

И.К. Сванидзе, Е.В. Дидимова и Н.Н. Гвинадзе

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ РЕСНИЧНОГО АППАРАТА ЭПЕНДИМНЫХ КЛЕТОК ВОДОПРОВОДА СРЕДНЕГО МОЗГА ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕКОТОРЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

Отдел нейроанатомии (руков. — проф. И.К. Сванидзе), Институт физиологии им. И. Бериташвили, Тбилиси, Грузия, e-mail: igor-svanidze@mail.ru, nin_got@yahoo.com

Изучение *in vitro* влияния нейромедиаторных аминокислот на двигательную активность ресничного аппарата эпендимных клеток водопровода среднего мозга новорожденных белых крыс показало, что введение в питательную среду глутамата, гамма-аминомасляной кислоты, глицина и таурина вызывает замедление, а затем полное прекращение активности ресничного аппарата. Торможение и остановка активности ресничек под влиянием нейромедиаторов, особенно глутамата в высокой концентрации, указывают на присутствие соответствующих рецепторов на мембране эпендимных клеток водопровода мозга, что подтверждено в экспериментах с предварительным введением в питательную среду блокаторов ионных каналов — кетамина, стрихнина и биккукулина, которые ослабляли деструктивное влияние нейромедиаторов и продлевали деятельность ресничного аппарата.

Ключевые слова: средний мозг, водопровод среднего мозга, эпендимные клетки, ресничный аппарат, нейромедиаторы

Нейромедиаторы — гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), таурин, глицин, глутамат и аспарагиновая кислота — входят в состав спинномозговой жидкости (СМЖ) грызунов, кошек, собак, обезьян и человека. Концентрация нейромедиаторов в СМЖ не изменяется при патологических состояниях. Нарушения метаболизма некоторых нейромедиаторов, особенно глутамата, приводят к тяжелым поражениям нейронов, клеток глии и миелина [6]. Цитотоксический эффект при увеличении концентрации глутамата наблюдается при эпилепсии, ишемии, боковом амиотрофическом и рассеянном склерозе, а также болезни Альцгеймера [1, 2].

Поскольку перечисленные нейромедиаторы, входящие в состав СМЖ, находятся в непосредственном контакте с эпендимными клетками желудочков, можно предположить, что повышение концентрации этих медиаторов, особенно глутамата, способно оказать влияние и на эпендимные клетки водопровода среднего мозга, несущие на апикальной поверхности ресничный аппарат, принимающий участие в циркуляции СМЖ. Нарушение работы ресничного аппарата, вплоть до его полной остановки, при цитотоксическом влиянии глутамата может привести к торможению тока СМЖ из III желудочка в IV и далее в венозную систему, способствуя повышению внутричерепного давления.

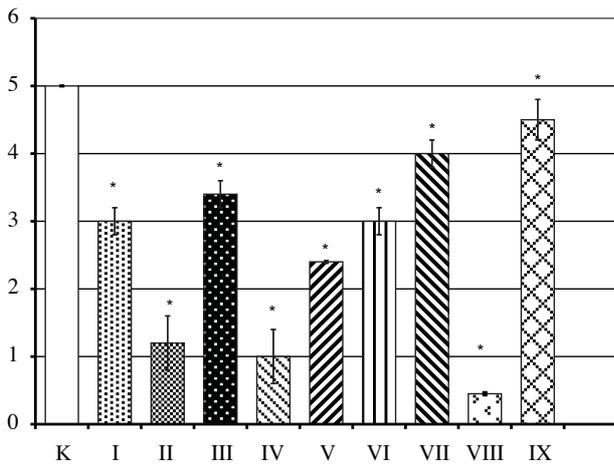
Цель настоящей работы — определение возможного цитотоксического влияния нейромедиаторов — глутамата, ГАМК, глицина и таурина на

работу ресничного аппарата эпендимных клеток водопровода среднего мозга.

Материал и методы. Исследованы первичные культуры эпендимных клеток водопровода среднего мозга новорожденных белых крыс.

