

МЕЛЬНИКОВА Е. В.¹, ШМОНИН А. А.^{1,2},
ПАРАМОНОВА Н. М.³, МИЩЕНКО К. А.⁴

Роль коннексиновых структур (щелевых межклеточных контактов — gap-junction и полуканалов) в патогенезе ишемического повреждение головного мозга: современное состояние проблемы

¹ *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8.*

² *Институт экспериментальной медицины Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2.*

³ *Институт физиологии им. И. П. Павлова 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.*

⁴ *Поликлиника ФГБУ «Консультативно-диагностический центр с поликлиникой» 197110, Россия, г. Санкт-Петербург, Морской проспект, д. 3.
e-mail: langendorff@gmail.com*

Реферат

Данный обзор посвящен обсуждению двойственной роли коннексиновых структур и щелевых межклеточных контактов в норме и при ишемии мозга. В обзоре описана структура и форма таких коннексиновых структур, как щелевые контакты и полуканалы. Показано, что свойства коннексиновых структур зависят от коннексинов, входящих в их состав. Описаны вещества, которые могут транспортироваться через коннексиновые структуры, режимы работы щелевых каналов. Приводятся данные о возможном увеличении количества ЩК после ишемии/гипоксии головного мозга. Высказана гипотеза о развитии после ишемии нейронального синцития путем образования ЩК. Предложены способы блокировки каналов с целью уменьшения постишемического повреждения мозга.

Ключевые слова: щелевые контакты, коннексины, полуканалы, коннексиновые структуры, ишемия, инсульт, головной мозг, тканевой синцитий.

Введение

Изучению патогенеза ишемического и реперфузионного повреждения головного мозга посвящено большое количество исследований. До конца остается неясным как происходит межклеточное взаимодействие в условиях ишемии. В таких условиях происходит переход на более «древние» и более экономичные механизмы межклеточного взаимодействия. Мы предполагаем, что именно щелевые межклеточные контакты (ЩК) — Gap-junction — значимо могут влиять, как на повреждение, так и на выживание нервных клеток в условиях повреждения.

Среди видов межклеточной коммуникации ЩК являются одними из самых простых по структуре, выполняют большое количество функций и участвуют в специфической деятельности многих структур центральной нервной системы, как в физиологических, так и в патологических условиях [3, 21].

Данный обзор будет посвящен как общим вопросам физиологии и морфологии ЩК, так и их возможной роли при ишемическом и реперфузионном повреждении головного мозга.

О присутствии ЩК в нервной ткани человека стало известно в 1961 году благодаря работам австралийского нейрофизиолога, нобелевского лауреата

Джона Экклса, которым были подробно описаны межнейронные ЩК, названные электрическими синапсами [39]. Несколькими годами позже подобные gap junction контакты были обнаружены и в глиальной ткани, где наиболее часто коммуникации данного типа образуются между клетками астроглии — астроцитами. Могут взаимодействовать с помощью ЩК и клетки микроглии. Имеются также немногочисленные данные о наличии ЩК между нейронами и различными типами глиальных клеток [3, 9].

Структура ЩК

Gap junctions или щелевые контакты имеют вид белковых каналов диаметром 16–20 Ангстрем, составленных из гексамерных структур (коннексинов) двух взаимодействующих клеток, каждый из которых образован особыми белками — коннексинами. В организме человека это семейство протеинов представлено 20 видами молекул. В построении межнейронных контактов участвуют: коннексин 32 (Cx 32), Cx 26, Cx 36, Cx 45, Cx 57. Специфичными для астроцитов коннексинами являются Cx 43 и Cx 30.

Коннексины имеют четыре домена пронизывающих мембрану клетки, две внеклеточных петли и три цитоплазматических компонента: N-пептидный

конец, С-пептидный конец и цитоплазматическую петлю. Структуру Сх 43 определяет ген GJA1 (gap junction protein, alpha1, 43kDa) локализованный в локусе 6q21-q23.2 VI хромосомы. Посттрансляционная модификация коннексинов происходит разными путями, которые зависят от молекулярной массы данного белка [41].

Сх 43 располагается в аппарате Гольджи, что имеет практическое значение и блокада данного пути с помощью деструктора А. Гольджи — вещества брефелдина А, может стать основой для создания модели изучения роли Сх 43 в ответе астроцитарного компонента нейроглии на различные повреждающие воздействия. Сх 26 модифицируется в эндоплазматическом ретикулуме, что лишает его специфических блокаторов сборки и для его экспериментального изучения требуется линия нокаутных по гену Сх 26 (GJB 2 — gap junction protein, beta 2, 26 kDa) лабораторных животных, применение олигонуклеотидных молекул антисенс-РНК [26].

В последнее время в литературе активно обсуждается еще один класс белков, конструирующих коннексоны, называемый паннексинами [43]. На сегодня описаны три вида паннексинов — Рх1, Рх2, Рх3. Сведения об их участии в формировании ЩК остаются противоречивыми [3]. В исследовании Bao, L., Losovei, S. доказано участие паннексинов в эффлюксе АТФ во внеклеточную среду при ишемии [12]. Другие же исследователи в эксперименте на культуре HeLa показали их полную несостоятельность как основу щелевой кондукции [13].

Каждый из коннексонов состоит либо из коннексинов одного вида — гомотипический вариант, либо из различных коннексинов — гетеротипический вариант.

Соединение образованное гомотипическими по одному виду коннексонами определяется как гомомерное, для обратной ситуации применим термин — гетеромерный канал. Данный факт способен расширять или сужать спектр клеток, с которыми возможна коммуникация данного рода.

Структура и функции полуканалов

Следует отметить, что коннексоны выполняют свою функцию и вне ЩК. Данная форма их существования называется полуканалы. Среди нейрональных полуканалов наиболее изучены Сх32-содержащие структуры, а среди глиальных содержащие Сх 43. Помимо этого, обнаружение некоторыми исследователями в структуре полуканалов белка паннексина, а зачастую даже большей интенсивности в передаче молекул у структур, образованных им, может окончательно раскрыть роль этих белков в щелевых соединениях. Показано, что спектр передаваемых полуканалами веществ схож с таковым у ЩК, но, в то же время, некоторые исследователи говорят, в том числе, об их большей распространенности и значительном участии в ответе на ишемическое повреждение и меньшее значение придают их работе в физиологических условиях. Регуляция работу полуканала осуществляется по тем же принципам, что справедливы для полноценных ЩК: открытие происходит под действием снижения концентрации

внеклеточного кальция, алкализации межклеточной среды, высокой концентрации свободных радикалов [41].

Роль полуканалов [21, 24]:

1. Ca^{2+} распространяется между клетками через ЩК;
2. Открытие полуканалов высвобождает многие вещества (глутамат, АТФ, НАД⁺) во внеклеточную среду;
3. Активация гемиканалов опосредует формирование больших мембранных пор, способных пропускать большое количество ионов и молекул;
4. Участие паннексиновых полуканалов в выходе Ca^{2+} из эндоплазматической сети;
5. Внутриклеточный поток Ca^{2+} проходит через полуканалы;
6. Полуканалы открываются и высвобождают АТФ;
7. Внеклеточная АТФ связывается пуринергическими рецепторами (P2X7);
8. Активация открытия полуканалов снижением внеклеточного кальция;
9. АТФ-зависимое высвобождение Ca^{2+} .

Некоторые исследователи считают, что высвобождение глутамата из астроцитов происходит в основном через полуканалы [35]. Так, снижение экстрацеллюлярной концентрации кальция, всегда имеющая место при ишемии, являются триггером открытия Сх43 полуканалов и выхода из клетки глутамата, НАД и АТФ которая, в свою очередь, соединяясь с P2X7 рецепторами астроцитов, в несколько раз усиливает высвобождение токсичного нейромедиатора из клеток [13].

