

© Гореликов П.Л., 2013
УДК 616-053.31-089:616.38

НИКОТИНОВЫЕ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРЫ КАК МОДУЛЯТОРЫ БЕЛОК-СИНТЕЗИРУЮЩИХ СИСТЕМ СИМПАТИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ И САТЕЛЛИТНЫХ ГЛИОЦИТОВ В КРАНИАЛЬНОМ ШЕЙНОМ ГАНГЛИИ

П.Л. Гореликов

ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, г. Москва

В условиях экспериментально созданной фармакологической блокады холинорецепторов никотинового типа (нХР) изучали динамику содержания рРНК в цитоплазме нейронов и в сателлитных глиоцитах краниального шейного симпатического ганглия кроликов.

В работе определена нейротрофическая роль нХР в клеточных механизмах ганглия, которая заключается в том, что синаптический сигнал через нХР оказывает модулирующее воздействие на активность белок-синтезирующей системы в нейронах и обеспечивает координацию этой активности с метаболической активностью соседних с ними сателлитных глиоцитов.

Ключевые слова: симпатический ганглий, рРНК, холинорецепторы, нейроны, глиоциты.

При непосредственном участии холинергической импульсации через холинорецепторы никотинового типа (нХР) осуществляется модуляция висцеральных и когнитивной функций нервной системы [9, 10, 11, 12, 17]. Дисфункция никотиновых рецепторов выявлена при многих расстройствах центральной и периферической нервной системы [12, 18]. С учетом того, что нХР являются объектом воздействия наркотических субстанций и лекарственных препаратов, для осуществления адекватного фармакологического контроля практическое значение приобретает наименее изученный аспект этой проблемы – всестороннее исследование последствий модуляции активности нХР на метаболизм нервных клеток соответствующих отделов нервной системы.

Цель настоящей работы – с помощью экспериментальной модели дозированной фармакологической депривации оценить влияние активности нХР на белок – синтезирующую систему симпатических нейронов и сателлитных глиоцитов.

Материалы и методы

Исследовали краниальные шейные симпатические ганглии (КШСГ) половозрелых самцов кроликов породы шиншилла одной возрастной группы (8 мес.). Эксперимент выполнен на 77 животных, в число (n) которых входили контрольная (n=5) и опытная (n=72) группы.

При работе с экспериментальными животными руководствовались приказами Минздрава СССР № 577 от 12.08.1977 г. и Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н. «Об утверждении Правил лабораторной практики».

Для оценки степени влияния холинергической импульсации на нейрон-глиальную клеточную систему использовали экспериментальную модель частичной и полной депривации нХР холинолитиком димеколином. При этом число блокированных нХР находится в прямой зависимости от величины вводимой дозы данного препарата [6].

В соответствии с установленной для кроликов фармакодинамикой препарата [7]

животным подкожно вводили ганглиоблокатор в дозах 10 и 30 мг/кг массы, которые позволяют блокировать часть нХР в ганглии и в дозе 50 мг/кг, которая вызывает блокаду практически всех нХР.

В каждой из трех серий опыта использовали по 24 животных.

Животных, после введения каждой из перечисленных доз, последовательно выводили из эксперимента в сроки постепенного освобождения нХР от действия ганглиоблокатора (через 1, 3, 5, 7, 9 и 11 часов) в соответствии с приказом Минздрава РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики» Минздрава РФ от 23 августа 2010 г. (по 4-5 животных на каждый из перечисленных сроков).

Экспериментальная модель дозированной синаптической блокады позволяла создавать разный численный баланс между нХР, которые вследствие блокирования находятся в инактивированном состоянии, и нХР, которые, напротив, остаются незанятыми ганглиоблокатором и, следовательно, сохраняют способность активно функционировать, и сопоставить эти изменения с цитохимическими сдвигами, происходящими в это время в исследуемых клетках.

В качестве цитохимического показателя использовали рРНК – ключевой параметр белок-синтезирующей системы клеток [8, 14].

