

# Экспериментальный паркинсонизм при моделировании повреждения астроцитов стриатума

А.В. Ставровская, Д.Н. Воронков, А.С. Ольшанский, А.С. Гущина, Н.Г. Ямщикова

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

**Введение.** Нарушение функции астроцитов характерно для многих патологий ЦНС, при этом экспериментальные модели избирательного повреждения астроцитов, позволяющие более полно оценить роль последних в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, немногочисленны.

**Цель исследования** — охарактеризовать морфологические изменения в головном мозге при введении глиального токсина —  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты (L-AA) в стриатум (полосатое тело) крыс и оценить влияние дисфункции астроцитов на двигательную активность животных.

**Материалы и методы.** Повреждение астроцитов осуществляли путем введения L-AA (100 мкг в 5 мкл) в стриатум мозга крыс справа; в левое полушарие в качестве контроля вводили фосфатно-солевой буфер в том же объеме. Двигательные нарушения оценивали при нормальной и сниженной после введения ингибитора тирозингидроксилазы  $\alpha$ -метил-*p*-тирозина дофаминергической нейротрансмиссии на 3-и сутки после введения L-AA. При иммуногистохимическом исследовании выявляли глиофибрилярный белок GFAP, ядерный антиген нейронов NeuN и тирозингидроксилазу.

**Результаты.** Повреждение астроцитов стриатума, подтвержденное иммуногистохимическим исследованием, при ингибировании синтеза дофамина вызывало снижение двигательной активности в открытом поле и увеличение количества ошибок в тесте «сужающаяся дорожка». В условиях снижения дофаминергической передачи при ингибировании тирозингидроксилазы нарушения движения, вызванные повреждением астроцитов, сохранялись и усиливались.

**Заключение.** Полученные данные указывают на регуляторную роль астроглии в nigrostriatal системе и подчеркивают возможный вклад глиальной дисфункции в моторные нарушения при болезни Паркинсона.

**Ключевые слова:** астроциты,  $\alpha$ -аминоадипиновая кислота,  $\alpha$ -метилтирозин, стриатум, двигательная активность.

**Адрес для корреспонденции:** 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80. ФГБНУ НЦН. E-mail: alla\_stav@mail.ru. Ставровская А.В.

**Для цитирования:** Ставровская А.В., Воронков Д.Н., Ольшанский А.С., Гущина А.С., Ямщикова Н.Г. Экспериментальный паркинсонизм при моделировании повреждения астроцитов стриатума. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2019; 13(3): 28–33.

DOI: 10.25692/ACEN.2019.3.4

## Experimental parkinsonism in modeling striatal astrocyte damage

Alla V. Stavrovskaya, Dmitry N. Voronkov, Artyem S. Ol'shansky, Anastasiya S. Gushchina, Nina G. Yamshchikova

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

**Introduction.** Astrocyte dysfunction is typical for many CNS pathologies, yet few experimental models of selective astrocyte damage, which would enable a fuller understanding of the role of astrocytes in the pathogenesis of neurodegenerative disorders, exist.

**Study aim** — to characterize the morphological brain changes with the administration of  $\alpha$ -aminoadipic acid (L-AA), a glial toxin, into the rat striatum and to assess the effect of astrocyte dysfunction on motor activity in animals.

**Materials and methods.** Astrocyte damage was achieved by administering L-AA (100  $\mu$ g in 5  $\mu$ l) into the rats' right striatum; the same volume of phosphate-buffered saline was injected into the left hemisphere as a control. On the third day after L-AA administration, motor impairment was assessed with normal and reduced dopaminergic neurotransmission; the latter was achieved with administration of the  $\alpha$ -methyl-*p*-tyrosine, a tyrosine hydroxylase inhibitor. The immunohistochemical studies included assays for glial fibrillary acidic protein (GFAP), neuronal nuclear antigen (NeuN), and tyrosine hydroxylase.

**Results.** When dopamine synthesis was inhibited, damage to the striatal astrocytes, which was confirmed by immunohistochemistry, caused a reduction in motor activity in the open field test and an increase in the number of errors in the beam walking test. When dopaminergic transmission was reduced through the inhibition of tyrosine hydroxylase by  $\alpha$ -methyl-*p*-tyrosine, the motor disturbances caused by astrocyte damage sustained and worsened.

**Conclusion.** The obtained data indicate the regulatory role of astroglia in the nigrostriatal system and emphasize the possible contribution of glial dysfunction to the motor disturbances in Parkinson's disease.

**Keywords:** astrocytes,  $\alpha$ -aminoadipic acid,  $\alpha$ -methyl-*p*-tyrosine, striatum, motor activity.

**For correspondence:** 125367, Russia, Moscow, Volokolamskoye shosse, 80. Research Center of Neurology. E-mail: alla\_stav@mail.ru. Stavrovskaya A.V.

