

ОСОБЕННОСТИ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ АСТРОЦИТОВ

Обзор

© 2024 А.М. Косенков*, С.А. Майоров, С.Г. Гайдин

ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»,
Институт биофизики клетки РАН, 142290 Пущино, Московская обл., Россия;
электронная почта: kosenkov406@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.12.2023

После доработки 24.04.2024

Принята к публикации 25.04.2024

NMDA-рецептор астроцитов представляет собой гетеротетрамер, состоящий из 7 разных субъединиц. Экспрессия и свойства рецептора во многом определяются его субъединичным составом. Астроцитарные NMDA-рецепторы обладают своими функциональными особенностями – они слабо чувствительны к ионам магния и обладают низкой кальциевой проводимостью. Активация NMDA-рецепторов астроцитов играет важную роль в регуляции внутриклеточных процессов, таких как экспрессия генов и работа митохондрий. NMDA-рецепторы участвуют в кальциевой сигнализации астроцитов и могут активироваться как ионотропным, так и метаботропным путем. Астроцитарные NMDA-рецепторы участвуют в нейроглиальных взаимодействиях, влияя на синаптическую пластичность. Они также задействованы в астро-васкулярных взаимодействиях и играют роль в регуляции тонуса сосудов. NMDA-рецепторы астроцитов участвуют в патологических состояниях, таких как ишемия и гипераммониемия. Их блокирование предотвращает негативные изменения в астроцитах при этих патологиях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: астроциты, NMDA-рецепторы, нейроглиальные взаимодействия, нейропатологии.

DOI: 10.31857/S0320972524060069 EDN: XMERNL

ВВЕДЕНИЕ

Нейротрансмиттерные рецепторы N-метил-D-аспартата (NMDA-рецепторы) широко распространены в центральной нервной системе и играют ключевую роль в процессах синаптической пластичности, обучения и памяти. В течение многих лет исследования были сосредоточены на изучении NMDA-рецепторов нейронов, в частности, их роли в возникновении долговременной потенциации и депрессии в гиппокампе и коре головного мозга. Однако в последние годы было установлено, что NMDA-рецепторы также экспрессируются глиальными клетками, в частности, астроцитами.

Экспрессия функционально активных NMDA-рецепторов на астроцитах была продемонстрирована с использованием различных подходов, включая электрофизиологию, кальциевый имиджинг и фармакологический анализ. Тем не менее физиологические свойства и функциональная роль NMDA-рецепторов астроцитов до конца не ясны и требуют дальнейшего всестороннего изучения.

Одной из проблем, с которой сталкиваются исследователи в данном направлении, является сложность отделить эффекты NMDA-рецепторов, экспрессируемых астроцитами, от нейрональных. В связи с этим большая часть информации о функциях NMDA-рецепторов астроцитов получена либо

Принятые сокращения: ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; ЛПС – липополисахариды; МК-801 – дизоцилин, блокатор пор рецептора NMDA; Т/Н – ток/напряжение; ЭР – эндоплазматический ретикулум; Аβ – бета-амилоид; AP-5 – антагонист глутамата; BDNF – нейротрофический фактор мозга; ERK – экстраклеточная сигнал-регулируемая киназа; GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок; NBQX – 2,3-диоксо-6-нитро-7-сульфамоилбензо[f]хиноксалин; NMDA-рецепторы – рецепторы N-метил-D-аспартата; nNOS – нейрональная NO-синтаза; NOS1 – синтаза оксида азота 1; TNF – фактор некроза опухоли; TTX – тетродотоксин.

* Адресат для корреспонденции.

с использованием астроцитарных культур, либо на изолированных астроцитах. Накопленные данные свидетельствуют о том, что NMDA-рецепторы астроцитов не только влияют на сами астроциты, но также играют важную роль во взаимодействии с нейронами, регуляции сосудистого тонуса в мозге и других процессах. Кроме того, эти рецепторы играют роль и при патологических состояниях, таких как гипераммониемия, ишемия и болезнь Альцгеймера.

Данный обзор охватывает всю историю изучения NMDA-рецепторов астроцитов от момента первых исследований, когда только предполагалось наличие данных рецепторов на глиальных клетках, до настоящего времени. Целью обзора является систематизация накопленных к данному моменту знаний об экспрессии, свойствах и функциях астроцитарных NMDA-рецепторов как в норме, так и при патологиях.

СТРУКТУРА NMDA-РЕЦЕПТОРОВ

NMDA-рецептор относится к подтипу ионотропных глутаматных рецепторов, куда также входят AMPA- и каинатные рецепторы. NMDA-рецепторы – гетеротетрамеры, собирающиеся из комбинации 7 субъединиц, разделенных на 3 подсемейства: GluN1, GluN2 (A, B, C и D) и GluN3 (A и B) [1], которые кодируются генами *Grin1*, *Grin2* (*a*, *b*, *c* и *d*) и *Grin3* (*a* и *b*) соответственно. Структурное разнообразие NMDA-рецептора расширяется также за счет посттранскрипционного процессинга РНК GluN1-субъединицы, что дает 8 различных сплайс-вариантов. В составе NMDA-рецепторов всегда присутствуют 2 субъединицы GluN1 в комбинации с субъединицами GluN2 и/или GluN3.

NMDA-рецепторы отличаются от других лиганд-зависимых ионотропных рецепторов тем, что имеют потенциал-зависимую Mg^{2+} -блокировку; высокую кальциевую проводимость и для активации им необходимо связывание с коагонистом (глицин или D-серин). Свойства рецептора определяются его субъединичным составом и в особенности зависят от GluN2-субъединиц. Дигетеромерные рецепторы, содержащие GluN2A/GluN2B, имеют более высокую проводимость и проницаемость для Ca^{2+} , чувствительны к Mg^{2+} -блоку в сравнении с дигетеромерными рецепторами, содержащими GluN2C/GluN2D. Тригетеромерные рецепторы, имеющие в составе GluN3-субъединицу, имеют наименьшую чувствительность к Mg^{2+} -блоку. Чувствительность NMDA-рецепторов к Mg^{2+} -блоку зависит от варианта GluN2-субъединицы; они располагаются по чувствительности следующим образом (в порядке возрастания): GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D. Состав рецеп-

тора также определяет его чувствительность к протонам, полиаминам и цинку. Ионы цинка являются высокоспецифичными антагонистами GluN1-/GluN2A-содержащих рецепторов, а протоны преимущественно ингибируют GluN2B- или GluN2D-содержащие рецепторы. В свою очередь, экстраклеточные полиамины выступают в качестве позитивных аллостерических модуляторов – GluN2B-содержащих NMDA-рецепторов. Полиамины связываются с N-концевым доменом, тем самым стабилизируют GluN1-/GluN2-димер, что приводит к потенциации активности рецептора, в том числе за счет повышения аффинности к коагонисту, глицину [2].

Таким образом, NMDA-рецепторы представляют собой структурно и функционально разнообразный класс глутаматных рецепторов, обладающих уникальными свойствами, такими как высокая проводимость по ионам кальция, потенциал-зависимая магниевая блокада и необходимость связывания коагониста для активации. Разнообразие субъединичного состава NMDA-рецепторов определяет их фармакологические, биофизические и регуляторные особенности. В частности, присутствие разных субъединиц GluN2 влияет на чувствительность рецепторов к ионам магния, протонам, цинку и полиаминам. Благодаря структурно-функциональной гетерогенности NMDA-рецепторы выполняют широкий спектр физиологических функций и играют ключевую роль в процессах синаптической пластичности, обучения и памяти.

ЭКСПРЕССИЯ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ НА АСТРОЦИТАХ

NMDA-рецепторы преимущественно экспрессируются на постсинаптической мембране нейронов, но и на пресинаптической, где они, в частности, облегчают кратковременную пластичность [3]. Активация постсинаптических рецепторов играет важную роль в передаче сигнала и нейрональной пластичности. NMDA-рецепторы также экспрессируются и различными глиальными клетками, такими как олигодендроциты, микроглия и астроциты. Данный обзор посвящен именно астроцитарным NMDA-рецепторам. К настоящему моменту накопилось много работ, демонстрирующих экспрессию различных субъединиц NMDA-рецептора как на уровне РНК, так и на белковом уровне (таблица). Тем не менее есть и противоречивые данные о наличии функциональных рецепторов на астроцитах гиппокампа. Так, в работах Li et al. [4] и Zhang et al. [5] была установлена экспрессия субъединиц GluN1, GluN2A, GluN2B астроцитами на белковом уровне в смешанных

Экспрессия субъединиц NMDA-рецептора

Модель	Метод исследования	Экспрессия субъединиц	Источник
Первичные культуры кортикальных астроцитов мыши	ПЦР	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b, Grin2c, Grin2d, Grin3a, Grin3b</i>	[7]
	ИЦХ	положительная: GluN1	
	Вестерн-блот	положительная: GluN1	
Клеточная культура кортикальных астроцитов крысы	ПЦР	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b, Grin2c, Grin2d, Grin3a, Grin3b</i>	[8]
	ИЦХ	положительная: GluN1, GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D, GluN3A, GluN3B	
Ткань мозга взрослых доноров (человек)	ПЦР	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b, Grin2c, Grin2d, Grin3a, Grin3b</i>	[9]
	ИЦХ	положительная: GluN1, GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D, GluN3A, GluN3B	
Выделенные кортикальные GFAP-/EGFP-положительные клетки мыши	РВ-ПЦР	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b, Grin2c, Grin2d, Grin3a</i>	[10]
Клетки коры мыши	ПЦР одной клетки	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b, Grin2c, Grin3a</i>	[11]
		отрицательная: <i>Grin2d, Grin3b</i>	
Клеточные суспензии из кортикального слоя мыши, очищенные путем активируемой флуоресценцией сортировки клеток, астроциты	ПЦР одной клетки	положительная: <i>Grin1, Grin2B, Grin2C</i>	[12]
		отрицательная: <i>Grin2a, Grin2d, Grin3</i>	
Первичные культуры корковых астроцитов мыши	РВ-ПЦР	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b</i>	[13]
	ИЦХ	положительная: GluN1, GluN2B	
Первичные культуры корковых астроцитов крысы	РВ-ПЦР	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b</i>	[14]
	Вестерн-блот	положительная: GluN2A, GluN2B	
Срезы гиппокампа GFAP-GFP трансгенных мышей FVB/N	ПЦР одной клетки	положительная: <i>Grin1, Grin2a, Grin2b, Grin2c</i>	[5]
Первичные культуры корковых астроцитов крысы	ИЦХ	положительная: GluN2B	[15]
Первичные культуры корковых астроцитов крысы	ИЦХ	положительная: GluN2B	[16]
Смешанные культуры гиппокампа крысы	ИЦХ	положительная: GluN1, GluN2A, GluN2B	[17]
Гиппокамп взрослой крысы	ИГХ	отрицательная: GluN1, GluN2B	[6]

Примечание. ИЦХ – иммуноцитохимия; ИГХ – иммуногистохимия; РВ-ПЦР – полимеразная цепная реакция в реальном времени; GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок.

