

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОЗГА ЛЯГУШКИ В ПРИСУТСТВИИ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ГЛУТАМАТА И NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ

© 2018 г. Н.В. Самосудова, В.П. Реутов*

Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, 127051, Москва, Б. Каретный пер., 19/1

**Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, 117485, ул. Бултерова, 5а*

E-mail: valentinreutov@mail.ru

Поступила в редакцию 19.02.18 г.

В обзоре обобщены литературные данные и результаты собственных исследований по морфологии нейронов и глиальных клеток в норме и при моделировании условий, наблюдающихся в мозге человека при инсульте. Проанализированы ультраструктурные изменения в одном из простейших по своей структуре мозжечке лягушки в присутствии высоких концентраций глутамата (0,1–5,0 мМ) и NO-генерирующего соединения нитрита натрия (0,1–5,0 мМ). Актуальность подобных исследований связана с тем, что ведущим патогенетическим фактором повреждения нейронов при инсультах является гиперстимуляция глутаматных рецепторов. Токсическое воздействие высоких концентраций глутамата приводит к повреждению нейронов и глиальных клеток мозжечка. Происходит деэнергизация митохондрий, нарушается ионный гомеостаз, повышается внутриклеточная концентрация Ca^{2+} и активируются конститутивные NO-синтазы. При этом увеличивается содержание NO и продуктов его превращения, которые участвуют в механизме отрицательной обратной связи от постсинаптических нейронов к пресинаптическим, влияя на биохимические процессы и морфологические изменения нейронов и глиальных клеток, проявляющиеся в виде отека нервных и глиальных клеток. Одновременно отмечается развитие ультраструктурных компенсаторно-приспособительных механизмов, уменьшающих повреждающее воздействие высоких концентраций глутамата и NO-генерирующих соединений.

Ключевые слова: структура мозжечка, зернистые и глиальные клетки мозжечка, синапсы; геморрагический и ишемический инсульты; глутамат, оксид азота, цикл оксида азота.

Актуальность работ по изучению структуры мозга при инсульте и в экспериментальных условиях в присутствии высоких концентраций глутамата (Glu) и соединений, генерирующих оксид азота (NO), обусловлена данными о возрастании в десятки и даже сотни раз в течение первого часа после инсульта содержания Glu и NO в мозге [1–4]. Инсульт – это локальное повреждение мозга с нарушением мозгового кровообращения, повреждением ткани мозга и нарушением его функций. Различают геморрагический и ишемический инсульты [1–3]. Геморрагический инсульт развивается вследствие кровоизлияния в мозг при разрыве кровеносного сосуда и обусловлен контактом белков плазмы (например, альбумина) и форменных элементов крови с мозговыми структурами [2,3]. Причиной ишемического инсульта могут быть атеросклеротические поражения сосудов мозга, тромбоз или эмболия, связанные с заболева-

ниями сосудов, сердца или крови [1,4]. Активно работающие нейроны и глия обеспечивают себя кислородом и глюкозой через кровеносные сосуды, расширенные оксидом азота [5,6]. В зависимости от интенсивности метаболизма в нейронах и глии будет меняться кровоток в сосудах [7–10]. При ишемическом инсульте снижение кровоснабжения приводит к ишемии/гипоксии при одновременном нарушении поступления к нервным и глиальным клеткам глюкозы и кислорода [1,4–10].

Известна концепция, согласно которой цикл оксида азота [11,12], поставляющий и регенерирующий объемный нейротрансмиттер NO для осуществления механизмов глутаматергической и NO-ергической передачи, играет важную роль интегрирующего элемента в функциональной системе, представляющей единство нейронов, глии и кровеносных сосудов [7–10]. В результате такого взаимодействия нейроны, глия, а также нервная, гуморальная, межклеточная и внутриклеточная регуляция мозга оказываются оптимально взаимосвязанными с системой крово-

Сокращение: Glu – глутамат, СП – синаптические пузырьки.

обращения [4–10]. Таким образом, классический принцип «все нервное только в нейроне», предложенный Р. Кахалем, сменяется такой интерпретацией нейронной теории, в которой отражается функциональное единство нейронов, глии и кровеносных сосудов, включая капилляры мозга [5–10], и рассматривается модульный принцип структурно-функциональной организации мозга в целом и мозжечка в частности [13–15]. Воздействие глутамата на глутаматергические нейроны приводит к повышению внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , которые активируют конститутивные NO-синтазы (нейрональную и эндотелиальную), увеличивают содержание эндогенно синтезируемых из L-аргинина нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-) [16]. В связи с тем, что NO является одним из эффективных регуляторов кровообращения, NO-генерирующие соединения, образовавшиеся в результате активации глутаматергической системы мозга, не только участвуют в регуляции гемодинамики мозга, но и в циклических превращениях с образованием свободнорадикальных соединений – NO и NO_2 [11,12,16]. При этом NO участвует в расслаблении сосудов, а NO_2 , обладая высокой реакционной способностью, вызывает локальные повреждения мембран клеток и субклеточных структур, сопровождающиеся выходом холестерина из мембран [4]. Этот холестерол вместе с белками и липидами участвует в формировании липопротеиновых образований, которые со временем превращаются в атеросклеротические бляшки. Таким образом, глутаматергическая система играет существенную роль не только в регуляции нейронов мозга, сосудов и сердца. Нарушения регуляторных механизмов в глутаматергической системе могут приводить к развитию ишемических и геморрагических инсультов [1,2,4–8]. Рассмотрим более подробно, что же происходит при инсультах в пре- и постсинаптических областях нейронной сети.

ОСНОВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПРЕ- И ПОСТСИНАПТИЧЕСКИХ ОБЛАСТЯХ НЕЙРОННОЙ СЕТИ ПРИ ИНСУЛЬТАХ

Основным звеном в работе мозга, как известно, является химический синапс. В состав такого синапса входят пресинаптический бутон с нейротрансмиттерами (например, Glu) и постсинаптическая область, представленная дендритным шипиком. Все события, связанные с инсультом, происходят на фоне высокой концентрации глутамата (Glu-нейротоксичность) в области постсинаптического нейрона, нарушения ионного гомеостаза, стойкого повышения концентрации ионов Na^+ , Ca^{2+} и активации

конститутивных NO-синтаз [17–22]. Таким образом, Glu-нейротоксичность при инсульте обусловлена стойким повышением концентрации ионов Na^+ , Ca^{2+} и активацией NO-синтаз, продуцирующих большое количество NO и NO_2 , приводящих к деэнергизации митохондрий. При этом происходит снижение активности Ca^{2+} - и Na^+ -АТФаз, нарушение ионного гомеостаза нейронов и глиальных клеток [17–22], набухание нейронов и отек мозга [23]. Все эти явления наблюдаются на фоне повышения содержания NO_2 , окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов мембран [16, 24,25], окисления SH-групп серосодержащих аминокислот и OH-групп тирозиновых остатков белков [16,26,27], а также сопровождаются локальным повреждением мембран клеток и субклеточных структур [16,26,27]. Самые первые стадии инсульта (1–2 ч) чрезвычайно важны для предотвращения дальнейшего увеличения зоны повреждения мозга – пенумбры [1,23]. Именно на эти стадии изменения структуры нервных и глиальных клеток ранее были направлены наши экспериментальные исследования [28–46], а в данном обзоре они стали вместе с литературными данными предметом обобщающего анализа.

СТРУКТУРА МОЗЖЕЧКА

Морфология, физиология и биохимия мозжечка лягушки наиболее полно были впервые проанализированы в работах [47,48]. Этими и другими авторами было установлено, что кора мозжечка отличается от ряда других формаций центральной нервной системы своей относительной «простотой» [47–50]. Это преимущество прежде всего заключается в ограниченном числе типов нервных клеток и высокой пространственной упорядоченности мозжечковых связей [51–64]. Показано, что структура коры мозжечка лягушки [48,55,56] представлена следующими слоями: 1) молекулярным, 2) клетками Пуркинье и 3) зернистыми клетками. Молекулярный слой состоит из синапсов, образованных параллельными волокнами – аксонами клеток-зерен и дендритами клеток Пуркинье [49, 50]. Ширина молекулярного слоя составляет около 300–400 мкм. В нем присутствуют звездчатые клетки, представляющие собой интернейроны молекулярного слоя коры мозжечка. Ниже молекулярного слоя находится слой, состоящий из тел клеток Пуркинье с диаметром от 20 до 30 мкм. Эти клетки ориентированы вертикально по отношению к поверхности коры мозжечка. Их дендриты ветвятся в молекулярном слое. Они имеют специальные выросты – шипики (от четырех до пяти на 1 мкм длины),

образующие синапсы с параллельными волокнами клеток-зерен. Каждая клетка Пуркинье получает входы примерно от 200000 параллельных волокон клеток-зерен [47–50]. Выход из коры мозжечка формируется аксонами клеток Пуркинье. Общее количество клеток Пуркинье у разных позвоночных животных составляет от сотен тысяч до миллиона. За слоем клеток Пуркинье следует зернистый слой, содержащий большое количество клеток-зерен диаметром от 5 до 9 мкм. Их число может достигать у разных животных от сотен миллионов до десятков миллиардов (10^8 – 10^{10}). Клетки-зерна посылают свои аксоны в молекулярный слой для контакта с дендритами клеток Пуркинье.

В слое клеток-зерен также присутствуют клетки Гольджи, формирующие на них тормозные синапсы. Толщина этого слоя составляет около 200–300 мкм. Через синаптические связи клетки мозжечка могут как активироваться, так и ингибироваться. Так, например, между клетками-зернами и мшистыми волокнами мозжечка существуют синаптические связи, которые могут ингибироваться клетками Гольджи [47–50,57,65]. Однако клетки Пуркинье через синаптические связи могут активироваться лианными («лазающими») волокнами [51–54]. В настоящее время известны способы осуществления связи между нейронным аппаратом коры мозжечка, а также первой, второй и третьей системами афферентных волокон. С первой системой афферентных волокон связь осуществляется лианными волокнами, которые идут из нижних отделов продолговатого мозга и образуют синапсы на дендритах клеток Пуркинье, вызывая их возбуждение. Со второй системой афферентных волокон моховидные (мшистые) волокна формируют возбуждающие синапсы с клетками-зернами, клетками Гольджи и нейронами глубоких ядер. По ним поступают входные сигналы в мозжечке. Третья система афферентных адренергических волокон представляет собой скопление из нескольких нейронов, аксоны которых выделяют в межклеточное пространство норадреналин. Ниже будет представлен анализ литературных данных о роли глиальных клеток (астроцитов) в деятельности мозжечка лягушки.

ГЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ МОЗЖЕЧКА ЛЯГУШКИ

Астроциты, подобно нейронам, могут принимать участие в процессах меж- и внутриклеточной сигнализации в мозжечке [58–64,66–70]. Их функционирование, как и функционирование нейронов, связано с главным возбуждающим медиатором мозга глутаматом и ионами Ca^{2+} . В настоящее время астроциты рассмат-

риваются, как «равноправные» партнеры нервных клеток в сложной интегративной деятельности мозга. Подсчитано, что количество глиальных клеток превышает количество нейронов по крайней мере в 10 раз. Диаметр глиальных клеток составляет от 5 до 9 мкм. По некоторым данным, их число может составлять от сотен миллионов до сотен миллиардов (10^8 – 10^{11}). Можно выделить два основных типа астроцитов – плазматический и фиброзный. Плазматические астроциты, имея разветвленные короткие отростки, локализуются в сером веществе мозга, тогда как в белом веществе находятся фиброзные астроциты – олигодендроциты [48–50,57]. Они миелинизируют крупные аксоны и способны захватывать Glu, высвобождающийся из синапсов в норме и в условиях патологии. Glu-рецепторы на астроцитах могут выполнять роль сенсоров концентрации Glu во внеклеточной среде, регулировать активность Glu-транспортеров и содержание ионов Ca^{2+} во внеклеточной среде. Согласно современным данным Glu, выделяющийся астроцитами, также способен действовать на NMDA-рецепторы нейронов, приводить к повышению в них уровня Ca^{2+} , влияя тем самым на эффективность работы синапсов [13,17–23,57].

Главным иммуногистохимическим маркером астроцитов является глиальный кислый фибриллярный белок [60]. Согласно данным работы [60], астроциты активируются при нейрональных повреждениях, претерпевая при этом биохимические и морфологические изменения, включая повышение активности фосфатазы кальцинеурина. Активированные астроциты, изменяя свою морфологию, «включаются» в условиях моделируемой Glu-нейротоксичности [43–45,71]. Мозговой сосудистый барьер участвует в регуляции содержания Glu в мозге и ограничении его неконтролируемой диффузии. Na^+ -независимая и Na^+ -зависимая системы захвата Glu астроцитами осуществляются с помощью Glu-транспортеров, два из которых – GLAST и GLT-1 – присутствуют в астроцитах [72]. На активность транспорта Glu влияют концентрация АТФ, потенциал плазматической мембраны и мембран митохондрий, а также концентрация ионов, участвующих в транспорте [57,72]. Астроциты, как и нейроны, экспрессируют ионотропные (AMPA) и метаботропные (NMDA) Glu-рецепторы [73,74]. Однако плотность этих рецепторов в астроцитах существенно ниже, чем в нейронах [60]. Тем не менее повышение концентрации Glu в межклеточной среде приводит к активации Glu-рецепторов в астроцитах и к повышению в них внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} [75–80]. Использование ион-зависимых флуоресцентных

маркеров (например, Fura-2) позволило выявить формирование волн ионов Ca^{2+} в астроцитарном синцитии [79,81]. Это свидетельствует о том, что астроциты способны передавать сигналы от клетки к клетке. В настоящее время глиальные клетки уже никто не рассматривает как вспомогательные или как трофический «придаток» нейронов. Обнаружено, что клетки глии обмениваются сигналами как между собой, так и с нейронами [82]. Установлено, что показателем активации глиальных клеток является поглощение ими ионов Ca^{2+} , которое наблюдается в ответ на синаптические импульсы в нейронах [78,79,82]. Какова же роль Glu-рецепторов глиальных клеток?

Имеются данные, свидетельствующие о том, что глутамин астроцитов способен влиять на NMDA-рецепторы нейронов и синапсов [73,74, 83–86]. Предполагается, что Glu-рецепторы на астроцитах могут выполнять функции: 1) сенсоров уровня Glu; 2) регуляторов активности Glu-транспортеров и 3) Ca^{2+} -гомеостата во внеклеточной среде [77,82]. Обязательными структурами синаптических терминалей, влияющих на кинетику высвобождения нейромедиатора и Ca^{2+} -гомеостаз, являются митохондрии [82,87]. Энергия в виде АТФ и/или митохондриального мембранного потенциала используется на восстановление синаптических пузырьков (СП) и работу АТФаз (мембранных насосов), а митохондриальные каналы способны регулировать синаптическую пластичность [88]. Поскольку транспорт Glu и поддержание ионного гомеостаза являются высокоэнергетическими процессами, ишемия/гипоксия, оксидативный и нитрозативный стрессы существенным образом нарушают механизмы захвата Glu, его транспорта и влияют на нейротоксичность этого нейромедиатора [87].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ УСЛОВИЙ НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА, ВОЗНИКАЮЩЕГО ПРИ ИШЕМИЧЕСКИХ И ГЕМОРАГИЧЕСКИХ ИНСУЛЬТАХ

Эти условия имеют место при инсультах и приводят к повреждению нейронов и глиальных клеток. Повреждения, обнаруженные при воздействии высоких доз Glu и NO, в целом были сходными. Однако действие нитрозативного стресса было более значительным и ярко выраженным на варикозных расширениях аксонов пресинаптических нейронов (бутонах) [37–39]. Как Glu, так и NO-генерирующее соединение вызывают разрушение структуры нейронов, глиальных клеток и синапсов. Однако в усло-

виях токсического воздействия Glu и NO-генерирующего соединения имеет место не только повреждение мозжечка, но и активация компенсаторно-приспособительных механизмов [89–93]. Основными проявлениями действия компенсаторно-приспособительных механизмов были следующие: 1) пластические изменения структуры синапсов [39]; 2) слияние клеток-зерен [46]; 3) изменение структуры СП, которые являются основными поставщиками нейромедиатора Glu в мозг [44]; 4) активация астроцитов, образующих защитные структуры – «обкрутки» вокруг синапсов и их составляющих – бутонов и шипиков [43,45,94] и 5) формирование нейроглиальных контактов при повреждении нервных клеток [95]. Эти компенсаторно-приспособительные механизмы могут способствовать сохранению или восстановлению структуры и функции, как нейронов, так и глиальных клеток мозга. Ниже будут детально рассмотрены результаты последних исследований.

ПЛАСТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ СИНАПСОВ МОЗЖЕЧКА ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА И NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ

Термин «синапс» впервые был введен Ч. Шеррингтоном, хотя идею этого термина предложил в 1897 г. М. Фостер [96]. Именно синапсы являются той структурой в нервной системе, которая соединяет между собой отдельные нейроны в нейронную сеть и позволяет ей работать как единое целое [30,31,97]. Химический, медиаторный тип связи между нейронами доминирует в центральной нервной системе. Впервые термин «химический синапс» ввел Д. Хебб в конце 40-х гг. XX века [98]. «Химический синапс» согласно определению охватывает область контакта «пресинаптического бутона» аксона, в котором находятся везикулы с нейротрансмиттером, с постсинапсом или шипиком дендрита [97,98].

Изменения структуры синапсов параллельных волокон на дендритах клеток Пуркинье под влиянием высокой концентрации NO и Glu (от 1 мкМ до 1 мМ) наблюдали в работах [33, 39]. В этих работах было обнаружено изменение формы двух главных «составляющих» частей синапса – бутона и шипика. Бутон – это пресинаптическая зона синапса, содержащая пузырьки с нейромедиатором и митохондрии (рис. 1а), тогда как шипик – постсинаптическая зона синапса, где находятся активная зона и цистерны гладкого эндоплазматического ретикулума. В норме бутон равномерно заполнен синаптическими пузырьками и митохондриями (рис. 1а). На рис. 1б представлены два рядом

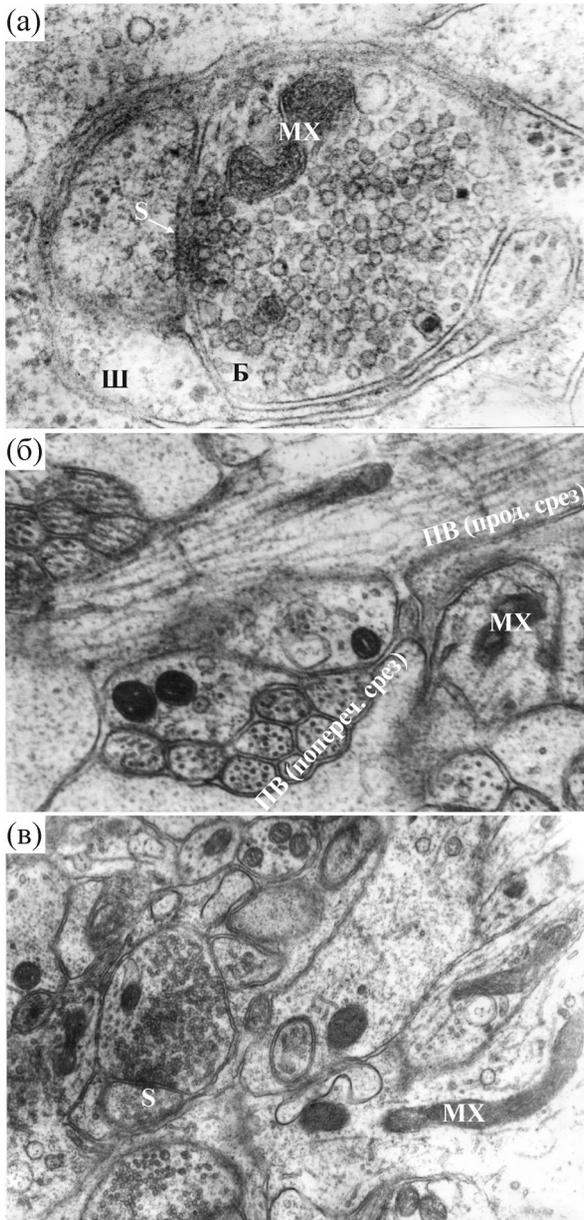


Рис. 1. (а) – В норме бутон равномерно заполнен синаптическими пузырьками и митохондриями (МХ). Составляющие двух частей синапса (S): бутон (Б) и шипик (Ш), расположенные почти параллельно («лицом к лицу», «face to face») друг другу. Бутон содержит синаптические пузырьки с нейромедиатором, равномерно расположенные по всему объему бутона и митохондрии, шипик – активную зону синапса и цистерны гладкого эндоплазматического ретикулума. (б) – Два рядом расположенных среза (продольный и поперечный) параллельных волокон (ПВ) – аксонов зернистых клеток, содержащих микротрубочки. (в) – Часть структуры мозжечка, представлен синапс.

