

# МОДУЛЯЦИЯ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ГИППОКАМПА ПОСРЕДСТВОМ ЭНЗИМАТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС

УДК 612.82:612.015.1

Поступила 12.02.2012 г.



**И.В. Мухина**, д.б.н., профессор, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией НИИ ПФМ<sup>1</sup>; зав. кафедрой нормальной физиологии<sup>1</sup>; профессор кафедры нейродинамики и нейробиологии<sup>2</sup>; сотрудник лаборатории по исследованию матрикса мозга<sup>2</sup>;  
**М.В. Ведунова**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела клеточных технологий НИИ ПФМ<sup>1</sup>; сотрудник лаборатории по исследованию матрикса мозга<sup>2</sup>;  
**Т.А. Сахарнова**, младший научный сотрудник отдела клеточных технологий НИИ ПФМ<sup>1</sup>; сотрудник лаборатории по исследованию матрикса мозга<sup>2</sup>;  
**А.Э. Дитятев**, к.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник отделения нейронаук и нейротехнологий<sup>3</sup>; зав. лабораторией по исследованию матрикса мозга<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>2</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского —

Национальный исследовательский университет, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

<sup>3</sup>Итальянский институт технологий, Генуя, Италия, 16163, Via Morego, 30

Одним из основных компонентов внеклеточного матрикса в центральной нервной системе является гиалуроновая кислота, которая энзиматически расщепляется гиалуронидазой.

**Цель исследования** — изучить влияние гиалуронидазы на спонтанную активность нейронов первичной культуры гиппокампа для оценки роли внеклеточного матрикса в функционировании нейронной сети.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на диссоциированных клетках гиппокампа, полученных от эмбрионов (E18) мышей линии C57BL/6, которые культивировались в течение 30 дней на мультиэлектродной матрице MED64.

**Результаты.** Установлено, что добавление гиалуронидазы (75 ЕД/мл) на 17-й день развития первичной культуры гиппокампа вызывает длительные изменения спонтанной биоэлектрической активности нейронных сетей с формированием суперпачки длительностью 25–35 с и межпачечным интервалом 1–3 мин, которую можно охарактеризовать как эпилептоподобную активность. Этот тип активности в виде сетевых суперпачек возникал в культуре гиппокампа через 3–7 дней после введения гиалуронидазы и сохранялся в течение 2 нед, но мог быть ингибирован блокатором потенциалзависимых кальциевых каналов (L-VGCC) и антагонистом рецепторов альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты (AMPA-рецепторов). Таким образом, на сетевом уровне *in vitro* с помощью технологии мультиэлектродной регистрации показано, что разрушение внеклеточного матрикса путем деградации гиалуроновой кислоты приводит к модуляции биоэлектрической активности нейронных сетей мозга с формированием эпилептоподобной активности.

**Ключевые слова:** гиппокамп, диссоциированная культура, мультиэлектродная матрица, внеклеточный матрикс, гиалуроновая кислота.

## English

## Modulation of network activity in dissociated hippocampal cultures by enzymatic digestion of extracellular matrix

**I.V. Mukhina**, D.Bio.Sc., Professor, Head of Central Scientific Research Laboratory of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine<sup>1</sup>; Head of the Department of Normal Physiology<sup>1</sup>; Professor of the Department of Neurodynamics and Neurobiology<sup>2</sup>; Researcher of the Brain Matrix Research Laboratory<sup>2</sup>;

Для контактов: Мухина Ирина Васильевна, тел. моб. +7904-797-55-50; e-mail: mukhinaiv@mail.ru

**M.V. Vedunova**, PhD, Senior Research Worker, the Cellular Technology Department of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine<sup>1</sup>; Researcher of the Brain Matrix Research Laboratory<sup>2</sup>;

**T.A. Sakharnova**, Junior Research Worker, the Cellular Technology Department of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine<sup>1</sup>; Researcher of the Brain Matrix Research Laboratory<sup>2</sup>;

**A.E. Dityatev**, PhD, Professor, Leading Research Worker of Neurosciences and Neurotechnologies Department<sup>3</sup>; Head of the Brain Matrix Research Laboratory<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005;

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky — National Research University, Gagarin Avenue, 23, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603950;

<sup>3</sup>Italian Institute of Technology, Via Morego, 30, Genova, Italy, 16163

To investigate the role of extracellular matrix in spontaneous neuronal network activity, we used microelectrode array technology and enzymatic treatment of hippocampal culture with hyaluronidase, which digests the major component of extracellular matrix, hyaluronic acid. Studies were performed using hippocampal cells that were dissociated from embryonic C57BL6 mice (E18) and plated on microelectrode arrays (MEAs). Our findings revealed that hyaluronidase promoted seizure-like activity during two weeks after the beginning of hyaluronidase treatment in 17<sup>th</sup> day in vitro: the treatment transformed the normal network bursts to “superbursts”, which lasted about 25–35 seconds. These superbursts appeared on the third day after hyaluronidase treatment with intersuperburst interval of 1–3 minutes. Seizure-like activity in hyaluronidase-treated cultures was irreversible during 2 weeks, but could be suppressed by an L-VGCC blocker and by an AMPA receptor antagonist. These results suggest that the changes in expression of hyaluronic acid can be epileptogenic and provide an in vitro model for dissection of the underlying mechanisms.

**Key words:** hippocampus, dissociated culture, multielectrode arrays, extracellular matrix, hyaluronic acid.

Внеклеточный матрикс (ВКМ) в мозге млекопитающих состоит из молекул, синтезируемых и секретируемых нейронами и глиальными клетками, которые в различных сочетаниях формируют стабильные агрегаты в межклеточном пространстве [1]. В зрелом мозге ВКМ претерпевает медленные изменения и ограничивает структурные перестройки, но при этом поддерживает множество физиологических процессов, включая синаптическую пластичность и гомеостатическую регуляцию [2].