культурах гиппокампа и уровне РНК в срезах гиппокампа. Однако в работе Krebs et al. [6] субъединицы GluN1 и GluN2B не были обнаружены в срезах и культурах гиппокампа крысы. В связи с

этим в рамках данного обзора большее внимание будет уделено роли NMDA-рецепторов на кортикальных астроцитах, для которых доказана возможность экспрессии всех субъединиц.

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ АСТРОЦИТОВ

Значительный массив данных об электрофизиологических свойствах астроцитарных NMDA-рецепторов был получен с использованием изолированных кортикальных астроцитов мыши [18–20]. Было показано, что NBQX (2,3-диоксо-6-нитро-7-сульфамойлбензо[f]хиноксалин, антагонист AMPA-рецепторов) подавляет первоначальный быстрый пик ответа на глутамат, а D-AP5 (конкурентный ингибитор NMDA-рецепторов) подавляет устойчивый компонент глутамат-индуцированных токов [18]. NMDA-индуцированные концентрационно-зависимые токи имели место в подавляющем большинстве астроцитов (47 из 54 проверенных астроцитов). При этом отношение ток/напряжение (Т/Н) было близко к линейному, что характерно для протоплазматических астроцитов. Пороговая концентрация NMDA составила 30 нМ, а EC50 = 0,34 мкМ. Кроме того, глицин и D-серин не только усиливали NMDA-токи в астроцитах, но и выступали в роли слабых агонистов NMDA-рецепторов в астроцитах, но не в нейронах. В нейронах D-серин выступал в роли коагониста, усиливая NMDA-токи [18, 20].

Важно отметить, что в астроцитах вызванные NMDA токи отличались от нейрональных. Во-первых, было показано, что проницаемость NMDA-рецепторов в астроцитах для кальция заметно ниже, чем в нейронах [19]. Во-вторых, вызываемые NMDA токи в нейронах были максимальными при мембранном потенциале, равном –40 мВ, а отношение Т/Н характеризовалось отрицательным наклоном проводимости между –80 и –40 мВ, что указывает на наличие магниевого блока при гиперполяризованном потенциале. В астроцитах, напротив, вызываемые NMDA токи практически линейно зависели от мембранного потенциала и практически не зависели от концентрации внеклеточного магния. Это указывает на слабую чувствительность или полное отсутствие магниевого блока [18]. Однако в более ранней работе, проведенной на мышинных кортикальных астроцитах в срезах, было показано, что, несмотря на то что при низкой концентрации магния во внеклеточном растворе (1,3 мМ MgCl₂), астроциты имеют практически линейное отношение ток/напряжение в ответ на NMDA; 4 мМ магния во внеклеточной среде частично подавляет ответ на NMDA в астроцитах, а 10 мМ – полностью подавляет [12]. Такое различие, как предполагают авторы, может быть связано с различием использованных моделей, поскольку диффузионные барьеры и косвенные эффекты могут вызывать значительные трудности при интерпретации полученных на срезах

данных. Тем не менее данная работа показывает наличие функционально активных NMDA-рецепторов на астроцитах в срезах, поскольку добавка NMDA производилась в присутствии коктейля ингибиторов потенциал-зависимых натриевых каналов и AMPA-рецепторов.

Приведенные выше данные касательно электрофизиологических свойств NMDA-рецепторов относятся к астроцитам, характеризующимся линейным отношением Т/Н, что характерно для протоплазматических астроцитов [12, 18]. NMDA-индуцированные токи в этих астроцитах имели практически линейное отношение Т/Н и потенциал реверсии близкий к 0 мВ [12, 18, 19]. Однако в работе Kondoh et al. [21] с использованием культур человеческих астроцитов, полученных из ткани белого вещества, окружающего метастазирующую опухоль мозга, было показано, что NMDA (1 мМ) может вызывать токи в астроцитах, характеризующиеся выходящим выпрямлением и потенциалом реверсии при 0 мВ. В данной работе также было показано, что внеклеточный магний (2 мМ) подавляет ответ на NMDA почти в 2 раза. Таким образом, отсутствие магниевого блока на NMDA-рецепторах астроцитов было показано только на изолированных астроцитах коры мыши. Астроциты в срезах и культурах имеют меньшую чувствительность к магнию, в сравнении с нейронами, но все же ингибируются при высокой концентрации магния. Однако, так как данные по культурам были получены на клетках человека, может иметь место видовое различие. Кроме того, в данной работе было показано, что глицин усиливает вызванные NMDA токи, и NMDA-рецепторы астроцитов имеют меньшую кальциевую проводимость, чем NMDA-рецепторы нейронов [21], что согласуется с другими работами [19].

Первые электрофизиологические данные, демонстрирующие наличие функциональных NMDA-рецепторов на астроцитах гиппокампа, появились только в 2008 году. В работе Serrano et al. [22] с использованием срезов гиппокампа мыши было показано, что астроциты гиппокампа отвечают кальциевым подъемом и возникновением входящих токов в ответ на добавку NMDA. При этом в астроцитах, имеющих различные отношения ток/напряжение, ответ на NMDA также различается. В данной работе сравнивались свойства NMDA-индуцированных токов в астроцитах, имеющих линейное отношение ток/напряжение, и в астроцитах, у которых Т/Н характеризуется выходящим выпрямлением, которые, как предполагают авторы, могут быть не астроцитами, а NG2-глией. В «линейных» астроцитах ответ на NMDA пролонгированный и развивается долго, в течение минут, в то время как у «выпрямляющих» астроцитов ответ быстрее и осцилляторный. Ингибиторный

анализ показал, что в линейных астроцитах ответ на аппликацию NMDA во многом зависит от нейрональной активности, поскольку он значительно подавлялся в присутствии ТТХ (тетродотоксин; ингибитор потенциал-зависимых натриевых каналов), а также ингибитора глутаматных транспортеров. Тем не менее в присутствии ТТХ ответ сохранялся, что подтверждает наличие функциональных NMDA-рецепторов непосредственно на астроцитах. В среде с низким содержанием кальция ответ снижался, что говорит о кальциевой проводимости данного рецептора. В свою очередь, в «выпрямляющих» астроцитах ответ на NMDA во многом был за счет прямого действия на NMDA-рецепторы астроцитов, поскольку ТТХ, ингибиторы глутаматных транспортеров, ингибиторы рецепторов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК(А) и ГАМК(Б)) не оказывали значительного влияния. При этом среда с низким содержанием кальция практически отменяла ответ на NMDA, что указывает на высокую кальциевую проводимость NMDA-рецепторов «выпрямляющих» астроцитов.

Таким образом, результаты электрофизиологических исследований свидетельствуют о присутствии функциональных NMDA-рецепторов на астроцитах головного мозга млекопитающих. При этом NMDA-рецепторы астроцитов обладают рядом отличительных свойств, по сравнению с нейрональными NMDA-рецепторами, включая более низкую проницаемость для кальция, слабую чувствительность или отсутствие магниевого блока, а также линейное отношение ток/напряжение NMDA-индуцированных токов в изолированных клетках.

КАЛЬЦИЕВЫЕ СИГНАЛЫ АСТРОЦИТОВ В ОТВЕТ НА АКТИВАЦИЮ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ

Наличие функционально активных NMDA-рецепторов на астроцитах также было показано с помощью кальциевого имиджинга. В ответ на добавление NMDA кальциевый подъем регистрировался в изолированных астроцитах коры [19, 20], в срезах коры и гиппокампа мыши [11, 12, 22], культурах кортикальных астроцитов [7, 8, 14, 16, 23, 24], а также в астроцитах белого вещества на изолированном оптическом нерве [25]. В культурах астроцитов гиппокампа NMDA не вызывал кальциевый ответ [26]. В работах с использованием срезов и культур было показано, что ответ на NMDA более выражен в отростках астроцитов и возникает там раньше [11, 12]. При этом ответ возникает не во всех отростках. В остальных работах флуоресцентный сигнал снимался с тела кле-

ток, поэтому нельзя точно сказать имеет ли место такой ответ во всех астроцитах в разных экспериментальных моделях. Тем не менее ранее на срезах коры крысы было показано, что субъединицы GluN1 и GluN2A/B преимущественно содержатся на отростках астроцитов, а не на телах [27]. Также на срезах было показано, что ответ на NMDA может быть гетерогенным и наблюдаться не у всех астроцитов, и возникать, как правило, с небольшой задержкой (примерно 30 с) [11, 22].

На кортикальных астроцитарных культурах показано, что NMDA вызывает дозозависимое увеличение кальция в астроцитах. Ответ может возникать, начиная от 100 нМ [16]. Несмотря на то что в трех работах, проведенных на кортикальных астроцитарных культурах [8, 14, 16], скорость и форма ответа на NMDA варьировалась (что, возможно, связано с различной концентрацией NMDA), в них было показано, что кальциевый ответ сохраняется в безкальциевой среде у большинства астроцитов. Более того, эксперименты с использованием ингибитора саркоэндоплазматической АТФазы и районодиновых рецепторов показывают, что основным источником притока кальция является эндоплазматический ретикулум (ЭР) [8, 14]. Предполагается, что, помимо ионотропного действия NMDA-рецепторов астроцитов, рецепторы могут активироваться и по метаболитному пути, который приводит к мобилизации кальция из ЭР. Кроме того, полученные результаты также подтверждают электрофизиологические данные, согласно которым NMDA-рецепторы астроцитов имеют низкую кальциевую проводимость [19, 21], и в ответ на активацию NMDA-рецепторов подъем кальция в астроцитах возникает вследствие выхода кальция из ЭР и последующего депо-управляемого входа кальция из внеклеточного пространства.

Таким образом, данные, полученные с использованием кальциевого имиджинга, подтверждают наличие функциональных NMDA-рецепторов на астроцитах, проводящих кальций. По всей видимости, они преимущественно располагаются на отростках астроцитов. Кроме того, интересной особенностью астроцитарных NMDA-рецепторов является то, что они способны активироваться и по метаболитному пути, сопровождающемуся повышением внутриклеточного кальция из внутриклеточных депо. Для нейрональных NMDA-рецепторов также сообщалось, что они способны оказывать физиологические эффекты независимо от притока ионов через рецептор, которые также сопровождаются увеличением внутриклеточного кальция [28]. Таким образом, данная особенность NMDA-рецепторов заслуживает дальнейшего изучения в контексте функционирования как нейронов, так и астроцитов.

ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ И СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ АСТРОЦИТОВ

Наиболее часто используемыми ингибиторами NMDA-рецептора являются AP-5 и МК-801. Данные ингибиторы являются не селективными в отношении субъединичного состава рецептора, однако различаются типом ингибирования. AP-5 является конкурентным ингибитором и блокирует сайт связывания глутамата, в то время как МК-801 является неконкурентным, блокирует пору рецептора, что препятствует току ионов через рецептор. Как было показано с использованием различных моделей, оба ингибитора эффективно подавляют токи, вызванные NMDA в астроцитах [12, 18]. Однако, в отличие от AP-5 [11, 16, 25], МК-801 не отменяет кальциевый ответ в астроцитах при аппликации NMDA, что отчасти подтверждает наличие метаболитного пути активации NMDA-рецепторов астроцитов, независимого от притока ионов через сам рецептор [8, 11, 16, 25, 29].

