Wpływ wieku szczurów otrzymujących sól sodową kwasu glutaminowego na reaktywność astroglię jądra lejka

ALEKSANDRA EWA KRAWCZYK, JADWIGA JAWORSKA-ADAMU

Katedra Anatomii i Histologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Otrzymano 29.09.2016

Zaakceptowano 03.01.2017

Krawczyk A. E., Jaworska-Adamu J.

Influence of the age of rats treated with the sodium salt of glutamate acid on the reactivity of astroglia of the infundibular nucleus

Summary

The aim of the study was the immunohistochemical evaluation of the impact of the age of animals treated with the sodium salt of glutamic acid on the behaviour of astrocytes of the infundibular nucleus (IN). Immunohistochemical peroxidase-antiperoxidase reactions were conducted on brain sections of 10-day-old (I) and 63-day-old (II) rats treated s.c with monosodium glutamate (MSG) in a dose of 4 g/kg b.w. for three consecutive days. The staining was performed using specific antibodies against glial fibrillary acidic protein (GFAP), S-100 β protein and Ki-67 antigen. Cells immunopositive for the proteins under investigation were assessed morphologically and morphometrically in an Olympus BX51 light microscope with the Cell ^ D program. Statistically significant differences were tested using ANOVA and the non-parametric Kruskal-Wallis test. In the infundibular nucleus of 10-day-old rats treated with MSG, there was an increase in the number of GFAP, S-100 β and Ki-67 immunopositive astrocytes without any changes in their morphology, which was typical of immature glia. In adult rats treated with MSG, a decrease in the number of cells expressing GFAP and S-100 β was found. Most astrocytes had thick and weakly branched processes, in contrast to those observed in control animals. The results of our study showed a diverse behaviour of astroglia of IN in young and adult rats treated with MSG. In 10-day-old rats, hyperplasia of glia occurred, whereas in 63-day-old individuals there was a loss and hypertrophy of astrocytes, which may indicate a late stage of their reactivity. This information may contribute to targeting the therapy of diseases of the nervous system induced by the excitotoxic effects of glutamate.

Keywords: GFAP, S-100 β , astrocytes, MSG, infundibular nucleus

Kwas glutaminowy, w postaci enancjomeru L, należy do grupy endogennych aminokwasów. W warunkach fizjologicznych występuje on głównie w formie anionowej zwanej glutaminianem (Glu). W ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) ssaków Glu jest pobudzającym neuroprzekaźnikiem, odpowiedzialnym m.in. za rozwój i utrzymanie prawidłowej aktywności neuronów (21, 23). Poprzez swoje receptory uczestniczy on w formowaniu długotrwałego wzmocnienia i osłabienia synaptycznego. Ponadto związek ten bierze udział w neuronalnej plastyczności oraz w synaptogenezie. W rozwijającym się mózgowiu glutaminian wpływa na migrację, różnicowanie, przeżywalność oraz śmierć neuronów (13, 21, 23, 26). W przestrzeni okołoneuronalnej Glu obecny jest w niewielkich ilościach, co warunkuje właściwe przekazywanie nerwowe. Aminokwas ten w nadmiernym stężeniu

działa jak cytotoksyna, prowadząc do uszkodzenia lub śmierci neuronów i gleju. Zjawisko to obserwuje się w przebiegu wielu chorób układu nerwowego (5, 13, 26, 30). Prawidłową zawartość glutaminianu w OUN zapewniają astrocyty, które są aktywnie włączone w jego metabolizm. W astrocytarnych błonach komórkowych znajdują się swoiste transportery, które umożliwiają wychwyt tego neuroprzekaźnika ze szczeliny synaptycznej (3, 7, 21, 23, 30). Astroglej chroni komórki nerwowe przed uszkodzeniem, reagując na poziomie molekularnym, komórkowym i funkcjonalnym, co określa się mianem reaktywnej astrogliozji (16, 18, 29). Bezpośrednio po zadziałaniu czynnika uszkodzającego astrocyty kompensacyjnie regulują m.in. poziom neuroprzekaźników w środowisku zewnątrzkomórkowym. Następnie komórki te mogą syntetyzować i zwiększać ekspresję różnych białek,

np. glejowego włókienkowego kwaśnego białka (glial fibrillary acidic protein – GFAP) oraz białka S-100 β , co jest charakterystyczne dla ich wczesnej reaktywności. W przebiegu reakcji późnych obserwuje się trwałe lub długotrwałe zmiany w postaci hipertrofii (przerostu ciał komórkowych oraz wypustek) i/lub hiperplazji (prolifracji) gleju (11, 12, 22, 24, 29).

