

DOI: 10.31116/tsitol. 2018.06.05

ЩЕЛЕВЫЕ КОНТАКТЫ В СОСТАВЕ НЕЙРО-ГЛИО-СОСУДИСТЫХ АНСАМБЛЕЙ В КОЛОНКАХ БАРЕЛЬНОЙ КОРЫ КРЫС

© *Е. Ю. Кириченко*,^{1,*} *П. Е. Повилайтите*,² *А. К. Логвинов*,¹
Ю. Г. Кириченко,² *С. Ю. Филиппова*¹

¹Лаборатория функциональной геномики и морфологии Академии биологии
и биотехнологии им. И. Д. Ивановского Южного федерального университета,
Ростов-на-Дону, 344090, и

²Отделение экспериментальной патоморфологии и электронной микроскопии
Ростовского областного патолого-анатомического бюро,
Ростов-на-Дону, 344090;

* электронный адрес: kiriche.evgeniya@yandex.ru

Комплексное морфологическое исследование щелевых контактов (ЩК) в составе гематоэнцефалического барьера в баррельной коре крыс с применением методов световой и просвечивающей электронной микроскопии, а также иммуногистохимии показало, что астроциты, объединенные посредством ЩК в единую сеть, могут выступать в качестве основного посредника между нейронами и сосудистым руслом, образуя в комплексе нейро-глио-сосудистые ансамбли. Обсуждается возможность подобных комплексов определять функциональную организацию кортикальных колонок.

Ключевые слова: баррельная кора, щелевой контакт, астроцит, гематоэнцефалический барьер.

Принятые сокращения: ГЭБ — гематоэнцефалический барьер, ИГХ — иммуногистохимия, НГСА — нейро-глио-сосудистый ансамбль, ЩК — щелевой контакт, ЭМ — электронная микроскопия.

По преобладающему мнению, когнитивная деятельность мозга обеспечивается благодаря различным видам кооперативной структурно-функциональной организации нейронов, например в форме колонок Лоренте де Но, мини- и макроколонок Маунткастла, окуляр-доминантных и ориентационных колонок Хьюбела и Визела, вероятностных нейронных ансамблей Когана и ряда других (Коган, 1969; Mountcastle, 1998; de Felipe, 2011). Одним из пунктов концепции кооперативной организации нейронных ансамблей в мозге является положение о том, что связанные химическими синапсами нейроны являются основными структурно-функциональными элементами корковой колонки. Глиальные клетки, количество которых в мозге млекопитающих в 10 раз больше, чем нейронов, в колонках традиционно рассматриваются в качестве пассивных элементов, поддерживающих структурную, трофическую и метаболическую функции нейронов (Kettenmann, Ranson, 2005; Черноризов, 2008). Однако исследования последних десятилетий показали, что роль нейроглиальных взаимоотношений, как и роль самой нейроглии, недооценена. Согласно последним данным, глиальные клетки также организованы в сети, но с помощью щелевых контактов (ЩК), что позволяет им обмениваться ионами и мелкими молекулами (Giaume et al., 2010). Подобная структурно-функциональная взаимосвязь глиоцитов не может не влиять на нейроглиальные и глиоваскулярные взаимоотношения. В этой связи в ряде публикаций было сформулировано представление о ней-

ро-глио-сосудистом ансамбле (НГСА), в частности в ядрах стволового отдела мозга (Николлс, 2003; Giaume et al., 2010; Meshulam et al., 2012). По нашему мнению, подобные комплексы также могут выступать в роли морфофункциональной единицы функциональной кортикальной колонки.

Таким образом, с учетом актуальности проблемы взаимоотношений внутри комплекса нейрон—глиальная клетка—сосудистый элемент, а также необходимости дальнейшего изучения морфофункциональных особенностей кортикальных колонок в настоящей работе предпринято комплексное морфологическое исследование ЩК в составе элементов НГСА в соматической баррельной коре крыс в зоне проекции вибрисс.

Материал и методика

Содержание животных и экспериментальные исследования осуществляли в соответствии с протоколом, утвержденным Комиссией по биоэтике Южного федерального университета 18 апреля 2012 года. В экспериментах использовано 9 белых лабораторных крыс мужского пола массой 150—200 г. Животным вводили нембутал в дозе 60 мг/кг и проводили транскардиальную перфузию. Для иммуногистохимических исследований на светооптическом уровне для перфузии использовали 10%-ный забуференный формалин, для электрон-

но-микроскопических исследований — 4%-ный параформальдегид. После окончания перфузии головной мозг извлекали и оставляли на 12 ч для дофиксации при 4 °С. Из головного мозга выделяли секцию по координатам в соответствии с атласом (Paxinos, Watson, 1998): первый разрез — 0.2 мм рострально от брегмы, второй разрез — 6.04 мм каудально от брегмы, латерально мозг не пересекали.

