

Влияние совместного действия глутамата и липополисахарида *E.coli* на гомеостаз Ca^{2+} и жизнеспособность клеток в первичных нейроглиальных культурах из головного мозга крыс

Научный руководитель – Сурин Александр Михайлович

Лизунова Наталья Владимировна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии человека и животных, Москва, Россия

E-mail: cat-nat18@rambler.ru

Одним из лидирующих механизмов гибели нейронов при повреждении мозга в результате травм, ишемии или нейродегенеративных процессов является глутаматная эксайтотоксичность [4]. Системные инфекции способны усугублять последствия эксайтотоксического инсульта [2].

В работе исследовано влияние ЛПС *E. coli* на Ca^{2+} гомеостаз и функциональное состояние митохондрий нейронов первичной нейроглиальной культуры из мозжечка и кортекса крысы в модели глутаматной эксайтотоксичности. Целью являлась проверка гипотезы прямого действия ЛПС на нейроны, не опосредованного запуском воспалительной реакции [1,3]. Поэтому использовали относительно короткие времена инкубации (30мин) и достаточно высокие концентрации ЛПС (0,1, 1 и 10 мкг/мл). Одновременные изменения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) и митохондриального потенциала ($\Delta\Psi_m$) измеряли с помощью флуоресцентно-микроскопической системы, используя Ca^{2+} индикаторы Fura-2 и Fura-2FF, потенциал-чувствительный зонд Rh123. Выживаемость клеток оценивали с помощью морфологического анализа, используя флуоресцентные витальные красители Syto-13, Hoechst-33342 и EthD-1, а также с помощью МТТ-теста, измеряя активность дегидрогеназ по кинетике образования формазана. Влияние ЛПС, Glu (33 и 100мкМ) и их сочетанного применения на скорость потребления кислорода культивируемыми нейронами проверяли при помощи анализатора клеточного метаболизма SeaHorse XF24 (Bioscience Inc, USA).

Обнаружено, что эффекты ЛПС зависят от типа культуры, что может быть связано со свойствами самих нейронов и доли глии в культуре. Не исключено, что ЛПС может оказывать различные эффекты в зависимости от состава лотов продажных препаратов. Возможно, поэтому добавление ЛПС не вызывало достоверных отличий в развитии индуцированной Glu отсроченной Ca^{2+} дизрегуляции и митохондриальной деполяризации или в восстановлении низкой $[Ca^{2+}]_i$ и высокого $\Delta\Psi_m$ после удаления Glu. Морфологическая оценка и биохимический МТТ-анализ влияния ЛПС на выживаемость клеток не выявили значимых отличий даже при высоких концентрациях эндотоксина (10 мкг/мл). Усиление гибели нейронов при совместном действии ЛПС и Glu не было достоверным и имело характер тенденции.

Источники и литература

- 1) Ciesielski F. et al. Receptor-independent interaction of bacterial lipopolysaccharide with lipid and lymphocyte membranes; the role of cholesterol //PloS one. – 2012. – Т. 7. – №. 6. – С. e38677.
- 2) Fleiss B. et al. Inflammation-induced sensitization of the brain in term infants //Developmental Medicine & Child Neurology. – 2015. – Т. 57. – №. S3. – С. 17-28.

- 3) Klöckner U. et al. Inhibition of cardiac pacemaker channel hHCN2 depends on intercalation of lipopolysaccharide into channel-containing membrane microdomains //The Journal of physiology. – 2014. – Т. 592. – №. 6. – С. 1199-1211.
- 4) Lai T. W., Zhang S., Wang Y. T. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection //Progress in neurobiology. – 2014. – Т. 115. – С. 157-188.