

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623305>

Ультраструктура нейрон-глиального взаимодействия в норме и экспериментальной патологии

Е.А. Шишкова*, В.В. Рогачевский

Институт биофизики клетки Российской академии наук, Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской Академии наук», Пущино, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Наработан многолетний опыт анализа синапсов и их глиального окружения в норме, в природных и экспериментальных моделях функциональной пластичности и развития патологии мозга. Однако большинство таких работ проводят электрофизиологическими методами в сочетании с флуоресцентным имиджингом, тогда как тонкая структура синапсов и окружающих их астроцитарных отростков неразрешимы методами световой и даже отдельными методами электронной микроскопии. Ввиду своей трудоёмкости исследования экспериментальной патологии мозга методами объёмной электронной микроскопии [1] до недавнего времени были сильно ограничены. Внедрение автоматизированных методов подготовки образцов и их анализа на основе машинного зрения и искусственного интеллекта значительно облегчает эту задачу.

В данном исследовании методами просвечивающей электронной микроскопии и 3D-реконструкций в Str. radiatum CA1 области гиппокампа крыс в хронической литий-пилокарпиновой модели эпилепсии показано снижение числа синапсов с увеличением их размеров наряду со снижением астроцитарной изоляции активных зон. Сочетание таких факторов, как снижение плотности глиальной изоляции увеличенных активных зон и, как следствие, облегчение диффузии нейротрансмиттера к активным синапсам может оказывать мультипликативный эффект на развитие эпилептиформной активности и эксайтотоксичности.

Это «упрощение» астроцитарной сети при эпилепсии сходно с таковым в 2/3 слое соматосенсорной коры мозга, по сравнению со слоем 1. При этом известно, что пирамидные нейроны слоя 2/3 потенциально способны к эпилептиформной активности при снижении тормозного влияния слоя 1, что позволяет использовать структурно-функциональные особенности верхних слоев коры в качестве природной клеточной модели развития эпилепсии.

Снижение Ca^{2+} -событий в отростках астроцитов в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии может быть связано с низкой буферной ёмкостью ионов Ca^{2+} гладкого эндоплазматического ретикула (ЭПР) и/или с нарушением передачи волны Ca^{2+} посредством щелевых контактов между астроцитарными отростками. Для анализа щелевых контактов необходимо высокое разрешение, а для визуализации цистерн гладкого ЭПР в перисинаптических отростках астроцитов — специальные методы его выявления.

Мы разработали оригинальные методы окраски гладкого эндоплазматического ретикула [2], что позволило количественно оценить щелевые контакты и цистерны ЭПР в астроцитарных сетях в 1 и 2/3 слоях соматосенсорной коры. Площадь щелевых контактов в пересчёте на объём астроцита в слое 1 в 2 раза превышала значения в слое 2/3. Зеркальные отношения были получены для объёма гладкого ЭПР: в слое 2/3 суммарный объём цистерн ретикула в пересчёте на объём астроцитарных отростков в ткани в 2 раза превышал значения в слое 1 [3]. При этом в эпилепсии мы наблюдаем двукратное увеличение площади отдельного астроцитарного щелевого контакта на фоне снижения кальциевых событий.

Полученные результаты позволяют предполагать существование в норме баланса между буфером ионов Ca^{2+} (гладким ЭПР) и щелевыми контактами, нарушение которого могло бы способствовать развитию судорожных состояний.

Ключевые слова: перисинаптические астроцитарные отростки; гладкий эндоплазматический ретикулум; соматосенсорная кора; гиппокамп; эпилепсия; просвечивающая электронная микроскопия; 3D-реконструкция.

Как цитировать:

Шишкова Е.А., Рогачевский В.В. Ультраструктура нейрон-глиального взаимодействия в норме и экспериментальной патологии // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 558–561. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623305>

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-34-90068.

Рукопись получена: 14.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Peddie C., Genoud C., Kreshuk A., et al. Volume electron microscopy// Nature Reviews Methods Primers. 2022. Vol. 2. P. 51. doi: 10.1038/s43586-022-00131-9
2. Shishkova E., Kraev I., Rogachevsky V. Evaluation of Oolong Tea Extract Staining of Brain Tissue with Special Reference to Smooth Endoplasmic Reticulum // Biophysics. 2022. Vol. 67. P. 752–760. doi: 10.1134/S0006350922050177
3. Шишкова Е.А., Рогачевский В.В. Два субкомпартамента гладкого эндоплазматического ретикулума в перисинаптических отростках астроцитов: Ультраструктура и распределение в синапсах гиппокампа и неокортекса // Биофизика. 2023. Т. 68, № 2. С. 320–333. doi: 10.31857/S0006302923020126