При исследовании рРНК использовали специально подобранную схему парафиновой гистологической проводки, не приводящую к потерям нуклеиновых кислот в исследуемых симпатических ганглиях [4, 5]. Для количественной гистохимической оценки срезы, толщину которых предварительно измеряли предложенным нами методом [3], окрашивали по методу Эйнарсона.

Содержание нуклеиновых кислот в цитоплазме нейронов и в сателлитных глиоцитах определяли методом сканирующей фотографической цитометрии. Содержание нуклеиновых кислот оценивали в относительных единицах оптической плотности измеряемых участков клеток и пересчитывали на 1 мкм толщины срезов.

Полученные в нейронах и сателлитных глиоцитах цитохимические сдвиги относили за счет изменений рРНК, так как в цитоплазме нейронов нуклеиновые кислоты в основном представлены рРНК [1], а в глиоцитах, в которых по существу определяется суммарное количество РНК+ДНК, изменениями глиальной ДНК можно пренебречь, поскольку в зрелой нервной ткани она характеризуется относительной стабильностью [19]. Объем выборки в контроле и во всех сериях опыта составлял в среднем 100-200 клеток каждого типа взятых от отдельного животного.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием метода Стьюдента с помощью компьютерных программ “STATISTICA”. При оценке статистической значимости коэффициентов корреляции Пирсона (r) применяли преобразование Фишера. Статистические различия средних оценивали при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Синаптическая блокада нХР вызывает выраженные колебания содержания рРНК, динамика которых имеет индивидуальные особенности в нейронах и соседних с ними сателлитных глиоцитах (рис. 1 а, б, в).

В нейронах блокада, независимо от уровня блокирования холинорецепторов, вызывает стереотипный цитохимический ответ – выраженные колебания содержания рРНК, которые вместе с ослаблением и окончанием блокирующего воздействия постепенно затухают. Важной особенностью наблюдаемых колебаний является то, что они происходят на уровне, заметно превышающем контрольные показатели.

В сателлитных глиоцитах блокада так же, как и в нейронах вызывает стереотипный для этих клеток цитохимический ответ – существенные колебания содержания рРНК. Вместе с тем динамика регистрируемых сдвигов имеет четко выраженный фазный характер.

Фаза подъема, во время которой в глиоцитах происходит увеличение содержания рРНК. Указанный сдвиг отмечается в первые часы после введения ганг-