W licznych badaniach wykazano, że systematyczne podawanie soli sodowej kwasu glutaminowego neonatalnym szczurom prowadzi do uszkodzenia struktur nerwowych wielu obszarów OUN (2, 6, 20, 25). Młode zwierzęta są bardziej wrażliwe na toksyczne działanie Glu w porównaniu do osobników dorosłych, co należy wiązać ze stopniem rozwoju i przepuszczalności bariery krew–mózg (blood-brain barrier – BBB). W pełni wykształcona BBB zapobiega przenikaniu z krwioobiegu m.in. glutaminianu, który wykorzystywany jest do syntezy białek i metabolizmu energii niemal przez wszystkie komórki organizmu (17, 32). U młodych i dorosłych zwierząt wykazano brak szczelnej BBB w niektórych obszarach mózgowia, m.in. w wyniosłości pośrodkowej. W tym regionie są obecne naczynia włosowate typu okienkowego, z którymi kontaktują się wypustki neuronów jądra lejka (*nucleus infundibularis* – IN). IN jest częścią podwzgórza położoną u podstawy III komory mózgowia (19). Obszar ten odgrywa istotną rolę w integracji neuroendokrynej organizmu. Jądro to zawiera liczne populacje neuronów uwalniające do krwi hormony, np.: somatoliberynę, kortykoliberynę, tyreoliberynę, foliliberynę i luliberynę. Związki te regulują aktywność wydzielniczą części gruczołowej przysadki mózgowej. Ponadto IN tworzy liczne połączenia z innymi jądrami podwzgórza, wzgórza, pnia mózgu, z istotą szarą środkową, przez co odgrywa kluczową rolę w reprodukcji, w kontroli stresu, bólu, mechanizmów przyjmowania pokarmu i masy ciała (6, 19).

Dotychczas nie określono wpływu wieku szczurów na charakter i stopień aktywność astrocytów jądra lejka w odpowiedzi na zwiększone stężenie Glu. Celem niniejszej pracy było ustalenie poziomu reaktywności astrocytów w IN u młodych i dorosłych zwierząt traktowanych solą sodową kwasu glutaminowego w oparciu o ocenę immunoreaktywności dla GFAP, S-100 β i Ki-67.

Materiał i metody

Do doświadczeń użyto 10 szt. 7-dniowych (grupa I) i 10 szt. 60-dniowych (grupa II) samców szczurów rasy Wistar, które trzymano w klatkach (temperatura 20-22°C, 60% wilgotności powietrza, cykl dobowy 12 h dzień/12 h noc). Zwierzętom zapewniono stały dostęp do paszy i wody. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę nr 7/2011 II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Lublinie. Osobniki w grupach wiekowych losowo podzielono na dwie podgrupy: doświadczalną (MSG) (5 szt.) i kontrolną (C) (5 sztuk). Szczurom podgrup doświadczalnych (I-MSG; II-MSG) podawano przez 3 kolejne dni w iniekcji

podskórnej (*s.c.*) glutaminianu jednosodowy (MSG) w dawce 4 g/kg m.c.). Zwierzęta kontrolne (I-C; II-C) otrzymywały, odpowiednio, roztwór soli fizjologicznej. Po 24 h od ostatniej iniekcji wszystkie szczury uśmiercano i natychmiast pobierano mózgowia. Materiał utrwalano w zbuforowanej 10% formalinie (pH = 7.0, temp. 4°C, 12 h) oraz zatapiało w parafinowe bloczki rutynową techniką histologiczną. Następnie mózgowia pochodzące od każdego zwierzęcia krojono w płaszczyźnie czołowej przy użyciu rotacyjnego mikrotomu. Skrawki o 4 μ m grubości zawierające IN umieszczano na szkiełkach SuperFrost Plus.

