

Ю.В. Сілкина, О.С. Худяков, І.А. Клопоцький, С.І. Хмель  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпро

## РОЛЬ АСТРОЦИТІВ В ПІДТРИМАННІ ГОМЕОСТАЗУ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ

E-mail: yusilkina07@gmail.com

Статтю присвячено огляду даних літератури щодо основних функцій астроцитів, які мають значення для нормального функціонування нервової системи. Йдеться про підтримку вмісту калію в позаклітинній рідині, оскільки астроцити виконують роль буфера для іонів калію завдяки наявності випрямляючі калієвих каналів типу Kir 4.1. Також описано роль аквапоринів 4-го типу (AQR4), що локалізуються на ніжках астроцитів, які беруть участь в регуляції водного балансу тканини мозку. Наведено дані, що свідчать про роль астроцитів в підтримці тонуусу судин головного мозку шляхом збалансування процесів вазодилатарії / вазоконтракції за допомогою кальцій-залежного, глутамат-залежного та інших механізмів.

**Ключові слова:** нервова система, астроцит, випрямляючі калієві канали, аквапорини, тонуус судин мозку.

*Робота є фрагментом НДР «Вивчення механізмів компенсаторно-адаптивних реакцій нервової системи при дії екстремальних факторів», № державної реєстрації 0100200307.*

Астроцити є найбільш чисельними не нейронними клітинами, які входять до складу центральної нервової системи і займають майже половину об'єму мозку людини. За класичною класифікацією астроцити поділяються на три основні види за морфологією та просторовою організацією: *радіальні*, які оточують шлуночки, *протоплазматичні*, локалізовані в сірій речовині, а також *волокнисті*, що знаходяться в білій речовині. Вони складаються з тіла та відростків, за допомогою яких астроцити утворюють між собою особливі міжклітинні контакти (нексуси), які забезпечують рух іонів та низькомолекулярних речовин (з масою до 1 кД) від клітини до клітини. Сітка з астроцитів, незалежно від оточуючих нейронів, рівномірно розподілена у нервовій тканині, контактуючи з нейронами через ламелярні відростки, завдяки чому виконують кілька важливих функцій: забезпечують нормальну нейронну активність, включаючи захват та вивільнення глутамату, регулюють ток іонів  $K^+$  та  $H^+$ , а також контролюють переміщення води між клітинним та позаклітинним секторами [23].

Астроцити, як і всі клітини, мають у складі плазмолемі калієві та натрієві канали, які забезпечують активний рух іонів, але, на відміну від нейронів, астроцити при цьому збуджуються не для того, аби поширювати потенціал дії вздовж своєї мембрани [16]. Збудження астроцитів в результаті току іонів дозволяє регулювати підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію. Останній задіяний у механізмах регуляції судинного тонуусу.

На сьогоднішній день є велика кількість доказів того, що регульоване підвищення астроцитарного  $Ca^{2+}$  також має функціональне значення в міжастроцитарних та астроцит-нейрональних зв'язках. Є дані, що під дією нейромедіатора глутамата, який вивільнюється в процесі функціонування нейрону та може зв'язуватися із метаболічними глутаматними рецепторами на астроцитах (mGlu), після чого відбувається підвищення внутрішньо астроцитарного  $Ca^{2+}$  в результаті виходу останнього із клітинних депо. Це у свою чергу опосередковано впливає як на розповсюдження струму по нейронному ланцюгу [1], так і на збудження сусідніх астроцитів.

Вивчення особливих  $K^+$  каналів у складі плазмолемі астроцитів дозволило встановити, що порушення їх роботи, наслідком якого є зміна мембранного потенціалу астроцита, призводить до пригнічення захоплення калію з позаклітинної рідини й посилення короткострокової синаптичної потенціалії в нейронах. Отже, шляхом зв'язування надлишкового глутамату, а також зменшення концентрації калію у міжклітинній речовині мозку, астроцити здатні знижувати збудливість нервових клітин.

