

УДК 611.817.1–018.82:612.1

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОВАЗАЛЬНЫХ СВЯЗЕЙ КОРЫ МОЗЖЕЧКА**

С.Г. Калиниченко, Н.Ю. Матвеева, П.А. Мотавкин

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Ключевые слова:** тормозные интернейроны, оксид азота, регуляция локального кровотока.**MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF NEYROVAZAL CONNECTIONS OF THE CEREBELLAR CORTEX**

S.G. Kalinichenko, N.Y. Matveeva, P.A. Motavkin

*Pacific State Medical University, (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation),*

**Summary.** In review summarized the literature and the results of authors studies of axovasal, and dendrovasal and somatovasal links inhibitory interneurons in the cerebellar cortex of humans and animals. Described associations related to the localization of constitutive nitroxide synthase in Lugaro cells, basket cell and afferent fibers. Substantiated position about dependence of local blood flow from impulse load of interneurons. Vasomotor effects of gamma-aminobutyric acid and nitric oxide are part of the joint regulatory pathways of neural activity that support specific background of activate or inhibitory impulsation and become internal factor in the dynamic organization of the modular structure of the cortex.

**Keywords:** *inhibitory interneurons, nitric oxide, local blood flow regulation.*

Pacific Medical Journal, 2015, No. 1, p. 26–29.

Надежная работа ансамблей нейронов нуждается в устойчивом метаболическом подкреплении, которое постоянно коррелирует с уровнем их функциональной активности. При прекращении снабжения мозга субстратами из крови, эндогенные ресурсы могут обеспечить нормальный метаболизм нейронов лишь в течение 10–15 мин у человека и около 5–10 мин у крысы [5]. Аноксия не только оказывает мощное деполяризующее действие на нейроны. Потенциация синаптического действия возбуждающих медиаторов является триггером патологических расстройств, связанных с гипоксией и окислительным стрессом, а изменения микроциркуляторного окружения нейронов дополняются на функциональном уровне дефицитом нейровазальной регуляции и тормозящих синаптических процессов [21, 26].

Наличие обильной сосудистой иннервации, а также влияние ее на величину просвета интракраниальных артерий служит серьезным доказательством в пользу участия нервной системы в регуляции кровообращения. Важный аспект этой проблемы – установление структур, с помощью которых реализуются эти влияния. Механизмы мозгового кровообращения функционируют в результате взаимодействия различных регуляторных факторов, среди которых интимальный (эндотелиозависимый) и нейровазальный признаны преобладающими. Эта задача

в значительной мере решена для магистральных и пияльных сосудов [6, 9, 11]. Однако нейробиология не располагает доказательствами существования специальных эффекторных нервных приборов в стенках безмышечных сосудов паренхимы мозга (капилляров, посткапиллярных венул). Между тем, известны феномены вазодилатации, колебаний интенсивности кровотока в микроциркуляторном русле и другой вазомотории в зависимости от нейрохимических условий ближайшего микроокружения. Стимуляция церебрального кровотока наблюдается при аппликации в серое вещество коры возбуждающих аминокислот – аспартата, глутамата или их агонистов [7, 10]. Поскольку эндотелий сосудов не экспрессирует рецепторы глутамата [8], предполагается, что эти эффекты опосредуются популяцией гамма-аминомасляная кислота (ГАМК)/нитроксидазических нейронов, получающих основной глутаматергический вход. Для регуляции тонуса кровеносных сосудов головного мозга этот факт имеет первостепенное значение, так как позволяет рассмотреть сосудистую подвижность в зависимости от импульсной активности локальных нейронных систем [4].

Интенсивность кровотока в микрососудах мозжечка, обслуживающих каждый корковый модуль, зависит от рабочей нагрузки его нейронов. Они получают иницирующий импульс по моховидным и лиановидным афферентным волокнам, передающим информацию, соответственно, на клетки-зерна и клетки Пуркинье. Стимуляция аксонов клеток-зерен повышает возбудимость клеток Пуркинье и усиливает внутрикоровую гемоциркуляцию, а блокада активности нейронов, напротив, снижает ее интенсивность [16, 20].