Reakcje immunohistochemiczne przeprowadzono pośrednią metodą peroksydaza-antyperoksydaza (PAP). Do barwienia wykorzystano pochodzące od każdego zwierzęcia odparafinowane i nawodnione skrawki zawierające IN. Procedurę wykonano z użyciem przeciwciał i odczynników (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) rozcieńczonych w 0,5M TBS (Tris buffered Saline) o pH = 7,6, według zaleceń producenta. W celu odsłonięcia antygeny co trzeci skrawek ogrzewano w kuchence mikrofalowej w 0,01 M roztworze buforu cytrynianowego o pH = 6,0 (3 $\times$ 5 min.). Kolejno wszystkie skrawki inkubowano w temperaturze pokojowej z 3% H₂O₂ przez 30 min., a dalej przez 20 min. z surowicą kozią (G9023). W następnym etapie na skrawki nałożono pierwotne przeciwciała: królicze przeciwciała przeciwko glejowemu włókienkowemu kwaśnemu białku (G9269), mysie monoklonalne przeciwciała przeciwko białku S-100 β (S2532), mysie monoklonalne przeciwciała przeciwko antygenowi proliferacji komórkowej Ki-67 (P6834). Inkubację przeprowadzono przez 16 h w temperaturze 4°C. W dalszej kolejności skrawki inkubowano w temperaturze pokojowej przez 1 h z odpowiednim gatunkowo, wtórnym przeciwciałem: kozim przeciwciałem przeciwko króliczemu IgG (A9169), kozim przeciwciałem przeciwko mysim IgG (A9917), a następnie kompleksem peroksydaza-antyperoksydaza: króliczym (P1291) i mysim (P3039). W celu uwidocznienia reakcji użyto czterochlorku 3,3'-diaminobenzyny (temperatura pokojowa, 30 min.). Na zakończenie skrawki płukano w destylowanej H₂O, podbarwiano hematoksyliną Mayer's oraz zamykano w DPX (Fluka, Buchs, Schwtzerland). Równolegle dla przeprowadzonych reakcji immunohistochemicznych wykonano negatywną kontrolę specyficzności z ominięciem przeciwciała pierwotnego oraz pozytywną, wykorzystując zwoje rdzeniowe obwodowego układu nerwowego szczurów.

Preparaty obserwowano i fotografowano w końcowym powiększeniu 400 $\times$ w mikroskopie świetlnym Olympus BX 40 sprzężonym z kamerą cyfrową Olympus Color View IIIu. Obserwacje mikroskopowe pozwoliły na analizę morfologii astrocytów z ekspresją GFAP i S-100 β w IN. Następnie przy użyciu programu Cell[^]D przeprowadzono ocenę liczby komórek immunopozytywnych i immunonegatywnych dla trzech badanych białek w 100 polach o powierzchni 2,5 $\times$ 10⁻³ mm² dla 10-dniowych szczurów i 5,0 $\times$ 10⁻³ mm² dla 63-dniowych osobników. Pomiary wykonano z wykorzystaniem siatki w losowo wybranych 20 polach na każde zwierzę. Średnia liczba komórek immunoreaktywnych dla GFAP, S-100 β i Ki-67 została określona względem wszystkich policzonych struktur w badanym obszarze. Następnie wyniki poddano analizom statystycznym w postaci średniej

liczby komórek z odchyleniem standardowym w programie Statistica 8.0. Do porównania średnich wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA z testem *post hoc* Tukeya lub nieparametryczny test Kruskala-Wallis. Różnice istotne statystycznie przyjmowano dla $p < 0,05$.

Wyniki i omówienie

U wszystkich badanych zwierząt wykazano obecność immunoreaktywnych dla GFAP i S-100 β komórek. U 10-dniowych osobników podgrup I-C i I-MSG GFAP-dodatnie astrocyty cechowały się niebieskimi, owalnymi lub okrągłymi jądrami położonymi centralnie w skąpej ilości ciemnobrązowej cytoplazmy. Większość komórek była bezwypustkowa, a jedynie niektóre miały pojedyncze, brązowe, krótkie i nierozgałęzione wypustki (ryc. 1A, 1B). Liczba immunoreaktywnych dla GFAP komórek wzrosła istotnie statystycznie u osobników traktowanych MSG (I-MSG) w porównaniu do podgrupy kontrolnej (I-C) zwierząt (tab. 1).