**For citation:** Stavrovskaya A.V., Voronkov D.N., Ol'shansky A.S., Gushchina A.S., Yamshchikova N.G. [Experimental parkinsonism in modeling striatal astrocyte damage]. *Annals of clinical and experimental neurology* 2019; 13(3): 28–33. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2019.3.4

## Введение

Дисфункция астроцитов показана при ряде заболеваний ЦНС: эпилепсии, депрессии и многих нейродегенеративных заболеваниях, в том числе болезнях Альцгеймера, Гентингтона, Паркинсона (БП), лобновисочной деменции [1–3]. В качестве одного из механизмов повреждения нейронов при нейродегенеративных заболеваниях с выраженным глиозом в веществе мозга предполагается избыточная провоспалительная реакция астроцитов [1, 4]. Дегенерация астроцитов рассматривается в ряду причин, приводящих к хроническим депрессивным расстройствам [5] и лобно-височной деменции [6]. Примером генетической патологии астроцитов служит болезнь Александра: она вызывается мутациями в гене *GFAP* (кислого глиофибрилярного белка), приводящими к нарушениям цитоскелета астроцитов и функциональной недостаточности астроглии, нейровоспалению и лейкодистрофии [7].

Астроциты влияют на функции нейронов несколькими путями: секретируют факторы, регулирующие синаптогенез и синаптический прунинг, контролируют концентрацию внеклеточного калия, модулируют метаболическую активность нейронов и нейротрансмиссию [8]. Активация астроглии и глиоз — универсальная реакция нервной ткани на повреждение, возникающая в результате как острых повреждений, так и хронического процесса. Активация астроцитов в результате ишемии и нейровоспаления происходит разными путями, и выделены фенотипически различающиеся A1- и A2-типы активированных астроцитов [4, 9]. Транскриптомный анализ реактивных астроцитов первого типа демонстрирует усиление экспрессии генов, связанных с нейровоспалением, например генов каскада комплемента, тогда как второй тип активированной астроглии экспрессирует нейротрофные факторы, стимулирующие аксональный рост и формирование синапсов [4]. Реактивные астроциты продуцируют матриксные металлопротеиназы и молекулы клеточного матрикса, принимая участие в ремоделировании ткани и формируя глиальный рубец. Активированная астроглия вырабатывает нейротрофные и ростовые факторы, в том числе BDNF и TGF $\beta$ , цитокины и хемокины, и взаимодействует с микроглияй. Показана способность астроцитов захватывать клеточный детрит [8]. Кроме того, астроциты обеспечивают компенсаторную регуляцию нейротрансмиссии, взаимодействия с синапсами и контролируя содержание внеклеточного глутамата, ГАМК и дофамина [8].

При БП значение астроцитов не ограничивается их провоспалительным ответом на нейродегенерацию или участием в пластических изменениях. Астроциты, как и нейроны, экспрессируют гены *PARK2*, *PINK1*, *DJ-1* и *LRRK2*, связанные с аутосомно-рецессивными формами БП [2]. Мутации в этих генах приводят к нарушениям функций астроцитов [10, 11]. Кроме того, при БП, деменции с тельцами Леви и ряде тауопатий в астроцитах обнаруживают патологические белковые включения, подобные нейрональным [12, 13]. При БП астроциты предположительно не только повреждаются токсическими формами  $\alpha$ -синуклеина, но и участвуют в их распространении в структурах мозга [14, 15].

Накопленные к настоящему времени данные позволяют обсуждать терапевтический потенциал и возможности фармакологической регуляции функций астроцитов и «управления» глиальной реакцией при травме, инсульте и нейродегенеративных заболеваниях [4]. Отмечен нейропротекторный эффект трансплантации астроцитов [16, 17]

и их котрансплантации с нейронами [18] на моделях нейродегенеративных заболеваний. Более того, по некоторым данным, в структурах мозга, не являющихся нейрогенными нишами, в патологических условиях может происходить дифференцировка астроцитов в нейроны; так, при ишемическом инфаркте мозга у грызунов показано образование нейронов из астроцитов стриатума [19].

Хотя значение астроглии при нейровоспалении и нейродегенерации охарактеризовано достаточно полно, её роль в интактной нервной системе изучена недостаточно. Взаимодействие астроглии с нейронами и её влияние на нейрональную активность подтверждено как *in vivo*, так и *in vitro* [8]. По-видимому, специфичное для каждой области мозга распределение астроцитов тесно связано с участием глии в синаптической передаче и отражает её взаимодействие с нейронами [20]. Отростки астроцитов, во всяком случае в коре и гиппокампе, занимают определенные области (домены), формируя нейроглиососудистые структурные единицы [8]. В свою очередь астроциты связаны друг с другом тесными контактами, однако неясно, формируют ли они функциональные сети и каким образом глия влияет на обработку информации в нервных сетях [21, 22].

В эксперименте возможности избирательного воздействия на астроглию ограничены. В отличие от нейронов для астроцитов разработано весьма небольшое количество моделей избирательного повреждения. Среди них — трансгенные животные с возможностью направленного повреждения GFAP<sup>+</sup>-астроглии [23] и нокаутные по виментину и GFAP мыши, демонстрирующие сниженную реактивность глии [24, 25]. Недостаток генетических моделей в том, что они вызывают лишь частичную гибель астроглии, поскольку в нормальных условиях экспрессия GFAP характерна не для всех астроцитов [23].

