

УДК 57.012.4

DOI: 10.37482/2687-1491-Z034

**НЕРАВНОМЕРНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕМБРАН АСТРОЦИТОВ
ПО СЛОЯМ ПЕРВИЧНОЙ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫС**С.Ю. Филиппова* ORCID: [0000-0002-4558-5896](https://orcid.org/0000-0002-4558-5896)А.К. Логвинов* ORCID: [0000-0002-8873-3625](https://orcid.org/0000-0002-8873-3625)Е.Ю. Кириченко* ORCID: [0000-0003-4703-1616](https://orcid.org/0000-0003-4703-1616)

*Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского
Южного федерального университета
(г. Ростов-на-Дону)

Астроциты являются основными клетками нейроглии, поддерживающими водно-электролитный и энергетический баланс в мозге. По современным представлениям, астроглия также принимает непосредственное участие в регуляции синаптической передачи и обеспечении синхронной работы нейронов на больших расстояниях. Свои функции астроциты реализуют через многочисленные отростки, пронизывающие весь нейропил. По мнению авторов статьи, изменение площади астроцитарных мембран в единице объема нейропиля прямо отражает изменение интенсивности взаимодействия астроцитов и нейронов. Усиление или ослабление регуляторного влияния астроцитов, несомненно, оказывает воздействие на функционирование нейронных цепей. Тем не менее, несмотря на растущую популярность исследований в области нейроглиальных отношений, данный аспект остается недостаточно изученным для коры головного мозга. Цель настоящего исследования – определить удельную площадь астроцитарных мембран в нейропиле первичной соматосенсорной коры мозга крыс послойно. Материалом для исследования послужили образцы первичной соматосенсорной коры, полученные от 5 самцов белых беспородных крыс в возрасте 60–80 дней. После иммунного мечения образцов на астроцитарный маркер S100B методом pre-embedding была проведена подготовка образцов для трансмиссионной электронной микроскопии по стандартной методике. Всего для каждого слоя первичной соматосенсорной коры было получено по 250 электронограмм, по которым далее методом случайных секущих определялась удельная площадь астроцитарных мембран. Исследование установило, что этот показатель является минимальным в первом и максимальным – в пятом слое кортикальной колонки. В статье также обсуждаются возможные функциональные последствия неравномерного распределения астроцитарных мембран в данной анатомической структуре.

Ключевые слова: первичная соматосенсорная кора, астроцит, кортикальная колонка, трансмиссионная электронная микроскопия.

Ответственный за переписку: Филиппова Светлана Юрьевна, адрес: 344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки, д. 194/1; e-mail: filsv@yandex.ru

Для цитирования: Филиппова С.Ю., Логвинов А.К., Кириченко Е.Ю. Неравномерное распределение мембран астроцитов по слоям первичной соматосенсорной коры мозга крыс // Журн. мед.-биол. исследований. 2020. Т. 8, № 4. С. 409–418. DOI: 10.37482/2687-1491-Z034

Астроциты – это клетки нейроглии, которые обеспечивают постоянство ионного состава межклеточной жидкости, снабжают нейроны энергетическими субстратами, отводят продукты метаболизма, поддерживают баланс нейротрансмиттеров, участвуют в функционировании гематоэнцефалического барьера, а также играют важную роль в ряде других процессов в мозге, полный спектр которых еще предстоит выяснить [1]. По современным представлениям, астроциты не просто поддерживают нормальное функционирование нейронов, но и являются полноправными участниками синаптической передачи, образуя совместно с нейронными окончаниями так называемый трехсторонний синапс [2].

Известно также о вкладе астроцитов в развитие ряда неврологических заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера [3], болезнь Паркинсона, шизофрения [4], инсульт, эпилепсия и др. [5]. При этом можно выделить несколько основных патогенетических механизмов, связанных с дисфункцией астроцитов. Во-первых, недостаточность функции захвата ионов калия из внеклеточной среды приводит к увеличению концентрации этого иона в перисинаптическом пространстве и, как следствие, патологическому изменению возбудимости постсинаптических мембран – процессу, играющему значительную роль в патогенезе эпилепсии [6] и болезни Гентингтона [7]. Во-вторых, снижение захвата астроцитами глутамата и увеличение концентрации этого нейротрансмиттера оказывают нейротоксическое действие, провоцирующее судороги [8]. Кроме того, дисбаланс глутамата, связанный с дисфункцией астроцитов, играет роль в формировании наркотических зависимостей [9]. Определенное значение для развития неврологических заболеваний могут иметь и такие механизмы влияния астроглии на функционирование нейронных цепей, как модуляция синаптической передачи посредством сигнальных веществ, выделяемых астроцитами в ответ на синаптическую активность [10], и воздействие на процессы формирования и со-

зревания синапсов через астроцитарные молекулярные сигналы [11].

Поскольку поглощение и высвобождение ионов и функционально активных молекул происходит через мембрану астроцитов, то естественно предположить, что чем больше площадь мембран астроцитов в элементарном объеме нейропиля, тем сильнее астроцитарный контроль за ионным балансом, более интенсивно протекают процессы поглощения нейромедиаторов и метаболитов, выше энергообеспечение работы нейронов и более выражены регуляторные эффекты, оказываемые астроцитами на нейроны. Таким образом, удельная площадь астроцитарных мембран может служить интегральным показателем интенсивности взаимодействия астроцитов и нейронов.

