



УДК 577.112:577.122.088

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ КОННЕКСИНОВ КЛЕТКАМИ НЕЙРОВАСКУЛЯРНОЙ ЕДИНИЦЫ В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Моргун А.В., Кувачева Н.В., Хилажева Е.Д., Таранушенко Т.Е., Салмина А.Б.

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск

### РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучить роль коннексина 43 (Cx43) в регуляции межклеточных взаимодействий в клетках нейроваскулярной единицы *in vitro* в физиологических условиях и при гипоксии.

Материал и методы. Исследование проводилось с использованием оригинальной клеточной модели *in vitro*, содержащей три вида клеток: нейроны, астроциты, эндотелиоциты, полученные из мозга крыс линии Wistar. Гипоксию создавали путем инкубирования клеток в присутствии йодацетата в течение 30 мин при температуре 37 °С в стандартных условиях.

Результаты. Установлено, что астроциты характеризуются высоким уровнем экспрессии Cx43 и низким уровнем НАД<sup>+</sup>-гликогидролазы (CD38), нейроны – высоким уровнем CD38 и низким уровнем экспрессии Cx43 в физиологических условиях. В условиях гипоксии многократно увеличивается экспрессия Cx43 и CD38 в астроцитах, регистрируется снижение уровня CD38 в нейронах, а в эндотелиоцитах уровень экспрессии указанных белков остается без изменений. При блокировании коннексинов происходит угнетение экспрессии CD38 клетками нейроваскулярной единицы как в физиологических условиях, так и при химической гипоксии.

Заключение. Коннексин-регулируемые механизмы межклеточных взаимодействий и секреторной активности астроцитов в составе нейроваскулярной единицы нарушаются при гипоксии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нейроваскулярная единица, гипоксия, коннексин 43, CD38.

### Введение

Капилляры головного мозга имеют ряд уникальных структурных и функциональных характеристик, которые отличают их от сосудов других органов и тканей. Эндотелий капилляров мозга находится в тесной анатомо-функциональной связи с нейронами, глиальными клетками и перicyтами. Такой взаимосвязанный анатомо-функциональный комплекс называют нейроваскулярной единицей (НВЕ) и рассматривают в контексте регуляции избирательной проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Согласованное взаимодействие клеток-компонентов НВЕ обеспечивает метаболическую оптимизацию функционирования отдельных групп клеток головного мозга. На уровне организма в целом это обеспечивает функционирование центральной нервной системы

(ЦНС) в условиях относительно ограниченного количества энергии и субстратов. Паракринная и аутокринная регуляция межклеточных взаимодействий в пределах ГЭБ осуществляется молекулами, которые секретируются клетками, формирующими НВЕ и ГЭБ, с помощью коннексинов (в частности, коннексина 43 (Cx43)). К таким молекулам можно отнести АТФ и НАД<sup>+</sup>, которые транспортируются коннексинами в пределах астроглиального синцития, высвобождаются во внеклеточное пространство и действуют на эндотелиоциты и нейроны за счет функциональной активности так называемых коннексиновых «полуканалов». По аналогии с глутаматом, который высвобождается из нейронов и захватывается астроцитами, играющим ключевую роль в процессах нейрон-астроглиального взаимодействия [1], «нейротрансмиттерная» функция НАД<sup>+</sup> может быть основана на активном высвобождении и захвате его клетками-компонентами ГЭБ. Молекулой, функционально сопряженной на клетках нейрональной и

✉ Салмина Алла Борисовна, тел. (391) 228-07-69; e-mail: allasalmina@mail.ru

глиальной природы с Сх43, является НАД<sup>+</sup>-гликогидролаза (CD38) [2].

Гипоксические повреждения ЦНС нарушают функциональную связь клеток НВЕ, что может приводить к неблагоприятным последствиям. Так, перинатальная гипоксия является главной причиной младенческой смертности и инвалидности. Новорожденные дети в структуре всей младенческой смертности составляют более 60%. Примерно 15% детей погибают вследствие патологии ЦНС. А заболевания нервной системы, приводящие к инвалидизации, в 70–80% случаев обусловлены перинатальными факторами [3, 4]. Основные изменения при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС происходят именно с клетками НВЕ.

Перинатальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС является серьезной медико-социальной проблемой. Исследования, проведенные зарубежными авторами, показывают большой разброс заболеваемости у доношенных новорожденных – от 1,8 до 25 на 1 тыс. детей [5]. Российские эпидемиологические исследования свидетельствуют, что данный диагноз устанавливается у 712 пациентов из 1 тыс. новорожденных [6].

Цель исследования – изучить роль Сх43 в регуляции межклеточных взаимодействий в клетках НВЕ *in vitro* в физиологических условиях и при гипоксии.

## Материал и методы

Исследование проводилось с использованием клеточной модели *in vitro*, содержащей три вида клеток: нейроны, астроциты, эндотелиоциты. Материалом для создания модели НВЕ служили прогениторные клетки головного мозга 14–16-дневных эмбрионов крыс линии Wistar, из которых культивировали нейросферы с последующей дифференцировкой в астроциты и нейроны. Эндотелиоциты выделялись из сосудов головного мозга крыс (самцов и самок) на 14-й день постнатального развития [7]. Для создания условий химической гипоксии клеточную модель НВЕ *in vitro* инкубировали с йодацетатом натрия (50 мкмоль – конечная концентрация в среде) в течение 30 мин при температуре 37 °С в стандартных условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора, после чего отмывали с последующей полной заменой культуральной среды и культивировали в стандартных условиях. В качестве контроля использовалась сокультура, культивируемая без йодацетата с полной заменой среды [8].

Были использованы четыре варианта культивирования в следующих группах:

– контроль (культивирование клеток в стандартных условиях);

– острая «химическая гипоксия», индуцированная йодацетатом натрия (50 мкмоль – конечная концентрация в среде, инкубация – 30 мин в стандартных условиях) *in vitro*;

– клеточная культура с добавлением карбеноксолона (50 мкмоль – конечная концентрация в среде, инкубация – 50 мин в стандартных условиях);

– клеточная культура, на которой моделировали острую гипоксию в присутствии карбеноксолона.

Для идентификации типа Сх43- и CD38-позитивных клеток НВЕ определяли следующие молекулы-маркеры: нейронспецифическую енолазу (NSE) – маркер нейронов, глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP) – маркер астроцитов, молекулу клеточной адгезии CD31 – маркер эндотелиоцитов. Экспрессию Сх43, CD38 и молекул-маркеров клеток NSE, GFAP и CD31 оценивали с использованием двойного непрямого метода иммуноферментного окрашивания, согласно протоколу производителя, с использованием следующих антител: первичные антитела к CD38 в рабочем разведении 1 : 200 (производитель Santa-Cruz (США), № в каталоге – sc-7049), анти-Connexin-43 в рабочем разведении 1 : 100 (производитель Abcam (США), № в каталоге – ab79010), анти-GFAP антитела в рабочем разведении 1 : 100 (производитель Sigma (США), № в каталоге – G4546-100UG), анти-NSE антитела в рабочем разведении 1 : 200 (производитель Abcam (США), № в каталоге – ab79757), анти-CD31 антитела в рабочем разведении 1 : 200 (производитель Abcam, № в каталоге – ab33858); в качестве вторичных антител использовались моноклональные антитела, меченые TRITC (производитель Beckman coulter, № в каталоге – 732732), Alexa Fluor 488 (производитель Life technologies (США), № в каталоге – A21441), Alexa Fluor 350 (производитель Life technologies, № в каталоге – A21081), Cy 5.5 в разведении 1 : 400 (производитель Abcam, № в каталоге – ab6947).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием методов непараметрической статистики. Для выявления различий между группами по количественным показателям применяли критерий Манна–Уитни. Описание количественных признаков представлено в виде  $Me (Q_1-Q_3)$ , где  $Me$  – медиана,  $(Q_1-Q_3)$  – интерквартильный разброс.