W IN dorosłych zwierząt kontrolnych (II-C) GFAP-dodatnie astrocyty były gwiaździste z centralnie położonymi niebieskimi jądrami. Od ich ciał odchodziły co najmniej trzy grubsze, skąpo rozgałęzione wypustki (ryc. 1C). W podgrupie doświadczalnej szczurów (II-MSG) komórki wykazywały zróżnicowaną morfologię. Większość z nich miała ekscentrycznie położone niebieskie, owalne lub okrągłe jądra oraz po przeciwnej stronie komórki nieliczne, grube i wielokrotnie rozgałęzione wypustki. Pozostały immunopozytywny dla

Tab. 1. Ilościowa ocena immunoreaktywnych dla GFAP, S-100 β i Ki-67 komórek w IN 10-dniowych i 63-dniowych szczurów

Białko	10-dniowe szczury		63-dniowe szczury	
	I-C	I-MSG	II-C	II-MSG
GFAP	0,34 $\pm$ 0,233	0,46 $\pm$ 0,186*	0,17 $\pm$ 0,100	0,12 $\pm$ 0,083*
S-100 β	0,15 $\pm$ 0,119	0,20 $\pm$ 0,121*	0,15 $\pm$ 0,077	0,11 $\pm$ 0,074*
Ki-67	0,06 $\pm$ 0,058	0,14 $\pm$ 0,124*	0,09 $\pm$ 0,065	0,08 $\pm$ 0,061

Objaśnienia: dane liczbowe to średnie z odchyleniem standardowym; * w indeksach górnych oznacza różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$); I-C podgrupa kontrolna 10-dniowych szczurów, I-MSG podgrupa zwierząt 10-dniowych otrzymujących MSG, II-C podgrupa kontrolna 63-dniowych szczurów, II-MSG podgrupa zwierząt 63-dniowych otrzymujących MSG

GFAP glej był podobny do obserwowanego u zwierząt kontrolnych (ryc. 1D). Analizy statystyczne wykazały w IN 63-dniowych osobników otrzymujących MSG istotny statystycznie spadek liczby astrocytów z ekspresją GFAP względem szczurów z podgrupy II-C (tab. 1).

U wszystkich 10-dniowych osobników astrocyty wykazywały obecność białka S-100 β przede wszystkim w jądrach oraz ciałach komórkowych. Tylko niektóre z tych komórek zawierały produkt reakcji w początkowych odcinkach wypustek (ryc. 2A, 2B). U 10-dniowych zwierząt traktowanych MSG (I-MSG) stwierdzono w IN istotny statystycznie wzrost liczby komórek z ekspresją białka S-100 β w stosunku do osobników kontrolnych (I-C) (tab. 1).

U dorosłych szczurów podgrupy kontrolnej (II-C) w badanym obszarze mózgowia wykazano immunoreaktywne dla badanego białka głównie jądra, ciała i początkowe odcinki wypustek astrocytów (ryc. 2C). U zwierząt otrzymujących MSG w IN występowały komórki z dwoma lub

trzema grubszymi wypustkami dzielącymi się na mniejsze oraz astroglej o podobnej morfologii, jak w podgrupie II-C (ryc. 2D). Na podstawie analiz statystycznych stwierdzono mniej komórek z ekspresją S-100 β u szczurów podgrupy II-MSG w stosunku do osobników kontrolnych (II-C) (tab. 1).

W IN u wszystkich badanych zwierząt wykazano immunoreaktywne dla Ki-67 jądra komórkowe (ryc. 3). Analizy statystyczne ujawniły istotny wzrost liczby komórek z ekspresją badanego białka w IN 10-dniowych osobników traktowanych MSG w porównaniu do szczurów kontrolnych (I-C). Natomiast u 63-dniowych zwierząt nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w liczbie immunopozytywnych dla Ki-67 jąder komórkowych (tab. 1).