Первичная соматосенсорная кора грызунов является популярной моделью для изучения как нормальных физиологических процессов, так и патогенеза неврологических заболеваний. Как правило, исследователи сосредотачиваются на работе элементарных вычислительных модулей коры – кортикальных колонок, имеющих определенное функциональное строение, выраженное в послойном распределении нейронов и связей между ними. При этом участие астроцитарного компонента в работе кортикальной колонки рассматривается, как правило, обобщенно, без послойного разделения [12, 13]. В то же самое время в нейробиологии укрепилось понимание неоднородности астроглии как в морфологическом, так и в биохимическом и физиологическом планах, которая выявляется в норме и при развитии патологии [14–16]. Значимые результаты были получены и при исследовании морфологической и молекулярной гетерогенности астроцитов в кортикальной колонке первичной соматосенсорной коры. Так, кластерный анализ позволил D. Lanjakornsiripan et al. [17] выделить в данной структуре 4 группы астроцитов на основании их морфологии, а также установить значительные различия в профилях транскрипции астроцитов супра-

гранулярных и инфрагранулярных слоев. Тем не менее до сих пор неясно, отражается ли известная послойная гетерогенность астроглии на интенсивности взаимодействия астроцитов и нейронов.

Мы предположили, что интенсивность взаимодействия астроцитов и нейронов, выраженная через удельную плотность астроцитарных мембран, неравномерна по слоям кортикальной колонки. С целью проверки данной гипотезы мы провели послойное измерение удельной площади мембран астроцитов в первичной соматосенсорной коре крыс.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы первичной соматосенсорной коры S1 беспородных белых крыс мужского пола в возрасте 60–80 дней ($n = 5$). Содержание животных и экспериментальные исследования осуществлялись в соответствии с протоколом, утвержденным комиссией по биоэтике Южного федерального университета 18 апреля 2012 года.

После введения животным нембутала проводили транскардиальную перфузию фосфатным буфером и затем 4 %-м раствором параформальдегида. Далее мозг извлекали и на вибраторе VT 1000E (Leica, Германия) изготавливали фронтальные срезы толщиной 40 мкм через область первичной соматосенсорной коры. На плавающих срезах проводили иммуноноемечение пероксидазной меткой с применением первичных антител к маркеру астроцитов S100B (PA0900, Leica) и системы детекции EnVision System + Peroxidase (DAB) (Dako, Германия). После проявления метки в реакции с 3,3'-диаминобензидином (ДАБ) срезы фиксировали в 1 %-м растворе OsO_4 , обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заключали в эпоксидную смолу EPON-812 плоскопараллельным методом. Далее из полученных срезов под стереотаксической лупой иссекали участки, захватывающие все 6 слоев первичной соматосенсорной коры, и приполимеризовывали их к готовому блоку из эпоксидной смолы (по 3 блока от каждого животного), после чего на ультрамикротоме Ultracut-E (Leica, Герма-

ния) готовили срезы для трансмиссионной электронной микроскопии. На первом этапе на полутонких срезах на светооптическом уровне определяли границы всех слоев и ориентацию образца. Материалом для второго этапа служили снимки нейропиля, сделанные с ультратонких срезов при увеличении $\times 25\,000$ на микроскопе Jem-1011 (Jeol, Япония).

Удельную площадь астроцитов определяли методом случайных секущих [18], путем нахождения среднего числа пересечений мембран астроцитов (Z), приходящегося на единицу длины тест-системы (l):

$$m = Z/l.$$

Тест-система представляла собой 10 параллельных линий длиной 10 мкм (общая длина $l = 100$ мкм), отстоящих друг от друга на 1 мкм. Для каждого слоя первичной соматосенсорной коры проводили по 150 испытаний с наложением на изображение тест-системы и подсчетом количества пересечений астроцитарных профилей с линиями тест-системы.

Для анализа значимости наблюдаемых различий применяли параметрические тесты – однофакторный дисперсионный анализ и непарный двусторонний тест Стьюдента в программе STATISTICA. Данные представлены в виде среднего и 95 %-го доверительного интервала ($M \pm 95\% \text{ДИ}$). Принятый в исследовании уровень значимости различий $\alpha = 0,05$.

Результаты. В ходе исследования было получено по 250 снимков нейропиля для каждого слоя коры, на которых продукты реакции пероксидазы с ДАБ четко визуализировались по всему полю зрения. Иммуноная метка на полученных электронограммах встречалась только в профилях астроцитов, которые легко можно было отличить от нейрональных и других профилей по типичной нерегулярной, часто сильно разветвленной форме (рис. 1А, см. с. 412). На снимках можно различить такие характерные для астроцитов структуры, как места контакта тончайших периферических отростков астроцитов и химических синапсов (так называемый трехсторонний синапс [2]), а также периваскулярные астроцитарные муфты