Коннексоны двух соприкасающихся клеток образуют каналоподобную структуру достаточного большого диаметра (16–20 Ангстрем или 1,5 нм) и значительной протяженности (10–15 нм). Данные характеристики обуславливают функцию ЩК по прямой двусторонней передаче гидрофильного цитоплазматического содержимого от одной клетке к другой.

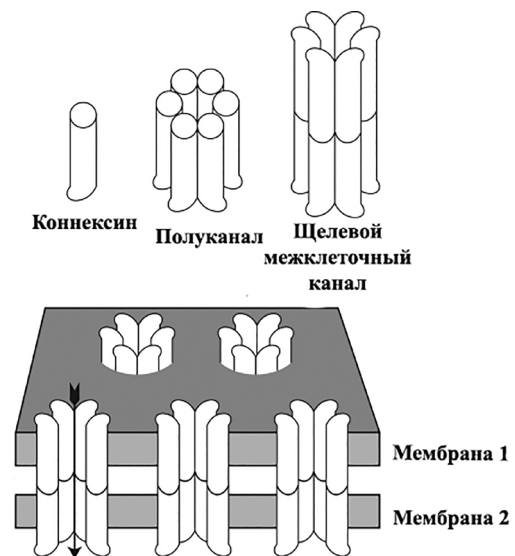


Рис. 1. Функция ЩК в физиологических условиях

ОБЗОР

Молекулы, передаваемые ЩК, должны иметь размер не более 1 кД и гидрофильные свойства. Заряд молекул не влияет на скорость и интенсивность транспорта веществ через межклеточный канал.

В этом процессе можно рассматривать две стороны [28]:

1. прямое проведение нервного возбуждения;
2. передача биологически значимых веществ.

К веществам, идентифицированным на сегодняшний день как субстрат транспорта через ЩК относятся: Аденозин, АТФ, АДФ, Инозитол-3-фосфат, цАМФ, цГТФ, Ca^{2+} , K^+ , Глутамат, Глутатион, Глицин, есть также данные о передаче транскрипционных факторов через щелевое соединение, что показано на примере трансдукции ганцикловира между зараженными клетками [29].

Настоящий список не является окончательным, и, по всей видимости, это лишь малая доля наиболее биологически значимых веществ, передаваемых через данный тип соединения, и лишь из-за несовершенства методов индикации кинетики эндогенных субстанций мы не можем назвать остальных участников этого биохимического потока.

Большое количество исследований продемонстрировало различную скорость транспорта веществ по каналам ЩК в зависимости от составляющих их коннексинов. Например для Сх 43 астроцитов характерна средняя скорость транспорта молекул равная 1600 мол./с, в то время как для Сх 26 этот показатель равен 350 мол./с. Также скорость возрастает с увеличением степени фосфорилирования молекулы: так АМФ имеет скорость 300 мол/мин, АДФ 600 мол./мин, АТФ 1600 мол/мин для Сх 43 [8, 43].

Существуют достаточно серьезные основания для предположения о селективности транспорта по ЩК, которая показана на примере транспорта аденозина, глюкозы, глутамата, цАМФ и АДФ, эффективность передачи которого через Сх 43 в 10 раз выше, чем через Сх 32 и другие коннексины. Передача нервного импульса через ЩК в нейронах изучена на примере коннексонов, образованных Сх 36 [43].

Каждый канал в отдельности имеет достаточно низкую электропроводность, равную 10–15 pS, в то время как высокая плотность распределения ЩК на поверхности нейронов позволяет увеличить ее суммарное значение до 1,5–2 nS, что обеспечивает сверхбыструю передачу нервного импульса между соприкасающимися клетками.

Многими исследованиями показано, что данные взаимодействия не являются альтернативой химическим синапсам, а обеспечивают лишь синхронизацию электрической активности в различных структурах мозга, например, нейронах nucleus olivarius inferior, гиппокампа, ретикулярной формации. Например, электрические осцилляции в ядрах гиппокампа СА1, СА2, СА3 и некоторых других нервных центров у мышей, нокаутных по гену Сх 36, имеют такие же значения частоты, формы, интенсивности как и интактных животных, но лишены синхронности. В то же время в исследовании электрической активности ядер гиппокампа кошек в условиях полной блокады химических глутаматных синапсов показано сохра-

нение синхронности, частоты и формы осцилляций, и выполнение принципа возбуждения «все или ничего» [14].

Очень большое значение имеют синапсы между клетками астроглии, которые способны участвовать в появлении феномена распространяемой корковой депрессии, клинически проявляющейся в виде приступов мигрени, занимающей определенное место и в патогенезе ишемии/реперфузии мозга. Суть происходящего заключена в чрезмерном повышении концентрации калия во внеклеточной среде, который в норме выделяется в процессе деполяризации нейронов и захватывается клетками астроглии. При определенных обстоятельствах, которыми могут быть апоптоз, некроз, блокирование ЩК, либо превышение аккумуляционных возможностей клеток, астроциты резко изгоняют в межклеточное пространство большие количества калия, что и приводит к обширной и длительной деполяризации нейронов различных ядер (например, n.trigeminus) и к вазоконстрикции, которая может иметь значение для развития ишемического повреждения [32, 33].

Передача биологически значимых веществ посредством ЩК представляет большой интерес, поскольку оказывает влияние на патогенез ишемических и реперфузионных событий в нервной ткани. Так, в условиях ишемии, происходит передача макроэргических соединений, субстратов, необходимых для их синтеза, кислорода. Но с нарастанием гипоксии, ЩК начинают транспортировать вредоносные свободно-радикальные соединения, Ca^{2+} , вторичные мессенджеры, протеинкиназы, фосфолипазы и т. д. Данный поток с одной стороны может прямо или через цепи биохимических реакций повреждать клеточные структуры и запускать процесс апоптоза, с другой стороны способен, демпфируя на некоторое время сдвигать значение внутриклеточного pH в кислую среду и, таким образом, препятствовать своевременному блокированию ЩК и ограничению очага ишемии от интактной ткани [3].

Регуляция работы ЩК

Регуляция работы ЩК осуществляется множеством внеклеточных и внутриклеточных факторов. Выделяют медленную и быструю регуляцию [24]. Быстрая регуляция включает в себя изменение состояния канала на открытое и закрытое, медленная — определяет степень представленности коннексиновых структур на мембранах клеток, скорость посттрансляционных модификаций, модулирует активность деградации структур.

1. Среди внутриклеточных одним из самых значимых является уровень pH (J. S. Schweitzer et al, 1999). Так в диапазоне от 7.3 до 6.49 большинство ЩК находятся в инактивированном состоянии. Очень важным исключением является коннексоны с преобладанием Сх36, которые, напротив блокируются в щелочной внеклеточной среде с pH > 7.5. [23], что может объяснять их открытое состояние во время развития ишемии.

2. Еще одним регулятором активности ЩК является фосфорилирование цитоплазматических доменов коннексона, которое приводит к блокировке ЩК.

Данная биохимическая модификация катализируется ферментами — протеинкиназами. К этой группе белков относятся фосфатидил-инозитол-3-киназа, протеинкиназа В (Akt-киназа), связывающая рапамицин киназа (mTOR), p70s6 киназа, гликоген синтаза β , ERK-киназа. Данные ферменты составляют «каскад выживания», который активируется в ответ на различные патологические и фармакологические стимулы. Наиболее значимым считается их участие в процессах ишемии/реперфузии, где с ними связывается реализация феноменов пре- и посткондиционирования [22, 27, 34].

3. Также функцию модуляции работы ЦК выполняет концентрация внутриклеточного Ca^{2+} , при повышении которой происходит закрытие коннексонов и химическое разъединение контактирующих клеток [16]. При понижении концентрации внеклеточного Ca^{2+} ЦК напротив переходят в открытое состояние.