Наиболее выраженные и изученные скопления молекул ВКМ в ЦНС — это перинейрональные сети [3]. Они богаты гиалуроновой кислотой, хондроитин сульфат протеогликанами, белками, соединяющими хондроитин сульфат протеогликан с гиалуроновой кислотой (link proteins) и тенасцином-R, который может образовывать димеры или тримеры и таким образом взаимодействовать с несколькими лектиканами, стабилизируя перинейрональные сети. Перинейрональные сети в коре головного мозга и гиппокампе в основном связаны с ГАМК-ергическими (ГАМК — гамма-аминомасляная кислота) интернейронами, экспрессирующими кальцийсвязывающий белок парвальбумин. Поскольку гиалуроновая кислота является каркасом ВКМ во внеклеточном пространстве мозга, изучение ее роли в синаптической пластичности является весьма интересным. Недавние исследования установили, что разрушение гиалуроновой кислоты гиалуронидазой в CA1-поле гиппокампальных срезов уменьшает Ca<sup>2+</sup>-сигналы в постсинаптических дендритах или шипиках, блокирует Ca<sup>2+</sup>-токи и долговременную потенциацию (ДВП), опосредованные кальциевыми каналами L-типа (L-VGCC) [4]. Более того, удаление гиалуроновой кислоты облегчает латеральную диффузию мембранных молекул, в том числе рецепторов альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты (AMPA-рецепторов), и увеличивает амплитуду ответов,

вызываемых повторной стимуляцией синапсов [5]. Эти данные подтверждают вывод о том, что перисинаптический матрикс, включающий гиалуроновую кислоту, может создавать барьеры для диффузии синаптических молекул в мембране и таким образом содействовать компарментализации синаптического механизма передачи сигнала.

Важность гиалуроновой кислоты для поведения животных была продемонстрирована в экспериментах, в которых превентивное введение гиалуронидазы ослабляло формирование условного рефлекса страха (fear conditioning) [6]. Кроме того, показано, что судорожная активность, как правило, характеризуется значительными изменениями в составе ВКМ, что доказывает существенную роль молекул ВКМ в эпилептогенезе. Это мнение поддерживается генетическими исследованиями, связывающими недостаток или избыток молекул ВКМ с эпилептогенезом у мышей, а также с изменением соотношения клеток в нейрон-глиальной сети мозга. В геноме человека обнаружено несколько генов, кодирующих молекулы ВКМ, мутации которых связаны с эпилептогенезом. У человека, например, мутации в лейцинбогатом глиома-инактивированном гене 1 (LGI1) ведут к аутосомно-доминантной эпилепсии латеральной височной доли, сопровождающейся нарушением слуховой сенсорики [7]. Нокаут урокиназного рецептора (uPAR) приводит к исчезновению парвальбуминэкспрессирующих ГАМК-ергических интернейронов и развитию эпилептического фенотипа [8]. Мутации в  $\beta$ 1-субъединице белка потенциалзависимых Na<sup>+</sup>-каналов (SCN1B) связаны с генерализованной эпилепсией. Белок SCN1B отвечает за работу воротного механизма канала, регулирует уровень экспрессии каналов на плазматической мембране и действует в качестве молекулы клеточной адгезии в условиях взаимодействия с ВКМ, регулируя клеточную мигра-

цию. Молекулами ВКМ в последнем случае являются гликопротеины, в том числе тенаascin-R [9]. Следует отметить, что паттерн индуцированного судорожным припадком изменения ВКМ сложен и является специфичным по отношению к региону мозга и клеточному субдомену. Ремоделированный ВКМ способен вызвать многочисленные вторичные долгосрочные функциональные и структурные изменения в ЦНС, которые могут определять направленность дальнейшего развития болезни.

Таким образом, вызванное судорожной активностью изменение ВКМ или подавление сигнальных путей измененным матриксом может представлять собой эффективные терапевтические стратегии для подавления прогрессирования эпилептогенеза. На данный момент отсутствуют данные в отношении роли гиалуроновой кислоты в формировании нейросетевой активности нейронов.

**Цель исследования** — изучение влияния гиалуронидазы на биоэлектрическую активность нейронов первичной культуры гиппокампа эмбрионов мышей.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на культурах диссоциированных клеток гиппокампа, полученных от 18-дневных эмбрионов мышей линии C57BL/6 в соответствии с основными правилами содержания и ухода за экспериментальными животными, представленными в Приказе Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики» и по согласованию с Этическим комитетом НижГМА Минздравсоцразвития России.

**Культивирование диссоциированных клеток гиппокампа.** Диссоциирование клеток достигалось путем обработки ткани гиппокампа 0,25% трипсином (Invitrogen, США). Клетки ресуспендировали в нейробазальной среде Neurobasal™ (Invitrogen) в комплексе с биоактивной добавкой B27 (Invitrogen), глутамином (Invitrogen), эмбриональной телячьей сывороткой (ПанЭко, Москва) и культивировали на мультиэлектродных матрицах согласно ранее разработанному протоколу [10] в течение 30 дней *in vitro* (DIV). Исходная плотность клеточной культуры составила 9000 кл./мм<sup>2</sup>. Поддержание жизнеспособности культуры осуществлялось в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора при температуре 35,5°C и газовой смеси, содержащей 5% CO<sub>2</sub>. В качестве опорного субстрата для культивирования нейронов использовался полиэтиленимин (Sigma, США).

