

начальную область нейрита каждой клетки. В настоящем исследовании в составе глиальных оболочек чувствительных нейронов животных двух возрастных групп были обнаружены глутаминсинтетаза-иммунопозитивные клетки, не содержащие коннексин-43. Такие клетки локализируются в области расположения нейритов чувствительных клеток, в поверхностных слоях глиальной оболочки. Таким образом, в составе сателлитной глиальной оболочки нами обнаружены клетки, не проявляющие при старении изменений межклеточных коммуникаций, опосредованных белком коннексин-43. В настоящее время выдвинуто предположение, что в составе глиальной оболочки DRG присутствует особый тип клеток – глиоциты, экспрессирующие рецептор нейротрофина р75, локализующиеся вдоль аксо дендрита и окружающие как миелинизированные, так и немиелинизированные области отростка чувствительных нейронов (Koike et al., 2019). Вопрос принадлежности данного типа глиоцитов к сателлитам или новому типу периферической глии широко обсуждается (Obata et al., 2006; Li et al., 2009; Nadeau et al., 2014; Koike et al., 2019). Установленное нами различие глиоцитов, образующих оболочку чувствительных нейронов, по типу белка, обеспечивающего межклеточные коммуникации, может внести вклад в исследование данного вопроса. Однако данный факт требует дополнительного изучения.

Следует отметить, что в пределах глиальной оболочки каждого нейрона DRG кроме сателлитных глиальных клеток могут присутствовать также макрофаги, которые по данным многочисленных исследований способны экспрессировать коннексин-43 (Rodjako vic et al., 2021). Сх43 участвует в межклеточной коммуникации макрофагов не только в физиологических условиях, но и при патологии (Rodjako vic et al., 2021). Однако в ходе настоящего исследования мы не обнаружили коннексина-43 в цитоплазме макрофагов DRG двух исследованных возрастных групп животных, а также не обнаружили формирования кластеров Сх43-содержащих каналов макрофагами глиальной оболочки чувствительных нейронов при старении. Данный факт свидетельствует о том, что такие коннексин-43-содержащие каналы формируются лишь между глиальными клетками ганглия заднего корешка спинного мозга и возрастные изменения межклеточной коммуникации, опосредованной данным белком, затрагивают лишь глиоциты чувствительного ганглия. Межклеточные коммуникации в DRG, по-видимому, важны в патогенезе ряда патологических состояний: в поддержании хронической боли, гипералгезии и патологий, связанных с системным воспалением. В связи с этим, можно предположить, что Сх43-содержащие каналы, экспрессируемые сателлитными глиальными клетками, могут стать новой фармакологической мишенью для лечения хронической боли, нередко развивающейся в пожилом возрасте.

Таким образом, данные полученные в настоящем исследовании могут указывать на динамические из-

менения межклеточных взаимодействий в ганглии заднего корешка спинного мозга крысы при старении. Установлено, что щелевые контакты, сформированные белком коннексин-43, образуют преимущественно сателлитные глиальные клетки чувствительных ганглиев животных разных возрастных групп. Бляшки (plaques) коннексин-43-содержащих белковых каналов, обеспечивающих метаболическое взаимодействие сателлитных клеток в ганглиях задних корешков спинного мозга, с возрастом становятся более многочисленными. Эти данные могут свидетельствовать об активации функциональной связи между сателлитными глиальными клетками в чувствительных узлах крыс при старении. Увеличение количества щелевых контактов с возрастом предположительно приводит к реорганизации глиального барьера в ганглиях задних корешков спинного мозга.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-10003, <https://rscf.ru/project/23-25-10003/>) и Санкт-Петербургского научного фонда в соответствии с соглашением от 05.05.2023 г. № 23-25-10003.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры с животными проводили в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных” и с соблюдением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986 г.). Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБНУ “ИЭМ” (протокол № 4/22 от 29.09.2022).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.А. Колос: разработка плана исследования, постановка иммуногистохимических реакций, проведение анализа материала, написание текста статьи; Д.Э. Коржевский: редактирование текста статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adamczyk A.* 2023. Glial–neuronal interactions in neurological disorders: Molecular mechanisms and potential points for intervention. *Int. J. Mol. Sci.* V. 24. P. 6274. <https://doi.org/10.3390/ijms24076274>
- Almad A.A., Doreswamy A., Gross S.K., Richard J.P., Huo Y., Haughey N., Maragakis N.J.* 2016. Connexin 43 in astrocytes contributes to motor neuron toxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *Glia.* V. 64. P. 1154. <https://doi.org/10.1002/glia.22989>
- Basu R., Das Sarma J.* 2018. Connexin 43/47 channels are important for astrocyte/oligodendrocyte cross-talk in myelin-