Существуют селективные в отношении различных субъединиц NMDA-рецептора ингибиторы – ифенпродил, мемантин и UBP141. В экспериментах, проведенных на изолированных кортикальных астроцитах, было показано, что ифенпродил (негативный аллостерический модулятор GluN2B-содержащих NMDA-рецепторов) не влияет на токи, вызванные NMDA [20]. Однако теми же авторами ранее было показано, что ифенпродил снижал амплитуду токов, вызванных NMDA, примерно в 30% астроцитов [18]. Авторы связывают такое различие с различным возрастом мышей (28–56 дней и 17–22 дня соответственно). В другой работе с использованием крысиных кортикальных астроцитарных культур было показано, что ифенпродил отменяет NMDA-индуцированный кальциевый сигнал [16]. Точного ответа о причинах различного влияния ифенпродила в разных работах нет, это может быть связано с различием в модели, возрасте или виде животных. В целом, основные выводы касательно субъединичного состава NMDA-рецепторов основаны на работе Palygin и Pankratov [20], в которой была дана подробная фармакологическая и функциональная характеристика NMDA-рецепторов астроцитов коры. На основе чувствительности к различным ингибиторам и слабовыраженному магниевому блоку авторы предполагают, что астроциты должны экспрессировать тригетеромерные рецепторы, состоящие из GluN1-, GluN2C-/D- и GluN3-субъединиц. Данное предположение отчасти подтверждается данными иммуногистохимии, в которых подтверждено наличие GluN2C, GluN3A [11, 30, 31] в срезах коры. Однако с использованием метода *in situ* гибридизации было показано, что в телеэнцефалоне, в част-

ности, в гиппокампе и коре, мРНК, кодирующая GluN2C, почти эксклюзивно экспрессируется не нейрональными клетками, в то время как мРНК, кодирующая GluN2D, в основном экспрессируется нейронами [32]. Таким образом, в астроцитах тригетеромерные рецепторы, скорее всего, содержат именно GluN2C-субъединицу.

ФУНКЦИИ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ АСТРОЦИТОВ

Одной из первых работ, в которой упоминаются NMDA-рецепторы астроцитов, является работа Chan et al. [33], в которой показано, что блокатор NMDA-рецепторов МК-801 значительно снижает глутамат-индуцированное набухание астроцитов в первичной культуре кортикальных астроцитов. Однако, поскольку в то время не было доказательств, что данные рецепторы присутствуют на астроцитах, авторы предположили, что МК-801 оказывает свой эффект не через NMDA-рецепторы. Тем не менее в настоящий момент не найдено других мишеней для МК-801 и, следовательно, можно предполагать, что набухание астроцитов предотвращалось именно за счет блокирования NMDA-рецепторов. Позднее, с использованием схожей модели было показано, что МК-801, кетамин и фенциклидин (соединения, которые блокируют непосредственно пору NMDA-рецептора) вызывают дозозависимое снижение захвата глутамата астроцитами [34]. МК-801 также снижал захват ГАМК. При этом антагонисты сайта связывания глутамата AP-5 и CGS-19775 и антагонист глицинового сайта связывания HA-966 не влияли на захват глутамата. Кроме того, МК-801 при концентрации 10 мкМ и выше вызывал дозозависимую деполяризацию мембранного потенциала астроцитов, и при концентрации 1 мМ деполяризация составляла примерно 30 мВ (от –60 до –30 мВ). Помимо этого, МК-801 увеличивал отток аспартата, который является медленно метаболизирующимся аналогом глутамата, также являющегося субстратом глутаматных транспортеров. Авторы предполагают, что снижение захвата глутамата и ГАМК при добавлении МК-801 связано с падением мембранного потенциала, что нарушает ионные градиенты и работу глутаматных транспортеров. Longuemare et al. [34] также не связывают действие МК-801 непосредственно с блокированием NMDA-рецепторов астроцитов, поскольку считали, что данные рецепторы на астроцитах не экспрессируются. Тем не менее полученные в работе данные могут отчасти объяснять результаты работы Chan et al. [33], поскольку именно снижение захвата глутамата может объяснять предотвращение набухания астроцитов при действии МК-801. Таким образом, учитывая данные

результаты, можно сделать вывод, что одной из функций NMDA-рецепторов астроцитов является поддержание мембранного потенциала, при этом, по всей видимости, в данном случае связывание глутамата или глицина с самим рецептором не является необходимым условием.

Помимо поддержания мембранного потенциала, NMDA-рецепторы астроцитов также, возможно, обладают механочувствительностью. Для нейрональных NMDA-рецепторов уже давно известно, что они обладают механочувствительностью, реагируя на такие стимулы, как растяжение, увеличением ионной проводимости, в том числе и кальциевой проводимости [35, 36]. Касательно подобных свойств NMDA-рецепторов астроцитов, существует работа Maneshi et al. [37], в которой показано, что сдвиг потока жидкости в модели ЧМТ (черепномозговая травма) приводит к кальциевому подъему в культурах крысиных астроцитов. Кальциевый ответ в данном случае отменялся в присутствии МК-801, кетамина и мемантина, однако сохранялся при использовании AP-5 (антагонист глутамата) и ифенпродила (GluN2B-селективного ингибитора). Эти данные могут свидетельствовать об активации NMDA-рецепторов без участия глутамата. На основе результатов, полученных с использованием экспрессионной системы клеток яичника китайского хомячка (CHO), авторы предположили, что за механочувствительность NMDA-рецепторов отвечают субъединицы GluN1 и GluN2A. В случае нейрональных NMDA-рецепторов было показано, что за механочувствительность отвечает GluN2B-субъединица [38]. Таким образом, NMDA-рецепторы астроцитов способны чувствовать изменение давления тока жидкости, что приводит к кальциевому притоку через NMDA-рецепторы и, возможно, последующему выходу кальция из ЭР. Данные события могут происходить при травматических повреждениях мозга. Как было сказано ранее, активация NMDA-рецепторов может приводить к приток-независимой мобилизации кальция из ЭР, что указывает на потенциальный неканонический метаболитный путь активации этих рецепторов на астроцитах [8]. Позднее, этой же группой авторов было установлено, что NMDA-рецепторы чувствительны к рН внешней среды [39]. Оказалось, что закисление внеклеточной среды до значения рН = 6 приводит к приток-независимой NMDA-рецептор-опосредованной мобилизации кальция из ЭР. Также было установлено, что добавление агониста при рН = 6 приводит к падению потенциала митохондриальной мембраны ($m\Delta\Psi$), которое сопровождается сближением митохондрий с ЭР и ядром, а также возникновением мостиков между плазматической мембраной и митохондриями. Активация NMDA-рецепторов в результате нейрональной

активности также влияет на трафик и позиционирование митохондрий в отростках астроцитов [40]. NMDA-зависимое повышение кальция приводит к снижению мобильности митохондрий и удержанию их в отростках вблизи синапсов. Данный процесс регулируется митохондриальной Rho-GTPазой Miro1. Таким образом, NMDA-рецепторы способны регулировать трафик митохондрий как в теле, так и отростках астроцитов в ответ на нейрональную активность, сопровождающуюся секрецией глутамата. Также этот процесс зависит от внеклеточного рН, снижение которого само по себе может активировать NMDA-рецепторы.

Таким образом, часть своего физиологического влияния на астроциты NMDA-рецепторы могут оказывать без непосредственного связывания с агонистом или в результате метаболитной активности. Кроме того, астроцитарные NMDA-рецепторы обладают механо- и рН-чувствительностью, что сопровождается мобилизацией кальция из ЭР в ответ на сдвиг потока жидкости и закисление внеклеточной среды соответственно.

ВЛИЯНИЕ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ И ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ СИГНАЛИЗАЦИЮ

Блокирование NMDA-рецептора влияет на экспрессию генов в астроцитах (рис. 1). На культурах кортикальных астроцитов было показано, что добавление ингибитора поры NMDA-рецептора МК-801 увеличивает экспрессию мРНК аминокотрансферазы кенурина II [41]. Аммоний также увеличивал количество мРНК данного фермента, при этом добавление МК-801 к аммонии еще сильнее его увеличивало. В свою очередь, добавление NMDA не оказывало влияния на экспрессию. В другой работе с использованием аналогичной модели было продемонстрировано, что добавление МК-801 или конкурентного антагониста NMDA-рецепторов AP-5 приводит к увеличению экспрессии Kir4.1 как на уровне РНК, так и на уровне белка [42]. В данном случае обработка астроцитов глутаматом или NMDA, наоборот, снижала экспрессию Kir4.1 как на белковом, так и на уровне РНК, которая отменялась в присутствии ингибиторов. При использовании культур гиппокампальных астроцитов было продемонстрировано, что МК-801 вызывает усиление экспрессии GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок), BDNF (нейротрофический фактор мозга), TrkB (киназа рецептора тропомиозина B) и p75 на уровне РНК и белка [43]. Дальнейшие эксперименты показали, что усиление экспрессии BDNF в ответ на применение МК-801 значительно подавляется при совместном применении антагониста с NMDA, а также блокируется после предобработки с ингибитором PI3K (фосфоинотизид

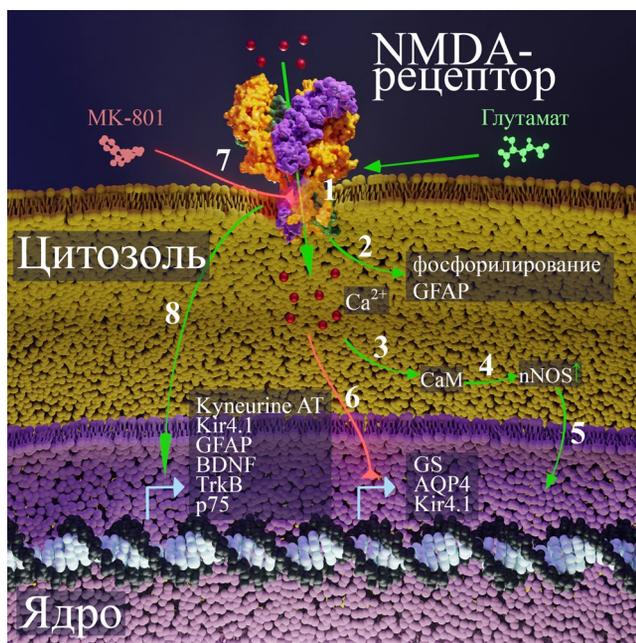


Рис. 1. Влияние ингибирования и активации NMDA-рецепторов астроцитов на внутриклеточные процессы. Активация NMDA-рецепторов глутаматом приводит к притоку кальция в клетку (1). Повышение внутриклеточного кальция приводит к фосфорилированию GFAP (2) и активации кальмодулина (3), который, в свою очередь, активирует nNOS (4), что сопровождается ее транслокацией в ядро (5). Также активация NMDA-рецепторов глутаматом сопровождается снижением экспрессии глутаминсинтазы, AQP4 и Kir4.1-каналов (6) как на генном, так и на белковом уровне. В свою очередь, ингибирование поры рецептора с помощью МК-801 (7), наоборот, повышает экспрессию аминотрансферазы кинурунина, Kir4.1-каналов, BDNF, GFAP, TrkB и p75 (8) как на генном, так и на белковом уровне

киназа) и ERK1/2 (экстраклеточная сигнал-регулируемая киназа), но не с ингибиторами p38 и JNK (Янус-киназа) [44]. Таким образом, учитывая данные работы, можно предполагать, что NMDA-рецепторы играют важную роль в регуляции генной экспрессии астроцитов даже при отсутствии агониста. Причины данного действия в настоящий момент точно не известны. По всей видимости, даже при отсутствии глутамата или при его небольшом количестве, которое может возникать вследствие его секреции самими астроцитами, NMDA-рецепторы играют важную роль в поддержании внутриклеточного гомеостаза. Блокирование поры рецептора приводит к внутриклеточным изменениям (например, деполяризации, как было показано в работе Longuemare et al. [34]), что провоцирует активацию внутриклеточных каскадов, приводящих к изменению генной экспрессии.