Иммуногистохимия (ИГХ). Иссеченный фрагмент головного мозга заключали в парафин по стандартной методике и далее изготавливали 4-микронные срезы, которые помещали на стекла с полилизинным покрытием. Использовали первичные кроличьи поликлональные антитела к глиальному фибриллярному кислом белку (GFAP), готовые к употреблению (RTU), и систему визуализации Envision Flex/HRP (Dako, Дания).

Электронная микроскопия (ЭМ). С иссеченного фрагмента мозга изготавливали 100-микронные срезы с помощью вибратора VT 1000E (Leica, Германия). Полученные срезы делили на две серии — для стандартного ЭМ- и ИГХ-исследования по протоколу метода pre-embedding (перед заливкой). Метод основан на проведении инкубации срезов с первичными и вторичными антителами, а также выявлении иммунных комплексов до проводки и заливки срезов. Отобранные срезы первой группы постфиксировали в течение 1.5 ч в 1%-ном растворе OsO₄, обрабатывали стандартными для ЭМ методами (Bozzola, Russell, 1992) и заливали в смолу Epon-812 плоскопараллельным методом. Для электронной ИГХ после криопротекции в 30%-ной сахарозе на фосфатном буфере срезы 100 мкм мгновенно замораживали над парами жидкого азота, затем размораживали в фосфатном буфере и инкубировали 4 сут при 10 °С с первичными поликлональными антителами против коннексина 43 (Polyclonal Anti-Connexin 43, 1 : 100, rabbit, Spring Bioscience, США), коннексина 30 (Polyclonal Anti-Connexin 30, 1 : 100, rabbit, Invitrogen, США) и кроличьими поликлональными GFAP (RTU) (Dako, Дания). Выявление иммунных комплексов проводили с использованием той же системы визуализации. После дофиксации в OsO₄, стандартной проводки, плоскопараллельной заливки и полимеризации из полученных в обеих сериях тонких блоков лезвием под стереотаксической лупой иссекали фрагменты колонок III—IV слоя соматосенсорной коры и приполимеризовывали их к заранее изготовленному стандартному блоку. Ультратонкие срезы толщиной 50 нм изготавливали на ультрамикротоме Ultracut-E (Leica, Германия) с использованием алмазного ножа ultra 45° (Diatome, Швейцария), контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе Jem 1011 (Jeol, Япония).

Результаты

Иммуногистохимическое исследование позволяет наиболее четко визуализировать НГСА в коре головного мозга на светооптическом уровне благодаря специфической экспрессии GFAP в клетках астроглии. Вокруг отдельных капилляров в нейропиле выявляются 2—3 крупных астроцита с ветвящимися отростками, многочисленные тонкие окрашенные веточки астроцитов, срезы вдоль и поперек, а также широкие периваскулярные астроцитарные муфты. Тела астроцитов располагаются как в непосредственной близости, так и на некотором отдале-

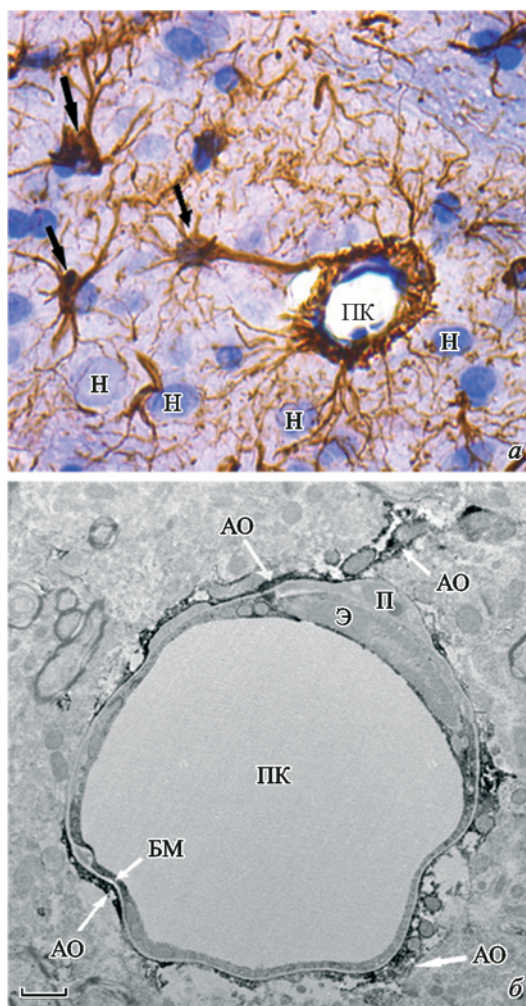


Рис. 1. Структурная организация нейро-глио-сосудистого комплекса и гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) баррельной коры крысы.

а — капилляр, окруженный сосудистыми отростками астроцитов (стрелки), ИГХ с антителами против GFAP; увел. 1000×. *б* — ультраструктура ГЭБ: эндотелиальные клетки, базальная мембрана, перициты и сосудистые отростки астроцитов, содержащие продукт реакции; увел. 4200×. АО — отростки астроцитов, ПК — просвет капилляра, Н — нейрон, БМ — базальная мембрана, П — перицит, Э — эндотелиоцит. Масштабный отрезок: 1000 (*а*) и 4200 (*б*) нм.