4. Также на статус канала влияет содержание активных форм кислорода вне клетки, при малейшем повышении концентрации которых происходит открытие ЦК [24].

5. Уровень заряда потенциала. Потенциал-зависимая конформация. Это свойство позволяет проводить импульс по нервным клеткам только в одном направлении [24].

6. Химическая регуляция за счет выброса аденозина, который угнетает активность ЦК [24].

Участие в патогенезе ишемии мозга

В ответ на любое повреждающее событие, в том числе и на ишемию, реагируют все компоненты нервной ткани: нейронный, глиальный и сосудистый. Участие коннексоновых структур в данном процессе очень велико. Они как в составе ЦК, так и в виде изолированных полуканалов обуславливают динамику электрических и метаболических патологических изменений при ишемии и реперфузии.

Нейроны, как было сказано выше, экспрессируют ЦК Cx 36 в очень ограниченном числе структур головного мозга (гиппокамп, ядра оливы, участки зрительной коры больших полушарий) и их роль, по-прежнему оставаясь не изученной, скорее всего не является определяющей ни в развитии феномена эксайтотоксичности, ни в распространении корковой деполяризации, что очень хорошо подтверждает исследование [37], проведенное на модели четырехсосудистой ишемии мозга крысы. В данной работе планировалось показать наличие эффекта снижения TUNEL-позитивных апоптотических клеток в CA1, CA2 ядрах гиппокампа от интрацеребрального введения специфического блокатора Cx 36 хинина. Результатом экспериментов стало отсутствие какого-либо апоптозоредуктивного эффекта данного препарата. В то время как неселективные блокаторы ЦК — карбенексон, и глицерретиновая кислота показали очень значительный антиапоптотический нейропротективный эффект при введении за 30 минут до ишемии.

Астроциты с целью перераспределения нейротоксических веществ по значительной площади астроглии начинают взаимодействовать между собой с помощью ЦК, образованных Cx 43. Такая деятельность

астроцитов в этом случае носит двоякий характер.

С одной стороны, снижение количества нейротоксических веществ в зоне ишемического ядра и ближайших к нему отделов пенумбры почти вдвое сокращает апоптоз нейронов и клеток глии, что показано в опытах на мышцах, нокаутных по гену Cx 43 [30, 31]. Стоит также сказать, что клетки астроглии благодаря мощному развитию внутриклеточной глутатионовой системы активно участвуют в нейтрализации образующихся при ишемии, а в большей степени во время реперфузии, активных форм кислорода (АФК). Повышение во внеклеточной среде АФК приводит к открытию полуканалов, прохождению радикалов в цитоплазму, где и происходит их обезвреживание. С другой стороны, такая реакция астроглии вовлекает в патологическое состояние очень большой объем нервной ткани через возникновение двух феноменов: вышеописанной эксайтотоксичности и распространяемой корковой депрессии, которая в условиях начальной гипоксии и гипоперфузии обуславливает еще более выраженную распространяемую олигемию, чем при нормальном кровотоке, отражающую реакцию сосудистого компонента нервной ткани на альтерацию, и увеличивающую пространство ишемической пенумбры и, в особо реактивных формах, приводящую к формированию отдаленных микроочагов инсульта [44]. В мультицентровом исследовании, проведенном в Германии на пациентах, оперированных по поводу аневризм мозговых артерий различных локализаций, показана связь развития ишемических послеоперационных осложнений и возникновения эпизодов распространяемой корковой деполяризации.

Многими авторами предлагается следующая этапность модификации ЦК в ходе ишемии, смоделированной посредством необратимого лигирования корковой ветви средней мозговой артерии: от 0 до 15 минут ишемии без реперфузии в ядре ишемии и в зоне ишемической пенумбры среди астроцитов начинают преобладать дефосфорилированные, то есть открытые каналы ЦК. При электронной микроскопии видны веретенообразно вытянутые астроциты с сильно разветвленными и удлинненными отростками, тянущимися к телам соседних клеток астроглии. Через 1 час окклюзии средней мозговой артерии по методике Zhao признаки дефосфорилированных ЦК в ядре ишемии исчезают, что говорит о постепенном формировании некроза в этой области, что подтверждается микроскопически определяемым кариопикнозом и кариорексисом. Через 6 часов (более ранняя оценка не проводилась) на границе ишемического ядра и пенумбры появляется скопление клеток с фосфорилированными Cx 43, о которых можно очень осторожно говорить, как о попытке глии локализовать поражение. По прошествии 12–24 часов наблюдается постепенное уменьшение количества дефосфорилированных Cx 43 в ишемической пенумбры, возрастает количество интернализированных коннексонов. Микроскопически на данном этапе видны вакуолизированная цитоплазма астроцитов, укороченные или фрагментированные отростки, кариопикноз и кариорексис, что говорит о

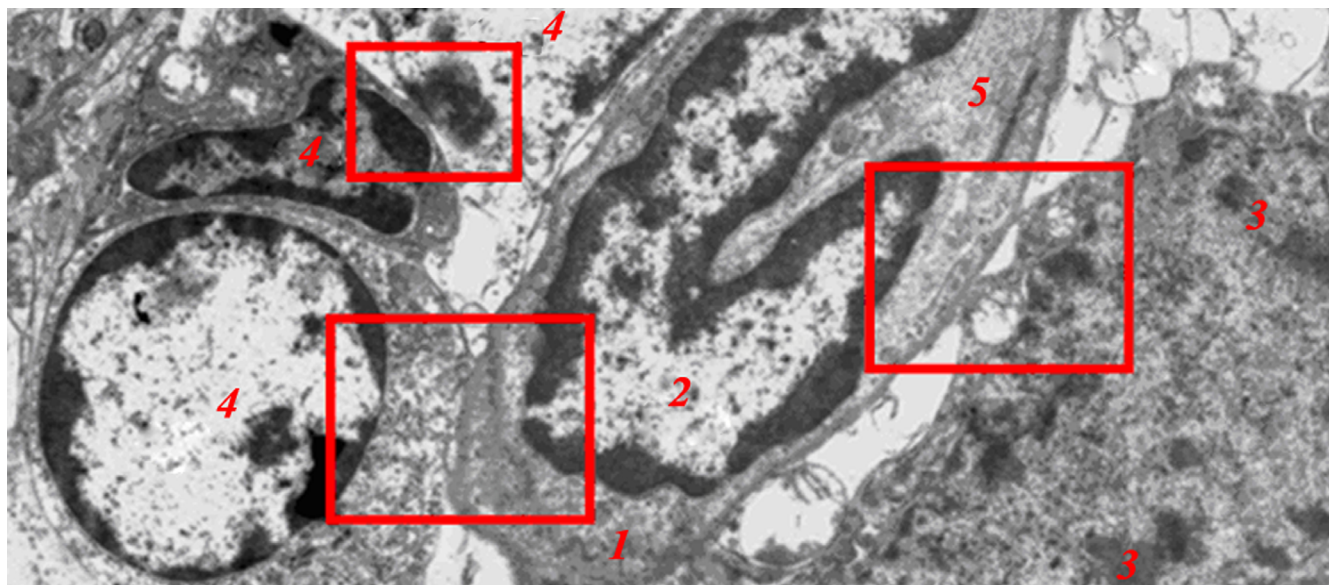


Рис. 2. Образование щелевых и плотных межклеточных контактов после ишемии головного мозга между основными компонентами гематоэнцефалического барьера: 1 — пероцит; 2 — ядро эритроцита; 3 — ядро нейрона; 4 — ядро олигодендрокита; 5 — просвет капилляра; рамкой обведены видимые контакты