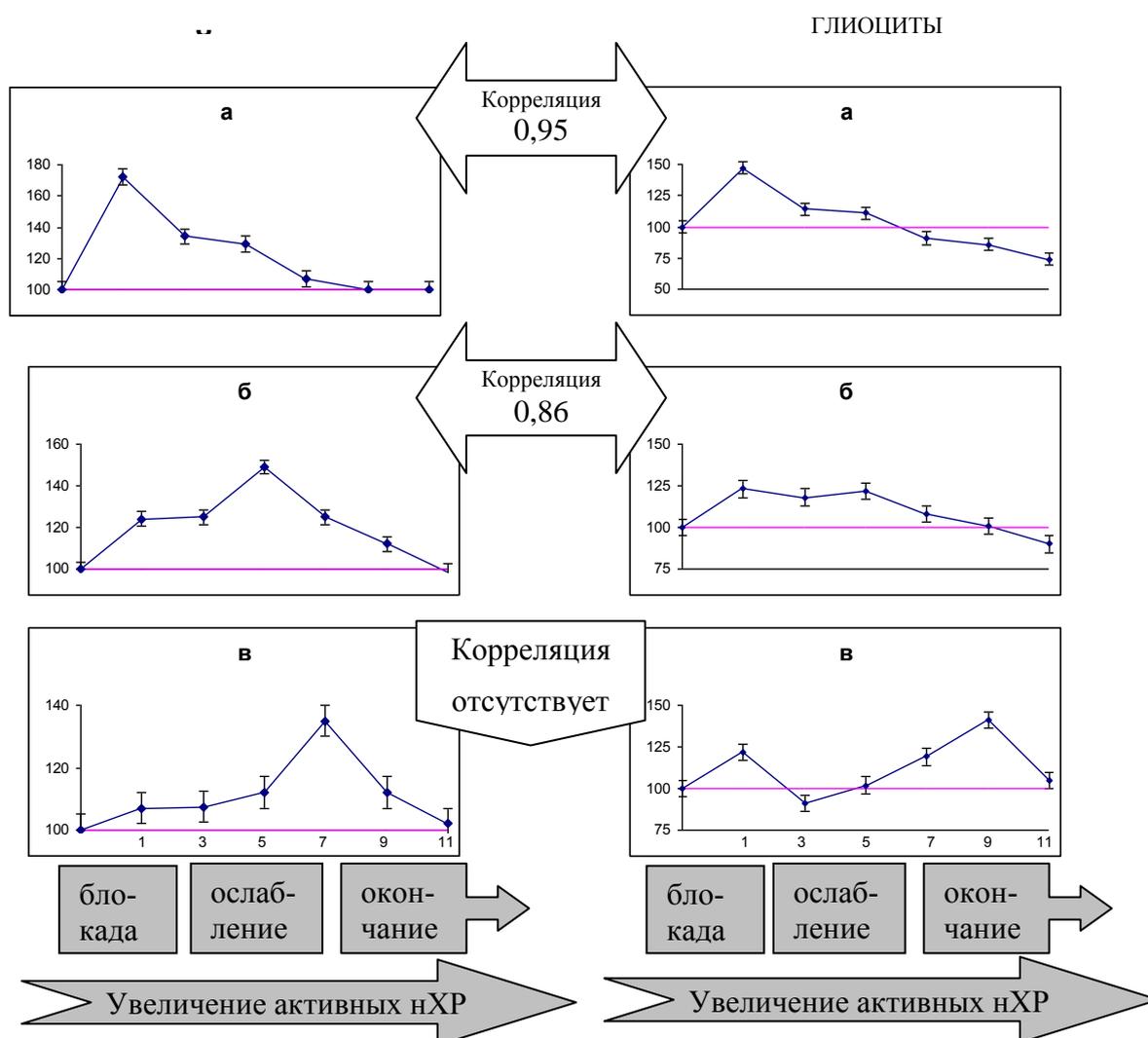


Рис. 1. Динамика содержания рРНК в симпатических нейронах и сателлитных глиоцитах при разных уровнях блокады никотиновых холинорецепторов

Обозначения: нХР – никотиновые холинорецепторы; а – незначительное (10 мг/кг), б – значительное количество (30 мг/кг) первоначально заблокированных нХР; в – практически полная блокада (50 мг/кг) нХР.

В скобках указаны дозы ганглиоблокатора. По вертикали – отклонение в % к контролю.

По горизонтали – время после введения ганглиоблокатора (в час)

Примечание: * анализировали нейроны ядра, которые в плоскости данного среза имели, как минимум, одно ядрышко и глиоциты, удаленные от перикариона нейронов не более чем на больший диаметр ядра глиальной клетки;

** статистическую достоверность различий в полученных результатах и стандартную ошибку средних значений оценивали по t - критерию с $p < 0,05$.

лиоблокатора при всех уровнях блокирования нХР, и его величина прямо не связана с количеством заблокированных нХР. Так амплитуда изменений содержания рРНК в глиоцитах при блокаде большого количества нХР (рис. 1б) и при полной блокаде нХР (рис. 1в) оказывается практически одинаковой ($p > 0,05$). *Фаза нормализации*, во время которой содержание рРНК в глиоцитах временно нормализуется. *Фаза снижения*, во время которой содержание рРНК в глиоцитах снижается.

Сдвиги в содержании рРНК представляют собой, по крайней мере, на уровне трансляционных процессов синтеза белка, достаточно адекватную характеристику функционального потенциала белок-синтезирующей системы клеток [8, 14]. В связи с этим полученные в ответ на блокаду холинорецепторов колебания содержания рРНК в цитоплазме нейронов и в сателлитных глиоцитах являются показателем заметной активизации белок-синтезирующей системы нервных клеток в симпатическом ганглии.

