

Ультраструктурные особенности состояния астроглиальной эндосомальной системы при сепсис-ассоциированной энцефалопатии

Т. В. Шулятникова  *A-D, В. А. Шаврин  A,E,F

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

A – концепция и дизайн исследования; B – сбор данных; C – анализ и интерпретация данных; D – написание статьи; E – редактирование статьи; F – окончательное утверждение статьи

Ключевые слова:

астроглия, сепсис-ассоциированная энцефалопатия, мульти-везикулярные тельца.

Патология. 2020. Т. 17, № 1(48). С. 60-67

*E-mail: shulyatnikova.tv@gmail.com

Сепсис-ассоциированная энцефалопатия (САЭ) – частое осложнение сепсиса, проявляющееся широким спектром дисфункциональных мозговых расстройств. Астроциты, как главные гомеостатические клетки мозга, играют ключевую роль в процессах адаптации нервной ткани к острому повреждению.

Цель работы – определить ультраструктурное состояние эндосомальной системы астроцитов в головном мозге крыс в экспериментальных условиях системного воспаления.

Материалы и методы. Исследование проведено на 2 группах крыс линии Вистар: контрольной (5 ложнооперированных крыс) и основной (с перевязкой и пункцией слепой кишки, CLP, 10 крыс). Исследование коры и подкоркового белого вещества сенсомоторной зоны в срок от 12 ч до 24 ч послеоперационного периода проведено с помощью трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты. В группе CLP, начиная с 12 ч послеоперационного периода, в перикарионах и отростках астроцитов увеличивается количество мультивезикулярных телец (МВТ). Так, у умерших животных основной группы отмечена тенденция к увеличению количества эндосом по сравнению с контролем и преимущественность локализации их в перикарионах астроцитов. Астроглия выживших животных основной группы характеризовалась большей степенью компенсации внутриклеточного отека и повышением количества МВТ с преимущественным накоплением их в капиллярных ножках астроцитов, где их численность увеличилась более чем в 3 раза по сравнению с группой контроля.

Выводы. В условиях абдоминального сепсиса в астроцитах головного мозга с середины первых суток отмечали признаки реактивных изменений с повышением активности их эндосомально-экзосомального аппарата, что отражает высокую степень адаптивной активности астроглии и компенсацию патологического состояния ткани. Одно из ультраструктурных выражений этого явления – повышение в цитоплазме астроцитов количества мультивезикулярных телец с накоплением последних в астроцитарных отростках, преимущественно в капиллярных астроцитарных ножках. Накопление МВТ в астроцитарных отростках может указывать на активацию их межклеточного и глиоваскулярного взаимодействия посредством эндо- и экзоцитоза в острой фазе адаптивных процессов в условиях САЭ. Этот факт подчеркивает особую роль астроглии в процессах компенсации нарушенного гомеостаза мозговой ткани в данных условиях.

Ключові слова:

астроглія, сепсис-асоційована енцефалопатія, мультивезикулярні тілця.

Патологія. 2020. Т. 17, № 1(48). С. 60-67

Ультраструктурні особливості стану астрогліальної ендосомальної системи при сепсис-асоційованій енцефалопатії

Т. В. Шулятникова, В. О. Шаврін

Сепсис-асоційована енцефалопатія (САЕ) – часте ускладнення сепсису, що виявляється широким спектром дисфункціональних порушень головного мозку. Астроцити, як головні гомеостатичні клітини мозку, відіграють ключову роль у процесах адаптації нервової тканини до гострого пошкодження.

Мета роботи – визначити ультраструктурний стан ендосомальної системи астроцитів у головному мозку щурів в експериментальних умовах системного запалення.

Матеріали та методи. Дослідження виконали на 2 групах щурів лінії Вистар: контрольній (5 хибнооперованих щурів) і основній (із перев'язкою і пункциєю сліпої кишки, CLP, 10 щурів). Дослідження кори та підкоркової білої речовини сенсомоторної зони у строк від 12 год до 24 год післяопераційного періоду виконали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії.

Результати. У групі CLP, починаючи з 12 год післяопераційного періоду, в перикарионах і відростках астроцитів збільшується кількість мікровезикулярних тілець (МВТ). Так, у померлих тварин основної групи визначили тенденцію до збільшення кількості ендосом порівняно з контролем і з переважною локалізацією їх у перикарионах астроцитів. Астроглія тварин основної групи, які вижили, характеризувалася більшим ступенем компенсації внутрішньоклітинного набряку й накопиченням МВТ у капілярних ніжках астроцитів, де їхня кількість вірогідно збільшувалася більш ніж утричі порівняно з групою контролю.

Висновки. В умовах експериментального абдоминального сепсису в астроцитах головного мозку з середини першої доби спостерігали ознаки реактивних змін із підвищенням активності їхнього ендосомально-екзосомального апарату,

що показує високий ступінь адаптивної активності астроглії та фазу компенсації патологічного стану тканини. Одне з ультраструктурних проявів цього явища – підвищення в цитоплазмі астроцитів кількості МВТ із накопиченням останніх в астроцитарних відростках, здебільшого в капілярних астроцитарних ніжках. Накопичення МВТ в астроцитарних відростках може вказувати на активацію їхньої міжклітинної та гліо-васкулярної взаємодії за допомогою ендо- та екзоцитозу в гострій фазі адаптивних процесів в умовах САЕ. Цей факт підкреслює особливу роль астроглії в процесах компенсації порушеного гомеостазу мозкової тканини в наведених умовах.

Ultrastructural features of astroglial endosomal system state in sepsis-associated encephalopathy

T. V. Shuliatnikova, V. O. Shavrin

Sepsis-associated encephalopathy (SAE) is a common complication of sepsis, with a range of dysfunctional brain disorders. Astrocytes, as the main homeostatic brain cells, play a key role during adaptation of brain tissue to acute damage.

The aim. To determine the ultrastructural state of endosomal system of astrocytes in the rat brain under experimental conditions of systemic inflammation.

Materials and methods. Male Wistar rats were divided into 2 groups: control group (5 sham-operated animals); the main group with cecal ligation and puncture (CLP, 10 animals). The study of cortex and subcortical white matter of sensorimotor zone in the period between 12 and 24 h after operation was carried out using TEM.

Results. In CLP group, starting from 12 h after operation the number of multivesicular bodies (MVBs) increased in astroglial pericytons and processes. Thus, deceased animals showed a tendency to increase in number of endosomes compared with control and the predominance of their localization in the pericytons of astrocytes. Astroglia of survived animals of CLP group showed the lesser degree of intracellular edema and accumulation of MVBs into perivascular astroglial endfeet, where they exceeded control up to 3 times.