**Регистрация и анализ биоэлектрической активности.** Спонтанную биоэлектрическую активность нейронов регистрировали с помощью мультиэлектродных матриц системы MED64 (Alpha MED Sciences, Япония). Эта матрица состояла из 64 планарных квадратных электродов, каждый размером 50x50 мкм, с межэлектродным расстоянием 100 мкм. Для получения и обработки внеклеточных потенциалов (спайков) использовался набор программного обеспечения мультиэлектродной системы Conductor (Alpha MED Sciences, Япония). Анализ полученных данных проводился с помощью пакета прикладных программ Matlab и MEAMAN. Детектирова-

ние спайков осуществлялось общепринятым методом с применением стандартного отклонения в качестве выделяющего инструмента (граница 8–12, где  $\sigma$  — среднеквадратичное отклонение). Детектирование малых сетевых пачек проводили, используя метод, описанный ранее [11].

Исследовались основные характеристики биоэлектрической активности нейронной сети диссоциированной культуры гиппокампа: длительность малой пачки импульсов, с; межпачечный интервал, с; частота спайков в малой пачке, Гц; частота малых пачек, Гц.

**Схема эксперимента.** В опытной группе в культуральную среду однократно на 17-й день развития *in vitro* вносили 75 ЕД/мл гиалуронидазы (*Streptomyces hyalurolyticus*, ф. Sigma, США). Через сутки после добавления фермента проводили смену культуральной среды с заменой 50% ее объема. Непосредственно перед использованием фермент растворяли в полифосфатном буфере. В контрольных группах в среду культивирования добавляли равное по объему количество полифосфатного буфера или инактивированного фермента. Инактивация гиалуронидазы осуществлялась 30-минутным кипением при нормальном атмосферном давлении.

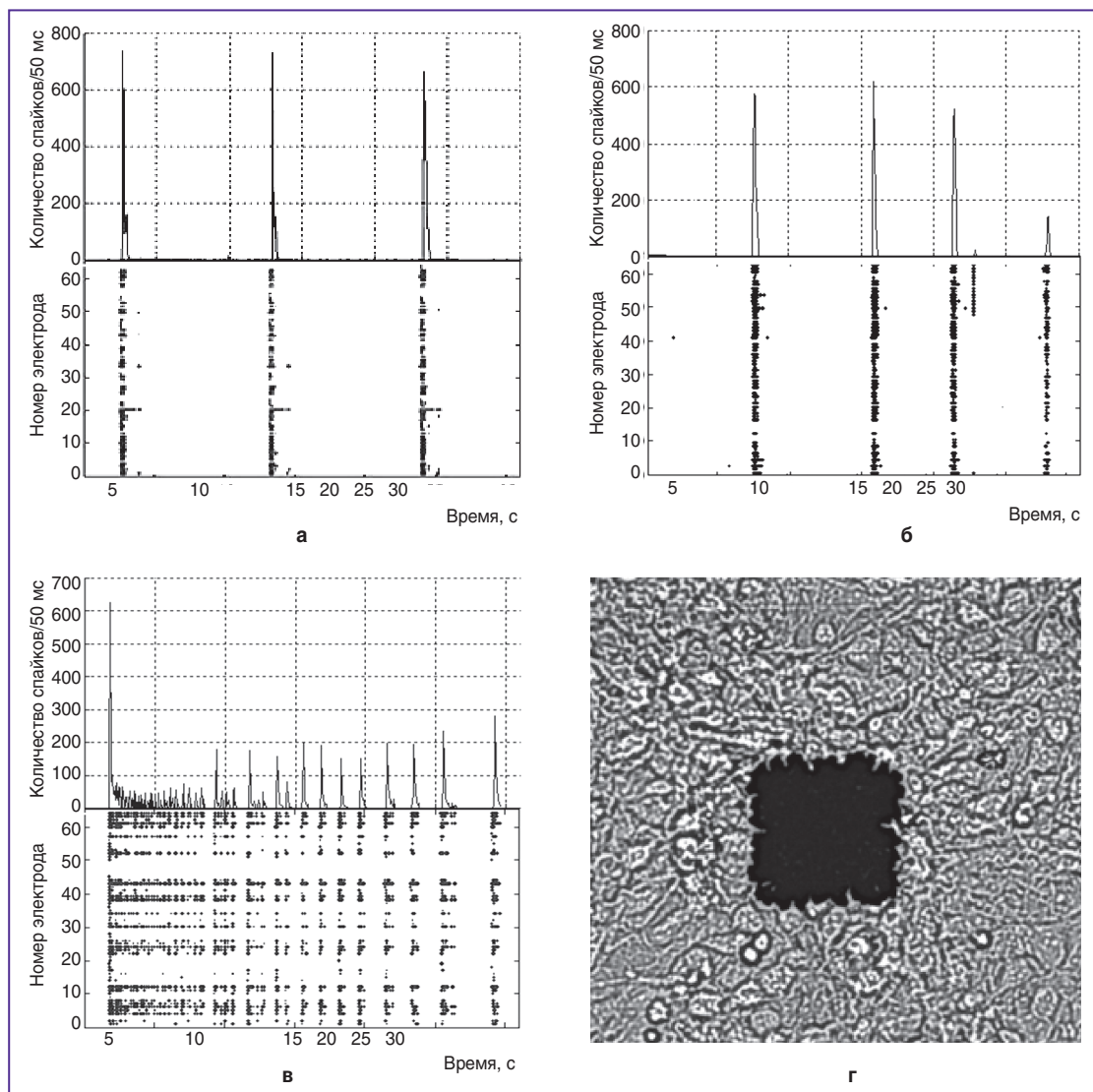
Для сравнительной оценки биоэлектрической активности, вызванной гиалуронидазой, использовали блокатор калиевых каналов 4-аминопиридин (4-AP, Sigma), 50 мкмоль, вызывающий эпилептоподобную активность *in vivo* и *in vitro*. Для изучения механизмов модулирующего действия гиалуронидазы на синаптическую передачу в нейронных сетях культуры гиппокампа применяли фармакологический анализ, включающий изучение действия блокатора потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа (L-VGCC) дилтиазема, 10 мкмоль (Sigma), 6-циано-7-нитрокиноксалин-2,3-диона (CNQX), 10 мкмоль (Sigma) как антагониста AMPA-рецепторов и 3-(2-карбоксихиперазин-4-ил)пропил-1-фосфорной кислоты (CPP), 10 мкмоль (Sigma) как конкурентного антагониста рецепторов N-метил-D-аспартат (NMDA).