Існував довгий період часу, коли в уявленні науковців, які вивчали функціональні розлади та структурні ураження центральної нервової системи (ЦНС) [4, 5], біологічна роль астроцитів обмежувалася двома функціями: підтримувальною та репаративною у разі пошкодження тканини мозку (реактивний астрогліоз є надійним і чутливим маркером хворої нервової тканини). Поняття про те, що первинна дисфункція астроцитів може бути причиною патологічних змін в тканині ЦНС, не розглядалися. За останні 30 років стало зрозуміло, що астроцити відповідають за широкий діапазон складних та ключових функцій у здоровій ЦНС. Зростає сукупність доказів, які

вказують на зв'язок порушення нормальних функцій астроцитів або посилення їх аномальних ефектів із захворюваннями нервової системи [3, 9, 10].

**Метою** даної статті є узагальнення наукових даних щодо основних функцій астроцитів, які мають важливе значення для нормального функціонування ЦНС, а саме: буферної функції для іонів  $K^+$ , участі в регуляції тонуусу стінки судин мозку та в транспорті молекул води. Це дасть змогу краще зрозуміти механізми патологічних реакцій у мозку та розвитку патологічних станів у разі зсувів якісних та кількісних характеристик астроцитів.

#### *Буферна система для калію*

Однією з важливих функцій астроцитів є регуляція концентрації іонів калію у позаклітинній рідині. Всі клітини нервової системи мають значну кількість  $K^+$  каналів, які транспортують калій у клітину, однак найбільшу – буферну – роль відіграють саме астроцити. Концентрація калію у позаклітинній рідині може коливатися від 3 мМ у нормі до 10 мМ під час епілептичного збудження та навіть до 30 мМ при депресії, що спричиняє порушення синаптичної передачі та підвищену збудливість нейронів [26].

Плазматична ж мембрана астроцитів має високу проникність для калію, що дозволяє у разі підвищення його концентрації у позаклітинній рідині поглинати надлишки та підтримувати гомеостаз тканини мозку. Функцію «адсорбентів» калію астроцити виконують завдяки наявності спеціальних калієвих каналів внутрішнього випрямлення - Kir (K-inward rectifier channel), які здатні транспортувати  $K^+$  іони тільки у клітину, що дозволяє стабілізувати мембранний потенціал покою у вигляді гіперполяризації. Існує декілька типів випрямляючих каналів - Kir2.0, Kir2.1, Kir2.3, Kir4.1 та Kir5.0. Але найбільш вивченим є слабо випрямляючий канал Kir4.1, проникність якого незначно змінюється при деполяризації мембрани, що при низьких значеннях потенціалу дозволяє іонам калію вільно виходити з клітини за електрохімічним градієнтом [19]. Саме вони у значній кількості присутні в мембрані астроцитів.

Існує стійка позитивна кореляція між високою концентрацією рівня  $K^+$  у позаклітинній рідині та вазодилатацією мозкових артерій. Ще у середині 80-х було встановлено, що астроцитарні ніжки, які, як муфтою, огортають судини, мають високу густину  $K^+$  каналів [21]. У зв'язку з цим була запропонована теорія про те, що активність транспортування калію через астроцитарні ніжки впливає на тонус гладких м'язів судинної стінки, згідно з якою калієві канали астроцитів збуджуються у відповідь на локальну підвищену активність нейронів з метою збільшення кровотоку в цій ділянці за рахунок нібито деполяризації тих ділянок астроцитів, які наближені до зони з високим рівнем позаклітинного  $K^+$ . Причому в той же час в незбуджених ділянках астроциту спостерігався витік  $K^+$ . Припускали, що оскільки найвища густина калієвих каналів Kir4.1 типу знаходиться на астроцитарних ніжках, зростання позаклітинної концентрації через витік калію буде спостерігатися біля кровоносних судин [22].

