

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 57.042.2+57.085.21+612.014.42

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-5-590-598>

Поступило в редакцию 22.09.2020

Received 22.09.2020

С. Г. Пашкевич<sup>1</sup>, член-корреспондент Н. С. Сердюченко<sup>2</sup><sup>1</sup>Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь<sup>2</sup>Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

## РОЛЬ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ В МЕЖНЕЙРОННЫХ КОММУНИКАЦИЯХ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ ГИППОКАМПА

**Аннотация.** В развитии нейротехнологий актуальным является поиск приложений для устройств инвазивной нейроэлектроники. Одним из перспективных направлений может стать разработка способов влияния на межклеточные коммуникации, т. е. не за счет действия на пре-, пост- и внесинаптические рецепторы, а на внеклеточный матрикс, окружающий нейроны и глию. Для развития биоэлектронной фармацевтики важен поиск параметров стимуляции, при которых возможно контролируемое изменение структурно-функциональных параметров нервной ткани. Рассмотрели один из актуальных механизмов молекулярного патогенеза инфекции SARS-CoV-2 – индукцию метаболизма гликозаминогликанов. Предполагают, что, попадая в обонятельный эпителий и обонятельные луковицы мозга, вирус способен достичь структур центральной нервной системы. При моделировании изменения ферментативной активности гиалуронидазы (0,1; 1,0; 10,0 Ед/мл) в течение 5 мин в одной из ключевых структур лимбической системы – гиппокампе (3–4-недельных крысят,  $n = 64$ ) выявлены условия трансформации межклеточных контактов и вызванной электрической активности популяций CA1 области. Зарегистрированное развитие процессов синаптической пластичности имеет адаптивный потенциал при концентрациях гиалуронидазы, не превышающих 1,0 Ед/мл.

Предлагаемый в данной работе метод *in vitro* и обоснованная мишень для воздействия – элементы внеклеточного матрикса, позволяют смоделировать один из возможных механизмов развития вирусной инфекции, оптимизировать процесс предварительного скрининга новых лекарственных субстанций, а также обосновать условия безопасного и/или терапевтического воздействия электрическими импульсами на элементы нервной ткани.

**Ключевые слова:** гиппокамп, вызванные потенциалы, внеклеточный матрикс, гиалуронидаза, электронная микроскопия

**Для цитирования:** Пашкевич, С. Г. Роль гликозаминогликанов в межнейронных коммуникациях нейронных сетей гиппокампа / С. Г. Пашкевич, Н. С. Сердюченко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 5. – С. 590–598. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-5-590-598>

Svetlana G. Pashkevich<sup>1</sup>, Corresponding Member Nikolay S. Serdyuchenko<sup>2</sup><sup>1</sup>Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus<sup>2</sup>National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

## GLYCOSAMINOGLYCANS ROLE IN HIPPOCAMPAL NEURAL NETWORKS INTERNEURONAL COMMUNICATIONS

**Abstract.** In the development of neurotechnologies, the search for applications for invasive neuroelectronic devices is relevant. One of the promising areas can be the development of ways of influencing intercellular communication, that is, not by acting on pre-, post- and extrasynaptic receptors, but on the extracellular matrix surrounding neurons and glia. For the development of bioelectronic pharmaceuticals, it is important to search for stimulation parameters at which a controlled change in the structural and functional parameters of the nervous tissue is possible. We considered one of the actual mechanisms of the molecular pathogenesis of SARS-CoV-2 infection – the induction of glycosaminoglycan metabolism. It is assumed that, getting into the olfactory epithelium and the olfactory bulbs of the brain, the virus is able to reach the structures of the central nervous system. When modeling changes in the enzymatic activity of hyaluronidase (0.1; 1.0; 10.0 U/ml) for 5 minutes in one of the key structures of the limbic system – the hippocampus (3–4-week-old ratpups,  $n = 64$ ), the conditions for the transformation of intercellular contacts were revealed and evoked electrical activity of populations of CA1 region. The recorded development of synaptic plasticity processes has an adaptive potential at hyaluronidase concentrations not exceeding 1.0 U/ml.

The *in vitro* method proposed in this work and a reasonable target for exposure – elements of the extracellular matrix, make it possible to simulate one of the mechanisms of the development of viral infection, optimize the process of preliminary

screening of new medicinal substances that can minimize the risk of developing neuroinflammatory processes, and also substantiate the conditions for safe and/or therapeutic effects and electrical impulses on the elements of the nervous tissue.

**Keywords:** hippocampus, evoked potentials, extracellular matrix, hyaluronidase, electron microscopy

**For citation:** Pashkevich S. G., Serdyuchenko N. S. Glycosaminoglycans role in hippocampal neural networks inter-neuronal communications. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 5, pp. 590–598 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-5-590-598>

**Введение.** Гиппокамп – структура лимбической системы головного мозга, которая участвует в формировании поведения (страх, направление к цели, обработка информации, детекция обонятельных сигналов, звуков, тактильных ощущений, временных периодов, пространственная навигация и ориентация, память) [1].

Установлено, что гиппокамп у разных видов млекопитающих в структурно-функциональном отношении значительно не отличается (рис. 1) [1]. Таким образом, результаты, полученные в экспериментах, например, у крыс, допустимо экстраполировать на процессы, протекающие у обезьян или человека.

