

Pregledni prispevek/Review article

FUNKCIJA ASTROCITOV

ASTROCYTES' FUNCTION

Mojca Kržan

Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo, Medicinska fakulteta, Korytkova 2, 1000 Ljubljana

Prispelo 2001-03-08, sprejeto 2001-06-20; ZDRAV VESTN 2001; 70: 553-9

Ključne besede: *astrociti; funkcija; osrednje živčevje*

Key words: *astrocytes; functions; central nervous system*

Izvleček – Izhodišča. *Kljub temu da astrociti predstavljajo 50% celic v osrednjem živčevju, so jim dolgo časa pripisovali le pasivno podporno funkcijo, ki poskrbi za homeostazo in vzdrževanje primerne mikrookolja za delovanje nevronov.*

Zaključki. Izkazalo se je, da imajo astrociti edinstveno vlogo, ker lahko med življenjem spreminjajo svojo obliko in funkcijo in imajo popolnoma različno vlogo med razvojem in v odraslem obdobju ter aktivno posegajo v dogodke ob možganski poškodbi in regeneraciji. Nedavno odkriti funkciji astrocitov sta, da so astrociti enakopraven član tridelne sinapse in da regulirajo tvorbo in vzdrževanje sinaps.

Abstract – Background. *Although astrocytes represent 50% of cells in the central nervous system they were recognized as passive, supportive cells regulating homeostasis and creating the microenvironment suitable for neuronal cells to function. But lately, it was proven that astrocytes possess a unique feature – they are capable of changing their morphology and function throughout life in response to changes in brain microenvironment.*

Conclusions. They have important functions during development, adulthood and after the brain injury, when they actively participate in the regeneration process or form a scar after excessive neuron loss. Recently discovered functions of astrocytes are: equal partnership in tripartite synapse and active regulation of generation and maintenance of synapses in central nervous system.

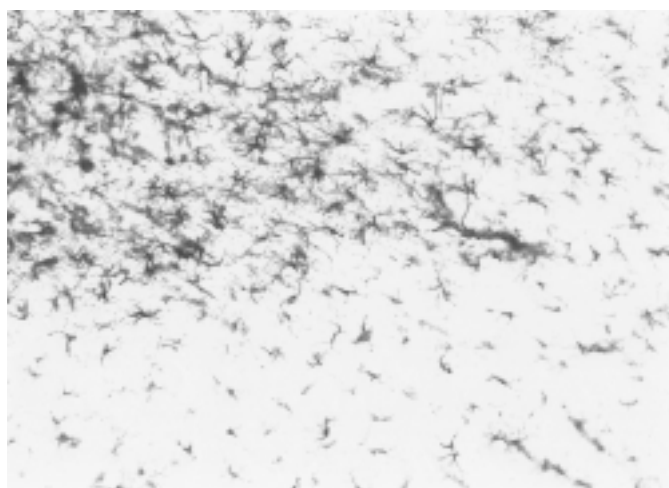
Uvod

Nevroglijo je prvi opisal in poimenoval nemški patolog Rudolf Virchow (1). Opisal jo je kot električno pasivno in nevzdrazno vezivo, ki skrbi, da so nevroni pravilno razporejeni v osrednjem živčevju, skratka kot možgansko lepilo, ki ne prispeva k višjim možganskim funkcijam. Uporaba histoloških tehnik s pomočjo kovinskih barvil, ki jih je razvil Golgi, je omogočila opredelitev glije kot samostojnih celic v osrednjem živčevju in nadaljnjo razdelitev glialnih celic na astrocite, oligodendrocite in mikroglijo (2).

Skoraj sto let so gliji pripisovali le pasivno podporno funkcijo, dokler niso odkrili, da astrociti po stimulaciji z nevrottransmiterji in drugimi signalnimi molekulami sproščajo različne živčne prenašalce, citokine, rastne dejavnike, molekule zunajceličnega matriksa in s tem aktivno in neposredno posegajo v dogajanja v osrednjem živčevju.

Astrociti so tako kot nevroni ektodermalnega izvora, vendar niso vzdražni. So edine celice, ki imajo glialno fibrilarno kislno beljakovino (GFAP, angl. *glial fibrillary acidic protein*), del citoskeletnega sistema, ki služi kot nenadomestljiv označevalec teh celic v razmerah *in vivo* ter *in vitro* (sl. 1).

Astrociti tvorijo številne presledkovne stike (angl. *gap junctions*) (3), ki omogočajo medcelično komunikacijo tako z astrociti kot z nevroni (4) predvsem z uporabo kalcijevih tokov (5). Astrociti imajo edinstveno lastnost, da lahko v skladu s spremembami v neposrednem okolju spreminjajo svojo obliko in funkcijo, zato imajo popolnoma različne vloge v različnih življenjskih obdobjih. Posebej se razlikuje njihova oblika in funk-



Sl. 1. Astrociti v možganski skorji in hipokampusu odrasle podgane, imunohistokemično obarvani s kislim glialnim fibrilarnim proteinom (GFAP). Povečava: 250-krat.

Fig. 1. Astrocytes in cerebral cortex and hippocampus of adult rat immunostained with glial fibrillary acidic protein (GFAP). Magnification: $\times 250$.

cija v obdobju med razvojem, v odraslem obdobju in v času po poškodbi osrednjega živčevja (tab. 1).

Tab. 1. Glavne funkcije astrocitov v različnih življenjskih obdobjih.

Tab. 1. The main functions of astrocytes throughout life.

Razvojno obdobje Developmental phase	vodenje in usmerjanje rastočih nevronov (6–8) the guidance of growing neurons sinteza trofičnih dejavnikov (9) trophic factor synthesis tvorba sinaps (10) synapse formation
Normalno odraslo obdobje Normal adulthood	ohranjanje homeostaze (11–14) maintenance of homeostasis vpliv na sinaptično plastičnost (4, 10) influence on synaptic plasticity tridelna sinapsa (15–17) tripartite synapse
Po možganski poškodbi After brain injury	nabrekanje astrocitov (18–24) swelling of astrocytes reaktivna glioz (povzeto v 25–28) reactive gliosis

Razvojno obdobje

Pri ljudeh se radialna glija, najzgodnejše diferencirane celice glije, pojavi v 6. tednu gestacije, prvi zreli astroцитi pa v 15. tednu gestacije. Gliogeneza je najbolj intenzivna v drugi polovici gestacije (29). Odrasli možgani ljudi vsebujejo 10^{11} nevronov in 10^{12} glialnih celic (30).