Пізніше група дослідників [27] запропонувала інший механізм асоціації двох процесів - витоку  $K^+$  через астроцит та вазодилатації, додавши третього «учасника» - кальцій. Було продемонстровано, що зростання в цитоплазмі ніжок астроцитів концентрації  $Ca^{2+}$  через активацію глутаматних рецепторів mGluR призводить до витоку  $K^+$  з ніжок астроцитів, підвищуючи тим самим його концентрацію у позаклітинній рідині. Це, у свою чергу, активізує Kir-канали на гладком'язових клітинах судин, посиленню входженню  $K^+$  в м'язи, вводячи їх у стан гіперполяризації та розслаблення, результатом чого є вазодилатація. Таким чином, автори пояснили ефект вазодилатації через акумуляцію позаклітинного глутамату: останній може збільшувати концентрацію позаклітинного  $K^+$  через його витік з астроцитів; навпаки – зміни концентрації позаклітинного  $K^+$  можуть впливати на час перебування глутамату в синаптичній щілині. Основним регулятором цих процесів виявився астроцит. Дослідження «поведінки» астроцитів в перифокальних ділянках інфаркту мозку виявило особливості експресії глутаматних рецепторів та глутамінсинтетази в астроцитах. Зміна параметрів глутаматного апарату в відростках астроцитів відображає, за думкою авторів, зміни медіаторного та енергетичного обміну нервової тканини в ділянці інфаркту [2].

Ці знахідки важливі для розуміння астроцитарних механізмів впливу при ексудативній ексайтотоксичності глутамату та при захворюваннях, пов'язаних з порушенням гомеостазу  $K^+$  (наприклад, інсульті, мігрені та епілепсії) [15].

Проте, теорія щодо залежності вазодилатації від витоку  $K^+$  в ділянках ніжок астроцитів виявилась недосконалою, оскільки з'явилися дані, що у Kir4.1-нокаутних та у дикого типу мишей позаклітинна концентрація  $K^+$  після прямої стимуляції астроцитів мало відрізняється [22].

#### *Регуляція тонуусу судин*

Зміна мозкового кровотоку через контроль тонуусу гладких м'язів судин головного мозку є критично важливим для того, щоб швидкість доставки поживних речовин відповідала рівню активності нейронів. Відомо, що перемикання вазоконстрикції та вазодилатації відбувається аденозином, киснем та лактатом. Але, хоча тісний зв'язок астроцитів з судинами мозку визнаний давно, лише останнім часом були встановлені механізми передачі ними інформації про рівень активності та, відповідно, енергетичні потреби нейронів до судинної системи [18]. Зокрема, астроцити реагують на підвищену концентрацію позаклітинного глутамату шляхом приєднання його до своїх метаболічних глутаматних рецепторів, через що підвищується концентрація внутрішньоклітинного кальцію і т.д. (механізм описаний вище). Цікаво, що висока концентрація кальцію в астроцитах може викликати як вазоконстрикцію, так і вазодилатацію.

Групою вчених, яку очолює G. Gordon [12] було встановлено, що загальною умовою для обох вазомоторних реакцій є утворення в астроцитах арахідонової кислоти за допомогою  $Ca^{2+}$ -чутливої фосфоліпази  $A_2$  з подальшим формуванням низки дериватів, які можуть мати різноспрямовані вазоактивні ефекти. Так, утворена з арахідонової кислоти 20-гідроксиейкозатетраєнова кислота (20 HETE) працює як вазоконстриктор, тоді як вазодилатація відбувається в разі утворення за допомогою ферментів ЦОГ епоксиейкозатрієнової кислоти (EET) або простагландину  $E_2$ . Фактори, які «вмикають» констрикторний або дилатаційний ефект, наступні: кисень, лактат, аденозин, а також оксид азоту. Ці дані підкреслюють важливість астроцитів як датчиків нейронної активності та координаторів швидкості доставки основних поживних речовин з крові до робочих клітин.