Эксплантаты культивировали в стеклянных камерах с плоскопараллельными стенками. С целью сохранения условий для нормальной работы ресничного аппарата расстояние между предметным и покровным стеклом составляло 0,17 мм. Противоположные стороны камер были открытыми для введения веществ и оттока питательной среды. По достижении необходимой концентрации веществ в питательной среде перфузию прекращали. Предварительно была определена скорость диффузии растворов в стеклянных камерах и замены стандартной питательной среды на среду, содержащую испытуемые вещества. Введение 10% формалина показало, что замена питательной среды длится 5 мин ($P < 0,001$), после чего сократительная активность ресничек прекращается. Культивирование проводили при 36 °C в среде Игла (DME, Sigma, Германия), которая не содержала медиаторных аминокислот. Изучение работы ресничного аппарата проводили с помощью микроскопов Enaval (Zeiss, Германия) и MPI-5 (Польша). Использовали концентрации нейромедиаторов, которые при их введении в питательную среду культур спинного мозга и коры головного мозга эмбрионов и новорожденных животных угнетали или стимулировали биоэлектрическую активность, и концентрации антагонистов, которые блокировали этот эффект [3]. С целью выявления нейротоксического влияния глутамата были использованы его высокие концентрации.

Исследованы следующие серии культур: 1) интактные культуры, питательная среда которых не содержала нейромедиаторов; 2) культуры, в питательную среду которых под визуальным контролем в перфузионную камеру вводили нейромедиаторы в концентрации: глутамат (Serva, Германия) — 2 ммоль и 5 ммоль, ГАМК (Serva, Германия) — 10 ммоль,



Время проявления ингибирующего влияния нейромедиаторов на двигательную активность ресничного аппарата.

По горизонтальной оси: К — контроль; концентрация нейромедиаторов: I — глутамат 2 ммоль; II — глутамат 5 ммоль; III — кетамин 0,1 ммоль+глутамат 5 ммоль; IV — глицин 0,4 ммоль; V — стрихнин 10 ммоль+глицин 10 ммоль; VI — гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) 10 ммоль; VII — бикикулин 10 ммоль+ГАМК 10 ммоль; VIII — таурин 1 ммоль; IX — стрихнин 10 ммоль+таурин 1 ммоль; по оси ординат — исследованный показатель (ч); звездочки — различия, значимые по сравнению с контролем; вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки.

глицин (Reanal, Венгрия) — 10 ммоль, таурин (Нетарол, Польша) — 1 ммоль; 3) серия культур, в питательную среду которых за 10 мин до введения нейромедиаторов вводили соответствующие антагонисты с целью подтверждения достоверности эффектов, вызванных действием нейромедиаторов: кетамин (Rotexmedica, Франция) — 0,1 ммоль, стрихнин (Sigma, Германия) — 10 ммоль, бикикулин (Serva, Германия) — 10 ммоль. Колхицин (Ferak, Германия) вводили в концентрации 2 ммоль.

Во всех опытах о результате цитотоксического влияния веществ судили по времени полного прекращения активности биения ресничек. Полученные цифровые данные статистически обрабатывали с использованием критериев Фишера и Стьюдента.

Результаты исследования. Взятие материала и помещение его в перфузионную камеру на поверхность коллагена вызывало нарушение целостности эпендимного пласта водопровода мозга. В связи с этим на протяжении всего эксперимента была возможность изучить работу ресничного аппарата клеток эпендимы в составе целого пласта, его фрагментов и отдельных клеток. Изучение контрольных серий культур показало, что скорость и длительность биения ресничек без замены питательной среды остаются неизменными в течение 24 ч. Введение в питательную среду колхицина, который связывается с димером тубулина микротрубочек аксолеммы

и вызывает их деполимеризацию, останавливало биение ресничек через 2 ч ($P < 0,001$).

Введение в питательную среду нейромедиаторов глутамата, глицина, ГАМК и таурина оказало тормозящее влияние на активность ресничного аппарата (рисунок). Наиболее выраженное влияние оказали глутамат в концентрации 5 ммоль и глицин в концентрации 10 ммоль. Активность биения прекращалась соответственно через 1 ч и 1 ч 20 мин. Глутамат в концентрации 2 ммоль оказывал тормозящее действие лишь через 3 ч после введения в питательную среду. Предварительное введение в питательную среду антагониста глутаматного рецептора — кетамина ослабляло деструктивное влияние нейромедиаторов и увеличивало время активной работы ресничного аппарата до 4 ч. Введение антагониста глицина и таурина — стрихнина, а также антагониста ГАМК — бикикулина увеличивало продолжительность активности ресничек до 2 ч 10 мин и 4 ч соответственно.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что введение в среду как возбуждающих, так и тормозящих биоэлектрическую активность нейромедиаторов водопровода мозга новорожденных животных вызывает в культурах клеток эпендимы замедление, а затем полную остановку активности ресничек.

