

АСТРОЦИТНА ХЕТЕРОГЕННОСТ В НОРМА И СЛЕД МОЗЪЧНА УВРЕДА

Виктория Михайлова, Станислав Морфов, Искрен Великов, Радослав Спасов,
Ирина И. Стоянова, Антон Б. Тончев

*Катедра „Анатомия и клетъчна биология“, Медицински факултет,
Медицински университет – Варна*

ASTROCYTE HETEROGENEITY UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS AND AFTER BRAIN INJURY

Victoria Mihailova, Stanislav Morfov, Iskren Velikov, Radoslav Spasov,
Irina I. Stoyanova, Anton B. Tonchev

*Department of Anatomy and Cell Biology, Faculty of Medicine,
Medical University of Varna*

РЕЗЮМЕ

Интересът към астроцитите като глиални клетки в централната нервна система прогресивно расте поради изключително важното им значение за поддържане на хомеостазата в мозъчната тъкан както при физиологични условия, така и след мозъчна увреда. Все повече данни се натрупват относно тяхната способност не само да усилват възпалителните процеси при различни патологични състояния, но също така да имат и антиинфламаторен ефект. В съчетание с известния им висок пролиферативен потенциал, те допринасят не само за ограничаване на мозъчната увреда и ремоделиране на тъканта, но и за възстановяване на невроните и синаптичните контакти между тях. Още повече че реактивната астроглия участва в модулирането на процесите на невrogenеза, пролиферация и миграция на неврони в съществуващите невронни вериги в мозъка при израснали индивиди. Идентифицирането на специфични сигнали от невrogenните ниши, регулиращи тези последователни стъпки по време на невrogenеза при възрастни, може да доведе до създаване на стратегии за индуциране на функционална невrogenеза и в други области на мозъка след нараняване или невродегенеративни заболявания.

Ключови думи: астроцити, глия, адултен човешки мозък, мозъчна увреда

ABSTRACT

There is a growing interest in astrocytes as glial cells in the central nervous system due to their important role in maintaining brain tissue homeostasis both under physiological conditions and after brain injury. A significant amount of evidence has been accumulated regarding their capacity to exert either pro-inflammatory or anti-inflammatory effects under different pathological conditions. In combination with their known high proliferative potential, they contribute not only to the limitation of brain damage and tissue remodeling but also to neuronal repair and the recovery of synaptic contacts in neurons. Moreover, reactive astroglia modulates the processes of neurogenesis, proliferation, and migration of neurons in the existing neural circuits in the adult brain. The identification of specific niche signals that regulate these sequential steps during adult neurogenesis may lead to the development of strategies for inducing functional neurogenesis in other areas of the brain after an injury or in degenerative neurological diseases.

Keywords: astrocytes, glia, adult human brain, brain damage

ВЪВЕДЕНИЕ

Четири са основните типове глиални клетки в централната нервна система (ЦНС) – епендимни клетки, покриващи мозъчните стомахчета, олигодендроцити, отговорни за производството на миелин, микроглия с фагоцитарна активност и астроцити, които се характеризират с подчертано разнообразие не само по отношение на морфологията им, но и функционално. Поради структурно-функционалните особености на глиалните клетки те се обозначават с термина „глия“ или „невроглия“, наименование, което има гръцки произход и се превежда като „лепило“ (1). През 1895 г. Lenhossek за пръв път използва названието „астроцити“, което се базира на морфологията им – те имат множество израстъци, придаващи им звездоподобна форма (2).

Докато за останалите три вида клетки съществуват ясно дефинирани маркери, чрез които те могат да бъдат идентифицирани на молекулярно ниво, то за астроцитите не е установен маркер, който да се експресира в цялата тяхна популация, но не и в други видове клетки. Това още веднъж подчертава хетерогенността им. В допълнение, наблюдава се разнообразие в морфологията и функциите на астроцитите в различните мозъчни региони (1,2). Отделна популация са реактивните астроцити, които се наблюдават при патологични състояния в ЦНС и се характеризират с промяна в генната експресия, морфология, функция и пролиферативна активност (3,4).

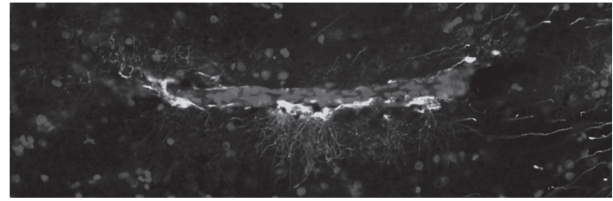
В този обзор ние резюмираме наличните данни за структурата и физиологията на астроцитите както в норма, така и при увреда на ЦНС.

Астроцитна хетерогенност

Още от 19-и век е известно, че астроцитите са хетерогенна популация, що се отнася до тяхната морфология (Reichenbach, A., Wolburg, H., 2005). По време на ембрионалното развитие няколко източника генерират астроцити, като последните могат да се различават помежду си по пролиферативна активност и реактивност при мозъчна увреда (5). В зрялата мозъчна тъкан астроцитите могат да бъдат продуцирани от мозъчни стволови клетки в субвентрикулната зона, както и от малък брой дялящи се зрели астроцити (6-8). Общоприето е, че астроцитите се различават помежду си според техния произход (9). Възможно е те да се адаптират според нуждите на заобикалящата ги тъкан, което обяснява различията в броя им в отделни мозъчни региони (7).