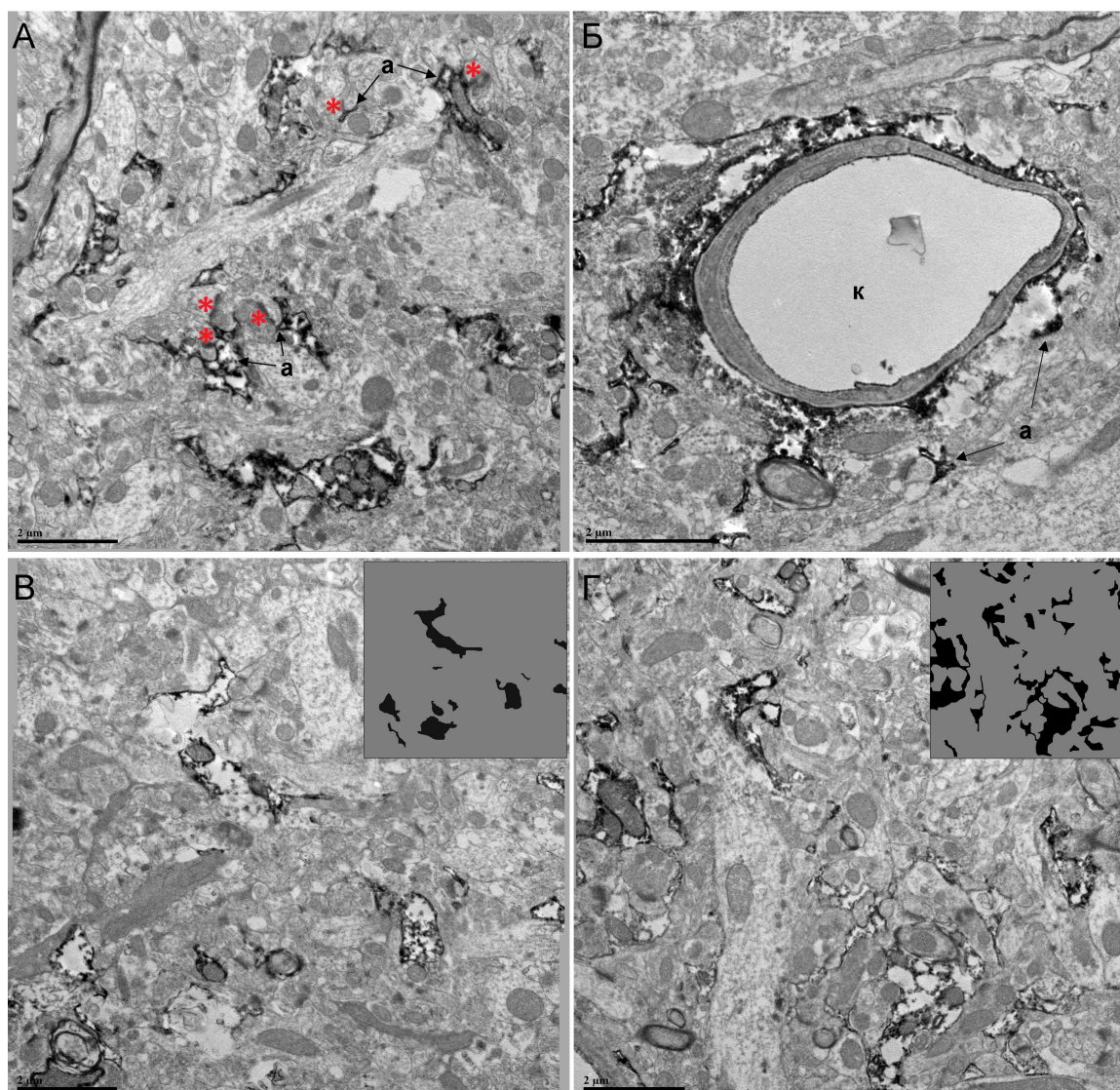


Рис. 1. Распределение иммунной метки на S100B в нейропиле первичной соматосенсорной коры мозга крыс: *А* – общий вид нейропиля 3-го слоя коры; *Б* – периваскулярная астроцитарная муфта в 3-м слое коры (*а* – профиль астроцита; *к* – просвет капилляра; * – возбуждающие астро-шиповые синапсы, образующие трехсторонние синапсы с прилегающими к ним отростками астроцитов); *Б'* – вид нейропиля 1-го слоя коры (на врезке более темным цветом схематично изображены астроцитарные профили); *Г* – вид нейропиля 5-го слоя коры. Длина масштабных отрезков – 2 мкм

Immunolabel distribution on S100B in the neuropil of the rat primary somatosensory cortex

(рис. 1Б). Распределение метки имело видимые особенности только в 1-м слое. Здесь, по сравнению с нижележащими кортикальными слоями, наблюдалось заметное сокращение разме-

ра и количества астроцитарных профилей, что можно заметить при сравнении рис. 1Б и 1Г.

В результате проведенных измерений было установлено, что среднее значение удельной

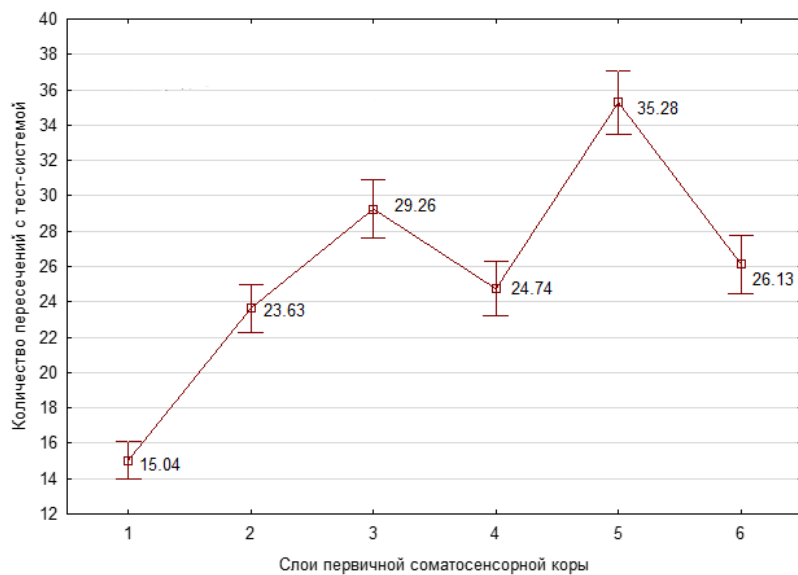


Рис. 2. Диаграмма размаха для числа пересечений тест-системы с мембранами астроцитов по слоям первичной соматосенсорной коры мозга крыс ($M \pm 95\% \text{ДИ}$)