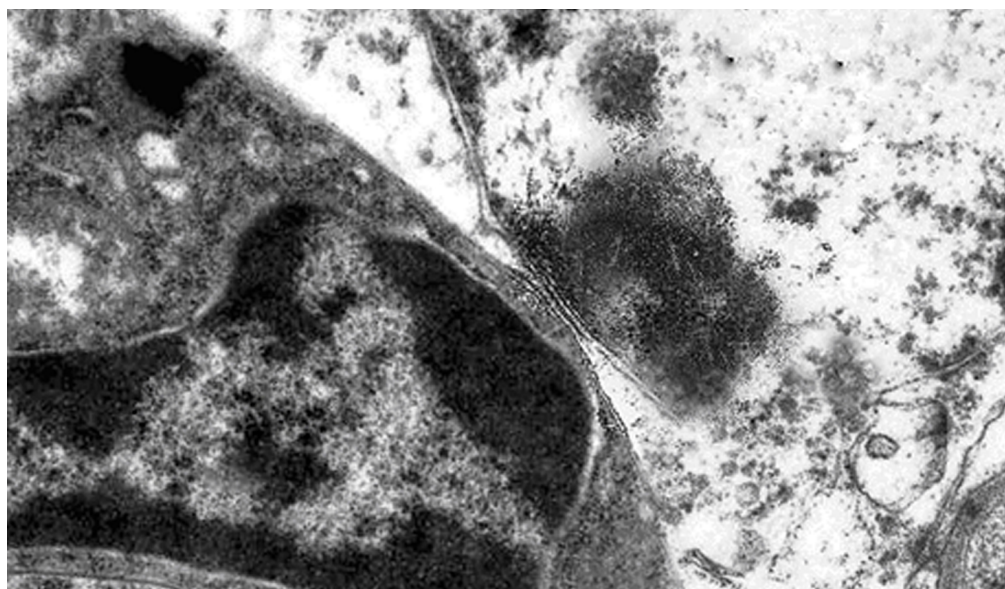


Рис. 3. Щелевые и плотные межклеточные контакты после ишемии головного мозга между двумя олигодендрокитами

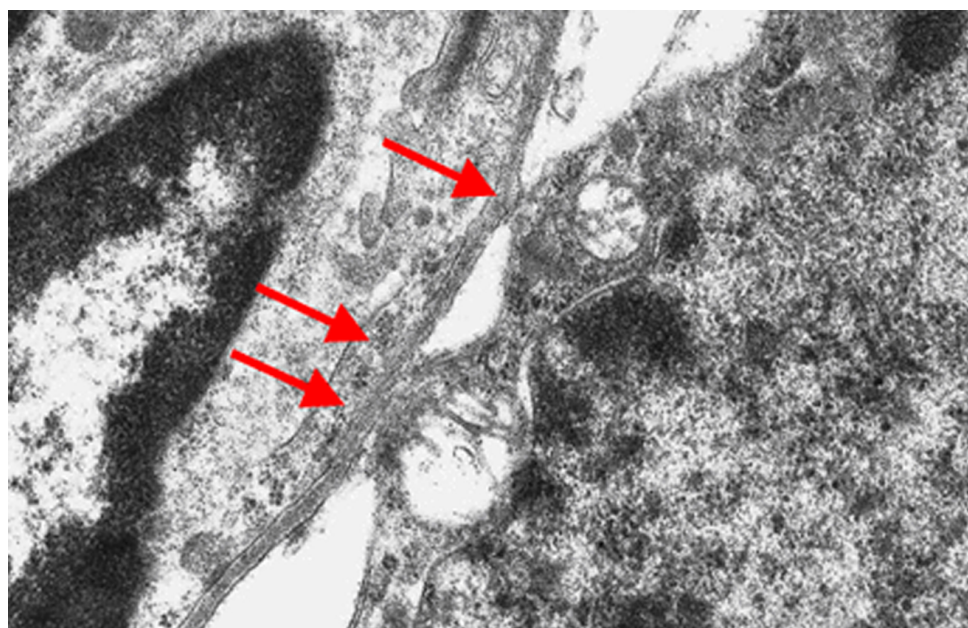


Рис. 4. Щелевые и плотные межклеточные контакты после ишемии головного мозга между нейроном и пероцитом



Рис. 5. Щелевые контакты после ишемии головного мозга между двумя митохондриями

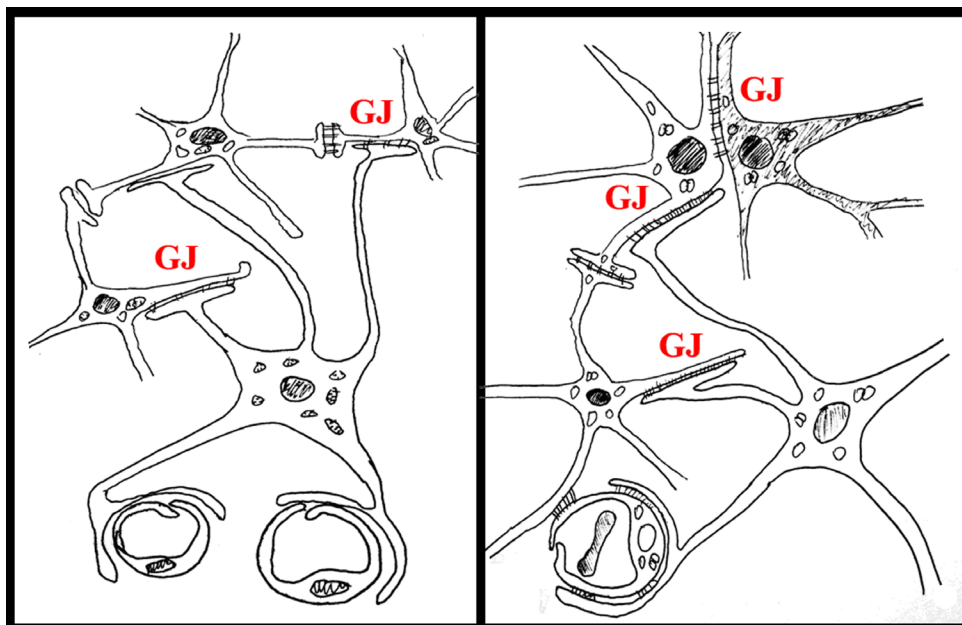


Рис. 6. Схема расположения щелевых межклеточных контактов в головном мозге до и через 72 часа после ишемии. GJ – щелевые межклеточные контакты

гибели клеток в дистанцированных от ядра ишемии участках зоны пенумбры [24]. Данные Мельниковой Е. В. 2010 свидетельствуют об увеличении количества щелевых и плотных межклеточных контактов в головном мозге крысы на третьи сутки после транзиторной ишемии переднего мозга (окклюзия обеих общих сонных артерий на 180 минут) [2].

При электронной микроскопии наблюдается значительное увеличение количества межклеточных контактов на фоне повреждения нейронов, глии и эндотелиоцитов (Рис.2). Через 72 часа после ишемии наблюдаются признаки ишемического повреждения головного мозга.

Нарушается структура гематоэнцефалического барьера. В результате возникает контакт нейронов не только между нейронами и олигодендроглий, но и перикарионами и эндотелиоцитами (Рис. 3, 4). В большинстве участков контактного взаимодействия образуются химические синапсы и плотные

контакты. ЩК также образуются между попарно расположенными митохондриями (Рис. 5).

В условиях ишемического поражения головного мозга возникает дезорганизация между основными тканевыми структурами, что ведет к перестройке ткани с формированием новых плотных контактов и межклеточных электрических синапсов. Ткань приобретает структуру нейронального синцития [4, 5, 6]. Причем в структуру подобного синцития входят не только нейроны, но и перикарионы, эндотелиоциты и олигодендроциты (Рис. 5). Окончательная роль такой реакции недостаточно ясна.