Степень продукции оксида азота соответствует медиаторной активности ГАМК-ергического интернейронов и пропорциональна уровню активации глутаматных рецепторов, расположенных в локусах их контактов с афферентным проводником [1, 18]. Возбужденные рецепторы обеспечивают мощный приток ионов кальция в цитоплазму нервной клетки, активируя кальмодулин и сцепленную с ним нитроксидсинтазу (NOS). Диапазон участия оксида азота в регуляции сосудистого тонуса зависит от соотношения активности возбуждающих и тормозящих элементов коры: нейроны, вовлеченные в генерацию высокочастотных разрядов, особенно в условиях гипоксии и окислительного стресса, способны экспрессировать индуцибельную изоформу нитроксидсинтазы [19, 34].

Матвеева Наталья Юрьевна – д-р мед. наук, доцент, заведующая кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ТГМУ; e-mail: nymatveeva@mail.ru

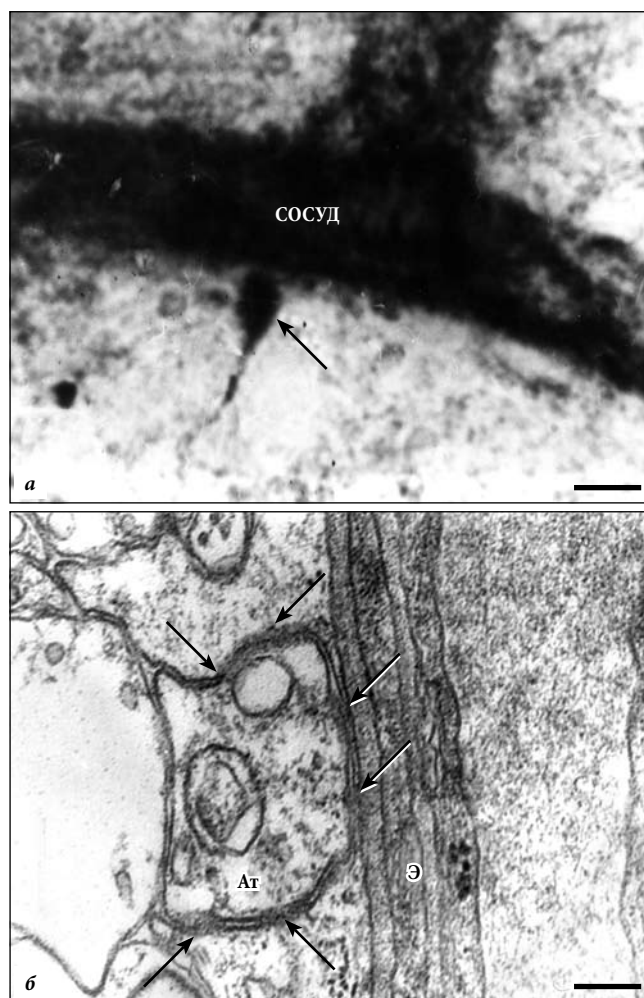


Рис. 1. Аксотовазальные отношения нитроксидергических интернейронов в коре мозжечка кролика:

*а* – тесная ассоциация NADPH-диафоразопозитивной аксонной терминали (стрелка) со стенкой микрососуда, проходящего на уровне инфраганглионарного сплетения; *б* – нитроксидергическая аксонная терминаль (Ат) плотно прилегает к базальной мембране эндотелиоцита (Э) и к дендритным профилям из своего ближайшего микроокружения, образуя с ними симметричные контакты (стрелки). Реакция на NADPH-диафорузу (препарат контрастирован уранил-ацетатом). Масштаб: *а* – 5 мкм, *б* – 1 мкм.

Сосудистый эндотелий с помощью нитроксид-синтазы в головном мозге синтезирует эндотелиозависимый релаксирующий фактор, чем объясняется окрашивание на препаратах стенок кровеносных сосудов, а нейроны, экспрессирующие нитроксид-синтазу, образуют аксотовазальные, дендро-вазальные и сомато-вазальные ассоциации, посредством которых оксид азота через паракринный механизм может оказывать выраженное сосудорасширяющее действие [2, 23]. Претерминальные участки дендритов интернейронов контактируют с клетками микрососудов, не вступая с ними в синаптическую связь. Здесь трансмембранная передача медиаторов происходит по типу асинаптических соединений. Наличие подобных отношений показано в спинном мозге, базальных ядрах переднего мозга и новой коре [12, 13, 24].

