
ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

К ВОПРОСУ О ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ МИКРОГЛИИ И АСТРОГЛИИ

© 2024 г. М. М. Котова¹, К. В. Апухтин¹, В. С. Никитин², А. В. Калуев^{1, 3, 4, *}

¹Направление «Нейробиология», Научный центр генетики и наук о жизни,
Научно-технологический университет «Сирiuс», Сочи, Россия

²Направление «Иммунология и биомедицина», Научный центр генетики и наук о жизни,
Научно-технологический университет «Сирiuс», Сочи, Россия

³Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный
университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴Институт экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский
центр им. В.А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию 30.07.2024 г.

После доработки 03.10.2024 г.

Принята к публикации 04.10.2024 г.

Нейроглия является важным компонентом нервной системы и, помимо участия в поддержании гомеостаза нейронов, вовлечена в патогенез многих заболеваний мозга. Недавние данные о гораздо большей (чем считалось ранее) гетерогенности клеток глии поднимают вопрос о пересмотре традиционных классификаций микро- и астроглии с учетом ее многообразной роли в мозге. В работе рассматриваются межтаксонные особенности клеток микроглии и астроцитов человека, грызунов и рыб, которые могут обеспечить более полное понимание роли и гетерогенности нейроглии в мозге. Такие подходы позволят составить реалистичную картину об участии глиальных клеток в нормальных и патологических процессах нервной системы, что в свою очередь может способствовать выявлению новых терапевтических мишеней.

Ключевые слова: микроглия, астроглия, клеточные популяции, грызуны, рыбы

DOI: 10.31857/S0869813924110025, **EDN:** VGMIWV

ВВЕДЕНИЕ

Нейроглия является важной составляющей нервной системы и представляет собой гетерогенную группу клеток, которая включает астроциты, микроглиальные клетки, олигодендроциты, эпендимоциты и их предшественники [1]. Долгое время основной функцией нейроглии считалось обеспечение жизнедеятельности, питания и “тропной” поддержки нейронов. Однако в последнее время понимание биологической роли нейроглии существенно расширяется [2, 3], включая модуляцию активности нейронов [4], нейротрансмиссии [5, 6], про- и противовоспалительных процессов в мозге [7].

Микроглиальные клетки представлены популяцией резидентных макрофагов мозга, выполняющих как иммунную функцию, так и модулирующих синаптиче-

скую пластичность, активность нейронов [8–12] и патогенез ряда заболеваний ЦНС. В частности, микроглия экспрессирует многие гены, ассоциированные с болезнями Альцгеймера и Паркинсона, синдромом Ретта, шизофренией, аутизмом и рассеянным склерозом [13–17, 18]. Характерной особенностью микроглии является ее выраженная трансформация в ответ на патологию ЦНС, когда при повреждении мозга клетки микроглии принимают амебоидную форму, мигрируют к месту поражения и фагоцитируют патогены [19, 20]. До появления иммунологических и молекулярных методов исследования морфологическая трансформация микроглии считалась первичным признаком ее активации при патологии ЦНС [21, 22], переходя от противовоспалительного M2-фенотипа к провоспалительному цитотоксическому M1-фенотипу [23]. Однако в настоящее время показано, что микроглия активна и в здоровом мозге, а ее морфофизиологические особенности скорее всего отражают изменение функций, что требует пересмотра и создания новых классификаций микроглии [24].

Вопрос о классификации астроцитов также актуален, поскольку реактивная микроглия провоцирует «активацию» провоспалительных A1-астроцитов [25] на фоне снижения протекторных (по аналогии с M2-микроглией) A2-астроцитов [26]. Отдельно существует проблема гомологии подтипов микро- и астроглии между разными биологическими таксонами, требуя понимания морфофункциональных особенностей данных клеток у различных позвоночных организмов. В работе рассматривается современное состояние исследований микро- и астроглии млекопитающих (грызунов) и рыб зебрданнио (*zebrafish*, *Danio rerio*), которые могут лечь в основу более полной систематики нейроглии. Это позволит составить реалистичную картину роли глиальных клеток в норме и при патологиях ЦНС, что в свою очередь может способствовать выявлению новых терапевтических мишеней.

ОНТОГЕНЕЗ НЕЙРОГЛИИ

Микроглия как резидентные мозговые макрофаги [27] у мышей возникает тремя путями [28] (см. рис. 1). Источником микроглии в эмбриональном периоде являются миелоидные предшественники (eEMP) с фенотипом $c\text{-Kit}^{\text{lo}}\text{CD41}^{\text{lo}}$ – низкой экспрессией тирозинкиназы $c\text{-Kit}$ и интегрина альфаIIb (CD41). У мышей такой фенотип клеток возникает примерно на 8-й эмбриональный день в желточном мешке, т.е. до закладки других типов глиальных клеток [29]. Далее из этих клеток возникают премакрофаги (pMF), которые проникают в развивающийся мозг через сосудистую сеть [30]. Эмбриональное происхождение eEMP также имеют и остальные макрофаги взрослой ЦНС, защищенной гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ), тогда как большинство макрофагов вне ЦНС заменяется первой гемопоэтической волной из тулб-зависимых эритроидных миелоидных предшественников (EMPs) [31].

Окончательный гемопоэз начинается у мышей с генерации гемопоэтических стволовых клеток (HSC) на 11-й день, которые (как и EMPs) сначала локализуются в печени плода, а затем в костном мозге [32]. Микроглия, происходящая из EMPs, сохраняется на протяжении всей взрослой жизни [32], однако некоторые ее субпопуляции могут возникать на 13-й эмбриональный день в результате второй волны кроветворения [33]. Интересно, что приобретение идентичности микроглии *in situ* происходит в результате воздействия местных тканеспецифичных факторов [34], включая трансформирующий фактор роста TGF- β [35], тогда как характерные признаки микроглии (экспрессия маркерных генов и эпигенетические метки) быстро теряются при культивировании клеток *ex vivo* [36, 37]. Изучение происхождения микроглии у рыб зебрданнио показало вклад трех потенциальных предшественников микроглии (eEMP, EMP и HSC), пространственное и временное распределение которых легче определить, чем у мышей, благодаря прозрачности тканей эмбрионов рыб [38]. Микроглия у эмбрионов зебрданнио происходит из $c\text{-myb}$ -независимых eEMP, однако после рождения замещается

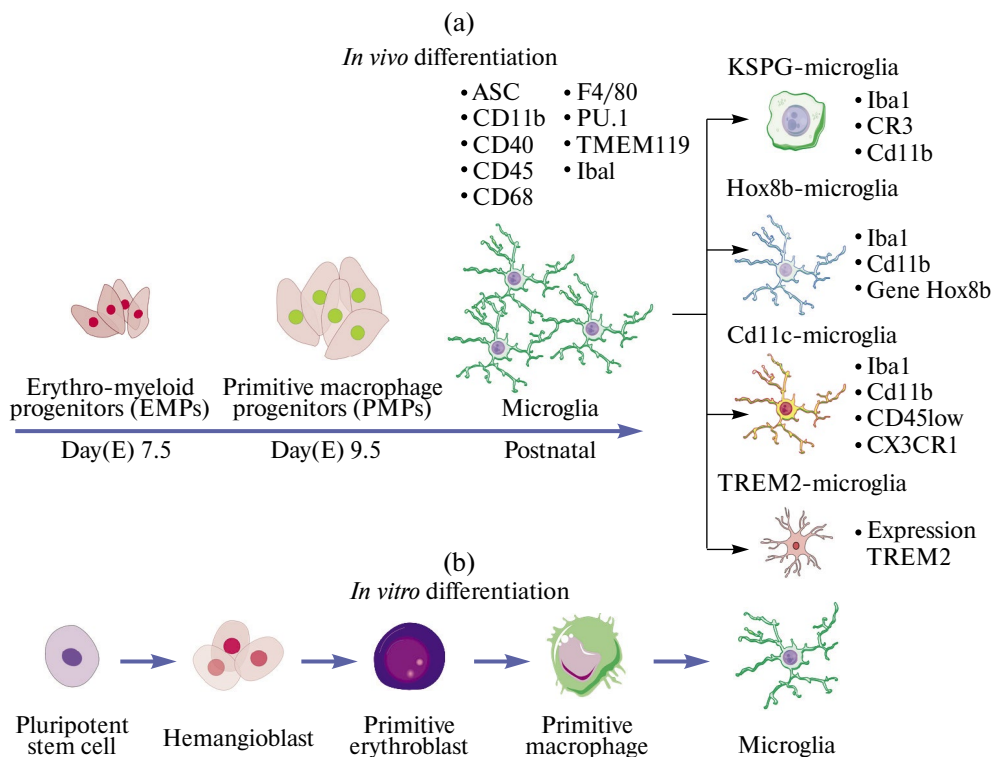


Рис. 1. Предполагаемый онтогенез микроглиальных клеток у грызунов (а) и в моделях *in vitro* (б). Предшественниками микроглии являются миелоидные предшественники (еEMP), возникающие на 8-й эмбриональный день в желточном мешке, из которых происходит генерация премакрофагов (рMF), проникающие в закладку мозга через сосудистую сеть и в дальнейшем дифференцирующиеся в разные подтипы микроглиальных клеток. Указаны подтипы микроглии, выделенные на основе дифференциальной экспрессии маркеров (см. табл. 1): Iba1 – ионизированная кальций-связывающая адаптерная молекула 1, CR3 – фагоцитарный рецептор системы комплемента, CD11b – интегрин альфа-M, Hox8b-гомеобоксный белок, CD45 – тирозинфосфатаза С рецепторного типа, CX3CR1 – хемокиновый рецептор 1 с мотивом CX3C (рецептор фракталкина), TREM2 – триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках 2. При дифференциации микроглии *in vitro* (б) используются протоколы, начинающиеся с плюрипотентных стволовых клеток (iPSCs), путем их перепрограммирования с помощью сверхэкспрессии ряда транскрипционных факторов с последующей дифференциацией в гемангиобласты, примитивные эритробласты и примитивные макрофаги. Современные протоколы дифференциации iPSCs позволяют преобразовать их в нейроны, астроциты и олигодендроциты.

с-myb-зависимыми клетками, происходящими из HSC [38]. И хотя еще предстоит показать, различаются ли функционально популяции микроглии рыб из eEMP и HSC, онтогенез макрофагов мозга может быть не только более сложным, чем считалось ранее, но и существенно отличаться у разных таксонов.