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* Е.А. Шишкова; адрес: Российская Федерация, 142290, Пущино, ул. Институтская, д. 3; e-mail: shishkova@neuro.nnov.ru

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623305>

Ultrastructure of neuron-glia interaction in the norm and experimental pathology

E.A. Shishkova*, V.V. Rogachevsky

Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Federal research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences", Pushchino, Russian Federation

ABSTRACT

Long-term experience was gained in analyzing synapses and their glial surroundings in normal, natural, and experimental models of functional plasticity and brain pathology development. However, most studies in this area rely on electrophysiological techniques combined with fluorescent imaging. Notably, fine synapse structure and astrocytic processes cannot be resolved using light or some electron microscopy techniques. Studies on experimental brain pathology using volume electron microscopy methods [1] were previously restricted due to their high labor intensity. However, automated methods for sample preparation and analysis, using machine vision and artificial intelligence, significantly simplified this task.

Using transmission electron microscopy methods and 3D reconstructions, this study examined the Str. radiatum CA1 hippocampal region of rat brains in a chronic lithium-pilocarpine model of epilepsy. The results indicate a decrease in synaptic number along with an increase in their size and a reduction in astrocytic isolation of the active zones. A decrease in glial ensheathment of enlarged active zones and facilitation of neurotransmitter diffusion to active synapses may have a multiplicative effect on epileptiform activity growth and excitotoxicity.

The simplification of the astrocytes meshwork in the somatosensory cortex's layer 2/3 is comparable to that of layer 1. This decrease in layer 1's inhibitory action enables pyramidal neurons in layer 2/3 to potentially exhibit epileptiform activity. Thus, the superficial cortical layers' structural-functional aspects can be used as a natural cellular model in epilepsy development studies.

Reduction of Ca^{2+} events in astrocyte processes in lithium-pilocarpine induced epilepsy may result from the low buffer capacity of Ca^{2+} ions in the smooth endoplasmic reticulum (sER) and/or impaired Ca^{2+} wave transmission through the gap junctions between astrocytic processes. High resolution is necessary to analyze the gap junctions, and special methods are required for sER visualization in perisynaptic astrocytic processes.

We developed original sER staining methods [2] to quantitatively evaluate gap junctions and sER cisternae within astrocytic meshworks in layers 1 and 2/3 of the somatosensory cortex. In layer 1, the area of gap junctions in relation to the volume of an astrocyte was twice as high as in layer 2/3. The proportion of sER volume differed between layer 1 and layer 2/3 tissues. Specifically, the total sER cisternae volume in layer 2/3 was twice as high as in layer 1, relative to the volume of astrocytic processes [3]. Additionally, a doubling of single astrocytic gap junction area concomitant with decreased calcium events was observed.

The results suggest a normal balance between Ca^{2+} stores (sER) and gap junctions, whose disruption may contribute to the development of seizures.

Keywords: perisynaptic astrocytic processes; smooth endoplasmic reticulum; somatosensory cortex; hippocampus; epilepsy; transmission electron microscopy; 3D reconstruction.

To cite this article:

Shishkova EA, Rogachevsky VV. Ultrastructure of neuron-glia interaction in the norm and experimental pathology. *Genes & Cells*. 2023;18(4):558–561. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623305>

ADDITIONAL INFORMATION

Funding sources. This study was supported by RFBR, project No. 20-34-90068.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, and final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Received: 14.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

REFERENCES

1. Peddie C, Genoud C, Kreshuk A, et al. Volume electron microscopy. *Nature Reviews Methods Primers*. 2022;2:51. doi: 10.1038/s43586-022-00131-9
2. Shishkova E, Kraev I, Rogachevsky V. Evaluation of Oolong Tea Extract Staining of Brain Tissue with Special Reference to Smooth Endoplasmic Reticulum. *Biophysics*. 2022;67:752–760. doi: 10.1134/S0006350922050177
3. Shishkova E, Rogachevsky V. Two subcompartments of the smooth endoplasmic reticulum in perisynaptic astrocytic processes: ultrastructure and distribution in hippocampal and neocortical synapses. *Biophysics*. 2023;68:246–258. doi: 10.1134/S0006350923020215

AUTHORS' CONTACT INFO

* E.A. Shishkova; address: 3 Institutskaya street, 142290 Pushchino, Russian Federation; e-mail: shishkova@neuro.nnov.ru