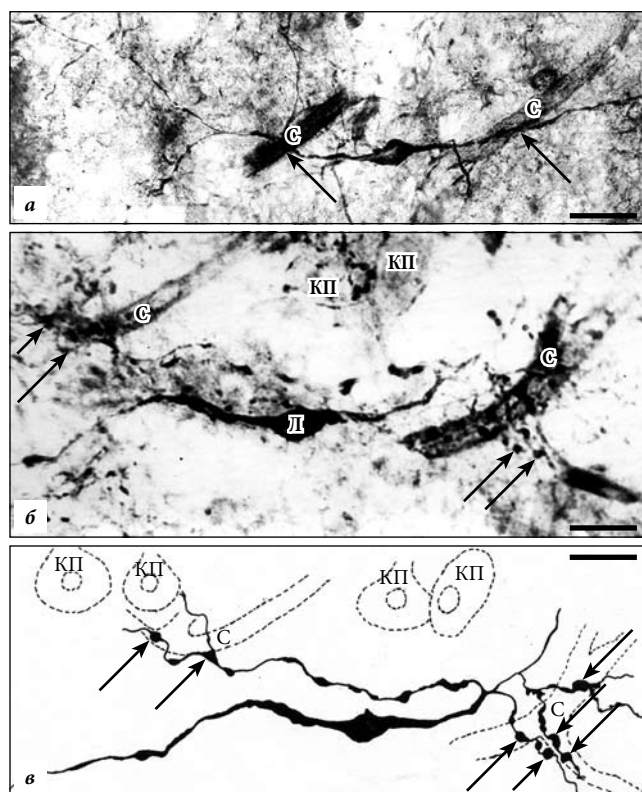


Рис. 2. Дендровазальные связи клеток Люгаро в коре мозжечка кролика:

*а* – ассоциации (стрелки) первичных дендритов клетки со стенками микрососудов (С); *б*, *в* – вторичные и третичные ветви дендритов распространяются на уровне инфраганглионарного сплетения, оплетают микрососуды (С) и, формируя крупные утолщения, плотно примыкают к их стенке. КП – тела NADPH-диафоразонегативных клеток Пуркинье. Реакция на NADPH-диафорузу: микрофото (*б*) и зарисовка (*в*). Масштаб: *а*, *б* – 20 мкм, *в* – 30 мкм.

Согласно нашим данным, у кролика ГАМК/нитроксидергические аксонные терминали формируют тесные ассоциации с микрососудами, проходящими на уровне инфраганглионарного сплетения волокон (рис. 1, *а*). На электроннограммах видно, что они плотно прилегают к базальной мембране капилляров, формируя симметричные и щелевые контакты, а в некоторых случаях контактируют с мембраной эндотелиоцитов (рис. 1, *б*). Поскольку клетки Пуркинье у животных не экспрессируют NOS, можно полагать, что эти связи образуют корзинчатые нейроны и клетки Люгаро, также адресующие сюда терминали своих аксонов.

Для большинства NOS-позитивных клеток Люгаро весьма характерна причастность к кровеносным сосудам не только аксонов, но также тел и отростков нейронов (рис. 2, *а*). Клеточное тело может локализоваться в месте бифуркации или слияния микрососудистых коммуникаций. Дендриты сопровождают сосуды, ассоциируясь с ними, оплетают их своими ветвями. В этом случае возникает рисунок сосудистого рецептора, типичного для афферентных проводников черепных нервов. Концевые отделы дендритов прослеживаются на расстоянии до 300 мкм от тела клетки. Их тонкие четковидные ветви прилегают к

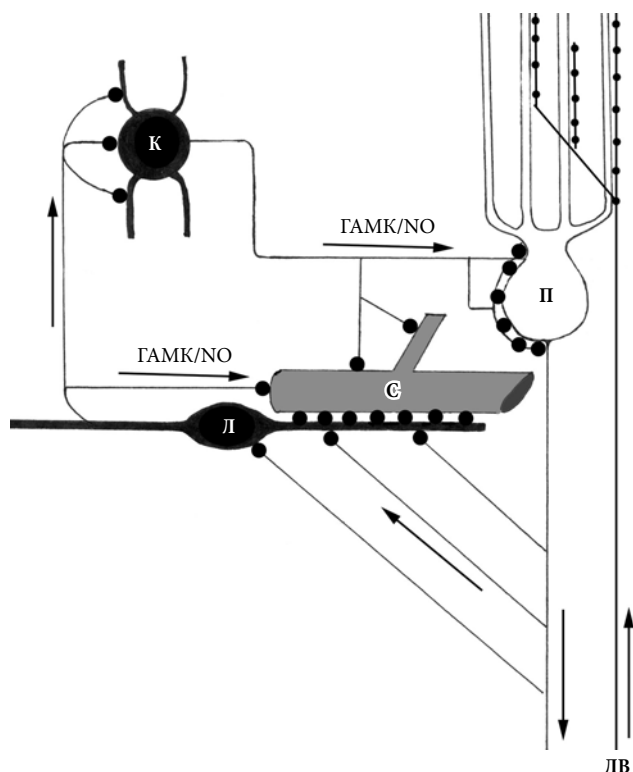


Рис. 3. Схема нейровазальных отношений и регуляции локального кровотока в коре мозжечка.