## Результаты

Для определения роли коннексинов в патогенезе гипоксического поражения проведена оценка соэкспрессии CD38 и Сх43 в клетках НВЕ (табл. 1). В клеточной модели НВЕ *in vitro* выявлены следующие особенности экспрессии Сх43: отмечается высокая экспрессия Сх43 на астроцитах и эндотелиоцитах в

контрольной сокультуре (24% (18–28%) и 26% (19–32%) соответственно). В условиях химической гипоксии в нейронах наблюдается статистически значимое ( $p < 0,01$ )

снижение экспрессии CD38 (в 14 раз); в астроцитах – значительное увеличение экспрессии CD38 (в 16 раз), Sx43 – 2,8 раза

Таблица 1

Молекулы-транспортёры и регуляторы метаболического сопряжения клеток НВЕ в норме и при гипоксии <i>in vitro</i> , %						
Маркер	Нейроны (NSE-экспрессирующие клетки)		Астроциты (GFAP-экспрессирующие клетки)		Эндотелиоциты (CD31-экспрессирующие клетки)	
	Контроль	Гипоксия	Контроль	Гипоксия	Контроль	Гипоксия
CD38	5,6 (4,0–6,9)	0,4 (0,1–0,5)*	2,0 (1,8–2,1)	32,0 (28,0–36,0)*	23,0 (21,0–25,0)	21,0 (20,0–24,0)
Sx43	4,2 (3,6–5,2)	3,4 (3,1–4,1)	24,0 (18,0–28,0)	67,0 (50,0–74,0)*	26,0 (19,0–32,0)	20,0 (14,0–28,0)

Примечание. Здесь и в табл. 2: \*  $p < 0,05$  – уровень значимости различий между средними соответствующих групп по сравнению с группой контроль(+), критерий Манна–Уитни.

Таблица 2

Молекулы-транспортёры и регуляторы метаболического сопряжения в НВЕ в норме и при гипоксии <i>in vitro</i> при подавлении проницаемости коннексина 43, %						
Маркер	Нейроны (NSE-экспрессирующие клетки)		Астроциты (GFAP-экспрессирующие клетки)		Эндотелиоциты (CD31-экспрессирующие клетки)	
	Контроль + карбено-ксолон	Гипоксия + карбено-ксолон	Контроль + карбено-ксолон	Гипоксия + карбено-ксолон	Контроль + карбено-ксолон	Гипоксия + карбено-ксолон
CD38	3,2 (2,5–4,5)	0,4 (0,3–0,5)*	1,3 (1,1–1,7)	2,0 (1,8–2,2)	20,0 (14,0–24,0)	20,0 (16,0–23,0)
Sx43	1,4 (1,1–1,8)	0,7 (0,6–0,9)*	3,7 (3,4–4)	1,2 (1,0–1,4)*	11,0 (6,0–16,0)	2,1 (1,7–2,6)*

в клетках эндотелия никаких динамических изменений не обнаружено.

Следующий этап исследования проводился в физиологических и патологических условиях в присутствии блокатора активности коннексиновых каналов – карбеноксолона (табл. 2). В стандартных условиях культивирования в присутствии карбеноксолона в клеточной модели НВЕ *in vitro* одновременно с уменьшением экспрессии Sx43 происходит статистически значимое снижение экспрессии CD38 на нейронах, астроцитах и эндотелиальных клетках ( $p < 0,05$ ). В условиях гипоксии под действием блокатора Sx43 регистрируется более выраженное угнетение экспрессии Sx43: на нейронах в 2 раза, астроцитах – в 3 раза и эндотелиоцитах – в 5 раз. Также зафиксированы низкие значения экспрессии CD38 клетками НВЕ.

Таким образом, можно обозначить следующие ключевые события, характерные для клеток нейрональной, астроглиальной и эндотелиальной природы, входящих в состав НВЕ *in vitro*: 1) астроциты НВЕ характеризуются высоким уровнем экспрессии Sx43 на фоне низкого уровня экспрессии НАД<sup>+</sup>-гликогидролазы; 2) пребывание в условиях гипоксии индуцирует в астроцитах НВЕ значительное увеличение экспрессии Sx43, CD38; 3) нейроны, входящие в состав клеточной модели НВЕ *in vitro*, демонстрируют высокий уровень экспрессии CD38, но низкий уровень экспрессии Sx43; 4) пребывание в условиях гипоксии индуцирует в нейронах НВЕ значительное уменьшение экспрессии CD38; 5) эндотелиоциты НВЕ характеризуются стабильным уровнем экспрессии Sx43, который практически не ме-

няется при действии гипоксии *in vitro*; 6) подавление активности Sx43 карбеноксолоном вызывает снижение экспрессии CD38, Sx43 в астроцитах и нейронах НВЕ.