Активация NMDA-рецепторов астроцитов также приводит к различным внутриклеточным изменениям (рис. 1). Добавление NMDA приводит к кальмодулин-зависимой активации нейрональ-

ной NO-синтазы (nNOS) астроцитов и транслокации nNOS в ядро. Донор NO также приводит к транслокации комплекса в ядро, при этом данный процесс отменяется МК-801 [15]. На культуре мышечных кортикальных астроцитов было показано, что длительное воздействие NMDA приводит к снижению экспрессии глутаминсинтазы, аквапорина 4 (AQP4), Kir4.1 на уровне РНК и белка, а также снижается активность глутаминсинтазы [45]. В случае с Kir4.1 эти данные согласуются с более ранней работой Obara-Michlewska et al. [42], проведенной с использованием культур крысиных кортикальных астроцитов. Как и в случае с nNOS, снижение экспрессии является кальций-зависимым процессом, а также отменяется после сайленсинга GluN1-субъединицы. При использовании смешанных культур, полученных из мозжечка крыс, было продемонстрировано, что глутамат за счет активации NMDA-рецепторов вызывает кальций-зависимое фосфорилирование GFAP [46], однако в гиппокампе глутамат запускает данный процесс за счет активации метаботропного глутаматного рецептора (mGluR) второй группы [47]. Кроме того, в кортикальных астроцитах глутамат вызывает кальций-/натрий-зависимую секрецию гомоцистеиновой кислоты (эндогенный лиганд NMDA-рецепторов) за счет активации как ионотропных (включая NMDA), так и метаботропных рецепторов [48].

Таким образом, в астроцитах как ингибирование, так и активация NMDA-рецепторов приводит к различным эффектам, включающим изменения в экспрессии генов, таких как аминотрансфераза кенурунина II, GFAP, BDNF, TrkB, p75, Kir4.1, а также к модификации внутриклеточных белков, таких как BDNF. При этом в случае активации рецепторов как глутаматом, так и NMDA нижеследующие эффекты являются кальций-зависимыми. Однако, как эти изменения влияют на функционирование самих астроцитов и на их взаимодействие с другими клетками мозга, еще предстоит выяснить.

РОЛЬ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ В НЕЙРО-АСТРОЦИТАРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

В 2006 году впервые появились доказательства, что астроциты не только экспрессируют NMDA-рецепторы, но и что их активация имеет место в условиях, приближенных к физиологическим. В работе Lalo et al. [18] с использованием срезов коры головного мозга было показано, что афферентная стимуляция нейронов слоя IV–VI вызывает токи в астроглиальных клетках слоя II. Возникающие в астроцитах токи были бифазными и длились 2–4 мс. Ингибитор NMDA-рецепторов

МК-801, но не NBQX (ингибитор AMPA-рецепторов), значительно снижал амплитуду первой быстрой фазы, в то время как вторая медленная фаза подавлялась блокатором глутаматных транспортеров DL-TBOA (DL-трео-бета-бензилоксиаспартат). В данной работе также показано (при использовании изолированных астроцитов), что экзогенно апплицируемый глутамат способен вызывать AMPA-рецептор-опосредованные токи в астроцитах. Важно отметить, что чувствительность NMDA-рецепторов к глутамату примерно в 20 раз выше в сравнении с AMPA-рецепторами. Эти данные могут объяснять отсутствие эффекта NBQX на вызванные стимуляцией токи в астроцитах. Как предполагают авторы, активация глутаматных рецепторов астроцитов происходит вследствие утечки глутамата из синаптической щели, где его концентрация может быть недостаточной для активации AMPA-рецепторов, но достаточной для активации NMDA-рецепторов. Это предположение подтверждается другими работами, в которых показано, что концентрация глутамата вне синаптической щели может составлять лишь 1–10 мкМ [49]. Авторы также показали на срезах, что в астроцитах возникают опосредованные NMDA- и AMPA-рецепторами быстрые спонтанные миниатюрные токи, записанные в присутствии ингибитора потенциал-зависимых каналов ТТХ и антагониста ГАМК(A)-рецепторов пикротоксина. Как предполагается, данные токи вызваны транзитным локальным повышением концентрации глутамата.

По всей видимости, утечка глутамата из синаптической щели является важной составляющей нейроглиальных взаимодействий. Высокочастотная стимуляция, которая должна сопровождаться утечкой глутамата, влияет на астроцитарную пластичность, а также гетеросинаптическую пластичность нейронов. Так, высокочастотная стимуляция синапсов при перфорантном пути вызывает в астроцитах NMDA-рецептор-зависимую долговременную потенциацию, которая выражается в увеличении возбуждающего постсинаптического астроцитарного потенциала [5].

При использовании гиппокампальных смешанных культур было показано, что высокочастотная стимуляция нейрона приводит к пластичности не только в синапсе между стимулированным нейроном и в постсинаптическом нейроне (гомосинаптическая пластичность), но также и между данным постсинаптическим нейроном и другими иннервирующими его нейронами (гетеросинаптическая пластичность) [50]. Для гетеросинаптической пластичности не нужен кальций в постсинаптическом нейроне, поскольку после загрузки кальциевого хелатора ВАРТА в постсинаптический нейрон эффект не отменялся. Антагонист NMDA-рецепторов

AP-5 и флуороацетат (ингибитор цикла Кребса в астроцитах) влиял на гетеросинаптическую пластичность, но не влиял на гомосинаптическую. Эксперименты на срезах показали, что и в данных условиях для гетеросинаптической пластичности не нужен кальций в постсинаптическом нейроне. Однако гомосинаптическая долговременная потенциация является кальций-зависимым процессом. Апликация NMDA с глицином вызывает NMDA-рецептор- и кальций-зависимую деполяризацию астроцитов в срезах гиппокампа. В целом, эти данные указывают на важную роль активации астроцитарных NMDA-рецепторов и последующей кальций-зависимой деполяризации астроцитов в регуляции гетеросинаптической пластичности. Дальнейшие исследования этой группы авторов, проведенные на CA1 гиппокампальных нейронах взрослых мышей, подтвердили важную роль NMDA-рецепторов астроцитов, в частности, содержащих GluN2C-субъединицу, в регуляции эффективности синаптической передачи [51]. Было продемонстрировано, что NMDA-рецепторы, содержащие эту субъединицу, в основном экспрессируются астроцитами и что ингибирование именно этих рецепторов приводит к усилению эффективности синаптической передачи в слабых синапсах и ослаблению – в сильных, тем самым уменьшая диапазон разброса эффективности синаптической передачи между нейронами гиппокампа.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что активация NMDA-рецепторов астроцитов преимущественно происходит вследствие утечки глутамата из синаптической щели при высокой активности нейронов. При этом активация NMDA-рецепторов в данных условиях влияет как на пластичность астроцитов, выражающуюся в увеличении постсинаптического астроцитарного потенциала, так и на гетеросинаптическую пластичность между нейронами.

РОЛЬ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ АСТРОЦИТОВ В АСТРО-ВАСКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

Помимо нейрональной и астроцитарной пластичности, NMDA-рецепторы астроцитов, по всей видимости, играют заметную роль и в регуляции диаметра артериол. С использованием срезов соматосенсорной коры мозга крыс [52] было показано, что высокочастотная стимуляция приводит к первоначальному подъему кальция в астроцитах (примерно 56% в исследуемой области) и последующему снижению кальция ниже начального значения и установлению нового состояния покоя. Подобные изменения имели место в основных, но не в тонких отростках астроцитов. Авторы установили, что за снижение уровня кальция

в астроцитах ответственны, в частности, метаболиты и NMDA-рецепторы. Однако ингибирование данных рецепторов не приводит к отмене изначального кальциевого ответа в астроцитах. Ингибиторы синтаза оксида азота 1 (NOS1; NO связан с NMDA-рецепторами) и тапсигаргин (ингибитор саркоэндоплазматической АТФазы (SERCA)) частично подавляли кальциевое снижение в сравнении с контролем. Авторы обнаружили, что падение кальция в ножках астроцитов после высокочастотной стимуляции связано с вазоконстрикцией артериол, которая отменяется в присутствии антагониста NMDA-рецепторов AP-5. Как пишут авторы, одним из потенциальных следствий снижения кальция может быть увеличение кальциевого ответа астроцитов на стимуляцию. Поскольку максимальное значение кальциевого ответа при повторяющихся стимуляциях не изменяется, увеличение амплитуды ответа происходит за счет базового снижения кальция. Второе следствие данного снижения – регуляция тонуса артериол, поскольку показано, что снижение кальция коррелирует со снижением диаметра артериол. При этом данный эффект не зависит от кальциевых транзиентов в астроцитах. Авторы предполагают, что снижение уровня кальция в ножках астроцитов может приводить к снижению секреции серина, который, как было показано, приводит к дилатации сосудов за счет связывания с NMDA-рецепторами на эндотелии сосудов [53]. Таким образом, полученные данные предполагают, что электрически вызванный паттерн нейрональной активности или естественный опыт могут регулировать базальный уровень цитозольного кальция в астроцитах через NMDA-рецепторы и тем самым влиять на диаметр артериол.