Возбуждение, поступающее по лиановидным волокнам, инициирует мощную деполяризацию нейронов Пуркинье, которая дополняется растормаживающим действием клеток Люгаро на корзинчатые нейроны. Интенсивность локального кровотока в микрососудах, обслуживающих данный кортикальный сегмент, регулируется посредством дендровазальных и аксозавальных связей тормозных нитроксидаергических интернейронов. Синергичное влияние ГАМК и оксида азота, синхронизированное с разрядами нейронов Пуркинье, реализуется в длительном расширении сосуда. ЛВ – лиановидное волокно, П – клетка Пуркинье, Л – клетка Люгаро, К – корзинчатый нейрон, С – микрососуд. Стрелки – направление циркуляции нервного импульса.

эндотелиоцитам, часто формируя вокруг них сетевидную манжетку (рис. 2, б, в), где, очевидно, происходит трансмембранная диффузия монооксида азота. Клетки Люгаро, меченные NADPH-диафоразой, выступают, по всей вероятности, в качестве нейросекреторных клеток, принимающих участие в регуляции тонуса нисходящих корковых артериол, особенно в точках или около точек их ветвления, содержащих интимальные подушки и прекапиллярные сфинктеры. В мозжечке человека существует альтернативный механизм этой регуляции. Клетки Люгаро здесь не синтезируют оксид азота, однако, экспрессируют предсердный натрийуретический пептид, участвующий в процессах локальной вазодилатации [2, 3, 25].

Из немногих имеющихся данных следует, что скопления нитроксидаергических интерстициальных клеток белого вещества также располагаются вблизи кровеносных сосудов. Они контролируют локальную регуляцию сосудистого тонуса на уровне подкоркового белого вещества, но насколько широко распространены клетки вдоль циркуляторной системы коры – известно мало, что затрудняет оценку

значения этих элементов в целом для регуляции подвижности мозговых сосудов [27, 33].

Таким образом, есть все основания говорить, что в сфере микроциркуляции в головном мозге ГАМК/нитроксидаергическим продуцентам принадлежит ключевая регулирующая роль. Тормозные клетки, выделяющие через мембрану своих отростков, преимущественно дендритов, оксид азота, наряду с оксидом азота, синтезируемым в эндотелии, вызывают дополнительное расширение микрососудов, которое колеблется в зависимости от соотношения уровней возбуждения и торможения клеток-мишеней (рис. 3).

Следует добавить, что кроме оксида азота, мощный релаксирующий эффект на стенку внутрикорковых артериол оказывает гамма-аминомасляная кислота, которая выделяется в участках периваскулярных контактов ГАМК-ергических нейронов [14, 17]. В коре мозжечка иммунореактивная гамма-аминомасляная кислота выявляется в цитоплазме эндотелиоцитов, а на люминальной поверхности капилляров обнаруживается система ее высокоаффинной транспортировки [29]. Расширение сосудов здесь опосредуется токами ионов через каналы ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов, расположенных на мембранах гладких мышечных клеток [15, 32].

Взаимодействием тел и отростков тормозных нитроксидаергических нейронов со стенкой корковых микрососудов, согласно предположению J. Regidor et al. [32], объясняется их устойчивость к гипоксии. Поскольку ГАМК/нитроксидаергические нейроны снижают возбуждающую функцию глутаматергических клеток коры, их влияние при нейродегенеративных и ишемических состояниях в большей степени представляется протективным. Нейротоксическая и защитная функции оксида азота широко обсуждаются в связи с исследованиями материала мозга, полученного в результате инсультов. Показано, что увеличение синтеза и секреции оксида азота в условиях гипоксии ускоряет кровоток, стимулирует NMDA-рецепторы и нейротрансмиттерную активность нейронов. Нитроксидаергические клетки устойчивы к гипоксии и дегенерации в модельных опытах по аппликации экзогенного NMDA и глутамата [22, 31]. Однако результаты исследований поведения оксида азота можно рассматривать с различных точек зрения и убедиться в том, что его протективные и нейротоксические действия часто следуют одно за другим [28, 35]. Многофакторный механизм этого действия связан с неодинаковым участием его молекул в модификации глутаматных рецепторов. Как нейротропектор, оксид азота стимулирует нитрозилирование белков NMDA-каналов, что приводит к их длительной десенситизации. При массивном же поступлении оксида азота, особенно в результате экспрессии индуцибельных изоформ NOS, компенсаторная функция данного механизма меняется на противоположную [30].