Предшественниками астроцитов в нервной системе млекопитающих считаются клетки радиальной глии (рис. 2), развивающиеся из нейроэпителия и являющиеся первичными стволовыми клетками-предшественниками нейронов [39]. Они располагаются в вентрикулярной зоне головного мозга и под воздействием региональных сигналов, например, дорсального костного морфогенетического белка (BMP) и вентрального белка Shh (Sonic hedgehog), дифференцируются в разные подтипы предшественников,

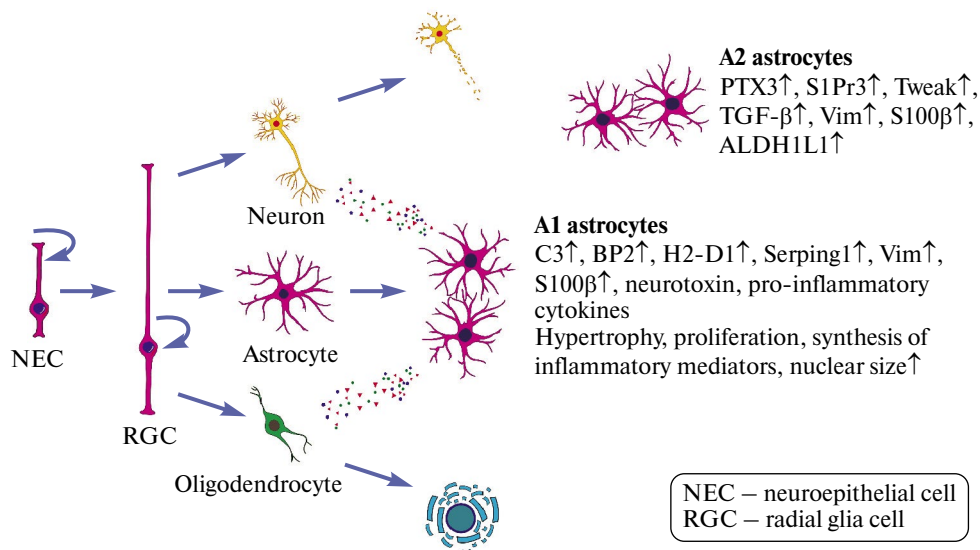


Рис. 2. Предполагаемый онтогенез астроцитов млекопитающих. Предшественниками астроцитов в нервной системе млекопитающих являются клетки радиальной глии (RGC), развивающиеся из клеток нейроэпителия (NEC). Указаны популяции по бинарной A1/A2 классификации астроцитов с уникальными для подтипов маркерами: C3 – белок системы комплемента, BP2 – белок связывания инсулин-подобного фактора роста 2, Serping1 – белок семейства серпинов G, Vim – структурный белок виментин, S100 β – кальций-связывающий белок В семейства S100, PTX3 – белок семейства пентраксинов, S1Pr3 – рецептор 3 сфингозин-1-фосфата, Tweak – ассоциированный с клеточной поверхностью трансмембранный белок II типа, TGF- β – трансформирующий фактор роста- β , ALDH1L1 – 10-формилтетрагидрофолат дегидрогеназа.

способных генерировать нейроны, астроциты, олигодендроциты и эпендимоциты [40, 41]. Данное региональное разнообразие клеток-предшественников лежит в основе не только гетерогенности нейронов, но и обеспечивает развитие глиальных подтипов на более поздних стадиях онтогенеза [42].

МИКРОГЛИЯ

Традиционная классификация

Активация микроглиальных клеток может быть запущена экзогенными сигналами, например, патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (pathogen-associated molecular patterns, PAMP: структурами инфекционного происхождения, бактериальными липополисахаридами, патогенным генетическим материалом и вирусами [43]) либо эндогенными сигналами, например, молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждениями клетки (damage-associated molecular patterns, DAMPs: нуклеотидами, белковыми агрегатами, в т.ч. β -амилоидными бляшками A β) и цитокинами, секретируемыми клетками микро- и астроглии [44, 45].

M1-поляризация макрофагов активируется сигнальным каскадом с участием STAT1, который является фактором транскрипции [46] и активирует транскрипционный фактор и интерферон-регулирующий фактор 5 (IRF5), стимулируя выработку провоспалительных цитокинов интерлейкинов (IL) IL-6, IL-1 β , IL-12, IL-23 и фактора некроза опухоли (TNF), а также хемокинов CCL5, CCL20, CXCL1, CXCL9, CXCL10, рекрутирующих клетки иммунной системы [23]. Такая активированная M1-микроглия

характеризуется экспрессией NADPH-оксидазы, генерирующей супероксид-радикал и активные формы кислорода (АФК), индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и матриксной металлопротеиназой 12 (MMP-12) [47, 48], а также белков CD16 и CD32 (мембранных рецепторов IgG), CD40 и CD86 (антигенов активации Т-лимфоцитов) [49, 50], белков главного комплекса гистосовместимости МНС II, мобилизирующего иммунные клетки для воспалительного ответа [50] (см. рис. 1).

В свою очередь, IL-4, IL-13 и IL-10, а также транскрипционный фактор PPAR γ , активируют противовоспалительный M2-фенотип, способствуя восстановлению гомеостаза нервной системы [51]. M2-микроглия секретирует противовоспалительные цитокины (IL-10, IL-4 и TGF β), хемокины (CCL2, CCL22, CCL17, CCL24), факторы роста (инсулиноподобный фактор роста I, фактор роста фибробластов FGF, колоние-стимулирующий фактор 1 CSF-1), нейротрофические факторы (фактор роста нервов NGF, нейротрофический фактор мозга BDNF, нейротрофины 4/5, нейротрофический фактор глиальных клеток GDNF) и програнулин [50, 52]. M2-клетки характеризуются поверхностными маркерами, в частности CD206 (маннозный рецептор, который распознает остатки гликановых цепочек белков на поверхности микроорганизмов) [53] и CD163 (скавенджер-рецептор, участвующий в очищении организма от комплексов гемоглобин-гаптоглобин и таким образом снижающий окислительный стресс) [54]. Важными биомаркерами являются экспрессия M2-клетками аргиназы-1 (ARG1), расщепляющей аргинин на мочевины и орнитин (для образования пролина и полиамидов, необходимых для восстановления тканей) [55, 56], а также соотношение в клетках микроглии секретируемых интерлейкинов и поверхностных рецепторов (например, IL-12^{high}/IL-10^{low} [57] и CD14^{high}/CD16 – характеризует M1, а CD14^{low}/CD16⁺ M2-фенотип микроглии) [58]. Определение промежуточных фенотипов между M1 и M2 осуществляется путем анализа маркеров, относимых одновременно к двум фенотипам (например, CD86⁺/CD206⁺). Наличие M1-маркеров МНС II и CD86 на фоне высокого уровня IL-10 и низкого уровня IL-12, а также отсутствия FIZZ1 и Ym1 (что характерно для M2) может свидетельствовать о промежуточном микроглиальном фенотипе [23].

Однако разделение микроглии на два полярных фенотипа в настоящее время активно пересматривается, поскольку микроглиальные клетки выполняют различные функции в ЦНС, неодинаково реагируют на триггеры и характеризуются разными молекулярными маркерами [24]. Другим аргументом в пользу пересмотра бинарной классификации микроглии является ее региональная гетерогенность. Например, в зависимости от структуры мозга различаются скорость самообновления микроглии как в нормальных условиях, так и при действии внешних стимулов [59, 60], а также дифференциальная экспрессия генов [61], часто оцениваемая для определения субпопуляций клеток других тканей, но лишь недавно примененная к микроглии (см. табл. 1 и рис. 1). Далее будут рассмотрены некоторые недавно охарактеризованные подтипы нейроглиальных клеток, отражающие их более сложную гетерогенную природу и функциональную роль в ЦНС.

Новые подтипы микроглии

KSPG-микроглия. Для микроглии грызунов характерна гетерогенность экспрессии кератансульфат-протеогликана (KSPG) внеклеточного матрикса, который участвует в регуляции клеточной адгезии и роста аксонов [62]. Активно экспрессирующий его подтип микроглии (т.н. KSPG-микроглия) выявляется с помощью антитела 5D4 преимущественно в гиппокампе, стволе мозга и обонятельных луковицах, а также в коре и мозжечке. С морфологической точки зрения данная субпопуляция является клетками разветвленной микроглии и характеризуется маркерами Iba1 (воспалительный фактор аллотрансплантата 1), CR3 и CD11b [62, 63]. CR3 представляет собой фагоцитарный рецептор системы комплемента, вовлеченный в регуляцию клиренса растворимого

Таблица 1. Некоторые дифференциально экспрессируемые маркеры микроглии у грызунов

Подтипы микроглии	Дополнительные маркеры клеток	Функция	Ссылки
<i>KSPG-микроглия</i>	Iba1, CR3, CD11b	Появляется при патологических состояниях нервной системы, таких как болезнь Альцгеймера, травмы мозга и инсульт	[62, 63, 65]
<i>Hox8b-микроглия</i>	Iba1, CD11b	Вовлечена в регуляцию тревожности, груминга и социального поведения	[33, 67, 69]
<i>CD11c-микроглия</i>	Iba1, CD11b, CD45low, CX3CR1	Регулирует процессы нейрогенеза и миелинизации	[71]
<i>TREM2-микроглия</i>	—	Регулирует пролиферацию, выживаемость и метаболизм клеток, вовлечена в патогенез болезни Альцгеймера	[73, 74]

бета-амилоида, указывая на роль микроглии в патогенезе болезни Альцгеймера [64]. KSPG-микроглия также обнаружена в мозге грызунов при патологических процессах, в т.ч. в моделях инсульта, нейротравмы и бокового амиотрофического склероза [65, 66].

Hox8b-микроглия. К данной субпопуляции можно отнести разветвленные микроглиальные клетки, описанные в коре и обонятельных луковицах, характеризующиеся наличием Iba1 и CD11b, и экспрессирующие ген *Hox8b* [33, 67]. Эти клетки сосуществуют с *Hoxb8*-негативной субпопуляцией, при этом не различаясь в экспрессии других сигнатурных генов микроглии (*Tmem119*, *Sall1*, *Sall3*, *Gpr56* и *Ms4a7*) и генов гемопоэтического онтогенеза (*Clell2a*, *Klra2* и *Lilra5*) [33, 68]. Интересно, что *Hoxb8* экспрессируется не во взрослом мозге, а микроглиальными предшественниками до инфильтрации ЦНС [33]. На сегодня нет однозначного ответа о функциях *Hox8b*-микроглии, однако нокаут по гену *Hoxb8* у мышей приводит к выраженным нарушениям ЦНС – повышенной тревожности, патологическому грумингу и дефициту социального поведения [69], указывая на большую значимость данного гемопоэтического гена в ЦНС.

CD11c-микроглия. В отдельную субпопуляцию выделяют клетки, экспрессирующие интегрин 11с (CD11с) [70], которые обнаруживаются преимущественно в мозолистом теле и белом веществе мозжечка. Данный тип микроглии экспрессирует гены нейрогенеза и миелинизации, а также секретирует инсулиноподобный фактора роста 1 (IGF1), снижение уровня которого нарушает миелинизацию в процессе развития. Таким образом, вероятной функцией CD11с-микроглии в мозге неонатальных мышей является участие в нейро- и миелиногенезе. Морфологически эти клетки являются разветвленной микроглией и экспрессируют в качестве биомаркеров Iba1, CD11b и CX3CR1 [71].