Box plot for the number of intersections of the test system with astrocyte membranes by layers of the rat primary somatosensory cortex

площади астроцитарных мембран различается между слоями коры – это ясно видно на диаграмме размаха (рис. 2).

Дисперсионный анализ показал, что различие между средними для сравниваемых групп статистически значимо ($F = 74,98$; $p = 0,00$), поэтому далее мы провели попарное сравнение среднего числа пересечений мембран астроцита с тест-системой с применением критерия Стьюдента для определения достоверных различий между слоями, при принятом уровне значимости $\alpha = 0,05$ с учетом поправки Бонферрони на множественное сравнение ($\alpha' = \alpha/N = 0,05/15 = 0,003$, где α' – новый уровень значимости, N – число тестируемых гипотез). Полученные экспериментальные значения t приведены в таблице, см. с. 414.

Таким образом, установлено, что значения удельной площади астроцитарных мембран существенно различаются между слоями первичной соматосенсорной коры крыс. Значение данного параметра является достоверно наи-

меньшим в 1-м и наибольшим – в 5-м слое коры. Кроме того, удельная площадь астроцитарных мембран достоверно выше в 3-м слое коры по сравнению с 2-м и 4-м слоями, тогда как между 2-м и 4-м, 4-м и 6-м, 2-м и 6-м слоями, а также между 3-м и 6-м слоями статистически значимой разницы удельной плотности астроцитарных мембран не наблюдается.

Обсуждение. Полученные в настоящей работе данные позволяют заключить, что наименее интенсивное взаимодействие между нейронами и астроцитами происходит в 1-м слое первичной соматосенсорной коры крыс, а наиболее интенсивное – в 5-м слое. Ранее рядом исследователей было высказано предположение о том, что астроциты участвуют в формировании кортикальных карт, образуя функциональные домены, внутри которых происходит совместная регуляция нейрональной активности и местного кровотока и которые, вероятно, совпадают с нейрональными доменами – кортикальными колонками [19, 20]. Поскольку

ЗНАЧЕНИЯ *t*-КРИТЕРИЯ СТЬЮДЕНТА
ПРИ ПОПАРНОМ СРАВНЕНИИ СРЕДНЕГО ЧИСЛА ПЕРЕСЕЧЕНИЙ МЕМБРАН АСТРОЦИТА
С ТЕСТ-СИСТЕМОЙ ДЛЯ ВСЕХ СЛОЕВ ПЕРВИЧНОЙ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫС
STUDENT'S *t*-TEST VALUES AT PAIRWISE COMPARISON
OF THE AVERAGE NUMBER OF INTERSECTIONS OF ASTROCYTE MEMBRANES
WITH THE TEST SYSTEM FOR ALL LAYERS OF THE RAT PRIMARY SOMATOSENSORY CORTEX

Слой коры	Слой коры					
	1	2	3	4	5	6
1		-9,80239	-14,4887	-10,3527	-19,1082	-11,1195
2	-9,80239		-5,23234	-1,06934	-10,1559	-2,29323
3	-14,4887	-5,23234		4,017565	-4,89925	2,658529
4	-10,3527	-1,06934	4,017565		-8,83106	-1,22306
5	-19,1082	-10,1559	-4,89925	-8,83106		7,366040
6	-11,1195	-2,29323	2,658529	-1,22306	7,366040	

Примечание. Полужирным шрифтом выделены значения t , превышающие $t_{\text{крит}} = 2,99$ для $\alpha' = 0,003, f = 298$.

астроцитарные мембраны неравномерно распределены по слоям кортикальной колонки, то вопрос о характеристиках этих астроцитарных доменов в разных слоях коры остается открытым. По нашему мнению, следует провести дополнительные исследования для определения размеров и конфигурации возможных функциональных доменов, образуемых астроцитами на всех уровнях обработки информации в коре головного мозга крыс.

Неравномерное распределение мембран астроцитов в слоях коры головного мозга может также иметь значение для регуляции коллективного поведения нейронов и синхронизации их активности на больших расстояниях. Наиболее изученными являются процессы регуляции медленных ритмов коры во время сна, связанные с высвобождением астроцитами экстраинаптического глутамата [21, 22], а также процессы генерации и поддержания быстрых гамма-осцилляций во время бодрствования [23]. Известно, что медленные волны связаны с синаптической пластичностью и консолидацией памяти [24], в то время как гамма-осцилляции обычно ассоциируют с активацией и поддержанием внимания, обучением, моторными функциями и другими когнитивными процес-

сами [25]. Несмотря на многочисленные исследования, процессы спонтанной активации, синхронизации и распространения коллективного возбуждения и депрессии по коре головного мозга во многом остаются неизученными. В частности, открытым остается вопрос о нейронах – источниках спонтанной активности в коре и механизмах их активации. Так, известно, что в генерации медленных ритмов в большей степени задействованы нейроны 5-го слоя коры, однако причины их спонтанной активации не ясны [26]. Мы предполагаем, что увеличенное количество астроцитарных мембран и, предположительно, повышенная продукция экстраинаптического глутамата, обнаруженные в нашем исследовании, могут обуславливать повышенную возбудимость пирамидальных нейронов 5-го слоя коры головного мозга и вызывать генерацию медленных ритмов через спонтанную активацию этих нейронов.