В целом, известно, что астроциты являются важной нейроваскулярной единицей за счет регуляции эндогенной продукции CO, который является потенциальным вазодилататором. В работе Parfenova et al. [54] исследовалась роль кортикальных астроцитов на вазодилатацию пиальных артериол у новорожденных свинок, и было показано, что астроциты находятся в тесном контакте с поверхностью пиальных артериол, а также проникают в них, что было показано как в срезах, так и на изолированных артериолах. В данной работе вклад астроцитов в вазодилатацию был подтвержден с помощью селективного астроцитарного токсина L-AAA. После обработки им расширение сосудов в ответ на ADP и глутамат не происходило. Так же сохранялся расширяющий ответ на гиперкапнию и брадикинин. Пиальные артериолы отвечают расширением на добавление глутамата, NMDA, AMPA и каиновой кислоты. При этом данный эффект отменялся или значительно снижался в присутствии L-AAA, что указывает

на то, что расширение в ответ на агонисты глутаматных рецепторов обусловлено именно астроцитами. Ранее авторами было показано, что астроцит-зависимый вазодилатирующий эффект обусловлен продукцией CO [55]. На свежееизолированных и культивируемых астроцитах коры было показано, что агонисты NMDA-, AMPA-/каинатных рецепторов быстро (в течение 1 ч) увеличивают продукцию CO. При этом предполагается, что гемоксигеназа катализирует образование CO. В культуре астроцитов и ингибитор рецепторов NMDA (хлоргидроксифенилглицин, CHPG), и ингибитор AMPA (NBQX) по отдельности отменяли стимулирующий эффект глутамата на продукцию CO. Также авторы с помощью микроскопии через черепное окно показали, что глутамат, NMDA и AMPA вызывают расширение пиальных артериол, при этом AP-5 и NBQX подавляют данный эффект как в случае глутамата, так и NMDA, и AMPA. Предполагают, что активация NMDA-рецепторов и AMPA-рецепторов на астроцитах связаны, и они оказывают эффект совместно, поэтому, выключив один из них, мы прерываем цепь событий.

В исследовании Lind et al. [56] с помощью двухфотонной микроскопии в вибриссной зоне коры мышей были зарегистрированы быстрые кальциевые сигналы в отростках и ножках астроцитов в ответ на стимуляцию. Было показано, что применение низкой дозы МК-801, блокатора NMDA-рецепторов, снижало амплитуду быстрых кальциевых сигналов в нейропиле и отростках астроцитов, но не в ножках. При этом ответ мозгового кровотока сохранялся. Эти данные свидетельствуют о том, что быстрые кальциевые изменения в ножках астроцитов участвуют в регуляции кровотока в ответ на синаптическую активность.

Таким образом, астроциты играют важную роль в регуляции тонуса сосуда, участвуя в вазодилатации, регуляции кровотока и контроле вазоконстрикции. Это достигается за счет взаимодействия NMDA-рецепторов и AMPA-рецепторов на астроцитах, а также продукции CO и секреции серина.

ПАТОЛОГИИ

Гипераммониемия. С использованием клеточных кортикальных культур астроцитов было продемонстрировано, что блокирование поры NMDA-рецептора с помощью МК-801 предотвращает: аммоний-индуцированное астроцитарное набухание [57], повышение внутриклеточного кальция, фосфорилирование и нитрирование тирозиновых остатков (в том числе продукцию нитрирующих интермедиатов и активацию NF-κB) [58], а также окисление РНК [59]. Кроме того, МК-801

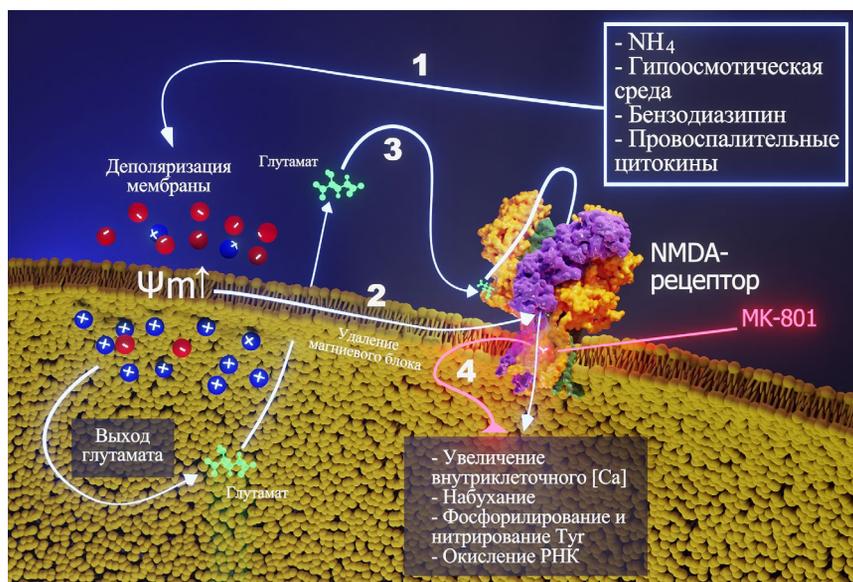


Рис. 2. Предполагаемая роль NMDA-рецепторов при гипераммониемии. 1 – Ионы аммония, воздействие гипоосмотической среды, бензодиазепины и провоспалительные цитокины вызывают деполяризацию астроцитов. 2 – Деполяризация снимает магниевый блок с NMDA-рецепторов, в результате чего происходит их активация с последующим каскадом реакций, приводящих к повышению внутриклеточного кальция, набуханию, фосфорилированию и нитрированию белков, а также окислению РНК. 3 – Мембранная деполяризация может опосредованно приводить к секреции глутамата, который, в свою очередь, активирует NMDA-рецепторы и опосредует нижеследующие эффекты. 4 – МК-801, в свою очередь, блокирует пору NMDA-рецепторов и предотвращает все эффекты, вызываемые аммонием и другими воздействиями

отменял схожие эффекты, индуцированные: гипоосмотической средой [60], бензодиазепинами [61], а также провоспалительными цитокинами, включая фактор некроза опухоли (TNF) и интерферон (IFN) [62]. В свою очередь, добавление NMDA само по себе приводило к набуханию астроцитов [57], а также вызывало схожий паттерн нитрирования тирозинов [58]. Все эти данные указывают на то, что NMDA-рецепторы играют ключевую роль на ранних этапах патогенетических изменений, происходящих в астроцитах при гипераммониемии (рис. 2). Однако причины активации NMDA-рецепторов в данных условиях остаются неизвестными. Согласно одной из гипотез, в данных условиях происходит секреция глутамата, что и приводит к активации NMDA-рецепторов. Однако существуют работы, в которых продемонстрировано, что как секреция, так и захват глутамата астроцитами являются NMDA-зависимыми процессами [34, 63]. Таким образом, накопление внеклеточного глутамата, скорее, является следствием, а не причиной активации NMDA-рецепторов астроцитов. Если это действительно так, то, возможно, в условиях гипераммониемии происходит глутамат-независимая активация NMDA-рецепторов. В таком случае в основе данного процесса может лежать деполяризация астроцитов. Было показано, что аммоний [64], гипоосмотическая среда [65], TNFα [66], а также агонисты бензодиазепиновых рецепторов периферического типа [67] могут вы-

зывать деполяризацию астроцитов. Деполяризация может приводить к снятию магниевых блоков с NMDA-рецепторов. В настоящий момент нет единого мнения касательно магниевой чувствительности NMDA-рецепторов. Однако в большинстве работ продемонстрировано отсутствие магниевых блоков, и, как следствие, токи через NMDA-рецепторы характеризуются линейным отношением ток/напряжение. Возможно, сам факт деполяризации усиливает токи, поскольку проводимость NMDA-рецепторов астроцитов, как и нейронов, возрастает по мере увеличения мембранного потенциала. В таком случае, учитывая также тот факт, что блокирование поры NMDA-рецепторов само по себе влияет на многие функции астроцитов, включая поддержание мембранного потенциала [34], регуляцию генной экспрессии [41, 42] и другие, можно предположить, что эти рецепторы на астроцитах имеют конститутивную активность, важную для поддержания нормального функционирования.

Однако нельзя исключать в данных условиях и секрецию глутамата, который также может оказывать значительное влияние на астроциты, в том числе и через NMDA-рецепторы. Его секреция происходит по крайней мере в условиях нейровоспаления, которое также является важным патогенетическим фактором при развитии печеночной энцефалопатии. В ряде работ было показано, что различные антагонисты NMDA-рецепторов, влияющие на связывание глутамата, отменяют

многие эффекты липополисахарида (ЛПС) – индуктора воспаления. Так, было показано, что ЛПС, а также NMDA и IL1 β подавляют индуцированный нейротрофическим фактором глиальной клеточной линии (GDNF) кальциевый ответ в кортикальных астроцитах, уменьшая как амплитуду, так и количество ответивших клеток [68]. Во всех случаях эффект отменялся, если добавка веществ производилась вместе с ифенпродилем – ингибитором GluN2B-содержащих рецепторов. Кроме того, ЛПС, а также ЛПС в комбинации с NMDA значительно снижали белковую экспрессию Na⁺/K⁺-АТФазы. Добавление ифенпродила вместе с воспалительными индукторами увеличивало экспрессию АТФазы выше контрольного уровня [68]. Важно отметить, что NMDA сам по себе вызывал кальциевый ответ в астроцитах, который отменялся в присутствии ифенпродила. В работе Gérard и Hansson [16] также при использовании культур кортикальных астроцитов было показано, что преинкубация астроцитов с ЛПС в течение 24 ч усиливает кальциевый ответ астроцитов на NMDA, а также увеличивает секрецию IL1 β . Данные эффекты отменялись, если ЛПС добавляли совместно либо с AP-5, либо с ифенпродилем. В еще одной работе также было показано, что ингибитор NMDA-рецепторов мемантин предотвращает индуцированное ЛПС и TNF α увеличение экспрессии провоспалительных хемокинов [69]. В данных случаях маловероятно, что антагонисты NMDA-рецептора отменяют именно воздействие ЛПС, тем более что многие его эффекты воспроизводились и при добавлении провоспалительных цитокинов, таких как IL1 или TNF. Антагонисты, скорее, отменяли действие секретируемых в ответ на ЛПС провоспалительных цитокинов. Как ранее было сказано, ингибирование поры NMDA-рецепторов с помощью МК-801 предотвращало действие IFN или TNF. Однако в данных случаях эффекты отменялись уже антагонистами, влияющими на связывание глутамата. Таким образом, в данных случаях, по всей видимости, имеет место секреция глутамата, которая, возможно, происходит в ответ на деполяризацию астроцитов. Как было показано, небольшая деполяризация астроцитов приводит к тому, что натрий-кальциевый обменник начинает работать в обратном направлении и закачивать кальций внутрь клетки, тем самым запуская кальций-зависимую секрецию глутамата [70]. Таким образом, возможно, в ответ на действие цитокинов происходит потенциал-/NMDA-зависимая секреция глутамата, который, в свою очередь, связывается с NMDA-рецепторами и влияет на кальциевые ответы и экспрессию генов.

