیک عصبی را افزایش می‌دهد. هر تغییر که احتمال رهایش پیک عصبی را دگرگون نماید، باید بزرگی PPF را متأثر کند(25). به نظر می‌رسد که مهار کانکسین 43 از طریق کاهش رهایش پیک‌های عصبی از جمله گلوتامات شاخص زوج پالس را در IPI 80 میلی‌ثانیه کاهش داده است. از آن‌جایی‌که با افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی آستانه‌ی ولتاژی باز شدن کانکسین 43 کاهش می‌یابد، احتمال دارد نقش آن در رهایش گلوتامات برجسته‌تر شود(13). در نتیجه با بلاک آن، کاهش شاخص زوج پالس در IPI 80 میلی‌ثانیه مشاهده گردید. از آن‌جا که کانکسین 43 در رهایش گلیوترانسمیترهای مختلفی مانند گلوتامات و ATP نقش دارد، مهار آن می‌تواند موجب برهم خوردن تعادل غلظت این فاکتورها در فضای خارج سلولی شود و در نتیجه شکل پذیری سیناپسی را نیز متأثر کند.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران است که بدین وسیله نویسندگان از مسئولین آن تشکر می نمایند.

References

1. Allen NJ, Barres BA. Glia—more than just brain glue. Nature 2009; 457(7230): 675-677.
2. Allen NJ, Barres BA. Signaling between glia and neurons: focus on synaptic plasticity. Curr Opin Neurobiol 2005; 15(5): 542-548.
3. Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J. The hippocampus book: Oxford university press; 2007.
4. Kuffler S, Nicholls J. The physiology of neuroglial cells. Ergeb Physiol 1966; 57: 1-90.
5. Márquez J, Campos-Sandoval JA, Peñalver A, Matés JM, Segura JA, Blanco E, et al. Glutamate and brain glutaminases in drug addiction. Neurochemical Research 2017; 42(3): 846-857.
6. Schousboe A, Bak LK, Waagepetersen HS. Astrocytic control of biosynthesis and turnover of the neurotransmitters glutamate and GABA. Front Endocrinol 2013; 4: 102.
7. Hackett JT, Ueda T. Glutamate Release. Neurochem Res 2015; 40(12): 2443-2460.
8. Malarkey EB, Parpura V. Mechanisms of glutamate release from astrocytes. Neurochem Int 2008; 52(1-2): 142-154.
9. Xing L, Yang T, Cui S, Chen G. Connexin hemichannels in astrocytes: Role in CNS

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.198.7.9]

disorders. Front Mol Neurosci 2019; 12: 23.

10. Giaume C, Naus CC. Connexins, gap junctions, and glia. Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling 2013; 2(4): 133-142.
11. Chever O, Pannasch U, Ezan P, Rouach N. Astroglial connexin 43 sustains glutamatergic synaptic efficacy. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2014; 369(1654): 20130596.
12. Mayorquin LC, Rodriguez AV, Sutachan J-J, Albarracín SL. Connexin-mediated functional and metabolic coupling between astrocytes and neurons. Front Mol Neurosci 2018; 11: 118.
13. Walrave L, Vinken M, Albertini G, De Bundel D, Leybaert L, Smolders IJ. Inhibition of connexin43 hemichannels impairs spatial short-term memory without affecting spatial working memory. Front Cell Neurosci 2016; 10: 288.
14. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates.7th ed: Elsevier; 2006.
15. Iyyathurai J, D'hondt C, Wang N, De Bock M, Himpens B, Retamal MA, et al. Peptides and peptide-derived molecules targeting the intracellular domains of Cx43: gap junctions versus hemichannels. Neuropharmacology 2013; 75: 491-505.
16. Abudara V, Bechberger J, Freitas-Andrade M, De Bock M, Wang N, Bultynck G, et al. The connexin43 mimetic peptide Gap19 inhibits hemichannels without altering gap junctional communication in astrocytes. Front Cell Neurosci 2014; 8: 306.
17. Wang N, De Bock M, Decrock E, Bol M, Gadicherla A, Bultynck G, et al. Connexin targeting peptides as inhibitors of voltage- and intracellular Ca2+-triggered Cx43 hemichannel opening. Neuropharmacology 2013; 75: 506-516.
18. Han Y, Yu Hx, Sun Ml, Wang Y, Xi W, Yu Yq. Astrocyte restricted disruption of connexin 43 impairs neuronal plasticity in mouse barrel cortex. Eur J Neurosci 2014; 39(1): 35-45.
19. Zhao Y, Xin Y, He Z, Hu W. Function of connexins in the interaction between glial and vascular cells in the central nervous system and related neurological diseases. Neural Plasticity 2018; 2018.
20. Davies C, Davies S, Collingridge G. Pairedpulse depression of monosynaptic GABA mediated inhibitory postsynaptic responses in rat hippocampus. J physiol 1990; 424(1): 513-531.
21. Liu J, Wang YT. Allosteric modulation of GABA A receptors by extracellular ATP. Molecular Brain 2014; 7(1): 1-11.
22. Lalo U, Andrew J, Palygin O, Pankratov Y. Ca2+-dependent modulation of GABAA and NMDA receptors by extracellular ATP: implication for function of tripartite synapse. Biochem Soc Trans 2009; 37(pt 6): 1407-1411.
23. Sivilotti L, Nistri A. GABA receptor mechanisms in the central nervous system. Prog Neurobiol 1991; 36(1): 35-92
24. Sokolova E, Nistri A, Giniatullin R. Negative cross talk between anionic GABAA and cationic P2X ionotropic receptors of rat dorsal root ganglion neurons. J Neurosci 2001; 21(14): 4958-4968.
25. Santschi LA, Stanton PK. A paired-pulse facilitation analysis of long-term synaptic depression at excitatory synapses in rat hippocampal CA1 and CA3 regions. Brain Res 2003; 962(1-2): 78-91.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.198.7.9]