Conclusions. In conditions of SAE, starting from 12 h after operation, brain astrocytes show obvious reactive changes with an activation of their endosomal-exosomal machinery, which reflects a high degree of adaptive activity of astroglia and compensatory phase of the pathological state of tissue. One of the ultrastructural signs of this phenomenon is the increased density of MVBs and redistribution of latter predominantly in capillary astrocytic endfeet. The accumulation of MVBs in astrocytic processes may indicate the activation of their intercellular and gliovascular interactions through endo- and exocytosis in the acute phase of adaptive processes under conditions of SAE. This fact emphasizes the special role of astroglia in the compensation of impaired brain homeostasis in SAE.

Key words:

astroglia, sepsis associated encephalopathy, multivesicular bodies.

Pathologia

2020; 17 (1), 60-67

Острая церебральная недостаточность на фоне сепсис-ассоциированной энцефалопатии (САЭ) осложняет течение сепсиса до 70 % случаев [1], в том числе абдоминального, который чаще всего является следствием осложненной интраабдоминальной инфекции [2,3]. Сепсис-ассоциированную энцефалопатию рассматривают как синдром общей дисфункции мозга, развивающийся при сепсисе без прямого инфекционного поражения центральной нервной системы (ЦНС), хотя последнее утверждение не однозначно и требует дополнительного уточнения [4]. САЭ представлена широким спектром потенциально обратимых когнитивных изменений, включая нарушение цикла сон-бодрствование, очаговый неврологический дефицит, бредово-галлюциаторный комплекс и снижение сознания вплоть до комы [5,6].

Острая церебральная недостаточность при сепсисе – результат многофакторных событий, а именно высокого уровня системных цитокинов, микробных компонентов и эндотоксинов, которые повреждают барьеры головного мозга и вызывают срыв мозгового гомеостазу. Недостаточно изученной при САЭ остается клеточная реактивность мозговой ткани, в том числе ультраструктурная реорганизация.

Астроциты, являясь главными гомеостатическими клетками ЦНС [7] и формируя многофункциональные анатомические барьеры, активно участвуют в защите мозговой ткани против инфекционных агентов и ограничивают ее повреждение [8,9]. Астроциты

идентифицируют, синтезируют и интегрируют воспалительные сигналы между иммунными клетками и клетками мозговой паренхимы, координируя тем самым нейроиммунную ответную реакцию на системную инфекцию [4]. Они взаимодействуют с другими нервными клетками посредством высвобождения ряда сигнальных молекул, которые являются компонентами так называемой «глиокринной системы» мозга [10,11].

Один из способов высвобождения этих молекул из астроцитов – экзоцитоз, система которого включает перечень секреторных органелл, таких как лизосомы, плотноядерные везикулы, синаптоподобные микровезикулы и экстрацеллюлярные везикулы (ЭЦВ) [12]. ЭЦВ содержат ряд биологически активных веществ: mRNA, miRNA, сигнальные молекулы, цитокины [13,14]. С ЭЦВ астроцитов ассоциирован экзоцитоз ими белков комплемента C3a в процессе нейровоспаления [15], доставка молекул МНС-II на поверхность реактивных астроцитов как непрофессиональных антигенпрезентирующих клеток [16,17]. Экзоцитозный механизм астроцитов обеспечивает секрецию ими ряда других молекул, таких как нейротрансмиттеры и их предшественники, пластические факторы, гормоны и прочие [11].

Один из видов ЭЦВ – экзосомы, которые формируются в ходе эндосомального внутриклеточного цикла из мультивезикулярных телец (МВТ) вследствие слияния последних с плазматической мембраной и высвобождения их интралюминальных везикул (ИЛВ)

во внеклеточное пространство [18]. Эндосомальная система имеет первостепенное значение в активном взаимодействии между плазматической мембраной, клеточным аппаратом синтеза-секреции и лизосомами. После эндоцитоза трансмембранные белки транспортируются к ранним эндосомам, которые по ходу созревания формируют ИлВ и превращаются в МВТ (вид поздних эндосом) [18]. ИлВ формируются с помощью нейтральной сфингомиелиназы-2 и церамидзависимого процесса [19] и вовлекают ESCRT-0, I, II, III (endosomal sorting complex required for transport) в формирование МВТ [18]. МВТ играют ключевую роль в сортировке продуктов внутриклеточного метаболизма – с помощью ESCRT-механизма в их везикулах происходит секвестрация мембранных белков и цитоплазматических молекул, которые в последующем могут транслоцироваться в лизосомы для катаболизма [20] либо высвобождаться в составе экзосом во внеклеточную среду [21]. Подробное описание экзосом и их морфогенеза представлено в обзоре L. M. Doyle et al. [22].

Состояние эндосомальной системы астроглии и их секреторной активности в условиях системного воспаления остается малоизученным вопросом, что обуславливает его актуальность.

Цель работы

Определить ультраструктурное состояние эндосомальной системы астроцитов в головном мозге крыс в экспериментальных условиях системного воспаления.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на крысах линии Вистар (ЧП «Биомодельсервис» ВА, г. Киев, Украина). Самцов весом 200–300 г содержали в акриловых клетках (по 5 животных в клетке) в стандартных условиях: при 12-часовом световом цикле при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$, со свободным доступом к еде (стандартный корм для крыс ЧП «Биомодельсервис», г. Киев, Украина) и воде. Животных акклиматизировали в течение 1 недели до эксперимента. Все процедуры проведены в соответствии с рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123), (Страсбург, 18.03.1986) и директиве Европейского Совета (2010/63/EU) [23]. Исследование одобрено комиссией по биоэтике Запорожского государственного медицинского университета.

В эксперименте использована модель цекальной перевязки и пункции «CLP» (саесум ligation and puncture), которую наиболее часто применяют для воспроизведения полимикробного абдоминального сепсиса у грызунов [24,25].