Возможно, образование синцития позволяет сохранить архитектонику мозга, способствует обмену макроэргами и сигнальными молекулами, что может быть проявлением реакции адаптации. Это так, называемый феномен, «поцелуя жизни» [10]. Образование хаотической связи всех компонентов гематоэнцефалического барьера приводит к элек-

ОБЗОР

трической изоляции пораженной зоны и функционального «молчания». Таким образом, развившиеся неврологические симптомы выпадения в острейшем периоде ишемии (первые минуты) мозга, когда еще нет некроза, могут быть так же объяснены с позиций образования электрически изолированного участка ткани мозга за счет открытия ЩК. Блокируя ЩК, мы можем получить новое фармакологическое средство для восстановления неврологического дефицита.

С другой стороны, образование синцития может способствовать передаче ионов кальция и сигналов апоптоза, что приводит к гибели соседних здоровых клеток. Возникает так называемый феномен «поцелую смерти» [10]. Это предположение может быть подтверждено фактом попарного расположения нейронов при ишемии. Обычно один нейрон имеет признаки ишемического поражения, а другой нет. В данной ситуации блокирование щелевых межклеточных контактов может остановить распространение ишемического поражения головного мозга.

Согласно нашим данным ЩК играют важную роль в ишемическом процессе. Остается нерешенным главный вопрос: существует ли цитоплазматическая синцитиальная связь между нейронами в нормальных условиях. Наличие такой связи в норме между гигантскими клетками и волокнами у моллюсков, ракообразных, полихет и других беспозвоночных давно доказано [25, 45]. Имеются новые данные о физиологической синцитиальной связи нейронов позвоночных в коре большого мозга, гиппокампе и автономной нервной системе позвоночных [1, 7]. Показано, что они развиваются при дефиците гли-ального покрытия нейронов, на щелевых или плотных контактах [7]. То есть выявленный [1] феномен увеличения ЩК при ишемии согласуется с данными Сотникова О. С. при других видах повреждения мозга [7].

Фармакология ЩК

С момента появления доказательств о влиянии работы ЩК на исход ишемического инсульта начались работы по поиску и синтезу веществ, модулирующих их активность. Главными требованиями, предъявляемыми к данным субстанциям, являются:

1. вещество не должно влиять на работу химических синапсов;
2. вещество не должно изменять работу других компонентов мембраны, например, Na/K каналов, Ca²⁺-каналов, Na²⁺-каналов и др.;
3. вещество не должно быть агонистом/антагонистом каких-либо ионотропных или метаболотропных рецепторов;
4. желателен селективное взаимодействие с определенным типом коннексонов.

Различные методов блокирования ЩК В настоящий момент не существует идеального блокатора ЩК, который удовлетворял выше обозначенные требования к нему. Имеются отдельные данные о факторах и фармакологических средствах, которые могли бы быть использованы для блокирования ЩК. Приведем наиболее актуальный для мозговых ЩК.

1. Закисление внутриклеточной среды

Его можно добиться с помощью повышения рСО₂,

что приведет к повышению Н₂СО₃ внутри клетки и снижению рН. Также для «закисления» среды можно использовать слабые кислоты: ацетат, пропионат в виде натриевых солей.

2. Ингаляционные анестетики

Вещество Галотан доминирует в ряду применяемых для инактивации ЩК анестетиков. Его полное химическое название 2-бормо-2-хлоро-1,1,1- трифлуороэтан.

Это летучая негорючая жидкость, активно применяющаяся анестезиологией в качестве ингаляционного наркоза. Эффект разобщения ЩК он проявляет в концентрации 2–3,5 ммоль/л. Специфичность в отношении ЩК у данного вещества достаточно низкая, поскольку свое действие оно реализует, изменяя жидкостные свойства плазмолеммы.

Имеются достоверные данные о его супрессорном действии на ток ионов в никотиновых ацетилхолинергических каналах. В целом действие галотана на возбудимость клетки можно оценить, как депрессорное, что дополнительно снижает его избирательность [11].

3. Гептанол и Октанол

Соединения, относящиеся к высшим спиртам, также зарекомендовали себя как эффективные блокаторы ЩК. Их антагонизм к прямой межклеточной передаче связан с наличием в их структуре алифатической цепи, длина которой находится в прямой корреляции с эффективностью блокады каналов ЩК. Доза гептанола, необходимая для манифестации эффекта должна быть не менее 2 ммоль/л, при введении октанола достаточно поддерживать концентрацию в 1 ммоль/л.

Этиловый спирт также активен в отношении ЩК, правда его рабочая концентрация равняется 20 ммоль/л.

В исследовании показан значимый нейропротективный эффект интраперитонеального введения октанола крысам при окклюзии обеих общих сонных артерий либо на модели фокальной ишемии. Результатом стало снижение доли погибших клеток СА ядер гиппокампа на 33 % и уменьшению иммунореактивности Сх43, а также уменьшению размера инфаркта мозга, соответственно [20, 39, 40].

4. 18-Глицеретиновая кислота и Карбенексолон

Являются химически родственными веществами, а именно карбенексолон — стереоизомер глицеретиновой кислоты. Глицеретиновая кислота выделяется из солодки (лакрицы), где высоко ее содержание. В экспериментах на крысах, производимых на модели субарахноидального кровоизлияния был показан отрицательный эффект интраперитонеального введения карбенексолон (100мг/кг через 1 час после инициации кровоизлияния), проявившийся в более высоком проценте апоптотических клеток, по сравнению с контролем. Напротив, модель фокальной ишемии с окклюзией средней мозговой артерии филаментным способом дала проявить карбенексолону свой защитный эффект при введении в полость одного из мозговых желудочков в течение 60 минут ишемии с градуировкой дозировок 1–12–25–50 мкг/кг. Через 24 часа реперфузии уменьшение зоны не-

кроза по сравнению с контролем составило 35 % – 41 %–49 %–43 %, соответственно. При перитонеальном введении препарата в условиях той же модели ишемии также наблюдался значительный положительный эффект редукции зоны инфаркта до 63 % (для дозировки 400 мг/кг) [11, 18, 19].

5. Олеамид

Это ассоциированный со сном первичный амид олеиновой кислоты, относящийся к группе эндоканнабиоидных амидов выделенный из ликвора кошки, депривированной ото сна. Является так же селективным агонистом каннабиоидных рецепторов СВ1 класса, модулирует активность серотониновых рецепторов, бензодиазепиновых ГАМК-рецепторов, благодаря чему обладает гипногенным действием. Способен блокировать ЩК в концентрации 100 мкмоль/л.

6. Тонаберсат и Караберсат

Новейшие соединения из группы бензпиренов, синтезированные лабораториями компании GlaxoSmithKline как потенциальный препарат для профилактики и купирования приступов мигрени. Известно, что у мигрени и ишемического повреждения мозга есть одна «общая территория» — феномен распространяемой корковой депрессии или, что более применимо к инсульту, периинфарктной депрессии. Как уже было сказано в предыдущих разделах обзора, по современным представлениям в развитие данного феномена вносят большой вклад межклеточные щелевые взаимодействия. Тонаберсат и его гомологи имеют специфический домен связывания со структурами коннексонов, название и расположение которого, видимо, в интересах разработчиков, не сообщается в литературе. В опытах на кошках при интраперитонеальном введении тонаберсата в дозировке 10 мг/кг индуцированная КСЛ аппликацией на сильвиеву борозду распространяемая корковая депрессия, оцениваемая по картине, диффузно-взвешенной МРТ, снижалась до 0–3 степени и имела среднюю продолжительность 13,2 минуты, а также ускорялась до 5,4 мм/мин. В контрольной группе эти значения составляли следующие значения: 4–8 ст.; 39 минут; 2,2 мм/мин. Естественно, положительный эффект тонаберсата становится очевиден.

