

---

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ  
СТАТЬИ

---

---

**ИЗМЕНЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ АСТРОЦИТАРНЫМИ  
ОТРОСТКАМИ И СИНАПТИЧЕСКИМИ ОКОНЧАНИЯМИ  
ПРИ ГЕНЕРАЦИИ ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ**

© 2019 г. З. Н. Журавлева<sup>1, \*</sup>, Г. И. Журавлев<sup>2</sup>, Е. И. Самохина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия*

<sup>2</sup>*Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия*

\*E-mail: zinzhur@mail.ru

Поступила в редакцию 26.04.2018 г.

После доработки 01.04.2019 г.

Принята к публикации 03.04.2019 г.

Цель настоящей работы заключалась в сравнении структурной организации возбуждающих синаптических контактов в интраокулярных септальных трансплантах, проявляющих нормальную и эпилептиформную активность. Работа выполнена на крысах породы Вистар. В качестве донорского материала для трансплантации служила септальная область мозга, выделенная из 17-дневных плодов крыс. Через 3 мес. после операции проводили тестирование электрофизиологических свойств нейротрансплантатов, используя кратковременную стимуляцию одиночными электрическими импульсами. По результатам тестирования трансплантаты разделили на две группы: с нормальной и эпилептиформной активностью. Микроскопическое изучение нейротрансплантатов из обеих групп показало, что нервные и глиальные клетки, а также нейропил, состоящий из аксонов, дендритов, синаптических окончаний и астроцитарных отростков, были хорошо дифференцированы. Аксо-дендритные и аксо-шиповые синаптические окончания рассматривались как трехчастные структурные комплексы (*tripartite synapses*), в состав которых входили не только пре- и постсинаптические компоненты, но и окружающие их отростки астроцитов. Большинство из них имели морфологические признаки возбуждающих контактов с четко выраженными постсинаптическими уплотнениями, размер которых считается коррелятом эффективности нервной передачи. Морфометрический анализ таких синапсов из функционально разных типов трансплантатов не выявил достоверной разницы в протяженности постсинаптических уплотнений, а также в площади сечения и периметре пресинаптических бутонов. В то же время были обнаружены большие различия в степени окружения синапсов астроцитарными отростками. В трансплантах, характеризующихся эпилептиформной активностью, доля перисинаптических отростков была в 1.8 раз ниже, чем в контроле. Полученные данные свидетельствуют о том, что пресинаптические отростки астроцитов первыми реагируют на электрическую стимуляцию и инициируют развитие эпилептиформной активности. Предполагается, что уменьшение астроцитарного покрытия возбуждающих синапсов способствует распространению нейромедиаторов по межклеточным пространствам и вовлечению соседних нейронов в синхронизованную нейрональную активность.

*Ключевые слова:* интраокулярный нейротрансплантат, септум, эпилептиформная активность, ультраструктура, синапс, астроцитарный отросток, морфометрия

DOI: 10.1134/S0869813919060116

Изменения в структуре и функции нервных и глиальных клеток при эпилептической активности мозга уже достаточно хорошо изучены. При эпилепсии происходит гибель нейронов, нарушение доменной организации астроцитов, реактивный астроглиоз и значительное увеличение промежуточных глиофиламентов. В сохранившихся нейронах наблюдается реорганизация нервных отростков: аберрантное ветвление аксонов, исчезновение дендритных шипиков и дегенерация синаптических терминалей [1–3]. Однако такие исследования обычно проводятся на отделах мозга, уже сильно измененных судорожной активностью в результате воздействия хемоконвульсантов или электрических стимулов. При этом неизученными остаются вопросы о субмикроскопических отклонениях в нервной ткани при инициации эпилептических состояний. Кроме того, в целом мозге сложно идентифицировать эпилептогенные фокусы, с которых распространяется патологическое возбуждение. Поэтому многие данные о генерации и предотвращении судорожной активности на клеточном уровне получены при моделировании патологических очагов *in vitro* [4–7]. В настоящей работе в качестве модели для изучения клеточных и субклеточных механизмов развития эпилептогенных фокусов использованы интраокулярные нейротрансплантаты, развивающиеся в передней камере глаза. Нейроны в трансплантатах, функционируя изолированно от ЦНС в условиях жесткого дефицита естественных афферентных и эфферентных влияний, формируют ауто-синаптические связи или атипично контактируют с соседними нервными клетками. В электрофизиологических исследованиях аналогичных интраокулярных нейротрансплантатов гиппокампа и септальной области мозга обнаружена повышенная возбудимость и легкая провокация эпилептиформных разрядов [8]. Однако в гиппокампе, имеющем плотно упакованный слой пирамидных нейронов, эпилептиформная синхронная активность может быть обусловлена коннексин-содержащими целевыми контактами между нервными клетками без участия глутамат-опосредованного возбуждения [9]. Чтобы сконцентрировать внимание на синаптических процессах и исключить возможность генерации патологической активности за счет электротонических коммуникаций между близко расположенными нервными клетками, в качестве экспериментальной модели нами были выбраны трансплантаты септальной области, в которой нейроны располагаются диффузно и не формируют плотных слоев.