Med 6. in 20. tednom gestacije pri ljudeh se celice radialne glije predvsem podaljšajo tako, da njihova vlakna laže vodijo in usmerjajo rastoče nevrone. Radialna glija izvira v bližini ventriklov in sega preko celotne možganske poloble do pije (6, 7). Astroglija je glavni vir molekul zunajceličnega matriksa in adhezijskih molekul (npr. živčnocelične adhezijske molekule – NCAM, angl. *neural cell adhesion molecule*, laminina, fibronektina, taktina, molekul družine J-1, npr. tenascina in janusina), ki oblikujejo pot rastočim nevronom ter pomagajo pri nastanku živčnih jeder, živčnih poti in stikov med posameznimi živčnimi celicami (8). Poleg pomoči pri migraciji astroglija zagotavlja rastočim živčnim celicam, ki se nimajo stikov s svojimi tarčnimi postsinaptičnimi celicami, trofično podporo (9), saj radialna glija v razmerah *in vivo* sintetizira in izloča številne nevrotrofične dejavnike, npr. živčni rastni dejavnik (NGF, angl. *nerve growth factor*), nevrotrofični dejavnik možganskega izvora (BDNF, angl. *brain-derived neurotrophic factor*), ciliarni nevrotrofični dejavnik (CNTF, angl. *ciliary neurotrophic factor*) in nevrotrofični dejavnik glialnega izvora (GDNF, angl. *glial-derived neurotrophic factor*), ki posamezno ali v različnih kombinacijah uravnavajo morfološko, rast, diferenciacijo in preživetje določenih nevronskega podskupin. Večina nevrotrofičnih dejavnikov ne vpliva le na razvijajoče se nevrone, temveč tudi na razvoj glialnih celic. Produkcija nevrotrofičnih dejavnikov je ena glavnih nalog glije med razvojem in regeneracijo. Najnovejši izsledki pa dokazujejo, da glija vodi in usmerja rastoče živčne celice, pa tudi aktivno sodeluje pri tvorbi in vzdrževanju sinaptičnih stikov (10).

Dolgo časa so menili, da astroцитi tvorijo krvno-možgansko pregrado. Ta trditev drži le za nižje organizme, za višje pa le deloma. Pri višjih organizmih tvorijo krvno-možgansko pregrado endotelijske celice, astroцитi in periciti. Astroцитi so odgovorni za ustvarjanje in vzdrževanje tesnih stikov (angl. *tight junctions*) med endotelijskimi celicami (31).

Za neonatalno življenjsko obdobje je značilna velika sposobnost regeneracije osrednjega živčevja, ki kasneje med nadaljnjim razvojem usahne (32). Zaradi tega se po možganski poškodbi pojavi le minimalna reaktivna glioz, reakcija astrocitov na možgansko poškodbo, ki je podrobneje opisana kasneje. Po akutni mehanski poškodbi (33) je reakcija astrocitov v neonatalnih možganih relativno blaga, v primeru kronične možganske poškodbe (implantacija tujka iz nitrocelulozne

membrane) pa je reaktivna glioz bolj intenzivna in obsežnejša tudi pri novorojenih miših (34, 35).

Kasneje v razvoju, ko živčne celice dosežejo svoje tarče, se radialna glija skrči. Pri ljudeh se ta postopek začne v 28. tednu gestacije in se konča približno do 6. leta starosti. Med normalnim odraslim življenjem ni potrebna nevrotrofična podpora živčnim celicam, zato se v astrocitih sintetizirajo bistveno nižje ali celo z obstoječimi metodami nemerljive količine nevrotrofičnih dejavnikov (36).

Odraslo obdobje

Pri odraslih osebkih so opredelili naslednje tipe astrocitov: protoplazmatske v sivi substanci, vlaknaste astrocite v možganski belini in specializirane astrocite, npr. Bergmannovo glijo, v malih možganih, Müllerjeve celice v mrežnici in pituicite v hipofizi. Na obliko (predvsem na prostornino) astrocitov vpliva aktivnost živčnih končičev v njihovi neposredni okolici. Sproščen noradrenalin prek stimulacije beta adrenergičnih receptorjev povzroča stelacijo (razvejanje astrocitov), medtem ko glutamat, ki se privzame v celico, povzroči, da astroцитi nabreknejo, kar povzroči zmanjšanje zunajceličnega prostora in posledično vpliva na aktivnost živčevja (37).

V odraslem obdobju astroцитi skrbijo predvsem za ustvarjanje primerne okolja za delovanje živčnih celic. Privzemajo prebitek zunajceličnega K^+ , amoniak in nekatere nevrotransmiterje ter tako ščitijo živčne celice pred ekscitacijsko poškodbo, ki jo lahko povzročata presežek zunajceličnih kalijevih ionov oz. prebitek ekscitatornega prenašalca glutamata v zunajceličnem prostoru.

Prebitek zunajceličnega kalija, ki nastane ob nevrotransmisiji in po njej, se v astrocite privzame preko presledkovnih stikov (prostorsko uravnavanje – angl. *spatial buffering*), prenašalnega proteina za kalijeve in kloridne ione ter kanalov za kalijeve in kloridne ione. Različni sistemi za odstranjevanje prebitka kalija iz zunajcelične tekočine v astrocite skrbijo le za homeostazo in ne delujejo kot signalni mehanizem (11). Po možganski poškodbi se sposobnost odstranjevanja kalija iz zunajceličnega prostora v astrocite zmanjša, kar ima lahko za posledico travmatično ekscitacijsko poškodbo, ki se zrcali z izgubo spomina, kognitivnimi motnjami, krči, epileptičnimi napadi (38). Privzete kalijeve ione astroцитi odstranjujejo v kapilare.

Astroцитi privzemajo ekscitatorni prenašalec glutamat iz sinaptične špranje s pomočjo transportnih proteinov za glutamat, ki se nahaja na celični membrani astrocitov. Privzeti glutamat se v astrocitih pretvori v glutamin s pomočjo encima glutamin sintetaza. Astroцитi pri tej reakciji porabljajo tudi iz zunanjega okolja privzeti amoniak. Glutamin, ki ne deluje kot nevrotransmitter, se nato iz astrocitov prenese v nevrone in se tam uporablja kot substrat pri ponovni sintezi glutamata s pomočjo encima glutaminaze (12). Tako so astroцитi in nevroni povezani v nekakšno metabolno enoto.

Na astrocitih najdemo najmanj tri vrste različnih transporterjev za glutamat, membranskih proteinov, ki omogočajo prenos snovi preko celične membrane: GLT-1, GLAST in EAAT1. Transporterji za glutamat so prisotni predvsem na izrastkih astrocitnih celic (13, 39). Privzemanje glutamata je zelo kompleksen in pomemben proces, ki zagotavlja, da je koncentracija glutamata v sinapsi v mirovanju manjša kot $1 \mu\text{mol/l}$. Ta koncentracija aktivira pred- in posinaptične receptorje za glutamat (14). V primeru, ko so transportni proteini za glutamat blokirani, eksogeni glutamat v koncentraciji $1 \mu\text{mol/l}$ že povzroči ekscitacijsko poškodbo živčnih celic v kulturi (40). Pretirana vzdraženost živčnih celic z glutatomom je lahko vzrok za propadanje le-teh pri nekaterih nevrodegenerativnih boleznih osrednjega živčevja (npr. Huntingtonovi bolezni, Alzheimerjevi bolezni) ter po ishemiji, hipoksiji, hipoglikemiji in epileptičnem stanju (povzeto v 41). Pri bolnikih z amiotrofično lateralno sklerozo pa so dokazali genetsko spremenjen transporter GLT-

1 na astrocitih v motorični skorji (42, 43), niso pa še dokazali, da je spremenjen glutamatni transporter razlog za izbruh bolezni. Na gostoto glutamatnih transporterjev na membranah astrocitov bistveno vpliva koncentracija amoniaka v zunajceličnem prostoru.