Гиппокамп является важной герменативной зоной, в которой происходит формирование новых нейронов и клеток глии [1; 2]. При этом процесс дифференцировки эндогенных стволовых клеток в нейрогенном или глиальном направлении может быть постоянным и/или дополнительно индуцированным [2]. У многих видов животных изучен специализированный так называемый миграционный поток, который простирается от субвентрикулярной/субэпендимальной зоны переднего рога бокового желудочка вдоль расширения желудочка в обонятельную луковицу. По нему предшественники нейронов или глиальных клеток из герменативных областей головного мозга мигрируют в область обонятельной луковицы [2]. В обонятельной луковице крыс гранулярные клетки образуются в основном после рождения, но продолжают формироваться в течение жизни, а зародышевым источником этих клеток является ростральный миграционный поток – источник генерируемых у взрослых особей глиоформных предшественников нейронов, которые распространяются по всему неокортексу (впервые описан в [2]). Нейроны головного мозга развиваются в трехмерном пространстве и функционируют в сложной многоклеточной многоуровневой среде, взаимодействуя с различными видами клеток и внеклеточным матриксом. Для формирования нервной ткани в контролируемых условиях актуальным является разработка способов инициации самосборки нейронов в сферические структуры (нейросфероиды), в которых они могли бы создавать собственный внеклеточный матрикс. Это позволит смоделировать и оценить эффективность различных фармакологических субстанций и вакцин.

По одной из гипотез, в процессе развития нейронные сети формируются наподобие фракталов Мандельброта [3], аналогично при постоянном изменении входящей информации в хаотичной среде возникают бесконечно сложные организованные системы по А. М. Turing (1952), образуя индивидуальный дизайн. Упорядоченная слоистая цитоархитектоника гиппокампа обеспечивает взаимодействие, взаимовлияние и взаиморегуляцию всех элементов нервной ткани, относящихся к различным клеточным популяциям. Нарушение упорядоченности зависит от ряда факторов. Обращает внимание то, что развитие многих заболеваний связывают с изменением структурно-функциональных параметров элементов соединительной ткани [4], формирующей физиологический статус внутренней среды организма, влияющей на регуляцию гомеостаза на разных уровнях

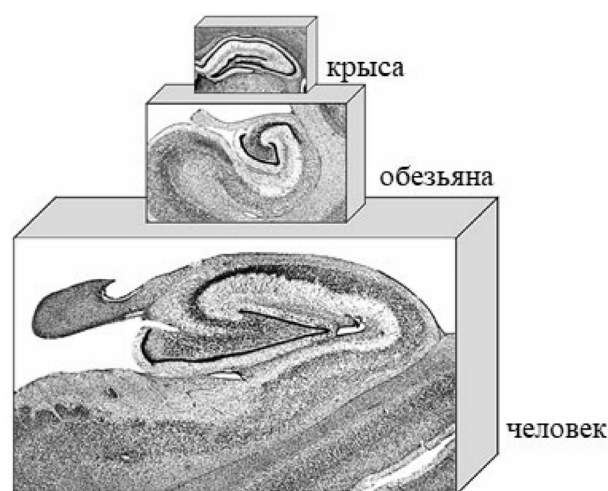


Рис. 1. Строение гиппокампа у разных видов млекопитающих [1]

Fig. 1. The structure of the hippocampus from various mammalian species

взаимодействия [4]. Элементы соединительной ткани обеспечивают синтез молекул внеклеточного матрикса, которые участвуют в передаче информации о состоянии нейрогуморальной регуляции, трофической, дыхательной, защитной, транспортной, опорной, механической, регенеративной и других функций клеток, тканей и органов [5].

Нейроны, нейральные стволовые клетки, элементы глии экспрессируют рецепторы взаимодействия со специфическими молекулами внеклеточного матрикса, которые в свою очередь оказывают влияние практически на все аспекты развития и функционирования нервной системы [6]. В различные периоды развития организма в разных отделах мозга объем внеклеточного матрикса составляет от 7–8 до 20–40 % и, как правило, представлен гликозаминогликанами (хондроитинсульфат, гепаран, гиалуронан и др.), гликопротеинами (ламинины, тенасцин, фибронектин и др.) и протеогликанами (синдекан, агрин, версикан, фосфакан и др.) [5; 6]. Интересным фактом является обнаружение улучшения функциональной активности мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в ответ на воздействие гиалуронидазы в дозе менее 1000 МЕ и нарушение их функционального статуса при повышении дозы до 5000 МЕ в эксперименте [7].

События, связанные с распространением вирусной инфекции, названной COVID-19 (SARS-CoV-2, коронавирус), акцентировали внимание на высокой вероятности развития патологических процессов, обусловленных прогрессированием тяжелой атипичной пневмонии, которая перерастает в острый респираторный дистресс-синдром, требующий искусственной вентиляции легких и в конечном итоге приводящий к полиорганной недостаточности и смерти [8]. Разрабатывается гипотеза о том, что возможный механизм молекулярного патогенеза инфекции SARS-CoV-2 в бронхоальвеолярных клетках основан на индукции метаболизма гиалуроново́й кислоты и гликозаминогликанов, которые могут частично формировать компоненты «помутнений по типу матового стекла», наблюдаемые при компьютерной томографии [8].

Известно, что при воспалении и отеке возрастает ферментативная активность гиалуронидазы, а ее снижение сопровождается накоплением гиалуроново́й кислоты, что вызывает фиброзные и склерозирующие эффекты в тканях [9]. Установлено, что продукция гиалуронидазы микроорганизмами и раковыми клетками влияет на вирулентность и метастазирование, соответственно и опосредует миграцию к клеткам эндотелия и в кровеносное русло [5].