Животных поделили на 2 группы: контрольную (5 ложноперевязанных крыс) и группу с CLP (перевязка и пункция слепой кишки, 10 крыс). Животные анестезированы интраперитонеальной инъекцией кетамина (80–100 мг/кг м.т.) и ксилазина (5–15 мг/кг м.т.). После наступления анестезии нижний квадрант передней брюшной стенки побрит, обработан спиртовым рас-

твором. С помощью скальпеля и ножниц сделана продольная срединная лапаротомия длиной 3 см и выведена слепая кишка в рану. После рассечения мезентерия слепой кишки на нее наложена лигатура ниже илеоцекального клапана (проходимость остальной части кишки сохранена). Соотношение перевязанной части кишки к условно интактной (от лигатуры до илеоцекального клапана) составило 75 % : 25 %, что соответствовало модели тяжелого сепсиса [24]. Перевязанная часть кишки перфорирована насквозь 18 G иглой, из сформированных обоих отверстий выделено небольшое количество содержимого кишки. После возвращения кишки в брюшную полость брюшная стенка послойно ушита стерильными шелковыми нитями, послеоперационная рана обработана, наложена повязка. В контрольной группе ложноперевязанных животных проведены те же процедуры, но без перевязки и перфорации слепой кишки. Все животные сразу после операции выведены из наркоза подкожным введением предварительно нагретого до 37°C физиологического раствора (5 мл/100 г м.т.). В послеоперационном периоде животные находились в клетках, в тех же условиях, что и до операции, со свободным доступом к еде и воде; каждые 6 часов производили обезболивание и тщательный мониторинг состояния (первые 2 часа после операции – мониторинг каждые полчаса). Оценивали такие признаки: диарея, piloэрекция, периорбитальная экссудация, социальная изоляция, респираторные нарушения, летаргия. В группе CLP из 10 животных в период с 12 до 24 часов после операции в условиях выраженных указанных признаков погибли 7 крыс (подгруппа В – умершие животные), 3 животных выжили до конца эксперимента (подгруппа А – выжившие), в контрольной группе (подгруппа С) умерших животных не было. Через 24 ч после операции с помощью интраперитонеального введения эвтаназионного раствора пентобарбитала натрия (240 мг/мл) произведен забой животных.

Материал от умерших животных брали после остановки сердцебиения (через 1–5 минут) и помещали в стандартный фиксационный раствор для трансмиссионной электронной микроскопии: 2,5 % раствор глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере (pH = 7,4). Из сенсомоторной коры лобной доли левого полушария вырезали кусочки до 1×1 мм и помещали на 2 часа (при $t = 40^\circ\text{C}$) в тот же фиксационный раствор с добавлением сахарозы. Вторичную фиксацию в течение 2 ч проводили с использованием 1 % четырехоксида осмия на фосфатном буфере. Далее кусочки обезвоживали в батарее спиртов восходящей концентрации (до 100°) с промежуточным контрастированием в 2,5 % растворе уранилацетата в течение 2 часов. Обезвоженные кусочки пропитывали смесью ацетона и эпона (2:1; 1:1; 1:2), заливали в эпоксидную смолу Epon-812 и полимеризовали в 2 этапа: 36°C (12 ч); 56°C (24 ч). Полутонкие (1–2 мкм) и ультратонкие срезы (55–65 нм) изготовлены на ультрамикротоме (PowerTome RMC Bockeler, USA) и проконтрастированы цитратом свинца по Рейнольдсу (30 мин, $t = 25^\circ\text{C}$). Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. Ультра-

тонкие срезы исследовали на разных увеличениях и получили изображения с использованием электронного микроскопа ПЭМ-100-01 (ОАО «Selmi», г. Сумы, Украина) при ускоряющем напряжении 65 кВ.

В материале каждого животного во время изучения срезов ткани в электронном микроскопе проводили анализ ультраструктуры астроцитарных перикарионов, профилей паренхиматозных отростков и профилей перикапиллярных астроцитарных муфт. В каждом случае исследовали по 5 блоков ткани. Из них изготовили по 10 ступенчатых (каждый четвертый) ультратонких срезов (площадью ~3500 мкм² каждый) и отобрали по 30 единиц каждого из указанных объектов; подсчитали количества MBT в их составе.

Статистическую обработку полученных данных провели при помощи пакета Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., лицензия № JPZ8041382130ARCN10-J). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q1; Q3); сравнение между двумя группами наблюдений проводили при помощи критерия Манна–Уитни, между тремя и более группами наблюдений – при помощи критерия Краскела–Уоллиса. Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ($p < 0,05$).

Результаты

Изучение ультраструктуры образцов коры и подкоркового белого вещества у семи умерших животных показало, что с 12 до 24 часов послеоперационного периода преобладающими и распространенными в клетках являются признаки дезорганизации ядерных и цитоплазматических компонентов, парциальной деструкции органелл, активного расхода внутриклеточных субстратов энергетического и пластического обмена. К 24 часам и у умерших, и 3 выживших животных основной группы отмечено появление отдельных нейронов или их групп в состоянии некроза, с относительным повышением их встречаемости в динамике послеоперационного периода. Одновременно с этим у выживших животных к концу первых суток после операции отмечены признаки активации внутриклеточного транспорта и межклеточных глионейрональных и глиоглиальных взаимодействий, а именно интенсификация их эндосомальной и экзосомальной систем и перинейронального сателлитоза. Так, в астроцитах выживших животных ярким ультраструктурным выражением активации системы эндо-, транс- и экзоцитоза является повышение количества мультивезикулярных телец. Эти вакуолярные образования имели размер от 0,4 мкм до 1,2 мкм и содержали от 2 до 30 ИлВ диаметром от 50 нм до >500 нм. MBT формируются вследствие эндоцитоза мелких вакуолизованных участков окружающего нейропиля и являются разновидностью поздних эндосом. В виду того, что на разных стадиях своего формирования они являются участниками разнообразных внутриклеточных процессов, взаимодействуя с другими компонентами цитокавитальной системы и лизосомальным аппаратом, отмеченные MBT характеризовались высоким полиморфизмом, несмотря на наличие общих морфологических признаков. В одних случаях в

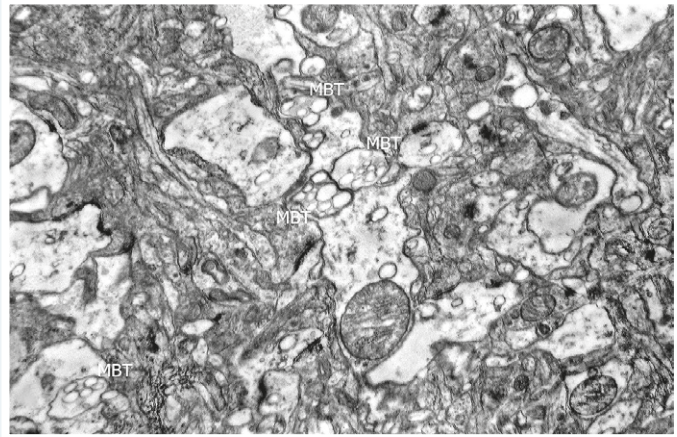


Рис. 1. Накопление MBT в паренхиматозных астроцитарных отростках в сенсомоторной коре умершей крысы. 20 часов послеоперационного периода. Трансмиссионная электронная микроскопия, ув. $\times 20\,000$.