Na astrocitih najdemo metabotropne in ionotropne receptorje za glutamat v približno enaki gostoti kot na živčnih celicah (44). Iz presinaptičnih končičev v sinaptično špranjo sproščen nevrottransmitter ne doseže le receptorjev na posinaptični tarčni celici (posinaptični živčni oziroma drugi efektorski celici), ampak tudi na perisinaptičnih astrocitih. Aktiviranje glutamatnih receptorjev na astrocitih ima za posledico: regulacijo privzemanja glutamata in kalijevih ionov v astrocite (45, 46) ter posledično sproščanje glutamata kot prenašalca iz gličnih celic. Iz astrocitov sproščeni glutamat na presinaptičnem živčnem končiču modulira sproščanje nevrottransmitterja/jev (15) ali pa aktivira receptorje za glutamat na postsinaptičnem nevronu (15). Perisinaptični astrociti, ki sprejemajo signale iz presinaptičnih živčnih končičev ter odgovarjajo nanje, niso le pasivni podporni element, ampak enakopravni del tridelne sinapse (16, 17).

Poleg privzemanja glutamata so na astrocitih dokazali še transportne proteine za druge nevrottransmitterje, npr. za aspartat/glutamat (47–49), GABA (50), glicin (51, 52) in biogene amine (53). Kljub temu da še niso identificirali posebnega transporterja, astrociti privzemajo histamin (54, 55) in vsebujejo encime za njegovo razgradnjo (56). Na ta način astrociti intenzivno sodelujejo pri inaktiviranju različnih nevrottransmitterjev. Glikogen je edina energetska rezerva v osrednjem živčevju, vendar ga je tu približno desetkrat manj kot v skeletnih mišicah oz. stokrat manj kot v jetrih. Astrocitni glikogen nastaja iz glukoze, ki jo neposredno iz možganskih žil privzamejo perivaskularni astrociti. Zaloge zadostujejo za pokrivanje izgub med fiziološkimi aktivnostmi (57). Največ ga je nakopičenega v astrocitih, bistveno manj ga je v endimskih celicah in celicah horioidnega pleteža ter večjih nevronih v možganskem deblu. Zanimivo je, da se med splošno anestezijo bistveno povečajo zaloge glikogena (58); dodajanje splošnih anestetikov v primarne kulture astrocitov pa ne vpliva na raven glikogena v njih. Za vsako privzeto molekulo glutamata se hkrati v celico prenese tudi molekula glukoze. Na raven glikogena v astrocitih vplivajo različni nevrottransmitterji – monoaminski prenašalci povzročajo glikogenolizo, glutamat pa aktivira privzemanje glukoze v astrocite in izplavljanje laktata v zunajcelični prostor. Ta učinek je časovno in prostorsko omejen, verjetno zato, da se zagotovi dodatna energija pri povečani živčni aktivnosti na določenem področju.

Med razvojem po rojstvu astrociti pridobijo še eno lastnost: sposobnost, da iz mirujočega stanja preidejo v reaktivno fazo. Omenjeno sposobnost pridobijo približno takrat, ko se zmanjša regenerativna sposobnost v osrednjem živčevju.

Pri patoloških procesih

Škodljivi dejavniki, ki prizadanejo osrednje živčevje, npr. virusne okužbe (59, 60), mehanska poškodba (61), degenerativni procesi (62, 63) in nekateri nevrotoksini (64–68), povzročijo, da se mirujoči astrociti spremenijo v reaktivne celice, ki aktivno posredujejo v procesu regeneracije osrednjega živčevja oz. pri brazgotinjenju, kadar pride do večje izgube živčnih celic. Največkrat brazgotina predstavlja oviro pri regeneraciji živčevja, včasih pa tudi pripomore k zdravljenju, saj astrociti tako kot mikroglija fagocitirajo ostanke uničenih celic, hkrati pa brazgotina ščiti prizadeto tkivo pred morebitnimi sekundarnimi poškodbami, npr. škodljivimi posledicami vnetja.

Za proces reaktivne glioze je značilna hkratna proliferacija mikroglije in hipertrofija astrocitov. Do proliferacije astrocitov pride le, če je ob poškodbi nastal prostor, kjer se lahko delijo astrociti. Reaktivni astrociti so bistveno večji kot astrociti

ti v mirujoči fazi, vsebujejo več glikogena in citoskeletnih proteinov, npr. glične kisle fibrilarne beljakovine in proteina S100.

Reaktivna gliozna ni splošen, stereotipen odgovor astrocitov na poškodbo.

Obstajajo dokazi, da se reaktivni odgovor astrocitov razlikuje kvalitativno in kvantitativno, odvisno od narave nokse, ki je povzročila reaktivni odgovor v astrocitih, od mesta delovanja nokse ter od starosti poskusne živali. Pri odraslih poskusnih živalih je reaktivna gliozna bolj izrazita kot pri novorojenih živalih. Pri novorojenih živalih mehanska poškodba povzroči le minimalno reaktivno gliozo (33), če pa možganovino novorojenih živali kronično dražimo npr. z vsaditvijo tujka iz nitrocelulozne membrane, je reaktivni odgovor astrocitov intenzivnejši in obsežnejši tudi pri novorojenih miših (34, 35). Pri odraslih osebkih je reaktivna gliozna najbolj izražena po mehanskih poškodbah in najmanj po aksotomiji ali delovanju nevrotoksinov, npr. 6-hidroksidopaminu, ki selektivno poškoduje adrenergične in dopaminergične nevrone in 5,7-dihidroksitriptaminu, ki selektivno uniči serotonergične nevrone.

Kvalitativne razlike v izražanju reaktivne glioze so: časovni potek reakcije (reaktivni odgovor astrocitov po mehanski poškodbi nastopi v nekaj urah [69], oz. po 3–7 dnevih, če je osrednje živčevje izpostavljeno nevrotoksinom [68]); prisotnost reaktivnega odgovora na kontralateralni strani (pri enostranski poškodbi substance nigre opazimo reaktivni odgovor tudi na kontralateralni strani, vendar je bistveno manj izrazit kot na ipsilateralni strani [70]) in prisotnost reaktivnega odgovora distalno od mesta poškodbe (po poškodbi substance nigre s 6-hidroksidopaminom, nastopi reaktivni odgovor astrocitov tudi v striatumu in v možganski skorji, mestih, kamor segajo projekcije poškodovanih nevronov [68]), in mitotična aktivnost. Med količinske razlike v izražanju reaktivnega odgovora astrocitov spada količina porasta označevalcev, ki označujejo reaktivno gliozo.