расположенных среза (продольный и поперечный) параллельных волокон – аксонов зернистых клеток, содержащих микротрубочки. На рис. 1в представлен синапс мозжечка лягушки.

Известно, что в активной зоне синапса на мембране постсинаптического нейрона расположены Glu-рецепторы.

Установлено, что в присутствии избытка NO-генерирующего вещества (1 mM NaNO₂) увеличивается объем бутонов, инкапсулирующих шипики (рис. 2а), а в присутствии избытка Glu (1 mM) наблюдается увеличение объема шипиков (рис. 2б). Предполагается, что набухание шипиков и бутонов происходит вследствие дезэнергизации митохондрий (в некоторых случаях их отека и разрушения) и нарушения ионного гомеостаза, за счет снижения активности Ca²⁺ и Na⁺-АТФаз в условиях энергетического дефицита, вызванного разобщением окислительного фосфорилирования (или разрушения митохондрий) в присутствии избытка Glu или ингибирования оксидом азота (NO) электронно-транспортной цепи митохондрий в среде с избытком NO-генерирующего соединения [33,39]. В настоящее время NO рассматривают как объемный нейромедиатор, влияющий на механизмы синаптической пластичности [99].

В отдельных экспериментах при воздействии NO-генерирующего соединения бутон, содержащий синаптические пузырьки, «окутывает» шипик [33,39]. Структура шипика включает элементы эндоплазматического ретикулума, зону глутаматных рецепторов, которые принимают Glu, высвобождающийся из СП бутона в норме. При окутывании шипика бутонем с СП, содержащими глутамат, СП могут оказаться рядом с мембраной шипика, но не обязательно там, где имеет место их контакт в норме – имеется в виду, «зона высокой плотности Glu-рецепторов». В другом варианте: при действии Glu (1 mM, 1 ч) наблюдается окутывание бутона, содержащего СП, шипиком, который, по видимому, входит в более тесный контакт с бутонем не только в области активной зоны. Сам факт взаимодействия бутона и шипика, имеющий место при действии как Glu, так и NO свидетельствует о проявлении защитной реакции в ответ на повреждающее действие высоких доз того или иного нейромедиатора [33,39].

В других работах описаны взаимодействия между составными частями синапсов (шипиками и бутонями, с одной стороны, и глиальными клетками – с другой) [28,32,33]. В этом случае в растворе с Glu глиальная клетка «окутывает» шипик, а в растворе с NO-генерирующим веществом глиальная клетка окутывает бутон. Это свидетельствует о том, что медиаторы (Glu и NO), каждый по-своему, влияют на глиальные клетки [33]. Наблюдаемые морфологические изменения свидетельствуют о зависимости между

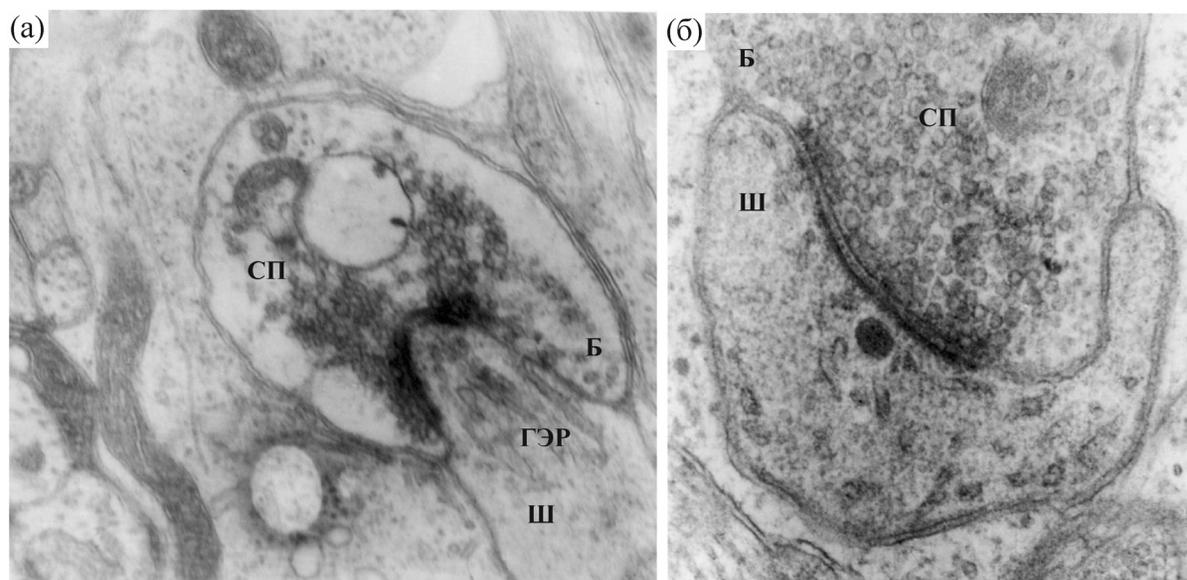


Рис. 2. (а) – В присутствии избытка NO-генерирующего вещества (1 мМ NaNO₂) увеличивается объем бутонов (Б), инкапсулирующих шипики (Ш); (б) – в присутствии избытка Glu (1 мМ) наблюдается увеличение объема бутонов, которые инкапсулируют шипики, а при избытке Glu наблюдается увеличение объема шипика, возможно, набухание (по краям шипика – просветленная цитоплазма). В бутоне синаптические пузырьки (СП) локализованы в основном вдоль границы с шипиком, в районе активной зоны синапса. В шипике представлены каналцы гладкого эндоплазматического ретикулума (ГЭР).

действием нейромедиатора (Glu или NO) и глияльными клетками [28,32,33]. Влияние NO на пластические свойства нейронов подтверждается и при инкубации мозга улитки с нитритами [100].

СЛИЯНИЕ «КЛЕТОК-ЗЕРЕН» МОЗЖЕЧКА ЛЯГУШКИ ПОД ВЛИЯНИЕМ GLU ИЛИ NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ

Зернистые клетки – это самые многочисленные клетки мозжечка. Действие на них высоких концентраций нейромедиаторов (1 мМ Glu или NO-генерирующего соединения) представляло большой интерес по многим причинам. Имеются данные, свидетельствующие о том, что в нервной системе, кроме синаптической и контактной электрической связи (щелевые и плотные контакты), возможно образование цитоплазматической межнейронной связи [101–105]. Считается, что характерными особенностями такой связи являются так называемые синцитиальные перфорации. Они формируются за счет повреждения структуры мембран, имеющих в просвете перфораций закругленные края и остатки мембраны. Под влиянием токсических доз Glu и NO (1 мМ) наблюдаются слияния зернистых клеток мозжечка с разным типом хроматина (рис. 3а,б) с фор-

мированием структур мембран [42,46], подобных тем, которые относят к синцитиальным перфорациям [101–105] (рис. 3в,г).

Известно, что при развитии инсульта основными факторами повреждения являются Glu-нейротоксичность, повышение концентрации Ca²⁺ [17–21,106], с которым связано повышенное образование активных форм азота – NO, NO₂ [4,11,12,24,25]. При действии Glu и NO-генерирующего соединения на структуру зернистых клеток мозжечка оказалось, что хроматин ядер, в норме представляющий плотные, грубые глыбки (рис. 3а), полностью либо частично дезинтегрируется. При действии Glu (рис. 3б) можно наблюдать полное разрушение, а под влиянием NO-генерирующего соединения появляется так называемый «хлопьевидный» хроматин (рис. 3в). Являются ли изменения структуры хроматина причиной слияния нейронов друг с другом (рис. 3г) или они представляют собой изменения, сопровождающие процессы слияния нервных клеток?

Этот вопрос в настоящее время остается открытым. Была прослежена последовательность процесса слияния нейронов. Вначале на каком-то одном участке происходит слияние мембран двух нервных клеток в одну, затем выпячивание этой слившейся мембраны в цитоплазму одной из клеток с образованием «пузыря». Последний («пузырь») отделяется, остав-

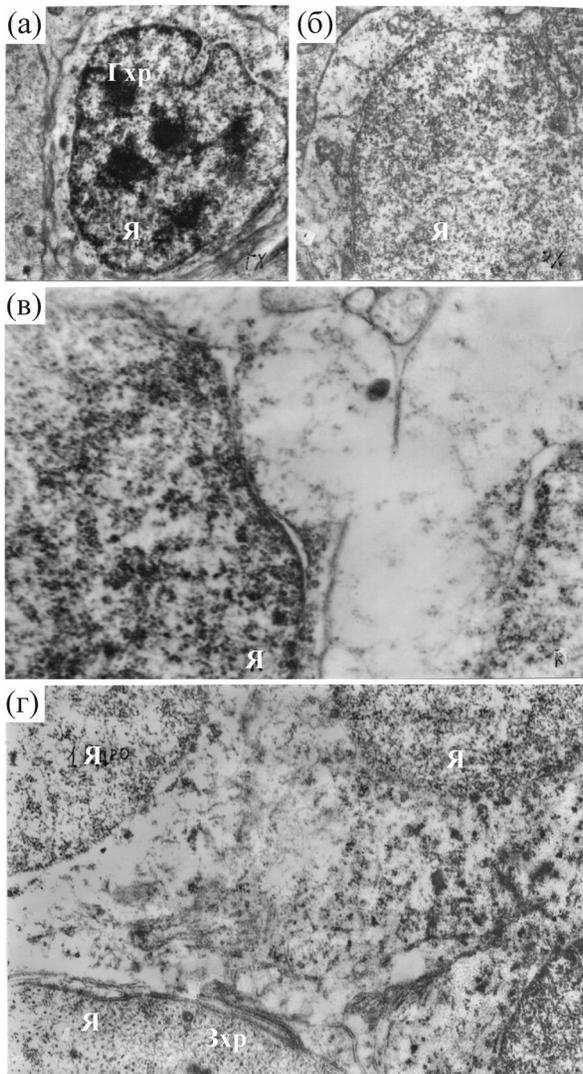


Рис. 3. Слияние зернистых клеток мозжечка под влиянием Glu (1 мМ) и NO-генерирующего соединения: (а) – норма, хроматин зернистых клеток представлен в виде больших плотных глыбок (Гхр); (б) – зернистый хроматин (Зхр) после действия глутамата; (в) – слияние двух зернистых клеток с Зхр в присутствии NO-генерирующего соединения, видна общая разорванная мембрана; (г) – слияние четырех зернистых клеток с Зхр. Я – ядра.