Протеиновите филаменти виментин, десмин, сунемин и глиален фибрилерен кисел протеин (от англ. glial fibrillary acidic protein, GFAP) под-

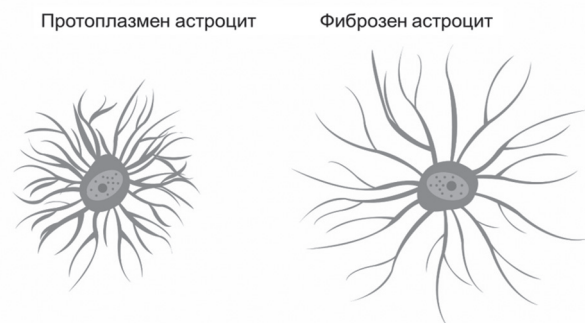
държат структурния интегритет на астроцитите, но степента на тяхната експресия варира (10-12) (Фиг. 1).



Фиг. 1. Имунофлуоресцентно изображение на GFAP-позитивни астроцити в контакт с кръвоносен съд в крайномозъчна кора на човек

GFAP е протеин, изграждащ астроцитните интермедиерни филаменти, които се използват широко за изследване на морфологията им, въпреки че не всички клетъчни израстъци го експресират (13). Нещо повече, една субпопулация от астроцитите са напълно негативни за GFAP. Но докато GFAP се експресира изключително в астроцити, то други протеини, които се използват за тяхното проучване се намират и в други видове клетки. Например цитоплазменият калций-свързващ протеин S100 β се открива в по-голям процент от астроцитната популация, в сравнение с GFAP, но също така се експресира и от малък брой неврони и олигодендроцити (14-18).

Цитоархитектониката на отделните мозъчни региони определя морфологията на астроцитите. Протоплазмените астроцити са характерни за сивото мозъчно вещество. Те са по-големи, с множество тънки израстъци с комплексна архитектура. Влизат в контакт с кръвоносните съдове, образувайки периваскуларни „маншони“ с невроните, с пиалната мозъчна повърхност и с повърхността на мозъчните стомахчета. Фиброзните астроцити в бялото мозъчно вещество имат малки клетъчни тела и израстъци, които не са толкова многобройни, както при протоплазмените астроцити, но са значително по-дълги (Фиг. 2).



Фиг. 2. Схематично изображение на морфологията на протоплазмен и фиброзен астроцит в крайномозъчна кора на човек

Част от техните израстъци са ориентирани паралелно на миелиновите нервни влакна и влизат в контакт с тях в областта на прищъпванията на Ранвие (т.нар. „перинодални“ израстъци) (8).

Отделна група астроглиални клетки е т. нар. радиална глия, която се наблюдава по време на ембрионалното мозъчно развитие. Това са клетки с приплеснато тяло и два дълги израстъка, единият от които достига до стена на вентрикул, а другият до повърхността на *pia mater*. Те очертават траекторията за миграция на невроните през ембрионалния период, но служат и като прогенитори на самите неврони (19). В зрялата мозъчна тъкан примери за радиална глия са Бергмановата глия в малкия мозък и Мюлеровата глия в ретината (1,7).

Други видове астроцитите са: (1) велатните астроцитите около зърнестите неврони в малкия мозък и в олфакторната луковица; (2) интерламинарните астроцитите и астроцитите с варикозни израстъци, които са специфични за крайномозъчната кора на примати и човек; (3) таницитите, които се откриват в трето мозъчно стомахче и пода на четвъртия вентрикул; (4) питуцитите, които са специализирани астроглиални клетки в хипофизата. Периваскуларните и маргиначните астроцитите участват във формирането на кръвно-мозъчната бариера. Епендимните клетки, клетките на *plexus choroideus* и пигментните епителни клетки на ретината тапицират съответно мозъчните стомахчета и пространството под ретината (1,7,20,21).

Астроцитите са клетки със звездовидна форма, чиито дълги израстъци притежават периферни тънки разклонения, влизащи в структурни и функционални връзки със синапсите, поради което се обозначават като перисинаптични астроцитни израстъци (22,23). В същото време връзката между отделните астроцити се осъществява посредством цепковидни контакти (*gap junctions*), намиращи се в периферията на техните израстъци. По този начин се формира синцитиум от астроглиални клетки – анатомична структура, наблюдавана в определени региони на ЦНС. Докато в сивото мозъчно вещество астроцитите образуват големи синцитиуми, то в бялото мозъчно вещество, напр. в мазолестото тяло, такива не се наблюдават и дори има единични, несвързани астроцити (24).