- ation and demyelination. *J. Biosci.* V. 43. P. 1055.
<https://doi.org/10.1007/s12038-018-9811-0>
- Brocardo L., Acosta L.E., Piantanida A.P., Rela L.* 2019. Beneficial and detrimental remodeling of glial connexin and pannexin functions in rodent models of nervous system diseases. *Front. Cell Neurosci.* V. 13: 491.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00491>
- Chew S.S., Johnson C.S., Green C.R., Danesh-Meyer H.V.* 2010. Role of connexin 43 in central nervous system injury. *Exp. Neurol.* V. 225. P. 250.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.07.014>
- Dublin P., Hanani M.* 2007. Satellite glial cells in sensory ganglia: Their possible contribution to inflammatory pain. *Brain Behav. Immun.* V. 21. P. 592.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2006.11.011>
- Fukuda T.* 2007. Structural organization of the gap junction network in the cerebral cortex. *Neuroscientist.* V. 13. P. 199.
<https://doi.org/10.1177/1073858406296760>
- Grigorev I.P., Korzhevskii D.E.* 2018. Current technologies for fixation of biological material for immunohistochemical analysis (review). *Modern Technologies in Medicine.* V. 10. № 2. P. 156.
<https://doi.org/10.17691/stm2018.10.2.19>
- Hanani M., Huang T.Y., Cherkas P.S., Ledda M., Pannese E.* 2002. Glial cell plasticity in sensory ganglia induced by nerve damage. *Neuroscience.* V. 114. P. 279.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00279-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00279-8)
- Hanani M.* 2005. Satellite glial cells in sensory ganglia: from form to function. *Brain Res. Brain Res. Rev.* V. 48. P. 457.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.09.001>
- Hanani M., Spray D.C.* 2012. Glial cells in autonomic and sensory ganglia. In: *Neuroglia.* New York, Oxford Academic, 3 edn, 122–134.
<https://doi.org/10.1093/med/9780199794591.003.0011>
- Hanani M.* 2015. Role of satellite glial cells in gastrointestinal pain. *Front. Cell Neurosci.* V. 9: 412.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00412>
- Hanani M., Spray D.C.* 2020. Emerging importance of satellite glia in nervous system function and dysfunction. *Nat. Rev. Neurosci.* V. 21. P. 485.
<https://doi.org/10.1038/s41583-020-0333-z>
- Hanani M., Spray D.C., Huang T.Y.* 2023. Age-related changes in neurons and satellite glial cells in mouse dorsal root ganglia. *Int. J. Mol. Sci.* V. 24: 2677.
<https://doi.org/10.3390/ijms24032677>
- Huang T.Y., Hanani M., Ledda M., De Palo S., Pannese E.* 2006. Aging is associated with an increase in dye coupling and in gap junction number in satellite glial cells of murine dorsal root ganglia. *Neuroscience.* V. 137. P. 1185.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.10.020>
- Huang T.Y., Belzer V., Hanani M.* 2010. Gap junctions in dorsal root ganglia: possible contribution to visceral pain. *Eur. J. Pain.* V. 14. P. 49.e1.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2009.02.005>
- Huang X., Su Y., Wang N., Li H., Li Z., Yin G., Chen H., Niu J., Yi C.* 2021. Astroglial connexins in neurodegenerative diseases. *Front. Mol. Neurosci.* V. 14: 657514.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.657514>
- Iacobas D.A., Urban-Maldonado M., Iacobas S., Scemes E., Spray D.C.* 2003. Array analysis of gene expression in connexin-43 null astrocytes. *Physiol. Genomics.* V. 15. P. 177.
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00062.2003>
- Jasmin L., Vit J.P., Bhargava A., Ohara P.T.* 2010. Can satellite glial cells be therapeutic targets for pain control? *Neuron Glia Biol.* V. 6. P. 63.
<https://doi.org/10.1017/s1740925x10000098>
- Ji R.R., Kawasaki Y., Zhuang Z.Y., Wen Y.R., Decosterd I.* 2006. Possible role of spinal astrocytes in maintaining chronic pain sensitization: review of current evidence with focus on bFGF/JNK pathway. *Neuron Glia Biol.* V. 2. P. 259.
- Kettenmann H., Faissner A., Trotter J.* 1996. Neuron-glia interactions in homeostasis and degeneration. In: Greger, R., Windhorst, U. (eds) *Comprehensive Human Physiology.* Springer, Berlin, Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-60946-6_27
- Kettenmann H., Hanisch U.K., Noda M., Verkhratsky A.* 2011. Physiology of microglia. *Physiol. Rev.* V. 91. P. 461.
- Kim Y.S., Choi J., Yoon B.-E.* 2020. Neuron-glia interactions in neurodevelopmental disorders. *Cells.* V. 9: 2176.
<https://doi.org/10.3390/cells9102176>
- Koike T., Tanaka S., Hirahara Y., Oe S., Kurokawa K., Maeda M., Suga M., Kataoka Y., Yamada H.* 2019. Morphological characteristics of p75 neurotrophin receptor-positive cells define a new type of glial cell in the rat dorsal root ganglia. *J. Comp. Neurol.* V. 527. P. 2047.
<https://doi.org/10.1002/cne.24667>
- Kolos E.A., Korzhevskii D.E.* 2018. Glutamine synthetase-containing cells of the dorsal root ganglion at different stages of rat ontogeny. *Russ. J. Dev. Biol.* V. 49. P. 179.
<https://doi.org/10.1134/S1062360418030049>
- Korzhevskii D.E., Sukhorukova E.G., Gilerovich E.G., Petrova E.S., Kirik O.V., Grigorev I.P.* 2014. Advantages and disadvantages of zinc-ethanol-formaldehyde as a fixative for immunocytochemical studies and confocal laser microscopy. *Neurosci. Behav. Physiol.* V. 44. P. 542.
<https://doi.org/10.1007/s11055-014-9948-8>
- Korzhevskii D.E., Sukhorukova E.G., Kirik O.V., Grigorev I.P.* 2015. Immunohistochemical demonstration of specific antigens in the human brain fixed in zinc-ethanol-formaldehyde. *Eur. J. Histochem.* V. 59. P. 233.
<https://doi.org/10.4081/ejh.2015.2530>
- Li F., Li L., Song X.Y., Zhong J.H., Luo X.G., Xian C.J., Zhou X.F.* 2009. Preconditioning selective ventral root injury promotes plasticity of ascending sensory neurons in the injured spinal cord of adult rats—possible roles of brain-derived neurotrophic factor, TrkB and p75 neurotrophin receptor. *Eur. J. Neurosci.* V. 30. P. 1280.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06920.x>
- Lin S.H., Lu C.Y., Muhammad R., Chou W.Y., Lin F.C., Wu P.C., Lin C.R., Yang L.C.* 2002. Induction of connexin 37 expression in a rat model of neuropathic pain. *Brain Res. Mol. Brain Res.* V. 99. P.134.
- Marshall A., Duchon L.W.* 1975. Sensory system involvement in infantile spinal muscular atrophy. *J. Neurol. Sci.* V. 26. P. 349.
[https://doi.org/10.1016/0022-510x\(75\)90207-5](https://doi.org/10.1016/0022-510x(75)90207-5)
- Martinelli C., Sartori P., Ledda M., Pannese E.* 2004. Gap junctions between perineuronal satellite cells increase in number with age in rabbit spinal ganglia. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* V. 36. P. 17.
- Martinelli C., Sartori P., De Palo S., Ledda M., Pannese E.* 2005. Increase in number of the gap junctions between satellite neuroglial cells during lifetime: an ultrastructural study in rabbit spinal ganglia from youth to extremely advanced age. *Brain Res. Bull.* V. 67. P. 19.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.05.021>
- Martinelli C., Sartori P., De Palo S., Ledda M., Pannese E.* 2006. The perineuronal glial tissue of spinal ganglia. Quantitative changes in the rabbit from youth to extremely advanced