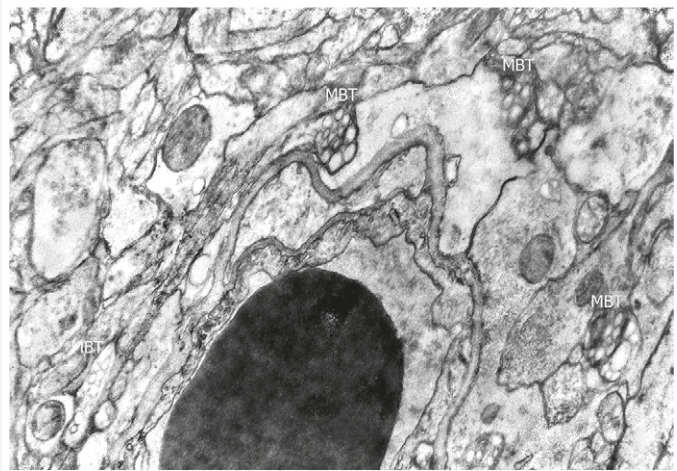


Рис. 2. Накопление MBT в капиллярных астроцитарных ножках в сенсомоторной коре выжившего животного. 24 часа послеоперационного периода у крысы. Трансмиссионная электронная микроскопия, ув. $\times 16\,000$.

MBT наблюдали относительно большое количество плотно упакованных электроннопрозрачных ИлВ, в других установили наличие больших пустот с остатками разреженной электронноплотной субстанции или миелиноподобных телец и других сходных пластинчатых структур.

При статистическом анализе этих структур установлено, что их количество и локализация имеют определенные особенности в зависимости от клинической динамики послеоперационного состояния животных и компартамента астроцитарных клеток, в которых они отмечены.

Так, при изучении астроглии в контрольной группе животных выяснили, что MBT в них обнаруживают в единичных экземплярах и с одинаково низкой встречаемостью во всех трех изучаемых компартаментах: профилях перикарионов, паренхиматозных отростков и капиллярных муфт (рис. 3).

В основной группе наблюдения встречаемость MBT возросла (рис. 1). Так, у умерших животных их количественные значения в астроцитарных пе-

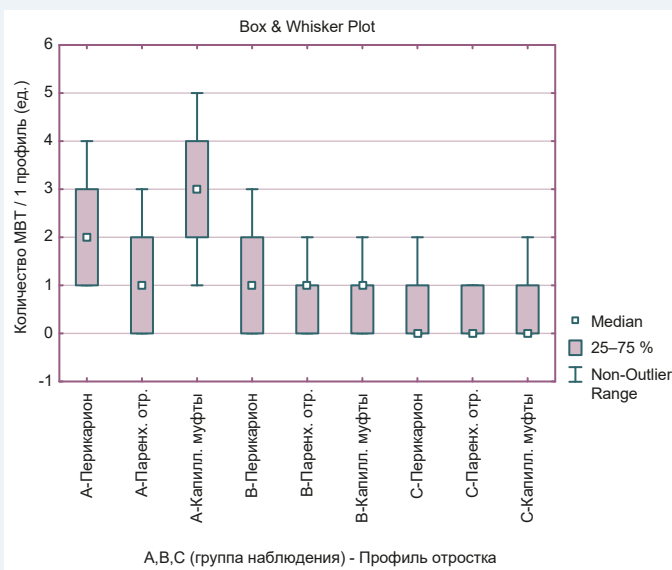


Рис. 3. Количество мультивезикулярных телец в различных астроцитарных профилях (перикарион, паренхиматозные отростки, капиллярные муфты) в группах сравнения (А, В, С) в период с 12 ч до 24 ч после операции.

А: группа выживших животных; В: группа умерших животных; С: группа контроля.

рикарionaх по сравнению с контролем составили 1,00 (0,00; 2,00) ед./1 профиль и 0,00 (0,00; 1,00) ед./1 профиль соответственно, однако эти значения не имели достоверной разницы ($p > 0,05$) (рис. 3). Астроглия у этой группы животных характеризовалась более распространенными признаками наводченности гиалоплазмы, ее просветления, вакуолизации и фокального распада.

Окружающий нейропил, соседние глиальные клетки и нейроны также отличались признаками декомпенсированного отека и тяжелыми деструктивными процессами. Стоит отметить, что астроциты, содержащиеся в перикарионе или в отростках MBT, характеризовались относительно большей сохранностью органелл и меньшей выраженностью отека.

Астроглия выживших животных отличалась признаками компенсации внутриклеточного отека в виде расширения цитокавитальных систем и большей сохранностью плазматических мембран, клеточных ультраструктур. В таких астроцитах отмечено достоверное увеличение количества MBT по сравнению с контрольной группой и перераспределение их с накоплением в перикапиллярных астроцитарных ножках (муфтах) (рис. 2, рис. 3).

Так, значения количества MBT в перикарионах, паренхиматозных отростках и капиллярных астроцитарных муфтах в группе выживших животных составили соответственно 2,00 (1,00; 3,00) ед./1 профиль; 1,00 (0,00; 2,00) ед./1 профиль; 3,00 (2,00; 4,00) ед./1 профиль с достоверным преобладанием последнего показателя при сравнении компарментов ($p < 0,05$). Медианные значения количества MBT в капиллярных астроцитарных ножках к 24 часам послеоперационного периода у выживших животных достоверно превысили данный показатель в тех же компартаментах контрольной группы в 3 раза (соответственно 3,00

(2,00; 4,00) ед./1 профиль и 0,00 (0,00; 1,00) ед./1 профиль; $p < 0,05$). Повышенное образование MBT и перераспределение их в капиллярные астроцитарные муфты – отличительная черта астроглиальной ультраструктуры группы выживших животных (рис. 3).

Обсуждение

Перераспределение и накопление астроцитарных поздних эндосом в перикапиллярной близости может указывать на усиление гематоэнцефалического метаболизма. В условиях системного воспаления агрессивные факторы вызывают функциональное нарушение либо анатомическое повреждение естественных барьеров ЦНС, что индуцирует развитие нейровоспалительного ответа в мозговой ткани [4]. Нейровоспаление при сепсисе в зависимости от тяжести процесса может характеризоваться спектром морфологических изменений, начиная от поверхностных и обратимых перестроек внутриклеточного и тканевого метаболизма нервной ткани до тяжелых нарушений кровообращения, декомпенсированного отека, гнойных и некротических процессов. В этих условиях на этапе адаптивных процессов, когда гомеостаз еще относительно сохранен, можно предположить активизацию резервных путей нервной ткани к очищению и выведению продуктов обмена в сосудистое русло за счет повышения эндосомально-экзосомального транспорта. Также такие изменения указывают на повышение активности особого рода глиокриновой, сигнализационной деятельности астроцитов с использованием экзоцитоза молекул непосредственно в кровь как проявления тесной взаимосвязи мозгового метаболизма и системных реакций.