Таким образом, NMDA-рецепторы играют важную роль в патогенезе гипераммониемии, и их активация может быть вызвана как глутамат-

зависимыми, так и глутамат-независимыми механизмами. Более полное понимание этих механизмов может способствовать разработке новых подходов к лечению гипераммониемии и связанных с ней неврологических расстройств.

Ишемия. С использованием культур кортикальных астроцитов было продемонстрировано, что в условиях ишемии значительно изменяется экспрессия GluN1-, GluN2A- и GluN2B-субъединиц NMDA-рецептора [13]. Сперва авторы измерили уровень мРНК данных субъединиц в течение 6-часовой ишемии. Увеличение экспрессии *Grin1* и *Grin2a* отмечается уже спустя 2 ч воздействия ишемии. В случае *Grin1* наибольшая экспрессия отмечалась спустя 2 ч и опускалась практически до начальных значений через 6 ч после начала воздействия. Экспрессия *Grin2b* была наибольшей через 4 ч и сохранялась на высоком уровне до окончания воздействия. В свою очередь, экспрессия *Grin2a* оставалась неизменной в первые 4 ч, а к концу воздействия – даже снижалась на 15–20%. Далее, авторы показали, что в течение 3 ч после 3-часовой ишемии не отмечается значительных изменений в экспрессии *Grin2a* и *Grin2b*, при этом экспрессия *Grin1* увеличивалась спустя 3 ч после прекращения ишемических условий. Кроме того, авторы с помощью вестерн-блот-анализа изучили изменения экспрессии NOS1 (NOS1 располагается ниже по сигнальному каскаду NMDA-рецептора) при ишемии. Было обнаружено, что происходит увеличение экспрессии NOS1, которое отменяется в присутствии МК-801. Эти данные говорят об активации NMDA-рецепторов астроцитов в условиях ишемии и запуске NMDA-рецептор-опосредованных сигнальных каскадов [13]. В отличие от кортикальных астроцитов, данные касательно экспрессии NMDA-рецепторов на астроцитах гиппокампа неоднозначны. В работе Krebs et al. [6] с использованием иммуногистохимии экспрессия GluN2B-субъединицы в области CA1 и основании гиппокампа детектировалась в нейронах, но не в астроцитах. Однако экспрессия GluN2 и GluN1 в астроцитах появлялась после ишемия-индуцированной клеточной гибели в этих регионах. В гиппокампальных культурах 5-минутная аноксия также приводила к экспрессии GluN2B и GluN1 в астроцитах спустя несколько дней. Формирование функционально активного рецептора подтверждалось данными кальциевого имиджинга, согласно которым NMDA вызывал кальциевый ответ в астроцитах, подвергшихся аноксии. Таким образом, как в кортикальных, так и в гиппокампальных астроцитах в результате ишемии происходит повышение экспрессии NMDA-рецепторов на астроцитах.

Повышение экспрессии NMDA-рецепторов на астроцитах в условиях ишемии может приводить

к разным последствиям, связанным с дополнительным притоком кальция в эти клетки. Одной из причин повышения кальция в условиях ишемии может быть активация NMDA-рецепторов продуктами деградации эластина (elastin-derived peptides (EDP)), которые присутствуют в здоровом мозге, но их концентрация может значительно повышаться при ишемии. В недавних работах было показано, что один из EDP, гексапептид VGVAPG, способен приводить к увеличению внутриклеточного кальция и повышению содержания активных форм кислорода (АФК) в мышинных астроцитах в культуре [71, 72]. Авторы показали, что как повышения кальция, так и АФК отменялись в присутствии ингибиторов NMDA-рецепторов, потенциал-зависимых кальциевых каналов и Src-киназы.

Таким образом, в условиях ишемии происходит увеличение экспрессии различных субъединиц NMDA-рецептора на астроцитах. Однако причины подобных изменений, как и последствия увеличения этих рецепторов на астроцитах, остаются не выясненными.

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой нейродегенеративное заболевание, характеризующееся прогрессирующей потерей памяти и когнитивными нарушениями. В настоящее время большое внимание уделяется изучению роли глияльных клеток, в частности астроцитов, в патогенезе БА. Одним из ключевых факторов, способствующих развитию БА, является нарушение гомеостаза глутамата, основного медиатора возбуждающих синапсов в ЦНС. В этом контексте особое значение приобретают NMDA-рецепторы, которые экспрессируются не только на нейронах, но и на астроцитах. Удивительно, что, в отличие от NMDA-рецепторов нейронов, активация которых известна как фактор, сопряженный с нейродегенерацией, активация астроцитарных NMDA-рецепторов, по-видимому, может оказывать защитное влияние на синапсы. В одном исследовании было показано, что использование блокаторов GluN2A и GluN2B, содержащих NMDA-рецепторы, усугубляет токсическое действие бета-амилоида ($A\beta$), выражающееся в значительном снижении количества таких синаптических белков, как PSD95 и синаптофизин, что было измерено с помощью иммуноцитохимических методов [17]. Кроме того, было показано, что предварительная обработка астроцитов с NMDA перед воздействием $A\beta$ 1-40 предотвращала снижение PSD-95 и синаптофизина, вызванное $A\beta$. Авторы также показали, что после обработки клеток бета-амилоидом в культуральной жидкости повышается концентрация фактора роста нервов β (β -NGF), при этом использование ингибитора NMDA-рецепторов отменяет повышение концентрации этого белка. Таким образом, авторы предполагают, что активация

NMDA-рецепторов астроцитов оказывает синаптопротекторный эффект именно за счет стимуляции секреции данного фактора роста, поскольку, как показывают ряд недавних исследований, он может защищать синапсы от токсического действия $A\beta$ [73, 74]. В более позднем исследовании той же группы авторов с помощью селективного нокадауна GluN2A-субъединицы в астроцитах было подтверждено, что сниженный уровень астроцитарного GluN2A может противодействовать $A\beta$ -индуцированному компенсаторно-защитному повышению NGF посредством регуляции pNF- κ B, фурина и VAMP3, которые модулируют синтез, созревание и секрецию NGF соответственно [75].

Таким образом, исследования свидетельствуют о том, что астроцитарные NMDA-рецепторы могут играть важную роль в патогенезе БА, и их модуляция может представлять собой перспективное направление для разработки новых подходов к лечению этого заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

NMDA-рецепторы играют важную роль в ЦНС, и их экспрессия не ограничивается нейронами. Астроцитарные NMDA-рецепторы запускают различные внутриклеточные каскады, влияющие на экспрессию генов и работу митохондрий. Кроме того, эти NMDA-рецепторы вовлечены в нейроастроцитарные и астро-васкулярные взаимодействия, а также обладают механо- и pH-чувствительностью. Однако до полного понимания функций NMDA-рецепторов астроцитов еще далеко и остается много вопросов. Например, так и нет однозначного ответа касательно возможного метаболитного действия при активации данных рецепторов. Действительно ли этот путь активации реализуется в астроцитах, и если да, то от каких условий это зависит? Кроме того, есть основания полагать, что NMDA-рецепторы оказывают свое влияние на астроциты даже без связывания агониста. Возможно, их конститутивная активность сама по себе регулирует многие физиологические показатели. Таким образом, тема NMDA-рецепторов астроцитов в настоящий момент находится только на начальном этапе, где исследования в большинстве своем ограничиваются демонстрацией эффекта на астроциты в результате активации или ингибирования NMDA-рецепторов. Во многом это связано с тем, что в срезах или смешанных культурах сложно отделить эффекты астроцитарных NMDA-рецепторов от нейрональных, и поскольку нейрональным рецепторам уделяется больше внимания, ученые склонны интерпретировать полученные с использованием агонистов

и антагонистов NMDA-рецепторов эффекты с точки зрения их возможного влияния на нейроны. При этом возможные эффекты, опосредованные астроцитами, в таких экспериментах игнорируются. Однако, как показано в данном обзоре, как нейрональные, так и астроцитарные NMDA-рецепторы играют важную роль при многих физиологических и патологических процессах и требуют дальнейшего пристального изучения.

Вклад авторов. А.М. Косенков – написание основного текста статьи; С.Г. Гайдин – помощь в кон-

цептуализации материала; С.А. Майоров – оформление рисунков, редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ПНЦБИ РАН № 075-00609-24-01 (№ 1022080100047-5-1.6.4 «Нейропротекторные препараты нового поколения»).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Karakas, E., and Furukawa, H. (2014) Crystal structure of a heterotetrameric NMDA receptor ion channel, *Science*, **344**, 992-997, <https://doi.org/10.1126/science.1251915>.
2. Mony, L., Zhu, S., Carvalho, S., and Paoletti, P. (2011) Molecular basis of positive allosteric modulation of GluN2B NMDA receptors by polyamines, *EMBO J.*, **30**, 3134-3146, <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.203>.
3. Lituma, P. J., Kwon, H.-B., Alviña, K., Luján, R., and Castillo, P. E. (2021) Presynaptic NMDA receptors facilitate short-term plasticity and BDNF release at hippocampal mossy fiber synapses, *eLife*, **10**, <https://doi.org/10.7554/eLife.66612>.
4. Li, L.-J., Hu, R., Lujan, B., Chen, J., Zhang, J.-J., Nakano, Y., Cui, T.-Y., Liao, M.-X., Chen, J.-C., Man, H.-Y., Feng, H., and Wan, Q. (2016) Glycine potentiates AMPA receptor function through metabotropic activation of GluN2A-containing NMDA receptors, *Front. Mol. Neurosci.*, **9**, 102, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00102>.
5. Zhang, X., Zhang, J., and Chen, C. (2009) Long-term potentiation at hippocampal perforant path-dentate astrocyte synapses, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **383**, 326-330, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.04.005>.
6. Krebs, C., Fernandes, H. B., Sheldon, C., Raymond, L. A., and Baimbridge, K. G. (2003) Functional NMDA receptor subtype 2B is expressed in astrocytes after ischemia *in vivo* and anoxia *in vitro*, *J. Neurosci.*, **23**, 3364-3372, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-08-03364.2003>.
7. Skowrońska, K., Kozłowska, H., and Albrecht, J. (2020) Neuron-derived factors negatively modulate ryanodine receptor-mediated calcium release in cultured mouse astrocytes, *Cell Calcium*, **92**, 102304, <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102304>.
8. Montes de Oca Balderas, P., and Aguilera, P. (2015) A metabotropic-like flux-independent NMDA receptor regulates Ca²⁺ exit from endoplasmic reticulum and mitochondrial membrane potential in cultured astrocytes, *PLoS One*, **10**, e0126314, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126314>.
9. Lee, M.-C., Ting, K. K., Adams, S., Brew, B. J., Chung, R., and Guillemain, G. J. (2010) Characterisation of the expression of NMDA receptors in human astrocytes, *PLoS One*, **5**, e14123, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014123>.
10. Rusnakova, V., Honsa, P., Dzamba, D., Ståhlberg, A., Kubista, M., and Anderova, M. (2013) Heterogeneity of astrocytes: from development to injury – single cell gene expression, *PLoS One*, **8**, e69734, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069734>.
11. Dzamba, D., Honsa, P., Valny, M., Kriska, J., Valihrach, L., Novosadova, V., Kubista, M., and Anderova, M. (2015) Quantitative analysis of glutamate receptors in glial cells from the cortex of GFAP/EGFP mice following ischemic injury: focus on NMDA receptors, *Cell. Mol. Neurobiol.*, **35**, 1187-1202, <https://doi.org/10.1007/s10571-015-0212-8>.
12. Schipke, C. G., Ohlemeyer, C., Matyash, M., Nolte, C., Kettenmann, H., and Kirchhoff, F. (2001) Astrocytes of the mouse neocortex express functional N-methyl-D-aspartate receptors, *FASEB J.*, **15**, 1270-1272, <https://doi.org/10.1096/fj.00-0439fje>.
13. Zhou, Y., Li, H. L., Zhao, R., Yang, L. T., Dong, Y., Yue, X., Ma, Y. Y., Wang, Z., Chen, J., Cui, C. L., and Yu, A. C.-H. (2010) Astrocytes express N-methyl-D-aspartate receptor subunits in development, ischemia and post-ischemia, *Neurochem. Res.*, **35**, 2124-2134, <https://doi.org/10.1007/s11064-010-0325-x>.
14. Jimenez-Blasco, D., Santofimia-Castaño, P., Gonzalez, A., Almeida, A., and Bolaños, J. P. (2015) Astrocyte NMDA receptors' activity sustains neuronal survival through a Cdk5-Nrf2 pathway, *Cell Death Differ.*, **22**, 1877-1889, <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.49>.
15. Jiang, J., Yan, M., Lv, Q., Cheng, C., Li, X., Guo, Z., Tao, T., and Shen, A. (2010) Inhibition of nitric oxide-induced nuclear localization of CAPON by NMDA receptor antagonist in cultured rat primary astrocytes, *Neurochem. Int.*, **56**, 561-568, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2009.12.019>.