нии по отношению к капилляру. Каждый астроцит, как правило, контактирует с несколькими капиллярами, при этом один и тот же сосуд может быть окружен сосудистыми отростками разных астроцитов (рис. 1, *а*). Кроме отчетливо выявляемых окрашенных периваскулярных муфт из сосудистых ножек астроцитов видны также тонкие астроцитарные отростки в нейропиле и вокруг нейронов. Более детально строение ГЭБ на уровне микрокапилляра возможно проанализировать при ЭМ препаратов, обработанных антителами против GFAP. На электронограммах четко визуализируются веретеновидные эндотелиальные клетки, перициты, расположенные в дубликатах базальной мембраны, а также терминальные расширения отростков астроцитов вокруг капилляра, содержащие плотные гранулы хромогена (рис. 1, *б*). Базальная мембрана, отделяющая эндотелиоцит и перицит от астроцита, не содержит продуктов реакции.

Детальное ультраструктурное исследование показало, что межастроцитарные ЦК являются еще одним ком-

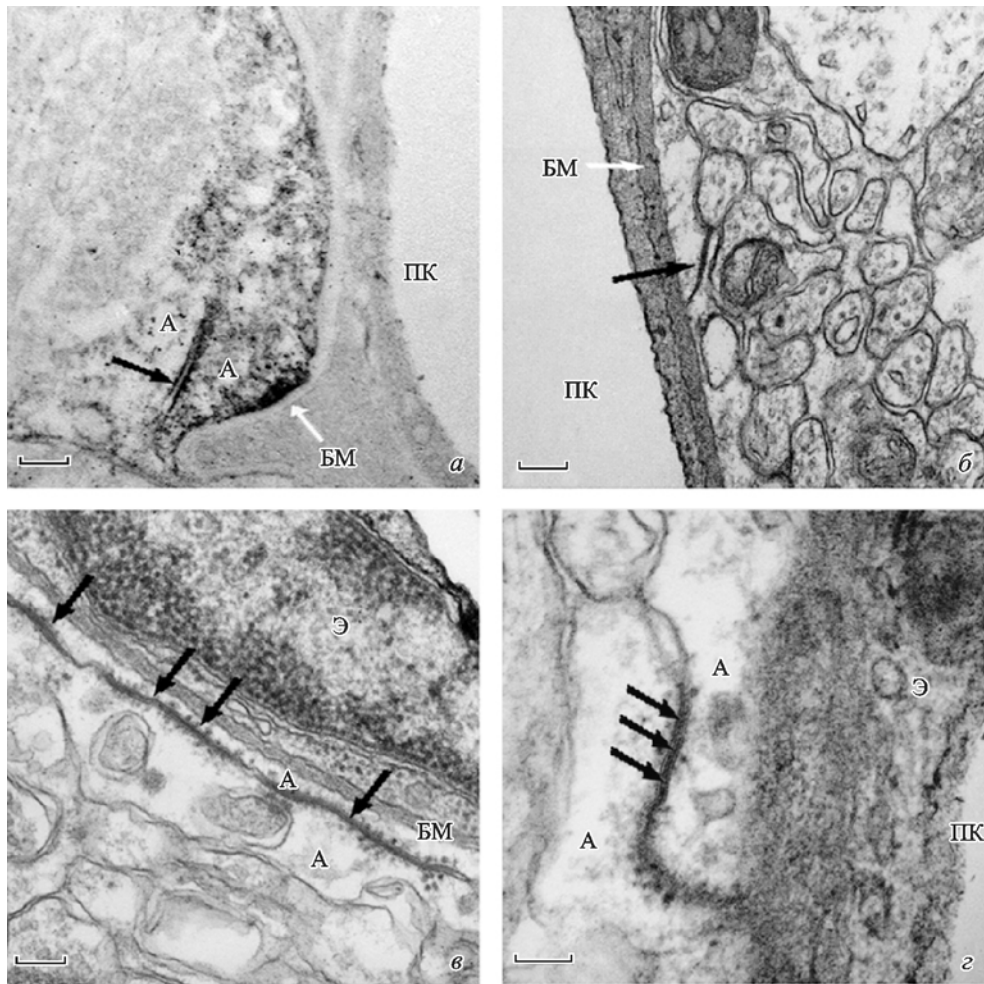


Рис. 2. Ультраструктура щелевых контактов (ЩК, *стрелки*) сосудистых отростков астроцитов с ИГХ с антителами против GFAP (*a*) и без ИГХ (*б–z*).

a — ЩК между отростками астроцитов (А), продукт реакции в виде электронно-плотных зерен; увел. 20 000×. *б* — ЩК между тонкими астроцитарными отростками; увел. 150 000×. *в* — прерывистые нексусы ЩК между сосудистыми отростками астроцитов вдоль БМ капилляра; увел. 150 000×. *z* — изогнутый ЩК двух астроцитарных отростков, нексус ЩК только частично находится в плоскости среза за счет своей конфигурации; увел. 150 000×. Обозначения те же, что и на рис. 1. Масштабные отрезки: 400 (*a*) и 200 (*б–z*) нм.