Морфология на астроцитите при човек и при експериментални животни

Астроцитната морфология и функция се изучават преди всичко в мозъчна тъкан на експериментални животни. Затова е необходимо да се

отбележи, че съществуват съществени между-видови различия в техните характеристики. При примати, включително и човека, астроцитите са много по-комплексни и разнообразни в сравнение с тези при гризачи. Протоплазмените астроцити в човешката крайномозъчна кора са по-големи и с по-дълги израстъци. Съществуват и два отделни вида астроцити, наблюдавани при човек и маймуни – интерламинарни и астроцитите с варикозни израстъци (21,25,26). Интерламинарните се намират в слой I на мозъчната кора, имат един къс израстък, който достига до пиалната повърхност и участва във формирането на ограничаващата глиална мембрана и втори, много дълъг израстък (до 1 мм), достигащ до II-IV слой на крайномозъчната кора, със специфичен „нагънат“ ход и завършващ върху кръвоносни съдове. В слой V-VI слой на крайномозъчната кора се намират астроцитите с варикозни израстъци, които имат от 1 до 5 дълги (до 1 мм) израстъци, с по-прав ход в сравнение с протоплазмените астроцити и завършващи върху кръвоносни съдове или сред невропила. Броят на GFAP позитивните израстъци на протоплазмените астроцити при човек е десет пъти по-голям в сравнение с другите видове, като се наблюдава повишен интензитет на експресията на GFAP в терминалните им участъци. Това предполага, че те участват в много повече синаптични контакти. Фиброцитите астроцитите в бялото мозъчно вещество при човек са също така със значително по-големи размери, отколкото при други примати или гризачи (20,21).

Астроцитите – клетъчен тип с множество функции

Функциите на астроцитите в ЦНС са многобройни. Първата е механичната функция, която се осъществява чрез формирането на невро-васкуларни единици: терминалните окончания на астроцитните израстъци влизат в контакт със синапси, мембрани на неврони и стени на кръвоносни съдове, като по този начин се образува своеобразен структурен комплекс, „мост“ между неврони и кръвоносни съдове (1,27). Благодарение на това астроцитите могат да регулират кръвното налягане според енергийните и метаболитните нужди на синапсите (27,28). В допълнение, астроцитите могат да променят пропускливостта на съдовата стена, освобождавайки вазоактивни вещества и цитокини, които контролират водния и йонен баланс в мозъчната тъкан. Поради това те се разглеждат като компонент на кръвно-мозъчната бариера (28,29). Na^+/K^+ помпа на повърхността на астроцитите има отношение

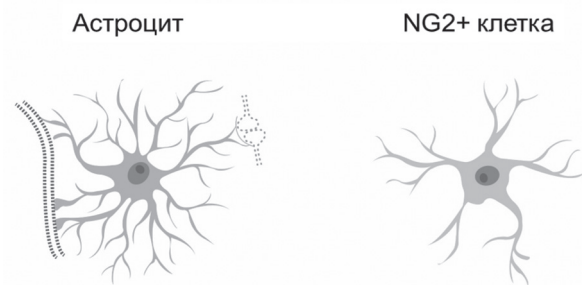
към осъществявания от тях контрол върху K^+ хомеостаза – те премахват повишените количества K^+ в екстрацелуларното пространство и по този начин благоприятстват последващата бърза невротрансмисия (30,31). Те са единственият резервоар на глюкоза в ЦНС и източник на енергия при хипогликемия (8). Хетерогенност на астроцитите може да се наблюдава както по отношение на капацитета за обратно всмукване на K^+ , така и по отношение липсата или наличието на мембранни калциеви канали (32,33). Интересно е, че съществуват спонтанни мембранни осцилации в отделните астроцити при промяна на калциевия баланс между интра- и екстрацелуларното пространство, както и координирано междуклетъчно провеждане на калциевата вълна. Два-та вида активност са резистентни на блокери на електронни потенциали, които могат да бъдат секретирани от невроните (34). Междуклетъчните калциеви вълни се разпространяват различно в сивото и бялото мозъчно вещество: в мозъчната кора междуклетъчните цепковидни контакти подпомагат разпространението на калциевата вълна; в corpus callosum няма толкова много цепковидни контакти между астроцитите, но независимо от това калциевата вълна се разпространява с помощта на АТФ (35). В неокортекса обаче бързото разпространение на калциевата вълна изисква интактни gap junctions (24).

По време на ембрионалното развитие на ЦНС астроцитите имат ключово значение за образуването на функционални синапси, тяхното узряване, поддържане и контролиране. Астроцитите са чувствителни към метаболитните изисквания на невроните (36,37), като тези изисквания се сигнализират чрез действието на вещества като глутамат, азотен оксид, натрий, хидроген пероксид, секретирани от пре- и пост-синаптичните нервни окончания (38-40). Една от най-важните функции на астроцитите е освобождаването и реабсорбцията на невротрансмитери. Астроцитите акумулират 80% от освободения в екстрацелуларното пространство глутамат и го метаболизират до глутамин. В същото време те са източник на глутамин за поддържане на глутаматергичната невротрансмисия (39,40). Инхибиторният сигнал не се разпространява в други региони на ЦНС поради бързото абсорбиране на гама-аминомаслената киселина (GABA) (22). Астроцитите модулират синаптичната трансмисия, секретират глутамат, пурины (АТФ, аденозин, гуанин), GABA и D-серин (37,41). Хетерогенност на астроцитите се наблюдава и по отношение експресията на различни мембранни

протеини (рецептори) и протеини-транспортни, свързани с изпълняването на гореизброените функции (2).

NG2-позитивни клетки: специфичен субтип астроцити или нова глиална клетъчна популация?