Prehod astrocitov iz mirujočega v reaktivno stanje spremlja povečano izražanje in sproščanje molekul, ki so normalno prisotne le v manjših količinah oz. jih med normalnim delovanjem z obstoječimi metodami merjenja ne zaznamo. To so: različni rastni dejavniki, citokini, encimi, citoskeletni proteini, molekule zunajceličnega matriksa in receptorji (za podrobnosti glej 25–28, 71). Astrociti, ki so prisotni v neposredni okolici poškodbe (proksimalni reaktivni astrociti), kjer je prišlo do obsežne poškodbe tkiva in kjer bo nastala trajna brazgotina, se odzivajo zelo burno (anizomorfnost gliozna) in izražajo večje količine označevalcev reaktivne glioze kot oddaljeni reaktivni astrociti, ki so prisotni v manj prizadetem okolju, kjer ne bo prišlo do brazgotinjenja (izomorfnost gliozna) (70, 72).

Primarne kulture astrocitov, ki jih pripravimo iz predela osrednjega živčevja, kjer je izražena reaktivna gliozna, se morfološko in funkcionalno razlikujejo od primarnih kultur, pripravljenih iz zdravih predelov možganov. Astrociti, pripravljeni iz področja reaktivne glioze, se v *in vitro* pogojih začnejo hitreje deliti kot astrociti iz kontrolnih živali enake starosti ter izražajo signifikantno večje količine GFAP, vimentina ter proteina S100 kot astrociti, pripravljeni iz kontrolne skupine živali. Primarne kulture astrocitov, pripravljene iz poškodovanih možganov, imajo 5-krat večjo gostoto adrenergičnih receptorjev (37) in vsebujejo 7- do 9-krat večjo količino živčnega rastnega dejavnika (70) kot astrociti, pripravljeni iz možganov kontrolnih živali. Na reaktivnih astrocitih lahko izzovemo učinek (povečano sproščanje nevrotrofičnih dejavnikov) z interleukinom-1 β in interferonom- γ , medtem ko omenjena citokina ne povzroča učinka pri mirujočih astrocitih (70). Če povzamemo, reaktivni astrociti pridobijo nekatere lastnosti astrocitov iz neonatalnega obdobja.

Reaktivna gliozna je kompleksen proces, ki vključuje več tipov celic (aktivirana mikroglija, astrociti) in ima za posledico regeneracijo in/ali odmrtnost poškodovanih nevronov. Dve ključni

vprašanji še vedno nimata pravega odgovora. Prvič, kaj sproži pretvorbo mirujočih astrocitov v reaktivne – ali je to mogoče reaktivna mikroglija, transformirajoči rastni dejavnik $\beta 1$ (TGF $\beta 1$ – angl. *transforming growth factor*), ciliarni nevrotrofični dejavnik (CNTF) ali interleukin-6 (73) in drugi, ali je reaktivna glijoza škodljiv ali koristen proces. Sposobnost, da reaktivni astrociti sintetizirajo različne molekule, ki pospešujejo regeneracijo poškodovanih nevronov, npr. rastne dejavnike, citokine in molekule zunajceličnega matriksa, je nedvomno koristna. Tvorba trajne brazgotine in sproščanje inhibitornih substanc, npr. heparan sulfata, hondroitin sulfata, keratina in drugih proteoglikanov (74) pa onemogočata regeneracijo nevronov. V patoloških razmerah astrociti lahko reagirajo še na drug način – z nabrekanjem.

Nabrekanje astrocitov se pojavi v primerih, ko je osrednje živčevje izpostavljeno ishemiji, mehanski poškodbi in med epileptičnim statusom (18). Nabrekanje astrocitov lahko povzroči: večje koncentracije glutamata (1 mM) (19), aktivacija adenozinjskih receptorjev (20) in prebitek kalijevih ionov (60–80 mM) (21), najbolj raziskano pa je nabrekanje astrocitov v primerih, ko se bistveno poveča koncentracija amoniaka v krvi – med fulminantnim hepatitisom in portosistemsko encefalopatijo.

Amoniak je majhna molekula, ki prehaja krvno-možgansko pregrado. Astrociti ga uporabljajo za pretvarjanje glutamata v neaktiven glutamin, reakcijo katalizira glutamin sintetaza, encim, ki se nahaja le v astrocitih. V astrocitih med hiperamonemijo nastajajo in se kopičijo bistveno večje količine glutamina. Glutamin je ozmotsko aktiven in povzroči zadrževanje tekočine v astrocitih in posledično otekanje (22). Zunanajcelična koncentracija amoniaka uravnava aktivnost glutamatnih transporterjev na astrocitih. Med hiperamonemijo se zmanjša aktivnost transporterjev za glutamat na astrocitih, kar povzroči večjo koncentracijo zunajceličnega glutamata ter posledično nevrotoksično delovanje (23). Od hiperamonemije odvisno nabrekanje astrocitov lahko zmanjšamo z nevrosteroide (24), ki predstavljajo eno od možnih zdravil za zdravljenje možganskega edema.

Nabrekanje astrocitov je lahko akutno (npr. med fulminantnim hepatitisom) in se klinično odraža kot akutni možganski edem, pri kronični obliki pa so astrociti povečani, imajo blede jedro in vsebujejo manjšo količino GFAP (75).

Povečani astrociti zmanjšajo svetlino kapilar v osrednjem živčevju, kar zmanjša prekrvljenost, obenem pa se zaradi zmanjšane prostornine zunajceličnega prostora povečajo koncentracije ionov v njej. Prebitek kalijevih ionov v zunajcelični tekočini povzroči povečano vzdražnost živčnih celic, kar lahko povzroči krče (38). Nabrekli perivaskularni astrociti otežujejo tudi difuzijo odpadnih produktov v možganske žile (18).