понентом ГЭБ наряду с эндотелиоцитами, базальной мембраной, перичитами и астроцитами. Типичные ЩК в значительном количестве встречаются в непосредственной близости от стенки микрокапилляров между отростками астроцитов, содержащими хромоген. На рис. 2, *a* представлен такой ЩК, локализованный между отростками астроцитов, которые содержат продукт ИГХ-реакции с антителами к GFAP. Рядом со ЩК определяются просвет капилляра, часть перичита и базальная мембрана, прилегающая к астроциту.

Ультраструктура выявленных после ИГХ меж-астроцитарных ЩК идентична таковой на препаратах, которых не подвергали предварительной ИГХ-обработке (рис. 2, *б*). Особенностью тонкого строения периваскулярных ЩК является то, что они, как правило, довольно протяженные, а сам контакт нередко прерывистый, пунктирный и сходен с таковым у перфорированных химических синапсов (рис. 2, *в*). Отростки астроцитов, формирующие контакт, нередко лежат «внахлест», образуя многослойную муфту вокруг сосуда. Также привлекает внимание наличие симметричного осмиофильного опущения обеих мембран, формирующих контакт, в зоне

нексуса (рис. 2, *z*). По нашим данным, нексусы таких соединений характеризуются не только более протяженной обильно опушенной зоной контакта, но нередко имеют специфическую изогнутую форму, что отличает их от прямых ЩК, расположенных на удалении от капилляров.

ЭМ-исследование ультратонких срезов, полученных после ИГХ-реакций с антителами к коннексинам, показало, что и коннексин 30 (Cx30), и коннексин 43 (Cx43) присутствуют в зоне ЩК, соединяющих периваскулярные отростки астроцитов в колонках соматической коры крыс. В частности, Cx30 обнаруживается в цитоплазме отростков астроцитов, окружающих капилляры (рис. 3, *a*). При больших увеличениях выявляется обильное выпадение продукта реакции в зоне нексуса ЩК (рис. 3, *б, в*). При этом эндотелиоциты, перичиты, базальная мембрана и окружающий нейропилль не содержат Cx30, что свидетельствует о специфичности данного белка для астроцитов.

При ЭМ после проведения реакции с антителами к Cx43 продукты реакции также были локализованы исключительно в тонких веточках астроцитов вокруг сосу-