Для избирательного повреждения астроцитов применяются лишь два токсина: флуороцитрат [26] и L-аминоадипиновая кислота [27]. Флуороцитрат — ингибитор аконитазы (фермента цикла Кребса), активно захватывается глиальными клетками, благодаря чему подавляет активность астроглии и ведет к её повреждению [28, 29]. При этом он проявляет и неспецифическое токсическое действие, что ограничивает возможность его использования [30]. L-изоформа  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты (L-AA), структурный аналог глутамата, проявляет избирательную токсичность по отношению к астроцитам *in vitro* и *in vivo*. Механизм действия данного токсина неясен, но показано, что L-AA захватывается Na-зависимыми транспортерами глутамата и вызывает снижение синтеза белка и апоптоз астроцитов [5, 31]. Однократные инъекции L-AA в префронтальную кору, стриатум и амигдалу приводят к гибели глиальных клеток [5, 34], не влияя при этом непосредственно на нейроны, что показано методами электронной микроскопии [33]. Восстановление иммунореактивности к GFAP происходит к 7–10-м суткам после введения за счет деления и миграции астроглии к области повреждения [27]. Данных о влиянии введения L-AA в стриатум на двигательную активность животных мы не обнаружили. Вместе с тем показано, что повреждение L-AA астроцитов коры и миндалина приводит к развитию депрессивно-подобного поведения у крыс [3, 5]. Имеются и сообщения об отсутствии глиотоксического действия L-AA в стриатуме [34].

Таким образом, данные литературы указывают на участие астроглии в модуляции активности нейронов стриатума

в норме и при патологии [35–37], но вклад глиальной дисфункции в патогенез экстрапиримидных заболеваний недостаточно освещен, а существующие модели охарактеризованы не полностью. Кроме того, хотя астроциты содержат ферменты катаболизма дофамина — моноаминоксидазу и катехол-О-метилтрансферазу, роль глии в модуляции функций nigrostriатной дофаминергической системы как в норме, так и при паркинсонизме, изучена недостаточно [41]. Перспективный экспериментальный подход для решения этих вопросов — направленная регуляция глиальных функций *in vivo*, в том числе специфическое повреждение астроцитов.

В связи с этим **целью** нашего исследования было описание морфологических изменений в стриатуме под действием глиального токсина L-AA и оценка влияния глиальной дисфункции на двигательную активность животных, в том числе в условиях снижения синтеза дофамина.

## Материалы и методы

Эксперименты проводили на крысах-самцах Вистар в возрасте 3,5–4 мес ( $n=27$ ). Животные содержались в виварии ФГБНУ ИЦН при свободном доступе к пище и воде и чередовании суточной освещенности 12 ч света/12 ч темноты. Содержание животных и проведение экспериментов осуществляли в соответствии с международными правилами.

Астроциты повреждали путем введения L-AA в стриатум мозга крыс. L-AA («Acros Organics») растворяли в 1 М HCl в концентрации 120 мкг/мл, затем на фосфатном солевом буфере (ФСБ) готовили раствор для введения, который доводили до pH 7,3 с помощью 1 М NaOH. Итоговая концентрация L-AA составляла 20 мкг/мл [27]. Для проведения стереотаксических операций анестезированных животных помещали на раму двойного лабораторного стереотаксического манипулятора («Stoelting Co.»). Крысам экспериментальной группы ( $n=14$ ) во время операции в вышеуказанную область мозга унилатерально справа вводили 5 мкл раствора L-AA в соответствии с координатами атласа мозга крыс [38] (AP=1,5; L=2,5; V=4,8), в левое полушарие вводили ФСБ в том же объеме. Ложнооперированные (ЛО) крысы ( $n=13$ ) получали инъекции 5 мкл ФСБ билатерально. В качестве анестезии применяли золетил 100 в дозе 3 мг/100 г и ксиланит в дозе 3 мг/кг внутримышечно, для премедикации использовали атропин в дозе 0,04 мг/кг подкожно за 10–15 мин до введения ксиланита.

Двигательную активность животных изучали в условиях нормальной и сниженной дофаминергической нейротрансмиссии, для чего за час до тестирования животным внутривентриально вводили ингибитор тирозингидроксилазы (ТГ)  $\alpha$ -метил- $p$ -тирозин ( $\alpha$ -MT, «Sigma») [39] в дозе 100 мг/кг. В качестве контроля остальные животные получали внутривентриальные инъекции 0,9% раствора NaCl.

Таким образом, животные были разделены на следующие группы:

- животные с введением L-AA ( $n=8$ );
- животные с введением L-AA и  $\alpha$ -MT ( $n=6$ );
- ЛО ( $n=7$ );
- ЛО с введением  $\alpha$ -MT ( $n=6$ ).

Изменение поведения крыс исследовали с помощью тестов «открытое поле» и «сужающаяся дорожка». Установка для оценки двигательной активности «открытое поле» пред-

ставляла собой квадратный короб, со стороной 75 см, высотой стенок 40 см, пол которого был разделен на 25 равных квадратов. При тестировании в течение 3 мин учитывали общее количество пересеченных квадратов.