ля перфорацию («дырку») в мембране. Образование множества перфораций («дырок») в мембране, общей для двух клеток, приводит к их слиянию (рис. 3г). Токсическое воздействие NO (1 мМ) на клетки-зерна в основном повреждало хроматин до стадии хлопьевидного хроматина. Однако при этом также происходило слияние клеток-зерен.

Причиной слияния зернистых клеток также может быть повреждающее воздействие NO или NO₂, образующихся в этих условиях, на плазматические мембраны клеток. Эти вещества могут вступать во взаимодействие с ненасыщен-

ными жирными кислотами, входящими в состав липидов плазматических мембран. Если две, три или большее количество клеток оказываются рядом, то возможно объединение/слияние клеток вследствие взаимодействия поврежденных участков соседних клеток между собой. Таким образом, в условиях воздействия Glu и/или NO-генерирующего соединения происходит слияние зернистых клеток мозжечка и появление многоядерных образований с единой мембраной и цитоплазмой. Чаще всего, в этих случаях наблюдали образование трех-четырёх-ядерных кластеров (рис. 3г). По-видимому, образование таких многоядерных кластеров может быть «своеобразной» защитной реакцией в условиях воздействия высоких концентраций Glu или NO-генерирующего соединения, моделирующих развитие инсульта. Это предположение основано на том, что образующаяся общая мембрана многоядерного кластера может ограничивать выход внутриклеточных протеаз и фосфолипаз (после разрушения внутриклеточных структур) в межклеточное пространство, тем самым предотвращая дальнейшее повреждение мембран других нервных клеток.

Подсчет клеток с разным хроматином ядер показал, что под влиянием Glu соотношение клеток с частично деконденсированным хроматином к полностью деконденсированному хроматину составляет 1 : 9, а в случае действия NO-генерирующего соединения – 3 : 1. Эти данные свидетельствуют о том, что полностью деконденсированный хроматин преобладает при действии Glu и в меньшей степени – под влиянием NO-генерирующего соединения.

Подтверждением наших данных, свидетельствующих о возможности слияния нервных клеток по синцитиальному типу, являются работы О.С. Сотникова с соавторами [101–105]. В частности, они наблюдали слияние нейронов мозга у крысиных эмбрионов с образованием двуядерных нейронов. По мнению этих авторов, слияние нервных клеток может происходить по синцитиальному типу. Такого рода факты были обнаружены в культуре нервной ткани и раннем онтогенезе. Однако вместе с тем следует отметить, что в каждом случае причины слияния нервных клеток могут быть разными.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ СИНАПТИЧЕСКИХ ПУЗЫРЬКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ

Основная проблема передачи информации в мозге и, в частности, в мозжечке, как известно, связана с работой синапсов и синаптических пузырьков. Последние содержат, как указыва-

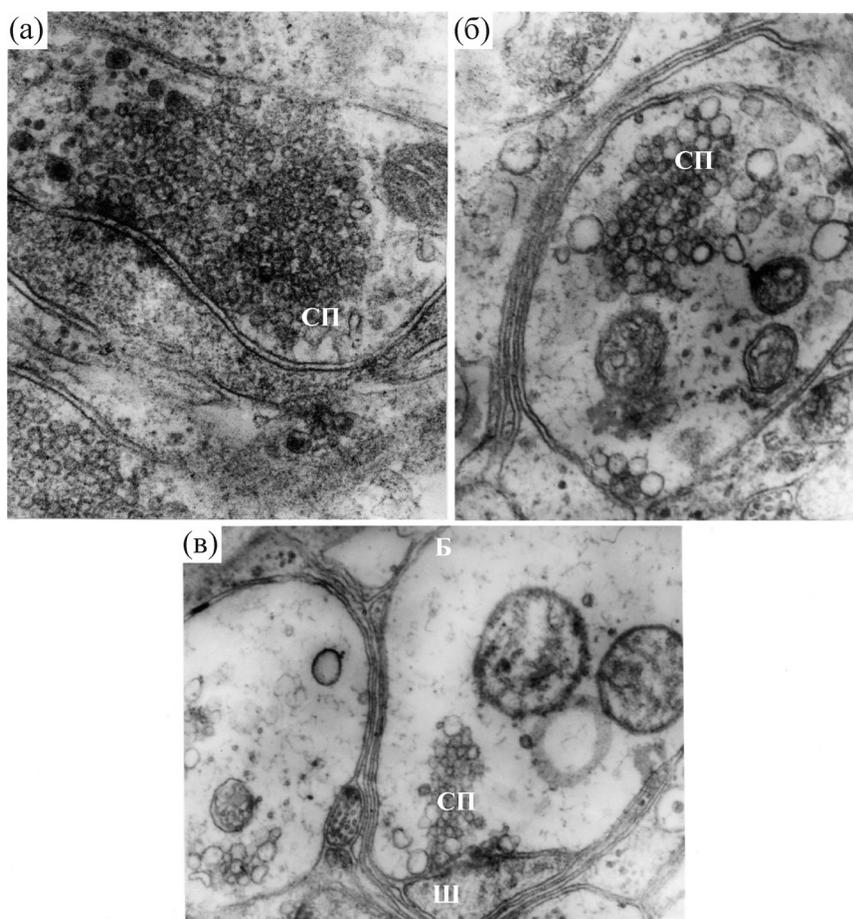


Рис. 4. Структура ботона в присутствии NO-генерирующего соединения: (а) – в норме, размер синаптических пузырьков (СП) от 50 до 60 нм, равномерное распределение СП в бутоне; (б) и (в) – при воздействии NO-генерирующего соединения (1 мМ NaNO₂) наблюдается повреждение структуры ботонных (Б), в двух синапсах видны группы разбухших СП и митохондрий.

лось выше, возбуждающий нейромедиатор – глутамат. В норме размер СП составляет приблизительно 60 нм (рис. 1а, 4а). В присутствии NO-генерирующего соединения (NaNO₂ в концентрации от 10 мкМ до 1,5 мМ) происходят изменения в структуре СП. Они меняют место своего расположения и могут образовывать кластеры (рис. 4б). При этом их размер не меняется. Картина изменяется при электрической стимуляции в присутствии NO-генерирующего соединения. При этом размер СП уменьшается с 60 до 40 нм. Из «мелких» СП (40 нм) с сохранившейся мембраной образуются плотные кластеры, в которых СП тесно сжаты, образуя подобие кристаллической решетки (рис. 4в). При этом наблюдается примыкание кластеров к активной зоне, выполняющей функцию закрепления СП [44]. Как известно, активная зона содержит белки, необходимые для слияния пресинаптической мембраны с мембраной СП. Каждый синаптический пузырек окружен липидной мембраной с погруженными

в нее транспортными белками, специфичными для каждого нейромедиатора (в нашем случае – Glu) [44]. В состав везикулярных мембран входят белки и фосфолипиды, их соотношение составляет 1 : 3. В составе фосфолипидов содержится 40% фосфотидилхолина, 10% холестерина и 5% инозитолфосфата [80]. Проведенное нами электронномикроскопическое исследование структуры СП при воздействии разных концентраций NO-генерирующего соединения (NaNO₂) показало, что его малые концентрации (10 мкМ) вызывают смещение СП со своих мест в бутоне с образованием кластеров и с сохранением своего размера. При этом могут наблюдаться группы СП, расположенные под углом друг к другу. Повышение концентрации NO от 1 до 5 мМ вызывало увеличение объема («разбухание») ботонных и СП. При этом было обнаружено, что «разбухшие» СП с одной стороны могли становиться плоскими («сплющиваться») и складываться в «упорядоченные стопки», а с другой – сливаться друг с другом,

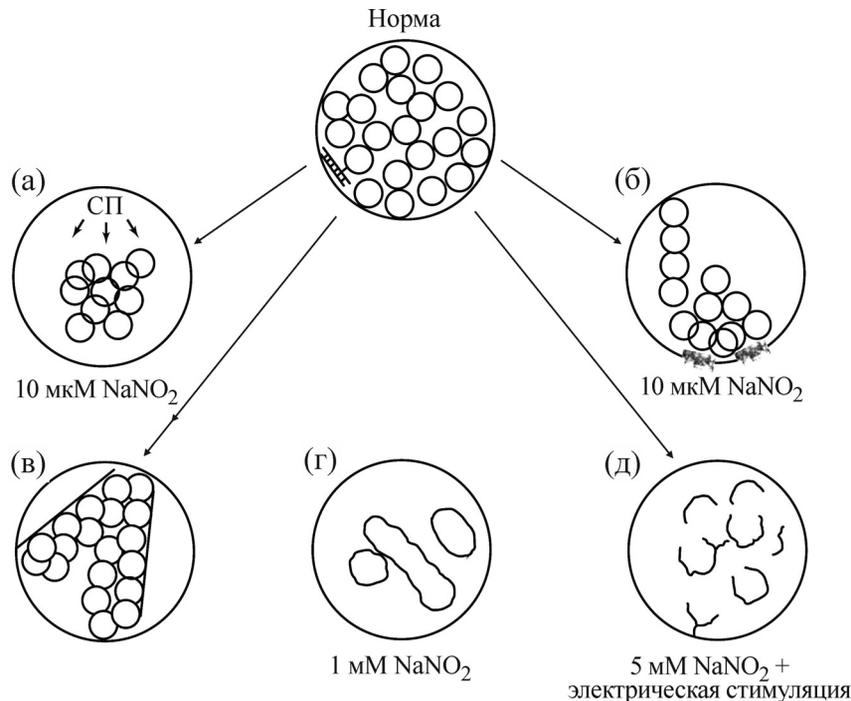


Рис. 5. Схема распределения синаптических пузырьков в бутоне при разных концентрациях NO-генерирующего соединения; (а) – норма, равномерное распределение СП (60 нм) в бутоне, (NaNO_2 10 мкМ); (б) – «мелкие» СП (25–27 нм), их контакт с активной зоной; (в) – плотная упаковка «мелких» СП в виде треугольников; отдельные цепочки из мелких СП направлены в сторону активной зоны; (г) – разбухшие, «кишкообразные» СП размером от 80 до 100 нм (1 мМ NaNO_2); (д) – полностью распавшиеся СП (5 мМ NaNO_2 + электрическая стимуляция).