16. Gérard, F., and Hansson, E. (2012) Inflammatory activation enhances NMDA-triggered Ca²⁺ signalling and IL-1β secretion in primary cultures of rat astrocytes, *Brain Res.*, **1473**, 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.07.032>.
17. Li, Y., Chang, L., Song, Y., Gao, X., Roselli, F., Liu, J., Zhou, W., Fang, Y., Ling, W., Li, H., Almeida, O. F. X., and Wu, Y. (2016) Astrocytic GluN2A and GluN2B oppose the synaptotoxic effects of amyloid-β1-40 in hippocampal cells, *J. Alzheimers Dis.*, **54**, 135-148, <https://doi.org/10.3233/JAD-160297>.
18. Lalo, U., Pankratov, Y., Kirchhoff, F., North, R. A., and Verkhratsky, A. (2006) NMDA receptors mediate neuron-to-glia signaling in mouse cortical astrocytes, *J. Neurosci.*, **26**, 2673-2683, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4689-05.2006>.
19. Palygin, O., Lalo, U., Verkhratsky, A., and Pankratov, Y. (2010) Ionotropic NMDA and P2X1/5 receptors mediate synaptically induced Ca²⁺ signalling in cortical astrocytes, *Cell Calcium*, **48**, 225-231, <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2010.09.004>.
20. Palygin, O., Lalo, U., and Pankratov, Y. (2011) Distinct pharmacological and functional properties of NMDA receptors in mouse cortical astrocytes, *Br. J. Pharmacol.*, **163**, 1755-1766, <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01374.x>.
21. Kondoh, T., Nishizaki, T., Aihara, H., and Tamaki, N. (2001) NMDA-responsible, APV-insensitive receptor in cultured human astrocytes, *Life Sci.*, **68**, 1761-1767, [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)00971-7](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)00971-7).
22. Serrano, A., Robitaille, R., and Lacaille, J.-C. (2008) Differential NMDA-dependent activation of glial cells in mouse hippocampus, *Glia*, **56**, 1648-1663, <https://doi.org/10.1002/glia.20717>.
23. Zhang, Q., Hu, B., Sun, S., and Tong, E. (2003) Induction of increased intracellular calcium in astrocytes by glutamate through activating NMDA and AMPA receptors, *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.*, **23**, 254-257, <https://doi.org/10.1007/bf02829506>.
24. Hu, B., Sun, S.-G., and Tong, E.-T. (2004) NMDA and AMPA receptors mediate intracellular calcium increase in rat cortical astrocytes, *Acta Pharmacol. Sin.*, **25**, 714-720.
25. Hamilton, N., Vayro, S., Kirchhoff, F., Verkhratsky, A., Robbins, J., Gorecki, D. C., and Butt, A. M. (2008) Mechanisms of ATP- and glutamate-mediated calcium signaling in white matter astrocytes, *Glia*, **56**, 734-749, <https://doi.org/10.1002/glia.20649>.
26. Gunnarson, E., Zelenina, M., Axehult, G., Song, Y., Bondar, A., Krieger, P., Brismar, H., Zelenin, S., and Aperia, A. (2008) Identification of a molecular target for glutamate regulation of astrocyte water permeability, *Glia*, **56**, 587-596, <https://doi.org/10.1002/glia.20627>.
27. Conti, F., DeBiasi, S., Minelli, A., and Melone, M. (1996) Expression of NR1 and NR2A/B subunits of the NMDA receptor in cortical astrocytes, *Glia*, **17**, 254-258, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1136\(199607\)17:3<254::AID-GLIA7>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1136(199607)17:3<254::AID-GLIA7>3.0.CO;2-0).
28. Weilinger, N. L., Lohman, A. W., Rakai, B. D., Ma, E. M. M., Bialecki, J., Maslieieva, V., Rilea, T., Bandet, M. V., Ikuta, N. T., Scott, L., Colicos, M. A., Teskey, G. C., Winship, I. R., and Thompson, R. J. (2016) Metabotropic NMDA receptor signaling couples Src family kinases to pannexin-1 during excitotoxicity, *Nat. Neurosci.*, **19**, 432-442, <https://doi.org/10.1038/nn.4236>.
29. Kato, H., Narita, M., Miyatake, M., Yajima, Y., and Suzuki, T. (2006) Role of neuronal NR2B subunit-containing NMDA receptor-mediated Ca²⁺ influx and astrocytic activation in cultured mouse cortical neurons and astrocytes, *Synapse*, **59**, 10-17, <https://doi.org/10.1002/syn.20213>.
30. Karavanova, I., Vasudevan, K., Cheng, J., and Buonanno, A. (2007) Novel regional and developmental NMDA receptor expression patterns uncovered in NR2C subunit-beta-galactosidase knock-in mice, *Mol. Cell Neurosci.*, **34**, 468-480, <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2006.12.001>.
31. Ravikrishnan, A., Gandhi, P. J., Shelkar, G. P., Liu, J., Pavuluri, R., and Dravid, S. M. (2018) Region-specific expression of NMDA receptor GluN2C subunit in parvalbumin-positive neurons and astrocytes: analysis of GluN2C expression using a novel reporter model, *Neuroscience*, **380**, 49-62, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.03.011>.
32. Alsaad, H. A., DeKorver, N. W., Mao, Z., Dravid, S. M., Arikath, J., and Monaghan, D. T. (2019) In the telencephalon, GluN2C NMDA receptor subunit mRNA is predominately expressed in glial cells and GluN2D mRNA in interneurons, *Neurochem. Res.*, **44**, 61-77, <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2526-7>.
33. Chan, P. H., Chu, L., and Chen, S. (1990) Effects of MK-801 on glutamate-induced swelling of astrocytes in primary cell culture, *J. Neurosci. Res.*, **25**, 87-93, <https://doi.org/10.1002/jnr.490250111>.
34. Longuemare, M. C., Keung, E. C., Chun, S., Sharp, F. R., Chan, P. H., and Swanson, R. A. (1996) MK-801 reduces uptake and stimulates efflux of excitatory amino acids via membrane depolarization, *Am. J. Physiol.*, **270**, C1398-C1404, <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1996.270.5.C1398>.
35. Belin, S., Maki, B. A., Catlin, J., Rein, B. A., and Popescu, G. K. (2022) Membrane stretch gates NMDA receptors, *J. Neurosci.*, **42**, 5672-5680, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0350-22.2022>.
36. Johnson, L. R., Battle, A. R., and Martinac, B. (2019) Remembering mechanosensitivity of NMDA receptors, *Front. Cell. Neurosci.*, **13**, 533, <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00533>.