Биоэлектрическую активность нейронов диссоциированной культуры гиппокампа исследовали через 2 ч и через каждые 24 ч на протяжении 11 сут после добавления. Длительность регистрации составляла 10 мин.

Достоверность различий между группами оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Диссоциированные культуры гиппокампа проявляли спонтанную сетевую пачечную биоэлектрическую активность, начиная с 8–10-го дня. К 17-му дню культивирования спонтанная пачечная активность становилась стабильной. Исходным считался уровень активности, регистрируемый на 17-й день развития *in vitro* до добавления гиалуронидазы. По данным литературы [12–14], на 16–17-й день в первичной культуре гиппокампа уже может быть сформирован внеклеточный матрикс.

Отмечено, что однократное добавление в среду гиалуронидазы (75 ЕД/мл) вызывает изменение электрической активности диссоциированных культур гиппокампа (рис. 1).



**Рис. 1.** Растровая диаграмма биоэлектрической активности диссоциированной культуры гиппокампа (нижние графики) и количество спайков за 50 мс (верхние графики) на 23-й день развития *in vitro*: *а* — активность в контрольной культуре — №1 (PBS); *б* — активность в контрольной культуре — №2 (инактивированной гиалуронидазе); *в* — гиалуронидаза-индуцированные изменения в активности; *г* — микрофотография высокой плотности первичной культуры гиппокампа на 23-й день развития *in vitro* в области электрода матрицы MED64, масштаб 50 мкм

Короткие малые сетевые пачки длительностью 0,3–1 с (рис. 1, *а*) менялись на продолжительные суперпачки сложного рисунка (рис. 1, *в*) длительностью 10–35 с и интервалом между суперпачками от 60 до 205 с. Подобные изменения были стабильны и регистрировались начиная с 3–7-го дня после введения гиалуронидазы. В связи с длительными интервалами между пачками для оценки активности были выбраны 30-секундные записи спайковой активности.

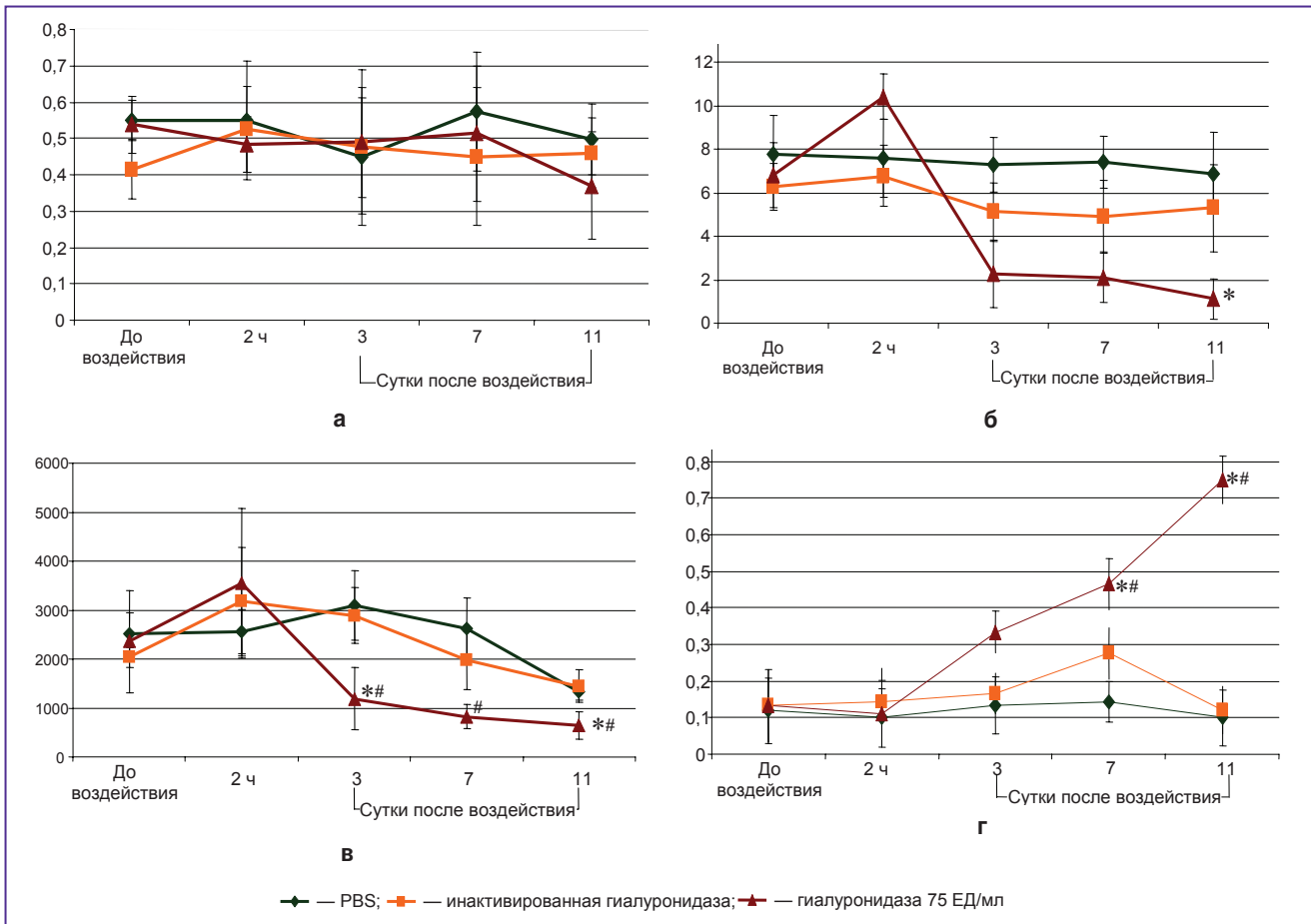
Сравнительный анализ статистических параметров активности нейронных сетей первичных культур гиппокампа выявил, что сложный паттерн активности в виде суперпачки состоит из большого количества малых пачек, которые характеризуются меньшим количеством спайков в пачке при той же длительности и очень коротким межпачечным интервалом (рис. 2).