торец к торцу, образуя «вытянутый, кишкообразный мешок». При этом имело место увеличение размеров СП до 120–130 нм (рис. 4в). Помимо стопок из разбухших СП с диаметром 120–130 нм были найдены стопки «сплюснутых» СП с размером 25–27 нм. Параллельно наблюдали СП с разрывом мембран и с потерей содержимого. Анализируя полученные результаты, можно предположить, что сохранению СП при высокой концентрации NO может способствовать образование «кишкообразных» структур, состоящих из «разбухших» СП, сохранивших свою мембрану (рис. 5). Наблюдаемое смещение СП (при малой концентрации Glu) можно объяснить распадом белков, скрепляющих СП с актином и микротрубочками в норме.

Высокие концентрации NO приводят в условиях инсульта к разрушению СП. Тем не менее, наблюдаемые изменения пространственного смещения СП, т.е. образование кластеров или «кишкообразных» структур, помогают сохранить мембрану пузырьков и, соответственно, в них – нейромедиатор Glu (рис. 4б,в, рис. 5). Эти результаты дают возможность предположить, что наблюдаемые структурные преобразования СП во время инсульта являются одним из компенсаторно-приспособительных механиз-

мов, позволяющих снизить токсическое воздействие Glu на нейроны и мозг в целом.

АУТОТИПИЧЕСКИЕ СЕПТАЛЬНОПОДОБНЫЕ КОНТАКТЫ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В МОЗЖЕЧКЕ ЛЯГУШКИ И ИХ ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ПРИ ПАТОЛОГИИ

Выше уже была дана характеристика астроцитам – одному из классов нейроглии [83,84,90,107,108]. К их основным функциям относятся опорная, трофическая и защитная [82–84,90,107]. Относительно недавно стало известно о тесной связи нервных клеток с глиальными [82–84,90,107,108], которые со своей стороны могут обеспечивать разнообразные обменные процессы нервных клеток и способствуют их быстрому восстановлению после травм и инфекций. Известно, что Glu, высвобождающийся из нейронов, вызывает повышение концентрации Ca^{2+} в астроцитах [82,109], которые включаются в процессы, связанные с работой синапсов, а именно синаптической пластичностью. Астроциты, помимо их трофической, опорной и защитной функций, могут участвовать в обработке и передаче информации [82]. Следует подчеркнуть, что важную роль в реализации основных функ-

ций нейроглии наряду с Glu также осуществляет молекула NO [7,11,12,65,94,95,110].

Как упоминалось выше, существует тесная взаимосвязь между нейронами и глиальными клетками [82–84,90,97,107]. Отростки глиальных клеток формируют глиальную сеть, которая модулирует работу нейрональной сети [97]. Важную роль в этих процессах играет гладкий эндоплазматический ретикулум, образующий непрерывный континуум (пространство) с наружной мембраной оболочки митохондрий [97]. Предполагается, что такой континуум обеспечивает туннелирование ионов Ca^{2+} , способствуя работе внутриклеточной системы сигнальной трансдукции в процессе синаптической передачи [97]. Основная последовательность событий в ходе этих процессов состоит в следующем. Glu, высвобождающийся из нейронов, влияет на повышение концентрации Ca^{2+} в астроцитах, что может, в свою очередь, вызывать выход этих ионов из астроцитов по механизму активного или пассивного транспорта [57,82]. Помимо этого, астроциты также могут, подобно нейронам, высвободить Glu и регулировать синаптическую активность, т.е. соответственно участвовать в определенных формах синаптической пластичности [75,82,90,111]. Кроме того, согласно нашим данным, астроциты мозжечка лягушки имеют два типа отростков, отличающихся по своей структуре. В одних отростках преобладает тип нитей цитоскелета, который состоит из глиального фибриллярного кислого белка, а в соседних – нити могут состоять из актина, виментина и некоторых других белков. Актиновые нити отвечают за движение астроцита. Если в отростках преобладают нити фибриллярного кислого белка, то, подобно актиновым, они могут обеспечить механическую силу астроцита и поддерживать его форму [38,44,45]. Кроме описанного типа отростков астроцитов существует и другой тип отростков астроцитов, у которых присутствуют преимущественно зерна гликогена [45,94]. Естественно, в каждом отростке присутствуют и нити, и зерна гликогена, но их соотношение, как правило, разное. Это дало нам возможность наблюдать два типа реакций астроцитов, структура отростков которых отличалась друг от друга либо преобладанием белковых нитей, либо зерен гликогена [45]. Показано, что гранулярные отростки, содержащие зерна гликогена, оставаясь неповрежденными, формировали «защитные» структуры вокруг поврежденных синапсов или их составляющих – шипиков и бутонов. При этом структура гранулярных отростков резко изменялась. Отросток превращался в узкий «жгут» с расстоянием между стенками в 20 нм. Кроме того, появлялись

поперечные мостики, связывающие стенки «жгута». На рис. ба,б представлены трех- и четырехрядная «обкрутки», образованные отростками глиальных клеток, содержащих гликоген. Такие измененные отростки-«жгуты», как правило, «обкручивали» поврежденные синаптические структуры, образуя плотную капсулу – «обкрутку», состоящую из четырех–пяти рядов [38,43,44]. «Обкрутка» могла образовываться вокруг отдельных бутонов, шипиков или даже синапса в целом. Подобного рода структурные преобразования глиальных отростков в «обкрутки» можно рассматривать, как защитную реакцию. Они предотвращают полное разрушение нейрональных элементов [38,44]. В процессе образования «обкруток» главную роль играет плазматическая мембрана глиальных отростков [38,43,44].

Известно, что Ca^{2+} -АТФза плазматической мембраны участвует в восстановлении структуры после «глутаматного удара» [18]. Данные литературы [18] свидетельствуют о сходстве в «поведении» глиальных отростков, содержащих гликоген, у разных животных. Например, у краба – беспозвоночного животного – нейроны, как правило, могут обкручиваться глиальными отростками даже в норме [58], тогда как у лягушки – позвоночного животного – такой процесс имеет место только при глубоком повреждении. Однако в обоих случаях «защитная структура», образованная глиальными отростками, не содержит миелина, но может обеспечивать сохранность проведения сигнала по аксону и в синапсе.

Важная роль астроцитов при нейрональных повреждениях была установлена в одной из недавних работ, где было показано, что при нейрональной дисфункции или хронической нейрональной патологии происходит активация астроцитов [60]. Сравнительный анализ повреждающего воздействия Glu и NO-генерирующего соединения на культуре зернистых клеток мозжечка [112–115] с результатами наших исследований по инкубации мозжечка с этими соединениями *in vitro* [28–33,37–46,65,81,94,95,110] показывает однотипные реакции у нейронов во всех исследованиях, включая модельные эксперименты на крысах линии Крушинского–Молодкиной [116–121]. Эти данные дают ответ на многие вопросы, которые возникают у врачей при клинических исследованиях детей с черепно-мозговой травмой, начиная от легкой травмы до тяжелой [122–126]. Имеются многочисленные исследования, свидетельствующие о важной роли пептидов и белков в защитном действии при гипоксии/ишемии, развитии геморрагического и/или ишемического инсультов [127–131]. Эти данные свидетельствуют о

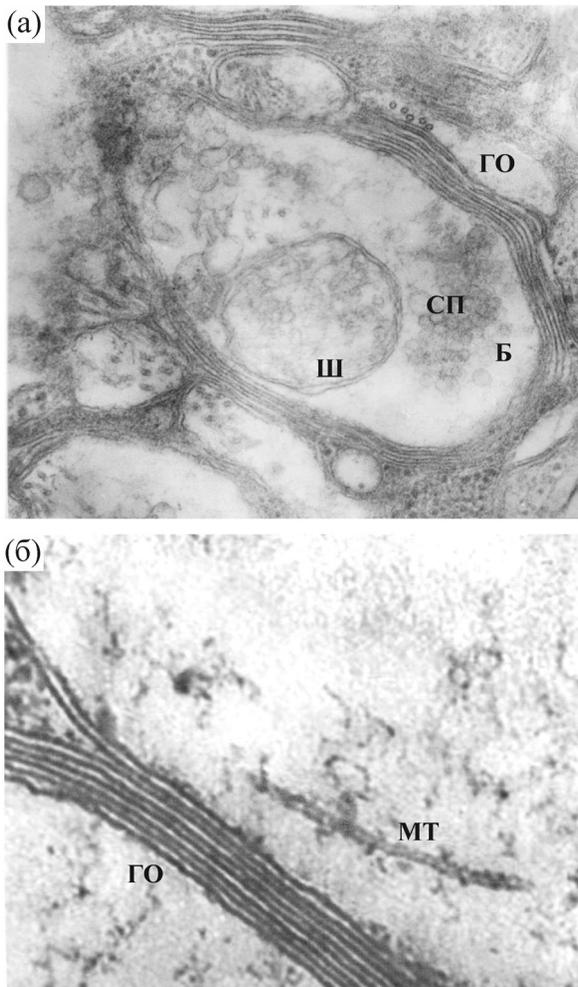


Рис. 6. Структурные преобразования глиальных отростков в «обкрутки» в присутствии NO-генерирующего соединения: (а) – четырехрядная «обкрутка», образованная отростком глиальной клетки (ГО), содержащим гликоген, окутывает поврежденный синапс; (б) – трехрядная «обкрутка», образованная отростком глиальной клетки с гликогеном. Рядом с «обкруткой» видна микротрубочка (MT).

том, что вещества пептидной природы, состоящие из аминокислот, играют важную роль в защите нервных клеток от патологии, связанной с ишемией/гипоксией, оксидативным и нитрозативными стрессами, в ходе которых образуются пероксинитриты и продукты их распада – NO₂ и OH-радикалы [122–131].

МЕЖНЕЙРОННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В МОЗЖЕЧКЕ ЛЯГУШКИ: ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ NO

Процесс обучения/забывания, как известно, связан с длительным усилением (долговременной потенциацией) или ослаблением (долговременной депрессией) передачи сигнала через си-

напсы. Участие NO в модуляции синаптической пластичности было обнаружено в работах [132–134]. Показано, что NO участвует в молекулярных механизмах пластичности в простых системах [100,134], это соединение необходимо как для формирования памяти, так и ее ингибирования («стирания») [100,134,135]. Нами было обнаружено, что низкочастотная стимуляция параллельных волокон в присутствии NO-генерирующего соединения приводит к появлению электронно-плотного осадка [41,45,95]. Стимуляция мозжечка без NO-генерирующего соединения или его инкубация в растворе Рингера в присутствии NO-генерирующего соединения, но без стимуляции, не вызывали появления осадка при равенстве всех прочих условий. При стимуляции мозжечка в присутствии NO-генерирующего соединения электронно-плотный осадок появлялся только в структурах с высокой метаболической активностью. В результате проведенной гистохимической реакции было установлено, что плотный осадок содержал ионы Ca²⁺. Поскольку метод электронной микроскопии (использование определенных фиксирующих и контрастирующих веществ) выявляет плотные белковые или белок-липидные структуры, можно предположить, что обнаруженный нами осадок связан именно с белковыми или белок-липидными комплексами, содержащими ионы Ca²⁺ (рис. 7). В контрольных препаратах при стимуляции параллельных волокон без NO-генерирующего соединения или инкубации в присутствии NO (без стимуляции) осадка в указанных выше структурах не наблюдали [41, 45,95]. Таким образом, локализация электронно-плотного осадка указывает на протекание активных процессов с участием эндогенного NO и Ca²⁺. В каких структурах образуется электронно-плотный осадок?

Реакцию на Ca²⁺ и электронно-плотный осадок наблюдали: 1) в ядрах зернистых и глиальных клеток, 2) на мембранах митохондрий, бутонов и синаптических пузырьков, 3) в активной зоне шипиков (месте локализации Glu-рецепторов) [39–43]. Кроме того, электронно-плотный осадок был выявлен в структурах, связанных с транспортом, а именно в микротрубочках аксонов и дендритов. Осадок наблюдали на «мостиках», пересекающих микротрубочки, которые при функциональной нагрузке переходят в активное состояние с повышенным энергетическим метаболизмом [41–46,81,94,95, 110]. Увеличение концентрации Ca²⁺ в поперечных мостиках микротрубочек и активация нейрональной NO-синтазы были обнаружены в астроцитах с использованием антител к нейрональной NO-синтазе [132]. Весьма вероятно, что механизм индукции пространственного перерас-

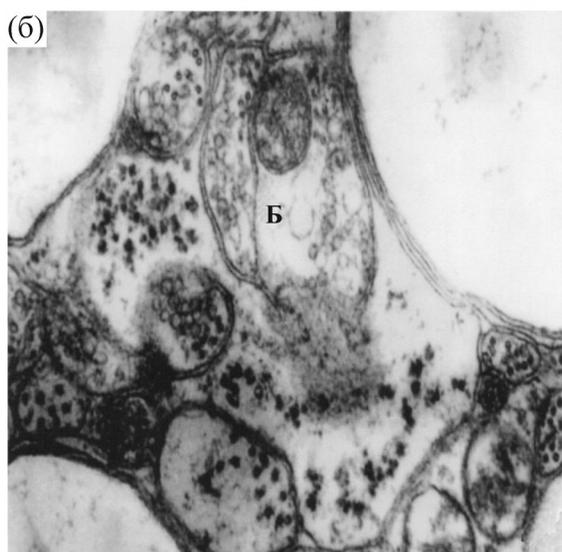
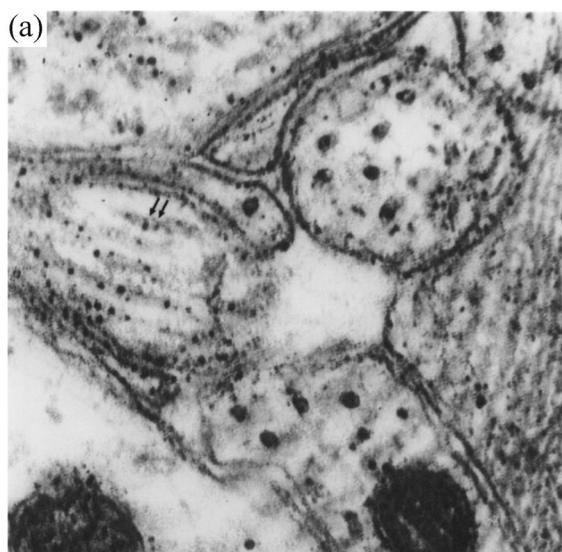


Рис. 7. Нервное волокно мозжечка. (а) – Гистохимическая реакция на Ca^{2+} . В поперечных мостиках микротрубочек обнаружен плотный осадок в виде локальных образований («точек»), содержащих ионы Ca^{2+} . (б) – Образование нейроглиального контакта в результате слияния поврежденной нервной клетки с глиальной клеткой, имеющей гранулы гликогена.

пределения белков из растворимого в мембранно-связанное состояние возможен с участием NO, запускающего сигнальную цепочку биохимических реакций, в которой активное участие принимают астроциты. Эти биохимические реакции идут по принципиально иному пути, нежели путь, связанный с активацией процессов, протекающих с участием АТФ, и процессом фосфорилирования белков.

Обнаруженные в нейронных структурах изменения в присутствии NO-генерирующего соединения можно рассматривать как проявление

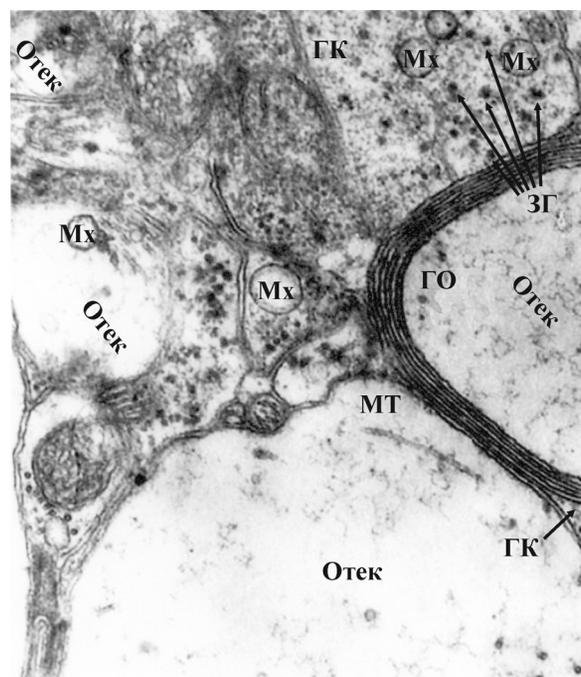


Рис. 8. Трехрядная глиальная обкрутка (ГО), ограничивающая зоны отека и повреждения нейронов. Начало образования третьего ряда отростком глиальной клетки указано стрелкой. К верхним рядам ГО примыкает глиальная клетка (ГК) с зернами гликогена (ЗГ). Указаны также отечные и разрушенные митохондрии (Мх) и микротрубочка (МТ).

одного из механизмов активации пути при передаче сигнала от зернистой клетки к клеткам Пуркинью. Особенно следует отметить реакцию на Ca^{2+} в мостиках микротрубочек, а также в мембранах митохондрий, которые при функциональной нагрузке переходят в активное состояние с повышенным энергетическим метаболизмом. Таким образом, низкочастотная стимуляция параллельных волокон в присутствии NO-генерирующего соединения приводит к повышению концентрации Ca^{2+} и появлению электронно-плотного осадка в структурах цепочки: зернистая клетка → аксон → синапс → клетка Пуркинью.

Как известно, Ca^{2+} является триггером нейрональных процессов, включая синаптическую передачу сигнала [18,20,21,81,133–135]. Литературные данные свидетельствуют о том, что при электрической стимуляции концентрация Ca^{2+} в бутоне увеличивается от 0,1 до 0,5 мкМ, тогда как для слияния мембраны синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной требуется уже около 100 мкМ Ca^{2+} [136]. Таким образом, литературные данные и результаты наших экспериментов свидетельствуют о том, что Ca^{2+} и NO участвуют в ряде нейрональных

процессов, которые могут быть связаны с обучением и запоминанием. По существующим представлениям эти процессы также связаны с синтезом Glu, транслокацией его в нервные окончания и синаптические пузырьки, а также могут быть сопряжены с участием их в синаптической передаче.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время изменения нейронов и глиальных клеток изучают и анализируют в присутствии высоких концентраций Glu и NO-генерирующих соединений потому, что ведущим патогенетическим фактором повреждения нейронов при инсультах является гиперстимуляция Glu-рецепторов. В ходе этого процесса происходит деэнергизация митохондрий, нарушается ионный гомеостаз, повышается внутриклеточная концентрация Ca^{2+} и активируются конститутивные NO-синтазы. При этом увеличивается содержание NO и продуктов их превращения, которые участвуют в механизме отрицательной обратной связи от постсинаптических нейронов к пресинаптическим, и влияют на биохимические процессы и морфологические изменения нейронов и глиальных клеток.