Основным возбуждающим нейромедиатором в септальной области мозга, как и в большинстве других отделов ЦНС, является глутаминовая кислота [10], а морфологическим коррелятом возбуждения – синапсы I-го типа, имеющие асимметричные активные зоны с выраженными электронными уплотнениями с постсинаптической стороны [11]. По современным представлениям в состав возбуждающих синаптических комплексов необходимо также включать окружающие их отростки астроцитов, которые контролируют уровень экстраклеточного глутамата [12–14]. Цель настоящей работы заключалась в сравнении ультраструктурной организации синаптических контактов в интраокулярных септальных трансплантатах, проявляющих нормальную или эпилептиформную активность. Для этого проводилось морфометрическое изучение трехчастной организации возбуждающих синаптических окончаний (*tripartite synapses*) в интраокулярных нейротрансплантатах септум.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для интраокулярной трансплантации в ПКГ использовали лабораторных крыс породы Вистар, содержащихся в стандартных условиях институтского вивария. Эксперименты проводили с соблюдением требований к работе с животными (Директива 2010/63/EU) и рекомендаций Комиссии по биоэтике ИТЭБ РАН. Для получения донорского материала использовали самок на 17-й день беременности, которым под глубоким нембуталовым наркозом и дополнительной местной анесте-

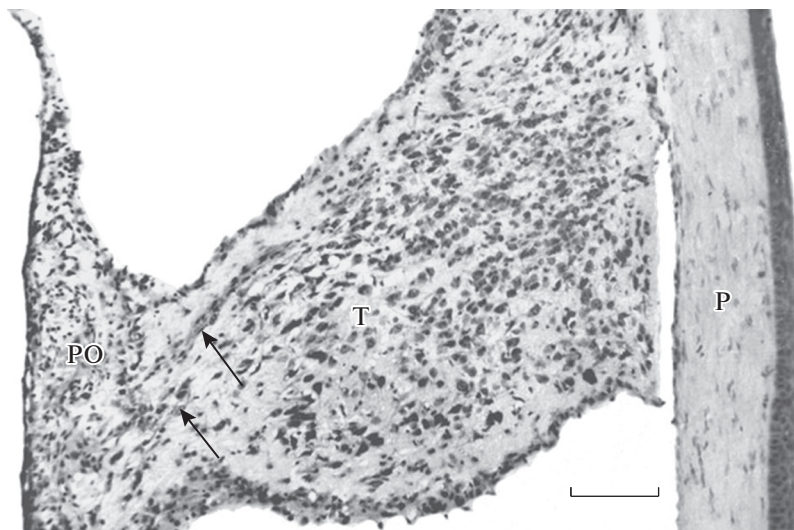
зией 2.0%-ным раствором новокаина делали кесарево сечение, извлекали плоды и помещали их в стерильный физиологический раствор. Под бинокулярной лупой выделяли кусочки септальной области мозга и сохраняли в питательной среде Игла до имплантации в переднюю камеру глаза. Реципиентами служили крысы-самцы той же породы, наркотизированные парами эфира. За 15 мин до операции реципиентам капали в глаз 1.0%-ный раствор атропина для расширения радужной оболочки и 1–2 капли дикаина для местного обезболивания. Имплантацию кусочков донорской ткани в переднюю камеру глаза производили через небольшой разрез в роговице с помощью пипетки Microman.