### Обсуждение

Анализируя полученные в ходе исследования данные с точки зрения основных событий в межклеточных взаимодействиях, актуальных для ГЭБ, мы можем предположить участие следующих механизмов в регуляции ответа клеток ГЭБ на гипоксическое повреждение: гипоксия, являющаяся триггером активации астроцитов за счет высвобождения глутамата из нейронов, приводит к многократному увеличению экспрессии Sx43 и функционально сопряженной молекулы CD38 на поверхности астроцитов, что обеспечивает быстрый транспорт НАД<sup>+</sup> во внеклеточное пространство коннексинами, где он является субстратным лигандом для CD38. Метаболическая конверсия НАД<sup>+</sup> за счет активности НАД<sup>+</sup>-гликогидролазы приводит к истощению уровня этого кофермента в клетках и тормозит процессы гликолиза, актуального для обеспечения энергетических запросов астроцитов. Снижение уровня НАД<sup>+</sup> в астроцитах также может быть ответственно за снижение ферментативной конверсии глутамата в альфа-кетоглутарат, что одновременно является следствием подавления захвата глутамата астроцитами, что усугубляет нарушения глутамат-глутаминового обмена между нейронами и астроцитами, которому принадлежит особая роль в регуляции метаболического статуса этих клеток [9]. В таком случае, наблюдаемое при гипоксии

подавление экспрессии CD38 в нейронах на фоне неизменной экспрессии Сх43 в этих клетках отражает, вероятнее всего, снижение уровня НАД<sup>+</sup> во внеклеточном пространстве вследствие усиленной экспрессии CD38 рядом расположенными астроцитами. Так как в физиологических условиях транспорт глутамата из нейронов в астроциты сопряжен с увеличением в астроцитах концентрации НАДН и активацией гликолиза за счет увеличения активности глутаматдегидрогеназы, конвертирующей НАД<sup>+</sup>-зависимым способом глутамат в альфа-кетоглутарат [10], нарушение этого механизма при гипоксии дополнительно подавляет гликолитическую продукцию АТФ в астроцитах. Не исключена и роль других глиотрансмиттеров, чья регуляция секреции из клеток астроглии регулируется коннексинами, например серина и АТФ [11], однако это требует дополнительной экспериментальной проверки.

### Заключение

Коннексин-регулируемые механизмы межклеточных взаимодействий и секреторной активности астроцитов в составе НВЕ нарушаются при гипоксии. При действии карбенкосолона в условиях химической гипоксии происходит разобщение Сх43 и CD38, что может приобретать не протективный, а дополнительный повреждающий эффект. Патологическое действие указанных изменений может заключаться в снижении энергетического сопряжения между астроцитами и нейронами, что найдет свое отражение в нарушении функциональной целостности НВЕ.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ/ККФПННТД (конкурс региональных проектов «Сибирь», № 13-04-98091).*