В зрелия мозък е установено наличието на специфичен тип глиални клетки, които първоначално са смятани за олигодендроцитни прекурсорни клетки (42). Поради наличието на волтаж-зависими йонни канали по тяхната мембрана те са наименувани като „комплексни“ клетки (43). Други техни използвани названия са GluR клетки (44), полидендроцити и синантоцити (45). Тяхната морфология е добре проучена в хипокампус на мишка, където е установено, че са позитивни за NG2 (neuron-gial antigen 2), имат ясно видими израстъци, експресират с нисък интензитет флуоресцентния протеин EGFP (enhanced green fluorescent protein), по повърхността си имат глутаматни AMPA рецептори (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor), не притежават транспортни протеини за глутамат и не образуват цепковидни контакти помежду си. Това са основните характеристики, които ги отличават от класическия астроцит, който експресира с висок интензитет EGFP, не притежава AMPA рецептори, осъществява транспорт на глутамат чрез протеини-транспортни и образува gap junctions с други астроцити (45-48). Любопитно за тези клетки е, че получават глутаматергични и GABA-ергични синаптични сигнали (47, 49). Клетки с подобни характеристики са оп-



Фиг. 3. Схемата показва сравнителна морфология на астроцитите при човек и NG2 позитивните глиални клетки при гризачи: двата вида клетки често изглеждат подобни по форма (звездовидни) и имат множество израстъци. Астроцитите имат асиметрични израстъци, които се състоят от няколко дебели първични израстъка и много по-малки, странични разклонения. За разлика от тях, NG2-глията има централно тяло с няколко дълги, тънки първични израстъка, които се раздвояват два или повече пъти и са симетрично разположени (с любезното разрешение на Nishiyama, Yang et al. 2005).

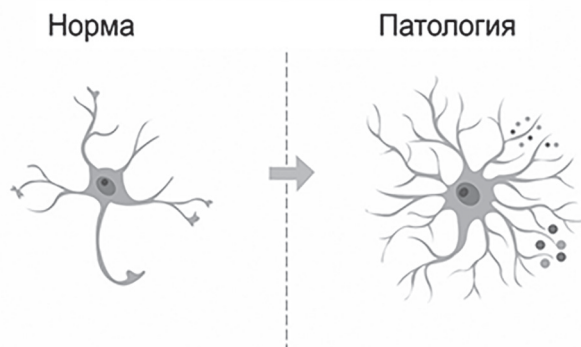
исани също и в малкия мозък (50) и ядрото на n. hypoglossus (IX) в мозъчния ствол (51). Дали този тип клетки могат да се причислят към семейството на астроцитите е все още спорно (52, 53) (Фиг. 3).

Астроцитна хетерогенност и роля на астроцитите при мозъчна увреда

Астроцитите имат определящо значение в невропатологията (1,54). Докато в миналото те са считани за клетъчна популация с „пасивна“ роля, то днес е доказано, че са ключов участник в процесите на предпазване и възстановяване от мозъчна увреда (55).

Разнообразни етиологични фактори отключват защитен процес, наречен реактивна астроглиоза, която има значение за ограничаване на зоната на увреда (чрез образуване на цикатрикс) и за ремоделиране на тъканта и възстановяване на функциите на невроните (1). В резултат на експериментални проучвания е дадена дефиниция на реактивната астроглиоза, като в нея се включват четири основни компонента: 1. клетъчни, функционални и молекулярни промени в астроцитите; 2. вариабилност на промените според тежестта на увредата; 3. контрол и регулиране на процеса чрез междуклетъчни и вътреклетъчни сигнални молекули; 4. благоприятен или увреждащ тъканта ефект (56).

Като защитна реакция срещу различни фактори/заболявания астроцитите реагират с промени, вариращи от хипертрофия на телата (увеличени клетъчни размери), хипертрофия на клетъчните израстъци, промяна в протеиновия профил до промяна в пролиферативната активност (Фиг. 4) (5,57-59).



Фиг. 4. Морфология на реактивен астроцит от крайномозъчна кора на човек в норма и при патологични условия, когато е стимулирана транскрипцията на проинфламаторни гени, повишен е интензитетът на експресията на GFAP, налично е производство на свободни кислородни радикали и азотен оксид, както и освобождаване на проинфламаторни цитокини и хемокини (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , CXCL10)

Вариациите в тази реактивност са изследвани чрез количествен анализ на експресията на GFAP. При различни невропатологични състояния (исхемия, невродегенеративни заболявания, травма) се наблюдава повишена експресия на GFAP (60,61). Астроцитната реактивност може да бъде характеризирана като лека, умерена, дифузна или тежка (62).

Съществува хетерогенност в проявите на реактивност при отделните видове астроцити, намиращи се в различни области на ЦНС. Така например след механична увреда се наблюдават различни структурни промени в израстъците на протоплазмените и фиброзните астроцити. Израстъците на фиброзните астроцити се ретрахираат и кондензират (63), докато при протоплазмените астроцити се наблюдава удължаване на техните израстъци (57,64).

В условията на мозъчна хипоксия или хипогликемия са открити два вида астроцити, които реагират по различен начин (46). Първите увеличават значително обема си и се наблюдава деполяризация на клетъчната им мембрана след 20 минути. Втората група астроцити увеличават незначително размера си и почти не променят електронния си потенциал. Някои автори смятат, че това се дължи на различията в протеиновия им профил (65,66).