На сегодняшний день отсутствуют, какие-либо сообщения о работе тонаберсата на классических моделях фокальной и глобальной ишемии, равно как не понятно его действие на экспрессию и активность

глиальных ЩК в зоне ядра и пенумбры. Однако проведено большое количество исследований по применению тонаберсата для купирования приступов и лечения мигрени. Вопрос об эффективности остается открытым, но безопасность данного препарата не вызывает сомнения [15].

7. Моноклональные антитела, афинные к внеклеточным доменам коннексинов [40].

- EL1-46: Кроличьи поликлональные антитела и Fab-фрагменты, комплементарные пептидам, образованным 46–76 а/к остатками Cx43 по результатам исследований *in vitro* в культуре астроцитов: уменьшение количество ЩК на 70 % при 3-часовой инкубации с EL1-46 (60 мг/мл).

- Gap 27: Полипептид гомологичный аминокислотной последовательности щелевого коннексина (например к участку внеклеточной петли Cx43

- Gap 20: Полипептид имеющий последовательность аминокислот гомологичную структуре внутриклеточной петли Cx43.

Эффективность: уменьшение ЩК между астроцитами до 80 %.

Заключение

Имеются данные, что во взрослом мозге образование контактов за счет ЩК может играть большую роль и участвовать в передаче импульса не только у животных, но и у человека. Авторы рассматривают возможную роль ЩК, как организаторов нейронального синцития [4, 5, 6, 36], что может иметь значение даже в физиологических условиях. Данное утверждение является весьма «смелым» и требует дальнейших исследований, но, основываясь на наших данных, можно предположить, что в условиях ишемии, впрочем, как и при других видах повреждения, может иметь место защитная реакция в виде образования синцития посредством ЩК между различными компонентами нейроваскулярной единицы. Данный феномен может играть различную роль, выступая, с одной стороны, механизмом защиты, с другой стороны, источником дополнительного повреждения. Выявленные в последние десятилетия факты о возможной роли щелевых межклеточных контактов в патогенезе ишемии мозга требуют новых исследований, которые, возможно позволят прояснить неизвестные аспекты повреждения мозга и дадут новые перспективы для развития фармакологических интервенций для защиты нервных клеток от ишемии.

Литература

1. Лактионова А. А. Синцитиальная цитоплазматическая связь и слияние нейронов некоторых беспозвоночных // Дис. на соискание степени канд. мед. наук. СПб. 2011. 161 С.
2. Мельникова Е. В. Многофакторная нейропротекция при острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения (клиникоэкспериментальное исследование) // Дис. на соискание степени докт. мед. наук. СПб. 2007. 278 С.
3. Салмина А. Б., Малиновская Н. А., Кувачева Н. В. И др. Коннексиновые и паннексиновые транспортные системы в клетках нейроваскулярной единицы головного мозга // *Нейрохимия*. 2014. Т. 31. № 2. С. 122.

4. Сотников О. С., Лактионова А. А., Парамонова Н. М. Доказательство синцитиальной связи и слияния нейронов // *Морфология*. 2010. Т. 137. № 4. С. 179.
5. Сотников О. С., Лактионова А. А., Парамонова Н. М. и др. Экспериментальное моделирование и дискуссия о синцитиальных связях в нервной системе // *Морфология*. 2010. Т. 138. №. 6. С. 15-20.
6. Сотников О. С., Парамонова Н. М. Цитоплазматическая синцитиальная связь – одна из форм межнейрональной связи // *Успехи физиологических наук*. 2010. Т. 41. № 1. С. 45-57.
7. Сотников О. С., Фрумкина Л. Е., Майоров В. Н. и др. Реабилитация межнейронной синцитиальной связи

ОБЗОР

в нервной системе // Тихоокеанский медицинский журнал. 2012. № 2. С. 75-83.

8. Чайлахян Л. М., Дунина-Барковская А. Я., Пивоваров В. С. и др. Регуляция проницаемости целевых контактов в клетках с различными типами коннексинов // отчет о НИР. №95-04-12355 (Российский фонд фундаментальных исследований).

9. Alvarez-Maubecin V., Garcia-Hernández F., Williams J. T. et al. Functional coupling between neurons and glia // *J. Neurosci.* 2000. № 20. 4091–4098.

10. Andrade-Rozental A. F., Rozental R., Hopperstad M. G. et al. Gap junctions: the «kiss of death» and the «kiss of life» // *Brain Res Brain Res Rev.* 2000. Vol. 32 (1). 308-315.

11. Arumugam H., Denisova J. V., Neve R. L. et al. Use of calcium imaging for analysis of neuronal gap junction coupling // *Neurosci Lett.* 2008. №7. Vol. 445. (1). P.26-30. doi: 10.1016/j.neulet.2008.08.075.

12. Bao L., Locovei S., Dahl G. Pannexin membrane channels are mechanosensitive conduits for ATP // *FEBS. Lett.* 2004. №13. Vol. 572 (1-3). P.65-68.

13. Bargiotas P., Monyer H., Schwaninger M. Hemichannels in cerebral ischemia // *Curr. Mol. Med.* 2009. Vol. 9 (2). P.186-194.

14. Blethyn K. L., Hughes S. W., Crunelli V. Evidence for electrical synapses between neurons of the nucleus reticularis thalami in the adult brain in vitro // *Thalamus Relat. Syst.* 2008. Vol. 4 (1). P.13-20.

15. Cao Y., Zheng O. J. Tonabersat for migraine prophylaxis: a systematic review // *Pain Physician.* 2014. Vol. 17 (1). P.1-8.

16. Connors B. W., Long M. A. Electrical synapses in the mammalian brain // *Annu. Rev. Neurosci.* 2004. Vol. 27. P. 393-418.

17. Dahl G., Locovei S. Pannexin: to gap or not to gap, is that a question? // *IUBMB Life.* 2006. Vol. 58 (7). P.409-419.

18. Davidson J. S., Baumgarten I. M. Glycyrrhetic acid derivatives: a novel class of inhibitors of gap-junctional intercellular communication. Structure-activity relationships // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1988. Vol. 246 (3). P.1104-1107.

19. de Pina-Benabou M. H., Szostak V., Kyrozis A. et al. Blockade of gap junctions in vivo provides neuroprotection after perinatal global ischemia // *Stroke.* 2005. Vol. 36 (10). 2232-2237.

20. Ding W., Zhou L., Liu W. et al. Opposite effects of the gap junction blocker octanol on focal cerebral ischemia occluded for different durations // *Mol. Med. Rep.* 2014. Vol. 9 (6). P. 2485-90. doi: 10.3892/mmr.2014.2075.

21. Eugenin E. A., Basilio D., Sáez J. C. et al. The role of gap junction channels during physiologic and pathologic conditions of the human central nervous system // *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2012. Vol. 7 (3). P. 499-518. doi: 10.1007/s11481-012-9352-5.

22. Garcia-Dorado D., Ruiz-Meana M., Padilla F. et al. Gap junction-mediated intercellular communication in ischemic preconditioning // *Cardiovasc. Res.* 2002. 15. Vol. 55 (3). P. 456-465.

23. González-Nieto D., Gómez-Hernández J.M., Larrosa B. et al. Regulation of neuronal connexin-36 channels by pH. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008. 4. Vol. 105 (44). P.17169-17174.

24. Goodenough D. A., Paul D. L. Gap junctions // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009 1(1). doi: 10.1101/cshperspect.a002576.

25. Günter J. Neuronal syncytia in the giant fibres of earthworms // *J. Neurocytol.* 1975. Vol. 4. P. 55–62.

26. Hervé J.-C., Sarrouilhe D. Connexin-Made Channels as Pharmacological Targets // *Current Pharmaceutical Design.* 2005. Vol. 11. 1941-1958.