### Литература

1. Stobart J.L., Anderson C.M. Multifunctional role of astrocytes as gatekeepers of neuronal energy supply //

- Front. Cell. Neurosci. 2013. V. 7, № 38. doi: 10.3389/fncel.2013.00038. eCollection 2013.
2. Bruzzone S., Franco L., Guida L., Zocchi E., Contini P., Bisso A., Usai C., De Flora A. A self-restricted CD38-connexin 43 cross-talk affects NAD<sup>+</sup> and cyclic ADP-ribose metabolism and regulates intracellular calcium in 3T3 fibroblasts // J. Biol. Chem. 2001. V. 276, № 51. P. 48300–48308.
3. Власюк В.В. Родовая травма и перинатальные нарушения мозгового кровообращения. СПб.: Нестор-История, 2009. 252 с.
4. Daripa M., Caldas H.M., Flores L.P., Waldvogel B.C., Guinsburg R., de Almeida M.F. Perinatal asphyxia associated with early neonatal mortality: populational study of avoidable deaths // Rev. Paul. Pediatr. 2013. V. 31, № 1. P. 37–45.
5. Baburamani A.A., Ek C.J., Walker D.W., Castillo-Melendez M. Vulnerability of the developing brain to hypoxic-ischemic damage: contribution of the cerebral vasculature to injury and repair? // Front. Physiol. 2012. V. 3, № 424. P. 1–21.
6. Практическое руководство по неонатологии / под ред. Г.В. Яцык. М.: МИА. 2008. 344 с.
7. Моргун А.В., Кувачева Н.В., Комлева Ю.К., Салмина А.Б., Кутищева И.А., Окунева О.С., Дробушевская А.И., Хилажева Е.Д. Дифференцировка эмбриональных прогениторных клеток мозга крыс в астроциты и нейроны // Сибирское медицинское обозрение. 2013. Т. 6, № 84. С. 9–13.
8. Gutmann B., Hutter-Paier B., Skofitsch G., Windisch M., Gmeinbauer R. In vitro models of brain ischemia: the peptidergic drug cerebrolysin protects cultured chick cortical neurons from cell death // Neurotox. Res. 2002. V. 4, № 1. P. 59–65.
9. Kanamori K., Ross B.D. Kinetics of glial glutamine efflux and the mechanism of neuronal uptake studied in vivo in mildly hyperammonemic rat brain // J. Neurochem. 2006. V. 99, № 4. P. 1103–1113.
10. Tsacopoulos M. Metabolic signaling between neurons and glial cells: a short review // J. Physiol. Paris. 2002. V. 96, № 3–4. P. 283–288.
11. Stehberg J., Moraga-Amaro R., Salazar C., Becerra A., Echeverría C., Orellana J.A., Bultynck G., Ponsaerts R., Leybaert L., Simon F., Sáez J.C., Retamal M.A. Release of gliotransmitters through astroglial connexin 43 hemichannels is necessary for fear memory consolidation in the basolateral amygdala // FASEB J. 2012. V. 26, № 9. P. 3649–3457.

Поступила в редакцию 11.02.2014 г.

Утверждена к печати 12.11.2014 г.

**Моргун Андрей Васильевич** – канд. мед. наук, ассистент кафедры педиатрии ИПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

**Кувачева Наталья Валерьевна** – канд. фарм. наук, доцент кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

**Хилажева Елена Дмитриевна** – науч. сотрудник НИИ молекулярной медицины и патобиологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

**Таранушенко Татьяна Евгеньевна** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой педиатрии ИПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

**Салмина Алла Борисовна** (✉) – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

✉ Салмина Алла Борисовна, тел. (391) 228-07-69; e-mail: allasalmina@mail.ru

## THE FEATURES OF CONNEXINS EXPRESSION IN THE CELLS OF NEUROVASCULAR UNIT IN NORMAL CONDITIONS AND HYPOXIA *IN VITRO*

Morgun A.V., Kuvacheva N.V., Khilazheva Ye.D., Taranushenko T.Ye., Salmina A.B.

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation

### ABSTRACT

The aim of this research was to assess a role of connexin 43 (Cx43) and associated molecule CD38 in the regulation of cell-cell interactions in the neurovascular unit (NVU) *in vitro* in physiological conditions and in hypoxia.

**Materials and methods.** The study was done using the original neurovascular unit model *in vitro*. The NVU consisted of three cell types: neurons, astrocytes, and cerebral endothelial cells derived from rats. Hypoxia was induced by incubating cells with sodium iodoacetate for 30 min at 37 °C in standard culture conditions.

**Results.** We investigated the role of connexin 43 in the regulation of cell interactions within the NVU in normal and hypoxic injury *in vitro*. We found that astrocytes were characterized by high levels of expression of Cx43 and low level of CD38 expression, neurons demonstrated high levels of CD38 and low levels of Cx43. In hypoxic conditions, the expression of Cx43 and CD38 in astrocytes markedly increased while CD38 expression in neurons decreased, however no changes were found in endothelial cells. Suppression of Cx43 activity resulted in down-regulation of CD38 in NVU cells, both in physiological conditions and at chemical hypoxia.