Через 3 мес. после операции трансплантаты вместе с кусочками радужной оболочки выделяли из передней камеры глаза и помещали в экспериментальную камеру с проточным раствором Рингера–Кребса для тестирования их электрофизиологических свойств. Электрическую стимуляцию производили одиночными (не более 10) импульсами, для чего устанавливали нихромовые электроды на границе трансплантата и радужки. Регистрацию локальных потенциалов и мультисклеточной активности проводили вольфрамовыми микроэлектродами. По результатам тестирования трансплантаты разделили на 2 группы в зависимости от типа активности – нормальная (контроль) или эпилептиформная. В контрольной группе ( $n = 3$ ) ответы представляли собой одиночные вызванные потенциалы с латентным периодом 3–7 мс; в экспериментальной группе ( $n = 3$ ) ответы были в виде повторяющихся множественных разрядов, следующих с интервалом 5–20 мс. Каждый эксперимент продолжался не более 5–7 минут. Электрофизиологическое тестирование трансплантатов было проведено А.Г. Брагиным.

Для микроскопического исследования трансплантаты фиксировали 2.5%-ным раствором глутарового альдегида. Изучение общего вида проводили на гистологических срезах, окрашенных крезилвиолетом по Нисслю. Трансплантаты, предназначенные для электронной микроскопии, разрезали на кусочки не более 0.8–1.0 мм<sup>3</sup>, дофиксировали 1.0%-ным раствором четырехоксида осмия, заливали в эпоновые блоки и изготавливали ультратонкие срезы на ультратоме LKB (Швеция). Детально подготовка образцов описана ранее [15, 16]. Ультраструктурное исследование проводили на электронном микроскопе JEOL JEM 100B (Япония). Для морфометрического анализа из обеих экспериментальных групп выбирали не менее 100 микроизображений синаптических окончаний, преимущественно локализованных на дендритных шипиках и имеющих четкие ультраструктурные признаки возбуждающих контактов: асимметричные активные зоны с выраженными плотностями со стороны постсинаптических элементов [11]. Микрофотографии оцифровывали, сохраняли в виде компьютерных файлов и анализировали с помощью программы UTHSCSA Image Tool. Сравнение синапсов производили по следующим параметрам: полный периметр и площадь сечения пресинаптической терминали (Т), протяженность отростка астроцита, прилегающего к терминали (А), длина постсинаптического уплотнения (ПСУ). Степень развития перисинаптической глии (Ка) вычисляли как отношение протяженности астроцитарного отростка (А) к периметру терминали (Т). Достоверность различий определяли по критерию *t*-Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

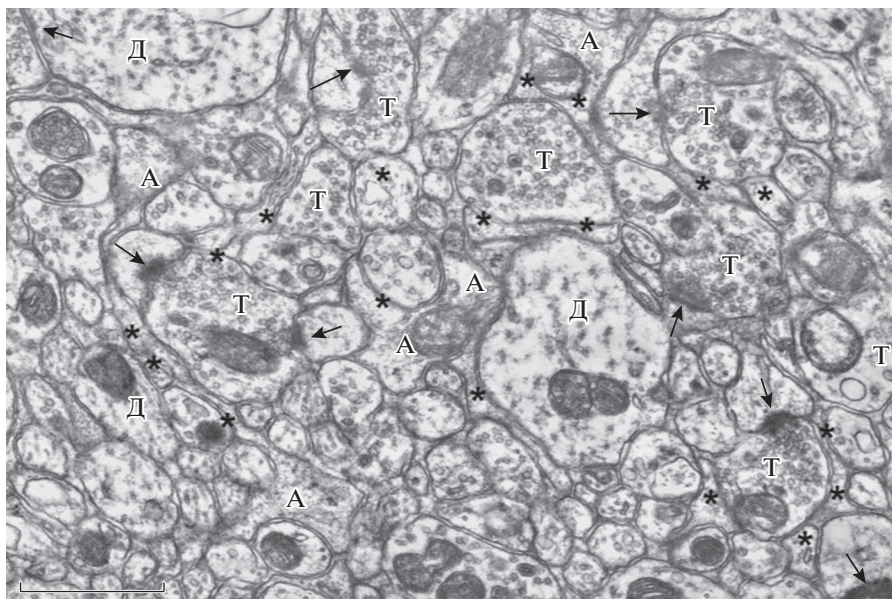
На гистологических срезах интраокулярные трансплантаты септума представляли собой клеточные образования, расположенные в передней камере глаза между роговицей и радужной оболочкой. Из радужки в нейротрансплантаты врастали крупные кровеносные сосуды с широкими периваскулярными пространствами (рис. 1). Ранее было показано, что в глубине трансплантированной ткани стенки сосудов становятся тоньше и постепенно приобретают морфологические черты, свойственные