Накапливаются факты о влиянии SARS-CoV-2 на нервную систему. Нейроинвазия может происходить за счет проникновения в клетки эндотелия, трансинаптического переноса, аксонального транспорта [10]. Предполагают, что, попадая в обонятельный эпителий и обонятельные луковицы мозга, вирус способен достичь структур продолговатого мозга (центры регуляции дыхания, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы) и тем самым оказать влияние на центральные механизмы регуляции жизненно важных функций вплоть до фатальной остановки дыхания, работы сердца, желудочно-кишечного тракта, повлиять на реализацию защитных рефлексов, изменив болевую, тактильную, зрительную, обонятельную чувствительность [10]. Таким образом, динамические соотношения в системе «гиалуронатсинтетаза–гиалуроно́вая кислота–гиалуронидаза» [5] позволяют по-новому рассмотреть вопросы реорганизации нейронных сетей в условиях изменения структурно-функционального статуса элементов внеклеточного матрикса. Получены данные о развитии аутоиммунного энцефалита, обусловленного SARS-CoV-2, затрагивающего ядра клеток Пуркинье, нейроны полосатого тела и гиппокампа [11].

Сведения научной литературы отражают противоречивость современных представлений и недостаточность объективных экспериментальных фактов для объяснения механизма взаимодействия соединительной и нервной ткани. Экспериментальный анализ этих вопросов стал целью проведенной работы, посвященной актуальной прикладной проблеме – поиску новых путей восстановления нарушенных функций мозга.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проведены с соблюдением рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (СЕД № 123, Страсбург, 18/03/1986) в условиях *in vitro*. Согласно методу «переживающего среза», разработанного под руководством Н. И. Митюшова (1986), головной мозг 3–4-недельных крысят помещали в охлажденный до 2–3 °С раствор искусственной цереброспинальной жидкости (ИЦСЖ), получали поперечные срезы гиппокампа толщиной

450 мкм при помощи вибрационного микротомы (NVSLM1, WPI Incorp., США) с охлаждающей камерой, которая стабилизирует температуру раствора на уровне 3–4 °С в течение 20 с. Далее срезы инкубировали в течение 30 мин при температуре 28 °С в ИЦСЖ, которая насыщалась карбогеном (смесь 95 % O<sub>2</sub> и 5 % CO<sub>2</sub>) и содержала (в ммоль/л): 124,0 NaCl; 3,0 KCl; 1,25 KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>; 1,2 MgCl<sub>2</sub>; 2,0 CaCl<sub>2</sub>; 26,0 NaHCO<sub>3</sub>; 10,0 глюкоза, рН раствора 7,4. Затем срезы помещали в термо-стабилизированную регистрационную камеру, оборудованную элементом Пельтье и термokon-троллером РЕТС-80 ТС фирмы Npi-Advanced Electronics (Германия). Перфузирующий поток раствора в камере обеспечивали за счет работы перистальтического насоса Peristar (WPI, США), скорость перфузии 4 мл/мин при температуре раствора 28,9 °С. Регистрацию вызванных ответов проводили с помощью внеклеточных игольчатых микроэлектродов (вольфрам, WPI, США) с размером неизолированной области около 50 мкм. Регистрирующие электроды последовательно размещали в слое *stratum radiatum* или *stratum pyramidale* СА1 области, что позволяло проводить мониторинг стационарных процессов: возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП – в *stratum radiatum*) между телами и апикальными дендритами СА1 области или фокальных популяционных спайков (ПС – *stratum pyramidale*). Внеклеточную стимуляцию подпороговыми импульсами осуществляли через микроэлектрод (вольфрам, WPI, США) с размером неизолированной области около 100 мкм. Поскольку стимуляцию проводили подпороговыми импульсами, то основной вклад в формирование вызванных ответов вносил ВПСП. Стимулирующий микроэлектрод размещали в слое *stratum radiatum* на границе областей СА1/СА3. Такое расположение позволяло активировать коллатерали Шаффера. С целью нивелирования передачи по коллатералам Шаффера ритмической активности от гигантских пирамидных нейронов СА3 области предварительно рассекали ткани мозга на границе областей СА1/СА3. Каждый стимулирующий импульс включал отрицательную и положительную фазы (амплитудой 50 мкА и длительностью 300 мкс). Обычно в исходном состоянии наносили 50 парных стимулов, с межстимульным интервалом в 50 мс и интервалом между парой стимулов в 3 с. Затем на фоне продолжающейся стимуляции начинали перфузию гиалуронидазы (Лидаза. Белмедпрепараты. Лекарственное средство содержит фермент гиалуронидазу 64 УЕ в 1 флаконе, код АТХ: В06АА03. D03ВА).

Забор материала проводили после перфузии срезов гиппокампа 2,5 %-ным раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере. Традиционную фиксацию материала четырехокисью осмия, дегидратацию в спиртах возрастающей концентрации завершали размещением фрагментов ткани в эпоновую смесь, по методу Н. Н. Боголепова (1976). Изготовленные на ультрамикротоме срезы ткани после окрашивания цитратом свинца просматривали с помощью электронного микроскопа JEM-100 В (Япония). Электронограммы сканировали с целью последующего измерения толщины синаптических контактов в программе Adobe Photoshop. Для измерения площади активной зоны синаптических контактов курсором на мониторе выделяли зоны пре- и постсинаптических мембран, синаптическую щель и нейрофиламенты. Затем статистическая обработка осуществлялась автоматически в программе ImageJ (разработка National Institutes of Health, США). Графики строили с помощью пакета программ Statistica 10. Экспериментальные данные каждой серии представлены в виде средняя ± стандартная ошибка средней. Достоверность различий данных оценивалась с использованием парного или непарного *t*-теста и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Оценили влияние растворов лекарственного препарата Лидаза, содержащего гиалуронидазу 0,1; 1,0 и 10,0 Ед/мл ( $n = 65$ ). Так, во время 5 мин перфузии срезов раствором ИЦСЖ с гиалуронидазой 0,1 Ед/мл ( $n = 21$ ) значимых сдвигов амплитуды ВПСП (рис. 2, *a*) и ПС (рис. 2, *b*) в СА1 области гиппокампа при раздражении коллатералей Шаффера не выявили.