Установка для изучения двигательных нарушений «сужающаяся дорожка» представляла собой 2 планки, наложенные друг на друга, длиной 100 см. Ширина верхней планки 0,5–2,0 см, высота 1 см, ширина нижней планки 2,5–4,0 см. На узком конце «дорожки» располагается короб (укрытие), имеющий съемную крышку и отверстие в передней панели, через которое животное может проникнуть внутрь. Вся конструкция приподнята над полом на высоту 70 см. Животное должно пройти по верхней планке от начала дорожки до укрытия. Подсчитывалось число оступаний (соскальзываний) передними и задними конечностями с верхней планки на нижнюю при проходе по всей длине установки, и их процент от общего количества шагов.

Двигательную активность животных регистрировали на 3-и сутки после введения L-AA. Этот срок был выбран на основании данных литературы, поскольку показано, что максимальное снижение плотности астроглии выявляется через 2–4 сут после введения, после чего происходит замещение поврежденных областей вновь образованными астроцитами [27].

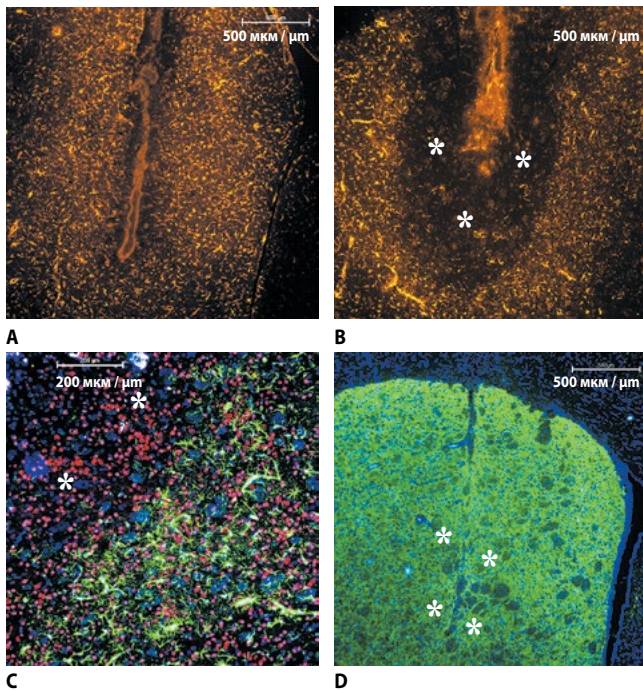
Через 72 ч после операции животных из группы, получившей L-AA ( $n=5$ ), и ЛО ( $n=5$ ) декапитировали, извлекали мозг и фиксировали 24 ч в 4% формалине. После этого образцы пропитывали 30% сахарозой и средой O.C.T. («Tissue Tek») и готовили замороженные фронтальные срезы на криостате «Sakura Cryo 3». Для иммуноморфологического исследования срезы подвергали тепловой обработке в микроволновой печи в цитратном буфере (1 М, pH 6,0) с 0,1% Твин-80. Иммунофлюоресцентным методом выявляли GFAP, ядерный антиген нейронов NeuN и ТГ — ключевой фермент синтеза дофамина. Связывание определяли при помощи соответствующих антител («Sigma») к иммуноглобулинам кролика или мыши, меченных флюорохромами CF488 или CF555.

Статистическую обработку проводили в программе «Statistica», используя тест ANOVA. Гомогенность дисперсии проверяли с помощью Brown & Forsythe's test (homogeneity of variances), а сравнение различий между группами оценивали в Post-hoc тестах Fisher LSD и Tukey. Проведенный дополнительно непараметрический тест Краскела–Уоллиса (K-W ANOVA) на наших данных демонстрировал аналогичные однофакторному дисперсионному анализу результаты. Различия считали значимыми при  $p<0,05$ .

## Результаты

### Морфологические изменения в стриатуме

У животных в хвостатом ядре на стороне введения L-AA через 72 ч после инъекции обнаруживали обширную область со сниженной GFAP-реактивностью шириной до 1000 мкм (рис. 1). В области повреждения наблюдали резкое снижение экспрессии GFAP и гибель астроцитов, а вокруг нее выявляли вал активированных астроцитов с утолщенными отростками. На противоположной стороне активированные астроциты с высокой экспрессией GFAP обнаруживались в непосредственной близости к треку иглы, вокруг которого были незначительные повреждения ткани. При



**Рис. 1. Морфологические изменения через 72 ч после введения L-AA в хвостатое ядро.**

A — контроль. B — введение L-AA, иммунофлюоресцентное окрашивание на GFAP. C — отсутствие дегенеративных изменений нейронов стриатума через 72 ч после введения L-AA, иммунофлюоресцентное окрашивание на NeuN (красным) и GFAP (зеленым). D — иммунофлюоресцентное окрашивание (зеленым) на ТГ (нигростриатные дофаминергические окончания) в стриатуме на стороне введения L-AA, ядра клеток докрашены DAPI. \* — область повреждения, лишенная астроглии