На следующем этапе было проведено сравнение

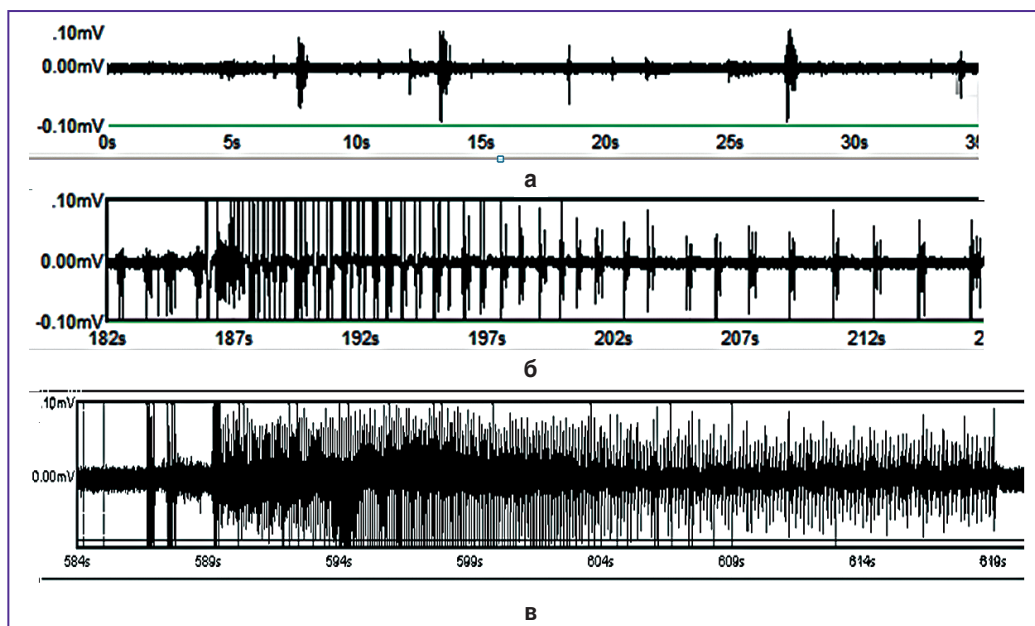
спонтанной биоэлектрической активности нейронной сети первичной культуры гиппокампа, индуцированной гиалуронидазой, и активности, вызванной 4-AP.

Добавление в культуральную среду 4-AP, как и следовало ожидать, провоцирует кратковременную эпилептоподобную активность. Однако паттерн нейросетевой активности, вызванной 4-AP, отличается от паттерна активности после гиалуронидазного воздействия (рис. 3).

Для изучения механизмов развития 4-AP-вызванной и гиалуронидаза-индуцированной активности был проведен фармакологический анализ с использованием блокаторов ионных каналов и антагонистов глутаматергических рецепторов. Отмечено, что 4-AP-вызванная активность развивалась при блокаде потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа (L-VGCC) производным бензотиазепина дилтиаземом (рис. 4, *а*,  $n=3$ ;



**Рис. 2.** Показатели 30-секундной записи спонтанной биоэлектрической активности диссоциированных культур гиппокампа (17–28 DIV) до введения в культуральную среду гиалуронидазы 75 ЕД/мл; через 2 ч и 3–11 сут после введения: а — длительность малой пачки импульсов, с; б — межпачечный интервал, с; в — частота спайков в пачке, Гц; г — частота малых пачек, Гц. Количество повторов: в контрольной группе с PBS n=11, в группе с аппликацией гиалуронидазы, 75 ЕД/мл n=5, в группе с аппликацией инактивированной гиалуронидазы n=3; \* — статистически значимые различия с контролем,  $p < 0,05$ ; # — статистически значимые различия со значениями в группе с введением инактивированной гиалуронидазы,  $p < 0,05$



**Рис. 3.** Биоэлектрическая активность диссоциированных культур гиппокампа: а — спонтанная биоэлектрическая активность; б — 4-амилопирин-индуцированная активность; в — активность, вызванная гиалуронидазой 75 ЕД/мл