В ответ на парную стимуляцию СА1 области гиппокампа, начиная с  $83 \pm 10$  с перфузии среза ИЦСЖ, содержащей гиалуронидазу активностью 1,0 Ед/мл ( $n = 24$ ), в течение  $20 \pm 5$  с отмечали возрастание на 20–25 % ( $p < 0,05$ ) амплитуд вызванных ответов. В среднем к началу 3-й минуты перфузии амплитуда ВПСП и ПС прогрессивно снижалась и стабилизировалась по завершении 5 мин в среднем на уровне 75–80 % от исходной величины.

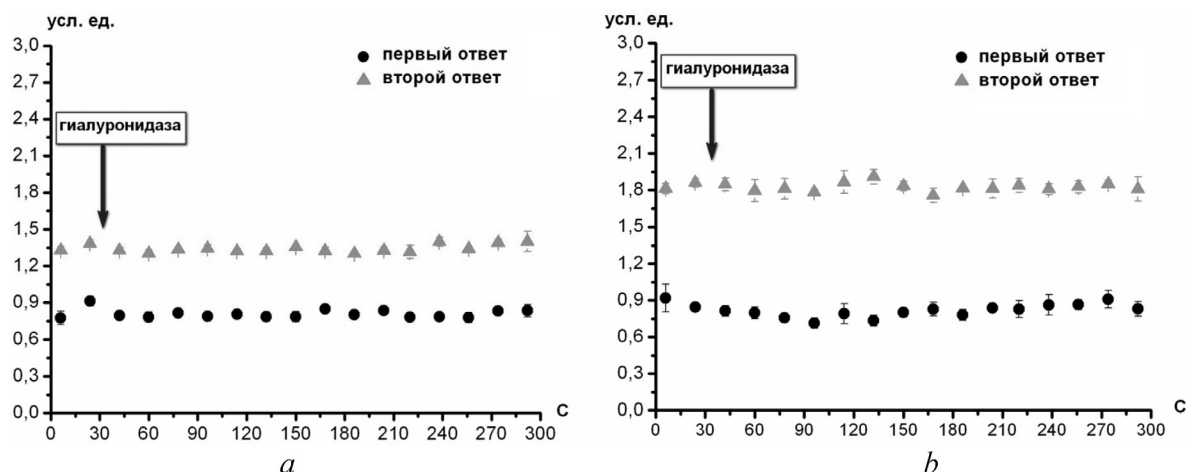


Рис. 2. Изменения амплитуд: *a* – возбуждающих постсинаптических потенциалов; *b* – популяционных спайков CA1 области гиппокампа в условиях парной стимуляции коллатералей Шаффера при перфузии срезов ИЦСЖ, содержащей 0,1 Ед/мл гиалуронидазы в течение 5 мин (300 с). По оси ординат – амплитуда вызванных ответов (усредненных в каждой точке по трем), нормированная на усредненную амплитуду ответов в контрольном периоде до перфузии с раствором гиалуронидазы, по оси абсцисс – время в секундах (с)

Fig. 2. Amplitudes change: *a* – excitatory postsynaptic potentials; *b* – population spikes of CA1 hippocampal area under paired stimulation of Schaffer's collaterals during perfusion of artificial cerebrospinal fluid containing 0.1 U/ml of hyaluronidase for 5 min (300 s). Along the ordinate is the amplitude of the evoked responses (averaging for three at each point). The average response amplitude was normalized relative to the control period before perfusion with hyaluronidase solution. Along the abscissa – time in seconds (s)

При парной стимуляции коллатералей Шаффера возрастание амплитуды ПС второго ответа было более выраженным (на 30–40 %,  $p < 0,05$ ) и пролонгированным, чем первого. Зарегистрированное повышение амплитуды второго ответа свидетельствовало об эффекте фасилитации проведения нервного импульса. Этот процесс, как правило, поясняют пресинаптической природой, сопряжением с повышением концентрации  $Ca^{2+}$  и активности NMDA-рецепторов в субсинаптических мембранах нейронов гиппокампа, важным медиатором которых является глутамат, а также градуальной деполяризацией олигодендроцитов, происходящей при формировании временной связи в нейронных сетях. Полученные данные позволяют заключить о роли гиалуронидазы в процессах фасилитации изменения активности элемента внеклеточного матрикса. Следует отметить, что после окончания перфузии раствора гиалуронидазы данной активности восстановление амплитуды ВПСП и ПС происходило достаточно быстро в течение 1–2 мин после перфузии ИЦСЖ без гиалуронидазы.

В условиях перфузии срезов гиппокампа раствором ИЦСЖ, содержащей гиалуронидазу 1,0 или 10,0 Ед/мл при парной стимуляции коллатералей Шаффера (интервал между первым и вторым стимулами составил 50 мс), происходит трансформация как первого, так и второго вызванных ответов. Выраженное возрастание амплитуд вызванных ответов является объективным фактом изменения условий формирования электрических процессов в CA1 области гиппокампа и представляет один из механизмов кратковременной синаптической пластичности, который выражается в увеличении секреции медиаторов и сопровождается структурно-функциональной реорганизацией активных зон нервных окончаний, что коррелирует с процессами формирования памяти.