27. Jäderstad J., Brismar H., Herlenius E. Hypoxic preconditioning increases gap-junctional graft and host communication // *Neuroreport.* 2010. 8. 21 (17). P.1126-1132. doi: 10.1097/WNR.0b013e328340a77b.

28. Meme W, Vandecasteele M., Giaume C. et al. Electrical coupling between hippocampal astrocytes in rat brain slices // *Neuroscience Research* 2009. Vol. 63. P. 236–243.

29. Mesnil M., Piccoli C., Tiraby G. et al. Bystander killing of cancer cells by herpes simplex virus thymidine kinase gene is mediated by connexins // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996 5. Vol. 93 (5). P. 1831-1835.

30. Nakase T., Fushiki S., Naus C. C. Astrocytic gap junctions composed of connexin 43 reduce apoptotic neuronal damage in cerebral ischemia // *Stroke.* 2003. Vol. 34 (8). P. 1987-1993.

31. Nakase T., Fushiki S., Söhl G. et al. Neuroprotective role of astrocytic gap junctions in ischemic stroke // *Cell Commun. Adhes.* 2003. Vol. 10 (4-6). P.413-417.

32. Nakase T., Maeda T., Yoshida Y. et al. Ischemia alters the expression of connexins in the aged human brain // *J. Biomed Biotechnol.* 2009. Article ID 147946, P. 8. doi: 10.1155/2009/147946

33. Nakase T., Naus C. C. Gap junctions and neurological disorders of the central nervous system // *Biochim Biophys Acta.* 2004. Vol. 23. 1662 (1-2). P.149-158.

34. Orellana J. A., Avendaño B. C., Montero T.D. Role of connexins and pannexins in ischemic stroke // *Curr. Med. Chem.* 2014. Vol. 21 (19). 2165-2182.

35. Orellana J. A., Froglar N., Ezan P. et al. ATP and glutamate released via astroglial connexin 43 hemichannels mediate neuronal death through activation of pannexin 1 hemichannels // *J Neurochem.* 2011. Vol. 118 (5). P. 826–840.

36. Peinado A. Immature neocortical neurons exist as extensive syncytial networks linked by dendrodendritic electrical connections // *J. Neurophysiol.* 2001. Vol. 85 (2). P. 620-629.

37. Perez Velazquez J. L., Kokarovtseva L., Sarbaziha R. et al. Role of gap junctional coupling in astrocytic networks in the determination of global ischaemia-induced oxidative stress and hippocampal damage // *Eur. J. Neurosci.* 2006. Vol. 23 (1). 1-10.

38. Rami A., Volkmann T., Winckler J. Effective reduction of neuronal death by inhibiting gap junctional intercellular communication in a rodent model of global transient cerebral ischemia // *Exp. Neurol.* 2001. Vol. 170 (2). P. 297-304.

39. Rozental R., Giaume C., Spray D. C. Gap junctions in the nervous system // *Brain Res Brain Res Rev.* 2000. Vol. 32 (1). 11-15.

40. Rozental R., Srinivas M., Spray D. C. How to close a gap junction channel. Efficacies and potencies of uncoupling agents. // *Methods Mol Biol.* 2001. Vol. 154. P. 447-476.

41. Sáez J. C., Contreras J. E., Bukauskas F. F. et al. Gap junction hemichannels in astrocytes of the CNS // *Acta Physiol Scand.* 2003. 179. P. 9–22

42. Scemes E., Suadicani S. O., Dahl G. et al. Connexin and pannexin mediated cell-cell communication // *Neuron Glia Biol.* 2007. Vol. 3 (3). P.199-208.

43. Schulz R., Heusch G. Connexin 43 and ischemic preconditioning // *Cardiovasc Res.* 2004 Vol. 62 (2). 335-344.

44. Sukhotinsky I., Dilekoz E., Moskowitz M. A. et al. Hypoxia and hypotension transform the blood flow response to cortical spreading depression from hyperemia into hypoperfusion in the rat // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 2008.

45. Young J. Z. The functioning of the giant nerve fibres of the squid // *J. Exper. Biol.* 1938. Vol. 85. P. 170–185.

UDK [616-092.18]

**Melnikova E. V.¹, Shmonin A. A.^{1,2},
Paramonov N. M.³, Mishchenko K. A.⁴**

The role of connexin structures (gap-junction and hemichannels) in the pathogenesis of ischemic brain damage: status update on the problem

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
197022, L'va Tolstogo str. 6/8, Saint Petersburg, Russia

² Federal Almazov North-West Medical Research Centre
Russia, 2 Akkuratova Street, St. Petersburg 197341

³ Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences
194223, Russia, Saint Petersburg, Prospect M. Toreza, d. 44

⁴ Outpatient department "Consult and Diagnostic Center and Outpatient department"
197110, Russia, St. Petersburg, Morskoy prosp, 3.
e-mail: langendorff@gmail.com

Abstract

This review is devoted to a discussion of the dual role of connexin intercellular structures and gap junction (GJ) in normal and cerebral ischemia. The review describes the structure and form of connexin structures such as gap junctions and hemichannels. It is shown that the properties of connexin structures depend on the connexins. We describe a substance that can be transported through connexin structure. The data on the possible increase in the number of GJ after ischemia / cerebral hypoxia. A hypothesis about the development of post-ischemic neuronal syncytium formation by GJ. We discuss ways of blocking of GJ to reduce post-ischemic brain damage.

Keywords: gap junctions, connexins, hemichannels, connexin structure, ischemia, stroke, brain tissue syncytium.