Промените в астроцитната морфология при исхемичен мозъчен инсулт могат да бъдат описани и според неговия стадий: повишена пролиферативна активност и повишена експресия на GFAP се наблюдават още в острата фаза (1^{ви}-4^{ти} ден след исхемията). В субакутната фаза (ден 4^{ти}-8^и след исхемията) са описани астроцити с удължени израстъци и деполяризирана клетъчна мембрана, които постепенно образуват глиален цикатрикс до настъпване на хроничния стадий (ден 8^и-14^и след исхемията). Тези данни са получени при изследвания чрез високотехнологични образни методи в исхемична крайномозъчна кора *in vivo* (67).

Различията в реактивността на астроцитите се свързват също с тяхната чувствителност към исхемия, разположението им спрямо ядрото на лезията, както и с техните субтипове (68).

При физиологични условия астроцитите имат критична роля в образуването и поддържането на нови синапси чрез директния си контакт с невроните или чрез секрецията на вещества в пре- и постсинаптичните пространства, които модулират структурата и функцията на инхибиторните и възбудните синапси (69-73). Реактивните астроцити също секретират сигнални моле-

кули, които подпомагат възстановяването на синапсите след увреда на ЦНС, като така допринасят за невропластичността и възстановяването на тъканта (74,75). Такива синаптогенни молекули са свързани с холестерол апополипротеин Е (АРОЕ) и тромбоспондин (70,76). При определени условия астроцитите оказват невропротективно и антиинфламаторно действие, което улеснява възстановяването на невроните (77) (Таблица 1).

Това се дължи на секретиранияте от астроцитите еритропоетин, VEGF (vascular endothelial growth factor), GDNF (glial cell line-derived

ята след увреда (90,91). Спорен е въпросът дали астроцитите в мозъка на възрастен човек могат да участват в трансфера на митохондрии при увреда, явление описано при експериментални изследвания в ретина на мишка (92,93).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

От изложеното дотук следва, че астроцитите са морфологично хетерогенна група, в която клетки с идентична морфология могат да имат функционални различия. Типизиране на астроцитите според физиологията им все още не е на-

Таблица 1. Двойствена роля на реактивната астроглия в ЦНС при мозъчна увреда

АНТИИНФЛАМАТОРНИ ФАКТОРИ	ПРОИНФЛАМАТОРНИ ФАКТОРИ
IL-10	IL-1 β , IL-6
TGF-1 β	TNF α
CXCL12	CXCL10
Глутатион	IFN- γ
Редуцирано производство и разграждане на свободни кислородни радикали	Стимулирано производство на свободни кислородни радикали и азотен оксид
Инхибирана е транскрипцията на проинфламаторни гени	Стимулирана е транскрипцията на проинфламаторни гени

neurotrophic factor), естроген (17 β -естрадиол), които могат да ограничат невроналната увреда след исхемия (78-81). В условията на исхемична мозъчна увреда реактивните астроцити са единственият източник на глюкоза и съответно на енергия за невроните (82). Освен това чрез участието си в цикъла глутамат-глутамин астроцитите предотвратяват натрупването на глутамат в екстрацелуларното пространство, което би имало цитотоксичен ефект върху невроните (83). В допълнение, астроцитите са способни да отделят антиоксиданти като глутатион (84) и екзозоми (екстрацелуларни везикули), съдържащи разнообразие от молекули като липиди, протеини, нуклеинови киселини. Счита се, че това е механизъм, чрез който астроцитите инхибират невроналната апоптоза (85) и така повишат преживяемостта на невроните след исхемична увреда, (86-88). Все пак ролята на екзозомите е дискусативна, тъй като, попаднали в цитоплазмата на невроните, те оказват неблагоприятен ефект (89). Налични са доказателства, че астроцитите участват и в сигнални пътища, чрез които активират узряването и пролиферацията на нервни стволови клетки в мозъците на израснали индивиди, което също има отношение към регенераци-

правено. Подобно структурно разнообразие се наблюдава и след мозъчно увреждане, където реактивната астроглия играе ключова ролята в тъканното възстановяване, вземайки участие не само в процесите на синаптогенеза и невронална регенерация, но и активно участвайки в активиранията пролиферацията на нервни стволови клетки при възрастни индивиди. Това определя астроцитите като фактор, изучаването на който би довело до разработката на нови методи за терапевтично повлияване на различни патологични състояния в ЦНС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kettenmann, H. and A. Verkhratsky, (Neuroglia-living nerve glue). Fortschr Neurol Psychiatr, 2011. 79(10): p. 588-97.
2. Matyash, V. and H. Kettenmann, Heterogeneity in astrocyte morphology and physiology. Brain Res Rev, 2010. 63(1-2): p. 2-10.
3. Chiarelli, R.A., et al., The Role of Astrocytes in the Neurorepair Process. Front Cell Dev Biol, 2021. 9: p. 665795.
4. Acioglu, C., L. Li, and S. Elkabes, Contribution of astrocytes to neuropathology of