Astrociti in farmakologija

Odkritje, da so nevrotrofični dejavniki nujni za razvoj, diferenciacijo in vzdrževanje sinaptične plastičnosti nevronov v osrednjem in perifernem živčevju, je rodilo idejo o zdravljenju nevrodegenerativnih bolezni in možganskih poškodb z nevrotrofičnimi dejavniki. Nevrotrofični dejavniki so sorazmerno velike molekule, ki ne prehajajo krvno-možganske pregrade in imajo kratek razpolovni čas, zato je potrebno ali intratekalno vbrizgavanje nevrotrofičnih dejavnikov ali transplantacija celic, ki sintetizirajo nevrotrofične dejavnike, na me-

Tab. 2. *Doslej identificirani farmakološki receptorji na astrocitih pri podganah. Njihova prisotnost je bila potrjena z vezavnimi študijami z uporabo radioligandov, z avtoradiografskimi poskusi oz. imunocitokemično.*

Tab. 2. *Pharmacological receptors up to now identified on rat astrocytes. The receptors were identified using radioactive ligand binding studies, autoradiography, or immunocytochemistry.*

Holinergični Cholinergic	muskrinski M1, M2 muscarinic M1, M2	(79)
	nikotinski nicotinic	(80)
Za biogene amine For biogene amines	adrenergični $\alpha 1, \alpha 2, \beta 1, \beta 2$ adrenergic $\alpha 1, \alpha 2, \beta 1, \beta 2$	(81)
	dopaminski D1, D2 dopamine D1, D2	(82, 83)
	histaminski H1, H2 histamine H1, H2	(84)
	serotoninski 5-HT1A, -2, -5A, -6, -7 serotonin 5-HT1A, -2, -5A, -6, -7	(85–88)
Za aminokislinske prenašalce For amino acid neurotransmitters	GABA GABA-A, GABA-B GABA GABA-A, GABA-B	(89) (90)
	glutamat mGluR, AMPA glutamate mGluR, AMPA	(91, 44)
Za neuropeptide For neuropeptides	angiotenzin II AT2 angiotensine II AT2	(92)
	atrijski natriuretični peptid atrial natriuretic peptide	(93)
	bombezin bombesine	(94)
	bradikinin B2 bradykinin B2	(95)
	endotelin ET-1 in ET-3 endothelin ET-1, ET-3	(96)
	galaninski galanine	(97)
	holecistokinin cholecystokinin	(94)
	opiatni κ, δ opiate κ, δ	(98)
	neuropeptid Y neuropeptide Y	(99)
	nevrotenzin neurotensin	(100)
	vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) vasoactive intestinal peptide	(92)
	vazopresin vasopressin	(93)
Za nevrotrofične dejavnike Neurotrophic factors	trk B, p75, CNTFR, GDNFR trk B, p75, CNTFR, GDNFR	(101, 102)
Nevrosteroide Neurosteroids	estrogenski estrogen	(103)
Purinski Purine	adenozinski adenosine	(104)
Drugi Others	interleukin-1 interleukin-1	(105)
	Inositol-3-fosfat Inositol-3-phosphate	(106)

sto poškodbe oz. dajanje ligandov, ki aktivirajo nevrotrofične receptorje.

Prototipski nevrotrofični dejavnik NGF, ki je tudi najbolj raziskan, povzroča učinke prek aktiviranja dveh tipov receptorjev: p140^{TRK} tirozinsko-kinaznega receptorja A (trkA) in nevrotrofinskega receptorja p75^{NTR}. Oba tipa receptorjev se po vezavi NGF dimerizirata, nastanejo lahko homodimere trkA/trkA in p75/p75 ali heterodimera trkA/p75. Homodimera trkA/trkA in heterodimera trkA/p75 posredujejo nevroprotektivni učinek, medtem ko homodimera p75/p75 posreduje programirano celično smrt (76). Skratka, učinek NGF je odvisen od ravnotežja med razpoložljivimi receptorji za nevrotrofični dejavnik na tarčni celici.

Najnovejši cilj pri zdravljenju z nevrotrofičnimi dejavniki v osrednjem živčevju je izkoristiti in modilirati endogeno produkcijo nevrotrofičnih dejavnikov iz astrocitov. Astroцитi sintetizirajo in sproščajo nevrotrofične dejavnike. Sintezo in sproščanje le-teh lahko modiliramo tudi z nevrotrofitransmiterji oz. njihovimi agonisti, ker astroцити izražajo receptorje za večino prenašalcev v osrednjem živčevju (77, 78) (tab. 2).

Znano je, da primarne kulture astrocitov, vzgojene iz možganske skorje novorojenih podgan, v razmerah *in vitro* sproščajo povečane količine NGF pod vplivom interleukina-1 β (107), interleukina-6 (108), transformirajočega ravnega dejavnika β 1 (109), histamina (110), noradrenalina (9). Nasprotno pa serotonin kaže večjo področno specifičnost. Serotonin poveča sintezo NGF v primarnih kulturah astrocitov, vzgojenih iz striatuma, zmanjša sintezo NGF v astroцитih, vzgojenih iz malih možganov, in ne vpliva na sintezo NGF v astroцитih, vzgojenih iz možganske skorje novorojenih podgan (111). V primarnih kulturah, pripravljenih iz zdravih odraslih podgan, pa serotonin poveča tvorbo NGF tako v astroцитih, pripravljenih iz striatuma, kot malih možganov ter ne vpliva na sintezo NGF v astroцитih, vzgojenih iz možganske skorje (111).

Z zdravilom, ki bi prehajalo krvno-možgansko pregrado in z vezavo na določen receptor na astroцитu reguliralo sintezo in sproščanje ustreznega nevrotrofičnega dejavnika, bi bilo možno na mestu možganske poškodbe zagotoviti primerno biološko razpoložljivost potrebnega nevrotrofičnega dejavnika.

Zaključki

Astroцити že dolgo niso več pasivne podporne celice, ki ustvarjajo primerno okolje za delovanje nevronov, ampak nevrom enakovredni partnerji s pomembnimi funkcijami v vseh življenjskih obdobjih.

Zahvala

Zahvaljujem se dr. Joan P. Schwartz, Neurotrophic Factors Section, NINDS, NIH, Bethesda, ZDA, ki me je uvedla v magični svet glije.