**Рис. 1.** Общий вид интраокулярного трансплантата септальной области мозга крысы. Окраска по Нислю. Т – трансплантат; РО – радужная оболочка; Р – роговица. Масштаб: 1.0 мм.

капиллярам ЦНС, обладающим гематоэнцефалическим барьером [15]. Нервные и глиальные клетки в септальных трансплантатах распределялись диффузно, без какой-либо ориентации. Нейроны были полностью дифференцированы, имели крупные, светлые ядра с интенсивно окрашенными ядрышками и обширную цитоплазму, содержащую глыбки нислевского вещества.

По ультраструктурным характеристикам нейроны и глиоциты также соответствовали полноценным, зрелым клеткам, цитоплазма которых содержала все необходимые органеллы. Сложно организованные нейропиле области трансплантатов состояли из взаимосвязанных глиальных отростков, аксонов, дендритов и синаптических окончаний. Глиальный компонент был представлен отростками астроцитов, в некоторых из которых присутствовали глиофиламенты. Большинство синаптических соединений в нейропиле имели четкие признаки возбуждающих контактов: с пресинаптической стороны располагались светлые синаптические везикулы диаметром около 35–40 нм, а с постсинаптической стороны под плазматической мембраной наблюдались выраженные скопления электронно-плотного материала (рис. 2). Начиная с классических работ Грея [11], выполненных на неокортексе, такие структурные особенности синапсов и в других отделах ЦНС ассоциируют с глутаматергической нейротрансферацией [17, 18]. В интраокулярных нейротрансплантатах септум из обеих экспериментальных групп синаптические контакты такого типа обнаруживались как на дендритных шипиках, так и на тонких дендритных ветвях. На визуальном уровне принципиальных структурных различий между многочисленными синаптическими связями в трансплантатах с нормальным или патологическим типом функциональной активности не было обнаружено. В тех и других группах нейротрансплантатов встречались синапсы, имеющие относительно крупные и достаточно мелкие пресинаптические бутоны. В то же время в эпи-трансплантатах чаще наблюдались множественные активные зоны, когда на одном шипике заканчивались по 2–3 терминали и, наоборот, с одним аксональным бутоном формировали синаптические связи 2–3 дендритные веточки или головки дендритных шипиков. Кроме того, многие синаптические контакты в них имели активные зоны перфорированного типа. Эти отличительные особенности трансплантированной ткани,



**Рис. 2.** Нейропилная область в интраокулярном трансплантате сетчатки. Возбуждающие синаптические контакты обозначены стрелками, тонкие перисинаптические астроцитарные отростки — звездочками. А — более крупные отростки астроцитов; Д — дендриты; Т — синаптические терминалы. Масштаб: 0,5 мкм.

характеризующейся патологической активностью, находятся в соответствии с данными электрофизиологов о гиперактивности нейронов, развивающихся в передней камере глаза [8]. Другими исследователями также показано, что активные зоны с перфорациями постсинаптических плотностей экспрессируют больше возбуждающих рецепторов и являются более эффективными [19, 20].