- neurodegenerative diseases. *Brain Res*, 2021. 1758: p. 147291.
5. Bardehle, S., et al., Live imaging of astrocyte responses to acute injury reveals selective juxtavascular proliferation. *Nat Neurosci*, 2013. 16(5): p. 580-6.
 6. Molofsky, A.V., et al., Astrocytes and disease: a neurodevelopmental perspective. *Genes Dev*, 2012. 26(9): p. 891-907.
 7. Emsley, J.G. and J.D. Macklis, Astroglial heterogeneity closely reflects the neuronal-defined anatomy of the adult murine CNS. *Neuron Glia Biol*, 2006. 2(3): p. 175-86.
 8. Wang, D.D. and A. Bordey, The astrocyte odyssey. *Prog Neurobiol*, 2008. 86(4): p. 342-67.
 9. Villarreal, A. and T. Vogel, Different Flavors of Astrocytes: Revising the Origins of Astrocyte Diversity and Epigenetic Signatures to Understand Heterogeneity after Injury. *Int J Mol Sci*, 2021. 22(13).
 10. Dahl, D. and A. Bignami, Immunohistological localization of desmin, the muscle-type 100 A filament protein, in rat astrocytes and Muller glia. *J Histochem Cytochem*, 1982. 30(3): p. 207-13.
 11. Pixley, S.K., Y. Kobayashi, and J. de Vellis, A monoclonal antibody against vimentin: characterization. *Brain Res*, 1984. 317(2): p. 185-99.
 12. Kimelberg, H.K., The problem of astrocyte identity. *Neurochem Int*, 2004. 45(2-3): p. 191-202.
 13. Ludwin, S.K., J.C. Kosek, and L.F. Eng, The topographical distribution of S-100 and GFA proteins in the adult rat brain: an immunohistochemical study using horseradish peroxidase-labelled antibodies. *J Comp Neurol*, 1976. 165(2): p. 197-207.
 14. Ogata, K. and T. Kosaka, Structural and quantitative analysis of astrocytes in the mouse hippocampus. *Neuroscience*, 2002. 113(1): p. 221-33.
 15. Rickmann, M. and J.R. Wolff, S100 protein expression in subpopulations of neurons of rat brain. *Neuroscience*, 1995. 67(4): p. 977-91.
 16. Yang, Q., et al., S-100 beta has a neuronal localisation in the rat hindbrain revealed by an antigen retrieval method. *Brain Res*, 1995. 696(1-2): p. 49-61.
 17. Vives, V., et al., Visualization of S100B-positive neurons and glia in the central nervous system of EGFP transgenic mice. *J Comp Neurol*, 2003. 457(4): p. 404-19.
 18. Zuo, Y., et al., Fluorescent proteins expressed in mouse transgenic lines mark subsets of glia, neurons, macrophages, and dendritic cells for vital examination. *J Neurosci*, 2004. 24(49): p. 10999-1009.
 19. Ferent, J., D. Zaidi, and F. Francis, Extracellular Control of Radial Glia Proliferation and Scaffolding During Cortical Development and Pathology. *Front Cell Dev Biol*, 2020. 8: p. 578341.
 20. Oberheim, N.A., et al., Uniquely hominid features of adult human astrocytes. *J Neurosci*, 2009. 29(10): p. 3276-87.
 21. Falcone, C., et al., Cortical Interlaminar Astrocytes Are Generated Prenatally, Mature Postnatally, and Express Unique Markers in Human and Nonhuman Primates. *Cereb Cortex*, 2021. 31(1): p. 379-395.
 22. Kinney, G.A. and W.J. Spain, Synaptically evoked GABA transporter currents in neocortical glia. *J Neurophysiol*, 2002. 88(6): p. 2899-908.
 23. Araque, A., et al., Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci*, 1999. 22(5): p. 208-15.
 24. Haas, B., et al., Activity-dependent ATP-waves in the mouse neocortex are independent from astrocytic calcium waves. *Cereb Cortex*, 2006. 16(2): p. 237-46.
 25. Falcone, C., et al., Cortical interlaminar astrocytes across the therian mammal radiation. *J Comp Neurol*, 2019. 527(10): p. 1654-1674.
 26. Falcone, C., et al., Redefining varicose projection astrocytes in primates. *Glia*, 2022. 70(1): p. 145-154.
 27. Takahashi, S., Metabolic Contribution and Cerebral Blood Flow Regulation by Astrocytes in the Neurovascular Unit. *Cells*, 2022. 11(5).
 28. Abbott, N.J., et al., Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis*, 2010. 37(1): p. 13-25.
 29. Michinaga, S. and Y. Koyama, Dual Roles of Astrocyte-Derived Factors in Regulation of Blood-Brain Barrier Function after Brain Damage. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(3).
 30. Walz, W., Role of astrocytes in the clearance of excess extracellular potassium. *Neurochem Int*, 2000. 36(4-5): p. 291-300.
 31. Pellerin, L., Brain energetics (thought needs food). *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2008. 11(6): p. 701-5.
 32. Olsen, M.L., S.L. Campbell, and H. Sontheimer, Differential distribution of Kir4.1 in spinal cord astrocytes suggests regional differences in K⁺ homeostasis. *J Neurophysiol*, 2007. 98(2): p. 786-93.
 33. Fraser, D.D., et al., GABAA/benzodiazepine receptors in acutely isolated hippocampal astrocytes. *J Neurosci*, 1995. 15(4): p. 2720-32.
 34. Takata, N. and H. Hirase, Cortical layer 1 and layer 2/3 astrocytes exhibit distinct calcium dynamics in vivo. *PLoS One*, 2008. 3(6): p. e2525.
 35. Schipke, C.G., et al., Astrocytes of the mouse neocortex express functional N-methyl-D-