Обсуждение полученных данных. Остановка активности ресничек под влиянием нейромедиаторных аминокислот, особенно глутамата в высокой концентрации, возможно, указывает на локализацию соответствующих рецепторов на апикальной поверхности эпендимных клеток водопровода мозга новорожденных животных. Рецепторы ГАМК, глутамата и некоторых других нейромедиаторов обнаружены на плазматической мембране астро-, олигодендро- и микроглиоцитов [4, 7]. Возможное участие рецепторов, расположенных на апикальной поверхности эпендимных клеток, в формировании цитотоксического эффекта, вызванного нейромедиаторами, находит подтверждение в экспериментах с предварительным введением в питательную среду антагонистов-блокаторов СГ-каналов и активируемых N-метил D-аспарагиновой кислотой каналов, кетамина, стрихнина и бикикулина, которые ослабляют деструктивное действие нейромедиаторов и продлевают активность ресничек. В этом отношении представляет интерес изучение влияния креатина в качестве фактора, ослабляющего токсическое действие глутамата и восстанавливающего энергетический баланс клетки [5].

Полученные данные расширяют представления о возможных путях распространения цито-

токсического влияния нейромедиаторов и свидетельствуют о вовлечении в деструктивный процесс ресничного аппарата эпендимных клеток водопровода мозга новорожденных животных. Ослабление цитотоксического эффекта введением антагонистов указывает на возможность предотвращения ингибирующего влияния нейромедиаторных аминокислот на работу ресничного аппарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айрапетян К.В., Завалишин И.А., Никитин С.С. и Бархатова В.П. Патологические и патохимические механизмы центральных двигательных нарушений при боковом амиотрофическом склерозе. Журн. неврол. и психиатр., 2000, № 7, с. 33–36.
2. Белкина А.А. Биохимические механизмы нарушения нейромимического взаимодействия при рассеянном склерозе. Журн. неврол. и психиатр., 2000, № 11, с. 42–46.
3. Крейн С. Нейрофизиологические исследования в культуре ткани. М., Мир, 1980.
4. Hosli L., Hosli E., Uhr M. and Della Britta G. Electrophysiological evidence for adenosine receptors on astrocytes of cultured rat central nervous system. Neurosci. Lett., 1987, v. 79, p. 108–112.
5. Juravleva E., Barbakadze T., Mikeladze D. and Kekelidze T. Creatin enhances survival of glutamate-treated neuronal/glia cell, modulates Ras/NF-kappaB signaling, and increases the generation of reactive oxygen species. J. Neurosci. Res., 2005, v. 79, № 1–2, p. 224–230.
6. Olby N.J., Sharp N.J., Munana K.R. and Papich M.G. Chronic and acute compressive spinal cord lesions in dogs due to intervertebral disc herniation are associated with elevation in lumbar

cerebrospinal fluid glutamate concentration. J. Neurotrauma, 1999, v. 16, № 12, p. 1215–1224.

7. Steinhäuser C. and Gallo V. News on glutamate receptors in glial cells. Trends Neurosci., 1996, v. 19, № 8, p. 339–345.

Поступила в редакцию 16.09.09

Получена после доработки 10.09.10

CHANGES IN THE ACTIVITY OF THE CILIARY APPARATUS OF THE CEREBRAL AQUEDUCT EPENDYMAL CELLS INDUCED BY SOME CEREBROSPINAL FLUID NEUROTRANSMITTERS

I.K. Svanidze, Ye.V. Didimova and N. N. Gvinadze

In vitro investigation of the effect of the neurotransmitter amino acids on motile activity of the ciliary apparatus of cerebral (Sylvian) aqueduct ependymal cells in the newborn rats has shown that the addition of glutamate, GABA, glycine, and taurine to the nutrient medium induced deceleration and, finally, complete disappearance of motile activity of the ciliary apparatus. Inhibition and blocking of the ciliary activity induced by the neurotransmitters, especially by high concentrations of glutamate, indicate the existence of respective receptors on the membrane of the cerebral aqueduct ependymal cells. This involvement of the receptors was confirmed in the experiments with the preliminary introduction of ion channel blockers (ketamine, strychnine, and bicuculine) into the culture medium that resulted in the attenuation of neurotransmitter destructive effect and the prolongation of motile activity of the ciliary apparatus.

Key words: *midbrain, cerebral aqueduct, ependymal cells, ciliary apparatus, neurotransmitters*

Department of Neuroanatomy, I. Beritashvili Institute of Physiology, Tbilisi, Georgia