Перисинаптические глиальные отростки, в разной степени окружающие синаптические профили, имели извилистые очертания и как бы заполняли пространства между нервными элементами, но не достигали синаптических щелей. Тонкие отростки не содержали цитологических органелл, а были заполнены неким филаментозным материалом. Расстояния между синаптическими и астроцитарными мембранами варьировали от коротких сближенных участков до расширений в десятки нанометров (рис. 2). Со стороны пресинапса в области контакта с астроцитарным отростком часто можно было видеть микропиноцитозные фигуры и опущенные везикулы. Эти наблюдения дают основание утверждать, что синапсы в интраокулярных трансплантатах, как и в мозге *in situ*, соответствуют современному представлению о трехчастной организации синаптических контактов. Известно, что в разных отделах мозга количество синапсов, имеющих тесный контакт с отростками астроцитов, различается [21]. При проведенном нами сравнении двух групп интраокулярных нейротрансплантатов обнаружено сниженное количество синапсов, которые ассоциированы с астроцитарными отростками. Так, если в контрольном материале их число было  $94.0 \pm 2.5\%$ , то в ткани с эпилептиформной активностью они присутствовали только в  $72.3 \pm 4.2\%$  случаев (различия достоверны при  $p < 0.001$ ). Это свидетельствует о важной роли астроцитов в поддержании нормального уровня функциональной активности трансплантированной ткани.

При сравнительном морфометрическом изучении синаптических комплексов в нейротрансплантатах с нормальной и эпилептиформной активностью были изучены

**Таблица 1.** Морфометрические данные возбуждающих синапсов в интраокулярных нейротрансплантатах с разным типом функциональной активности, ( $M \pm m$ )

Параметры синаптических окончаний	Нормальная активность (контроль, $n = 100$ )	Эпилептиформная активность ( $n = 112$ )	Достоверность
Протяженность постсинаптического уплотнения (мкм)	$0.366 \pm 0.014$	$0.402 \pm 0.018$	Нет
Площадь пресинаптического бутона (мкм <sup>2</sup> )	$0.52 \pm 0.03$	$0.49 \pm 0.03$	Нет
Периметр пресинаптического бутона (мкм)	$2.14 \pm 0.09$	$2.13 \pm 0.07$	Нет
Отростки астроцитов в контакте с пресинаптическим бутонем (мкм)	$0.96 \pm 0.06$	$0.55 \pm 0.05$	$p < 0.001$
Коэффициент (Ka)	$0.45 \pm 0.03$	$0.25 \pm 0.02$	$p < 0.001$

все три структурных компонента трехчастных синапсов. Полагая, что повышение возбудимости нервной ткани должно отражаться на размерах активных зон синапсов, были измерены протяженности постсинаптических уплотнений, которые являются ключевыми локусами, содержащими рецепторные молекулы нейротрансмиттеров. Размеры постсинаптического уплотнения имели большую вариабельность в обеих экспериментальных группах (от 0.1 до 1.28 мкм) и, как правило, положительно коррелировали с размерами пресинаптических бутонов. Однако при сравнении средних значений этих параметров в трансплантатах с нормальной и патологической активностью не было обнаружено достоверных различий, хотя и наблюдалась незначительная тенденция в сторону увеличения постсинаптического уплотнения в синапсах эпилептизированной ткани (табл. 1). В сочетании с описанными выше ультраструктурными признаками большей эффективности некоторых синаптических контактов (множественные активные зоны, перфорированные ПСУ) можно говорить, что в эпи-трансплантатах все-таки присутствует морфологическая основа для генерации аномальной активности. Морфометрический анализ пресинаптических бутонов по площади сечений и периметров в обеих экспериментальных группах не выявил достоверной разницы. Вместе с тем, большие различия были обнаружены по третьему, астроцитарному компоненту синаптических комплексов. В материале с эпи-активностью доля астроцитарных отростков, находящихся в непосредственной близости к пресинаптическим бутонам (Ka), была в 1.8 раз ниже, чем в контроле (табл. 1).

Полученные цифровые значения указывают на то, что воздействие кратковременной электрической стимуляцией, которое вызывает патологические разряды в части интраокулярных трансплантатов, практически не влияет на морфометрические параметры пресинаптических компарментов и размеры постсинаптических уплотнений синаптических окончаний. Вместе с тем, очень впечатляющими оказались данные о значительно сниженном окружении аксональных терминалей отростками астроцитов в трансплантатах с эпилептиформной активностью. Тонкие концевые разветвления астроглиальных отростков являются важным компонентом нейропиля, находятся в тесном контакте с синаптическими окончаниями и участвуют в модулировании глутаматергической синаптической передачи. Известно, что только 20% выделенного из синаптических везикул глутамата достигает постсинаптических нейронов, а оставшиеся 80% нейромедиатора с помощью астроглиальных высокоспецифичных мембранных транспортеров перемещаются в цитоплазму астроцитов, где конвертируются в неактивный глутамин. Этот молекулярно-кле-