TREM2-микроглия. Микроглия также гетерогенна по уровню экспрессии триггерного рецептора 2 (TREM2) на миелидных клетках [72]. Как и CR3, TREM2 вовлечен в патогенез болезни Альцгеймера, координируя кластеризацию клеток вокруг бляшек Аβ, а также регулируя пролиферацию, выживаемость и метаболизм клеток мозга [73]. Самая высокая плотность TREM2-позитивной микроглии обнаруживается в поясной извилине и латеральной энторинальной коре, в то время как в гипоталамусе и уздечке плотность данных клеток низкая, а в околожелудочковых областях они отсутствуют [74].

Микроглия, поддерживающая нейрогенез. Отмечается также выраженная гетерогенность микроглии по наличию фракталкинового рецептора CX3CR1: экспрессиру-

ющие его клетки менее разветвленной микроглии обнаружены в субвентрикулярной зоне и обонятельной луковице [75, 76]. У взрослых мышей в субвентрикулярной зоне они являются TREM2-отрицательными клетками, а половина из них – Iba1-отрицательными. В обонятельной луковице эти клетки, наоборот, экспрессируют TREM2, а треть из них – CD68. Предполагается, что данная субпопуляция микроглии необходима для выживания нейробластов и их миграции [61, 77].

Сателлитная микроглия. Отдельно можно выделить т.н. сателлитную микроглию – неразветвленные глиальные клетки, контактирующие с сомой нейронов [78]. Они располагаются преимущественно в коре, гиппокампе, таламусе и полосатом теле и характеризуются классическими микроглиальными маркерами Iba1, CD11b и CX3CR1 без собственных уникальных маркеров [78, 79]. Впервые обнаруженная у мышей, эта микроглия в настоящий момент также найдена у крыс и приматов [3, 79].

Темная микроглия. Так называемая «темная» (т.е. более оптически плотная) микроглия взаимодействует с сосудами и обнаруживается в гиппокампе, коре, гипоталамусе и миндалине. В отличие от остальных популяций, она содержит маркеры окислительного стресса (конденсированную цитоплазму, гипертрофированный аппарат Гольджи и изменения морфологии митохондрий) [80]. Интересно, что при болезни Альцгеймера плотность темной микроглии увеличивается, что свидетельствует о повышении уровня окислительного стресса на фоне развития патологии [81]. Также темная микроглия слабо экспрессирует Iba-1 и CX3CR1 и характеризуется наличием CD11b, TREM2 и 4d4, а также, вероятно, участвует в ремоделировании сосудов и поддержании ГЭБ [82, 83].

Иные классификации микроглии

В качестве дополнительной классификации микроглии можно использовать экспрессию уникальных комбинаций биомаркеров при различных патологических состояниях нервной системы. Такая DAM-микроглия (disease-associated microglia) является TREM2-позитивной с повышенной экспрессией генов *ApoE*, *Axl* и *Spp1* и сниженной экспрессией *Cx3cr1* и *P2ry12* [84, 85]. Онтогенетически данные клетки происходят от резидентных клеток микроглии и воспалительных макрофагов. Наиболее ярким примером является фенотип MGnD – микроглия, ассоциированная с болезнью Альцгеймера и рассеянным склерозом [86], которая обнаружена как в модели болезни Альцгеймера на мышах линии 5XFAD, так и в образцах мозга пациентов с данной патологией. При этом у человека обнаружен отдельный тау-ассоциированный кластер микроглии, не выявленный на мышах, что указывает на возможность межвидовой гетерогенности микроглиальных клеток [87]. Вопросы о функциональной роли данной субпопуляции остаются открытыми, однако известно, что переход к фенотипу MGnD регулируется TREM2 [84, 88, 89]. Хотя MGnD уделяется больше внимания как первому изученному DAM-фенотипу, он не единственный: например, описаны фенотипы микроглии, реагирующие на интерферон (IRM) [90], накапливающие липидные капли (LDAM) [91], ассоциированные с боковым амиотрофическим склерозом (ALS) [92], глиомой (GAM) [93], а также болезнью Паркинсона (PD) [94]. Некоторые из DAM-фенотипов, характерные для патологических состояний во взрослом возрасте, также обнаруживаются в развивающейся нервной системе человека, позволяя предположить, что при нейродегенеративных патологиях реактивируются транскрипционные программы развития [95].

Актуальным вопросом является также изменение фенотипа микроглии при хроническом стрессе. На грызунах показано, что на его фоне происходит развитие воспалительной реакции в мозге, ключевую роль в которой играет провоспалительный цитокин IL1 β [96, 97]. При этом данные о развитии нейровоспаления разнятся в моделях *in vitro* и *in vivo*. В частности, активация адренорецепторов микроглии *in vivo* оказывает провоспалительный, а *in vitro* – обратный эффекты [98, 99]. Также интересно праймирование микроглии в результате хронического стресса, в результате чего у грызунов развивается гиперчувствительность к стрессу, которая сохраняется и после прекраще-

ния его действия [100]. Это поднимает вопрос о длительных изменениях микроглии после воздействия стресса, в т.ч. на фоне аффективных патологий, а также о возможной их коррекции путем модуляции микроглии и ее праймирования.

Особенности микроглии зебраданио

Важным также является анализ межвидовых морфофункциональных особенностей микроглии, понимание которых может иметь трансляционную значимость. В целом экспрессия микроглиальных биомаркерных генов (*irf8*, *spi1*, *csflra*, *csflrb*, *mpeg1.1*, *slc7a7*, *p2ry12* и *p2ry13*) высококонсервативна у зебраданио, грызунов и человека. Так, экспрессия микроглиальных генов у зебраданио на 43–45% совпадает с таковой у грызунов [101]. При этом наиболее консервативны гены, которые относятся к метаболическим процессам, развитию организма и иммунной реакции, а наименее консервативны гены, ассоциированные с реакцией микроглии на стресс [101]. Молекулярное фенотипирование микроглии рыб зебраданио развито намного меньше, чем у грызунов, так как большинство дифференциально экспрессируемых маркеров у зебраданио не описано. Исключение составляет TREM2, который участвует в переключении микроглиальных фенотипов у грызунов [102, 103]. И хотя показана роль TREM2 в противовоспалительной активности как зебраданио, так и грызунов, не до конца понятно, насколько его экспрессия у рыб дифференциальна и подходит для классификации [104].

Термин DAM-микроглия применительно к зебраданио на данный момент также не встречается, однако описан транскриптом зебраданио в модели болезни Альцгеймера, что, по сути, может быть основополагающим для распространения данной классификации и на этот модельный организм. В частности, в модели болезни Альцгеймера на зебраданио происходит изменение экспрессии 353 генов в мозге по сравнению с контролем, в то время как у человека обнаружено 128 дифференциально экспрессируемых генов [105]. Однако, несмотря на разницу в количестве таких генов у разных видов, часть из них вовлечены в общие процессы, включая презентацию антигенов, гомеостаз железа и лизосомальную активность [105].

АСТРОГЛИЯ

Традиционная классификация

Как и для микроглии, к астроцитам также была применена бинарная классификация (рис. 2). Считалось, что фенотип A1 является провоспалительным и индуцируется цитокинами M1-микроглии (например, $\text{IL1}\alpha$, TNF и C1q), а его клетки претерпевают морфологические и геномные изменения, переставая выполнять полезные функции (например, сопровождение синапсов) и становясь нейротоксичными [25], в отличие от A2-фенотипа (см. далее). На клеточных культурах показано, что A1-астроциты секретируют нейротоксин, запускающий нейроапоптоз [106, 107]. Кроме того, они способны вызывать гибель олигодендроцитов и замедлять дифференцировку их предшественников, приводя к гипомиелинизации [106], а также усиливать синаптическое торможение, приводя к когнитивным нарушениям у мышей [108]. Провоспалительное действие A1-астроцитов реализуется за счет секреции белка C3 – участника системы комплемента [106]. A1-астроглия может усугублять состояние нервной системы при различных патологиях. Так, высокий уровень экспрессии C3 обнаруживается у пациентов с болезнью Альцгеймера, а ингибирование рецептора C3 (C3aR) устраняет когнитивные нарушения в модели болезни Альцгеймера на мышах [109]. C3 также является участником микроглиально-астроцитарного взаимодействия: микроглия первая активируется при появлении патологических стимулов и далее активирует астроциты, которые в свою очередь модулируют активацию, миграцию и фагоцитоз у микроглии посредством секреции цитокинов [110].

В модели болезни Альцгеймера у мышей снижение СЗ приводит к подавлению М1-микроглии и провоспалительных цитокинов, ослабляя нейродегенерацию [111], а повышение уровня этого белка наоборот – к усилению микроглиального фагоцитоза и раннему разрушению синапсов [112]. Поврежденные нейроны, в свою очередь, рекрутируют дополнительные реактивные астроциты и микроглию. Таким образом, взаимодействие между микро- и астроглиальными провоспалительными клетками может быть синергичным и контекст-зависимым при нейродегенеративных заболеваниях. Более того, молекулярные характеристики А1-клеток по результатам транскриптомного анализа указывают на дифференциальную экспрессию ряда маркерных белков (СЗ, GBP2, H2-D1 и Serping1 [113], которые даже в рамках одного подтипа астроцитов могут иметь различную чувствительность и специфичность при разных патологиях ЦНС [114].

А2-фенотип, как и А, традиционно считался противовоспалительным и способствующим выживанию, росту и восстановлению нейронов [115]. А2-астроциты характеризуются дифференциальной экспрессией маркерных генов, кодирующих кальций- связывающий белок S100 A10 (S100a10), пентраксин-3 (PTX3), S1Pr3 и Tweak [113]. Функциональная роль А2-астроцитов в большинстве случаев противоположна А1-типу, подавляя активацию микроглиальных клеток за счет секреции трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) [116] и способствуя дифференцировке олигодендроцитов и защите белого вещества при повреждении мозга [117]. С другой стороны, в модели неонатального повреждения белого вещества у мышей А2-астроциты нарушают миелинизацию посредством секреции простагландина E2, таким образом (как и А1-тип) демонстрируя важность контекста [118]. В целом остается большое количество вопросов о роли астроцитов в ЦНС и подборе терапии при повреждении мозга (табл. 2). Тем не менее в настоящее время бинарная классификация астроцитов является скорее упрощением, не отражающим всего набора фенотипов астроцитарных клеток и требующим дальнейшего пересмотра классификации всей системы глиальных клеток [24, 26, 119].