Для уточнения механизмов пластичности после 5-минутной перфузии ИЦСЖ сопоставили электронограммы участков срезов гиппокампа интактных (рис. 3, *a*) или после воздействия 1 Ед/мл (рис. 4, *b*) и 10 Ед/мл (рис. 4, *c*) гиалуронидазы.

Типичная картина нейропиля пирамидного слоя гиппокампа 3–4-недельных крысят представлена на рис. 3, *a*. Ядра нейронов правильной, округлой формы, хроматин располагается у внутренней ядерной мембраны и в виде скоплений по центральному пространству. Контуры

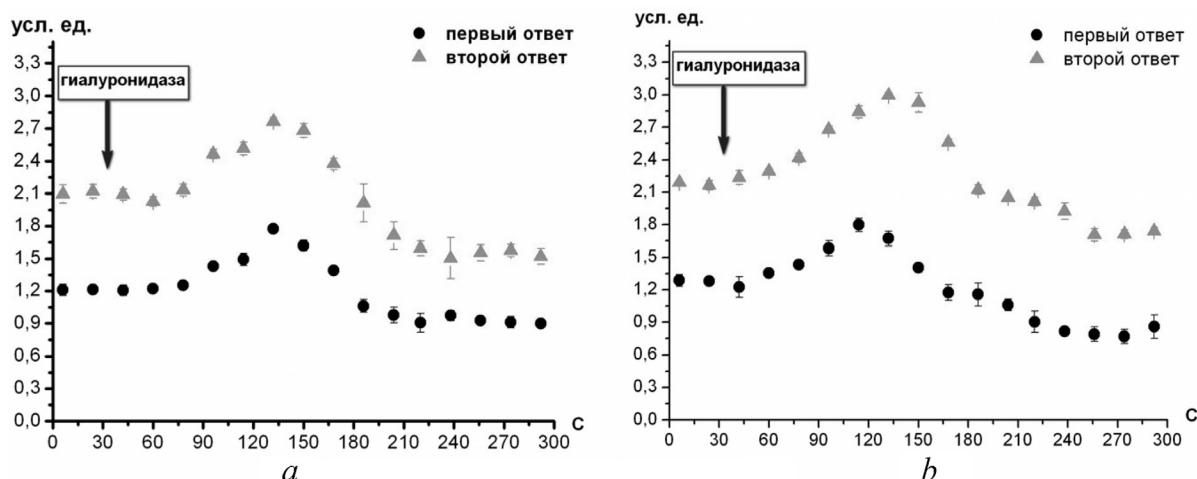


Рис. 3. Изменения амплитуд: *a* – возбуждающих постсинаптических потенциалов; *b* – популяционных спайков CA1 области гиппокампа в условиях парной стимуляции коллатералей Шаффера при перфузии срезов ИЦСЖ, содержащей 1,0 Ед/мл гиалуронидазы в течение 5 мин (300 с). По оси ординат – амплитуда вызванных ответов (усредненных в каждой точке по трем), нормированная на усредненную амплитуду ответов в контрольном периоде до перфузии с раствором гиалуронидазы, по оси абсцисс – время в секундах (с)

Fig. 3. Amplitudes change: *a* – excitatory postsynaptic potentials; *b* – population spikes of CA1 hippocampal area under paired stimulation of Schaffer’s collaterals during perfusion of artificial cerebrospinal fluid containing 1.0 U/ml of hyaluronidase for 5 min (300 s). Along the ordinate is the amplitude of the evoked responses (averaging for three at each point). The average response amplitude was normalized relative to the control period before perfusion with hyaluronidase solution. Along the abscissa – time in seconds (s)

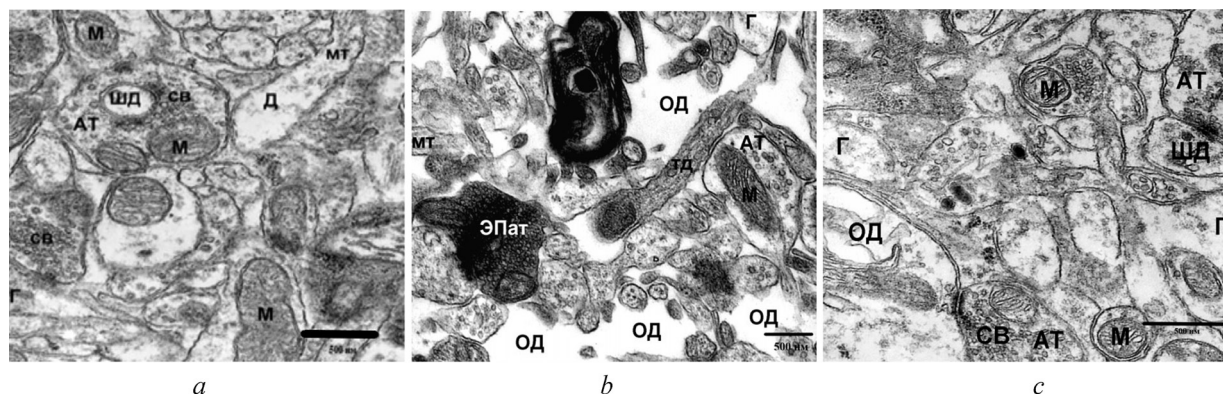


Рис. 4. Фрагмент ультраструктуры CA1 области гиппокампа 4-недельного крысенка при перфузии в течение 5 мин искусственной цереброспинальной жидкостью (*a*), содержащей 1 Ед/мл (*b*) или 10 Ед/мл (*c*) гиалуронидазы: АТ – пресинаптическая аксонная терминаль, Г – глия, Д – дендрит, М – митохондрия, МТ – микротрубочки, ОД – очаги деструкции, СВ – синаптические везикулы, ТД – темный электронно-плотный дендрит, ШД – шипик дендрита, ЭПАТ – электронно-плотная аксонная терминаль (калибровочная шкала 500 нм)