точный механизм захвата излишков глутаминовой кислоты из синаптической щели и межклеточных пространств препятствует гипервозбуждению и эксайтотоксичности нейронов [22, 23]. Астроциты также контролируют ионный гомеостаз вблизи функциональных контактов. С помощью мембранных транспортеров они очищают экstrasинаптические пространства от ионов калия и перераспределяют их к местам с низкой концентрацией [24, 25]. Астроцитарные перисинаптические отростки очень пластичны и реагируют на изменение нейрональной активности. Так, сенсорная стимуляция и долговременная потенция приводят к значительному увеличению перисинаптической глии на активированных синапсах неокортекса и гиппокампа [26, 27]. В наших экспериментах, наоборот, обнаружено ослабление астроцитарного компонента вокруг синапсов в трансплантатах с эпилептиформной активностью. Уменьшение астроцитарного покрытия возбуждающих синапсов позволяет нейромедиатору более свободно по сравнению с контролем диффундировать из синаптической щели в межклеточные пространства и активировать рецепторы на соседних синапсах. Это приводит к синхронизации активности групп нейронов и дальнейшему распространению очага эпилептиформной активности. Такое предположение согласуется с современным представлением о том, что астроцитарное регулирование синаптической передачи происходит не только на индивидуальных синапсах, но и приводит к изменению активности на уровне нейрональных сетей [28]. На важную роль диффузного (объемного) способа распространения сигнальных молекул по межклеточным пространствам и модулирования информационных процессов в мозге указывалось и в других работах [29, 30].

Конечно, в интраокулярных нейротрансплантатах нервной ткани есть и другие факторы, способствующие генерации патологических разрядов. Ранее, например, мы обнаружили в неокортексе *in oculo* значительное снижение числа тормозных ГАМК-ергических нейронов [31]. Изученные в данной работе трансплантаты септальной области мозга, возможно, также имеют отклонения в фенотипической дифференцировке нервных клеток, однако в таком случае цитологический дисбаланс возбуждения и торможения должен был наблюдаться как в контрольных, так и в эпи-трансплантатах. Учитывая кратковременность воздействия электрических импульсов на трансплантированную ткань, мы полагаем, что перисинаптические астроцитарные отростки первыми реагируют на повышение нейронального возбуждения и инициируют развитие эпилептиформной активности.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают большую благодарность А.Г. Брагину за электрофизиологическое тестирование типа функциональной активности в интраокулярных нейротрансплантатах.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-04-00786).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Oberheim N.A., Tian G-F., Han X., Peng W., Takano T., Ransom B., Nedergaard M. Loss of astrocytic domain organization in the epileptic brain. *J. Neurosci.* 28(13): 3264–3276. 2008.
2. Thind K.K., Yamawaki R., Phanwar I., Zhang G., Wen X., Buckmaster P.S. Initial loss but later excess of GABAergic synapses with dentate granule cells in a rat model of temporal lobe epilepsy. *J. Comp. Neurol.* 518(5): 647–667. 2010.
3. Castro O.W., Furtado M.A., Tilelli C.Q., Fernandes A., Pajolla G.P., Garcia-Cairasco N. Comparative neuroanatomical and temporal characterization of FluoroJade-positive neurodegeneration after status epilepticus induced by systemic and intrahippocampal pilocarpine in Wistar rats. *Brain Res.* 1374: 43–55. 2011.