Ryc. 1. Immunoreaktywne dla GFAP astrocyty (→) w IN (A) 10-dniowych szczurów podgrupy I-C (B) 10-dniowych szczurów podgrupy I-MSG (C) 63-dniowych szczurów podgrupy II-C (D) 63-dniowych szczurów podgrupy II-MSG (400 $\times$)

Ryc. 2. Immunoreaktywne dla S-100 β astrocyty (→) w IN (A) 10-dniowych szczurów podgrupy I-C (B) 10-dniowych szczurów podgrupy I-MSG (C) 63-dniowych szczurów podgrupy II-C (D) 63-dniowych szczurów podgrupy II-MSG (400 $\times$)

Ryc. 3. Immunoreaktywne dla Ki-67 komórki (→) w IN (A) 10-dniowych szczurów podgrupy I-C (B) 10-dniowych szczurów podgrupy I-MSG (C) 63-dniowych szczurów podgrupy II-C (D) 63-dniowych szczurów podgrupy II-MSG (400 $\times$)

Przeprowadzone reakcje immunohistochemiczne wykazały zróżnicowaną reaktywność astrogleju IN u młodych i dorosłych szczurów traktowanych MSG. U 10-dniowych osobników wzrost liczby immunoreaktywnych dla GFAP, S-100 β i Ki-67 astrocytów może świadczyć o ich proliferacji, czyli hiperplazji. Ponadto morfologia immunopozytywnych dla GFAP komórek,

osobnikami (I-MSG). Astrocyty pod wpływem MSG stały się hipertroficzne, najprawdopodobniej w celu neuroprotekcji. Natomiast spadek liczby GFAP i S-100 β -pozytywnych astrocytów wynikać może z utraty komórek. Niska zawartość GFAP zwiększa wrażliwość gleju na cytotoksyczne uszkodzenie, co wykazano w korze mózgowej myszy po elektroko-

typowa dla młodocianych postaci tego gleju, przemawiać może także za wzmożoną aktywnością podziałową (4). Niedojrzałe i proliferujące astrocyty neonatalnych myszy w 4.-12. dniu hodowli wyrażają ekspresję GFAP tylko wokół jądra, w pobliżu centriol (27). Dodatkowo inni autorzy zaobserwowali, że podskórne podanie MSG nowo narodzonemu szczurom indukuje podział astrogleju np. w korze czołowo-ciemiennowej (20). Astrocyty najintensywniej dzielą się ok. 3.-4. dnia po zadziałaniu czynnika uszkodzającego, co obserwowano w przebiegu wielu procesów patologicznych OUN. Reaktywne zachowanie tego gleju indukują liczne czynniki morfogenne i mitogenne, które mogą pochodzić z aktywowanych makrofagów i mikrogleju oraz z uszkodzonych neuronów (8, 15, 16). Częstość podziałów mitotycznych astrogleju wzrasta także pod wpływem białka S-100 β (33). Jego interakcje z GFAP oddziałują na cykl komórkowy, wzrost i różnicowanie astrocytów (1). Dodatkowo S-100 β może być wydzielane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej na skutek pobudzenia receptorów metabotropowych dla glutamianu z grupy II (mGluR3), co wykazano w hipokampie myszy w modelu epilepsji (28). W przestrzeni zewnątrzkomórkowej S-100 β moduluje wychwyt Glu przez astrocyty (31). Ponadto inicjując proliferację gleju, chroni ono neurony przed ekscytotoksycznym uszkodzeniem, co zasugerowano na podstawie badań u myszy pozbawionych genu S-100 β w modelu epilepsji (10).

W IN 63-dniowych zwierząt podgrupy II-MSG zaobserwowano odmienną reakcję astrogleju, w porównaniu z 10-dniowymi

agulacji lewej tętnicy środkowej mózgu. Ponadto umierające neurony wydzielają substancje (jony potasu, wolne rodniki, kwas arachidonowy) powodujące obrzmienie astrocytów, któremu towarzyszyć może rozpad gliofilamentów (30). Badania *in vitro* wykazały, że stres oksydacyjny jest główną przyczyną śmierci astrocytów pochodzących z kory mózgu neonatalnych szczurów poddanych działaniu Glu. Taki mechanizm toksyczności Glu zaproponowano także, podając przez 14 dni dorosłym szczurom dożołądkowo sam glutaminian sodu (3 g/kg m.c.) oraz w połączeniu z witaminą C, znaną ze swoich antyoksydacyjnych właściwości. W grupie szczurów, otrzymujących równocześnie te dwie substancje, zaobserwowano w mózdzku znaczący wzrost immunoreaktywności dla GFAP. To wskazuje na stymulujący wpływ kwasu askorbinowego na astrocyty w celu ochrony przed cytotoxycznością MSG. U zwierząt traktowanych samym MSG wykazano apoptotyczne neurony oraz brak zmian ekspresji GFAP, co autorzy tłumaczą cytotoxycznym uszkodzeniem astrogleju (14).