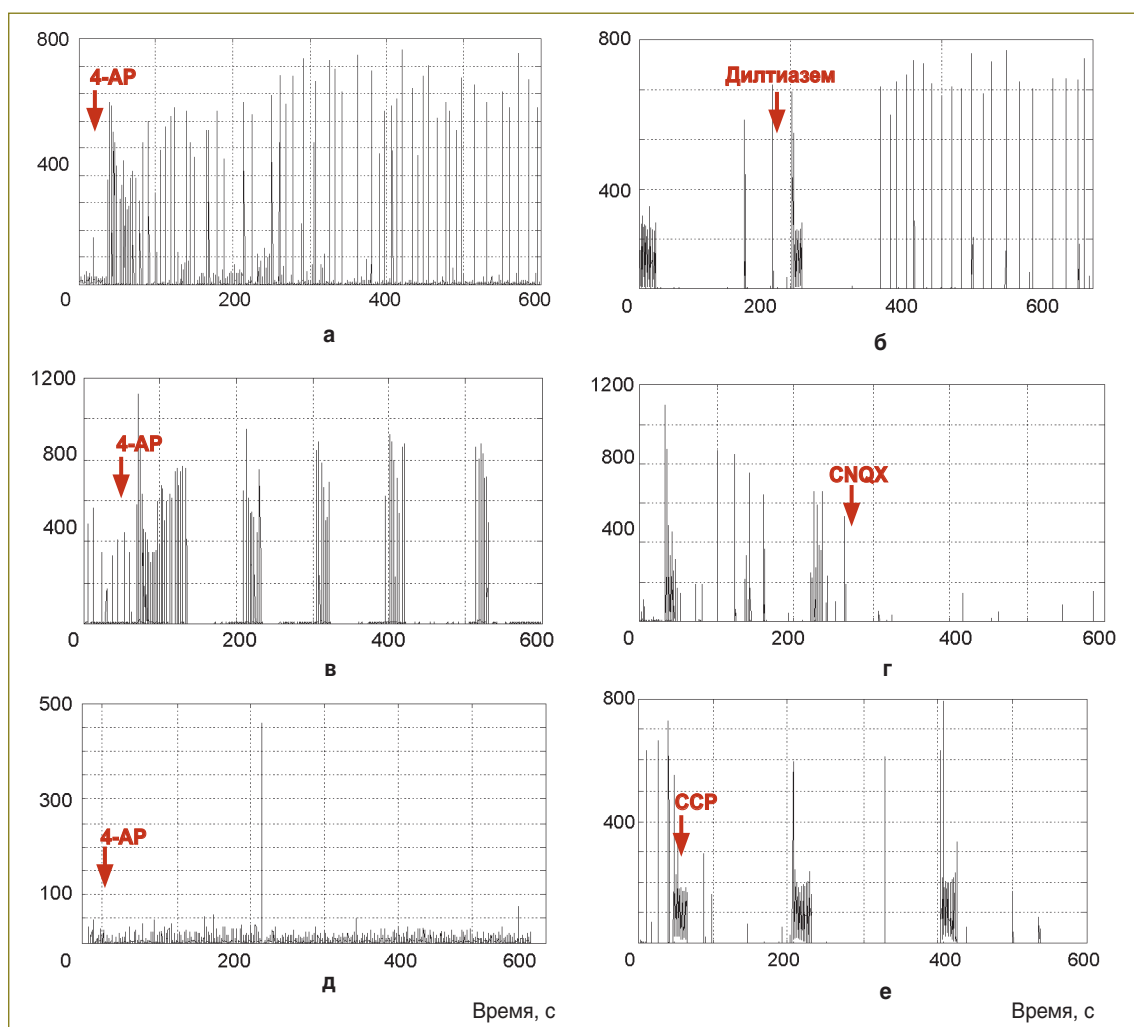
статистическая значимость различий с контролем по параметру «частота малых пачек»,  $p=0,461$ ), а также на фоне антагониста AMPA-рецепторов CNQX (рис. 4, в,  $n=3$ ;  $p=0,350$ ), но не возникала при блокаде NMDA-рецепторов конкурентным антагонистом CPP (рис. 4, д,  $n=3$ ;  $p=0,001$ ). В то же время спонтанная активность, индуцированная гиалуронидазой, не блокировалась конкурентным антагонистом NMDA-рецепторов CPP (рис. 4, е,  $n=3$ ;  $p=0,809$ ), но блокировалась антагонистом AMPA-рецепторов CNQX (рис. 4, г,  $n=3$ ;  $p=0,004$ ) и блокатором L-VGCC дилтиаземом (рис. 4, б,  $n=3$ ;  $p=0,011$ ).

Итак, добавление гиалуронидазы (75 Ед/мл) на 17-й день развития *in vitro* первичной культуры гиппокампа вызывало отсроченные изменения спонтанной биоэлектрической активности нейронных сетей с формированием суперпачки длительностью 25–35 с, которую можно охарактеризовать как эпилептоподобную активность. Возникновение суперпачек в культуре гиппокам-

па наблюдалось через 3–7 дней после введения гиалуронидазы.

Механизм формирования эпилептоподобной активности при добавлении гиалуронидазы отличался от механизма 4-AP-вызванной активности различным вкладом глутаматергических рецепторов. Эпилептоподобная активность, вызванная гиалуронидазой, не купировалась при блокаде NMDA-рецепторов, но зависела от активности AMPA-рецепторов. В противоположность этому для поддержания 4-AP-вызванной активности необходимо было наличие открытых NMDA-рецепторов, причем деполяризация, облегчающая и запускающая работу этих рецепторов, формировалась за счет снижения гиперполяризующего действия калиевых каналов при их блокаде 4-AP.