4. *Losi G., Marcon I., Mariotti L., Sessolo M., Chiavegato A., Carmignoto G.* A brain slice experimental model to study the generation and the propagation of focally-induced epileptiform activity. *J. Neurosci. Methods.* 260: 125–131. 2016.
5. *Malkin S.L., Amakhin D.V., Veniaminova E.A., Kim K., Zubareva O.E., Magazanik L.G., Zaitsev A.V.* Changes of AMPA receptor properties in the neocortex and hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Neuroscience.* 327: 146–155. 2016.
6. *Amakhin D.V., Malkin S.L., Ergina J.L., Kryukov K.A., Veniaminova E.A., Zubareva O.E., Zaitsev A.V.* Alterations in properties of glutamatergic transmission in the temporal cortex and hippocampus following pilocarpine-induced acute seizures in Wistar rats. *Front. Cell Neurosci.* 11: 264. 2017. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00264>
7. *Hasan U., Singh S.K.* The astrocyte–neuron interface: an overview on molecular and cellular dynamics controlling formation and maintenance of the tripartite synapse. *Methods Mol. Biol.* 1938: 3–18. 2019.
8. *Bragin A.G., Vinogradova O.S.* Comparison of neuronal activity in septal and hippocampal grafts developing in the anterior eye chamber of the rat. *Brain Res.* 312(2): 279–286. 1983.
9. *Laura M.C., Xóchitl F.P., Anne S., Alberto M.V.* Analysis of connexin expression during seizures induced by 4-aminopyridine in the rat hippocampus. *J. Biomed. Sci.* 22(1): 69–80. 2015.
10. *Fonnum F.* Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *J. Neurochem.* 42(1): 1–11. 1984.
11. *Gray E.G.* Electron microscopy of excitatory and inhibitory synapses: a brief review. *Prog. Brain Res.* 31: 141–155. 1969.
12. *Araque A., Parpura V., Sanzgiri R.P., Haydon P.G.* Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci.* 22: 208–215. 1999.
13. *Verkhatsky A., Nedergaard M., Hertz L.* Why are astrocytes important? *Neurochem. Res.* 40(2): 389–401. 2015.
14. *Gavrilov N., Golyagina I., Brazhe A., Scimemi A., Turlapov V., Semyanov A.* Astrocytic coverage of dendritic spines, dendritic shafts, and axonal boutons in hippocampal neuropil. *Front. Cell Neurosci.* 12: 248. 2018. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00248>
15. *Zhuravleva Z.N., Bragin A.G., Vinogradova O.S.* Organization of the nervous tissue (hippocampus and septum) developing in the anterior eye chamber. I. General characteristic and non-neural elements. *J. Hirnforsch.* 25(3): 313–330. 1984.
16. *Zhuravleva Z.N., Bragin A.G., Vinogradova O.S.* Organization of the nervous tissue (hippocampus and septum) developing in the anterior eye chamber. II. Neuronal perikarya and dendritic processes. *J. Hirnforsch.* 26(4): 419–437. 1985.
17. *Qu L., Akbergenova Y., Hu Y., Schikorski T.* Synapse-to-synapse variation in mean synaptic vesicle size and its relationship with synaptic morphology and function. *J. Comp. Neurol.* 514: 343–352. 2009.
18. *Harris K.M., Weinberg R.J.* Ultrastructure of synapses in the mammalian brain. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 4(5): 2012. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005587>
19. *Nikonenko I., Jourdain P., Alberi S., Toni N., Muller D.* Activity-induced changes of spine morphology. *Hippocampus.* 12(5): 585–591. 2002.
20. *Ganeshina O., Berry R.W., Petralia R.S., Nicholson D.A., Geinisman Y.* Synapses with a segmented, completely partitioned postsynaptic density express more AMPA receptors than other axospinous synaptic junctions. *Neuroscience.* 125(3): 615–623. 2004.
21. *Bernardinelli Y., Muller D., Nikonenko I.* Astrocyte-Synapse Structural Plasticity. *Neural Plasticity.* 2014: 232105. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/232105>
22. *Eulenburg V., Gomeza J.* Neurotransmitter transporters expressed in glial cells as regulators of synapse function. *Brain Res. Rev.* 63(1–2): 103–112. 2010.
23. *Mehta A., Prabhakar M., Kumar P., Deshmukh R., Sharma P.L.* Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *Eur. J. Pharm.* 698: 6–18. 2013.
24. *Sibille J., Pannasch U., Rouach N.* Astroglial potassium clearance contributes to short-term plasticity of synaptically evoked currents at the tripartite synapse. *J. Physiol.* 592: 87–102. 2014.
25. *Lebedeva A., Plata A., Nosova O., Tyurikova O., Semyanov A.* Activity-dependent changes in transporter and potassium currents in hippocampal astrocytes. *Brain Res. Bull.* 136: 37–43. 2018.
26. *Genoud C., Quairiaux C., Steiner P., Hirling H., Welker E., Knott G.* Plasticity of astrocytic coverage and glutamate transporter expression in adult mouse cortex. *PLoS Biol.* 4(11): 2057–2064. 2006.
27. *Lushnikova I., Skibo G., Muller D., Nikonenko I.* Synaptic potentiation induces increased glial coverage of excitatory synapses in CA1 hippocampus. *Hippocampus.* 19: 753–762. 2009.
28. *Gordileeva S. Y., Stasenko S. V., Semyanov A. V., Dityatev A. E., Kazantsev V. B.* Bi-directional astrocytic regulation of neuronal activity within a network. *Front. Comput. Neurosci.* 6: 92. 2012. <https://doi.org/10.3389/fncom.2012.00092>
29. *Semyanov A.* Can diffuse extrasynaptic signaling form a guiding template? *Neurochem. Int.* 52(1–2): 31–33. 2008.
30. *Agnati L.F., Guidolin D., Guescini M., Genedani S., Fuxe K.* Understanding wiring and volume transmission. *Brain Res. Rev.* 64(1): 137–159. 2010.