В нейронах активизация белок-синтезирующего аппарата прежде всего связана с изменением режима функционирования синаптической передачи [13, 15], и продиктована она необходимостью обеспечить материальными ресурсами функциональные и структурные перестройки синаптических образований [21]. С позиций современных представлений о трехстороннем синапсе [16, 20] трансформация синаптических образований невозможна без участия расположенных рядом с нейронами глиальных клеток.

Фазный характер количественных сдвигов рРНК в сателлитных глиоцитах скорее всего является частным проявлением общих закономерностей в динамике синтетической активности глиоцитов, которые при различных воздействиях отвечают, как правило, разнонаправленными относительно контрольного уровня модуляциями содержания рРНК [2].

Таким образом, полученные сдвиги в содержании рРНК в нервных клетках симпатического ганглия сами по себе являются совместным компенсаторным от-

ветом нейронов и сателлитных глиоцитов на нарушение нормального хода синаптических процессов в результате блокады синаптической передачи.

Однако в этих достаточно прогнозируемых цитохимических изменениях выявляется важная закономерность - модуляции содержания рРНК в нейронах и окружающих нейроны сателлитных глиоцитах оказываются непосредственно связанными с активностью нХР.

В самом деле расчет нейрон-глиальной метаболической корреляции при блокировании никотиновых холинорецепторов, позволяет заключить, что в модуляциях содержания рРНК в нейронах и окружающих нейроны сателлитных глиоцитах в условиях частичной блокады нХР, сохраняющей в синапсах некоторое количество незаблокированных и, следовательно, функционально активных нХР, обнаруживается высокая, статистически достоверная положительная корреляционная зависимость (рис. 1а,б). Напротив, при полном блокировании нХР корреляционная зависимость между указанными клеточными системами отсутствует (рис. 1в).

Высокая согласованность в динамике количественных изменений рРНК между симпатическими нейронами и соседними с ними сателлитными глиоцитами при наличии активных нХР и отсутствие таковой при полном блокировании нХР позволяет полагать, что в симпатическом ганглии существует механизм, координирующий метаболические изменения рРНК в нейронах и глиоцитах. Необходимым компонентом этого механизма координации является медиаторное взаимодействие с нХР, расположенными в синапсах симпатических нейронов.

Заключение

Таким образом, результаты работы указывают на то, что синаптический сигнал через холинорецепторы никотинового типа оказывает модулирующее воздействие на активность белок-синтезирующей системы в симпатических нейронах и сателлитных глиоцитах в краниальном шейном симпатическом ганглии.

При этом через медиаторное взаимодействие с холинорецепторами никотинового типа симпатические нейроны сопрягают свою метаболическую активность с метаболической активностью соседних с ними сателлитных глиоцитов, по крайней мере, на уровне количественных изменений рРНК в этих клетках.