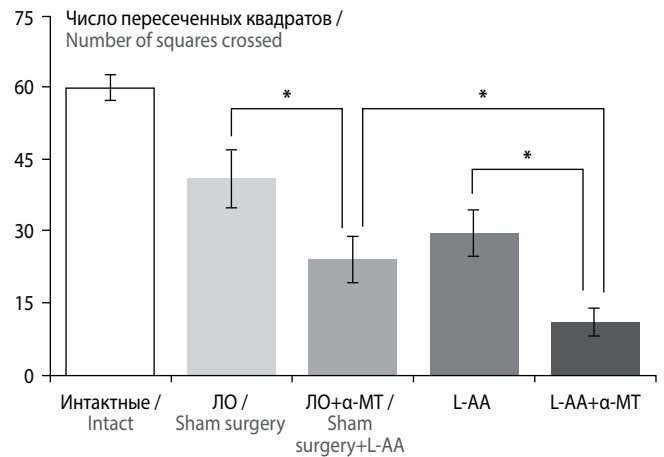
**Fig. 1. Morphological changes after the administration of L-AA into the caudate nucleus, 72 hours after injection.**

A — control. B — administration of L-AA, immunofluorescence staining for GFAP. C — absence of degenerative changes in the striatal neurons 72 hours after administration of L-AA, immunofluorescence staining for NeuN (red) and GFAP (green). D — immunofluorescence staining (green) for tyrosine hydroxylase (nigrostriatal dopaminergic endings) in the striatum on the side of L-AA administration; the cell nuclei were additionally stained with DAPI. \* — area of damage devoid of astroglia

выявлении маркерного белка ядер нейронов NeuN на стороне введения L-AA иммуноокрашивание ядер нейронов в области повреждения не снижалось, а плотность нейронов не менялась по сравнению с контролем, что свидетельствует о жизнеспособности нейронов и подтверждает избирательное действие L-AA на астроциты (см. рис. 1). При выявлении ТГ снижения интенсивности окрашивания в области повреждения также не выявлено, что свидетельствует об отсутствии повреждения дофаминергических нигростриатных волокон. Таким образом, иммуноморфологическое исследование продемонстрировало, что на 3-и сутки после введения L-AA в стриатум повреждается GFAP-позитивная астроглия в обширной зоне вокруг области введения, однако не обнаруживаются дегенеративных изменений собственных нейронов хвостатого ядра и нигростриатных дофаминергических окончаний.

### Изменения двигательной активности животных

При тестировании в «открытом поле» не выявлено значимых различий между группой ЛО животных и группой, получавшей L-AA, однако наблюдалась тенденция ( $p=0,08$ ) к

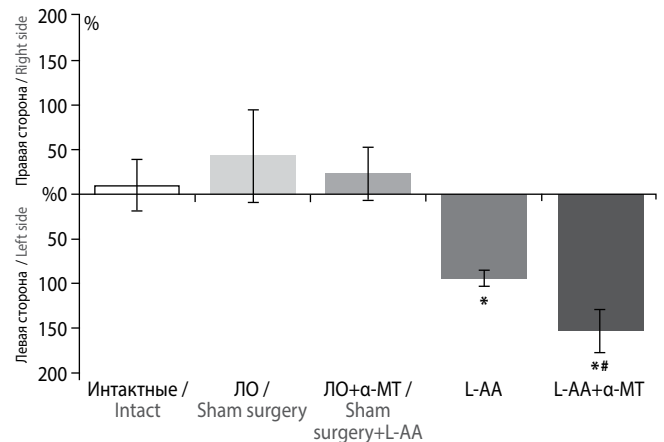


**Рис. 2. Влияние введения L-AA и α-МТ на двигательную активность в тесте «открытое поле».**

\* $p<0,05$  (ANOVA Fisher LSD тест)

**Fig. 2. Effect of L-AA and α-MT administration on motor activity in the open field test.**

\* $p<0,05$  (ANOVA Fisher LSD test)



**Рис. 3. Количество оступаний в тесте «сужающаяся дорожка» (разность в процентах относительно противоположной стороны).**

\* $p<0,05$  по сравнению с контролем; # $p=0,09$  по сравнению с группой L-AA; ANOVA Post hoc Fisher LSD тест

**Fig. 3. A number of slips in the beam walking test (percentage difference compared with the opposite side).**

\* $p<0,05$  compared with the control; # $p=0,09$  compared with the L-AA group; ANOVA Post hoc Fisher LSD test

снижению двигательной активности под действием L-AA. Введение α-МТ значительно уменьшало пройденное животными расстояние как у получавших L-AA, так и у ЛО крыс, что согласуется с данными литературы [39]. Такое изменение двигательной активности соответствует снижению синтеза дофамина под действием α-МТ. При этом эффект α-МТ в группе животных с интрастриатным введением L-AA был более выраженным по сравнению с группой, получавшей только α-МТ (рис. 2). Следует отметить, что в определенной степени снижение двигательной активности у всех прооперированных крыс связано с тем, что тестирование проводилось спустя короткое время после хирургических процедур [40].