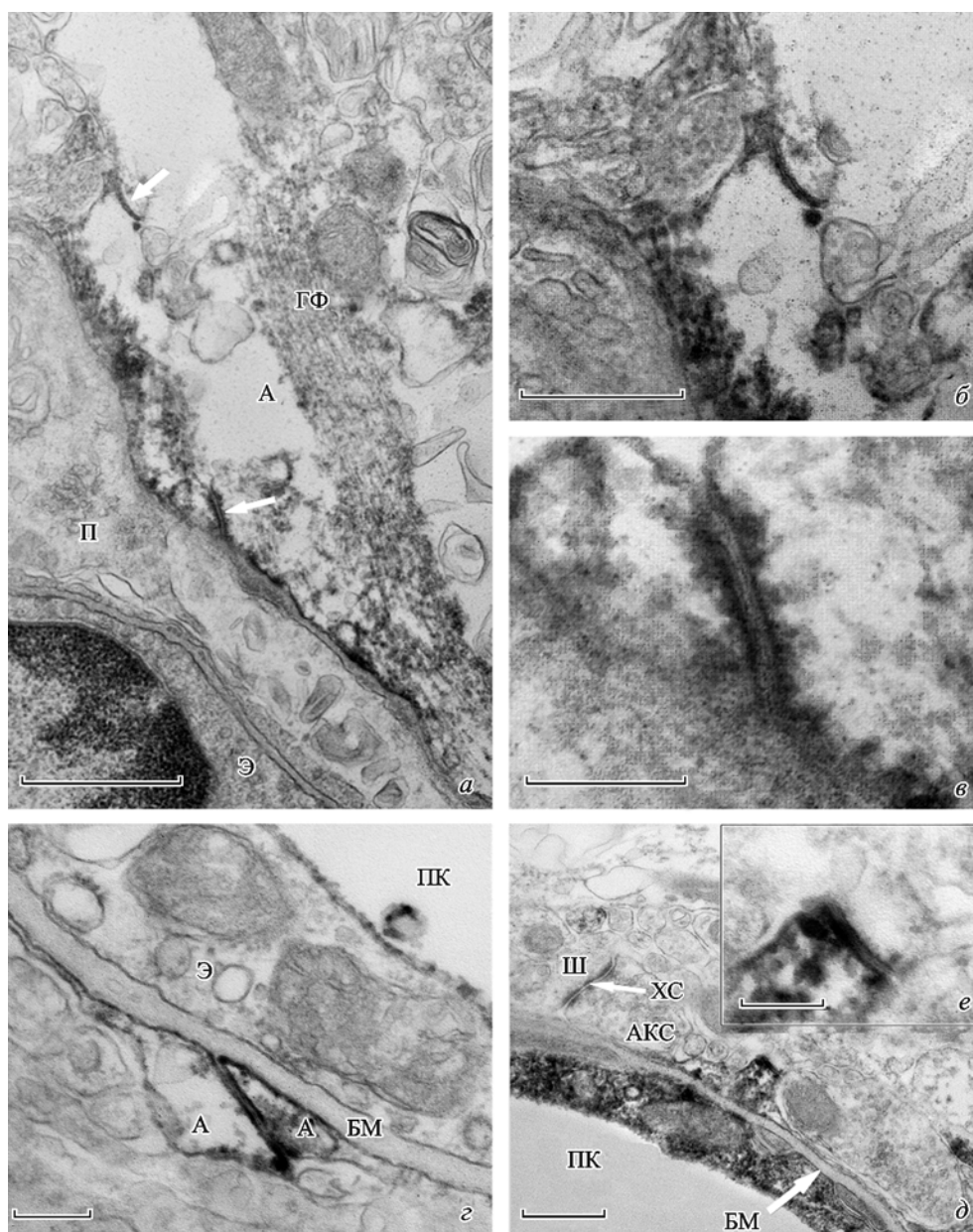


Рис. 3. Выявление белков коннексина 30 (а–в) и коннексина 43 (г–е) с помощью электронной ИГХ.

а — отростки А, формирующие два ЩК, содержащих коннексин 30; увел. 50 000×; б, в — увеличенный фрагмент фото а, демонстрирующий ультраструктуру одного и второго ЩК (увел. 150 000× и 200 000× соответственно). г — ЩК между отростками А, содержащими коннексин 43; увел. 200 000×; д — ЩК между двумя отростками, только один содержит коннексин 43; увел. 80 000×; е — увеличенный фрагмент фото д, демонстрирующий ультраструктуру гетеротипического ЩК; увел. 300 000×. ГФ — глиофибриллы, ХС — химический синапс, АКС — аксон, Ш — шипик; остальные обозначения те же, что на рис. 1, 2. Масштабные отрезки: 1000 (а), 300 (б), 250 (в), 200 (г), 500 (д) и 175 (е) нм.

дов (рис. 3, г). При этом наибольшая интенсивность реакции наблюдалась с цитоплазматической стороны мембран, соединенных ЩК. Благодаря отсутствию продуктов реакции в самих контактирующих мембранах ультраструктура ЩК четко определяется даже после проведения ИГХ-реакции (рис. 3, д). Следует отметить, что в некоторых ЩК, типичных по ультраструктуре, продукты реакции на Сх43 были локализованы лишь в одном из контактирующих отростков. Вероятно, такие асимметричные контакты могут быть образованы двумя различными типами отростков, один из которых содержит Сх43, а другой — коннексоны, состоящие из коннексина иного типа (рис. 3, е).

Обсуждение

В ряде работ было показано, что астроцитарные коннексины играют важную роль в нормальном функционировании мозга. В частности, при одновременной блокаде выработки Сх43 и Сх30 у подопытных животных наблюдали значимые изменения обмена метаболитов в нервной ткани (Rouach et al., 2008), существенные нарушения глио- и нейрогенеза (Kunze et al., 2009), демиелинизацию и вакуолизацию белого вещества (Lutz et al., 2009), а также угнетение синаптической передачи в гиппокампе (Pannasch et al., 2011). В перечисленных исследованиях в качестве причины наблюдаемых наруше-

ний обсуждается блокирование обмена метаболитами и сигнальными молекулами между астроцитами, которые в отсутствие коннексинов не формируют связанного со ЩК единого синцития. Однако возможные изменения глиоваскулярных отношений в этих моделях не рассматривали.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что коннексины участвуют также и в регуляции транспорта различных веществ из сосудистого русла к нейронам, и наоборот. По крайней мере два белка — Сх30 и Сх43 — образуют многочисленные ЩК между сосудистыми ножками астроцитов, следовательно, нарушение экспрессии этих коннексинов должно драматически отразиться и на функционировании ГЭБ. Вопросы о том, какие именно изменения происходят и как это отражается на работе мозга, пока остаются открытыми.