W niniejszych badaniach zróżnicowana reaktywność astrocytów u młodych i dorosłych szczurów traktowanych MSG może być wynikiem zmniejszającej się z wiekiem odpowiedzi gleju na czynniki stymulujące (morfogenne i mitogenne). Ponadto zmianom ulegają ilość i właściwości tych czynników, jak też zagęszczenie swoistych dla nich receptorów. Dodatkowo u szczurów pomiędzy 4. a 10. dniem życia postnatalnego dochodzi do intensywnego wzrostu mózgowia, co czyni ten okres rozwoju bardzo podatnym na szkodliwy wpływ różnych krwiopochodnych substancji (9).

Podsumowując, w niniejszych badaniach wykazano zróżnicowane reakcje astrogleju u młodych i dorosłych szczurów traktowanych solą sodową kwasu glutaminowego. U 10-dniowych zwierząt obserwowano hiperplazję gleju, zaś u 63-dniowych osobników, utratę oraz hipertrofię astrocytów, co świadczyć może o późnej fazie reaktywności. Przedstawione wyniki wskazują, że charakter i stopień reaktywności astrogleju, w odpowiedzi na zastosowany związek, jest zależny od wieku zwierząt. W przyszłości mogą one być wykorzystane w ukierunkowaniu terapii wielu chorób układu nerwowego związanych z ekscytotoksycznością indukowaną glutaminianem. Poznanie zachowania gleju wydaje się niezbędne do określenia, czy przyszłe interwencje terapeutyczne powinny zwiększać, czy osłabiać aktywność astrocytów.