References

1. Laktionova A. A. Sintsital'naya tsitoplazmaticheskaya svyaz' i sliyaniye neyronov nekotorykh bespozvonochnykh // *Dis. na soiskaniye stepeni kand. med. nauk. SPb.* 2011. 161
2. Mel'nikova Ye. V. Mnogofaktornaya neyroproteksiya pri ostroy i khronicheskoy nedostatochnosti mozgovogo krovoobrashcheniya (klinikoeksperimental'noye issledovaniye // *Dis. na soiskaniye stepeni dokt. med. nauk. SPb.* 2007. 278S.
3. Salmina A. B., Malinovskaya N. A., Kuvacheva N. V. I dr. Konneksinovyie i panneksinovyie transportnyie sistemy v kletkakh neyrovaskulyarnoy yedinitsey golovnogogo mozga // *Neyrokhimiya.* 2014. T. 31. № 2. S. 122.
4. Sotnikov O. S., Laktionova A. A., Paramonova N. M. Dokazatel'stvo sintsitil'noy svyazi i sliyaniya neyronov // *Morfologiya.* 2010. T. 137. № 4. S. 179.
5. Sotnikov O. S., Laktionova A. A., Paramonova N. M. i dr. Eksperimental'noye modelirovaniye i diskussiya o sintsitil'nykh svyazyakh v nervnoy sisteme // *Morfologiya.* 2010. T. 138. № 6. S. 15-20.
6. Sotnikov O. S., Paramonova N. M. Tsitoplazmaticheskaya sintsitil'naya svyaz' – odna iz form mezhneyronal'noy svyazi // *Uspekhi fiziologicheskikh nauk.* 2010. T. 41. № 1. S. 45-57.
7. Sotnikov O. S., Frumkina L. Ye., Mayorov V. N. i dr. Reabilitatsiya mezhneyronnoy sintsitil'noy svyazi v nervnoy sisteme // *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2012. № 2. S. 75-83.
8. Chaylakhyan L. M., Dunina-Barkovskaya A. YA., Pivovarov V. S. i dr. Regulyatsiya pronitsayemosti shchelevykh kontaktov v kletkakh s razlichnymi tipami konneksinov // *otchet o NIR.* №95-04-12355
9. Alvarez-Maubecin V., Garcia-Hernández F., Williams J. T. et al. Functional coupling between neurons and glia // *J. Neurosci.* 2000. № 20. 4091–4098.
10. Andrade-Rozental A. F., Rozental R., Hopperstad M. G. et al. Gap junctions: the «kiss of death» and the «kiss of life» // *Brain Res Brain Res Rev.* 2000. Vol. 32 (1). 308-315.
11. Arumugam H., Denisova J. V., Neve R. L. et al. Use of calcium imaging for analysis of neuronal gap junction coupling // *Neurosci Lett.* 2008. №7. Vol. 445. (1). P.26-30. doi: 10.1016/j.neulet.2008.08.075.
12. Bao L., Locovei S., Dahl G. Pannexin membrane channels are mechanosensitive conduits for ATP // *FEBS. Lett.* 2004. №13. Vol. 572 (1-3). P.65-68.
13. Bargiotas P., Monyer H., Schwaninger M. Hemichannels in cerebral ischemia // *Curr. Mol. Med.* 2009. Vol. 9 (2). P.186-194.
14. Blethyn K. L., Hughes S. W., Crunelli V. Evidence for electrical synapses between neurons of the nucleus reticularis thalami in the adult brain in vitro // *Thalamus Relat. Syst.* 2008. Vol. 4 (1). P.13-20.
15. Cao Y., Zheng O. J. Tonabersat for migraine prophylaxis: a systematic review // *Pain Physician.* 2014. Vol. 17 (1). P.1-8.
16. Connors B. W., Long M. A. Electrical synapses in the mammalian brain // *Annu. Rev. Neurosci.* 2004. Vol. 27. P. 393-418.
17. Dahl G., Locovei S. Pannexin: to gap or not to gap, is that a question? // *IUBMB Life.* 2006. Vol. 58 (7). P.409-419.
18. Davidson J. S., Baumgarten I. M. Glycyrretinic acid derivatives: a novel class of inhibitors of gap-junctional intercellular communication. Structure-activity relationships // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1988. Vol. 246 (3). P.1104-1107.
19. de Pina-Benabou M. H., Szostak V., Kyzozis A. et al. Blockade of gap junctions in vivo provides neuroprotection after perinatal global ischemia // *Stroke.* 2005. Vol. 36 (10). 2232-2237.
20. Ding W., Zhou L., Liu W. et al. Opposite effects of the gap junction blocker octanol on focal cerebral ischemia occluded for different durations // *Mol. Med. Rep.* 2014. Vol. 9 (6). P. 2485-90. doi: 10.3892/mmr.2014.2075.

ОБЗОР

21. Eugenin E. A., Basilio D., Sáez J. C. et al. The role of gap junction channels during physiologic and pathologic conditions of the human central nervous system // *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2012. Vol. 7 (3). P. 499-518. doi: 10.1007/s11481-012-9352-5.
22. Garcia-Dorado D., Ruiz-Meana M., Padilla F. et al. Gap junction-mediated intercellular communication in ischemic preconditioning // *Cardiovasc. Res.* 2002. 15. Vol. 55 (3). P. 456-465.
23. González-Nieto D., Gómez-Hernández J.M., Larrosa B. et al. Regulation of neuronal connexin-36 channels by pH. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008. 4. Vol. 105 (44). P.17169-17174.
24. Goodenough D. A., Paul D. L. Gap junctions // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009 1(1). doi: 10.1101/cshperspect.a002576.
25. Günter J. Neuronal syncytia in the giant fibres of earthworms // *J. Neurocytol.* 1975. Vol. 4. P. 55-62.
26. Hervé J.-C., Sarrouilhe D. Connexin-Made Channels as Pharmacological Targets // *Current Pharmaceutical Design.* 2005. Vol. 11. 1941-1958.
27. Jäderstad J., Brismar H., Herlenius E. Hypoxic preconditioning increases gap-junctional graft and host communication // *Neuroreport.* 2010. 8. 21 (17). P.1126-1132. doi: 10.1097/WNR.0b013e328340a77b.
28. Meme W, Vandecasteele M., Giaume C. et al. Electrical coupling between hippocampal astrocytes in rat brain slices // *Neuroscience Research* 2009. Vol. 63. P. 236-243.
29. Mesnil M., Piccoli C., Tiraby G. et al. Bystander killing of cancer cells by herpes simplex virus thymidine kinase gene is mediated by connexins // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996 5. Vol. 93 (5). P. 1831-1835.
30. Nakase T., Fushiki S., Naus C. C. Astrocytic gap junctions composed of connexin 43 reduce apoptotic neuronal damage in cerebral ischemia // *Stroke.* 2003. Vol. 34 (8). P. 1987-1993.
31. Nakase T., Fushiki S., Söhl G. et al. Neuroprotective role of astrocytic gap junctions in ischemic stroke // *Cell Commun. Adhes.* 2003. Vol. 10 (4-6). P.413-417.
32. Nakase T., Maeda T., Yoshida Y. et al. Ischemia alters the expression of connexins in the aged human brain // *J. Biomed Biotechnol.* 2009. Article ID 147946, P. 8. doi: 10.1155/2009/147946
33. Nakase T., Naus C. C. Gap junctions and neurological disorders of the central nervous system // *Biochim Biophys Acta.* 2004. Vol. 23. 1662 (1-2). P.149-158.
34. Orellana J. A., Avendaño B. C., Montero T.D. Role of connexins and pannexins in ischemic stroke // *Curr. Med. Chem.* 2014. Vol. 21 (19). 2165-2182.
35. Orellana J. A., Froger N., Ezan P. et al. ATP and glutamate released via astroglial connexin 43 hemichannels mediate neuronal death through activation of pannexin 1 hemichannels // *J Neurochem.* 2011. Vol. 118 (5). P. 826-840.
36. Peinado A. Immature neocortical neurons exist as extensive syncytial networks linked by dendrodendritic electrical connections // *J. Neurophysiol.* 2001. Vol. 85 (2). P. 620-629.
37. Perez Velazquez J. L., Kokaroytseva L., Sarbaziha R. et al. Role of gap junctional coupling in astrocytic networks in the determination of global ischaemia-induced oxidative stress and hippocampal damage // *Eur. J. Neurosci.* 2006. Vol. 23 (1). 1-10.
38. Rami A., Volkmann T., Winckler J. Effective reduction of neuronal death by inhibiting gap junctional intercellular communication in a rodent model of global transient cerebral ischemia // *Exp. Neurol.* 2001. Vol. 170 (2). P. 297-304.
39. Rozental R., Giaume C., Spray D. C. Gap junctions in the nervous system // *Brain Res Brain Res Rev.* 2000. Vol. 32 (1). 11-15.
40. Rozental R., Srinivas M., Spray D. C. How to close a gap junction channel. Efficacies and potencies of uncoupling agents. // *Methods Mol Biol.* 2001. Vol. 154. P. 447-476.
41. Sáez J. C., Contreras J. E., Bukauskas F. F. et al. Gap junction hemichannels in astrocytes of the CNS // *Acta Physiol Scand.* 2003. 179. P. 9-22
42. Scemes E., Suadicani S. O., Dahl G. et al. Connexin and pannexin mediated cell-cell communication // *Neuron Glia Biol.* 2007. Vol. 3 (3). P.199-208.
43. Schulz R., Heusch G. Connexin 43 and ischemic preconditioning // *Cardiovasc Res.* 2004 Vol. 62 (2). 335-344.
44. Sukhotinsky I., Dilekoz E., Moskowicz M. A. et al. Hypoxia and hypotension transform the blood flow response to cortical spreading depression from hyperemia into hypoperfusion in the rat // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 2008.
45. Young J. Z. The functioning of the giant nerve fibres of the squid // *J. Exper. Biol.* 1938. Vol. 85. P. 170-185.