Підтвердженням ролі астроцитів в регуляції кровотоку стали дослідження експлантів сітківки групою Ньюмана, яка виявила, що як в результаті вазодилатації, так і при вазоконстрикції можна спостерігати реакцію на стимуляцію світлом астроцитів сітківки, відомих як клітини Мюллера [18]. Ньюман використовував інгібітор синтезу EET, а саме N-метилсульфоніл-6-(2-пропаргілоксифеніл)-гексанамід та підтвердив участь 20-HETE у вазоконстрикції та EET у вазодилатації.

Іншою групою науковців [12] була більш глибоко вивчена здатність астроцитів викликати вазодилатацію чи вазоконстрикцію в залежності від метаболічного стану тканини мозку. Так, при зниженні концентрації кисню в крові через певні механізми в астроциті підвищується концентрація кальцію та активується анаеробний гліколіз з виділенням лактату в позаклітинну речовину. Останній зменшує поглинання астроцитами з позаклітинного простору простагландину  $E_2$ , що призводить до вазодилатації шляхом зв'язування його рецепторами на гладких м'язках судин. В умовах низької концентрації кисню також збільшується позаклітинний аденозин, що блокує астроцит-опосередковане звуження судин, полегшуючи їх розширення. Ці дані виявляють роль метаболічних субстратів у регуляції кровотоку мозку та забезпечують механізм диференційного контролю астроцитів над станом судин мозку в різних режимах його активності.

Тим не менш, необхідні подальші експерименти, щоб з'ясувати, чи відбувається це переключення при фізіологічних концентраціях кисню. Ця інформація є дуже важливою для твердження про здатність астроцитів звужувати чи розширювати артеріоли *in vivo* за допомогою описаного механізму, оскільки відомо, що різні ділянки мозку мають різні профілі концентрації кисню. Вплив на цей процес можна було б застосовувати як інструмент для контролю базального кровотоку *in vivo*, при якому зміни діаметра судин відбуваються як реакція на тонкі зміни екстрацелюлярної концентрації лактату та аденозину. Крім того, слід визначитися, чи описаний вище «кисневий маніпулятор» застосовується лише для регуляції базального кровотоку, чи кисень насправді є неправильним параметром для перевірки цього механізму *in vivo*, оскільки лактат і аденозин, які є кінцевими ефекторами, більш підходять для тестування. Нарешті, важливо зазначити, що зміни в метаболічному гомеостазі не завжди адекватно відзеркалюють зміни кровотоку в експерименті на тваринах. Наприклад, одностороння стимуляція передньої лапки тварини викликає очікуване збільшення обміну циклооксигенази (ЦОГ) та метаболізму глюкози в контралатеральній півкулі, однак в іпсилатеральній півкулі спостерігається зниження ЦОГ при збільшенні метаболізму глюкози [14]. Це цікаве спостереження демонструє складну взаємодію метаболічних та нейрогенних факторів, які в кінцевому підсумку визначають шляхи регуляції обміну речовин та енергетичного обміну.

#### *Регуляція руху води*

Ще одна важлива функція астроцитів – підтримання водного балансу в тканині мозку. У нормальному дорослому мозку вода, включаючи спино-мозкову рідину (СМР, ~ 75-100 мл), кров (~ 75-100 мл), внутрішньоклітинну рідину (1100-1,300 мл) та інтерстиційну рідину (~ 100-150 мл)

паренхіми мозку, розподіляється між декількома секторами. Вона рухається між різними секторами у відповідь на осмотичні градієнти та гідростатичні різниці тиску. Оскільки мозок знаходиться у жорсткому кістковому каркасі, збільшення частки води у тканині призводить для компенсаторного її переміщення з секторів із низьким тиском (~ 10 мм рт.ст.), включаючи СМР та венозну кров, у периферичну кров. Після того, як резерв низького тиску вичерпаний, внутрішньочерепний тиск поступово підвищується.