Fig. 4. Ultrastructure fragment from CA1 area hippocampus of 4 weeks-old rat after artificial cerebrospinal fluid (*a*) containing 1.0 U/ml (*b*) or 10.0 U/ml (*c*) of hyaluronidase for 5 min perfusion: АТ – presynaptic axonal terminal; Г – glia; Д – dendrite, М – mitochondrion, МТ – microtubule, ОД – foci of destruction, СВ – synaptic vesicle, ТД – dark electron-dense dendrite, ШД – dendritic spines, ЭПАТ – electron-dense axonal terminal (calibration scale 500 nm)

ядерной и клеточной мембран ровные, гладкие, без выступов. После 5 мин перфузии ИЦСЖ, содержащей 1,0 Ед/мл гиалуронидазы, зарегистрировано незначительное количество разрушенных синапсов, пресинаптическая часть которых представлена темными аксонными терминалями с небольшим количеством синаптических везикул и отдельными, полупустыми аксонными терминалями. Это свидетельствует о выбросе медиаторов.

Пре- и постсинаптические мембраны приобретают инвагинации, также характерные для активации процессов передачи информации. Изменения в нервной ткани носят очаговый характер.

Отмечено незначительное уплотнение глиальных элементов и отростков астроцитарной глии. Структура ядра не претерпевает изменений.

Как известно, ширина синаптической щели в норме составляет 10–50 нм в химическом синапсе, в ней содержатся, в том числе, и элементы внеклеточного матрикса. После 5 мин перфузии ИЦСЖ расстояние между пре- и постсинаптическими мембранами при морфометрической оценке на электроннограммах ( $n$ ) в среднем составляло  $36,12 \pm 12,4$  нм ( $n = 25$ ), после перфузии растворами гиалуронидазы: 0,1 Ед/мл ( $n = 20$ ) –  $35,09 \pm 14,1$  нм; 1,0 Ед/мл ( $n = 20$ ) –  $31,18 \pm 12,6$  нм.

После инкубации срезов через 1,5 мин после применения 10,0 Ед/мл фермента наблюдали уменьшение ширины синаптической щели в аксодендритных контактах *stratum radiatum* CA1 области гиппокампа на 15–25 %, что соответствовало увеличению амплитуды возбуждающих постсинаптических потенциалов. К 4,5 минутам перфузии ИЦСЖ с гиалуронидазой 10,0 Ед/мл просвет синаптических щелей снизился на 45–55 %, при этом отмечали блокаду передачи сигналов через коллатерали Шаффера CA1 области гиппокампа. Заключили, что структурно-функциональное состояние гликозаминогликанов является одним из факторов, определяющих эффективность синаптической передачи в головном мозге [12; 13]. Следует отметить, что удаление гиалуронидазы из перфузируемой ИЦСЖ не сопровождалось восстановлением амплитуд ВПСР и ПС до уровня контроля. Обратили внимание на трансформацию протяженности синаптических контактов и изменение кривизны пре- и постсинаптических элементов и формирование очагов деструкции (рис. 3, с). Обнаружено увеличение площади ядерной мембраны, диффузное расширение каналов эндоплазматической сети, а также накопление лизосом и липофусциновых гранул в перикарионе.

Таким образом, данные электронной микроскопии подтвердили гипотезу о фасилитации передачи сигналов через 1–2 мин после перфузии раствором ИЦСЖ, содержащим гиалуронидазу (1,0 или 10,0 Ед/мл), поскольку уменьшение ширины синаптической щели входит в оптимальные значения ширины синапса, что гипотетически способно увеличить эффективность синаптической передачи. Зарегистрированное уменьшение ширины синаптической щели на 50 % по сравнению с контрольной группой, истощение аксонных терминалей, а также изменение ряда других показателей при перфузии срезов гиппокампа в течение 5 мин после перфузии раствором гиалуронидазы 10 Ед/мл, интерпретированы как условия затруднения передачи сигналов, поскольку данные изменения, наряду с очаговой деструкцией нервных элементов, являются одним из механизмов нарушения условий формирования постсинаптических потенциалов в нервной ткани, а следовательно, и снижения эффективности синаптической передачи [12; 13].

Известно, что межклеточные взаимодействия в нейрональной сети обеспечиваются, в основном, за счет синаптической передачи. В частности, синаптическая пластичность является основным клеточным механизмом процессов обучения и памяти. Продемонстрировано, что локальные диффузные взаимодействия, опосредованные внесинаптическими рецепторами, также играют роль в функционировании нейрональной сети. Эти рецепторы, располагаясь в различных субклеточных элементах, влияют на процессы интеграции сигналов клеткой и способны модулировать клеточный ответ. Обратили внимание на важный аспект проблемы межклеточных коммуникаций. Нейроны и глия окружены матриксом, состоящим из протеогликанов. Установили, что изменение функционального состояния «окружения» нейронов и глии способно отразиться на условиях генерации электрической активности клеток. Следовательно, первично чувствующие рецепторные элементы (особенно, свободные нервные окончания) или вторично чувствующие рецепторы могут гипотетически изменять возбудимость под влиянием и тех процессов, которые происходят в первую очередь не на мембране этих рецепторов, а в ближайшем окружении. Таким образом, существующая концепция о принципиальной возможности влияния на функции мозга нейротропными препаратами дополнена еще одним приемом. Речь идет о возможности изменения условий межклеточных коммуникаций не за счет действия на пре-, пост- и внесинаптические рецепторы, а на молекулы внеклеточного матрикса, окружающего нейроны и глию. Обоснование параметров электрической стимуляции инвазивных и носимых нейротехнологических устройств, для достижения целей влияния на процессы формирования памяти, или обучения навыкам, или интеграции с периферическими устройствами, или терапии

заболеваний в условиях конформационных перестроек гликозаминогликанов становится актуальным, а материал электродов или зондов для стимуляции и регистрации электрической активности при длительном размещении необходимо тестировать с учетом эффектов взаимодействия с внеклеточным матриксом.