31. Zhuravleva Z.N., Hutsyan S.S., Zhuravlev G.I. Phenotypic differentiation of neurons in intraocular transplants. *Russ. J. Develop. Biol.* 47(3): 147–153. 2016.

### Changes in Interactions Between Astrocytic Processes and Synaptic Endings during the Generation of Epileptiform Activity

Z. N. Zhuravleva<sup>a, \*</sup>, G. I. Zhuravlev<sup>b</sup>, E. I. Samokhina<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia*

\*e-mail: zjnzhur@mail.ru

**Abstract**—The aim of the present work was to compare the structural organization of excitatory synaptic contacts in intraocular septal transplants exhibiting normal and epileptiform activity. The work was performed on Wistar rats. The donor material for transplantation was the septal area of the brain isolated from 17-day-old rat fetuses. Three months after the grafting, the electrophysiological properties of neurotransplants were tested using short-term stimulation by single electrical impulses. According to the results of tests, the transplants were divided into two groups, with normal and epileptiform activity. A microscopic study of neurotransplants from both groups showed that nerve and glial cells, as well as the neuropil consisting of axons, dendrites, synaptic endings, and astrocytic processes were well differentiated. Axodendritic and axospinous synaptic endings were considered as three-part structural complexes (tripartite synapses), which included not only pre- and postsynaptic components, but also astrocytic processes surrounding them. Most of them had the morphological features of exciting contacts with strongly expressed postsynaptic densities whose size is a correlate of the efficiency of nervous transmission. A morphometric analysis of these synapses from functionally different types of transplants revealed no significant difference in the length of postsynaptic densities, as well as in the cross-section area and the perimeter of presynaptic boutons. At the same time, significant differences in the degree of the surrounding of synapses by astrocytic processes were found. In grafts characterized by epileptiform activity, the proportion of perisynaptic astrocytic processes was 1.8 times less than in the control ones. The data obtained indicate that perisynaptic astrocytic processes are the first to react to electrical stimulation and initiate the generation of epileptiform activity. It is assumed that the reduction of the astrocytic coverage of excitatory synapses facilitates the spread of neurotransmitters within extracellular spaces and the involvement of neighboring neurons in the synchronized neuronal activity.

**Keywords:** intraocular neurograft, septum, epileptiform activity, ultrastructure, synapse, astrocytic process, morphometry

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Журавлева З.Н., Журавлев Г.И., Самохина Е.И. Изменение взаимодействий между астроцитарными отростками и синаптическими окончаниями при генерации эпиптиформной активности. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 105(6): 707–715.

DOI: 10.1134/S0869813919060116

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Zhuravleva Z.N., Zhuravlev G.I., Samokhina E.I. Changes in Interactions Between Astrocytic Processes and Synaptic Endings During the Generation of Epileptiform Activity. *Russian Journal of Physiology.* 105(6): 707–715.

DOI: 10.1134/S0869813919060116