- aspartate receptors. *FASEB J*, 2001. 15(7): p. 1270-2.
36. Chen, M.B., et al., Persistent transcriptional programmes are associated with remote memory. *Nature*, 2020. 587(7834): p. 437-442.
 37. Koob, A.O., Astrocytes Imagined. *J Integr Neurosci*, 2022. 21(4): p. 112.
 38. Petzold, G.C. and V.N. Murthy, Role of astrocytes in neurovascular coupling. *Neuron*, 2011. 71(5): p. 782-97.
 39. Rose, C.R., et al., Astroglial Glutamate Signaling and Uptake in the Hippocampus. *Front Mol Neurosci*, 2017. 10: p. 451.
 40. Henneberger, C., et al., LTP Induction Boosts Glutamate Spillover by Driving Withdrawal of Perisynaptic Astroglia. *Neuron*, 2020. 108(5): p. 919-936 e11.
 41. Bezzi, P. and A. Volterra, A neuron-glia signalling network in the active brain. *Curr Opin Neurobiol*, 2001. 11(3): p. 387-94.
 42. Sontheimer, H., et al., Channel expression correlates with differentiation stage during the development of oligodendrocytes from their precursor cells in culture. *Neuron*, 1989. 2(2): p. 1135-45.
 43. Steinhauser, C., R. Jabs, and H. Kettenmann, Properties of GABA and glutamate responses in identified glial cells of the mouse hippocampal slice. *Hippocampus*, 1994. 4(1): p. 19-35.
 44. Matthias, K., et al., Segregated expression of AMPA-type glutamate receptors and glutamate transporters defines distinct astrocyte populations in the mouse hippocampus. *J Neurosci*, 2003. 23(5): p. 1750-8.
 45. Butt, A.M., et al., Synantocytes: new functions for novel NG2 expressing glia. *J Neurocytol*, 2002. 31(6-7): p. 551-65.
 46. Nolte, C., et al., GFAP promoter-controlled EGFP-expressing transgenic mice: a tool to visualize astrocytes and astrogliosis in living brain tissue. *Glia*, 2001. 33(1): p. 72-86.
 47. Jabs, R., et al., Synaptic transmission onto hippocampal glial cells with hGFAP promoter activity. *J Cell Sci*, 2005. 118(Pt 16): p. 3791-803.
 48. Wallraff, A., et al., Distinct types of astroglial cells in the hippocampus differ in gap junction coupling. *Glia*, 2004. 48(1): p. 36-43.
 49. Bergles, D.E., et al., Glutamatergic synapses on oligodendrocyte precursor cells in the hippocampus. *Nature*, 2000. 405(6783): p. 187-91.
 50. Lin, S.C., et al., Climbing fiber innervation of NG2-expressing glia in the mammalian cerebellum. *Neuron*, 2005. 46(5): p. 773-85.
 51. Grass, D., et al., Diversity of functional astroglial properties in the respiratory network. *J Neurosci*, 2004. 24(6): p. 1358-65.
 52. Nishiyama, A., Z. Yang, and A. Butt, Astrocytes and NG2-glia: what's in a name? *J Anat*, 2005. 207(6): p. 687-93.
 53. Bedner, P., R. Jabs, and C. Steinhauser, Properties of human astrocytes and NG2 glia. *Glia*, 2020. 68(4): p. 756-767.
 54. Ravi, K., et al., Astrocytes in rare neurological conditions: Morphological and functional considerations. *J Comp Neurol*, 2021. 529(10): p. 2676-2705.
 55. Kettenmann, H., F. Kirchhoff, and A. Verkhratsky, Microglia: new roles for the synaptic stripper. *Neuron*, 2013. 77(1): p. 10-8.
 56. Sofroniew, M.V., Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci*, 2009. 32(12): p. 638-47.
 57. Wilhelmsson, U., et al., Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. 103(46): p. 17513-8.
 58. Sofroniew, M.V. and H.V. Vinters, Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*, 2010. 119(1): p. 7-35.
 59. Choi, S.S., et al., Human astrocytes: secretome profiles of cytokines and chemokines. *PLoS One*, 2014. 9(4): p. e92325.
 60. Lewis, S.A., et al., Sequence of a cDNA clone encoding mouse glial fibrillary acidic protein: structural conservation of intermediate filaments. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984. 81(9): p. 2743-6.
 61. Hol, E.M. and M. Pekny, Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Curr Opin Cell Biol*, 2015. 32: p. 121-30.
 62. Episcopo, F.L., et al., Reactive astrocytes are key players in nigrostriatal dopaminergic neurorepair in the MPTP mouse model of Parkinson's disease: focus on endogenous neurorestoration. *Curr Aging Sci*, 2013. 6(1): p. 45-55.
 63. Sun, D., et al., Structural remodeling of fibrous astrocytes after axonal injury. *J Neurosci*, 2010. 30(42): p. 14008-19.
 64. Kajihara, H., et al., Activated astrocytes with glycogen accumulation in ischemic penumbra during the early stage of brain infarction: immunohistochemical and electron microscopic studies. *Brain Res*, 2001. 909(1-2): p. 92-101.
 65. Benesova, J., et al., Quantification of astrocyte volume changes during ischemia in situ reveals two populations of astrocytes in the cortex of GFAP/EGFP mice. *J Neurosci Res*, 2009. 87(1): p. 96-111.
 66. Chvatal, A., M. Anderova, and F. Kirchhoff, Three-dimensional confocal morphometry - a new approach for studying dynamic changes