**Заключение.** Полученные факты целесообразно учитывать при анализе данных экспериментальных исследований и результатов клинического применения ферментных препаратов, поскольку гиалуронидаза воздействует на доступный для нее субстрат – гиалуроновую кислоту, катализирует процесс деполимеризации последней до свободных гексоз, изменяя тем самым тканевую проницаемость и оказывает влияние на защитные барьеры. Подобные эффекты гиалуронидазы в центральной нервной системе способны проявиться в изменении центральной регуляции когнитивных функций и поведения (процессы формирования памяти, эмоциональное состояние, повышение уровня тревожности и агрессии и т. п.), что необходимо учитывать для анализа последствий проникновения вирусов, аналогичных SARS-CoV-2 через обонятельный эпителий в структуры центральной нервной системы, например, через рецепторы нейропилина-1 (NRP-1), расположенных на клетках обонятельного эпителия [14]. Появляются публикации о том, что в основе передачи заболевания от бессимптомных лиц может лежать снижение у них ноцицептивной чувствительности («заглушение боли»), которое реализуется за счет нарушения передачи сигналов VEGF-A/NRP-1 [15]. Отмечают, что для изучения клеточных и молекулярных механизмов проникновения вируса в центральную нервную систему необходимо детально охарактеризовать экспрессию клеточных белков, вовлеченных в коронавирусную инфекцию [10]. Таким образом, проведенное исследование актуализирует мишени для целевой терапии последствий вирусной инфекции – молекулы внеклеточного матрикса, что позволит оптимизировать процесс предварительного скрининга новых лекарственных субстанций, а также обосновать условия безопасного и/или терапевтического воздействия электрическими импульсами на элементы нервной ткани.

#### Список использованных источников

1. The Hippocampus Book / P. Andersen [et al.]. – Oxford, 2006. – 832 p. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195100273.001.0001>
2. Altman, J. Autoradiographic and Histological Studies of Postnatal Neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb / J. Altman // *Journal of Comparative Neurology*. – 1969. – Vol. 137, N 4. – P. 433–457. <https://doi.org/10.1002/cne.901370404>
3. Мандельброт, Б. Фрактальная геометрия природы / Б. Мандельброт. – М., 2002. – 656 с.
4. Cailliet, R. Soft Tissue pain and Disability / R. Cailliet. – Philadelphia, 1977. – 120 p.
5. Особенности действия гиалуронидаз различного происхождения на соединительную ткань / Р. У. Хабриев [и др.] // *Биомедицинская химия*. – 2016. – Т. 62, № 1. – С. 82–88. <https://doi.org/10.18097/pbmc20166201082>
6. Extracellular Matrix: Functions in the Nervous System / C. S. Barros [et al.] // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2011. – Vol. 3, N 1. – Art. a005108. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005108>
7. Зюзьков, Г. Н. Новое направление таргетной терапии в регенеративной медицине – «стратегия фармакологической регуляции внутриклеточной сигнальной трансдукции в регенераторно-компетентных клетках» / Г. Н. Зюзьков // *Инноватика и экспертиза*. – 2018. – Вып. 1(22). – С. 143–152.
8. Molecular Alterations Prompted by SARS-CoV-2 Infection: Induction of Hyaluronan, Glycosaminoglycan and Mucopolysaccharide Metabolism / S. Andonegui-Elguera [et al.] // *Archives of Medical Research*. – 2020. – 9 p. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.06.011>
9. Современные представления о фиброзе и методах его коррекции / С. Н. Мехтиев [и др.] // *Фарматека*. – 2014. – № 6(279). – С. 80–87.
10. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as port of Central Nervous System entry in COVID-19 patients / J. Meinhardt [et al.] // *bioRxiv*. – 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.06.04.135012>
11. Autoimmune encephalitis concomitant with SARS-CoV-2 infection: insight from 18 F-FDG PET imaging and neuronal autoantibodies / S. Grimaldi [et al.] // *J. Nucl. Med*. – 2020. <https://doi.org/10.2967/jnumed.120.249292>
12. Особенности формирования возбуждающих постсинаптических потенциалов в гиппокампе при изменении функционального состояния гликозаминогликанов / Ю. С. Гаркун [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2008. – Т. 145, № 4. – С. 372–374.
13. Changes in Neuropil Ultrastructure in Hippocampal Field CA1 in Rat Pups after Application of Hyaluronidase / S. V. Kul'chitskii [et al.] // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2009. – Vol. 39, N 6. – P. 517–521. <https://doi.org/10.1007/s11055-009-9162-2>



14. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and provides a possible pathway into the central nervous system / L. Cantuti-Castelvetri [et al.] // bioRxiv. – 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.06.07.137802>
15. SARS-CoV-2 Spike protein co-opts VEGF-A/Neuropilin-1 receptor signaling to induce analgesia / A. Moutal [et al.] // bioRxiv. – 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.07.17.209288>