Обработка сенсорных сигналов в коре обычно рассматривается с точки зрения строения нейронных цепей и потока информации между нейронами. Однако структурирование нейрональной сети посредством астроцитарных мембран – создание компартментов, где синхронизируется групповая активность синапсов

или, наоборот, происходит изоляция информационных потоков, – это новый аспект, который еще не был рассмотрен для коры, но был изучен для гиппокампа [27], мозжечка [28] и ядра одиночного пути [29]. Некоторые данные в пользу того, что астроциты по-разному взаимодействуют с отдельными компонентами кортикальной колонки, образуя структурные или функциональные компартменты, уже были получены с применением электрофизиологических методов [30], при этом на ультраструктурном уровне особенности компартментализации нейропила коры изучены не были. Мы считаем, что увеличение количества астроцитарных мембран в единице объема нейропила 5-го слоя

соматосенсорной коры крыс можно трактовать и как усиление изоляции информационных потоков в данной зоне.

Учитывая известную морфологическую и функциональную гетерогенность нейронов коры головного мозга, следует провести дальнейшие исследования пространственных отношений мембран астроцитов и нейронов с применением специфических маркеров, выделяющих отдельные биохимические типы нейронов. Такие исследования позволили бы получить более детальную картину нейроглиальных отношений в контексте строения кортикальной колонки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Гомазков О.А. Астроциты как посредники интеграционных процессов в мозге // Успехи соврем. биологии. 2018. Т. 138, № 4. С. 373–382. DOI: 10.7868/S004213241804004X
2. Araque A., Parpura V., Sanzgiri R.P., Haydon P.G. Tripartite Synapses: Glia, the Unacknowledged Partner // Trends Neurosci. 1999. Vol. 22, № 5. P. 208–215.
3. Кушнирева Л.А., Коркотян Э.А., Семьянов А.В. Незаслуженно забытые: место глиальных клеток в гипотезах возникновения болезни Альцгеймера // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2019. Т. 105, № 9. С. 1067–1095. DOI: 10.1134/S0869813919090085
4. Коломеец Н.С., Уранова Н.А. Современные представления о реактивности астроцитов при шизофрении // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2014. № 5. С. 92–99.
5. Blanco-Suárez E., Caldwell A.L.M., Allen N.J. Role of Astrocyte-Synapse Interactions in CNS Disorders // J. Physiol. 2017. Vol. 595, № 6. P. 1903–1916.
6. Steinhäuser C., Seifert G., Bedner P. Astrocyte Dysfunction in Temporal Lobe Epilepsy: K⁺ Channels and Gap Junction Coupling // Glia. 2012. Vol. 60, № 8. P. 1192–1202.
7. Tong X., Ao Y., Faas G.C., Nwaobi S.E., Xu J., Hausteil M.D., Anderson M.A., Mody I., Olsen M.L., Sofroniew M.V., Khakh B.S. Astrocyte Kir4.1 Ion Channel Deficits Contribute to Neuronal Dysfunction in Huntington's Disease Model Mice // Nat. Neurosci. 2014. Vol. 17, № 5. P. 694–703.
8. Coulter D.A., Eid T. Astrocytic Regulation of Glutamate Homeostasis in Epilepsy // Glia. 2012. Vol. 60, № 8. P. 1215–1226.
9. Scofield M.D., Kalivas P.W. Astrocytic Dysfunction and Addiction: Consequences of Impaired Glutamate Homeostasis // Neuroscientist. 2014. Vol. 20, № 6. P. 610–622.
10. Harada K., Kamiya T., Tsuboi T. Gliotransmitter Release from Astrocytes: Functional, Developmental, and Pathological Implications in the Brain // Front. Neurosci. 2016. Vol. 9. Art. № 499.
11. Allen N.J. Astrocyte Regulation of Synaptic Behavior // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2014. Vol. 30. P. 439–463.
12. Bélanger S., de Souza B.O., Casanova C., Lesage F. Correlation of Hemodynamic and Fluorescence Signals Under Resting State Conditions in Mice's Barrel Field Cortex // Neurosci. Lett. 2016. Vol. 616. P. 177–181.
13. Stobart J.L., Ferrari K.D., Barrett M.J.P., Glück C., Stobart M.J., Zuend M., Weber B. Cortical Circuit Activity Evokes Rapid Astrocyte Calcium Signals on a Similar Timescale to Neurons // Neuron. 2018. Vol. 98, № 4. P. 726–735.
14. Моргунов А.В., Малиновская Н.А., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Кувачева Н.В., Панина Ю.А., Таранушенко Т.Е., Солончук Ю.Р., Салмина А.Б. Структурная и функциональная гетерогенность астроцитов головного мозга: роль в нейродегенерации и нейровоспалении // Бюл. сиб. медицины. 2014. Т. 13, № 5. С. 138–148.