Було встановлено, що рух води з сектора в сектор відбувається за рахунок спеціальних каналів, розташованих в мембранах клітин, які отримали назву аквапорини (від лат. *aqua* — вода, грец. *poros* — прохід). Аквапорини – це сімейство білків, які складаються з шести мембранних доменів та мають молекулярну масу близько 30 кДа [11]. За допомогою імуногістохімічного методу дослідження та імуноелектронної мікроскопії було ідентифіковано 13 видів аквапоринів. Для нервової системи велике значення мають аквапорини 1, 4 та 9 типів (AQP1, 4, 9), оскільки встановлена їхня роль у формуванні набряку при різних неврологічних захворюваннях [8]. Проте найбільше вивчена роль AQP4, який виявлений виключно в гліальних клітинах і є водним селективним транспортером, який широко представлений в мембрані астроцитарних ніжок у ділянках їх контакту з судинами. Також щільні скупчення AQP4 знайдені у мембранах епендимних клітин, які вистеляють спино-мозковий канал та шлуночки мозку [25]. Найбільша щільність AQP4 спостерігається в нейронах супраоптичних та супрахіазматичних ядер гіпоталамусу, у гіпокампі, біля судинних сплетень шлуночків мозку та у мозочку. Цікаво, однак, що нокаутні по AQP4 миші не мають розладів функцій гіпоталамусу [20].

Транспорт води через аквапорини відбувається в обох напрямках, а його вектор визначається осмотичним чи гідростатичним градієнтом. Створена просторова модель аквапорину, який має форму пісочного годинника, а власне пора знаходиться в найбільш вузькій ділянці каналу [6]. Обидва кінця каналу виглядають як воронки, що відкриваються, відповідно, у міжклітинний або внутрішньоклітинний простір. Власне пора, завдяки діаметру в 2,8 Å, здатна пропускати за одиницю часу тільки одну молекулу води. Однак встановлено, що транспорт води тісно пов'язаний із транспортом інших речовин та іонів. Так, вода може котранспортуватися з калієм, хлором та кальцієм в котранспортерах [7].

AQP4 відіграє ключову регуляторну роль в патологічних умовах у разі формування набряку мозку. Відомо три механізми його формування: цитотоксичний, вазогенний та інтерстиційний. При цитотоксичному (клітинному) набряку вода рухається через аквапорини астроцитів, що входять до складу гематоенцефалічного бар'єру, за осмотичним градієнтом. При вазогенному набряку вода масивним током проходить через шар епендимної глії, яка вистеляє шлуночки мозку [17]. Причиною інтерстиційного набряку є обструктивна гідроцефалія, коли блокуються шляхи відтоку ліквору, що компенсується відтоком води через астроцитарні канали AQP4 до капілярів гематоенцефалічного бар'єру. Таким чином, астроцити активно сприяють відтоку зайвої води з тканини мозку при цитотоксичному та інтерстиційному видах набряку.

Перші свідчення того, що астроцитарні AQP4 відіграють важливу роль при цитотоксичному набряку мозку, було отримано з досліджень AQP4-нульових мишей [23]. В експерименті на вагітних самках дикого типу тварин робили внутрішньоплідів вливання води, викликаючи тим самим глибоку гіпонатріємію до 105 мМ протягом 5 хв, що призводило до подальшої смерті плодів через підвищення внутрішньочерепного тиску та набряк мозку. В AQP4-нульових мишей смертність внаслідок гіпонатріємії була помітно зниженою. Припустили, що блокування AQP4 призводило до зменшення проникності води через гематоенцефалічний бар'єр та зниження швидкості набрякання паренхіми мозку. Пізніше було встановлено, що AQP4-нульові миші також захищені від інших моделей цитотоксичного набряку головного мозку, включаючи бактеріальний менінгіт та ранню вогнищеву ішемію мозку. Існують дані, що білок AQP4 у плазматичних мембранах зв'язаний з низкою внутрішньоклітинних білків, включаючи  $\alpha$ -синтрофін. Цікаво, що  $\alpha$ -синтрофін-нокаутні миші також захищені від цитотоксичного набряку головного мозку, спричиненого вогнищевою ішемією головного мозку [28].