Новые подходы к классификации астроцитов

Проблема гетерогенности астроцитов также активно обсуждается в литературе. Например, известно, что астроциты обладают дифференциальной экспрессией генов в зависимости от расположения в разных слоях коры, образуя как минимум 9 субпопуляций [120]. Данная экспрессия изменяется при индукции опосредованного липополисахаридом (LPS) нейровоспаления, выявляя две основные популяции наиболее реагирующих клеток. Первая экспрессирует гены, типичные для белого вещества (*Vim*, кодирующий структурный белок виментин) и глубоких слоев коры (*Id3*, кодирующий ингибитор ДНК-связывающего белка), а при нейровоспалении – гены нейропротекции (ингибитор металлопротеиназ *Timpl*, антиоксидантная глутатионпероксидаза *Gpx1*, нейропротекторный белок теплового шока *Hspb1* и подавляющий нейротоксичность белок *Gap43*) [120]. Кроме того, этот кластер экспрессирует гены, индуцируемые интерфероном (*Psm8*, *Ifitm3*), а также вовлеченные в процесс презентации антигена (*H2-K1*, *H2-T23*, *H2-D1*, кодирующие антигены гистосовместимости) и маркерный ген *Timpl* [120]. Вторая популяция астроцитов, наоборот, практически не обнаруживается в состоянии покоя, но при воспалении характеризуется экспрессией генов, участвующих в регуляции IFN-зависимой транскрипции (*Stat1* и *Stat2*), а также в обработке (*Tap1* и *Tap2*) и презентации антигенов (*H2-Q4*, *H2-K1*, *H2-Ab1*, *H2-D1* и *H2-T23*) [120]. Вероятно, эти астроциты увеличили свою способность к презентации антигенов в результате воздействия интерферонов. Эта популяция обнаруживается в области боковых и третьих желудочков, гиппокампа и первого слоя коры, где клетки активно взаимодействуют с сосудами [120].

Таблица 2. Отдельные открытые вопросы области изучения гетерогенности глиальных клеток**Открытые вопросы**

Каким образом контекст-зависимые изменения экспрессии генов микроглии и астроцитов влияют на функциональные свойства глии?

Какие подходы могут быть использованы для пересмотра классификации глиальных клеток с учетом функциональной роли различных популяций и контекст-зависимых состояний?

Является ли подход к систематизации глиальных клеток на основании РНК-секвенирования релевантным без учета данных по протеому и метаболиту?

В какой степени результаты исследований на модельных объектах, таких как зебраданио и грызуны, могут быть экстраполированы на человека, учитывая различия в экспрессии генов и клеточных фенотипах?

Как отсутствие коры у рыб зебраданио и сильное развитие коры у человека влияют на выявление гомологии клеточных популяций глии у рыб, грызунов и человека?

Чем обусловлена большая гетерогенность микроглиальных клеток человека по сравнению с животными модельными организмами? Какие функции выполняют уникальные для человека популяции клеток и какие подходы оптимальны для их изучения?

Как систематизировать и сравнивать данные по глиальным клеткам между различными модельными объектами, учитывая различия в гетерогенности клеток у разных видов?

Данные о происхождении микроглиальных клеток грызунов получены преимущественно на одной линии мышей. Насколько эти результаты релевантны для других линий и видов грызунов?

Данные РНК-секвенирования, на основании которых осуществляются попытки пересмотра классификации лишь косвенно могут свидетельствовать о функции клеток. Каким образом оценить функции фенотипов, выделенных на основе РНК-секвенирования?

Какие функции выполняют уникальные популяции микроглии у разных модельных объектов?

Каким образом глиальные клетки вовлечены в процесс регенерации нервной системы у зебраданио?

Насколько патоген-ассоциированные фенотипы глиальных клеток (DAM) сопоставимы у разных модельных организмов?

Насколько одинаковы патоген-ассоциированные фенотипы глиальных клеток (DAM) в разных моделях одной патологии, например, в генетической модели болезни Альцгеймера и при введении бета-амилоида?

Как влияет среда на изменение фенотипа микроглии? Как местные тканеспецифичные факторы влияют на приобретение идентичности микроглии *in situ*?

Насколько общепринятые маркеры глиальных клеток (такие как GFAP для астроцитов и Iba-1 для микроглии) являются адекватным способом оценки общего пула глиальных клеток, учитывая дифференциальную экспрессию у разных популяций?

Отражает ли разница в уровне экспрессии KPSG в микроглии у разных линий крыс функциональные различия, связанные с ролью данной микроглии?

Какие новые открытия в области нейробиологии микроглии и астроглии могут изменить текущие представления о патогенезе нейродегенеративных заболеваний и подходах к их лечению?

Каков потенциал клеточной терапии на основе A2-астроцитов при нейродегенеративных заболеваниях, нейровоспалении, ишемии и черепно-мозговой травме?

Каков субпопуляционный состав астроцитов (и их динамика) в ходе онтогенеза зебраданио, мыши и человека?

Каковы отличия фенотипов глии *in vitro*, *in vivo*, в *in vitro* 2D-, 3D-моделях, органоидах и ассемблоидах?

Другие субпопуляции астроцитов также реагируют на воспаление, однако в меньшей степени. Например, подгруппа, которая в норме демонстрирует высокий уровень астроцитарного маркера *Gfap* и маркера синаптогенеза *Thbs4* [120], при воспалении начинает экспрессировать гены *C3*, *CD109* (белка, подавляющего TGF- β сигналинг) и *Igfbp7* (фактора, который тормозит VEGF-индуцированный ангиогенез). Среди субпопуляций астроглии, которые менее вовлечены в воспалительный процесс, обнаруживается группа клеток, экспрессирующих синаптомоделирующий ген *Sparc26*, характерный для олигодендроцитов ген *Nkx6-2*, и ген субъединицы AMPA-рецептора глутамата *Grial1* [120], высококонсервативной у зебрании, грызунов и человека [121]. В целом в настоящий момент существуют предпосылки для формирования фенотипов астроглии, ассоциированных с болезнями наподобие DAM-фенотипов микроглии, что позволило бы определить маркеры патологий и потенциальные терапевтические мишени. Например, отмечена активация и изменение фенотипа астроцитов при старении, нейродегенеративных заболеваниях (включая болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона), инфекциях ЦНС и острой черепно-мозговой травме [106, 122–126].

Особенности астроцитов зебрании

Важным межтаксонным отличием ЦНС млекопитающих от зебрании является отсутствие у рыб звездчатых астроцитов [127]. Изначально предполагалось, что функцию астроцитов у зебрании выполняют некоторые специализированные клетки радиальной глии, которые экспрессируют глиальные биомаркеры (например, глиальный кислый фибриллярный белок GFAP), являются нейрональными предшественниками и, соответственно, вовлечены в нейрогенез [128]. С использованием конфокальной микроскопии показано, что клетки радиальной глии у рыб начинают превращаться в астроцитоподобные на второй день после оплодотворения и обладают дополнительными признаками, характерными для астроцитов млекопитающих, включая экспрессию глутаминсинтазы (GS). Также показано, что критическую роль в морфогенезе астроцитов зебрании играют рецепторы фактора роста фибробластов (*fgfr3* и *fgfr4*) [129]. Тем не менее пока нет однозначных доказательств, что астроциты зебрании аналогичны астроцитам млекопитающих.

Астроциты также активно участвуют в процессе регенерации ЦНС рыб, представляя одну из ключевых особенностей данного модельного объекта. Например, при перерезке спинного мозга у зебрании, в отличие от млекопитающих, происходит образование клетками радиальной глии не глиального рубца, а глиальных мостиков, которые помогают вновь соединить перерезанный спинной мозг и обеспечивают субстрат для последующего отрастания аксонов [128]. В целом ответ нейроглии на перерезку спинного мозга повторяет реакцию нейрогенеза, и поэтому модуляция астроцитов, направленная на формирование или усиление радиального глиального фенотипа, может способствовать более благоприятной регенеративной реакции ЦНС у млекопитающих.

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ НЕЙРОГЛИИ

Вопрос о классификации глиальных клеток является актуальным и крайне важным. С одной стороны, основной проблемой при изучении микроглии является устоявшееся применение к ней бинарной M1/M2 номенклатуры периферических макрофагов, что ограничивает представления об их роли в ЦНС рамками регуляции иммунитета. Та же проблема существует и для бинарной классификации астроцитов, фиксируя представление об их фенотипах, как токсичных или нейропротекторных, без учета конкретного состояния нервной системы, которое вариативно при различных патологиях. С другой стороны, отказ от “удобной” полярной дихотомии вызывает необходимость построения новой классификации нейроглии. В настоящий момент ее пытаются решить путем

использования данных РНК-секвенирования для выявления общих популяций клеток по паттернам генной экспрессии. Однако изменение уровня экспрессии генов может лишь косвенно свидетельствовать о функции клеток, а также не отражает их анатомическое расположение. Более того, многие маркерные гены могут иметь непостоянный (флуктуирующий) уровень экспрессии, что может отражать сложную динамику патологических состояний ЦНС, в то время как контекст-зависимые, вновь описанные субпопуляции микроглии в основном отражают специфические состояния активации уже существующей микроглии, а не смесь отдельных субпопуляций.

Также очевидна проблема систематизации данных между различными модельными объектами (в виду гетерогенности клеток у разных видов), что также осложняет и трансляцию полученных результатов на человека. Например, его микроглия представлена множеством подтипов, в то время как у других видов, включая мышей и обезьян, такой значительной гетерогенности не наблюдается, либо она еще не изучена. Кроме того, у человека и грызунов обнаруживается большое количество дифференциально экспрессируемых генов микроглии, в том числе связанных с нейродегенеративными заболеваниями, что также свидетельствует о возможной значительной межтаксоновой разнице в функционировании нейроглии [130].

Тем не менее изучение глиальных клеток на относительно новых (для нейробиологии) модельных объектах, в частности рыбах зебрании, является весьма перспективным как с эволюционно-физиологической, так и с практической точки зрения. Зебрания является удобным организмом для создания трансгенных конструкций благодаря особенностям своей генетики и прозрачности эмбрионов, которые быстро развиваются вне организма матери, позволяя визуализировать и манипулировать определенными типами клеток. Так, используя методы CRISPR-Cas9, показана роль рецепторов фактора роста фибробластов (Fgf) в развитии астроцитов зебрании [129]. Трансгенные линии рыб можно также использовать для визуализации клеточных линий, например, линии с экспрессией флуоресцентного белка в клетках, экспрессирующих маркер астроцитов GFAP [131]. Кроме того, в настоящий момент на рыбах создано большое число генетических моделей расстройств нервной системы, в т.ч. многочисленные трансгенные модели болезней Альцгеймера, Паркинсона и таупатий [132–134]. Это дает возможность охарактеризовать фенотипы микро- и астроглиальных клеток, ассоциированные с патогенезом, что может упростить типизацию высококонсервативных состояний данных типов глии, которые характерны в том числе и для человека.

Изучение уникальных для зебрании состояний глиальных клеток также является важной задачей, поскольку может дать ответ на вопрос о высокой регенеративной способности нервной системы рыб. Так, предполагается, что регенерация обусловлена взаимодействиями между радиальными глиальными клетками и макрофагами, и опосредуется макрофагальным TNF [135]. Соответственно, выявление новых аспектов нейрорегенерации можно в дальнейшем использовать в терапии человека. Другой вопрос достаточно ли экспрессии генов для определения состояния клетки, поскольку нет однозначного понимания, как изменение экспрессии преобразует клеточный фенотип. Для более полной картины патогенеза необходимы исследования на уровне протеома [136], однако его оценка сложна для более редких модельных объектов, так как ряд методов основан на использовании антител, которые в настоящий момент разработаны преимущественно для грызунов и человека. Проблему нехватки антител для зебрании и других модельных объектов можно попытаться преодолеть, используя альтернативные методы исследований, например *in situ* гибридизацию РНК, которая все еще не позволяет оценить протеом, но по крайней мере решает проблему анатомической локализации экспрессируемых генов [137].