В последнее время растет количество доказательств того, что некоторые виды miRNA, такие как miR-155, miR-27b, miR-326, miR-124, miR-146a, miR-21, miR-223, let-7 семейство, транспортируемые в составе экзосом, могут играть ключевую роль в регуляции нейровоспаления, воздействуя на глиальную воспалительную реактивность [26–28]. Balusu S. и соавт. экспериментально показали, что системное воспаление приводит к увеличению количества MBT и экзосом в эпителии сосудистого сплетения, что ассоциировано с повышением уровня ЭЦВ и провоспалительных miRNA в ликворе. Указанные экзосомы далее проникали из ликвора в мозговую паренхиму, захватывались астроцитами и микроглией, что приводило к повышению экспрессии провоспалительных генов и обуславливало усиление процессов нейровоспаления [29]. Исходя из этого, нельзя исключать возможность того, что астроциты, выступая кондукторами в передаче сигнальных молекул, выполняют эту функцию посредством содержимого своих экзосом и таким образом регулируют воспалительный ответ в мозговой ткани, а также посылают сигналы на периферию через кровь и ликвор.

Wang G. et al. экспериментально доказали роль астроцитарных экзосом в запуске апоптотической гибели астроцитов. Так, например, показано, что амилоидный пептид вызывает увеличение количества астроцитарных экзосом, содержащих PAR4 и церамид

(«апоксосом»). Апоксосомы, достигая в межклеточном пространстве проапоптотической концентрации, в последующем захватываются астроцитами и запускают в них апоптотический процесс посредством активации каспазы-3 [30]. В условиях нейровоспаления, индуцированного сепсисом, апоптотическая гибель клеток – достаточно постоянное явление. Роль астроглии в этих процессах остается предметом активного изучения.

Существует также тесная связь между МВТ и процессами аутофагии. МВТ могут сливаться с аутофагосомами, образуя двойственные органеллы «амфисомы», которые, в свою очередь, объединяются с лизосомами и формируют аутолизосомы для расщепления приносимых продуктов [31]. Для эффективной аутофагической деградации некоторых белков необходимы функционально активные МВТ, а ESCRT мутации, обуславливающие нарушения синтеза МВТ, ассоциированы с рядом нейродегенеративных заболеваний [32–35]. Таким образом, повышение количества МВТ в астроцитах в условиях нейровоспаления на фоне сепсиса может указывать и на активацию аутофагических процессов в астроглии.

С другой стороны, недавние исследования показали важную роль астроцитарных экзосом и их содержания в глиально-нейрональном взаимодействии в норме и патологии, где экзосомы выступали, главным образом, как факторы, обуславливающие выживание и пластичность нейронов [36–39].

В нашем исследовании относительно большое количество МВТ в паренхиматозных отростках астроцитов также может указывать на повышение астро-астроцитарного взаимодействия в астроцитарном синцитии и усилении эндоцитозной активности астроцитов в перисинаптических ложах, что естественно при усилении процессов разобщения, деградации и распада синаптических аппаратов и больше характерно для мозга группы умерших животных. У выживших животных такие морфологические изменения астроцитарных отростков могут указывать на активное их вовлечение в механизмы синаптической пластичности в процессе адаптации к острой гипоксии, интоксикации, отека, что наблюдают при САЭ. Входя в состав трехкомпонентного синапса («tripartite synapse») [40,41], перисинаптические астроцитарные отростки образуют так называемую «синаптическую колыбель» [42], в среде которой происходит регуляция жизнедеятельности синапса в норме и контроль над его пластичностью в условиях, отличных от физиологических, в частности, – нейротрансмиттерного дисбаланса, который отмечают при САЭ [43,44].

Выводы

1. В условиях системного воспаления в астроцитах головного мозга с середины первых суток наблюдают признаки реактивных изменений с повышением активности их эндосомально-экзосомального аппарата, что отражает высокую степень адаптивной активности астроглии и относительную компенсацию патологического состояния ткани.

2. Одно из ультраструктурных выражений реактивных изменений в астроцитах – повышение в цитоплазме количества поздних эндосом (мультивезикулярных телец) с накоплением в астроцитарных отростках, преимущественно в перикапиллярных астроцитарных ножках, где их количество у выживших животных в среднем увеличивается более чем в 3 раза по сравнению с группой контроля.

3. Накопление мультивезикулярных телец в астроцитарных отростках может указывать на активацию глиоглиального, глионейронального, нейроглиального, глиоваскулярного взаимодействия и активного метаболизма между этими структурами посредством эндо- и экзоцитоза в острой фазе адаптивных процессов в условиях сепсис-ассоциированной энцефалопатии. Этот факт подчеркивает особую роль астроцитарной глии в процессах компенсации нарушенного гомеостаза нервной ткани в данных условиях.

Перспективы дальнейших исследований.

Учитывая дефицит исследований в области ультраструктурной патологии мозговой ткани в условиях системного воспаления, планируется дальнейшее изучение данного вопроса с использованием описанной экспериментальной модели. Исследование ультраструктурных изменений головного мозга при сепсисе позволило бы выявить основные варианты развития событий на суб- и межклеточном уровне организации ткани на разных этапах патологического процесса, что могло бы стать полезным инструментом в выяснении морфогенеза сепсис-ассоциированной энцефалопатии и разработке более эффективных методов терапевтического влияния на данную патологию.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках инициативной НИР Запорожского государственного медицинского университета «Морфогенез деструктивно-репаративных процессов головного мозга при захворываниях судинного та токсико-метаболического генезу» № госрегистрации 0118U004253.

Конфликт интересов: отсутствует.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції/Received: 03.02.2020

Після доопрацювання/Revised: 20.02.2020

Прийнято до друку/Accepted: 01.03.2020

Сведения об авторах:

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
ORCID ID: 0000-0002-0196-9935

Шаврин В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
ORCID ID: 0000-0001-7019-702X

Відомості про авторів:

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Шаврін В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about authors:

Shuliatnikova T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Shavrin V. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список литературы