- in cell morphology in brain slices. *J Anat*, 2007. 210(6): p. 671-83.
67. Wang, Y.F. and V. Parpura, Central Role of Maladapted Astrocytic Plasticity in Ischemic Brain Edema Formation. *Front Cell Neurosci*, 2016. 10: p. 129.
 68. Shannon, C., M. Salter, and R. Fern, GFP imaging of live astrocytes: regional differences in the effects of ischaemia upon astrocytes. *J Anat*, 2007. 210(6): p. 684-92.
 69. Ullian, E.M., et al., Control of synapse number by glia. *Science*, 2001. 291(5504): p. 657-61.
 70. Christopherson, K.S., et al., Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis. *Cell*, 2005. 120(3): p. 421-33.
 71. Nishida, H. and S. Okabe, Direct astrocytic contacts regulate local maturation of dendritic spines. *J Neurosci*, 2007. 27(2): p. 331-40.
 72. Stogsdill, J.A., et al., Astrocytic neuroligins control astrocyte morphogenesis and synaptogenesis. *Nature*, 2017. 551(7679): p. 192-197.
 73. Oyabu, K., et al., Presynaptically silent synapses are modulated by the density of surrounding astrocytes. *J Pharmacol Sci*, 2020. 144(2): p. 76-82.
 74. Emirandetti, A., et al., Astrocyte reactivity influences the number of presynaptic terminals apposed to spinal motoneurons after axotomy. *Brain Res*, 2006. 1095(1): p. 35-42.
 75. Tyzack, G.E., et al., Astrocyte response to motor neuron injury promotes structural synaptic plasticity via STAT3-regulated TSP-1 expression. *Nat Commun*, 2014. 5: p. 4294.
 76. Mauch, D.H., et al., CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*, 2001. 294(5545): p. 1354-7.
 77. Gutbier, S., et al., Prevention of neuronal apoptosis by astrocytes through thiol-mediated stress response modulation and accelerated recovery from proteotoxic stress. *Cell Death Differ*, 2018. 25(12): p. 2101-2117.
 78. Kitagawa, H., et al., Adenovirus-mediated gene transfer of glial cell line-derived neurotrophic factor prevents ischemic brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999. 19(12): p. 1336-44.
 79. Zhang, Z.G., et al., VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *J Clin Invest*, 2000. 106(7): p. 829-38.
 80. Chavez, J.C., et al., The transcriptional activator hypoxia inducible factor 2 (HIF-2/EPAS-1) regulates the oxygen-dependent expression of erythropoietin in cortical astrocytes. *J Neurosci*, 2006. 26(37): p. 9471-81.
 81. Lu, Y., et al., Neuron-Derived Estrogen Is Critical for Astrocyte Activation and Neuroprotection of the Ischemic Brain. *J Neurosci*, 2020. 40(38): p. 7355-7374.
 82. Swanson, R.A. and D.W. Choi, Glial glycogen stores affect neuronal survival during glucose deprivation in vitro. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1993. 13(1): p. 162-9.
 83. Kostandy, B.B., The role of glutamate in neuronal ischemic injury: the role of spark in fire. *Neurol Sci*, 2012. 33(2): p. 223-37.
 84. Dringen, R., Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog Neurobiol*, 2000. 62(6): p. 649-71.
 85. Li, Y., et al., Downregulation of lncRNA BACE1-AS improves dopamine-dependent oxidative stress in rats with Parkinson's disease by upregulating microRNA-34b-5p and downregulating BACE1. *Cell Cycle*, 2020. 19(10): p. 1158-1171.
 86. Fruhbeis, C., et al., Extracellular vesicles as mediators of neuron-glia communication. *Front Cell Neurosci*, 2013. 7: p. 182.
 87. Xin, H., Y. Li, and M. Chopp, Exosomes/miRNAs as mediating cell-based therapy of stroke. *Front Cell Neurosci*, 2014. 8: p. 377.
 88. Guitart, K., et al., Improvement of neuronal cell survival by astrocyte-derived exosomes under hypoxic and ischemic conditions depends on prion protein. *Glia*, 2016. 64(6): p. 896-910.
 89. Datta Chaudhuri, A., et al., Stimulus-dependent modifications in astrocyte-derived extracellular vesicle cargo regulate neuronal excitability. *Glia*, 2020. 68(1): p. 128-144.
 90. Cornell-Bell, A.H. and S.M. Finkbeiner, Ca²⁺ waves in astrocytes. *Cell Calcium*, 1991. 12(2-3): p. 185-204.
 91. Asrican, B., et al., Neuropeptides Modulate Local Astrocytes to Regulate Adult Hippocampal Neural Stem Cells. *Neuron*, 2020. 108(2): p. 349-366 e6.
 92. Davis, C.H., et al., Transcellular degradation of axonal mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014. 111(26): p. 9633-8.
 93. Xiong, X.Y., Y. Tang, and Q.W. Yang, Metabolic changes favor the activity and heterogeneity of reactive astrocytes. *Trends Endocrinol Metab*, 2022. 33(6): p. 390-400.

Адрес за кореспонденция:

Виктория Михайлова
 Катедра „Анатомия и клетъчна биология“
 Медицински университет – Варна
 ул. „Марин Дринов“ 55
 Варна, 9002
 e-mail: Viktoriya.Mihaylova@tu-varna.bg