Литература

1. Гайцхоки В.С. Информационные РНК клеток животных / В.С. Гайцхоки. – М.: Медицина, 1980. – 200 с.
2. Гейнисман Ю.Я. Структурные и метаболические проявления функции нейрона / Ю.Я. Гейнисман. – М.: Наука, 1974. – 207 с.
3. Гореликов П.Л. Применение микроскопа ОРМ-1 для определения толщины парафиновых срезов / П.Л. Гореликов // Цитология. – 1975. – Т. 17, № 11. – С. 1341-1344.
4. Гореликов П.Л. Влияние фиксации в жидкости Карнуа на содержание нуклеиновых кислот и белка в верхнем шейном симпатическом ганглии кролика / П.Л. Гореликов // Цитология. – 1977. – Т. 19, № 1. – С. 90-94.
5. Гореликов П.Л. Влияние гистологической обработки на содержание нуклеиновых кислот, свободных нуклеотидов и белка в краниальном шейном симпатическом ганглии / П.Л. Гореликов // Цитология. – 1979. – Т. 21, № 2. – С. 222-224.
6. Особенности строения ионного канала нейронального никотинового холинорецептора, установленные на основании изучения связи структуры и активности в ряду ганглиоблокаторов / Н.Б. Бровцына [и др.] // Биол. мембраны. – 1996. – Т. 13, № 1. – С. 57-70.
7. Першин Г.И. Димеколин / Г.И. Першин // Новые лекарственные средства / под ред. Г.И. Першина. – М.: Медицина, 1966. – Вып. 10. – С. 72-100.
8. An mRNA-rRNA base-pairing mechanism for translation initiation in eukaryotes / J. Dresios [et al.] // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2006. – Vol. 13, № 1. – P. 30-34.
9. Dani J. Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system / J. Dani, D. Bertrand // Anu Rev Pharmacol Toxicol. – 2007. – Vol. 47. – P. 699-729.
10. De Biasi M. Nicotinic acetylcholine receptors in the auto-nomic control of bladder / M. De Biasi, F. Nigro, W. Xu // Eur. J. Pharmacol. – 2000. – Vol. 393, № 1-3. – P. 137-140.
11. De Biasi M. Nicotinic mechanisms in the autonomic control of organ systems / M. De Biasi // J. Neurobiol. – 2002. – Vol. 53, № 4. – P. 568-579.
12. Deficiency of nicotinic acetylcholine receptor $\beta 4$ subunit causes autonomic cardiac and intestinal dysfunction / N. Wang [et al.] // Mol. Pharmacol. – 2003. – Vol. 63, № 3. – P. 574-580.
13. Dunckley T. Nicotine modulates the expression of a diverse set of genes in the neuronal SH-SY5Y cell line / T. Dunckley, R. Lukas // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278, № 18. – P. 15633-15640.
14. Granneman S. Ribosome biogenesis: of knobs and RNA processing / S. Granneman, S.J. Baserga // Exp. Cell. Res. – 2004. – Vol. 296, № 1. – P. 43-50.
15. Involvement of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in activation tyrosine hydroxylase and dopamine beta-hydroxylase gene expression in PC12 cells / V. Gueorguiev [et al.] // J. Neurochem. – 2000. – Vol. 75, № 5. – P. 1997-2005.
16. Miwa J.M. Neural systems governed by nicotinic acetylcholine receptors: emerging hypotheses / J.M. Miwa, R. Freedman, H.A. Lester // Neuron. – 2011. – Vol. 70, №1. – P. 20-33.
17. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: structural revelation, target identifications, and therapeutic inspiration / A. Jensen [et al.] // J. Med. Chem. – 2005. – Vol. 48, № 15. – P. 4705-4745.
18. Peters A. Oligodendrocytes, their progenitors and other neuroglial cells in the aging primate cerebral cortex / A. Peters, C. Sethares // Cerebral Cortex. – 2004. – Vol. 14. – P. 995-1007.
19. Verkhatsky A. Neuronisimo y reticulismo: neuronal-glia circuits unify the re-

ticular and neuronal theories of brain organization / A. Verkhatsky // Acta Physiol. – 2009. – Vol. 195. – P. 111-122.

20. Wang H. Translation control at the synapse / H. Wang, H. Tiedge // Neuroscientist. – 2004. – Vol. 10, № 5. – P. 456-466.

NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS AS MODULATORS OFF SYMPATHETIC NEURONS AND SATELLIT GLIAL CELLS PROTEIN-SYNTHESIZING SYSTEMS IN CRANIAL CERVICAL GANGLION

P.L. Gorelikov

In the experimentally established pharmacological blockade of nicotinic cholinergic receptor type (nCR) was studied the dynamics of the content of RNA in the cytoplasm of neurons and in the satellite glial cells cranial cervical sympathetic ganglion of rabbits. It was determined the neurotrophic nCR role in the cellular mechanisms of the ganglion, which lies in the fact that the synaptic signal through nHR has modulating effect on the activity of the protein-synthesizing system in neurons and is coordinating this activity with the metabolic activity of neighboring satellite glial cells.

Keywords: *sympatic ganglion, R-RNA, cholinoreceptors, neurons, gliocytes.*

Гореликов П.Л. – д-р биол. наук, доц., зав. лабораторией нейроморфологии ФГБУ “НИИ морфологии человека” РАМН.
117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3.
Тел/факс: 8 (499) 120-80-65.
E-mail: petr_gorelikov@mail.ru.