- age. *Anat. Embryol. (Berl)*. V. 211. P. 455.
<https://doi.org/10.1007/s00429-006-0097-x>
- Miyazaki I., Asanuma M. 2020. Neuron-astrocyte interactions in Parkinson's disease. *Cells*. V. 9: 2623.
<https://doi.org/10.3390/cells9122623>
- Meyer K., Kaspar B.K. 2017. Glia-neuron interactions in neurological diseases: Testing non-cell autonomy in a dish. *Brain Res*. V. 1656. P. 27.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.12.051>
- Nadeau J.R., Wilson-Gerwing T.D., Verge V.M. 2014. Induction of a reactive state in perineuronal satellite glial cells akin to that produced by nerve injury is linked to the level of p75NTR expression in adult sensory neurons. *Glia*. V. 62. P. 763.
<https://doi.org/10.1002/glia.22640>
- Obata K., Katsura H., Sakurai J., Kobayashi K., Yamanaka H., Dai Y., Fukuoka T., Noguchi K. 2006. Suppression of the p75 neurotrophin receptor in uninjured sensory neurons reduces neuropathic pain after nerve injury. *J. Neurosci*. V. 26. P. 11974.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.3188-06.2006>
- Ohsawa K., Imai Y., Kanazawa H., Sasaki Y., Kohsaka S. 2000. Involvement of Iba1 in membrane ruffling and phagocytosis of macrophages/microglia. *J. Cell Sci*. V. 113. P. 3073.
<https://doi.org/10.1242/jcs.113.17.3073>
- Orellana J.A., von Bernhardi R., Giaume C., Sáez J.C. 2012. Glial hemichannels and their involvement in aging and neurodegenerative diseases. *Rev. Neurosci*. V. 23. P. 163.
<https://doi.org/10.1515/revneuro-2011-0065>
- Orellana J.A., Retamal M.A., Moraga-Amaro R., Stehberg J. 2016. Role of astroglial hemichannels and pannexons in memory and neurodegenerative diseases. *Front. Integr. Neurosci*. V. 10: 26.
<https://doi.org/10.3389/fnint.2016.00026>
- Pannese E. 1981. The satellite cells of the sensory ganglia. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol*. V. 65. P. 1.
- Pannese E., Ledda M., Cherkas P.S., Huang T.Y., Hanani M. 2003. Satellite cell reactions to axon injury of sensory ganglion neurons: increase in number of gap junctions and formation of bridges connecting previously separate perineuronal sheaths. *Anat. Embryol. (Berl)*. V. 206. P. 337.
<https://doi.org/10.1007/s00429-002-0301-6>
- Pannese E. 2010. The structure of the perineuronal sheath of satellite glial cells (SGCs) in sensory ganglia. *Neuron Glia Biol*. V. 6. P. 3.
<https://doi.org/10.1017/S1740925X10000037>
- Pierrezan F., Mansell J., Ambrus A., Hoffmann R.A. 2014. Immunohistochemical expression of ionized calcium binding adapter molecule 1 in cutaneous histiocytic proliferative, neoplastic and inflammatory disorders of dogs and cats. *J. Comp. Pathol*. V. 151. P. 347.
<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2014.07.003>
- Procacci P., Magnaghi V., Pannese E. 2008. Perineuronal satellite cells in mouse spinal ganglia express the gap junction protein connexin43 throughout life with decline in old age. *Brain Res. Bull*. V. 75. P. 562.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2007.09.007>
- Retamal M.A., Riquelme M.A., Stehberg J., Alcayaga J. 2017. Connexin43 hemichannels in satellite glial cells, can they influence sensory neuron activity? *Front. Mol. Neurosci*. V. 10: 374.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00374>
- Rodjakovic D., Salm L., Beldi G. 2021. Function of connexin-43 in macrophages. *Int. J. Mol. Sci*. V. 22: 1412.
<https://doi.org/10.3390/ijms2203141>
- Schmitt L.-I., Leo M., Kutritz A., Kleinschnitz C., Hagenacker T. 2020. Activation and functional modulation of satellite glial cells by oxaliplatin lead to hyperexcitability of sensory neurons *in vitro*. *Mol. Cell. Neurosci*. V. 105: 103499.
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2020.103499>
- Tsuda M., Inoue K., Salter M.W. 2005. Neuropathic pain and spinal microglia: a big problem from molecules in "small" glia. *Trends Neurosci*. V. 28. P. 101.
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.12.002>
- Wu A., Green C.R., Rupenthal I.D., Moalem-Taylor G. 2012. Role of gap junctions in chronic pain. *J. Neurosci. Res*. V. 90. P. 337.
<https://doi.org/10.1002/jnr.22764>
- Xing J., Wang H., Chen L., Wang H., Huang H., Huang J., Xu C. 2023. Blocking Cx43 alleviates neuropathic pain in rats with chronic constriction injury via the P2X4 and P38/ERK-P65 pathways. *Int. Immunopharmacol*. V. 114: 109506.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109506>