15. John Lin C.C., Yu K., Hatcher A., Huang T.W., Lee H.K., Carlson J., Weston M.C., Chen F., Zhang Y., Zhu W., Mohila C.A., Ahmed N., Patel A.J., Arenkiel B.R., Noebels J.L., Creighton C.J., Deneen B. Identification of Diverse Astrocyte Populations and Their Malignant Analogs // *Nat. Neurosci.* 2017. Vol. 20, № 3. P. 396–405.
16. Pestana F., Edwards-Faret G., Belgard T.G., Martirosyan A., Holt M.G. No Longer Underappreciated: The Emerging Concept of Astrocyte Heterogeneity in Neuroscience // *Brain Sci.* 2020. Vol. 10, № 3. Art. № 168.
17. Lanjakornsiripan D., Pior B.J., Kawaguchi D., Furutachi S., Tahara T., Katsuyama Y., Suzuki Y., Fukazawa Y., Gotoh Y. Layer-Specific Morphological and Molecular Differences in Neocortical Astrocytes and Their Dependence on Neuronal Layers // *Nat. Commun.* 2018. Vol. 9. Art. № 1623.
18. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: рук. М.: Медицина, 1990. 384 с.
19. López-Hidalgo M., Schummers J. Cortical Maps: A Role for Astrocytes? // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2014. Vol. 24, № 1. P. 176–189.
20. Eilam R., Aharoni R., Arnon R., Malach R. Astrocyte Morphology Is Confined by Cortical Functional Boundaries in Mammals Ranging from Mice to Human // *eLife.* 2016. № 5. Art. № e15915.
21. Fellin T., Halassa M.M., Terunuma M., Succol F., Takano H., Frank M., Moss S.J., Haydon P.G. Endogenous Nonneuronal Modulators of Synaptic Transmission Control Cortical Slow Oscillations *in vivo* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106, № 35. P. 15037–15042.
22. Foley J., Blustein T., Lee S., Erneux C., Halassa M.M., Haydon P. Astrocytic IP₃/Ca²⁺ Signaling Modulates Theta Rhythm and REM Sleep // *Front. Neural Circuits.* 2017. Vol. 11. Art. № 3.
23. Lee H.S., Ghetti A., Pinto-Duarte A., Wang X., Dzieczapolski G., Galimi F., Huitron-Resendiz S., Piña-Crespo J.C., Roberts A.J., Verma I.M., Sejnowski T.J., Heinemann S.F. Astrocytes Contribute to Gamma Oscillations and Recognition Memory // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. Vol. 111, № 32. P. E3343–E3352.
24. Miyamoto D., Hirai D., Murayama M. The Roles of Cortical Slow Waves in Synaptic Plasticity and Memory Consolidation // *Front. Neural Circuits.* 2017. Vol. 11. Art. № 92.
25. Bosman C.A., Lansink C.S., Pennartz C.M.A. Functions of Gamma-Band Synchronization in Cognition: From Single Circuits to Functional Diversity Across Cortical and Subcortical Systems // *Eur. J. Neurosci.* 2014. Vol. 39, № 11. P. 1982–1999.
26. Beltramo R., D'Urso G., Dal Maschio M., Farisello P., Bovetti S., Clovis Y., Lassi G., Tucci V., De Pietri Tonelli D., Fellin T. Layer-Specific Excitatory Circuits Differentially Control Recurrent Network Dynamics in the Neocortex // *Nat. Neurosci.* 2013. Vol. 16, № 2. P. 227–234.
27. Witcher M.R., Park Y.D., Lee M.R., Sharma S., Harris K.M., Kirov S.A. Three-Dimensional Relationships Between Perisynaptic Astroglia and Human Hippocampal Synapses // *Glia.* 2010. Vol. 58, № 5. P. 572–587.
28. Xu-Friedman M.A., Harris K.M., Regehr W.G. Three-Dimensional Comparison of Ultrastructural Characteristics at Depressing and Facilitating Synapses onto Cerebellar Purkinje Cells // *J. Neurosci.* 2001. Vol. 21, № 17. P. 6666–6672.
29. Chounlamountry K., Kessler J.P. The Ultrastructure of Perisynaptic Glia in the Nucleus Tractus Solitarii of the Adult Rat: Comparison Between Single Synapses and Multisynaptic Arrangements // *Glia.* 2011. Vol. 59, № 4. P. 655–663.
30. Benedetti B., Matyash V., Kettenmann H. Astrocytes Control GABAergic Inhibition of Neurons in the Mouse Barrel Cortex // *J. Physiol.* 2011. Vol. 589, Pt. 5. P. 1159–1172.

References

1. Gomazkov O.A. Astrocity kak posredniki integratsionnykh protsessov v mozge [Astrocytes as Mediators of Integration Processes in the Brain]. *Uspekhi sovremennoy biologii*, 2018, vol. 138, no. 4, pp. 373–382. DOI: 10.7868/S004213241804004X
2. Araque A., Parpura V., Sanzgiri R.P., Haydon P.G. Tripartite Synapses: Glia, the Unacknowledged Partner. *Trends Neurosci.*, 1999, vol. 22, no. 5, pp. 208–215.
3. Kushnireva L.A., Korkotyan E.A., Sem'yanov A.V. Nezasluzhenno zabytye: mesto glial'nykh kletok v gipotezakh vozniknoveniya bolezni Al'tsgeymera [Undeservedly Forgotten: The Place of Glial Cells Among the Hypotheses of Alzheimer's Disease]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*, 2019, vol. 105, no. 9, pp. 1067–1095. DOI: 10.1134/S0869813919090085
4. Kolomeets N.S., Uranova N.A. Sovremennye predstavleniya o reaktivnosti astrotsitov pri shizofrenii [Current Conceptions About Astrocyte Reactivity in Schizophrenia]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*, 2014, no. 5, pp. 92–99.
5. Blanco-Suárez E., Caldwell A.L.M., Allen N.J. Role of Astrocyte-Synapse Interactions in CNS Disorders. *J. Physiol.*, 2017, vol. 595, no. 6, pp. 1903–1916.