## Литература

1. Калининченко С.Г., Охотин В.Е., Мотавкин П.А. NO-ергическая функция клеток Люгаро и Гольджи коры мозжечка кролика // Цитология. 1997. Т. 39, № 2/3. С. 161–165.
2. Калининченко С.Г., Мотавкин П.А. Кора мозжечка. М.: Наука, 2005. 319 с.
3. Калининченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Самоорганизация нейронных систем и модульная архитектура головного мозга // Тихоокеанский мед. журнал. 2010. № 4. С. 8–11.
4. Коцюба А.Е., Черток В.М. Иммунолокализация цистатионин  $\beta$ -синтазы в ядрах моста головного мозга человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т. 155, № 2. С. 247–250.
5. Коцюба А.Е., Черток В.М. Гистофизиологическая и иммуногистохимическая локализация холинацетилтрансферазы в ядрах продолговатого мозга крыс // Цитология. 2013. Т. 55, № 11. С. 821–827.
6. Мотавкин П.А., Черток В.М. Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения. М.: Медицина, 1980. 200 с.
7. Мотавкин П.А., Пиголкин Ю.В., Каминский Ю.В. Гистофизиология кровообращения в спинном мозге. М.: Наука, 1994. 237 с.
8. Охотин В.Е., Калининченко С.Г. Интерстициальные клетки субкортикального белого вещества, их связи, нейрохимическая специализация и роль в гистогенезе коры // Морфология. 2002. Т. 121, № 1. С. 7–26.
9. Черток В.М., Коцюба А.Е. Иммунолокализация цистатионин  $\beta$ -синтазы и цистатионин  $\gamma$ -лиазы в стенке артерий головного мозга у нормо- и гипертензивных крыс // Докл. Акад. наук. 2012. Т. 445, № 5. С. 602–605.
10. Черток В.М., Коцюба А.Е. Распределения NADPH-диафоразы и нейрональной NO-синтазы в ядрах продолговатого мозга крысы // Морфология. 2013. Т. 144, № 6. С. 9–14.
11. Черток В.М., Коцюба А.Е. Новые нейротрансмиттеры и их роль в центральных механизмах регуляции кровообращения // Тихоокеанский мед. журнал. 2013. № 4. С. 27–36.
12. Baloyannis S.J. Pathological alterations of the climbing fibres of the cerebellum in vascular dementia: a Golgi and electron microscope study // Journal of the Neurological Sciences. 2007. Vol. 257, No. 1–2. P. 56–61.
13. Benagiano V., Roncali L., Virgintino D. [et al.] GABA immunoreactivity in the human cerebellar cortex: a light and electron microscopical study // Histochem. J. 2001. Vol. 33. P. 537–543.
14. Brand-Schieber E., Lowery S.L., Werner P. Select ionotropic glutamate AMPA/kainate receptors are expressed at the astrocyte vessel interface // Brain Res. 2004. Vol. 1007. P. 178–182.
15. Choi Y.B., Tenneti L., Le D.A. [et al.] Molecular basis of NMDA receptor-coupled ion channel modulation by S-nitrosylation // Nat. Neurosci. 2000. Vol. 3. P. 15–21.
16. Colasanti M., Suzuki H. The dual personality of NO // Trends Pharmacol. Sci. 2000. Vol. 21. P. 249–252.
17. D'Angelo E. The organization of plasticity in the cerebellar cortex: from synapses to control // Prog. Brain Res. 2014. Vol. 210. P. 31–58.
18. Edvinsson L., Mackenzie E.T., McCulloch J. Neurotransmitters: metabolic and vascular effects in vivo // Cerebral blood flow and metabolism. New York: Raven Press, 1993. P. 159–180.
19. Estrada C., DeFelipe J. Nitric oxide producing neurons in the neocortex: morphological and functional relationship with intraparenchymal microvasculature // Cereb. Cortex. 1998. Vol. 8. P. 193–203.
20. Faraci F.M., Breese K.R. Nitric oxide mediates vasodilatation in response to activation of N-methyl-D-aspartate receptors in brain // Circ. Res. 1993. Vol. 72. P. 476–480.
21. Fergus A., Lee K.S. GABAergic regulation of cerebral microvascular tone in the rat // J. Cereb. Blood Flow Metab. 1997. Vol. 17. P. 992–1003.