Изменения, согласующиеся с полученным в «открытом поле» результатом, выявили и в тесте «сужающаяся дорожка». Интактные и ЛО животные не имели значимых отли-

чий по доле оступаний слева и справа, а подавление дофаминергической передачи  $\alpha$ -МТ у ЛО животных не влияло на этот показатель. У животных, получавших L-AA, значительно возросло количество ошибок (оступаний) со стороны, контралатеральной введению токсина (рис. 3). При этом, как и в тесте «открытое поле» усиление эффекта L-AA отмечалось на фоне введения  $\alpha$ -МТ, хотя и лишь на уровне тенденции ( $p=0,09$  по сравнению с группой L-AA).

## Обсуждение

Повреждение астроцитов под действием L-AA оказывало влияние на стриатные функции, что проявлялось в снижении двигательной активности и асимметричных нарушениях походки животных. В условиях снижения дофаминергической передачи при ингибировании ТГ токсином  $\alpha$ -МТ нарушения движения, вызванные повреждением астроцитов, сохранялись и усиливались.

Мы предполагаем, что выявленное влияние введения L-AA связано с повреждением астроцитов, что подтверждается морфологическим контролем сохранности нейронов и нигростриатных окончаний. Однако введение L-AA сопровождается как дегенерацией астроцитов, так и выраженными реактивными изменениями глии вокруг области введения глиального токсина. Следовательно, введение L-AA необходимо считать в большей степени моделью дисфункции астроцитов, чем полноценной моделью их удаления, поскольку дегенерация астроглии сопровождается пролиферацией и миграцией вновь образованных клеток, замещающих поврежденные. В целом, выявляемая глиальная реакция соответствует изменениям, наблюдаемым при широком спектре нейродегенеративных патологий, когда повреждение глии, нарушение глионейрональных взаимодействий и контактов астроцитов друг с другом сопровождается глиозом [1].

Ранее на моделях БП были продемонстрированы активация и увеличение числа астроцитов в хвостатом ядре при дегенерации нигростриатных дофаминергических окончаний; предполагается, что эти изменения имеют компенсаторное значение. Так, при введении специфического нейро-

токсина МРТР приматам в стриатуме возрастает площадь контакта астроцитарных ножек с синапсами, что связано с регуляцией глутаматергической нейротрансмиссии [37]. С другой стороны, повреждение астроцитов черной субстанции флуороцитратом замедляет восстановление двигательных нарушений после введения нигрального нейротоксина 6-OHDA, что свидетельствует о нейропротекторной роли астроглии [29]. Следовательно, компенсаторные процессы как на тканевом, так и на нейрхимическом уровнях при повреждении нигростриатной системы связаны с астроглией, а повреждение или дисфункция астроцитов отягчают нейродегенеративный процесс при БП.

Проведенная работа согласуется с предполагаемым значением астроцитов в регуляции функций стриатума [36]. В нашем эксперименте развитие двигательных нарушений, по-видимому, было связано с медиаторными нарушениями в хвостатом ядре, вызванными дисфункцией астроцитов. Известно, что астроциты участвуют в обмене глутамата и ГАМК, а также катаболизируют дофамин [41] — основные медиаторы, контролирующие активность проекционных нейронов стриатума. Повреждение астроглии, вероятно, приводит не только к увеличению содержания внеклеточного глутамата, но и к нарушению дофаминергической модуляции кортикостриатного пути, а также дисбалансу тормозных и возбуждающих влияний в нигрострионигральной петле. Выявленное усиление брадикинезии при подавлении синтеза дофамина на фоне повреждения астроцитов согласуется с предположением об их влиянии на нигростриатные дофаминергические окончания.

В целом проведенное исследование демонстрирует перспективность модели глиальной дисфункции с введением L-AA для исследования роли астроглии в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. Полученные результаты указывают на регуляторную роль астроцитов в нигростриатной системе и подчеркивают возможный вклад глиальной дисфункции в моторные нарушения при БП.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare there is no conflict of interest.**

## Список литературы / References

1. Verkhatsky A., Parpura V., Pekna M. et al. Glia in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Biochem Soc Trans* 2014; 42: 1291–1301. DOI: 10.1042/BST20140107. PMID: 25233406.
2. Halliday G.M., Stevens C.H., Hons B. Glia: initiators and progressors of pathology in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2011; 26: 6–17. DOI: 10.1002/mds.23455. PMID: 21322014.
3. Banasr M., Duman R.S. Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry* 2008; 64: 863–870. DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.06.008. PMID: 18639237.
4. Liddelov S.A., Barres B.A. Reactive astrocytes: production, function, and therapeutic potential. *Immunity* 2017; 46: 957–967. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.06.006. PMID: 28636962.
5. Smiałowska M., Szewczyk B., Woźniak M. et al. Glial degeneration as a model of depression. *Pharmacol Rep* 2013; 65: 1572–1579. PMID: 24553005.
6. Broe M. Astrocytic degeneration relates to the severity of disease in frontotemporal dementia. *Brain* 2004; 127: 2214–2220. DOI: 10.1093/brain/awh250. PMID: 15282215.
7. Olabarria M., Goldman J.E. Disorders of astrocytes: alexander disease as a model. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2017; 12: 131–152. DOI: 10.1146/annurev-pathol-052016-100218. PMID: 28135564.
8. Sofroniew M.V., Vinters H.V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 2010; 119: 7–35. DOI: 10.1007/s00401-009-0619-8. PMID: 20012068.
9. Anderson M.A., Ao Y., Sofroniew M.V. Heterogeneity of reactive astrocytes. *Neurosci Lett* 2014; 565: 23–29. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.12.030. PMID: 24361547.