6. Steinhäuser C., Seifert G., Bedner P. Astrocyte Dysfunction in Temporal Lobe Epilepsy: K⁺ Channels and Gap Junction Coupling. *Glia*, 2012, vol. 60, no. 8, pp. 1192–1202.
7. Tong X., Ao Y., Faas G.C., Nwaobi S.E., Xu J., Hausteine M.D., Anderson M.A., Mody I., Olsen M.L., Sofroniew M.V., Khakh B.S. Astrocyte Kir4.1 Ion Channel Deficits Contribute to Neuronal Dysfunction in Huntington's Disease Model Mice. *Nat. Neurosci.*, 2014, vol. 17, no. 5, pp. 694–703.
8. Coulter D.A., Eid T. Astrocytic Regulation of Glutamate Homeostasis in Epilepsy. *Glia*, 2012, vol. 60, no. 8, pp. 1215–1226.
9. Scofield M.D., Kalivas P.W. Astrocytic Dysfunction and Addiction: Consequences of Impaired Glutamate Homeostasis. *Neuroscientist*, 2014, vol. 20, no. 6, pp. 610–622.
10. Harada K., Kamiya T., Tsuboi T. Gliotransmitter Release from Astrocytes: Functional, Developmental, and Pathological Implications in the Brain. *Front. Neurosci.*, 2016, vol. 9, Art. no. 499.
11. Allen N.J. Astrocyte Regulation of Synaptic Behavior. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2014, vol. 30, pp. 439–463.
12. Bélanger S., de Souza B.O., Casanova C., Lesage F. Correlation of Hemodynamic and Fluorescence Signals Under Resting State Conditions in Mice's Barrel Field Cortex. *Neurosci. Lett.*, 2016, vol. 616, pp. 177–181.
13. Stobart J.L., Ferrari K.D., Barrett M.J.P., Glück C., Stobart M.J., Zuend M., Weber B. Cortical Circuit Activity Evokes Rapid Astrocyte Calcium Signals on a Similar Timescale to Neurons. *Neuron*, 2018, vol. 98, no. 4, pp. 726–735.
14. Morgun A.V., Malinovskaya N.A., Komleva Yu.K., Lopatina O.L., Kuvacheva N.V., Panina Yu.A., Taranushenko T.Y., Solonchuk Yu.R., Salmina A.B. Structural and Functional Heterogeneity of Astrocytes in the Brain: Role in Neurodegeneration and Neuroinflammation. *Bull. Sib. Med.*, 2014, vol. 13, no. 5, pp. 138–148 (in Russ.).
15. John Lin C.C., Yu K., Hatcher A., Huang T.W., Lee H.K., Carlson J., Weston M.C., Chen F., Zhang Y., Zhu W., Mohila C.A., Ahmed N., Patel A.J., Arenkiel B.R., Noebels J.L., Creighton C.J., Deneen B. Identification of Diverse Astrocyte Populations and Their Malignant Analogs. *Nat. Neurosci.*, 2017, vol. 20, no. 3, pp. 396–405.
16. Pestana F., Edwards-Faret G., Belgard T.G., Martirosyan A., Holt M.G. No Longer Underappreciated: The Emerging Concept of Astrocyte Heterogeneity in Neuroscience. *Brain Sci.*, 2020, vol. 10, no. 3, Art. no. 168.
17. Lanjakornsiripan D., Pior B.J., Kawaguchi D., Furutachi S., Tahara T., Katsuyama Y., Suzuki Y., Fukazawa Y., Gotoh Y. Layer-Specific Morphological and Molecular Differences in Neocortical Astrocytes and Their Dependence on Neuronal Layers. *Nat. Commun.*, 2018, vol. 9, Art. no. 1623.
18. Avtandilov G.G. *Meditsinskaya morfometriya* [Medical Morphometry]. Moscow, 1990. 384 p.
19. López-Hidalgo M., Schummers J. Cortical Maps: A Role for Astrocytes? *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2014, vol. 24, no. 1, pp. 176–189.
20. Eilam R., Aharoni R., Arnon R., Malach R. Astrocyte Morphology Is Confined by Cortical Functional Boundaries in Mammals Ranging from Mice to Human. *eLife*, 2016, no. 5, Art. no. e15915.
21. Fellin T., Halassa M.M., Terunuma M., Succol F., Takano H., Frank M., Moss S.J., Haydon P.G. Endogenous Nonneuronal Modulators of Synaptic Transmission Control Cortical Slow Oscillations *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, vol. 106, no. 35, pp. 15037–15042.
22. Foley J., Blustein T., Lee S., Erneux C., Halassa M.M., Haydon P. Astrocytic IP₃/Ca²⁺ Signaling Modulates Theta Rhythm and REM Sleep. *Front. Neural Circuits*, 2017, vol. 11, Art. no. 3.
23. Lee H.S., Ghetti A., Pinto-Duarte A., Wang X., Dziejczapolski G., Galimi F., Huitron-Resendiz S., Piña-Crespo J.C., Roberts A.J., Verma I.M., Sejnowski T.J., Heinemann S.F. Astrocytes Contribute to Gamma Oscillations and Recognition Memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, no. 32, pp. E3343–E3352.
24. Miyamoto D., Hirai D., Murayama M. The Roles of Cortical Slow Waves in Synaptic Plasticity and Memory Consolidation. *Front. Neural Circuits*, 2017, vol. 11, Art. no. 92.
25. Bosman C.A., Lansink C.S., Pennartz C.M.A. Functions of Gamma-Band Synchronization in Cognition: From Single Circuits to Functional Diversity Across Cortical and Subcortical Systems. *Eur. J. Neurosci.*, 2014, vol. 39, no. 11, pp. 1982–1999.
26. Beltramo R., D'Urso G., Dal Maschio M., Farisello P., Bovetti S., Clovis Y., Lassi G., Tucci V., De Pietri Tonelli D., Fellin T. Layer-Specific Excitatory Circuits Differentially Control Recurrent Network Dynamics in the Neocortex. *Nat. Neurosci.*, 2013, vol. 16, no. 2, pp. 227–234.
27. Witcher M.R., Park Y.D., Lee M.R., Sharma S., Harris K.M., Kirov S.A. Three-Dimensional Relationships Between Perisynaptic Astroglia and Human Hippocampal Synapses. *Glia*, 2010, vol. 58, no. 5, pp. 572–587.
28. Xu-Friedman M.A., Harris K.M., Regehr W.G. Three-Dimensional Comparison of Ultrastructural Characteristics at Depressing and Facilitating Synapses onto Cerebellar Purkinje Cells. *J. Neurosci.*, 2001, vol. 21, no. 17, pp. 6666–6672.