В целом изучение и систематизация глиальных клеток у различных таксонов является актуальной задачей современной эволюционной физиологии и нейробиологии. Пересмотр классификации глиальных клеток активно ведется и, вероятно, будет акту-

ален еще длительное время. Он активно стимулируется развитием новых клеточных и молекулярных методов исследования мозга и накоплением экспериментальных данных, которые не укладываются в традиционную бинарную парадигму. Однако в настоящий момент все еще недостаточно материала для создания новой оптимальной и всеобъемлющей классификации нейроглии. В частности, результаты РНК-секвенирования необходимо дополнять оценкой функциональной роли клеток, их локализации и протеомного профилирования.

В свою очередь, решение вопросов о функциональной роли различных популяций клеток и определение контекст-зависимых состояний может пролить свет на механизмы патогенеза заболеваний нервной системы и определить новые терапевтические стратегии. Помимо проблем трансляционного характера, также остается множество открытых фундаментальных вопросов (см. табл. 2), например, о происхождении микроглиальных клеток, соотносимости астроцитов зебраданио и млекопитающих, а также об особенностях микроглиально-астроцитарных взаимодействий у разных видов животных. Решение этих и других вопросов откроет новые перспективы для будущих исследований в области нейробиологии и патофизиологии глии.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы (М.М.К., А.В.К.), проведение исследования (М.М.К., А.К.В., Н.В.С., А.В.К.), анализ и обсуждение результатов (М.М.К., А.В.К.), написание и редактирование манускрипта (М.М.К., А.К.В., Н.В.С., А.В.К.), обсуждение и одобрение финальной версии (М.М.К., А.К.В., Н.В.С., А.В.К.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Научно-технологического университета «Сириус» (проект NRB-RND-2116). А.В.К. поддержан Санкт-Петербургским государственным университетом (Pure ID: 95443748). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта человека и животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cichorek M, Kowiański P, Lietzau G, Lasek J, Moryś J (2021) Neuroglia – development and role in physiological and pathophysiological processes. *Folia Morphol* (Warsz) 80: 766–775. <https://doi.org/10.5603/FM.a2021.0109>
2. Prinz M, Jung S, Priller J (2019) Microglia Biology: One Century of Evolving Concepts. *Cell* 179: 292–311. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.08.053>
3. Rio-Hortega D (1919) El tercer elemento de los centros nerviosos. I. La microglia en estado normal. II. Intervencion de la microglia en los procesos patologicos. III. Naturaleza probable de la microglia. *Bol de la Soc esp de biol* 9: 69.
4. Liu Y, Shen X, Zhang Y, Zheng X, Cepeda C, Wang Y, Duan S, Tong X (2023) Interactions of glial cells with neuronal synapses, from astrocytes to microglia and oligodendrocyte lineage cells. *Glia* 71: 1383–1401. <https://doi.org/10.1002/glia.24343>
5. Durkee CA, Araque A (2019) Diversity and Specificity of Astrocyte-neuron Communication. *Neuroscience* 396: 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.010>

6. Ma Z, Stork T, Bergles DE, Freeman MR (2016) Neuromodulators signal through astrocytes to alter neural circuit activity and behaviour. *Nature* 539: 428–432.
<https://doi.org/10.1038/nature20145>
7. Carter SF, Herholz K, Rosa-Neto P, Pellerin L, Nordberg A, Zimmer ER (2019) Astrocyte Biomarkers in Alzheimer's Disease. *Trends Mol Med* 25(2): 77–95.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.11.006>
8. Akiyoshi R, Wake H, Kato D, Horiuchi H, Ono R, Ikegami A, Haruwaka K, Omori T, Tachibana Y, Moorhouse AJ, Nabekura J (2018) Microglia Enhance Synapse Activity to Promote Local Network Synchronization. *eNeuro* 5.
<https://doi.org/10.1523/eneuro.0088-18.2018>
9. Rodríguez-Iglesias N, Sierra A, Valero J (2019) Rewiring of Memory Circuits: Connecting Adult Newborn Neurons with the Help of Microglia. *Front Cell Dev Biol* 7: 24.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00024>
10. Chen Z, Jalabi W, Hu W, Park HJ, Gale JT, Kidd GJ, Bernatowicz R, Gossman ZC, Chen JT, Dutta R, Trapp BD (2014) Microglial displacement of inhibitory synapses provides neuroprotection in the adult brain. *Nat Commun* 5: 4486.
<https://doi.org/10.1038/ncomms5486>
11. Tay TL, Savage JC, Hui CW, Bisht K, Tremblay M (2017) Microglia across the lifespan: from origin to function in brain development, plasticity and cognition. *J Physiol* 595: 1929–1245.
<https://doi.org/10.1113/jp272134>
12. Tremblay M, Lowery RL, Majewska AK (2010) Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. *PLoS Biol* 8: e1000527.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000527>
13. Hüttenrauch M, Ogorek I, Klafki H, Otto M, Stadelmann C, Weggen S, Wiltfang J, Wirths O (2018) Glycoprotein NMB: A novel Alzheimer's disease associated marker expressed in a subset of activated microglia. *Acta Neuropathol Commun* 6: 108.
<https://doi.org/10.1186/s40478-018-0612-3>
14. Masuda T, Sankowski R, Staszewski O, Böttcher C, Amann L, Sagar, Scheiwe C, Nessler S, Kunz P, van Loo G, Coenen VA, Reinacher PC, Michel A, Sure U, Gold R, Grün D, Priller J, Stadelmann C, Prinz M (2019) Spatial and temporal heterogeneity of mouse and human microglia at single-cell resolution. *Nature* 566: 388–392.
<https://doi.org/10.1038/s41586-019-0924-x>
15. Koyama R, Ikegaya Y (2015) Microglia in the pathogenesis of autism spectrum disorders. *Neurosci Res* 100: 1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2015.06.005>
16. Joe EH, Choi DJ, An J, Eun JH, Jou I, Park S (2018) Astrocytes, Microglia, and Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol* 27: 77–87.
<https://doi.org/10.5607/en.2018.27.2.77>
17. Corley E, Holleran L, Fahey L, Corvin A, Morris DW, Donohoe G (2021) Microglial- expressed genetic risk variants, cognitive function and brain volume in patients with schizophrenia and healthy controls. *Transl Psychiatry* 11: 490.
<https://doi.org/10.1038/s41398-021-01616-z>
18. Schafer DP, Heller CT, Gunner G, Heller M, Gordon C, Hammond T, Wolf Y, Jung S, Stevens B (2016) Microglia contribute to circuit defects in Mecp2 null mice independent of microglia-specific loss of Mecp2 expression. *eLife* 5: e15224.
<https://doi.org/10.7554/eLife.15224>
19. Davalos D, Grutzendler J, Yang G, Kim JV, Zuo Y, Jung S, Littman DR, Dustin ML, Gan W-B (2005) ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci* 8: 752–758.
<https://doi.org/10.1038/nn1472>
20. Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F (2005) Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo. *Science* 308: 1314–1318.
<https://doi.org/10.1126/science.1110647>
21. Morsch M, Radford R, Lee A, Don EK, Badrock AP, Hall TE, Cole NJ, Chung R (2015) In vivo characterization of microglial engulfment of dying neurons in the zebrafish spinal cord. *Front Cell Neurosci* 9: 321.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00321>
22. Torres-Platas SG, Comeau S, Rachalski A, Bo GD, Cruceanu C, Turecki G, Giros B, Mechawar N (2014) Morphometric characterization of microglial phenotypes in human cerebral cortex. *J Neuroinflammation* 11: 12.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-12>

23. *Jurga AM, Paleczna M, Kuter KZ* (2020) Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes. *Front Cell Neurosci* 14: 198.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00198>
24. *Ransohoff RM* (2016) A polarizing question: Do M1 and M2 microglia exist? *Nat Neurosci* 19: 987–991.
<https://doi.org/10.1038/nn.4338>
25. *Liddel SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, Bennett ML, Münch AE, Chung WS, Peterson TC, Wilton DK, Frouin A, Napier BA, Panicker N, Kumar M, Buckwalter MS, Rowitch DH, Dawson VL, Dawson TM, Stevens B, Barres BA* (2017) Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541: 481–487.
<https://doi.org/10.1038/nature21029>
26. *Escartin C, Galea E, Lakatos A, O'Callaghan JP, Petzold GC, Serrano-Pozo A, Steinhäuser C, Volterra A, Carmignoto G, Agarwal A, Allen NJ, Araque A, Barbeito L, Barzilai A, Bergles DE, Bonvento G, Butt AM, Chen WT, Cohen-Salmon M, Cunningham C, Deneen B, De Strooper B, Diaz-Castro B, Farina C, Freeman M, Gallo V, Goldman JE, Goldman SA, Götz M, Gutiérrez A, Haydon PG, Heiland DH, Hol EM, Holt MG, Iino M, Kastanenka KV, Kettenmann H, Khakh BS, Koizumi S, Lee CJ, Liddel SA, MacVicar BA, Magistretti P, Messing A, Mishra A, Molofsky AV, Murai KK, Norris CM, Okada S, Oliet SHR, Oliveira JF, Panatier A, Parpura V, Pekna M, Pekny M, Pellerin L, Perea G, Pérez-Nievas BG, Pfrieger FW, Poskanzer KE, Quintana FJ, Ransohoff RM, Riquelme-Perez M, Robel S, Rose CR, Rothstein JD, Rouach N, Rowitch DH, Semyanov A, Sirko S, Sontheimer H, Swanson RA, Vitorica J, Wanner IB, Wood LB, Wu J, Zheng B, Zimmer ER, Zorec R, Sofroniew MV, Verkhratsky A* (2021) Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nat Neurosci* 24: 312–325.
<https://doi.org/10.1038/s41593-020-00783-4>
27. *Van Furth R, Cohn Z, Hirsch J, Humphrey J, Spector W, Langevoort H* (1972) The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull World Health Organ* 46: 845.
28. *Ginhoux F, Williams M* (2016) Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis. *Immunity* 44:439–449.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.024>
29. *Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Gokhan S, Mehler MF, Conway SJ, Ng LG, Stanley ER* (2010) Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* 330: 841–845.
<https://doi.org/10.1126/science.1194637>
30. *Schulz C, Perdiguero EG, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, Prinz M, Wu B, Jacobsen SEW, Pollard JW* (2012) A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science* 336: 86–90.
<https://doi.org/10.1126/science.1219179>
31. *Hoefel G, Chen J, Lavin Y, Low D, Almeida FF, See P, Beaudin AE, Lum J, Low I, Forsberg EC* (2015) C-Myb+ erythro-myeloid progenitor-derived fetal monocytes give rise to adult tissue-resident macrophages. *Immunity* 42: 665–678.
<https://doi.org/10.1126/science.1219179>
32. *Ajami B, Bennett JL, Krieger C, McNagny KM, Rossi FM* (2011) Infiltrating monocytes trigger EAE progression, but do not contribute to the resident microglia pool. *Nat Neurosci* 14: 1142–1149.
<https://doi.org/10.1038/nn.2887>
33. *De S, Van Deren D, Peden E, Hockin M, Boulet A, Titen S, Capecchi MR* (2018) Two distinct ontogenies confer heterogeneity to mouse brain microglia. *Development* 145: dev152306.
<https://doi.org/10.1242/dev.152306>
34. *T'Jonck W, Williams M, Bonnardel J* (2018) Niche signals and transcription factors involved in tissue-resident macrophage development. *Cell Immunol* 330: 43–53.
<https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.02.005>
35. *Butovsky O, Jedrychowski MP, Moore CS, Cialic R, Lanser AJ, Gabriely G, Koeglisperger T, Dake B, Wu PM, Doykan CE* (2014) Identification of a unique TGF- β -dependent molecular and functional signature in microglia. *Nat Neurosci* 17: 131–143.
<https://doi.org/10.1038/nn.3599>
36. *Gosselin D, Link VM, Romanoski CE, Fonseca GJ, Eichenfield DZ, Spann NJ, Stender JD, Chun HB, Garner H, Geissmann F* (2014) Environment drives selection and function of enhancers controlling tissue-specific macrophage identities. *Cell* 159: 1327–1340.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.023>
37. *Bohlen CJ, Bennett FC, Tucker AF, Collins HY, Mulinyawe SB, Barres BA* (2017) Diverse requirements for microglial survival, specification, and function revealed by defined-medium cultures. *Neuron* 94: 759–773. e8.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.043>