## References

1. Andersen P., Morris R., Amaral D., Bliss T., O'Keefe J. *The Hippocampus Book*. Oxford, 2006. 832 p. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195100273.001.0001>
2. Altman J. Autoradiographic and Histological Studies of Postnatal Neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *Journal of Comparative Neurology*, 1969, vol. 137, no. 4, pp. 433–457. <https://doi.org/10.1002/cne.901370404>
3. Mandelbrot B. *The Fractal Geometry of Nature*. San Francisco, 1982. 460 p.
4. Cailliet R. *Soft Tissue pain and Disability*. Philadelphia, 1977. 120 p.
5. Habriyev R. U., Kamayev N. O., Danilova T. I., Kakhoyan E. G. Peculiarities of the action of hyaluronidase of different origin to the connective tissue. *Biomeditsinskaya Khimiya = Biomedchemistry*, 2016, vol. 62, no. 1, pp. 82–88 (in Russian). <https://doi.org/10.18097/pbmc20166201082>
6. Barros C. S., Franco S. J., Müller U. Extracellular Matrix: Functions in the Nervous System. *Cold Spring Harb Perspectives in Biology*, 2011, vol. 3, no. 1, art. a005108. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005108>
7. Zyuzkov G. N. The new direction of targeted therapy in regenerative medicine is “the strategy of pharmacological regulation of intracellular signal transduction in regenerative-competent cells”. *Innovatika i ekspertiza = Innovatics and Expert Examination*, 2018, no. 1(22), pp. 143–152 (in Russian).
8. Andonegui-Elguera S., Taniguchi-Ponciano K., Gonzalez-Bonilla C. R., Torres J., Mayani H., Herrera L. A., Peña-Martínez E., Silva-Román G., Vela-Patiño S., Ferreira-Hermosillo A., Ramirez-Renteria C., Carvente-Garcia R., Mata-Lozano C., Marrero-Rodríguez D., Mercado M. Molecular Alterations Prompted by SARS-CoV-2 Infection: Induction of Hyaluronan, Glycosaminoglycan and Mucopolysaccharide Metabolism. *Archives of Medical Research*, 2020. 9 p. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.06.011>
9. Mekhtiev S. N., Stepanenko V. V., Zinovieva E. N., Mekhtieva O. A. Modern concepts of liver fibrosis and methods of its correction. *Farmateka*, 2014, no. 6(279), pp. 80–87 (in Russian).
10. Meinhardt J., Radke J., Dittmayer C., Mothes R., Franz J., Laue M., Schneider J., Brünink S., Hassan O., Stenzel W., Windgassen M., Rößler L., Goebel H.-H., Martin H., Nitsche A., Schulz-Schaeffer W. J., Hakroush S., Winkler M. S., Tampe B., Elezkurtaj S., Horst D., Oesterhelweg L., Tsokos M., Heppner B. I., Stadelmann Ch., Drosten Ch., Corman V. M., Radbruch H., Heppner F. L. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as port of Central Nervous System entry in COVID-19 patients. *bioRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.06.04.135012>
11. Grimaldi S., Lagarde S., Harle J.-R., Boucraut J., Guedj E. Autoimmune encephalitis concomitant with SARS-CoV-2 infection: insight from 18 F-FDG PET imaging and neuronal autoantibodies. *Journal of Nuclear Medicine*, 2020. <https://doi.org/10.2967/jnumed.120.249292>
12. Garkun Yu. S., Yakubovich N. V., Denisov A. A., Molchanov P. G., Emel'yanova A. A., Pashkevich S. G., Kulchitsky V. A. generation of excitatory postsynaptic potentials in the hippocampus after functional modification of glycosaminoglycans. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2008, vol. 145, no. 4, pp. 395–397. <https://doi.org/10.1007/s10517-008-0100-z>
13. Kul'chitskii S. V., Yakubovich N. V., Emel'yanova A. A., Garkun Yu. S., Pashkevich S. G., Kul'chitskii V. A. Changes in Neuropil Ultrastructure in Hippocampal Field CA1 in Rat Pups after Application of Hyaluronidase. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2009, vol. 39, no. 6, pp. 517–521. <https://doi.org/10.1007/s11055-009-9162-2>
14. Cantuti-Castelvetri L., Ojha R., Pedro L. D., Djannatian M., Franz J., Kuivanen S., Kallio K., Kaya T., Anastasina M., Smura T., Levanov L., Szivovics L., Tobi A., Kallio-Kokko H., Österlund P., Joensuu M., Meunier F. A., Butcher S., Winkler M. S., Mollenhauer B., Helenius A., Gokce O., Teesalu T., Hepojoki J., Vapalahti O., Stadelmann C., Balistreri G., Simons M. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and provides a possible pathway into the central nervous system. *bioRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.06.07.137802>
15. Moutal A., Martin L. F., Boinon L., Gomez K., Ran D., Zhou Y., Stratton H. J., Cai S., Luo S., Gonzalez K. B., Perez-Miller S., Patwardhan A., Ibrahim M. M., Khanna R. SARS-CoV-2 Spike protein co-opts VEGF-A/Neuropilin-1 receptor signaling to induce analgesia. *bioRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.07.17.209288>

## Информация об авторах

*Пашкевич Светлана Георгиевна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [skupasht@mail.ru](mailto:skupasht@mail.ru).

*Сердюченко Николай Сергеевич* – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь. Национальная академия наук Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [lora323@mail.ru](mailto:lora323@mail.ru).

## Information about the authors

*Pashkevich Svetlana G.* – Ph. D. (Biology), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [skupasht@mail.ru](mailto:skupasht@mail.ru).

*Serdyuchenko Nikolay S.* – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Academician-Secretary. National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [lora323@mail.ru](mailto:lora323@mail.ru).