Gap Junction Protein Connexin-43 in Glial Cells of Rat Dorsal Root Ganglion

E. A. Kolos^{a,*} and D. E. Korzhevskii^a

^a*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia*

**e-mail: koloselena1984@yandex.ru*

The aim of this study was to assess the dynamics of distribution and localization of the gap junction protein connexin-43 (Cx43) in rat dorsal root ganglion (DRG) cells at different stages of postnatal ontogenesis to assess the morphological signs of age-related changes in intercellular interactions. The work was performed on Wistar rats at the age of 4 months and 18 months using immunohistochemical methods. Glial cells were detected using antibodies to glutamine synthetase, macrophages – using the antibodies to calcium-binding protein Iba-1. The paper describes the features of connexin-43 distribution in the spinal ganglion of young and old rats. It has been established that connexin-43-containing structures are identified mainly in satellite glial cells of young and aging animals. Sensitive neurons, as well as DRG macrophages of both groups of animals, do not show immunoreactivity. Analysis of age-related changes in intercellular contacts in rat DRG showed that plaques of connexin-43-containing protein channels that provide metabolic interaction of satellite cells in the spinal ganglia become more numerous with age. This fact may indicate the activation of the interaction between glial cells in the DRG of rats during aging.

Keywords: aging, dorsal root ganglion, immunohistochemistry, Iba-1, connexin-43, gap junction, cell–cell communication