Literatura

- Virchow R. Über das granuliert Aussehen der Wandungen der Gehirnvventrikel. *Allg Z Psychiatr* 1846; 3: 242–55.
- Ramón y Cajal S. *Histologie de system nerveux de l'homme et des vertébrés*. CSIS. Madrid: Instituto Cajal 1955.
- Giaume C, McCarthy K. Control of gap-junctional communication in astrocyte networks. *Trends Neurosci* 1996; 19: 319–25.
- Alvarez-Maubecin V, Garcia-Hernandez F, Williams JT, Van Bockstaele EJ. Functional coupling between neurons and glia. *J Neurosci* 2000; 20: 4091–8.
- Verhratsky A, Kettenmann H. Calcium signalling in glial cells. *Trends Neurosci* 1996; 19: 346–52.
- Rakic P. Neuron-glia relationship during granule cell migration in developing cerebellar cortex. A Golgi and electromicroscopic study in Macaca rhesus. *J Comp Neurol* 1971; 141: 283–312.
- Hatten ME. Neuronal regulation of astroglial morphology and proliferation *in vitro*. *J Cell Biol* 1985; 100: 384–96.
- Pfrierger FW, Barres BA. Synaptic efficacy enhanced by glial cells *in vitro*. *Science* 1997; 277: 1684–7.
- Schwartz JP, Mishler K. β -adrenergic receptor regulation, through cyclic AMP, of nerve growth factor expression in rat cortical and cerebellar astrocytes. *Cell Mol Neurobiol* 1990; 10: 447–57.
- Ullian EM, Sapperstein SK, Christopherson KS, Barres BA. Control of synapse number by glia. *Science* 2001; 291: 657–60.
- Walz W. Role of astrocytes in the clearance of excess extracellular potassium. *Neurochem Int* 2000; 36: 291–300.
- Erecinska M, Silver IA. Metabolism and role of glutamate in mammalian brain. *Prog Neurobiol* 1990; 35: 245–96.
- Gegelashvili G, Schousboe A. High affinity glutamate transporters: re-expression of expression and activity. *Mol Pharmacol* 1997; 52: 6–15.
- Nicholls D, Attwell D. The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 462–8.
- Araque A, Sanzgiri RP, Parpura V, Haydon PG. Calcium elevation in astrocytes causes an NMDA receptor-dependent increase in the frequency of miniature synaptic currents in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci* 1998; 18: 6822–9.
- Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Tripartite synapse: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci* 1998; 22: 208–15.
- Vesce S, Bezzi P, Volterra A. The highly integrated dialogue between neurons and astrocytes in brain function. *Science Progress* 1999; 82: 251–70.
- Aschner M, Allen JW, Kimelberg HK, LoPachin RM, Streit JW. Glial cells in neurotoxicity development. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 151–73.
- Dombro RS, Bender AS, Norenberg MD. Association between cell swelling and glycogen content in cultured astrocytes. *Int J Dev Neurosci* 2000; 18: 161–9.
- Bourke RS, Kimelberg HK, Daze M, Church G. Swelling and ion uptake in cat cerebrotical slices: control by neurotransmitters and ion transport mechanisms. *Neurochem Res* 1983; 8: 5–24.
- Bender AS, Norenberg MD. The role of K⁺ influx on glutamate induced astrocyte swelling: effect of temperature. *Acta Neurochirurgica* 1994; 60: Suppl: 28–30.
- Willard-Mack CL, Koehler RC, Hirata T, Cork LC, Takahashi H, Traystman RJ, Brusilow SW. Inhibition of glutamine synthetase reduces ammonia-induced astrocyte swelling in rat. *Neuroscience* 1996; 71: 589–99.
- Zhou BG, Norenberg MD. Ammonia down-regulates GLAST mRNA glutamate transporter in rat astrocyte cultures. *Neuroscience Lett* 1999; 276: 145–8.
- Bender AS, Norenberg MD. Effect of benzodiazepines and neurosteroids on ammonia-induced swelling in cultured astrocytes. *J Neurosci Res* 1998; 54: 673–80.
- Eddleston M, Mucke L. Molecular profile of reactive astrocytes-implications for their role in neurologic disease. *Neuroscience* 1993; 54: 15–36.
- McMillan MK, Thai L, Hong JS, O'Callaghan JP, Pennypacker KR. Brain injury in a dish: a model for reactive gliosis. *Trends Neurosci* 1994; 17: 138–42.
- Ridet JL, Malhorta SK, Privat A, Gage FH. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function. *Trends Neurosci* 1997; 20: 570–7.
- Krzan M, Nomura T, Schwartz JP. Neurochemical approaches to the characterization of reactive gliosis. *Recent Res Devel Neurochem* 1999; 2: 247–55.
- Sarnat HB. Developmental disorders of the nervous system. In: Bradley WG, Daroff RRB, Fenichel GM, Marsden CD. *Neurology in clinical practice. The neurological disorders*. Second edition. Boston: Butterworth-Heinemann, 1995: 1459–2.
- Hof PR, Trapp BD, de Vellis J, Claudio L, Colman DR. The cellular components of nervous tissue. In: Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL, Squire LR. *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999: 41–70.
- Goldstein GW. Endothelial cell-astrocyte interactions: a cellular model for the blood-brain barrier. *Ann NY Acad Sci* 1988; 529: 31–9.
- Shewan D, Berry M, Cohen J. Extensive regeneration *in vitro* by early embryonic neurons on immature and adult CNS tissue. *J Neurosci* 1995; 15: 2057–62.
- Balasingam V, Tejada-Berges T, Wright E, Bouckova R, Yong VW. Reactive astrogliosis in the neonatal mouse brain and its modulation by cytokines. *J Neurosci* 1994; 14: 846–56.
- Balasingam V, Dickson K, Brade A, Yong VW. Astrocyte reactivity in neonatal mice: apparent dependence on the presence of reactive microglia/macrophages. *Glia* 1996; 18: 11–26.
- Rostworowski M, Balasingam V, Chabot S, Owens T, Yong VW. Astrogliosis in the neonatal and adult murine brain post-trauma: elevation of inflammatory cytokines and the lack of requirement for endogenous interferon- γ . *J Neurosci* 1997; 17: 3664–74.
- Schwartz JP, Sheng JG, Mitsuo K, Shirabe S, Nishiyama N. Trophic factor production by reactive astrocytes in injured brain. *Ann NY Acad Sci* 1993; 679: 226–34.
- Shao Y, McCarthy KD. Plasticity of astrocytes. *Glia* 1994; 11: 147–55.
- D'Ambrosio R, Maris DO, Grady MS, Winn HR, Janigro D. Electrophysiological properties of post-traumatic hippocampal glia. *J Neurosci* 1999; 19: 8152–62.
- Mennerick S, Dhond RP, Benz A, Xu W, Rothstein JD, Danbolt NC, Isenberg KE, Zorumski CF. Neuronal expression of the glutamate transporter GLT-1 in hippocampal microcultures. *J Neurosci* 1998; 18: 4490–9.
- Frandsen A, Shousboe A. Development of excitatory amino acid induced cytotoxicity in cultured neurons. *Int J Dev Neurosci* 1990; 8: 209–16.
- Conti F, Weinberg RJ. Shaping excitation at glutamatergic synapses. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 22: 451–8.
- Bristol LA, Rothstein JD. Glutamate transporter gene expression in amyotrophic lateral sclerosis motor cortex. *Ann Neurol* 1996; 39: 676–9.
- Meyer T, Speer A, Meyer B, Sitte W, Kuehner G, Ludolph AC. The glial glutamate transporter complementary DNA in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1996; 40: 456–9.
- Gallo V, Ghiani CA. Glutamate receptors in glia: new cells, new inputs and new functions. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 252–8.
- Bergles DE, Jahr CE. Synaptic activation of glutamate transporters in hippocampal astrocytes. *Neuron* 1997; 19: 1297–308.
- Vernadakis A. Glia-neuron intercommunications and synaptic plasticity. *Prog Neurobiol* 1996; 49: 185–214.