- [1] Lamar C. D., Hurler R. A., Taber, K. H. Sepsis-Associated Encephalopathy: Review of the Neuropsychiatric Manifestations and Cognitive Outcome. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 2011. Vol. 23, Iss. 3. P. 236-241. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.23.3.237>
- [2] Shuliatnikova T. V., Shavrin V. O. Sepsis associated encephalopathy and abdominal sepsis: current state of problem. *Art of Medicine*. 2018. Iss. 3. P. 158-165.
- [3] Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intra-abdominal infections: a prospective multicentre study (WISS Study) / M. Sartelli, F. M. Abu-Zida, F. Caten et al. *World Journal of Emergency Surgery*, 2015. Vol. 10. P. 61. <https://doi.org/10.1186/s13017-015-0055-0>
- [4] Shulyatnikova T., Verkhatsky A. Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical Research*. 2020. Vol. 45, Iss. 1. P. 83-99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2>
- [5] Understanding brain dysfunction in sepsis / R. Sonnevill, F. Verdonk, C. Rauturier et al. *Annals of Intensive Care*. 2013. Vol. 3. P. 15. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-3-15>
- [6] Chaudhry N., Duggal A. K. Sepsis Associated Encephalopathy. *Advances in Medicine*. 2014. Vol. 2014. P. 1-16. <https://doi.org/10.1155/2014/762320>
- [7] Verkhatsky A., Nedergaard M. Physiology of Astroglia. *Physiological Reviews*. 2018. Vol. 98, Iss. 1. P. 239-389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- [8] Sofroniew M. V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nature Reviews Neuroscience*. 2015. Vol. 16, Iss. 5. P. 249-263. <https://doi.org/10.1038/nrn3898>
- [9] Zorec R., Zupanc T. A., Verkhatsky A. Astroglipathology in the infectious insults of the brain. *Neuroscience Letters*. 2019. Vol. 689. P. 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.08.003>
- [10] Vardjan N., Zorec R. Excitable astrocytes: Ca²⁺- and cAMP-regulated exocytosis. *Neurochemical Research*. 2015. Vol. 40, Iss. 12. P. 2414-2424. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1545-x>
- [11] Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion / A. Verkhatsky, M. Matteoli, V. Parpura et al. *Embo Journal*. 2016. Vol. 35, Iss. 3. P. 239-257. <https://doi.org/10.15252/embj.201592705>
- [12] Gliocrine system: Astroglia as secretory cells of the CNS / N. Vardjan, V. Parpura, A. Verkhatsky, R. Zorec. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 1175. New York : Springer. P. 93-115. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_4
- [13] Turchinovich A., Drapkina O., Tonevitsky A. Transcriptome of Extracellular Vesicles: State-of-the-Art. *Frontiers in Immunology*. 2019. Vol. 10. P. 202. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00202>
- [14] EVmiRNA: a database of miRNA profiling in extracellular vesicles / T. Liu, Q. Zhang, J. K. Zhang et al. *Nucleic Acids Research*. 2019. Vol. 47, Iss. D1. P. D89-D93. <https://doi.org/10.1093/nar/gky985>
- [15] NFKB-Activated Astroglial Release of Complement C3 Compromises Neuronal Morphology and Function Associated with Alzheimer's Disease / H. Lian, L. Yang, A. Cole et al. *Neuron*. 2015. Vol. 85, Iss. 1. P. 101-115. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.018>
- [16] IFN-γ-induced increase in the mobility of MHC class II compartments in astrocytes depends on intermediate filaments / N. Vardjan, M. Gabrijel, M. Potokar et al. *Journal of Neuroinflammation*. 2012. Vol. 9. P. 144. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-144>
- [17] Exocytosis of large-diameter lysosomes mediates interferon γ-induced relocation of MHC class II molecules toward the surface of astrocytes / M. Božić, A. Verkhatsky, R. Zorec, M. Stenovec. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03350-8>
- [18] Huotari J., Helenius A. Endosome maturation. *EMBO Journal*. 2011. Vol. 30, Iss. 17. P. 3481-3500. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.286>
- [19] Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular Endosomes / K. Trajkovic, C. Hsu, S. Chiantia et al. *Science*. 2008. Vol. 319, Iss. 5867. P. 1244-1247. <https://doi.org/10.1126/science.1153124>
- [20] Luzzio J. P., Gray S. R., Bright N. A. Endosome-lysosome fusion. *Biochemical Society Transactions*. 2010. Vol. 38. P. 1413-1416. <https://doi.org/10.1042/bst0381413>
- [21] Hanson P. I., Cashikar A. Multivesicular Body Morphogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2012. Vol. 28. P. 337-362. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154152>
- [22] Doyle L. M., Wang M. Z. Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*. 2019. Vol. 8, Iss. 7. P. Article 727. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
- [23] Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010. P. 33-79.
- [24] Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture / D. Rittirsch, M. S. Huber-Lang, M. A. Flierl, P. A. Ward. *Nature Protocols*. 2009. Vol. 4, Iss. 1. P. 31-36. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.214>
- [25] Toscano M. G., Ganea D., Gamero A. M. Cecal Ligation Puncture Procedure. *Jove-Journal of Visualized Experiments*. 2011. Iss. 51. P. e2860. <https://doi.org/10.3791/2860>
- [26] Su W., Aloï M. S., Garden G. A. MicroRNAs mediating CNS inflammation: Small regulators with powerful potential. *Brain Behavior and Immunity*. 2016. Vol. 52. P. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.07.003>
- [27] MicroRNAs: Roles in Regulating Neuroinflammation / A. D. Gaudet, L. K. Fonken, L. R. Watkins et al. *Neuroscientist*. 2018. Vol. 24, Iss. 3. P. 221-245. <https://doi.org/10.1177/1073858417721150>
- [28] Nuzziello N., Liguori M. The MicroRNA Centrism in the Orchestration of Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Cells*. 2019. Vol. 8, Iss. 10. P. 1193. <https://doi.org/10.3390/cells8101193>
- [29] Identification of a novel mechanism of blood-brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles / S. Balusu, E. Van Wanterghem R. De Rycke et al. *Embo Molecular Medicine*. 2016. Vol. 8, Iss. 10. P. 1162-1183. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606271>
- [30] Astrocytes Secrete Exosomes Enriched with Proapoptotic Ceramide and Prostate Apoptosis Response 4 (PAR-4) potential mechanism of apoptosis induction in Alzheimer disease (AD) / G. H. Wang, M. Dinkins, Q. He et al. *Journal of Biological Chemistry*. 2012. Vol. 287, Iss. 25. P. 21384-21395. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.340513>
- [31] Fader C. M., Colombo M. I. Autophagy and multivesicular bodies: two closely related partners. *Cell Death and Differentiation*. 2009. Vol. 16, Iss. 1. P. 70-78. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.168>
- [32] Rusten T. E., Simonsen A. ESCRT functions in autophagy and associated disease. *Cell Cycle*. 2008. Vol. 7, Iss. 9. P. 1166-1172. <https://doi.org/10.4161/cc.7.9.5784>
- [33] Recent progress in the role of autophagy in neurological diseases / T. Meng, S. Lin, H. Zhuang et al. *Cell Stress*. 2019. Vol. 3, Iss. 5. P. 141-161. <https://doi.org/10.15698/cst2019.05.186>
- [34] Banerjee R., Beal M. F., Thomas B. Autophagy in neurodegenerative disorders: pathogenic roles and therapeutic implications. *Trends in Neurosciences*. 2010. Vol. 33, Iss. 12. P. 541-549. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.09.001>
- [35] Autophagy in neurodegenerative diseases: pathogenesis and therapy / F. Guo, X. Y. Liu, H. B. Cai, W. D. Le. *Brain Pathology*. 2018. Vol. 28, Iss. 1. P. 3-13. <https://doi.org/10.1111/bpa.12545>
- [36] Extracellular Vesicles Secreted by Astroglial Cells Transport Apolipoprotein D to Neurons and Mediate Neuronal Survival Upon Oxidative Stress / R. Pascua-Maestro, E. Gonzalez, C. Lillo et al. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2019. Vol. 12. P. 526. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00526>
- [37] Exosomes From Astrocyte Processes: Signaling to Neurons / A. Venturini, M. Passalacqua, S. Pelassa et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2019. Vol. 10. P. 1452. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01452>
- [38] MiRNAs in Astrocyte-Derived Exosomes as Possible Mediators of Neuronal Plasticity / C. Lafourcade, J. P. Ramirez, A. Luarte et al. *Journal of Experimental Neuroscience*. 2016. Vol. 10. P. 1-9. <https://doi.org/10.4137/jen.s39916>
- [39] Schiera G., Di Liegro C. M., Di Liegro I. Cell-to-Cell Communication in Learning and Memory: From Neuro- and Glio-Transmission to Information Exchange Mediated by Extracellular Vesicles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, Iss. 1. P. 266. <https://doi.org/10.3390/ijms21010266>
- [40] Santello M., Cali C., Bezzi P. Gliotransmission and the Tripartite Synapse. *Synaptic Plasticity: Dynamics, Development and Disease*. 2012. Vol. 970. P. 307-331. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0932-8_14
- [41] Durkee C. A., Araque A. Diversity and Specificity of Astrocyte-neuron Communication. *Neuroscience*. 2019. Vol. 396. P. 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.010>
- [42] Verkhatsky A., Nedergaard M. Astroglial cradle in the life of the synapse. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2014. Vol. 369, Iss. 1654. P. 20130595. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0595>
- [43] van Gool W. A., van de Beek D., Eikelenboom P. Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide. *Lancet*. 2010. Vol. 375, Iss. 9716. P. 773-775. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61158-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61158-2)
- [44] Activity-Dependent Structural Plasticity of Perisynaptic Astrocytic Domains Promotes Excitatory Synapse Stability / Y. Bernardinelli, J. Randall, E. Janett et al. *Current Biology*. 2014. Vol. 24, Iss. 15. P. 1679-1688. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.06.025>