38. Ferrero G, Mahony CB, Dupuis E, Yvernogeu L, Di Ruggiero E, Miserocchi M, Caron M, Robin C, Traver D, Bertrand JY (2018) Embryonic microglia derive from primitive macrophages and are replaced by cmyb-dependent definitive microglia in zebrafish. *Cell Rep* 24: 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.066>
39. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A (2009) The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu Rev Neurosci* 32: 149–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135600>
40. Campbell K (2003) Dorsal-ventral patterning in the mammalian telencephalon. *Curr Opin Neurobiol.* 13: 50–56. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(03\)00009-6](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(03)00009-6)
41. Sur M, Rubenstein JL (2005) Patterning and plasticity of the cerebral cortex. *Science (New York)* 310: 805–810. <https://doi.org/10.1126/science.1112070>
42. Bayraktar OA, Fuentealba LC, Alvarez-Buylla A, Rowitch DH (2014) Astrocyte development and heterogeneity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 7: a020362. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020362>
43. Liu X, Jiang N, Zhou W (2023) Various Energetic Metabolism of Microglia in Response to Different Stimulations. *Molecules (Basel, Switzerland)* 28. <https://doi.org/10.3390/molecules28114501>
44. Stence N, Waite M, Dailey ME (2001) Dynamics of microglial activation: A confocal time-lapse analysis in hippocampal slices. *Glia* 33(3): 256–266. [https://doi.org/10.1002/1098-1136\(200103\)33:3<256::AID-GLIA1024>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1098-1136(200103)33:3<256::AID-GLIA1024>3.0.CO;2-J)
45. Kreutzberg GW (1996) Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci* 19: 312–318. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(96\)10049-7](https://doi.org/10.1016/0166-2236(96)10049-7)
46. Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, Alzabin S, Lockstone H, Sahgal N, Hussell T, Feldmann M, Udalova IA (2011) IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses. *Nat Immunol* 12: 231–238. <https://doi.org/10.1038/ni.1990>
47. Quirino IE, Cardoso VN, Santos R, Evangelista WP, Arantes RM, Fiúza JA, Glória MB, Alvarez-Leite JL, Batista MA, Correia MI (2013) The role of L-arginine and inducible nitric oxide synthase in intestinal permeability and bacterial translocation. *J Parenter Enteral Nutr* 37: 392–400. <https://doi.org/10.1177/0148607112458325>
48. Könnicke H, Bechmann I (2013) The role of microglia and matrix metalloproteinases involvement in neuroinflammation and gliomas. *Clin Dev Immunol* 2013: 914104. <https://doi.org/10.1155/2013/914104>
49. Kigerl KA, Gensel JC, Ankeny DP, Alexander JK, Donnelly DJ, Popovich PG (2009) Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord. *J Neurosci* 29: 13435–13444. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3257-09.2009>
50. Biswas SK, Mantovani A (2010) Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: Cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 11: 889–896. <https://doi.org/10.1038/ni.1937>
51. Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ (2016) Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br J Pharmacol* 173: 649–665. <https://doi.org/10.1111/bph.13139>
52. Saijo K, Crotti A, Glass CK (2013) Regulation of microglia activation and deactivation by nuclear receptors. *Glia* 61: 104–111. <https://doi.org/10.1002/glia.22423>
53. Ohgidani M, Kato TA, Haraguchi Y, Matsushima T, Mizoguchi Y, Murakawa-Hirachi T, Sagata N, Monji A, Kanba S (2016) Microglial CD206 Gene Has Potential as a State Marker of Bipolar Disorder. *Front Immunol* 7: 676. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00676>
54. Eterodt A, Moestrup SK (2013) CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxid Redox Signal* 18: 2352–2363. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4834>
55. Munder M (2009) Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *Br J Pharmacol* 158: 638–651. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00291.x>
56. Corraliza IM, Soler G, Eichmann K, Modolell M (1995) Arginase induction by suppressors of nitric oxide synthesis (IL-4, IL-10 and PGE2) in murine bone-marrow-derived macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 206: 667–673. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1094>

57. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M (2004) The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 25: 677–686. <https://doi.org/10.1016/j.it.2004.09.015>
58. Fadini GP, Cappellari R, Mazzucato M, Agostini C, Vigili de Kreutzenberg S, Avogaro A (2013) Monocyte-macrophage polarization balance in pre-diabetic individuals. *Acta Diabetol* 50: 977–982. <https://doi.org/10.1007/s00592-013-0517-3>
59. Ajami B, Bennett JL, Krieger C, Tetzlaff W, Rossi FM (2007) Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life. *Nat Neurosci* 10: 1538–1543. <https://doi.org/10.1038/nn2014>
60. Tay TL, Mai D, Dautzenberg J, Fernández-Klett F, Lin G, Sagar, Datta M, Drougard A, Stempf T, Ardura-Fabregat A, Staszewski O, Margineanu A, Sporbert A, Steinmetz LM, Pospisilik JA, Jung S, Priller J, Grün D, Ronneberger O, Prinz M. (2017) A new fate mapping system reveals context-dependent random or clonal expansion of microglia. *Nat Neurosci* 20: 793–803. <https://doi.org/10.1038/nn.4547>
61. Doorn KJ, Brevé JJ, Drukarch B, Boddeke HW, Huitinga I, Lucassen PJ, van Dam AM (2015) Brain region-specific gene expression profiles in freshly isolated rat microglia. *Front Cell Neurosci* 9: 84. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00084>
62. Bertolotto A, Caterson B, Canavese G, Migheli A, Schiffer D (1993) Monoclonal antibodies to keratan sulfate immunolocalize ramified microglia in paraffin and cryostat sections of rat brain. *J Histochem Cytochem* 41: 481–487. <https://doi.org/10.1177/41.4.8450191>
63. Bertolotto A, Agresti C, Castello A, Manzardo E, Riccio A (1998) 5D4 keratan sulfate epitope identifies a subset of ramified microglia in normal central nervous system parenchyma. *J Neuroimmunol* 85: 69–77. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(97\)00251-8](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(97)00251-8)
64. Czirr E, Castello NA, Mosher KI, Castellano JM, Hinkson IV, Lucin KM, Baeza-Raja B, Ryu JK, Li L, Farina SN, Belichenko NP, Longo FM, Akassoglou K, Britschgi M, Cirrito JR, Wyss-Coray T (2017) Microglial complement receptor 3 regulates brain A β levels through secreted proteolytic activity. *J Exp Med* 214: 1081–1092. <https://doi.org/10.1084/jem.20162011>
65. Stratoulas V, Venero JL, Tremblay M, Joseph B (2019) Microglial subtypes: diversity within the microglial community. *EMBO J* 38: e101997. <https://doi.org/10.15252/embj.2019101997>
66. Jander S, Stoll G (1996) Strain-specific expression of microglial keratan sulfate proteoglycans in the normal rat central nervous system: Inverse correlation with constitutive expression of major histocompatibility complex class II antigens. *Glia* 18: 255–2560. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1136\(199611\)18:3<255::aid-glia9>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1136(199611)18:3<255::aid-glia9>3.0.co;2-y)
67. Chen SK, Tyrdik P, Peden E, Cho S, Wu S, Spangrude G, Capecchi MR (2010) Hematopoietic origin of pathological grooming in Hoxb8 mutant mice. *Cell* 141: 775–785. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.055>
68. Bennett FC, Bennett ML, Yaqoob F, Mulinyawe SB, Grant GA, Hayden Gephart M, Plowey ED, Barres BA (2018) A Combination of Ontogeny and CNS Environment Establishes Microglial Identity. *Neuron* 98: 1170–83.e8. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.014>
69. Nagarajan N, Jones BW, West PJ, Marc RE, Capecchi MR (2018) Corticostriatal circuit defects in Hoxb8 mutant mice. *Mol Psychiatry* 23: 1868–1877. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.180>
70. Jia J, Zheng L, Ye L, Chen J, Shu S, Xu S, Bao X, Xia S, Liu R, Xu Y, Zhang M (2023) CD11c(+) microglia promote white matter repair after ischemic stroke. *Cell Death Dis* 14: 156. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05689-0>
71. Wlodarczyk A, Holtman IR, Krueger M, Yogev N, Bruttger J, Khorooshi R, Benmamar-Badel A, de Boer-Bergsma JJ, Martin NA, Karram K, Kramer I, Boddeke EW, Waisman A, Eggen BJ, Owens T (2017) A novel microglial subset plays a key role in myelinogenesis in developing brain. *EMBO J* 36: 3292–3308. <https://doi.org/10.15252/embj.201696056>
72. Hou J, Chen Y, Grajales-Reyes G, Colonna M (2022) TREM2 dependent and independent functions of microglia in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 17: 84. <https://doi.org/10.1186/s13024-022-00588-y>
73. Yeh FL, Hansen DV, Sheng M (2017) TREM2, Microglia, and Neurodegenerative Diseases. *Trends Mol Med* 23: 512–533. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.03.008>