У моделі обструктивної гідроцефалії для формування інтерстиційного набряку, створеної шляхом введення каоліна у велику цистерну мишей, AQP4-нульові миші мали прискорене прогресування збільшення об'єму шлуночків порівняно з мишами дикого типу [20]. Припускають, що зменшена водна проникність епендимного шару та субепендимних астроцитів, створена шляхом блокування AQP4 у цих клітинах, зменшує швидкість виведення СМР через уражені клітини в субарахноїдальний простір.



24. Verkman A, Ratelade J, Rossi A. Aquaporin-4: orthogonal array assembly, CNS functions, and role in neuromyelitis optica. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2011; 32(6): 702–710.
25. Verkman A, Smith A, Phuan P. The aquaporin-4 water channel as a potential drug target in neurological disorders. *Expert Opin Ther Targets*. 2017; 21(12): 1161-1170.
26. Vizuete A, Gonçalves M, de Oliveira CD. Phase-Dependent Astroglial Alterations in Li-Pilocarpine-Induced Status Epilepticus in Young Rats. *Neurochemical Research*. 2017; 42(10): 2730-2742.
27. Witthoft A, Filosa J, Karniadakis G. Potassium buffering in the neurovascular unit: models and sensitivity analysis. *Biophys J*. 2013; 105(9): 2046-2054.
28. Yu W, Cao S, Zang C. Heat shock protein 70 suppresses neuroinflammation induced by  $\alpha$ -synuclein in astrocytes. *Mol Cell Neurosci*. 2018; 86: 58-64.

---

### Реферати

#### РОЛЬ АСТРОЦИТОВ В ПОДДЕРЖАНИИ ГОМЕОСТАЗА НЕРВНОЙ ТКАНИ

**Силкина Ю.В., Худяков А.Е., Клопоцкий Г.А., Хмель С.И.**

Статья посвящена обзору данных литературы относительно основных функций астроцитов, которые имеют значение для нормального функционирования нервной системы. Речь идет о поддержании состава калия во внеклеточной жидкости, поскольку астроциты выполняют роль буфера для ионов калия благодаря наличию выпрямляющих калиевых каналов типа Kir 4.1. Также описана роль аквапоринов 4-го типа (AQR4), локализующихся на ножках астроцитов, которые принимают участие в регуляции водного баланса ткани мозга. Приведены данные, свидетельствующие о роли астроцитов в поддержании тонуса сосудов головного мозга путем сбалансирования процессов вазодилатации/вазоконстрикции кальций-зависимым, глутамат-зависимым и другими механизмами.

**Ключевые слова:** нервная система, астроцит, выпрямляющие калиевые каналы, аквапорины, тонус сосудов мозга.

#### THE ROLE OF ASTROCYTES IN THE HOMEOSTASIS MAINTAINING IN THE NERVE TISSUE.

**Silkina Yu.V., Khudyakov A.E., Klopotsky G.A., Khmel S.I.**

The article is devoted to a review of literature data about the main astrocyte functions, which are important for the normal nervous system functioning. The maintaining of potassium concentration in the extracellular fluid is described; as well, astrocytes function as a buffer for potassium ions by the rectifying potassium channels type Kir 4.1. Also, the role of 4th type aquaporin (AQR4) is describe, wich are localized on the astrocytes legs and take part in the water balance regulation in the brain tissue. Data are presented, wich showing the role of astrocytes in the maintaining of cerebral vessels tone by balancing the processes of vasodilatation/vasocontraction by calcium-dependent, glutamate-dependent and other mechanisms.

**Key words:** nervous system, astrocyte, rectifying potassium channels, aquaporins, cerebral vessels tone.

Стаття надійшла 12.01.18р.

Рецензент Єрошенко Г.А.