Результаты нашего иммуноэлектронного исследования показали, что в области сосудов астроциты образуют и гетеротипические ЩК, образованные на стороне астроцита белком Сх43 и, по-видимому, каким-то другим коннексином со стороны второй контактирующей клетки. В настоящей работе с помощью ультраструктурного исследования невозможно достоверно установить, к какому типу глиоцитов относится вторая клетка. Однако не исключено, что это олигодендроцит, так как, согласно данным *in vitro*, формирование гетеротипических контактов типа Сх30/Сх43 между астроцитами маловероятно (Orthmann-Murphy et al., 2007), а другие варианты сочетания можно считать несущественными ввиду очень слабой экспрессии других типов коннексинов в астроцитах. Наоборот, в смешанной культуре клеток, экспрессирующих различные типы коннексинов, сочетания Сх43 и Сх30 с олигодендроцитарными коннексинами Сх47 и Сх32 соответственно появляются чаще других сочетаний и формируют при этом функциональные ЩК в отличие от других гетеротипических пар (Orthmann-Murphy et al., 2007). С другой стороны, на основе экспериментов с одновременной детекцией антигенов астроцитов и олигодендроцитов на срезах мозга известно о колокализации Сх43 и Сх47 в ЩК в зоне перехватов Ранвье (Kamasawa et al., 2005), а также Сх30 и Сх32 в области тел олигодендроцитов (Nagy et al., 2003), что подтверждает возможность их существования *in vivo*. Роль таких контактов заключается, вероятно, в буферизации внеклеточного K^+ , и потеря этой функции приводит, в частности, к тяжелыми нарушениям процесса миелинизации у мышей с выключенной экспрессией Сх32 и Сх47 (Odermatt et al., 2003). Наличие гетерологических ЩК между астроцитами и олигодендроцитами в периваскулярных зонах представляет несомненный интерес, тем более что такие контакты в доступной литературе не описаны и их возможное значение остается неясным.

При реконструкции трехмерной структуры периваскулярной астроцитарной муфты по серийным ультратонким срезам было показано, что сосудистые ножки астроцитов лежат «внахлест» (Mathiisen et al., 2010). В нашей работе также выявлены эти многослойные периваскулярные астроцитарные муфты. Более того, нами продемонстрировано, что в этих участках образуются протяженные перфорированные ЩК с плотным осмиофильным опушением мембран, формирующих контакт. С одной стороны, наличие крупных нексусов ЩК между соседними сосудистыми отростками астроцитов формирует прочную механическую связь, которая тем более необходима, поскольку плотных контактов других

типов в этих зонах не обнаружено (Mathiisen et al., 2010). С другой стороны, обширные зоны перекрытия ножек астроцитов, «прошитые» протяженными бляшками ЩК, могут служить физическим барьером для проникновения из капилляра по межклеточным пространствам воды и растворимых веществ, прошедших через эндотелиоциты, базальную мембрану и перicyты.

Предположение о существовании дополнительного барьера, образованного контактами между астроцитами в периваскулярной зоне, находит подтверждение в экспериментах с проникновением красителя Alexa Fluor 488 через ГЭБ (Nuriya et al., 2013). Авторы показали, что астроцитарные ножки препятствуют проникновению этого гидрофильного красителя из паренхимы мозга к просвету кровеносного сосуда. Кроме того, часть сосудистых отростков более длительное время удерживала краситель, чем другие, что говорит в пользу существования особенно плотных зон контакта между астроцитами в этих участках. В настоящее время неизвестно, какие именно контакты могут отвечать за барьерную функцию астроцитарной периваскулярной муфты, и мы предполагаем, что крупные ЩК как раз и могут играть эту роль.

Осмиофильное опушение на внутренних мембранах ЩК, вероятно, представляет собой макромолекулярные комплексы, которые формируют внутриклеточные петли белков коннексинов, в первую очередь белка Сх43, с белками, участвующими в построении цитоскелета, — дребрином, тубулином, актиновыми филаментами и др. Эта связь, как известно, необходима для поддержания ЩК в активном состоянии (Ambrosi et al., 2016). Наиболее важным следствием образования большого количества ЩК и связи коннексинов с белками цитоскелета может оказаться интенсификация передачи ионов и низкомолекулярных соединений между астроцитами в периваскулярной зоне. В первую очередь такая связь может обеспечивать проведение Ca^{2+} между астроцитами, как это происходит между отростками астроцитов, прилегающими к химическим синапсам (Glaume et al., 2010). Передача кальциевого сигнала от активных химических синапсов по телу астроцита к васкулярной ножке и между соседними сосудистыми отростками может приводить к высвобождению специфических сигналов, модулирующих состояние сосуда в ответ на активность химического синапса, тем самым обеспечивая локальное адаптивное изменение кровотока. Действительно, в ряде исследований подтверждается, что астроциты опосредуют реакцию вазодилатации в ответ на активность нейронов путем повышения внутриклеточной концентрации кальция и с участием таких потенциальных медиаторных молекул, влияющих на сосудистую стенку, как арахидоновая кислота (Mulligan, MacVicar, 2004), ионы натрия (Bernardinelli et al., 2004), лактат (Gordon et al., 2008) и др.