В обзоре проанализированы литературные данные и результаты собственных исследований, относящиеся к ультраструктурным изменениям одного из простейших по своей структуре мозжечка (мозжечка лягушки), наблюдающиеся в присутствии высоких доз глутамата (0,1–5 мМ Glu) и NO-генерирующего соединения (0,1–5 мМ $NaNO_2$). Эти концентрационные изменения Glu и NO-генерирующего соединения моделируют на мозжечке лягушки условия, характерные для ишемического и геморрагического инсультов в мозжечке человека. Анализ литературных данных и результатов собственных исследований позволил выявить самые ранние стадии структурных изменений, возникающих при инсульте. Во всех случаях повреждения плазматических мембран нейронов и/или глиальных клеток высокими концентрациями Glu и NO-генерирующим соединением в течение первого часа были обнаружены структурные изменения нервных и глиальных клеток, которые можно отнести к защитным или компенсаторно-приспособительным реакциям. Основными проявлениями действия этих механизмов были следующие: пластические изменения структуры синапсов; слияние клеток-зерен; изменение структуры синаптических пузырьков, которые являются основными поставщиками нейромедиатора Glu в мозге; активация астроцитов, образующих защитные структуры – «обкрутки» вокруг синапсов и их составляющих –

бутонов и шипиков; формирование нейроглиальных контактов при повреждении нервных клеток. Согласно развиваемым представлениям эти механизмы могут способствовать сохранению или восстановлению структуры и функции, как нейронов, так и глиальных клеток мозга, что хорошо согласуется с литературными данными [64,68,91–93,137–149].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ч. П. Ворлоу, М. С. Денис и Ж. Ван Гейн, *Инсульт. Практическое руководство для ведения больных* (С.-Петербург, 1998).
2. А. А. Мокрушин и Л. И. Павлинова, *Геморрагический инсульт. Механизмы повреждения нейронов и возможность восстановления их активности* (С.-Петербург, 2012).
3. А. Х. Хама-Мурад, Л. М. Павлинова и А. А. Мокрушин, *Успехи физиол. наук* **39**, 45 (2008).
4. В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина и В. Н. Швалев, *Успехи физиол. наук* **43**, 73 (2012).
5. В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, Н. В. Самосудова и Н. В. Захарчук, *Тихоокеанский мед. журн.* **3**, 37 (2017).
6. В. М. Черток и А. Е. Коцюба, *Тихоокеанский мед. журн.*, № 2, 17 (2012).
7. М. Ito, *Prog. Neurobiol.* **78**, 272 (2006).
8. В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, Н. В. Самосудова и др., *Евразийское научное объединение*, № 3 (25), 46 (2017).
9. В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина и Н. В. Самосудова, *Евразийское научное объединение*, № 4 (26), 73 (2017).
10. В. М. Черток и А. Г. Черток, *Тихоокеанский мед. журн.*, № 2, 72 (2016).
11. В. П. Реутов, *Успехи биол. химии* **35**, 189 (1995).
12. В. П. Реутов и Е. Г. Сорокина, *Биохимия* **63**, 1029 (1998).
13. С. Г. Калинин, *Тихоокеанский мед. журн.*, № 2, 42 (2016).
14. N. L. Cerminara, *J. Neurosci.* **30**, 16065 (2010).
15. J. Szentagothai, *Theor. Med.* **14**, 101 (1993).
16. В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, В. Е. Охотин и Н. С. Косицын, *Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих* (М., 1997).
17. А. М. Сурин, Л. Р. Горбачева и И. Г. Савинкова, *Биохимия* **79**, 196 (2014).
18. Т. П. Сторожевых, В. Г. Пинелис и Н. П. Винская, *Бюлл. эксперим. биологии и медицины* **135** (2), 162 (2003).
19. З. А. Сулина, *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* **1** (1), 10 (2007).
20. Л. Г. Хаспеков, *Автореф. дис. ... докт. биол. наук* (М., 1995).
21. Б. И. Ходоров, Т. П. Сторожевых и А. М. Сурин, *Биол. мембраны* **18**, 421 (2001).
22. К. С. Раевский, В. Г. Башкатова и А. Ф. Ванин, *Вестн. РАМН*, № 4, 1 (2000).

23. Е. И. Гусев и В. И. Скворцова, *Ишемия головного мозга* (М., 2001).
24. В. П. Реутов, Я. И. Ажипа и Л. П. Каюшин, Бюл. эксперим. биол. и медицины **9**, 299 (1978).
25. В. П. Реутов, Я. И. Ажипа и Л. П. Каюшин, Докл. АН СССР **241**, 1375 (1978).
26. В. П. Реутов, в сб. *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Материалы Международной конференции*, под ред. Е. Л. Глориозова (2015), сс. 133–135.
27. В. П. Реутов, в сб. *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Материалы Международной конференции*, под ред. Е. Л. Глориозова (2015), сс. 144–159.
28. Н. П. Ларионова, В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Л. М. Чайлахян, Докл. РАН **393**, 698 (2003).
29. Н. П. Ларионова, В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Л. М. Чайлахян, Докл. РАН **401**, 419 (2005).
30. Н. П. Ларионова, В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Л. М. Чайлахян, Морфология **129** (2), 53 (2006).
31. Н. П. Ларионова, В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Л. М. Чайлахян, Докл. РАН **432**, 276 (2010).
32. Н. П. Ларионова, Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Л. М. Чайлахян, Докл. РАН **369**, 836 (1999).
33. Н. П. Ларионова, Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Л. М. Чайлахян, Докл. РАН **376**, 701 (2001).
34. В. П. Реутов, Н. В. Самосудова, Н. П. Ларионова и Л. М. Чайлахян, *Новости мед.-биол. наук*, № 1, 57 (2004).
35. В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Н. А. Филиппова, Докл. РАН **426**, 410 (2009).
36. В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Н. А. Филиппова, *Нейроиммунология* **7** (1), 88 (2009).
37. Н. В. Самосудова, Н. П. Ларионова, В. П. Реутов и Л. М. Чайлахян, Докл. РАН **361**, 704 (1998).
38. Н. В. Самосудова и В. П. Реутов, *Биол. мембраны* **30** (1), 14 (2013).
39. Н. В. Самосудова и В. П. Реутов, *Морфология* **148** (5), 32 (2015).
40. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и А. Л. Крушинский, Бюл. эксперим. биологии и медицины **153**, 806 (2012).
41. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Н. П. Ларионова, *Цитология* **42**, 72 (2000).
42. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Н. П. Ларионова, *Известия ТГРУ*, № 4, 369 (2001).
43. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Н. П. Ларионова, *Морфология* **129** (2), 84 (2006).
44. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Н. П. Ларионова, Бюл. эксперим. биологии и медицины **146** (7), 13 (2008).
45. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Н. П. Ларионова, Бюл. эксперим. биологии и медицины **150** (8), 212 (2010).
46. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Н. П. Ларионова, *Морфология* **140** (4), 13 (2011).
47. О. Larsell, *Arch. Neurol. Psychiatr. (Chicago)* **58**, 580 (1937).
48. С. Sotelo, in *Proc. First Int. Symp. Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development*, ed. by R. Llinas (1969), p. 327.
49. Ю. И. Аршавский, И. М. Гельфанд и Г. Н. Орловский, *Мозжечок и управление ритмическими движениями* (М., 1984).
50. О. И. Бортник, *Неврология и нейрохирургия в Беларуси*, № 4, 1 (2009).
51. J. C. Eccles, *Brain Res.* **127**, 327 (1977).
52. J. C. Eccles and D. S. Faber, *Exp. Brain Res.* **13**, 54 (1971).
53. J. C. Eccles, R. Llinas, and K. Sasaki, *Exp. Brain Res.* **8**, 82 (1966).
54. J. C. Eccles, R. Llinas, and K. J. Sasaki, *Physiol.* **182**, 268 (1966).
55. M. Ito and M. Yoshida, *Exp. Brain Res.* **10** (1), 64 (1970).
56. M. Ito, M. Yoshida, and K. Obata, *Experientia*, **20** (10), 575 (1964).
57. С. Г. Калиниченко и П. А. Мотавкин, *Кора мозжечка* (М., 2005).
58. A. M. Fannon, D. Sherman, and G. Ilyina-Gragerov, *J. Cell Biol.* **129**, 189 (1995).
59. G. Fellin and G. Carmignot, *J. Physiol.* **59**, 3, (2004).
60. J. C. Furman, P. Sompol, and S. Kraner, *J. Neurosci.* **36** (50), 1502 (2016).
61. L. Herz and H. R. Zielke, *Trends Neurosci.* **27** (12), 735 (2004).
62. H. T. Kao, B. Porton, and S. Hilfiker, *J. Exp. Zool.* **285** (4), 360 (2000).
63. N. H. Murphy, L. A. Blatter, W. G. Wier, and J. M. Baraban, *J. Neurosci.* **132**, 672 (1995).
64. E. A. Newman, *Neuron Glia Biol.* **1** (3), 245 (2003).
65. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов и Н. П. Ларионова, Докл. РАН **336** (3), 406 (1994).
66. M. Nedergard, *Science* **263**, 1768 (1994)
67. I. Pasti, A. Volterra, T. Pozzan, and G. Carmignoto, *J. Neurosci.* **17**, 7817 (1997).
68. M. Simard and M. Nedergaard, *Neuroscience* **129** (4), 877 (2004).
69. A. Volterra and J. Meldoltsi, *Nat. Rev. Neurosci.* **6**, 626 (2005).
70. N. G. Wahlgren and N. Ahmed, *Cerebrovasc. Dis.* **17** (Suppl. 1), 53 (2004).
71. Н. В. Самосудова и В. П. Реутов, *Биол. мембраны* **30** (1), 14 (2013).
72. B. Short, *J. Cell Biol.* **188**, 2 (2010)
73. В. Н. Перфилова и И. Н. Тюренков, *Успехи физиол. наук* **47** (1), 80 (2016).
74. В. Н. Перфилова и И. Н. Тюренков, *Успехи физиол. наук* **47** (2), 98 (2016).
75. V. Gallo and C. Ghiani, *Trends Pharmacol. Sci.* **1** (7), 252 (2000).
76. L. Herz and H. R. Zielke, *Trends Neurosci.* **27** (12), 735 (2004).
77. N. P. Larionova, V. P. Reutov, and N. V. Savosudova, *Glia, Suppl.* **1**, 684 (2002).