Кроме того, следует отметить, что отсроченная гиалуронидаза-индуцированная эпилептоподобная активность исчезала при блокаде кальциевых потенциалзависимых каналов дилтиаземом, подтверждая вывод о



**Рис. 4.** Частотно-временная диаграмма биоэлектрической активности диссоциированных культур гиппокампа (количество спайков за 50 мс): 4-аминопиридин-вызванная активность на фоне дилтиазема, 20 мкмоль (а); на фоне CNQX, 10 мкмоль (в) и на фоне CPP, 10 мкмоль (д); влияние на спонтанную гиалуронидаза-индуцированную активность дилтиазема, 20 мкмоль (б); на фоне CNQX, 10 мкмоль (г) и CPP, 10 мкмоль (е). В случаях а, в, д аппликацию дилтиазема, CNQX и CPP осуществляли за 10 мин до аппликации 4-AP; в случаях б, г, е антагонисты вводили на фоне спонтанной гиалуронидаза-индуцированной активности

значительном вкладе в поддержание эпилептоподобной активности после энзиматического расщепления гиалуроновой кислоты ионов кальция. Данные, полученные G. Kochlamazashvili с соавт. [4] при изучении роли гиалуроновой кислоты в формировании долговременной потенциации пирамидных нейронов CA1-поля гиппокампа, доказывали, что удаление гиалуроновой кислоты гиалуронидазой в течение часа приводило к снижению эффективности работы постсинаптических потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа (L-VGCC), нарушая формирование долговременной потенциации в пирамидальных клетках гиппокампа. При этом отмечалась специфическая чувствительность  $Ca_v1.2$ -содержащих каналов к модуляции гиалуроновой кислотой. В отличие от этих исследований в нашей работе оценивался долговременный эффект гиалуронидазы на сетевом уровне, где спонтанная активность поддерживалась за счет работы сети интернейронов, входящих в общую нейронную сеть при культивировании диссоциированных клеток гиппокампа. Недостаток активности  $Ca_v1.2$ -содержащих каналов вследствие дефицита гиалуроновой кислоты в течение некоторого времени (3–7 дней) после ее энзиматического разрушения мог привести к снижению вклада процессов торможения в нейрональной сети и, следовательно, к эпилептогенезу.

**Заключение.** На сетевом уровне *in vitro* показано, что разрушение внеклеточного матрикса путем деградации гиалуроновой кислоты как каркаса перинеурональных сетей внеклеточного матрикса приводит к модуляции биоэлектрической активности нейронных сетей мозга с формированием стойкой эпилептоподобной активности.

Гипотетическим механизмом возникновения судорожных разрядов в виде периодических сетевых суперпачек может служить изменение активности рецепторов альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты, поддерживающих деполяризацию мембраны при постоянном выделении нейротрансмиттера глутамата во время функционирования сети, а также отсроченные изменения в уровне экспрессии и работе потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа из-за недостатка гиалуроновой кислоты в перисинаптическом внеклеточном матриксе. Кроме того, в развитии эпилептоподобной активности играет роль изменение активности тормозных нейронов, запускаемое вследствие длительного дефицита гиалуроновой кислоты в перинеурональных сетях, ассоциированных с интернейронами и отвечающих за перисоматическое торможение.

Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе эпилептоподобных разрядов, на сетевом уровне, с использованием современных нейрофизиологических подходов, приведет к созданию селективных и индивидуально нацеленных противоэпилептических средств, а также к разработке новых антиэпилептогенных стратегий, направленных на предотвращение эпилептогенеза.

Работа поддержана грантом Правительства Российской Федерации №11.G34.31.0012.

## Литература

1. Dityatev A. Remodeling of extracellular matrix and epileptogenesis. *Epilepsia* 2010; 51: 61–65.
2. Galtrey C.M., Fawcett J.W. The role of chondroitin sulfate proteoglycans in regeneration and plasticity in the central nervous system. *Brain Res Rev* 2007; 54: 1–18.
3. Kwok J.C., Dick G., Wang D., Fawcett J.W. Extracellular matrix and perineuronal nets in CNS repair. *Dev Neurobiol* 2011; 71: 1073–1089.
4. Kochlamazashvili G., Henneberger C., Bukalo O., Dvoretzkova E., Senkov O., Lievens P.M.-J., Westenbroek R., Engel A.K., Catterall W.A., Rusakov D., Schachner M., Dityatev A. The extracellular matrix molecule hyaluronic acid regulates hippocampal synaptic plasticity by modulating postsynaptic L-type  $Ca^{2+}$  channels. *Neuron* 2010; 67: 116–128.
5. Frischknecht R., Heine M., Perrais D., Seidenbecher C.I., Choquet D., Gundelfinger E.D. Brain extracellular matrix affects AMPA receptor lateral mobility and short-term synaptic plasticity. *Nat Neurosci* 2009; 12: 897–904.
6. Kochlamazashvili G., Senkov O., Grebenyuk S., Robinson C., Xiao M.F., Stummeyer K., Gerardy-Schahn R., Engel A.K., Feig L., Semyanov A., Suppiramaniam V., Schachner M., Dityatev A. Neural cell adhesion molecule-associated polysialic acid regulates synaptic plasticity and learning by restraining the signaling through GluN2B-containing NMDA receptors. *J Neurosci* 2010; 30: 4171–4183.
7. Kalachikov S., Evgrafov O., Ross B., Winawe M., Barker-Cummings C., Martinelli Boneschi F., Choi C., Morozov P., Das K., Teplitskaya E., Yu A., Cayanis E., Penchaszadeh G., Kottmann A.H., Pedley T.A., Hauser W.A., Ottman R., Gilliam T.C. Mutations in LGI1 cause autosomal-dominant partial epilepsy with auditory features. *Nat Genet* 2002; 30: 335–341.
8. Powell E.M., Campbell D.B., Stanwood G.D., Davis C., Noebels J.L., Levitt P. Genetic disruption of cortical interneuron development causes region- and GABA cell type-specific deficits, epilepsy and behavioral dysfunction. *J Neurosci* 2003; 23: 622–631.
9. Isom L.L. Beta subunits: players in neuronal hyperexcitability? *Novartis Found Symp* 2002; 241: 124–138.
10. Ведунова М.В., Коротченко С.А., Балашова А.Н., Исакова А.О., Хаспеков Л.Г., Казанцев В.Б., Мухина И.В. Влияние кратковременной глюкозной депривации на функционирование нейронной сети гиппокампа на мультиэлектродной матрице. *Соврем технол мед* 2011; 2: 7–13.
11. Pimashkin A., Kastalskiy I., Simonov A., Koryagina A., Mukhina I., and Kazantsev V. Spiking signatures of spontaneous activity bursts in hippocampal cultures. *Front Comput Neurosci* 2011; 5: 46.
12. Giamanco K.A., Morawski M., Matthews R.T. Perineuronal net formation and structure in aggrecan knockout mice. *Neuroscience* 2010; 170(4): 1314–1327.
13. Frischknecht R., Seidenbecher C.I. The crosstalk of hyaluronan-based extracellular matrix and synapses. *Neuron Glia Biol* 2008; 4(3): 249–257.
14. Brückner G., Grosche J., Schmidt S., Härtig W., Margolis R.U., Delpech B., Seidenbecher C.I., Czaniara R., Schachner M. Postnatal development of perineuronal nets in wild-type mice and in a mutant deficient in tenascin-R. *J Comp Neurol* 2000; 428(4): 616–629.