**Conclusion.** Thus, the Cx-regulated intercellular NAD<sup>+</sup>-dependent communication and secretory phenotype of astroglial cells that are the part of the blood-brain barrier is markedly changed in hypoxia.

**KEY WORDS:** neurovascular unit, hypoxia, connexin 43, CD38.

*Bulletin of Siberian Medicine*, 2014, vol. 13, no. 6, pp. 5–9

### References

1. Stobart J.L., Anderson C.M. Multifunctional role of astrocytes as gatekeepers of neuronal energy supply. *Front. Cell. Neurosci.*, 2013, vol. 7, no. 38. doi: 10.3389/fncel.2013.00038. eCollection 2013.
2. Bruzzone S., Franco L., Guida L., Zocchi E., Contini P., Bisso A., Usai C., De Flora A. A self-restricted CD38-connexin 43 cross-talk affects NAD<sup>+</sup> and cyclic ADP-ribose metabolism and regulates intracellular calcium in 3T3 fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 2001, vol. 276, no. 51, pp. 48300–48308.
3. Vlasyuk V.V. *Birth trauma and perinatal disorders of cerebral circulation*. St. Petersburg. Nestor-Istorija Publ., 2009. 252 p. (in Russian).
4. Daripa M., Caldas H.M., Flores L.P., Waldvogel B.C., Guinsburg R., de Almeida M.F. Perinatal asphyxia associated with early neonatal mortality: populational study of avoidable deaths. *Rev. Paul. Pediatr.*, 2013, vol. 31, no. 1, pp. 37–45.
5. Baburamani A.A., Ek C.J., Walker D.W., Castillo-Melendez M. Vulnerability of the developing brain to hypoxic-ischemic damage: contribution of the cerebral vasculature to injury and repair? *Front. Physiol.*, 2012, vol. 3, no. 424, pp. 1–21.
6. Practical Guide to neonatology. G.V. Jacyk (ed.). Moscow, MIA Publ., 2008. 344 p. (in Russian).
7. Morgun A.V., Kuvacheva N.V., Komleva Yu.K., Salmina A.B., Kutischeva I.A., Okuneva O.S., Drobushchevskaya A.I., Khilazheva Ye.D. Differencirovka embrional'nyh progenitornyh kletok mozga krysa v astrocity i nejrony. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie – Siberian Medical Review*, 2013, vol. 6, no. 84, pp. 9–13 (in Russian).
8. Gutmann B., Hutter-Paier B., Skofitsch G., Windisch M., Gmeinbauer R. *In vitro* models of brain ischemia: the peptidergic drug cerebrolysin protects cultured chick cortical neurons from cell death. *Neurotox. Res.*, 2002, vol. 4, no. 1, pp. 59–65.
9. Kanamori K., Ross B.D. Kinetics of glial glutamine efflux and the mechanism of neuronal uptake studied *in vivo* in mildly hyperammonemic rat brain. *J. Neurochem.*, 2006, vol. 99, no. 4, pp. 1103–1113.
10. Tsacopoulos M. Metabolic signaling between neurons and glial cells: a short review. *J. Physiol. Paris.*, 2002, vol. 96, no. 3–4, pp. 283–288.
11. Stehberg J., Moraga-Amaro R., Salazar C., Becerra A., Echeverría C., Orellana J.A., Bultynck G., Ponsaerts R., Leybaert L., Simon F., Sáez J.C., Retamal M.A. Release of gliotransmitters through astroglial connexin 43 hemichannels is necessary for fear memory consolidation in the basolateral amygdala. *FASEB J.*, 2012, vol. 26, no. 9, pp. 3649–3457.

Morgun Andrei V., Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Kuvacheva Natalia V., Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Khilazheva Yelena D., Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

**Taranushenko T Tatiana Ye.**, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

**Salmina Alla B.** (✉), Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

✉ **Salmina Alla B.**, Ph. (391) 228-07-69; e-mail: allasalmina@mail.ru