78. O. Larsell, Arch. Neurol. Psychiatr. **58**, 580 (1937).
79. J. W. Olney, Neurotoxicology **3** (6), 659 (2002).
80. J. W. Olney, R. G. Sharpe, and R. D. Fergin, J. Neuropathol. Ex. Neurol. **31**, 464 (2003).
81. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов, Н. П. Ларионова и Л. М. Чайлахян, Докл. РАН **378**, 417 (2001).
82. R. D. Fields and B. Stevens-Graham, Science **298**, 556 (2002).
83. V. Alvarez-Maubecin, F. Garcia-Hernandez, J. Williaqms, and E. Van Bockstaele, J. Neurosci. **20**, 4091 (2000).
84. C. V. Anderson and R. A. Swanson, Glia, **32**, 253 (2000).
85. N. H. Murphy, L. A. Blatter, W. G. Wier, and J. M. Baraban, J. Neurosci. **132**, 672 (1995).
86. M. Simard and M. Nedergaard, Neuroscience **129** (4), 877 (2004).
87. А. М. Сурин, Л. Р. Горбачева, И. Г. Савинкова и др., Биохимия **79** (2), 196 (2014).
88. Y. M. Janumyan, C. Sansem, and A. Chattopadhyay, EMBO J. **22** (20), 5459 (2003).
89. G. A. Anderson, Stroke **39**, 42 (2008).
90. M. Vacigaluppi and D. Hermann, Sci. World J. **3** (8), 698 (2008).
91. T. Tacano, N. M. Oberheim, L. Cotrina, and M. Nedergaard, Stroke **40** (Suppl.), s8 (2009).
92. Y. Ueda, T. Doi, N. Tsuru, et al., Brain Res. **104** (2), 120 (2002).
93. A. Volterra and C. Steinhauser, Glia **47** (3), 249 (2004).
94. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов, Н. П. Ларионова и Л. М. Чайлахян, Цитология **47** (3), 214 (2005).
95. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов, Н. П. Ларионова и Л. М. Чайлахян, Морфология **131** (2), 53 (2007).
96. Д. К. Экклз, Физиология синапсов (М., 1966).
97. В. И. Попов, Н. И. Медведев, В. В. Рогачевский и др., Биофизика **48** (2), 289 (2003).
98. D. O. Hebb, *The organization of Behavior* (New York, 1949).
99. В. Е. Охотин, С. Г. Калиниченко и Ю. В. Дудина, Успехи физиол. наук **33** (2), 21 (2002).
100. Е. Л. Дьяконова и В. П. Реутов, Росс. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова **84** (11), (1998).
101. О. С. Сотников, В. В. Малашко и Г. И. Рыбакова, Докл. РАН **410** (1), 130 (2006).
102. О. С. Сотников, В. В. Малашко и Г. И. Рыбакова, Морфология **131** (2), 7 (2007).
103. О. С. Сотников, Синтициальная цитоплазматическая связь и слияние нейронов (Наука, СПб. 202, 2013).
104. О. С. Сотников, Л. Е. Фрумкина и А. К. Новиковская, Морфология **136** (2), 18 (2011).
105. О. С. Сотников, Л. Е. Фрумкина и А. А. Лактионова, Успехи физиол. наук **42** (4), 38 (2011).
106. N. V. Samosudova, V. P. Reutov, and N. P. Lariopova, in Proc. Int. Symp. "Biological motility: New trends in research" (Puschino, 2001), P. 126.
107. A. J. Barker and E. M. Ullian, Scientist **16** (1), 40 (2005).
108. M. A. Bhat, Curr. Opin. Neurobiol. **13** (5), 552 (2003).
109. H. Sayan, E. G. Ugurlu, A. Babul, et al., J. Neurosci. **114** (3), 349 (2004).
110. Н. В. Самосудова, В. П. Реутов, Н. П. Ларионова и Л. М. Чайлахян, Актуальные вопросы транспортной медицины **9** (3), 127 (2007).
111. N. A. Oberheim, X. Wang S. Goldman, and M. Nedergaard, Trends Neurosci. **29**, 547 (2006).
112. М. А. Салыкина, Е. Г. Сорокина, И. А. Красильникова и др., Бюл. эксперим. биологии и медицины **155** (1), 47 (2013).
113. Е. Г. Сорокина, В. П. Реутов и Н. П. Винская, Вести нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед.-биол. наук, № 2, 59 (2003).
114. Е. Г. Сорокина, В. П. Реутов, Я. Е. Сенилова и др., Бюл. эксперим. биологии и медицины **143** (4), 419 (2007).
115. Е. Г. Сорокина, В. П. Реутов и В. Г. Пинелис, Актуальные вопросы транспортной медицины **10** (4), 133 (2007).
116. В. Б. Кошелев, А. Л. Крушинский, В. С. Кузенков и В. П. Реутов, Новости мед.-биол. наук, № 1, 41 (2004).
117. А. Л. Крушинский, В. С. Кузенков, В. Е. Дьяконова и В. П. Реутов, Бюл. эксперим. биологии и медицины **150** (7), 38 (2010).
118. А. Л. Крушинский, В. С. Кузенков, В. Е. Дьяконова и В. П. Реутов, Журн. неврологии и психиатрии **114** (8), 21 (2014).
119. А. Л. Крушинский, В. С. Кузенков и В. П. Реутов, Новости мед.-биол. наук, № 1, 61 (2004).
120. А. Л. Крушинский, В. П. Реутов и В. С. Кузенков, Изв. РАН. Сер. биол., № 3, 329 (2007).
121. А. Л. Крушинский, В. П. Реутов и В. С. Кузенков, Актуальные проблемы транспортной медицины **10** (4), 117 (2007).
122. Е. Г. Сорокина, Ж. Б. Семенова и В. В. Алатырцев, Аллергология и иммунология **10** (2), 280 (2009).
123. Е. Г. Сорокина, Ж. Б. Семенова и Н. А. Базарная, Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова **108** (3), 67 (2008).
124. Е. Г. Сорокина, Ж. Б. Семенова и О. К. Гранстрем, Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова **110** (8), 25 (2010).
125. Е. Г. Сорокина, Ж. Б. Семенова и О. В. Карасева, в сб. *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Материалы Международной конференции*, под ред. Е. Л. Глориезова (2015), с. 139.
126. Е. Г. Сорокина, М. А. Черненко, В. П. Реутов и Ж. Б. Семенова, Евразийское научное объединение **1** (5), 55 (2016).
127. О. К. Гранстрем, Е. Г. Сорокина и М. А. Салыкина, Нейроиммунология **8** (1–2), 34 (2010).
128. Д. С. Есипов, О. В. Есипова и Т. В. Зиневич, Вестн. МИТХТ **7** (1), 59 (2012).
129. Д. С. Есипов, Е. В. Сидоренко и О. В. Есипова, Вестн. МИТХТ **5** (3), 69. (2010).

130. В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Н. А. Филиппова, Докл. РАН **426** (3), 410 (2009).
131. В. П. Реутов, Н. В. Самосудова и Н. А. Филиппова, Нейроиммунология **7** (1), 88 (2009).
132. M. Janumyan, C. Sansem, and A. Chattopadhyay, EMBO J. **22** (20), 5459 (2003).
133. П. М. Балабан и И. С. Захаров, *Обучение и развитие: общая основа двух явлений* (М., 1992).
134. П. М. Балабан и Т. А. Коршунова, Успехи физиол. наук **42** (4), 3 (2011).
135. А. В. Гурин, Успехи физиол. наук **28** (1), 53 (1997).
136. Д. Тейлор, Н. Грин и У. Стаут, *Биология* (Мир, М., 2004).
137. A. Volterra and J. Meldoltsi, Nat. Rev. Neurosci. **6**, 626 (2005).
138. N. G. Wahlgren and N. Ahmed, Cerebrovasc. Dis. **17** (Suppl. 1), 53 (2004).
139. В. Б. Кошелев, А. Л. Крушинский и В. С. Кузенков, Новости мед.-биол. наук, № 1, 41 (2004).
140. Е. Г. Сорокина, В. П. Реутов и О. К. Гранстрем, Нейроиммунология, № 1 (2), 137 (2003).
141. J. O. Lundberg, M. T. Gladwin, and A. Ahluwalia, Nat. Chem. Biol. **5** (12), 865 (2009).
142. В. Н. Швалева, В. П. Реутов, А. Н. Рогоза и др., Тихоокеанский мед. журн., № 1, 10 (2014).
143. В. Н. Швалева, В. П. Реутов, А. Н. Рогоза и др., Морфологические ведомости, № 1, 6 (2014).
144. А. Л. Крушинский, В. С. Кузенков, В. Е. Дьяконова и В. П. Реутов, Изв. РАН. Сер. биол., № 1, 77 (2015).
145. В. Н. Швалева, В. П. Реутов, В. Б. Сергиенко и др., Казанский мед. журн. **97** (4), 598 (2016).
146. N. V. Samosudova and V. P. Reutov, Neurosci. Behav. Physiol. **46** (7), 843 (2016).
147. В. Н. Швалева, А. Н. Рогоза, Н. А. Тарский и др., Тихоокеанский мед. журн., № 1, 42 (2017).
148. О. Е. Фадюкова, В. С. Кузенков, В. П. Реутов и др., Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова **90** (1), 89 (2005).
149. Е. Г. Сорокина, В. П. Реутов, О. К. Гранстрем и др., Вести нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед.-биол. наук, № 1, 18 (2002).

Ultrastructural Changes in the Frog's Brain in the Presence of High Concentrations of Glutamate and NO-generating Compound

N.V. Samosudova* and V.P. Reutov**

*Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences,
B. Karetny per. 19, Moscow, 127051 Russia

**Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences,
ul. Butlerova 5a, Moscow, 117485 Russia

The review summarizes published research findings and reports the results of our own studies on the morphology of neurons and glial cells in normal and in modeling the conditions observed in the human brain during strokes. Ultrastructural changes in one of the simplest circuitry of the cerebella (the cerebellum of the frog) in the presence of high concentrations of glutamate (0.1–5.0 mM) and NO-generating compound NaNO₂ (0.1–5.0 mM) are analyzed. The analysis and generalization of the results of these studies proved to be very relevant due to the fact that the leading pathogenetic factor of neuronal damage in strokes is hyperstimulation of glutamate receptors. The toxic effects of high concentrations of glutamate cause damage to the cerebellar neurons and glial cells. During this process, the mitochondria are de-energized, ionic homeostasis is disrupted, the intracellular Ca²⁺ concentration increases and constitutive NO synthases activate. This results in an increase in the content of NO and the products of its transformation, which are involved in a negative feedback mechanism from postsynaptic neurons to presynaptic cells, affecting the biochemical processes and inducing morphological changes in neurons and glial cells, accompanied by swelling of the nerve and glial cells. At the same time, the development of ultrastructural compensatory adaptive mechanisms that reduce the damaging effects of high concentrations of glutamate and NO-generating compounds is also noted.

Key words: circuitry of the cerebellum, granular and glial cells of the cerebellum, synapses; hemorrhagic and ischemic strokes; glutamate, nitrogen oxide, nitric oxide cycle