Piśmiennictwo

- Antemano R. R.: Glia going emotional: the impact of acute and repeated neonatal separations on astrocytes in the medial prefrontal cortex. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades, Fakultät für Naturwissenschaften der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg 2007, s. 1-80.
- Beas-Zarate C., Pérez-Vega M., González-Burgos I.: Neonatal exposure to monosodium L-glutamate induces loss of neurons and cytoarchitectural alterations in hippocampal CA1 pyramidal neurons of adult rats. *Brain Res.* 2002, 952, 275-281.
- Bélangier M., Magistretti P. J.: The role of astroglia in neuroprotection. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2009, 11, 281-295.
- Bushong E. A., Martone M. E., Ellisman M. H.: Maturation of astrocyte morphology and the establishment of astrocyte domains during postnatal hippocampal development. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2004, 22, 73-86.
- Castillo J., Dávalos A., Naveiro J., Noya M.: Neuroexcitatory amino acids and their relation to infarct size and neurological deficit in ischemic stroke. *Stroke* 1996, 27, 1060-1065.
- Cekic S., Filipovic M., Pavlovic V., Ciric M., Nesic M., Jovic Z., Brankovic S.: Histopathologic changes at the hypothalamic, adrenal and thymic nucleus arcuatus in rats treated with monosodium glutamate. *Acta Medica Medianae* 2005, 44, 35-42.
- Daikhin Y., Yudkoff M.: Compartmentation of brain glutamate metabolism in neurons and glia. *J. Nutr.* 2000, 130 (4S Suppl), 1026S-1031S.
- DiProspero N. A., Meiners S., Geller H. M.: Inflammatory cytokines interact to modulate extracellular matrix and astrocytic support of neurite outgrowth. *Exp. Neurol.* 1997, 148, 628-639.
- Dobbing J., Sands J.: Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early. Hum. Dev.* 1979, 3, 79-83.
- Dyck R. H., Bogoch I. I., Marks A., Melvin N. R., Teskey G. C.: Enhanced epileptogenesis in S100B knockout mice. *Mol. Brain Res.* 2002, 106, 22-29.
- Eddleston M., Mucke L.: Molecular profile of reactive astrocytes-implications for their role in neurologic disease. *Neuroscience* 1993, 54, 15-36.
- Eng L. F., Ghirnikar R. S., Lee Y. L.: Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem. Res.* 2000, 25, 1439-1451.
- Ganesan K., Sukalingam K., Balamurali K., Aladeen S. R. Bt. S., Ponnusamy K., Ariffin I. A., Gani S. B.: A studies on monosodium L-glutamate toxicity in animal models – a review. *IJPBCS* 2013, 3, 1257-1268.
- Hashem H. E., El-Din Safwat M. D., Algaidi S.: The effect of monosodium glutamate on the cerebellar cortex of male albino rats and the protective role of vitamin C (histological and immunohistochemical study). *J. Mol. Histol.* 2012, 43, 179-186.
- Hatten M. E.: Neuronal regulation of astroglial morphology and proliferation in vitro. *J. Cell Biol.* 1985, 100, 384-396.
- Hatten M. E., Liem R. K. H., Shelansky M. L., Manson C. A.: Astroglia in CNS injury. *Glia* 1991, 4, 233-243.
- Hawkins R. A.: The blood-brain barrier and glutamate. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009, 90(3), 867S-874S.
- Jastrzębska B., Filipek A.: Funkcja białek wiążących jony Ca²⁺ z rodziny S100. *Post. Biol. Kom.* 2003, 30, 383-397.
- Knobil E., Neill J. D.: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Vol. 1, Gulf Professional Publishing 2006, s. 1309-1414.
- Martinez-Contreras A., Huerta M., Lopez-Perez S., García-Estrada J., Luquin S., Beas Zárate C.: Astrocytic and microglia cells reactivity induced by neonatal administration of glutamate in cerebral cortex of the adult rats. *J. Neurosci. Res.* 2002, 67, 200-210.
- Meldrum B. S.: Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J. Nutr.* 2000, 130(4S Suppl), 1007S-1015S.
- Montgomery D. L.: Astrocytes: form, functions, and roles in disease. *Vet. Pathol.* 1994, 31, 145-167.
- Nedergaard M., Takano T., Hansen A. J.: Beyond the role of glutamate as a neurotransmitter. *Nat. Rev. Neurosci.* 2002, 3, 748-755.
- Norenberg M. D.: Astrocyte responses to CNS injury. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1994, 53, 213-220.
- Olney J. W., Ho O. L.: Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. *Nature* 1970, 227, 609-611.
- Platt S. R.: The role of glutamate in central nervous system health and disease – a review. *Vet. J.* 2007, 173, 278-286.
- Rolland B., Le Prince G., Fages C., Nunez J., Tardy M.: GFAP turnover during astroglial proliferation and differentiation. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 1990, 56, 144-149.
- Sakatani S., Seto-Ohshima A., Shinohara Y., Yamamoto Y., Yamamoto H., Itohara S., Hirase H.: Neural-activity-dependent release of S100B from astrocytes enhances kainate-induced gamma oscillations in vivo. *J. Neurosci.* 2008, 28, 10928-10936.
- Sofroniew M. V., Vinters H. V.: Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010, 119, 7-35.
- Szydlowska K., Kamińska B.: Farmakologiczna modulacja funkcji i żywotności astrocytów jako nowa strategia neuroprotekcji po niedokrwieniu. *Kosmos* 2008, 57, 315-329.
- Tramontina F., Tramontina A. C., Souza D. F., Leite M. C., Gottfried C., Souza D. O., Wofchuk S. T., Gonçalves C. A.: Glutamate uptake is stimulated by extracellular S100B in hippocampal astrocytes. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006, 26, 81-86.
- Viña J. R., DeJoseph M. R., Hawkins P. A., Hawkins R. A.: Penetration of glutamate into brain of 7-day-old rats. *Metab. Brain Dis.* 1997, 12, 219-227.
- Yasuda Y., Tateishi N., Shimoda T., Satoh S., Ogita E., Fujita S.: Relationship between S100beta and GFAP expression in astrocytes during infarction and glial scar formation after mild transient ischemia. *Brain Res.* 2004, 1021, 20-31.

Adres autora: dr Aleksandra Krawczyk, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: aleksandra.krawczyk@up.lublin.pl