37. Maneshi, M. M., Maki, B., Gnanasambandam, R., Belin, S., Popescu, G. K., Sachs, F., and Hua, S. Z. (2017) Mechanical stress activates NMDA receptors in the absence of agonists, *Sci. Rep.*, **7**, 39610, <https://doi.org/10.1038/srep39610>.
38. Singh, P., Doshi, S., Spaethling, J. M., Hockenberry, A. J., Patel, T. P., Geddes-Klein, D. M., Lynch, D. R., and Meaney, D. F. (2012) N-Methyl-D-aspartate receptor mechanosensitivity is governed by C terminus of NR2B subunit, *J. Biol. Chem.*, **287**, 4348, <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.253740>.
39. Montes de Oca Balderas, P., Matus Núñez, M., Picones, A., and Hernández-Cruz, A. (2020) NMDAR in cultured astrocytes: flux-independent pH sensor and flux-dependent regulator of mitochondria and plasma membrane-mitochondria bridging, *FASEB J.*, **34**, 16622-16644, <https://doi.org/10.1096/fj.202001300R>.
40. Stephen, T.-L., Higgs, N. F., Sheehan, D. F., Al Awabdh, S., Lópe-Doménech, G., Arancibia-Carcamo, I. L., and Kittler, J. T. (2015) Miro1 regulates activity-driven positioning of mitochondria within astrocytic processes apposed to synapses to regulate intracellular calcium signaling, *J. Neurosci.*, **35**, 15996-16011, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2068-15.2015>.
41. Obara-Michlewska, M., Tuszyńska, P., and Albrecht, J. (2013) Ammonia upregulates kynurenine aminotransferase II mRNA expression in rat brain: a role for astrocytic NMDA receptors? *Metab. Brain Dis.*, **28**, 161-165, <https://doi.org/10.1007/s11011-012-9353-3>.
42. Obara-Michlewska, M., Ruzkiewicz, J., Zielińska, M., Verkhatsky, A., and Albrecht, J. (2015) Astroglial NMDA receptors inhibit expression of Kir4.1 channels in glutamate-overexposed astrocytes *in vitro* and in the brain of rats with acute liver failure, *Neurochem. Int.*, **88**, 20-25, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.10.006>.
43. Yu, W., Zhu, H., Wang, Y., Li, G., Wang, L., and Li, H. (2015) Reactive transformation and increased BDNF signaling by hippocampal astrocytes in response to MK-801, *PLoS One*, **10**, e0145651, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145651>.
44. Yu, W., Fang, H., Zhang, L., Hu, M., He, S., Li, H., and Zhu, H. (2021) Reversible changes in BDNF expression in MK-801-induced hippocampal astrocytes through NMDAR/PI3K/ERK signaling, *Front. Cell. Neurosci.*, **15**, <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.672136>.
45. Skowrońska, K., Obara-Michlewska, M., Czarnecka, A., Dąbrowska, K., Zielińska, M., and Albrecht, J. (2019) Persistent overexposure to N-methyl-D-aspartate (NMDA) calcium-dependently downregulates glutamine synthetase, aquaporin 4, and Kir4.1 channel in mouse cortical astrocytes, *Neurotox. Res.*, **35**, 271-280, <https://doi.org/10.1007/s12640-018-9958-3>.
46. Kommers, T., Rodnight, R., Boeck, C., Vendite, D., Oliveira, D., Horn, J., Oppelt, D., and Wofchuk, S. (2002) Phosphorylation of glial fibrillary acidic protein is stimulated by glutamate via NMDA receptors in cortical micro-slices and in mixed neuronal/glial cell cultures prepared from the cerebellum, *Dev. Brain Res.*, **137**, 139-148, [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(02\)00434-0](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(02)00434-0).
47. Kommers, T., Rodnight, R., Oppelt, D., Oliveira, D., and Wofchuk, S. (1999) The mGluR stimulating GFAP phosphorylation in immature hippocampal slices has some properties of a group II receptor, *Neuroreport*, **10**, <https://doi.org/10.1097/00001756-199907130-00023>.
48. Benz, B., Grima, G., and Do, K. Q. (2004) Glutamate-induced homocysteic acid release from astrocytes: possible implication in glia-neuron signaling, *Neuroscience*, **124**, 377-386, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.067>.
49. Pankratov, Y. V., and Krishtal, O. A. (2003) Distinct quantal features of AMPA and NMDA synaptic currents in hippocampal neurons: implication of glutamate spillover and receptor saturation, *Biophys. J.*, **85**, 3375-3387.
50. Letellier, M., Park, Y. K., Chater, T. E., Chipman, P. H., Gautam, S. G., Oshima-Takago, T., and Goda, Y. (2016) Astrocytes regulate heterogeneity of presynaptic strengths in hippocampal networks, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, E2685-E2694, <https://doi.org/10.1073/pnas.1523717113>.
51. Chipman, P. H., Fung, C. C. A., Pazo Fernandez, A., Sawant, A., Tedoldi, A., Kawai, A., Ghimire Gautam, S., Kurosawa, M., Abe, M., Sakimura, K., Fukai, T., and Goda, Y. (2021) Astrocyte GluN2C NMDA receptors control basal synaptic strengths of hippocampal CA1 pyramidal neurons in the stratum radiatum, *Elife*, **10**, e70818, <https://doi.org/10.7554/eLife.70818>.
52. Mehina, E. M. F., Murphy-Royal, C., and Gordon, G. R. (2017) Steady-state free Ca²⁺ in astrocytes is decreased by experience and impacts arteriole tone, *J. Neurosci.*, **37**, 8150-8165, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0239-17.2017>.
53. Stobart, J. L. L., Lu, L., Anderson, H. D. I., Mori, H., and Anderson, C. M. (2013) Astrocyte-induced cortical vasodilation is mediated by D-serine and endothelial nitric oxide synthase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 3149-3154, <https://doi.org/10.1073/pnas.1215929110>.
54. Parfenova, H., Tcheranova, D., Basuroy, S., Fedinec, A. L., Liu, J., and Leffler, C. W. (2012) Functional role of astrocyte glutamate receptors and carbon monoxide in cerebral vasodilation response to glutamate, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **302**, H2257-H2266, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01011.2011>.

55. Leffler, C., Parfenova, H., Fedinec, A., Basuroy, S., and Tcheranova, D. (2006) Contributions of astrocytes and CO₂ to pial arteriolar dilation to glutamate in newborn pigs. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **291**, H2897-H2904, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00722.2006>.
56. Lind, B. L., Jessen, S. B., Lønstrup, M., Joséphine, C., Bonvento, G., and Lauritzen, M. (2018) Fast Ca²⁺ responses in astrocyte end-feet and neurovascular coupling in mice, *Glia*, **66**, 348-358, <https://doi.org/10.1002/glia.23246>.
57. Lachmann, V., Görg, B., Bidmon, H. J., Keitel, V., and Häussinger, D. (2013) Precipitants of hepatic encephalopathy induce rapid astrocyte swelling in an oxidative stress dependent manner, *Arch. Biochem. Biophys.*, **536**, 143-151, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.05.004>.
58. Schliess, F., Görg, B., Fischer, R., Desjardins, P., Bidmon, H. J., Herrmann, A., Butterworth, R. F., Zilles, K., and Häussinger, D. (2002) Ammonia induces MK-801-sensitive nitration and phosphorylation of protein tyrosine residues in rat astrocytes, *FASEB J.*, **16**, 739-741, <https://doi.org/10.1096/fj.01-0862fje>.
59. Görg, B., Qvarskhava, N., Keitel, V., Bidmon, H. J., Selbach, O., Schliess, F., and Häussinger, D. (2008) Ammonia induces RNA oxidation in cultured astrocytes and brain *in vivo*, *Hepatology*, **48**, 567-579, <https://doi.org/10.1002/hep.22345>.
60. Schliess, F., Foster, N., Görg, B., Reinehr, R., and Häussinger, D. (2004) Hypoosmotic swelling increases protein tyrosine nitration in cultured rat astrocytes, *Glia*, **47**, 21-29, <https://doi.org/10.1002/glia.20019>.
61. Görg, B., Foster, N., Reinehr, R., Bidmon, H. J., Höngen, A., Häussinger, D., and Schliess, F. (2003) Benzodiazepine-induced protein tyrosine nitration in rat astrocytes, *Hepatology*, **37**, 334-342, <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50061>.
62. Görg, B., Bidmon, H. J., Keitel, V., Foster, N., Goerlich, R., Schliess, F., and Häussinger, D. (2006) Inflammatory cytokines induce protein tyrosine nitration in rat astrocytes, *Arch. Biochem. Biophys.*, **449**, 104-114, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2006.02.012>.
63. Ohara, K., Aoyama, M., Fujita, M., Sobue, K., and Asai, K. (2009) Prolonged exposure to ammonia increases extracellular glutamate in cultured rat astrocytes, *Neurosci. Lett.*, **462**, 109-112, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.06.090>.
64. Allert, N., Köller, H., and Siebler, M. (1998) Ammonia-induced depolarization of cultured rat cortical astrocytes, *Brain Res.*, **782**, 261-270, [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01288-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01288-2).
65. Häussinger, D., and Schliess, F. (2005) Astrocyte swelling and protein tyrosine nitration in hepatic encephalopathy, *Neurochem. Int.*, **47**, 64-70, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2005.04.008>.
66. Köller, H., Thiem, K., and Siebler, M. (1996) Tumour necrosis factor-alpha increases intracellular Ca²⁺ and induces a depolarization in cultured astroglial cells, *Brain*, **119 (Pt 6)**, 2021-2027, <https://doi.org/10.1093/brain/119.6.2021>.
67. Hertz, L., Zhao, Z., and Chen, Y. (2006) The astrocytic GABA(A)/benzodiazepine-like receptor: the Joker receptor for benzodiazepine-mimetic drugs? *Recent Pat. CNS Drug Discov.*, **1**, 93-103, <https://doi.org/10.2174/157488906775245273>.
68. Lundborg, C., Westerlund, A., Björklund, U., Biber, B., and Hansson, E. (2011) Ifenprodil restores GDNF-evoked Ca²⁺ signalling and Na⁺/K⁺-ATPase expression in inflammation-pretreated astrocytes, *J. Neurochem.*, **119**, 686-696, <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07465.x>.
69. Sühs, K.-W., Gudi, V., Eckermann, N., Fairless, R., Pul, R., Skripuletz, T., and Stangel, M. (2016) Cytokine regulation by modulation of the NMDA receptor on astrocytes, *Neurosci. Lett.*, **629**, 227-233, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.07.016>.
70. Paluzzi, S., Alloisio, S., Zappettini, S., Milanese, M., Raiteri, L., Nobile, M., and Bonanno, G. (2007) Adult astroglia is competent for Na⁺/Ca²⁺ exchanger-operated exocytotic glutamate release triggered by mild depolarization, *J. Neurochem.*, **103**, 1196-1207, <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04826.x>.
71. Szychowski, K. A., and Gmiński, J. (2019) Specific role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in elastin-derived VGVAPG peptide-dependent calcium homeostasis in mouse cortical astrocytes *in vitro*, *Sci. Rep.*, **9**, 20165, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56781-5>.
72. Szychowski, K. A., and Gmiński, J. (2019) The VGVAPG peptide regulates the production of nitric oxide synthases and reactive oxygen species in mouse astrocyte cells *in vitro*, *Neurochem. Res.*, **44**, 1127-1137, <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02746-z>.
73. Numakawa, T., and Kajihara, R. (2023) Neurotrophins and other growth factors in the pathogenesis of Alzheimer's disease, *Life (Basel)*, **13**, <https://doi.org/10.3390/life13030647>.
74. Amadoro, G., Latina, V., Balzamino, B. O., Squitti, R., Varano, M., Calissano, P., and Micera, A. (2021) Nerve growth factor-based therapy in Alzheimer's disease and age-related macular degeneration, *Front. Neurosci.*, **15**, 735928, <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.735928>.
75. Du, Z., Song, Y., Chen, X., Zhang, W., Zhang, G., Li, H., Chang, L., and Wu, Y. (2021) Knockdown of astrocytic Grin2a aggravates β -amyloid-induced memory and cognitive deficits through regulating nerve growth factor, *Aging Cell*, **20**, <https://doi.org/10.1111/acel.13437>.

FEATURES OF ASTROCYTIC NMDA RECEPTORS

Review

A. M. Kosenkov*, S. A. Maiorov, and S. G. Gaidin

*Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Center
“Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”,
142290 Pushchino, Moscow Region, Russia; e-mail: kosenckov406@yandex.ru*

The astrocytic NMDA receptor is a heterotetramer consisting of 7 different subunits. Receptor expression and properties are largely determined by its subunit composition. Astrocytic NMDA receptors have their own functional features – they are weakly sensitive to magnesium ions and have low calcium permeability. Activation of astrocytic NMDA receptors plays an important role in regulating intracellular processes such as gene expression and mitochondrial function. NMDA receptors are involved in astrocytic calcium signaling and can be activated by both ionotropic and metabotropic pathways. Astrocytic NMDA receptors are involved in neuroglial interactions, affecting synaptic plasticity. They are also involved in astrovascular interactions and play a role in regulating vascular tone. Astrocytic NMDA receptors participate in pathological conditions such as ischemia and hyperammonemia. Their blockade prevents negative changes in astrocytes in these pathologies.

Keywords: astrocytes, NMDA receptors, neuroglial interactions, neuropathology