22. Gold L., Lauritzen M. Neuronal deactivation explains decreased cerebellar blood flow in response to focal cerebral ischemia or suppressed neocortical function // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. Vol. 99. P. 7699–7704.
23. Gragera R.R., Muniz E., Martinez-Rodriguez R. Electron microscopic immunolocalization of GABA and glutamic acid decarboxylase (GAD) in cerebellar capillaries and their microenvironment // Cellular and Molecular Biology. 1993. Vol. 39. P. 809–817.
24. Hicks T.P., Conti F. Amino acids as the source of considerable excitation in cerebral cortex // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1996. Vol. 74. P. 341–361.
25. Hull C., Regehr W.G. Identification of an inhibitory circuit that regulates cerebellar Golgi cell activity // Neuron. 2012. Vol. 73, No. 1. P. 149–158.
26. Iadecola C., Li J., Xu S., Yang G. [et al.] Neural mechanisms of blood flow regulation during synaptic activity in cerebellar cortex // J. Neurophysiol. 1996. Vol. 75. P. 940–950.
27. Lindauer U., Gethmann J., Kuhl M. [et al.] Neuronal activity-induced changes of local cerebral microvascular blood oxygenation in the rat: effect of systemic hyperoxia or hypoxia // Brain Res. 2003. Vol. 975. P. 135–140.
28. Lipton S.A. Neuronal protection and destruction by NO // Cell Death Differ. 1999. Vol. 6. P. 943–951.
29. Maex R., Steuber V. An integrator circuit in cerebellar cortex // Eur. J. Neurosci. 2013. Vol. 38, No. 6. P. 2917–2932.
30. Meyer G., González-Hernández T., Galindo-Mireles D. [et al.] NADPH-d activity in the islands of Calleja: a regulatory system of blood flow to the ventral striatum/pallidum? // NeuroReport. 1994. Vol. 5. P. 1281–1284.
31. McKenzie J.C., Juan Y.W., Thomas C.R. [et al.] Atrial natriuretic peptide-like immunoreactivity in neurons and astrocytes of human cerebellum and inferior olivary complex // J. Histochem. Cytochem. 2001. Vol. 49. P. 1453–1467.
32. Regidor J., Edvinsson L., Divac I. NOS neurones lie near branchings of cortical arterioles // NeuroReport. 1993. Vol. 4. P. 112–114.
33. Rieubland S., Roth A., Häusser M. Structured connectivity in cerebellar inhibitory networks // Neuron. 2014. Vol. 81, No. 4. P. 913–929.
34. Schilling K., Oberdick J., Rossi F. [et al.] Besides Purkinje cells and granule neurons: an appraisal of the cell biology of the interneurons of the cerebellar cortex // Histochem. Cell. Biol. 2008. Vol. 130, No. 4. P. 601–615.
35. Zang Y., Liu G.Q. Sodium and chloride dependent high and low affinity uptakes of GABA by brain capillary endothelial cells // Brain Res. 1998. Vol. 808. P. 1–7.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, научный проект № 14-33-00009.*

*Поступила в редакцию 19.11.2014.*

#### **Морфофункциональная характеристика нейроваскулярных связей коры мозжечка**

С.Г. Калининченко, Н.Ю. Матвеева, П.А. Мотавкин  
Тихоокеанский государственный медицинский университет  
(690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Резюме.** В обзоре суммированы данные литературы и результаты собственных исследований авторов аксо-, дендро- и соматоваскулярных связей тормозных интернейронов в коре мозжечка человека и животных. Описанные ассоциации относятся к локализации конститутивной нитроксидсинтазы в клетках Люгаро, корзинчатых нейронах и афферентных волокнах. Обосновывается положение о зависимости локального кровотока от импульсной нагрузки интернейронов. Вазомоторные эффекты гамма-аминомасляной кислоты и оксида азота являются частью общих путей регуляции нервной активности, которые поддерживают специфический фон возбуждающей или тормозящей импульсации и становятся внутренним фактором в динамической организации модульной структуры коры.

**Ключевые слова:** тормозные интернейроны, оксид азота, регуляция локального кровотока.