74. Schmid CD, Sautkulis LN, Danielson PE, Cooper J, Hasel KW, Hilbush BS, Sutcliffe JG, Carson MJ (2002) Heterogeneous expression of the triggering receptor expressed on myeloid cells-2 on adult murine microglia. *J Neurochem* 83: 1309–1320.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.01243.x>
75. Shigemoto-Mogami Y, Hoshikawa K, Goldman JE, Sekino Y, Sato K (2014) Microglia enhance neurogenesis and oligodendrogenesis in the early postnatal subventricular zone. *J Neurosci* 34: 2231–2243.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.1619-13.2014>
76. Xavier AL, Lima FR, Nedergaard M, Menezes JR (2015) Ontogeny of CX3CR1-EGFP expressing cells unveil microglia as an integral component of the postnatal subventricular zone. *Front Cell Neurosci* 9: 37.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00037>
77. Ribeiro Xavier AL, Kress BT, Goldman SA, Lacerda de Menezes JR, Nedergaard M (2015) A Distinct Population of Microglia Supports Adult Neurogenesis in the Subventricular Zone. *J Neurosci* 35: 11848–11861.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.1217-15.2015>
78. Wogram E, Wendt S, Matyash M, Pivneva T, Draguhn A, Kettenmann H (2016) Satellite microglia show spontaneous electrical activity that is uncorrelated with activity of the attached neuron. *Eur J Neurosci* 43: 1523–1534.
<https://doi.org/10.1111/ejn.13256>
79. Baalman K, Marin MA, Ho TS, Godoy M, Cherian L, Robertson C, Rasband MN (2015) Axon initial segment-associated microglia. *J Neurosci* 35: 2283–2292.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.3751-14.2015>
80. Bisht K, Sharma KP, Lecours C, Sánchez MG, El Hajj H, Miliot G, Olmos-Alonso A, Gómez-Nicola D, Luheshi G, Vallières L, Branchi I, Maggi L, Limatola C, Butovsky O, Tremblay M (2016) Dark microglia: A new phenotype predominantly associated with pathological states. *Glia* 64: 826–839.
<https://doi.org/10.1002/glia.22966>
81. St-Pierre MK, Carrier M, González Ibáñez F, Šimončičová E, Wallman MJ, Vallières L, Parent M, Tremblay M (2022) Ultrastructural characterization of dark microglia during aging in a mouse model of Alzheimer's disease pathology and in human post-mortem brain samples. *J Neuroinflammation* 19: 235.
<https://doi.org/10.1186/s12974-022-02595-8>
82. Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, Micheva KD, Mehalow AK, Huberman AD, Stafford B, Sher A, Litke AM, Lambris JD, Smith SJ, John SW, Barres BA (2007) The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell* 131: 1164–1178.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.036>
83. Schafer DP, Lehrman EK, Kautzman AG, Koyama R, Mardinly AR, Yamasaki R, Ransohoff RM, Greenberg ME, Barres BA, Stevens B (2012) Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron* 74: 691–705.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.026>
84. Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, Matcovitch-Natan O, Dvir-Szternfeld R, Ulland TK, David E, Baruch K, Lara-Astaiso D, Toth B, Itzkovitz S, Colonna M, Schwartz M, Amit I (2017) A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell* 169: 1276–90.e17.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.018>
85. Chen Y, Colonna M (2021) Microglia in Alzheimer's disease at single-cell level. Are there common patterns in humans and mice? *J Exp Med* 218.
<https://doi.org/10.1084/jem.20202717>
86. Krasemann S, Madore C, Cialic R, Baufeld C, Calcagno N, El Fatimy R, Beckers L, O'Loughlin E, Xu Y, Fanek Z, Greco DJ, Smith ST, Tweet G, Humulock Z, Zrzavy T, Conde-Sanroman P, Gacias M, Weng Z, Chen H, Tjon E, Mazaheri F, Hartmann K, Madi A, Ulrich JD, Glatzel M, Worthmann A, Heeren J, Budnik B, Lemere C, Ikezu T, Heppner FL, Litvak V, Holtzman DM, Lassmann H, Weiner HL, Ochando J, Haass C, Butovsky O (2017) The TREM2-APOE Pathway Drives the Transcriptional Phenotype of Dysfunctional Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Immunity* 47: 566–581.e9.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.08.008>
87. Gerrits E, Brouwer N, Kooistra SM, Woodbury ME, Vermeiren Y, Lambourne M, Mulder J, Kummer M, Möller T, Biber K, Dunnen W, De Deyn PP, Eggen BJL, Boddeke E (2021) Distinct amyloid- β and tau-associated microglia profiles in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 141: 681–696.
<https://doi.org/10.1007/s00401-021-02263-w>

88. *McQuade A, Kang YJ, Hasselmann J, Jairaman A, Sotelo A, Coburn M, Shabestari SK, Chadarevian JP, Fote G, Tu CH, Danhash E, Silva J, Martinez E, Cotman C, Prieto GA, Thompson LM, Steffan JS, Smith I, Daviyan H, Cahalan M, Cho H, Blurton-Jones M* (2020) Gene expression and functional deficits underlie TREM2-knockout microglia responses in human models of Alzheimer's disease. *Nat Commun* 11: 5370.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-19227-5>
89. *Fang C, Zhong R, Lu S, Yu G, Liu Z, Yan C, Gao J, Tang Y, Wang Y, Zhao Q, Feng X* (2024) TREM2 promotes macrophage polarization from M1 to M2 and suppresses osteoarthritis through the NF- κ B/CXCL3 axis. *Int J Biol Sci* 20: 1992–2007.
<https://doi.org/10.7150/ijbs.91519>
90. *Sala Frigerio C, Wolfs L, Fattorelli N, Thrupp N, Voytyuk I, Schmidt I, Mancuso R, Chen WT, Woodbury ME, Srivastava G, Möller T, Hudry E, Das S, Saido T, Karran E, Hyman B, Perry VH, Fiers M, De Strooper B* (2019) The Major Risk Factors for Alzheimer's Disease: Age, Sex, and Genes Modulate the Microglia Response to A β Plaques. *Cell Rep* 27: 1293–1306.e6.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.03.099>
91. *Marschallinger J, Iram T, Zardeneta M, Lee SE, Lehallier B, Haney MS, Pluvinage JV, Mathur V, Hahn O, Morgens DW, Kim J, Tevini J, Felder TK, Wolinski H, Bertozzi CR, Bassik MC, Aigner L, Wyss-Coray T* (2020) Lipid-droplet-accumulating microglia represent a dysfunctional and proinflammatory state in the aging brain. *Nat Neurosci* 23: 194–208.
<https://doi.org/10.1038/s41593-019-0566-1>
92. *Limone F, Mordes DA, Couto A, Joseph BJ, Mitchell JM, Therrien M, Ghosh SD, Meyer D, Zhang Y, Goldman M, Bortolin L, Cobos I, Kadiu I, McCarroll SA, Stevens B, Pietiläinen O, Burberry A, Eggan K* (2023) Single-nucleus sequencing reveals enriched expression of genetic risk factors in Extratelencephalic Neurons sensitive to degeneration in ALS. *bioRxiv*: 2021.07.12.452054.
<https://doi.org/10.1101/2021.07.12.452054>
93. *De Andrade Costa A, Chatterjee J, Cobb O, Sanapala S, Scheaffer S, Guo X, Dahiya S, Gutmann DH* (2022) RNA sequence analysis reveals ITGAL/CD11A as a stromal regulator of murine low-grade glioma growth. *Neuro Oncol* 24: 14–26.
<https://doi.org/10.1093/neuonc/noab130>
94. *Smajić S, Prada-Medina CA, Landoulsi Z, Ghelfi J, Delcambre S, Dietrich C, Jarazo J, Henck J, Balachandran S, Pachchek S, Morris CM, Antony P, Timmermann B, Sauer S, Pereira SL, Schwamborn JC, May P, Grünewald A, Spielmann M* (2022) Single-cell sequencing of human midbrain reveals glial activation and a Parkinson-specific neuronal state. *Brain* 145: 964–978.
<https://doi.org/10.1093/brain/awab446>
95. *Kracht L, Borggrewe M, Eskandar S, Brouwer N, Chuva de Sousa Lopes SM, Laman JD, Scherjon SA, Prins JR, Kooistra SM, Eggen BJL* (2020) Human fetal microglia acquire homeostatic immune-sensing properties early in development. *Science* 369: 530–537.
<https://doi.org/10.1126/science.aba5906>
96. *Wohleb ES, Patterson JM, Sharma V, Quan N, Godbout JP, Sheridan JF* (2014) Knockdown of interleukin-1 receptor type-1 on endothelial cells attenuated stress-induced neuroinflammation and prevented anxiety-like behavior. *J Neurosci* 34: 2583–2591.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.3723-13.2014>
97. *Johnson JD, Campisi J, Sharkey CM, Kennedy SL, Nickerson M, Greenwood BN, Fleshner M* (2005) Catecholamines mediate stress-induced increases in peripheral and central inflammatory cytokines. *Neuroscience* 135: 1295–1307.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.06.090>
98. *Colton CA, Chernyshev ON* (1996) Inhibition of microglial superoxide anion production by isoproterenol and dexamethasone. *Neurochem Int* 29: 43–53.
[https://doi.org/10.1016/0197-0186\(95\)00139-5](https://doi.org/10.1016/0197-0186(95)00139-5)
99. *Mori K, Ozaki E, Zhang B, Yang L, Yokoyama A, Takeda I, Maeda N, Sakanaka M, Tanaka J* (2002) Effects of norepinephrine on rat cultured microglial cells that express α 1, α 2, β 1 and β 2 adrenergic receptors. *Neuropharmacology* 43(6): 1026–1034.
[https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(02\)00211-3](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(02)00211-3)
100. *Schramm E, Waisman A* (2022) Microglia as Central Protagonists in the Chronic Stress Response. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 9.
<https://doi.org/10.1212/nxi.000000000200023>
101. *Mazzolini J, Le Clerc S, Morisse G, Coulonges C, Kuil LE, van Ham TJ, Zagury JF, Sieger D* (2020) Gene expression profiling reveals a conserved microglia signature in larval zebrafish. *Glia* 68: 298–315.
<https://doi.org/10.1002/glia.23717>