References

- [1] Lamar, C. D., Hurley, R. A., & Taber, K. H. (2011). Sepsis-Associated Encephalopathy: Review of the Neuropsychiatric Manifestations and Cognitive Outcome. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 23(3), 236-241. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.23.3.237>
- [2] Shuliatnikova, T. V., & Shavrin, V. O. (2018). Sepsis associated encephalopathy and abdominal sepsis: current state of problem. *Art of Medicine*, (3), 158-165.
- [3] Sartelli, M., Abu-Zidan, F. M., Catena, F., Griffiths, E. A., Di Saverio, S., Coimbra, R., & Ansaloni, L. (2015). Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intra-abdominal infections: a prospective multicentre study (WISS Study). *World Journal of Emergency Surgery*, 10, Article 61. <https://doi.org/10.1186/s13017-015-0055-0>
- [4] Shulyatnikova, T., & Verkhatsky, A. (2020). Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical Research*, 45(1), 83-99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2>
- [5] Sonnevile, R., Verdonk, F., Rauturier, C., Klein, I. F., Wolff, M., Annane, D., Chretien, F., & Sharshar, T. (2013). Understanding brain dysfunction in sepsis. *Annals of Intensive Care*, 3, Article 15. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-3-15>
- [6] Chaudhry, N., & Duggal, A. K. (2014). Sepsis Associated Encephalopathy. *Advances in Medicine*, 2014, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2014/762320>
- [7] Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2018). Physiology of Astroglia. *Physiological Reviews*, 98(1), 239-389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- [8] Sofroniew, M. V. (2015). Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(5), 249-263. <https://doi.org/10.1038/nrn3898>
- [9] Zorec, R., Zupanc, T. A., & Verkhatsky, A. (2019). Astroglial pathology in the infectious insults of the brain. *Neuroscience Letters*, 689, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.08.003>
- [10] Vardjan, N., & Zorec, R. (2015). Excitable astrocytes: Ca²⁺- and cAMP-regulated exocytosis. *Neurochemical Research*, 40(12), 2414-2424. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1545-x>
- [11] Verkhatsky, A., Matteoli, M., Parpura, V., Mothet, J. P., & Zorec, R. (2016). Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. *Embo Journal*, 35(3), 239-257. <https://doi.org/10.15252/embj.201592705>
- [12] Vardjan, N., Parpura, V., Verkhatsky, A., & Zorec, R. (2019). Gliocrine system: Astroglia as secretory cells of the CNS. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1175, pp. 93-115). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_4
- [13] Turchinovich, A., Drapkina, O., & Tonevitsky, A. (2019). Transcriptome of Extracellular Vesicles: State-of-the-Art. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 202. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00202>
- [14] Liu, T., Zhang, Q., Zhang, J. K., Li, C., Miao, Y. R., Lei, Q., Li, Q. B., & Guo, A. Y. (2019). EVmiRNA: a database of miRNA profiling in extracellular vesicles. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D89-D93. <https://doi.org/10.1093/nar/gky985>
- [15] Lian, H., Yang, L., Cole, A., Sun, L., Chiang, A. C. A., Fowler, S. W., Shim, D. J., Rodriguez-Rivera, J., Tagliatalata, G., Jankowsky, J. L., Lu, H. C., & Zheng, H. (2015). NFκB-Activated Astroglial Release of Complement C3 Compromises Neuronal Morphology and Function Associated with Alzheimer's Disease. *Neuron*, 85(1), 101-115. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.018>
- [16] Vardjan, N., Gabrijel, M., Potokar, M., Svaiger, U., Krefl, M., Jeras, M., de Pablo, Y., Faiz, M., Pekny, M., & Zorec, R. (2012). IFN-γ-induced increase in the mobility of MHC class II compartments in astrocytes depends on intermediate filaments. *Journal of Neuroinflammation*, 9, <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-144>
- [17] Božić, M., Verkhatsky, A., Zorec, R., & Stenovec, M. (2019). Exocytosis of large-diameter lysosomes mediates interferon γ-induced relocation of MHC class II molecules toward the surface of astrocytes. *Cellular and Molecular Life Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03350-8>
- [18] Huotari, J., & Helenius, A. (2011). Endosome maturation. *EMBO Journal*, 30(17), 3481-3500. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.286>
- [19] Trajkovic, K., Hsu, C., Chiantia, S., Rajendran, L., Wenzel, D., Wieland, F., Schwille, P., Bruggger, B., & Simons, M. (2008). Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular Endosomes. *Science*, 319(5867), 1244-1247. <https://doi.org/10.1126/science.1153124>
- [20] Luzio, J. P., Gray, S. R., & Bright, N. A. (2010). Endosome-lysosome fusion. *Biochemical Society Transactions*, 38, 1413-1416. <https://doi.org/10.1042/bst0381413>
- [21] Hanson, P. I., & Cashikar, A. (2012). Multivesicular Body Morphogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, Vol 28, 28, 337-362. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154152>
- [22] Doyle, L. M., & Wang, M. Z. (2019). Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*, 8(7), Article 727. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
- [23] EP and Council. (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. OJ L276:33.
- [24] Rittirsch, D., Huber-Lang, M. S., Flierl, M. A., & Ward, P. A. (2009). Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nature Protocols*, 4(1), 31-36. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.214>