47. Seal RP, Amara SG. Excitatory amino acid transporters: a family in flux. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 431–56.
48. Borowsky B, Hoffman BJ. Neurotransmitter transporters: molecular biology, function and regulation. *Int Rev Neurobiol* 1995; 38: 139–99.
49. Sager TN, Thomsen C, Stenmann-Valborg J, Laursen H, Hansen AJ. Astroglia contain a specific transport mechanism for N-acetyl-L-aspartate. *J Neurochem* 1999; 73: 807–11.
50. De Biasi S, Vitellaro-Zuccarello L, Brecha NC. Immunoreactivity for the GABA transporter-1 and GABA transporter-3 is restricted to astrocytes in the rat thalamus. A light and electron microscopic immunolocalization. *Neuroscience* 1998; 83: 815–28.
51. Borowsky B, Mezey E, Hoffman BJ. Alternative splicing results in two glycine transporter variants with distinct localization in the CNS and peripheral tissues. *Neuron* 1993; 10: 851–63.
52. Borowsky B, Hoffman BJ. Analysis of a gene encoding two glycine transporter variants reveals alternative promoter usage and a novel gene structure. *J Biol Chem* 1998; 273: 29077–85.
53. Anderson EJ, McFarland D, Kimelberg HK. Serotonin uptake by astrocytes in situ. *Glia* 1992; 6: 154–8.
54. Huszti Z, Imrik P, Madarasz E. 3H-histamine uptake and release by astrocytes from rat brain: effects of sodium deprivation, high potassium, and potassium channel blockers. *Neurochem Res* 1994; 19: 1249–56.
55. Huszti Z. Carrier-mediated high affinity uptake system for histamine in astroglial and cerebral endothelial cells. *J Neurosci Res* 1998; 51: 551–8.
56. Rafalowska U, Waskiewicz J, Albrecht J. Is neurotransmitter histamine predominantly inactivated in astrocytes? *Neurosci Lett* 1987; 80: 106–10.
57. Magistretti PJ. Regulation of glycogenolysis by neurotransmitters in the central nervous system. *Diabet Met* 1988; 14: 237–46.
58. Phelps CH. Barbiturate-induced glycogen accumulation in brain. An electron microscopic study. *Brain Res* 1972; 39: 225–34.
59. Ma KC, Nie XJ, Hoog A, Olsson Y, Zhang WW. Reactive astrocytes in viral infections of the human brain express endothelin-like immunoreactivity. *J Neurol Sci* 1994; 126: 184–92.
60. Wyss-Coray T, Masliah E, Toggas SM, Rockenstein EM, Brooker MJ, Lee HS, Mucke L. Dysregulation of signal transduction pathways as a potential mechanism of nervous system alterations in HIV-1 gp120 transgenic mice and humans with HIV-1 encephalitis. *J Clin Invest* 1996; 97: 789–98.
61. Faden AI. Experimental neurobiology of central nervous system trauma. *Crit Rev Neurobiol* 1993; 7: 175–86.
62. Delacourte A. General and dramatic glial reaction in Alzheimer brains. *Neurology* 1990; 40: 33–7.
63. Pike CJ, Cummings BJ, Cotman CW. Early association of reactive astrocytes with senile plaques in Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 1995; 132: 172–9.
64. Rataboul P, Faucon-Biguet N, Vernier P, De Vitry F, Boularand S, Privat A, Mallet J. Identification of a human glial fibrillary acidic protein cDNA: a tool for the molecular analysis of reactive gliosis in the mammalian central nervous system. *J Neurosci Res* 1988; 20: 165–75.
65. Reinhard JF Jr., Miller DB, O'Callaghan JP. The neurotoxicant MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) increases glial fibrillary acidic protein and decreases dopamine levels of the mouse striatum: evidence for glial response to injury. *Neurosci Lett* 1988; 95: 246–51.
66. Schneider JS, Denaro FJ. Astrocytic responses to the dopaminergic neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in cat and mouse brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 1988; 47: 452–8.
67. Ogawa M, Araki M, Nagatsu I, Yoshida M. Astroglial cell alteration caused by neurotoxins: immunohistochemical observations with antibodies to glial fibrillary acidic protein, laminin, and tyrosine hydroxylase. *Exp Neurol* 1989; 106: 187–96.
68. Sheng JG, Shirabe S, Nishiyama N, Schwartz JP. Alterations in striatal glial fibrillary acidic protein expression in response to 6-hydroxydopamine-induced denervation. *Exp Brain Res* 1993; 95: 450–6.
69. Goss JR, O'Malley ME, Zou L, Styren SD, Kochanek PM, DeKosky ST. Astrocytes are the major source of nerve growth factor regulation following traumatic brain injury in the rat. *Exp Neurol* 1998; 149: 301–9.
70. Wu VW, Nishiyama N, Schwartz JP. A culture model of reactive astrocytes: increased nerve growth factor synthesis and reexpression of cytokine responsiveness. *J Neurochem* 1988; 71: 749–56.
71. Schwartz JP. Neurotransmitters as neurotrophic factors: a new set of functions. *Int Rev Neurobiol* 1992; 34: 1–23.
72. Nomura T, Yabe T, Rosenthal ES, Kržan M, Schwartz JP. PSA-NCAM distinguishes reactive astrocytes in 6-OHDA-lesioned substantia nigra from those in the striatal terminal fields. *J Neurosci Res* 2000; 61: 588–96.
73. Streit WJ, Hurley SD, McGraw TS, Sempere-Rowland SL. Comparative evaluation of cytokine profiles and reactive gliosis supports a critical role for interleukin-6 in neuron-glia signaling during regeneration. *J Neurosci Res* 2000; 61: 10–20.
74. Nieto-Sampedro M. Neurite outgrowth inhibitors in gliotic tissue. *Adv Exp Med Biol* 1999; 468: 207–24.
75. Magistretti PJ. Brain energy metabolism. In: Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL, Squire LR. *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1999, 389–413.
76. Yuen EC, Mobley WC. Therapeutic potential of neurotrophic factors for neurological disorders. *Neurolog Progr* 1996; 40: 346–54.
77. Porter JT, McCarthy KD. Astrocytic neurotransmitter receptors in situ and *in vivo*. *Prog Neurobiol* 1997; 51: 439–55.
78. Kimelberg HK. Receptors on astrocytes – what possible functions? *Neurochem Int* 1995; 26: 27–40.
79. Murphy S, Pearce B, Morrow C. Astrocytes have both M1 and M2 muscarinic receptor subtypes. *Brain Res* 1986; 364: 177–80.
80. Hösl E, Hösl L. Autoradiographic localization of binding sites for muscarinic and nicotinic agonists and antagonists on cultured astrocytes. *Exp Brain Res* 1988; 71: 450–4.
81. Hösl E, Hösl L. Evidence for the existence of alpha- and beta-adrenoceptors on neurones and glial cells of cultured rat central nervous system – an autoradiographic study. *Neuroscience* 1982; 7: 2873–81.
82. Zanassi P, Paolillo M, Montecucco A, Avvedimento EV, Schinelli S. Pharmacological and molecular evidence for dopamine D(1) receptor expression by striatal astrocytes in culture. *J Neurosci Res* 1999; 58: 544–52.
83. Khan ZU, Koulen P, Rubinstein M, Grandy DK, Goldman-Rakic PS. An astroglia-linked D2-receptor action in prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 48: 1964–8.
84. Čarman-Kržan M, Lipnik-Štangelj M. Molecular properties of central and peripheral histamine H1 and H2 receptors. *Pflügers Arch* 2000; 439: Suppl 3: R131–2.
85. Whitaker-Azmitia PM, Azmitia EC. Astroglial 5-HT1A receptors and S-100β in development and plasticity. *Perspect Dev Neurobiol* 1994; 2: 233–8.
86. Deecher DC, Wilcox BD, Dave V, Rossman PA, Kimelberg HK. Detection of 5-hydroxytryptamine2 receptors by radioligand binding, northern blot analysis, and Ca²⁺ responses in rat primary astrocyte cultures. *J Neurosci Res* 1993; 35: 246–56.
87. Carson MJ, Thomas EA, Danielson PE, Sutcliffe JG. The 5-HT5a serotonin receptor in expressed predominantly by astrocytes in which it inhibits cAMP accumulation: a mechanism for neuronal suppression of reactive astrocytes. *Glia* 1996; 17: 317–26.
88. Hirst WD, Price GW, Rattray M, Wilkin GP. Identification of 5-hydroxytryptamine receptors positively coupled to adenylyl cyclase in rat cultured astrocytes. *Br J Pharmacol* 1997; 120: 509–13.
89. Hösl E, Otten U, Hösl L. Expression of GABA(A) receptors by reactive astrocytes in explant and primary cultures of rat CNS. *Int J Dev Neurosci* 1997; 15: 949–60.
90. Hösl E, Hösl L. Evidence for GABAB-receptors on cultured astrocytes of rat CNS: autoradiographic binding studies. *Exp Brain Res* 1990; 80: 621–5.
91. Cai Z, Kimelberg HK. Glutamate receptor-mediated calcium responses in acutely isolated hippocampal astrocytes. *Glia* 1997; 21: 380–9.
92. Hösl E, Hösl L. Autoradiographic localization of binding sites for vasoactive intestinal peptide and angiotensin II on neurones and astrocytes of cultured rat central nervous system. *Neuroscience* 1989; 31: 463–70.
93. Hösl E, Hösl L. Autoradiographic localization of binding sites for arginine vasopressin and atrial natriuretic peptide on astrocytes and neurones of cultured rat central nervous system. *Neuroscience* 1992; 51: 159–6.
94. Hösl E, Hösl L. Binding of cholecystokinin, bombesin and muscarine to neurones and astrocytes in explant cultures of rat central nervous system: autoradiographic and immunohistochemical studies. *Neuroscience* 1994; 61: 63–72.
95. Cholewinski AJ, Stevens G, McDermott AM, Wilkin GP. Identification of B2 bradykinin binding sites on cultured cortical astrocytes. *J Neurochem* 1991; 57: 1456–8.
96. Hösl E, Hösl L. Autoradiographic evidence for endothelin receptors on astrocytes in cultures of rat cerebellum, brainstem and spinal cord. *Neurosci Lett* 1991; 129: 55–8.
97. Hösl E, Ledergerber M, Kofler A, Hösl L. Evidence for the existence of galanin receptors on cultured astrocytes of rat CNS: colocalization with cholinergic receptors. *J Chem Neuroanat* 1997; 13: 95–103.
98. Eriksson PS, Hansson E, Ronnback L. Delta and kappa opiate receptors in primary astroglial cultures. Part II: Receptor sets in cultures from various brain regions and interactions with beta-receptor activated cyclic AMP. *Neurochem Res* 1992; 17: 545–51.
99. Hösl E, Hösl L. Autoradiographic localization of binding sites for neuropeptide Y and bradykinin on astrocytes. *Neuroreport* 1993; 4: 159–62.
100. Hösl E, Stauffer S, Hösl L. Autoradiographic and electrophysiological evidence for the existence of neurotensin receptors on cultured astrocytes. *Neuroscience* 1995; 66: 627–33.
101. Rudge JS, Li Y, Pasnikowski EM, Mattsson K, Pan L, Yancopoulos GD, Wiegand SJ, Lindsay RM, Ip NY. Neurotrophic factor receptors and their signal transduction capabilities in rat astrocytes. *Eur J Neurosci* 1994; 6: 693–705.
102. Bresjanac M, Antauer G. Reactive astrocytes of the quinolinic acid-lesioned rat striatum express GFRα1 as well as GDNF *in vivo*. *Exp Neurol* 2000; 164: 53–9.
103. Hösl E, Jurasin K, Ruhl W, Luthy R, Hösl L. Colocalization of androgen, estrogen and cholinergic receptors on cultured astrocytes of rat central nervous system. *Int J Dev Neurosci* 2001; 19: 11–9.
104. Hösl E, Hösl L. Autoradiographic studies on the uptake of adenosine and on binding of adenosine analogues in neurones and astrocytes of cultured rat cerebellum and spinal cord. *Neuroscience* 1988; 24 (2): 621–8.
105. Jurič DM, Čarman-Kržan M. Interleukin-1β, but not IL-1α mediate nerve growth factor secretion from rat astrocytes via type I receptor. *Int J Develop Neurosci* (v tisku).