В связи с вышесказанным можно предположить, что в баррельной коре крыс НГСА могут выступать в роли морфофункциональной единицы функциональной кортикальной колонки, обеспечивая локальное повышение кровотока в пределах этой колонки в ответ на увеличивающуюся синаптическую активность при стимуляции вибрисс. Это предположение также находит подтверждение в ряде исследований. Так, известно, что астроциты образуют непрерывающиеся анатомические зоны, которые некоторые авторы рассматривают как функциональные домены, «синаптические острова», регулирующие работу

охватываемых ими химических синапсов и организующие их в операционные модули, существующие либо независимо от функциональных кортикальных колонок, либо осуществляющие свою функцию в их пределах (Halassa et al., 2007; Roux et al., 2011; Eilam et al., 2016). В частности, было показано ограничение астроцитарных доменов границами колонок баррельной коры крыс (Eilam et al., 2016). С другой стороны, известно, что регуляция кровотока на микроуровне также определяется границами баррелей (Blinder et al., 2013). Так как сосуды сами по себе не проявляют какой-либо пространственной связи с отдельными колонками в соматической коре крыс, можно предположить, что именно астроциты в составе НГСА являются теми функциональными единицами, которые регулируют локальный кровоток в пределах отдельных функциональных кортикальных колонок в баррельной коре грызунов.

Таким образом, можно заключить, что астроциты выступают в качестве основного посредника между нейронами и сосудистым руслом, образуя в комплексе НГСА, которые играют роль морфофункциональной единицы функциональной кортикальной колонки. В составе НГСА большую роль играют межастроцитарные ЦК (образованные преимущественно Cx43 и Cx30), которые формируются не только между отростками астроцитов, окружающими химические синапсы (Кириченко и др., 2016), но также и между сосудистыми ножками астроцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания Министерства образования и науки РФ № 6.6047.2017/8.9 (Базовая часть).