102. Zhang J, Zheng Y, Luo Y, Du Y, Zhang X, Fu J (2019) Curcumin inhibits LPS-induced neuroinflammation by promoting microglial M2 polarization via TREM2/TLR4/NF- κ B pathways in BV2 cells. *Mol Immunol* 116: 29–37.
<https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.09.020>
103. Sanjay, Shin JH, Park M, Lee HJ (2022) Cyanidin-3-O-Glucoside Regulates the M1/M2 Polarization of Microglia via PPAR γ and A β 42 Phagocytosis Through TREM2 in an Alzheimer's Disease Model. *Mol Neurobiol* 59: 5135–5148.
<https://doi.org/10.1007/s12035-022-02873-9>
104. Li L, He YL, Xu N, Wang XF, Song B, Tang BQ, Lee SM (2024) A natural small molecule aspidosperma-type alkaloid, hecubine, as a new TREM2 activator for alleviating lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in vitro and in vivo. *Redox Biol* 70: 103057.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103057>
105. Cosacak MI, Bhattarai P, De Jager PL, Menon V, Tosto G, Kizil C (2022) Single Cell/Nucleus Transcriptomics Comparison in Zebrafish and Humans Reveals Common and Distinct Molecular Responses to Alzheimer's Disease. *Cells* 11.
<https://doi.org/10.3390/cells11111807>
106. Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, Bennett ML, Münch AE, Chung W-S, Peterson TC, Wilton DK, Frouin A, Napier BA, Panicker N, Kumar M, Buckwalter MS, Rowitch DH, Dawson VL, Dawson TM, Stevens B, Barres BA. (2017) Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541: 481–487.
<https://doi.org/10.1038/nature21029>
107. Guttenplan KA, Weigel MK, Prakash P, Wijewardhane PR, Hasel P, Rufen-Blanchette U, Münch AE, Blum JA, Fine J, Neal MC, Bruce KD, Gitler AD, Chopra G, Liddelow SA, Barres BA (2021) Neurotoxic reactive astrocytes induce cell death via saturated lipids. *Nature* 599: 102–107.
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03960-y>
108. Li D, Chen M, Meng T, Fei J (2020) Hippocampal microglial activation triggers a neurotoxic-specific astrocyte response and mediates etomidate-induced long-term synaptic inhibition. *J Neuroinflamm* 17: 109.
<https://doi.org/10.1186/s12974-020-01799-0>
109. Lian H, Yang L, Cole A, Sun L, Chiang Angie CA, Fowler Stephanie W, Shim David J, Rodriguez-Rivera J, Taglialatela G, Jankowsky Joanna L, Lu H-C, Zheng H (2015) NF κ B- Activated Astroglial Release of Complement C3 Compromises Neuronal Morphology and Function Associated with Alzheimer's Disease. *Neuron* 85: 101–115.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.018>
110. Kwon HS, Koh SH (2020) Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: The roles of microglia and astrocytes. *Transl Neurodegener* 9: 42.
<https://doi.org/10.1186/s40035-020-00221-2>
111. Shi Q, Chowdhury S, Ma R, Le KX, Hong S, Caldarone BJ, Stevens B, Lemere CA (2017) Complement C3 deficiency protects against neurodegeneration in aged plaque-rich APP/PS1 mice. *Sci Transl Med* 9: eaaf6295.
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf6295>
112. Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, Frouin A, Li S, Ramakrishnan S, Merry KM, Shi Q, Rosenthal A, Barres BA, Lemere CA, Selkoe DJ, Stevens B (2016) Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science* 352: 712–716.
<https://doi.org/10.1126/science.aad8373>
113. Zamanian JL, Xu L, Foo LC, Nouri N, Zhou L, Giffard RG, Barres BA (2012) Genomic analysis of reactive astrogliosis. *J Neurosci* 32: 6391–6410.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.6221-11.2012>
114. Fan YY, Huo J (2021) A1/A2 astrocytes in central nervous system injuries and diseases: Angels or devils? *Neurochem Int* 148: 105080.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105080>
115. Chang J, Qian Z, Wang B, Cao J, Zhang S, Jiang F, Kong R, Yu X, Cao X, Yang L, Chen H (2023) Transplantation of A2 type astrocytes promotes neural repair and remyelination after spinal cord injury. *Clin Transl Med CCS* 21: 37.
<https://doi.org/10.1186/s12964-022-01036-6>

116. Norden DM, Fenn AM, Dugan A, Godbout JP (2014) TGF β produced by IL-10 redirected astrocytes attenuates microglial activation. *Glia* 62: 881–895.
<https://doi.org/10.1002/glia.22647>
117. Miyamoto N, Magami S, Inaba T, Ueno Y, Hira K, Kijima C, Nakajima S, Yamashiro K, Urabe T, Hattori N. (2020) The effects of A1/A2 astrocytes on oligodendrocyte lineage cells against white matter injury under prolonged cerebral hypoperfusion. *Glia* 68: 1910–1924.
<https://doi.org/10.1002/glia.23814>
118. Shiow LR, Favrais G, Schirmer L, Schang AL, Cipriani S, Andres C, Wright JN, Nobuta H, Fleiss B, Gressens P, Rowitch DH (2017) Reactive astrocyte COX2-PGE2 production inhibits oligodendrocyte maturation in neonatal white matter injury. *Glia* 65: 2024–2037.
<https://doi.org/10.1002/glia.23212>
119. Spurgat MS, Tang SJ (2022) Single-Cell RNA-Sequencing: Astrocyte and Microglial Heterogeneity in Health and Disease. *Cells* 11.
<https://doi.org/10.3390/cells11132021>
120. Hasel P, Rose IVL, Sadick JS, Kim RD, Liddel SA (2021) Neuroinflammatory astrocyte subtypes in the mouse brain. *Nat Neurosci* 24: 1475–1487.
<https://doi.org/10.1038/s41593-021-00905-6>
121. Demin KA, Krotova NA, Ilyin NP, Galstyan DS, Kolesnikova TO, Strekalova T, de Abreu MS, Petersen EV, Zabegalov KN, Kalueff AV (2022) Evolutionarily conserved gene expression patterns for affective disorders revealed using cross-species brain transcriptomic analyses in humans, rats and zebrafish. *Sci Rep* 12: 20836.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-22688-x>
122. Clarke LE, Liddel SA, Chakraborty C, Münch AE, Heiman M, Barres BA (2018) Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115(8): E1896–E1905.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1800165115>
123. Clark DPQ, Perreau VM, Shultz SR, Brady RD, Lei E, Dixit S, Taylor JM, Beart PM, Boon WC (2019) Inflammation in Traumatic Brain Injury: Roles for Toxic A1 Astrocytes and Microglial-Astrocytic Crosstalk. *Neurochem Res* 44: 1410–1424.
<https://doi.org/10.1007/s11064-019-02721-8>
124. Jin Y, Yao Y, El-Ashram S, Tian J, Shen J, Ji Y (2019) The Neurotropic Parasite *Toxoplasma gondii* Induces Astrocyte Polarization Through NF κ B Pathway. *Front Med* 6: 267.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00267>
125. Fujita A, Yamaguchi H, Yamasaki R, Cui Y, Matsuoka Y, Yamada KI, Kira JI (2018) Connexin 30 deficiency attenuates A2 astrocyte responses and induces severe neurodegeneration in a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride Parkinson's disease animal model. *J Neuroinflammation* 15: 227.
<https://doi.org/10.1186/s12974-018-1251-0>
126. King A, Szekely B, Calapokulu E, Ali H, Rios F, Jones S, Troakes C (2020) The increased densities, but different distributions, of both C3 and S100A10 immunopositive astrocyte-like cells in Alzheimer's disease brains suggest possible roles for both A1 and A2 astrocytes in the disease pathogenesis. *Brain Sci* 10: 503.
<https://doi.org/10.3390/brainsci10080503>
127. Scheib J, Byrd-Jacobs C (2020) Zebrafish Astroglial Morphology in the Olfactory Bulb Is Altered With Repetitive Peripheral Damage. *Front Neuroanat* 14: 4.
<https://doi.org/10.3389/fnana.2020.00004>
128. Lyons DA, Talbot WS (2014) Glial cell development and function in zebrafish. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7: a020586.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020586>
129. Chen J, Poskanzer KE, Freeman MR, Monk KR (2020) Live-imaging of astrocyte morphogenesis and function in zebrafish neural circuits. *Nat Neurosci* 23: 1297–1306.
<https://doi.org/10.1038/s41593-020-0703-x>
130. Geirsdottir L, David E, Keren-Shaul H, Weiner A, Bohlen SC, Neuber J, Balic A, Giladi A, Sheban F, Dutertre C-A, Pfeifle C, Peri F, Raffo-Romero A, Vizioli J, Matiassek K, Scheiwe C, Meckel S, Mätz-Rensing K, van der Meer F, Thormodsson FR, Stadelmann C, Zilkha N, Kimchi T, Ginhoux F, Ullitsky I, Erny D, Amit I, Prinz M (2019) Cross-Species Single-Cell Analysis Reveals Divergence of the Primate Microglia Program. *Cell* 179: 1609–22.e16.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.11.010>
131. Bernardos RL, Raymond PA (2006) GFAP transgenic zebrafish. *Gene Expr Patterns* 6: 1007–1013.
<https://doi.org/10.1016/j.modgep.2006.04.006>
132. Pu YZ, Liang L, Fu AL, Liu Y, Sun L, Li Q, Wu D, Sun MJ, Zhang YG, Zhao BQ (2017) Generation of Alzheimer's Disease Transgenic Zebrafish Expressing Human APP Mutation Under Control of Zebrafish appb Promotor. *Curr Alzheimer Res* 14: 668–679.
<https://doi.org/10.2174/1567205013666161201202000>

133. Doyle JM, Croll RP (2022) A Critical Review of Zebrafish Models of Parkinson's Disease. *Front Pharmacol* 13: 835827.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.835827>
134. Bai Q, Burton EA (2011) Zebrafish models of Tauopathy. *Biochim Biophys Acta* 1812: 353–363.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.09.004>
135. Zeng CW (2023) Macrophage-Neuroglia Interactions in Promoting Neuronal Regeneration in Zebrafish. *International Int J Mol Sci* 24.
<https://doi.org/10.3390/ijms24076483>
136. Vistain LF, Tay S (2021) Single-Cell Proteomics. *Trends Biochem Sci* 46: 661–672.
<https://doi.org/10.1016/j.tibs.2021.01.013>
137. He J, Mo D, Chen J, Luo L (2020) Combined whole-mount fluorescence in situ hybridization and antibody staining in zebrafish embryos and larvae. *Nat Protoc* 15: 3361–1379.
<https://doi.org/10.1038/s41596-020-0376-7>

On Functional Heterogeneity of Micro- and Astroglia

M. M. Kotova^a, K. V. Apukhtin^a, S. V. Nikitin^b, and A. V. Kalueff^{a, c, d, *}

^aNeurobiology Program, Scientific Center for Genetics and Life Sciences, Sirius University of Science and Technology, Federal Territory Sirius, Russia

^bImmunobiology and Biomedicine Program, Scientific Center for Genetics and Life Sciences, Sirius University of Science and Technology, Federal Territory Sirius, Russia

^cInstitute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

^dInstitute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Center, Ministry of Health of Russian Federation, St. Petersburg, Russia

*E-mail: avkalueff@gmail.com

Neuroglia is an important component of the nervous system, and its role in the brain has recently been actively reconsidered. In addition to maintaining the homeostasis of the central nervous system (CNS), glial cells are involved in the pathogenesis of many brain diseases, which makes their further study highly relevant translationally. With the development of novel research methods, data on greater heterogeneity of glia cells are becoming available, calling for revising the existing classification of microglia and astroglia, as some of them do not fit into the current binary paradigm. Here, we discuss cross-taxon features of microglia and astrocyte cells in mammals and zebrafish, and recent data on glia in normal and pathological conditions, which may form the basis for a new systematics of neuroglia and, eventually, help identify novel therapeutic targets.

Keywords: microglia, astroglia, cell populations, zebrafish