## References

1. Dityatev A. Remodeling of extracellular matrix and epileptogenesis. *Epilepsia* 2010; 51: 61–65.
2. Galtrey C.M., Fawcett J.W. The role of chondroitin sulfate proteoglycans in regeneration and plasticity in the central nervous system. *Brain Res Rev* 2007; 54: 1–18.
3. Kwok J.C., Dick G., Wang D., Fawcett J.W. Extracellular matrix and perineuronal nets in CNS repair. *Dev Neurobiol* 2011; 71: 1073–1089.
4. Kochlamazashvili G., Henneberger C., Bukalo O., Dvoretzkova E., Senkov O., Lievens P.M.-J., Westenbroek R., Engel A.K., Catter-

- all W.A., Rusakov D., Schachner M., Dityatev A. The extracellular matrix molecule hyaluronic acid regulates hippocampal synaptic plasticity by modulating postsynaptic L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels. *Neuron* 2010; 67: 116–128.
5. Frischknecht R., Heine M., Perrais D., Seidenbecher C.I., Choquet D., Gundelfinger E.D. Brain extracellular matrix affects AMPA receptor lateral mobility and short-term synaptic plasticity. *Nat Neurosci* 2009; 12: 897–904.
  6. Kochlamazashvili G., Senkov O., Grebenyuk S., Robinson C., Xiao M.F., Stummeyer K., Gerardy-Schahn R., Engel A.K., Feig L., Semyanov A., Suppiramaniam V., Schachner M., Dityatev A. Neural cell adhesion molecule-associated polysialic acid regulates synaptic plasticity and learning by restraining the signaling through GluN2B-containing NMDA receptors. *J Neurosci* 2010; 30: 4171–4183.
  7. Kalachikov S., Evgrafov O., Ross B., Winawe M., Barker-Cummings C., Martinelli Boneschi F., Choi C., Morozov P., Das K., Teplitskaya E., Yu A., Cayanis E., Penchaszadeh G., Kottmann A.H., Pedley T.A., Hauser W.A., Ottman R., Gilliam T.C. Mutations in *LGI1* cause autosomal-dominant partial epilepsy with auditory features. *Nat Genet* 2002; 30: 335–341.
  8. Powell E.M., Campbell D.B., Stanwood G.D., Davis C., Nobiles J.L., Levitt P. Genetic disruption of cortical interneuron development causes region- and GABA cell type-specific deficits, epilepsy and behavioral dysfunction. *J Neurosci* 2003; 23: 622–631.
  9. Isom L.L. Beta subunits: players in neuronal hyperexcitability? *Novartis Found Symp* 2002; 241: 124–138.
  10. Vedunova M.V., Korotchenko S.A., Balashova A.N., Isakova A.O., Khaspekov L.G., Kazantsev V.B., Mukhina I.V. *Sovrem Technol Med* 2011; 2: 7–13.
  11. Pimashkin A., Kastalskiy I., Simonov A., Koryagina A., Mukhina I., Kazantsev V. Spiking signatures of spontaneous activity bursts in hippocampal cultures. *Front Comput Neurosci* 2011; 5: 46.
  12. Giamanco K.A., Morawski M., Matthews R.T. Perineuronal net formation and structure in aggrecan knockout mice. *Neuroscience* 2010; 170(4): 1314–1327.
  13. Frischknecht R., Seidenbecher C.I. The crosstalk of hyaluronan-based extracellular matrix and synapses. *Neuron Glia Biol* 2008; 4(3): 249–257.
  14. Bruckner G., Grosche J., Schmidt S., Hartig W., Margolis R.U., Delpech B., Seidenbecher C.I., Czaniera R., Schachner M. Postnatal development of perineuronal nets in wild-type mice and in a mutant deficient in tenascin-R. *J Comp Neurol* 2000; 428(4): 616–629.