Список литературы

- Кириченко Е. Ю., Чурюмова Г. А., Логвинов А. К. 2016. Ультраструктурное исследование глиальных щелевых контактов в ядрах таламуса крысы. Биол. мембраны. 33 (3) : 194—206. (Kirichenko E. Y., Churyumova G. A., Logvinov A. K. 2016. Ultrastructural study of glial gap junctions in the thalamic nuclei of rat. Biochemistry (Moscow). Suppl. Series A: Membrane Cell Biol. 3 : 207—217.)
- Коган А. В. 1969. Электрофизиология. М.: Высш. школа. 368 с. (Kogan A. V. 1969. Electrophysiology. Moscow: Higher. School. 368 p.)
- Николс Д., Мартин Р., Валлас Б., Фукс П. 2003. От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС. 672 с. (Nicholls J. G., Martin R., Wallace B. G., Fuchs P. A. 1999. From neuron to brain. Sinauer Associates Inc. 580 p.)
- Черноризов А. М. 2008. Глия: морфология, физиология и функции. В кн.: Фундаментальное руководство. Нейрон. Обработка сигналов, пластичность, моделирование. Тюмень: ООО Компания Мир. 33—100. (Chernorizov A. M. 2008. Glia: morphology, physiology and functions. In: Fundamental handbook. Neuron. Signal processing, plasticity, modelling. Tumen: Kompania Mir Ltd. 33—100.)
- Ambrosi C., Ren C., Spagnol G., Cavin G., Cone A., Grintsevich E. E., Sosinsky G. E., Sorgen P. L. 2016. Connexin 43 forms supramolecular complexes through non-overlapping binding sites for drebrin, tubulin, and ZO-1. PLoS ONE. 11 : e0157073.
- Bernardinelli Y., Magistretti P. J., Chatton J. Y. 2004. Astrocytes generate Na⁺-mediated metabolic waves. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101 : 14 937—14 942.
- Blinder P., Tsai P. S., Kaufhold J. P., Knutsen P. M., Suhl H., Kleinfeld D. 2013. The cortical angiome: an interconnected vascular network with noncolumnar patterns of blood flow. Nat. Neurosci. 16 : 889—897.
- Bozzola J. J., Russel L. D. 1992. Electron microscopy: principles and techniques for biologists. Boston: Jones and Bastlett Publ. 542 p.
- De Felipe J. 2011. The evolution of the brain, the human nature of cortical circuits, and intellectual creativity. Front. Neuroanat. 5 : 29.
- Eilam R., Aharoni R., Arnon R., Malach R. 2016. Astrocyte morphology is confined by cortical functional boundaries in mammals ranging from mice to human. Elife. 5 : e15915.
- Giaume C., Koulakoff A., Roux L., Holman D., Rouach N. 2010. Astroglial networks: a step further in neuroglial and gliovascular interactions. Nat. Rev. Neurosci. 11 : 87—99.
- Gordon G. R., Choi H. B., Rungta R. L., Ellis-Davies G. C., MacVicar B. A. 2008. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. Nature. 456 : 745—749.
- Halassa M. M., Fellin T., Takano H., Dong J. H., Haydon P. G. 2007. Synaptic islands defined by the territory of a single astrocyte. J. Neurosci. 27 : 6473—6477.
- Kamasawa N., Sik A., Morita M., Yasumura T., Davidson K. G. V., Nagy J. I., Rash J. E. 2005. Connexin-47 and connexin-32 in gap junctions of oligodendrocyte somata, myelin sheaths, paranodal loops and Schmidt—Lanterman incisures: implications for ionic homeostasis and potassium siphoning. Neuroscience. 136 : 65—86.
- Kettenmann H., Ransom B. R. 2005. Neuroglia. Oxford; New-York: Oxford Univ. Press. 601 p.
- Kunze A., Congreso M. R., Hartmann C., Wallraff-Beck A., Huttmann K., Bedner P., Requardt R., Seifert G., Redecker C., Willecke K., Hofmann A., Pfeifer A., Theis M., Steinhauser C. 2009. Connexin expression by radial glia-like cells is required for neurogenesis in the adult dentate gyrus. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 106 : 11 336—11 341.
- Lutz S. E., Zhao Y., Gulinello M., Lee S. C., Raine C. S., Brosnan C. F. 2009. Deletion of astrocyte connexins 43 and 30 leads to a dysmyelinating phenotype and hippocampal CA1 vacuolation. J. Neurosci. 29 : 7743—7752.
- Mathiisen T. M., Lehre K. P., Danbolt N. C., Ottersen O. P. 2010. The perivascular astroglial sheath provides a complete covering of the brain microvessels: an electron microscopic 3D reconstruction. Glia. 58 : 1094—1103.
- Meshulam L., Galron R., Kanner S., De Pitta M., Bonifazi P., Goldin M., Frenkel D., Ben-Jacob E., Barzilai A. 2012. The role of the neuro-astro-vascular unit in the etiology of ataxia telangiectasia. Front. Pharmacol. 3 : 157.
- Mountcastle V. B. 1998. Perceptual neuroscience. The Cerebral cortex. Cambridge: Harvard Univ. Press. 512 p.
- Mulligan S. J., MacVicar B. A. 2004. Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. Nature. 431 : 195—199.
- Nagy J. I., Ionescu A. V., Lynn B. D., Rash J. E. 2003. Coupling of astrocyte connexins Cx26, Cx30, Cx43 to oligodendrocyte Cx29, Cx32, Cx47: implications from normal and connexin 32 knockout mice. Glia. 44 : 205—218.
- Nuriya M., Shinotsuka T., Yasui M. 2013. Diffusion properties of molecules at the blood-brain interface: potential contributions of astrocyte endfeet to diffusion barrier functions. Cerebral Cortex. 23 : 2118—2126.
- Odermatt B., Wellershaus K., Wallraff A., Seifert G., Deng G., Euwens C., Fuss B., Bussow H., Schilling K., Stenhauser C., Willecke K. 2003. Connexin 47 (Cx47)-deficient mice with enhanced green fluorescent protein reporter gene reveal predominant oligodendrocytic expression of Cx47 and display vacuolized myelin in the CNS. J. Neurosci. 23 : 4549—4559.
- Orthmann-Murphy J. L. I., Freidin M., Fischer E., Scherer S. S., Abrams C. K. 2007. Two distinct heterotypic channels mediate gap junction coupling between astrocyte and oligodendrocyte connexins. J. Neurosci. 27 : 13 949—13 957.
- Pannasch U., Vargová L., Reingruber J., Ezan P., Holzman D., Giaume C., Syková E., Rouach N. 2011. Astroglial networks scale synaptic activity and plasticity. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 108 : 8467—8472.

Paxinos G., Watson C. 1998. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Acad. Press. 237 p.

Rouach N., Koulakoff A., Abudara V., Willecke K., Giaume C. 2008. Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. *Science*. 322 : 1551—1555.

Roux L., Benchenane K., Rothstein J. D., Bonvento G., Giaume C. 2011. Plasticity of astroglial networks in olfactory glomeruli. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 108 : 18 442—18 446.

Поступила 6 III 2018

GAP JUNCTIONS IN NEURO-GLIO-VASCULAR COMPLEXES
IN RAT BARREL CORTEX COLUMNS

E. Yu. Kirichenko,^{1,} P. E. Povilaitite,² A. K. Logvinov,¹ Yu. G. Kirichenko,² S. Yu. Filippova¹*

¹ Functional Genomics and Morphology Laboratory, Academy of Biology and Biotechnology of Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344090, and

² Experimental Pathomorphology and Electron Microscopy Department, SFO RO «Pathological Bureau», Rostov-on-Don, 344090;

* e-mail: kiriche.evgeniya@yandex.ru

The complex morphological study of gap junctions in the blood-brain barrier in the rat barrel cortex with the use of light-optical and transmission electron microscopy methods has shown that astrocytes united by means of gap junctions into a single network encompassing chemical synapses and microcapillary walls can act as the main mediator between neurons and vascular bed in a complex forming neuro-glio-vascular ensembles. The possibility of such complexes to determine the functional organization of cortical columns is discussed.

Key words: barrel cortex, gap junction, astrocyte, blood-brain barrier.