10. Zhao Y., Keshiya S., Atashrazm F. et al. Nigrostriatal pathology with reduced astrocytes in LRRK2 S910/S935 phosphorylation deficient knockin mice. *Neurobiol Dis* 2018; 120: 76–87. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.09.003. PMID: 30194047.
11. Mullett S.J., Di Maio R., Greenamyre J.T., Hinkle D.A. DJ-1 expression modulates astrocyte-mediated protection against neuronal oxidative stress. *J Mol Neurosci* 2013; 49: 507–511. DOI: 10.1007/s12031-012-9904-4. PMID: 23065353.
12. Kovacs G.G. Invited review: neuropathology of tauopathies: principles and practice. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2015; 41: 3–23. DOI: 10.1111/nan.12208. PMID: 25495175.
13. Rostami J., Holmqvist S., Lindström V. et al. Human astrocytes transfer aggregated alpha-synuclein via tunneling nanotubes. *J Neurosci* 2017; 37: 11835–11853. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0983-17.2017. PMID: 29089438.
14. Lindström V., Gustafsson G., Sanders L.H. et al. Extensive uptake of  $\alpha$ -synuclein oligomers in astrocytes results in sustained intracellular deposits and mitochondrial damage. *Mol Cell Neurosci* 2017; 82: 143–156. DOI: 10.1016/j.mcn.2017.04.009. PMID: 28450268.
15. Cavaliere F., Cerf L., Dehay B. et al. *In vitro*  $\alpha$ -synuclein neurotoxicity and spreading among neurons and astrocytes using Lewy body extracts from Parkinson disease brains. *Neurobiol Dis* 2017; 103: 101–112. DOI: 10.1016/j.nbd.2017.04.011. PMID: 28411117.
16. Proschel C., Stripay J.L., Shih C.H. et al. Delayed transplantation of precursor cell-derived astrocytes provides multiple benefits in a rat model of Parkinsons. *EMBO Mol Med* 2014; 6: 504–518. DOI: 10.1002/emmm.201302878. PMID: 24477866.