106. Hösli E, Hösli L. Autoradiographic localization of binding sites for second messengers on neurones and astrocytes of cultured rat cerebellum. *Neurosci Lett* 1991; 125: 49–52.
 107. Čarman-Kržan M, Vige X, Wise BC. Regulation by interleukin-1 of nerve growth factor secretion and nerve growth factor mRNA expression in rat primary astroglial cultures. *J Neurochem* 1991; 56: 636–43.
 108. Lipnik-Štangelj M, Čarman-Kržan M. The effects of histamine and interleukin-6 on NGF release from cortical astrocytes in primary culture. *Pfluegers Archives – Eur J Physiol* 2000; 440: Suppl: R99–R100.
 109. Jurič DM, Čarman-Kržan M. Cytokine-regulated secretion of nerve growth factor from cultured rat neonatal astrocytes. *Pfluegers Arch – Eur J Physiol* 2000; 440: Suppl: R96–8.
 110. Lipnik-Štangelj M, Jurič DM, Čarman-Kržan M. Histamine-induced synthesis and secretion of nerve growth factor from astrocytes. *Inflamm Res* 1998; 47: Suppl: S34–S5.
 111. Kržan M, Wu VW, Schwartz JP. Serotonin regulation of nerve growth factor synthesis in neonatal and adult astrocytes: a comparison with the β -adrenergic agonist isoproterenol. *J Neurosci Res* 2001; 1991: 261–7.
-