29. Chounlamountry K., Kessler J.P. The Ultrastructure of Perisynaptic Glia in the Nucleus Tractus Solitarii of the Adult Rat: Comparison Between Single Synapses and Multisynaptic Arrangements. *Glia*, 2011, vol. 59, no. 4, pp. 655–663.

30. Benedetti B., Matyash V., Kettenmann H. Astrocytes Control GABAergic Inhibition of Neurons in the Mouse Barrel Cortex. *J. Physiol.*, 2011, vol. 589, pt. 5, pp. 1159–1172.

DOI: 10.37482/2687-1491-Z034

*Svetlana Yu. Filippova** ORCID: [0000-0002-4558-5896](https://orcid.org/0000-0002-4558-5896)

*Aleksandr K. Logvinov** ORCID: [0000-0002-8873-3625](https://orcid.org/0000-0002-8873-3625)

*Evgeniya Yu. Kirichenko** ORCID: [0000-0003-4703-1616](https://orcid.org/0000-0003-4703-1616)

*Academy of Biology and Biotechnologies named after D.I. Ivanovsky, Southern Federal University
(Rostov-on-Don, Russian Federation)

UNEVEN DISTRIBUTION OF ASTROCYTE MEMBRANES OVER THE LAYERS OF THE RAT PRIMARY SOMATOSENSORY CORTEX

Astrocytes are the main glial cells maintaining water-electrolyte and energy balance in the brain. Today, astroglia is also believed to take a direct part in the regulation of synaptic transmission and in enabling synchronous operation of neurons at large distances. Astrocytes fulfil their functions through numerous processes that penetrate the entire neuropil. The authors believe that changes in the astrocyte membrane surface area per unit volume of neuropil directly reflect changes in the intensity of the astrocyte–neuron interaction. Strengthening or weakening of astrocyte regulation, undoubtedly, affect the functioning of neural circuits. Nevertheless, in spite of the growing popularity of research into the glia–neuron relations, this aspect remains insufficiently studied when it comes to the cerebral cortex. The purpose of this study was to layer-by-layer determine the astrocyte membrane surface per unit volume in the neuropil of the rat primary somatosensory cortex. The research was conducted on samples of the primary somatosensory cortex obtained from 5 white male rats (P60–80). After immune labelling against astrocytic marker S100B using the pre-embedding method, the samples were prepared for transmission electron microscopy according to the standard technique. In total, 250 electron micrographs were obtained for each layer of the primary somatosensory cortex, which were then used to determine the astrocyte membrane surface area per unit volume in the neuropil by means of the random secant method. The research found that this indicator is the minimum in the first and maximum in the fifth layers of the cortical column. In addition, the article discusses the possible functional consequences of uneven distribution of astrocytic membranes in the neocortex.

Keywords: *primary somatosensory cortex, astrocyte, cortical column, transmission electron microscopy.*

Поступила 14.04.2020

Принята 02.08.2020

Received 14 April 2020

Accepted 2 August 2020

Corresponding author: Svetlana Filippova, *address:* prosp. Stachki 194/1, Rostov-on-Don, 344090, Russian Federation; *e-mail:* filsv@yandex.ru

For citation: Filippova S.Yu., Logvinov A.K., Kirichenko E.Yu. Uneven Distribution of Astrocyte Membranes over the Layers of the Rat Primary Somatosensory Cortex. *Journal of Medical and Biological Research*, 2020, vol. 8, no. 4, pp. 409–418. DOI: 10.37482/2687-1491-Z034