- [25] Toscano, M. G., Ganea, D., & Gamero, A. M. (2011). Cecal Ligation Puncture Procedure. *Jove-Journal of Visualized Experiments*, (51), Article e2860. <https://doi.org/10.3791/2860>
- [26] Su, W., Aloi, M. S., & Garden, G. A. (2016). MicroRNAs mediating CNS inflammation: Small regulators with powerful potential. *Brain Behavior and Immunity*, 52, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.07.003>
- [27] Gaudet, A. D., Fonken, L. K., Watkins, L. R., Nelson, R. J., & Popovich, P. G. (2018). MicroRNAs: Roles in Regulating Neuroinflammation. *Neuroscientist*, 24(3), 221-245. <https://doi.org/10.1177/1073858417721150>
- [28] Nuzziello, N., & Liguori, M. (2019). The MicroRNA Centrism in the Orchestration of Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Cells*, 8(10), Article 1193. <https://doi.org/10.3390/cells8101193>
- [29] Balusu, S., Van Wonterghem, E., De Rycke, R., Raemdonck, K., Stremersch, S., Gevaert, K., Brkic, M., Demeestere, D., Vanhooren, V., Hendrix, A., Libert, C., & Vandembroucke, R. E. (2016). Identification of a novel mechanism of blood-brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles. *Embo Molecular Medicine*, 8(10), 1162-1183. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606271>
- [30] Wang, G. H., Dinkins, M., He, Q., Zhu, G., Poirier, C., Campbell, A., Mayer-Proschel, M., & Bieberich, E. (2012). Astrocytes Secrete Exosomes Enriched with Proapoptotic Ceramide and Prostate Apoptosis Response 4 (PAR-4) potential mechanism of apoptosis induction in Alzheimer disease (AD). *Journal of Biological Chemistry*, 287(25), 21384-21395. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.340513>
- [31] Fader, C. M., & Colombo, M. I. (2009). Autophagy and multivesicular bodies: two closely related partners. *Cell Death and Differentiation*, 16(1), 70-78. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.168>
- [32] Rusten, T. E., & Simonsen, A. (2008). ESCRT functions in autophagy and associated disease. *Cell Cycle*, 7(9), 1166-1172. <https://doi.org/10.4161/cc.7.9.5784>
- [33] Meng, T., Lin, S., Zhuang, H., Huang, H., He, Z., Hu, Y., Gong, Q., & Feng, D. (2019). Recent progress in the role of autophagy in neurological diseases. *Cell Stress*, 3(5), 141-161. <https://doi.org/10.15698/cst2019.05.186>
- [34] Banerjee, R., Beal, M. F., & Thomas, B. (2010). Autophagy in neurodegenerative disorders: pathogenic roles and therapeutic implications. *Trends in Neurosciences*, 33(12), 541-549. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.09.001>
- [35] Guo, F., Liu, X. Y., Cai, H. B., & Le, W. D. (2018). Autophagy in neurodegenerative diseases: pathogenesis and therapy. *Brain Pathology*, 28(1), 3-13. <https://doi.org/10.1111/bpa.12545>
- [36] Pascua-Maestro, R., Gonzalez, E., Lillo, C., Ganforina, M. D., Falcon-Perez, J. M., & Sanchez, D. (2019). Extracellular Vesicles Secreted by Astroglial Cells Transport Apolipoprotein D to Neurons and Mediate Neuronal Survival Upon Oxidative Stress. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, Article 526. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00526>
- [37] Venturini, A., Passalacqua, M., Pelassa, S., Pastorino, F., Tedesco, M., Cortese, K., Gagliani, M. C., Leo, G., Maura, G., Guidolin, D., Agnati, L. F., Marcoli, M., & Cervetto, C. (2019). Exosomes From Astrocyte Processes: Signaling to Neurons. *Frontiers in Pharmacology*, 10, Article 1452. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01452>
- [38] Lafourcade, C., Ramirez, J. P., Luarte, A., Fernandez, A., & Wyneken, U. (2016). MiRNAs in Astrocyte-Derived Exosomes as Possible Mediators of Neuronal Plasticity. *Journal of Experimental Neuroscience*, 10, 1-9. <https://doi.org/10.4137/jen.s39916>
- [39] Schiera, G., Di Liegro, C. M., & Di Liegro, I. (2020). Cell-to-Cell Communication in Learning and Memory: From Neuro- and Glio-Transmission to Information Exchange Mediated by Extracellular Vesicles. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), Article 266. <https://doi.org/10.3390/ijms21010266>
- [40] Santello, M., Cali, C., & Bezzi, P. (2012). Gliotransmission and the Tripartite Synapse. *Synaptic Plasticity: Dynamics, Development and Disease*, 970, 307-331. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0932-8_14
- [41] Durkee, C. A., & Araque, A. (2019). Diversity and Specificity of Astrocyte-neuron Communication. *Neuroscience*, 396, 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.010>
- [42] Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2014). Astroglial cradle in the life of the synapse. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 369(1654), Article 20130595. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0595>
- [43] van Gool, W. A., van de Beek, D., & Eikelenboom, P. (2010). Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide. *Lancet*, 375(9716), 773-775. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61158-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61158-2)
- [44] Bernardinelli, Y., Randall, J., Janett, E., Nikonenko, I., Konig, S., Jones, E. V., Flores, C. E., Murai, K. K., Bochet, C. G., Holtmaat, A., & Muller, D. (2014). Activity-Dependent Structural Plasticity of Perisynaptic Astrocytic Domains Promotes Excitatory Synapse Stability. *Current Biology*, 24(15), 1679-1688. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.06.025>