17. Nicaise C. Transplantation of stem cell-derived astrocytes for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis and spinal cord injury. *World J Stem Cells* 2015; 7: 380. DOI: 10.4252/wjsc.v7.i2.380. PMID: 25815122.
18. Song J.J., Oh S.M., Kwon O.C. et al. Cografting astrocytes improves cell therapeutic outcomes in a Parkinson's disease model. *J Clin Invest* 2017; 128: 463–482. DOI: 10.1172/JCI93924. PMID: 29227284.
19. Duan C.L., Liu C.W., Shen S.W. et al. Striatal astrocytes transdifferentiate into functional mature neurons following ischemic brain injury. *Glia* 2015; 63: 1660–1670. DOI: 10.1002/glia.22837. PMID: 26031629.
20. Emsley J.G., Macklis J.D. Astroglial heterogeneity closely reflects the neuronal-defined anatomy of the adult murine CNS. *Neuron Glia Biol* 2006; 2: 175. DOI: 10.1017/S1740925X06000202. PMID: 17356684.
21. Savtchouk I., Volterra A. Gliotransmission: beyond black-and-white. *J Neurosci* 2018; 38: 14–25. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0017-17.2017. PMID: 29298905.
22. Fiacco T.A., McCarthy K.D. Multiple lines of evidence indicate that gliotransmission does not occur under physiological conditions. *J Neurosci* 2018; 38: 3–13. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0016-17.2017. PMID: 29298904.
23. Jäkel S., Dimou L. Glial cells and their function in the adult brain: a journey through the history of their ablation. *Front Cell Neurosci* 2017; 11. DOI: 10.3389/fncel.2017.00024. PMID: 28243193.
24. Wilhelmsson U., Li L., Pekna M. et al. Absence of glial fibrillary acidic protein and vimentin prevents hypertrophy of astrocytic processes and improves post-traumatic regeneration. *J Neurosci* 2004; 24: 5016–5021. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0820-04.2004. PMID: 15163694.
25. Laterza C., Uoshima N., Tornero D. et al. Attenuation of reactive gliosis in stroke-injured mouse brain does not affect neurogenesis from grafted human iPSC-derived neural progenitors. *PLoS One* 2018; 13: e0192118. DOI: 10.1371/journal.pone.0192118. PMID: 29401502.
26. Willoughby J.O., Mackenzie L., Broberg M. et al. Fluorocitrate-mediated astroglial dysfunction causes seizures. *J Neurosci Res* 2003; 74: 160–166. DOI: 10.1002/jnr.10743. PMID: 13130518.
27. Khurgel M., Koo A.C., Ivy G.O. Selective ablation of astrocytes by intracerebral injections of  $\alpha$ -aminoadipate. *Glia* 1996; 16: 351–358. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1136(199604)16:4<351::AID-GLIA7>3.0.CO;2-2. PMID: 8721675.
28. Voloboueva L.A., Suh S.W., Swanson R.A., Giffard R.G. Inhibition of mitochondrial function in astrocytes: implications for neuroprotection. *J Neurochem* 2007; 102: 1383–1394. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2007.4634.x. PMID: 17488276.
29. Kuter K., Olech L., Głowacka U. Prolonged dysfunction of astrocytes and activation of microglia accelerate degeneration of dopaminergic neurons in the rat substantia nigra and block compensation of early motor dysfunction induced by 6-OHDA. *Mol Neurobiol* 2018; 55: 3049–3066. DOI: 10.1007/s12035-017-0529-z. PMID: 28466266.
30. Fonnun F., Johnsen A., Hassel B. Use of fluorocitrate and fluoroacetate in the study of brain metabolism. *Glia* 1997; 21: 106–113. PMID: 9298853.
31. Nishimura R.N., Santos D., Fu S.T., Dwyer B.E. Induction of cell death by L-alpha-aminoadipic acid exposure in cultured rat astrocytes: relationship to protein synthesis. *Neurotoxicology* 2000; 21: 313–320. PMID: 10894121.
32. Lima A., Sardinha V.M., Oliveira A.F. et al. Astrocyte pathology in the pre-frontal cortex impairs the cognitive function of rats. *Mol Psychiatry* 2014; 19: 834–841. DOI: 10.1038/mp.2013.182. PMID: 24419043.
33. Takada M., Hattori T. Fine structural changes in the rat brain after local injections of gliotoxin, alpha-aminoadipic acid. *Histol Histopathol* 1986; 1: 271–275. PMID: 2485166.
34. Saffran B.N., Crutcher K.A. Putative gliotoxin, alpha-aminoadipic acid, fails to kill hippocampal astrocytes *in vivo*. *Neurosci Lett* 1987; 81: 215–220. PMID: 3696468.
35. Chai H., Diaz-Castro B., Shigetomi E. et al. Neural Circuit-specialized astrocytes: transcriptomic, proteomic, morphological, and functional evidence. *Neuron* 2017; 95: 531–549.e9. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.06.029. PMID: 28712653.
36. Dvorzhak A., Melnick I., Grantyn R. Astrocytes and presynaptic plasticity in the striatum: Evidence and unanswered questions. *Brain Res Bull* 2018; 136: 17–25. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2017.01.001. PMID: 28069435.
37. Villalba R.M., Mathai A., Smith Y. Morphological changes of glutamatergic synapses in animal models of Parkinson's disease. *Front Neuroanat* 2015; 9. DOI: 10.3389/fnana.2015.00117. PMID: 26441550.
38. Paxinos G., Watson Ch. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego, 2006.
39. Watanabe S., Fusa K., Takada K. et al. Effects of alpha-methyl-p-tyrosine on extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens and the dorsal striatum of freely moving rats. *J Oral Sci* 2005; 47: 185–190. PMID: 16415562.
40. Stavrovskaya A.V., Yamshchikova N.G., Ol'shanskiy A.S., Konovalova E.V., Ilarioshkin S.N. [Transplantation of neuronal precursors derived from induced pluripotent stem cells into the striatum of rats with the toxin-induced model of Huntington's disease] *Annals of clinical and experimental neurology* 2016; 10(4): 39–44.
41. Jennings A., Rusakov D.A. Do astrocytes respond to dopamine? *Opera Medica Physiol.* 2016; 2: 34–43. DOI: 10.20388/OMP2016.001.0017.

Поступила / Received 05.04.2019  
 Принята в печать / Accepted 15.05.2019

**Информация об авторах:** Ставровская Алла Вадимовна — к.б.н., зав. лаб. экспериментальной патологии нервной системы Отдела исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия;  
 Воронков Дмитрий Николаевич — к.м.н., с.н.с. лаб. функциональной морфохимии Отдела исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия;  
 Ольшанский Артем Сергеевич — к.б.н., с.н.с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы Отдела исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия;  
 Гушина Анастасия Сергеевна — научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии нервной системы Отдела исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия.  
 Ямшикова Нина Гавриловна — к.б.н., в.н.с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы Отдела исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия;

**Information about the authors:** Alla V. Stavrovskaya, PhD (Biol.), Head of Laboratory of experimental pathology of the nervous system, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia;  
 Dmitry N. Voronkov, PhD (Med.), senior researcher, Laboratory of functional morphochemistry, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia;  
 Artyem S. Ol'shansky, PhD (Biol.), senior researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia;  
 Anastasiya S. Gushchina, researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia;  
 Nina G. Yamshchikova, PhD (Biol.), leading researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia.