

Влияние модуляторов оксида азота на отток цереброспинальной жидкости через решетчатую кость мышей линии C57Bl/6

Д.В. Петровский^{1,2}, В.А. Ким¹, М.Б. Шарапова¹, Д.С. Зуев¹, А.Ж. Ибраева¹,
Е.К. Сильванович¹, М.П. Мошкин¹, А.В. Ромащенко^{1,3,4}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

² Институт гидродинамики им. М.А. Лаврентьева СО РАН

630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 15

³ ФИЦ Институт вычислительных технологий СО РАН

630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 6

⁴ Институт «Международный томографический центр» СО РАН

630090, г. Новосибирск, ул. Институтская, 3а

Введение

В ЦНС лимфатическая система кроме выведения метаболических отходов участвует в регуляции внутричерепного давления, критически важного параметра для жизнедеятельности организма. Одним из возможных путей дренажа цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) является ее ток через отверстия решетчатой кости (РК) в носовую полость. Несмотря на значимый вклад назального пути в общую ликвородинамику, о механизмах данного процесса и способах его регуляции известно мало. В силу своего влияния на тонус кровеносных и перистальтику лимфатических сосудов оксид азота (NO) является мощным модулятором движения ликвора, но его эффекты на назальный отток ЦСЖ до сих пор не изучены. **Цель и методы исследования.** При помощи диффузионно-взвешенной (ДВ) МРТ охарактеризовано изменение движения ЦСЖ через РК мышей линии C57Bl/6 под влиянием интраназальной аппликации модуляторов синтеза NO. **Результаты.** При помощи данных ДВ МРТ, совмещенных с результатами КТ-картирования РК, детектирован значительный отток ЦСЖ через ее наиболее крупные дорсальные и вентральные отверстия, расположенные вдоль носовой перегородки. При этом скорость потока ЦСЖ через дорсальные отверстия РК была наибольшей. Показано, что интраназальное введение донора NO уже через 30 мин приводит к значимому снижению скорости диффузии воды через РК, тогда как аппликация неспецифического ингибитора NO-синтазы в носовую полость усиливает назальный отток. Эффекты используемых модуляторов не имели каких-либо выраженных пространственных паттернов, ток ЦСЖ достоверно менялся по всем отверстиям РК вне зависимости от их размера или локализации. **Заключение.** Полученные результаты демонстрируют потенциальную возможность неинвазивной локальной регуляции ликвородинамики, что может быть полезно при разработке как новых подходов к терапии внутричерепной гипертензии различной этиологии, так и методов детоксикации ЦНС.

Ключевые слова: диффузионно-взвешенная МРТ, назальный отток, цереброспинальная жидкость, оксид азота.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-11-00264).

Автор для переписки: Ромащенко А.В., e-mail: yuter2006@yandex.ru

Для цитирования: Петровский Д.В., Ким В.А., Шарапова М.Б., Зуев Д.С., Ибраева А.Ж., Сильванович Е.К., Мошкин М.П., Ромащенко А.В. Влияние модуляторов оксида азота на отток цереброспинальной жидкости через решетчатую кость мышей линии C57Bl/6. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(1):52–60. doi: 10.18699/SSMJ20240106

Effect of nitric oxide modulators on cerebrospinal fluid outflow through the cribriform plate of C57Bl/6 mice

D.V. Petrovsky^{1,2}, V.A. Kim¹, M.B. Sharapova¹, D.S. Zuev¹, A.Zh. Ibrayeva¹,
E.K. Silvanovich¹, M.P. Moshkin¹, A.V. Romashchenko^{1,3,4}

¹ Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630090, Novosibirsk, Akademika Lavrentieva ave., 10

² Lavrentiev Institute of Hydrodynamics of SB RAS
630090, Novosibirsk, Akademika Lavrentieva ave., 15

³ Federal Research Center Institute of Computational Technologies of SB RAS
630090, Novosibirsk, Akademika Lavrentieva ave., 6

⁴ International Tomography Center of SB RAS
630090, Novosibirsk, Institutskaya st., 3a

Abstract

Introduction. Beside the excretion of metabolic wastes, the lymphatic system in CNS play a crucial role in the regulation of intracranial pressure that is vital for the organism. One of the possible pathways of cerebrospinal fluid (CSF) drainage is its flow through the foramen of the cribriform plate (CP) into the nasal cavity. Despite the significant contribution of the nasal tract to the overall dynamics of the liquor, not much is known about the mechanisms of this process and how it is regulated. Due to its influence on the tone of blood vessels and peristalsis of lymphatic vessels, nitric oxide (NO) is a powerful modulator of liquor outflow, but its effects on nasal CSF outflow have not been studied yet. **Aim and Methods.** Using diffusion-weighted magnetic resonance imaging (DW MRI), we characterized the changes in CSF outflow through the CP of C57Bl/6 mice influenced by intranasal application of NO synthesis modulators. **Results.** In our study, using DW MRI and computer tomography (CT) mapping of the CP, we detected significant CSF outflow through its large dorsal and ventral foramen located along the nasal septum. At the same time, the CSF flow rate through the dorsal orifices of the CP was the highest. In addition, we showed that intranasal introduction of NO donor after 30 min leads to a significant decrease of water diffusion through the CP whereas application of a nonspecific NO synthase inhibitor into the nasal cavity enhances nasal outflow. The effects of the NO modulators did not have any significant spatial patterns; CSF outflow was significantly altered across all CP orifices regardless of their size or localization. **Conclusion.** The obtained results demonstrate the potential possibility of noninvasive local regulation of liquor dynamics, which may be used in the development of new approaches to the therapy of intracranial hypertension of various etiologies and methods of CNS detoxification.

Key words: diffusion-weighted MRI, nasal outflow, cerebrospinal fluid, nitric oxide.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (grant No. 22-11-00264)

Correspondence author: Romashchenko A.V., e-mail: yuter2006@yandex.ru

Citation: Petrovsky D.V., Kim V.A., Sharapova M.B., Zuev D.S., Ibrayeva A.Zh., Silvanovich E.K., Moshkin M.P., Romashchenko A.V. Effect of nitric oxide modulators on cerebrospinal fluid outflow through the cribriform plate of C57Bl/6 mice. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(1):52–60. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240106

Введение

Лимфатическая система выполняет ряд важных функций в организме, включая выведение лишней жидкости и метаболитических отходов. Ранее считалось, что центральная нервная система (ЦНС) является единственной системой органов, в которой отсутствует система удаления продуктов жизнедеятельности из интерстициального пространства. Впоследствии было показано, что в твердых оболочках мозга присутствуют лимфатические сосуды, а клиренс инвезтиция ЦНС осуществляется с помощью лимфатической системы [1, 2]. Несмотря на то что было проведено множество исследований, посвященных изучению ликвородинамики, и идентифицировано несколько путей оттока цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), значение каждого в процессе очистки ликвора до конца непонятно.

Изменения в циркуляции ЦСЖ оказывают решающее значение в регуляции внутричерепного давления (ВЧД), что лежит в основе терапии многих нейропатологий. Поскольку ткань мозга не сжимаема и ограничена жесткой черепной коробкой, диаметр сосудов головного мозга и баланс между продукцией и оттоком ЦСЖ определяют значение ВЧД. При неврологических заболеваниях развивается внутричерепная гипертензия, и основные стратегии медикаментозной терапии данного симптома заключаются в снижении продукции ликвора сосудистыми сплетениями мозга, изменении осмотического давления крови и улучшении дренирования ликвора [3]. На данный момент в клинической практике применяют большое количество протоколов снижения ВЧД, базирующихся на первых двух подходах, которые имеют ряд серьезных недостатков (трудности с

подбором дозировок вследствие высокой вариабельности индивидуальной чувствительности к лекарственным препаратам, невозможность длительной терапии из-за возникновения побочных эффектов) [4]. Поэтому возникает необходимость в разработке новых альтернативных методик лечения внутричерепной гипертензии, основанных на фармакологической регуляции экстракраниального оттока ЦСЖ, которые в сочетании с уже существующими позволят повысить эффективность терапии.

Конкретные пути, по которым ЦСЖ может достигать лимфатической системы, в полной мере не изучены, однако большая часть современных литературных источников описывает следующие основные анатомические пути ее клиренса: арахноидальные грануляции, пути вдоль черепно-мозговых нервов и лимфатические сосуды твердой мозговой оболочки. Считается, что помимо арахноидальной грануляции огромную роль в регуляции оттока ЦСЖ играет именно путь вдоль обонятельных нервов [5]. Ликвор вытекает из головного мозга либо через внеклеточное пространство между пучками аксонов обонятельных сенсорных нервов, поскольку межклеточное пространство между пучками аксонов обеспечивает направленные пути с низким сопротивлением потока для жидкости или вдоль кровеносных сосудов по перваскулярному пространству, либо напрямую по лимфатическим сосудам, идущим сквозь решетчатую кость (РК) вдоль ольфакторных нервов [6]. Поскольку в подслизистой оболочке носовой полости расположено большое количество сосудов, часть которых тянется вдоль обонятельных нервов и пересекает вместе с ними РК, их диаметр может оказывать влияние на гидравлическое сопротивление оттока ЦСЖ через РК [7]. При этом блокада назального оттока повышает ВЧД [8] и, вероятно, влияет на траекторию циркуляции ЦСЖ. Таким образом, управляя тонусом сосудов, проходящих через отверстия РК, возможно напрямую влиять на отток ЦСЖ в носовую полость, корректировать траекторию движения ликвора в ЦНС и изменять ВЧД.

Одним из мощных модуляторов диаметра сосудов является оксид азота (NO) [9]. Также NO является вазодилататором и играет значимую роль в антивирусной и антибактериальной защите организма, поэтому активно синтезируется клетками верхних и нижних дыхательных путей, где вероятность контакта с этими патогенами максимальна [10, 11]. В верхних дыхательных путях наибольшее количество NO синтезируется клетками параназальных синусов [10]. Известно, что NO способен влиять на проницаемость и

перистальтическую активность лимфатических сосудов [12], поэтому модуляция синтеза назального NO гипотетически может позволить регулировать отток ЦСЖ из ЦНС как через РК, так и вдоль других черепных нервов, соответственно, влиять на ВЧД [13]. В данной работе мы при помощи диффузионно-взвешенной (ДВ) МРТ охарактеризовали изменение движения ЦСЖ через решетчатую кость мыши под влиянием интраназальной аппликации модуляторов синтеза оксида азота.

Материал и методы

Животные

Работа выполнена на базе ЦКП SPF-виварий Института цитологии и генетики СО РАН (RFMEFI62119X0023). Эксперимент проводился на 30 самцах мышей инбредной линии C57Bl/6 возрастом 6–8 недель. Подопытных мышей содержали в однополых группах по 5 животных в индивидуально вентилируемых клетках системы OptiMice (Animal Care Systems, США) в контролируемых условиях при 22–26 °С, относительной влажности 30–60 %, при искусственном световом режиме 14С:10Т, при выключении освещения в 16:00 и включении в 02:00 [14]. В качестве подстилки использовали автоклавированную березовую обеспыленную мелкую стружку (1–2 мм). Животные получали в режиме *ad libitum* комбикорм «Дельта Фидс» («БиоПро», РФ) и водопроводную воду, фильтруемую системой ELIX 35 (Millipore, США). Содержание и манипуляции с животными проводились в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive (86/609 EEC) и регламентировались стандартными операционными процедурами, разработанными в соответствии с требованиями ГОСТ 33044-2014 (Принципы надлежащей лабораторной практики) и принципами и нормами биоэтики (закключение биоэтической комиссии Института цитологии и генетики СО РАН № 138 от 30.11.2022). При проведении испытаний использовались здоровые животные с подтвержденным статусом здоровья.

Модуляторы образования NO и их введение животным

В качестве модуляторов синтеза NO использованы растворы донора NO N-ацетил-3-(нитрозотио)-DL-валина (SNAP; 1,7 мг/мл) и неселективного ингибитора NO-синтазы, N^G-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME; 3,8 мг/мл). Препараты вводили мышам интраназально при помощи автоматической пипетки в каждую ноздрю по 7 мкл [15, 16].

МРТ-диагностика

Параметры движения ЦСЖ мышей исследовали при помощи МРТ на томографе Ultra-High-Definition BioSpec 117/16 USR 11,7 Тл (Bruker, Германия). Сканирование проводили с помощью объемной приемопередающей катушки с круговой поляризацией (Bruker, T12970V3). МРТ-сканирование и последующую обработку полученных изображений выполняли в соответствии со следующим протоколом. За 2–3 минуты до исследования мышей обездвигивали изофлураном (Baxter Healthcare Corp., США) при помощи наркозного аппарата в режиме воздушного потока 300–350 мл/мин с подачей 4 % наркотизирующего вещества (The Univentor 400 Anaesthesia Unit, Univentor, Мальта), при МРТ-сканировании подавали 2 % наркотизирующего вещества. Температуру животных поддерживали с помощью водного контура в томографическом столике-кроватьке, имевшем температуру поверхности 30 °С. Под нижнюю часть туловища помещали пневматический датчик дыхания (SA Instruments, США), что позволяло контролировать глубину наркоза.

Данные по диффузии воды через РК были получены с помощью T2*-взвешенной импульсной последовательности, метод спин-эхо эхо-планарной визуализации (echo planar imaging, EPI) [17, 18]. Сканирование проводили в одном ортогональном направлении, перпендикулярном плоскости РК. Исходя из предварительных мультитензорных экспериментов, по этому направлению скорость диффузии воды была максимальной. Параметры использованной последовательности: TR = 3000 мс, TE = 32,1 мс, поле зрения (FOV) – 20 × 20 мм², размер матрицы – 128 × 128, количество срезов (NS) – 1, количество усреднений (NA) – 3, толщина среза (ST) – 1 мм, ширина полосы (BW) – 2 × 10⁵ Гц, количество сегментов – 3, значение b = 6 (30, 60, 120, 250, 500, 1000 с/мм²). Параметры диффузии и перфузии для МРТ были получены путем применения модели двойной экспоненциальной регрессии с использованием следующего уравнения:

$$S/S_0 = f_{IVIM} e^{-(D^* + D_{blood})} + (1 - f_{IVIM}) e^{-bD},$$

где b – градиент магнитного поля; f_{IVIM} – фракция перфузии; D^* – коэффициент псевдодиффузии; D_{blood} – коэффициент диффузии воды в крови; D – коэффициент диффузии воды в ткани.

Измерив интенсивность сигнала при разных градиентах магнитного поля, согласно модели линейного затухания, мы определили значение границы между перфузией и диффузией жидкости в области РК у мышей инбредной линии C57Bl (b > 230–240). Обозначив параметры диффузии для ДВ МРТ, далее использовали три значения

градиента магнитного поля (b = 250; 500; 1000) для исследования динамики оттока ЦСЖ через РК. Для позиционирования среза при ДВ МРТ использовали данные, полученные на основе T2*-взвешенных изображений с использованием метода TurboRARE (Rapid Imaging with Refocused Echoes). Параметры импульсной последовательности метода: TE = 33 мс, TR = 3200 мс, NA = 1; параметры изображения: размер 2,5 × 2,5 см, матрица 256 × 256 точек, ориентация срезов – сагитальная; общее время сканирования 2 мин.

Статистический анализ

Оценку нормальности распределения признака проводили с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Для попарного сравнения нормально распределенных признаков использовали t-критерий Стьюдента. Визуализация данных производилась в программах ImageJ и Adobe Illustrator.

Результаты**Картирование оттока ЦСЖ через РК**

Морфологическое строение РК достаточно консервативное. У разных мышей могут быть отличия в размерах, количестве и локализации мелких отверстий в кости, однако у всех встречаются четыре крупных отверстия, имеющие схожую локализацию в РК [7]. Несмотря на подробное описание анатомического строения РК в других работах, на данный момент нет *in vivo* данных по количественному вкладу отдельных отверстий в отток ЦСЖ. При помощи ДВ МРТ и компьютерной томографии (КТ) мы смогли визуализировать паттерн диффузии ЦСЖ через отверстия РК. Используя полученные ДВ МРТ-изображения РК, рассчитали коэффициент действительной диффузии (ADC) для каждого вокселя в области РК и построили «тепловые» карты движения ЦСЖ. Совместив полученные карты с данными КТ по структуре кости, мы подтвердили, что рассчитанные нами ADC-карты соответствуют анатомически наиболее крупным отверстиям РК (рис. 1, б). Это позволило верифицировать используемый нами подход для оценки диффузии воды через РК. Для оценки влияния индивидуальных особенностей морфофункционального строения РК на ADC-ландшафт мы рассчитали средний ADC для каждого пикселя изображения РК и построили усредненную по всем животным тепловую карту, иллюстрирующую общую тенденцию оттока ликвора при физиологических условиях. Среди остальных фенестраций кости максимальное значение ADC отмечалось в области самых крупных из них, находящихся в передней части кости, латеральнее петушиного гребня (*crista*

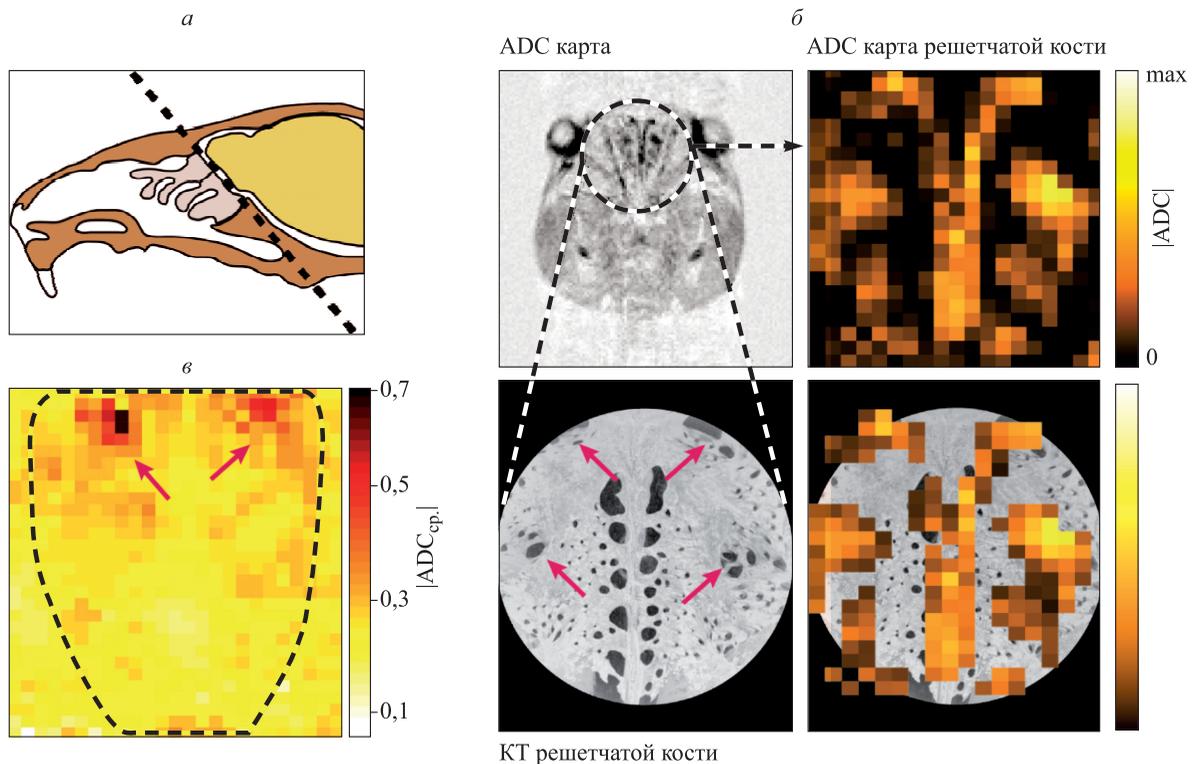


Рис. 1. Карта распределения значений коэффициента диффузии ADC по РК мыши. а – ориентация среза при проведении ДВ МРТ; б – пример ADC-карты, вычисленной на основе данных ДВ МРТ, наложенной на КТ-изображение РК мыши; в – усредненная ADC-карта ($n = 6$). Для упрощения визуализации на рисунке представлен модуль ADC. Пунктиром обозначены границы РК, красными стрелками – основные входы пучков обонятельных нервов в череп мыши

Fig. 1. Map of the distribution of ADC diffusion coefficient values across the mouse CP. а – the slice orientation of DW MRI; б – example ADC map calculated from DW MRI data superimposed on the CT image of the mouse CP; в – averaged ADC map ($n = 6$). To simplify the visualisation, the ADC module is used in the figure. The dotted line indicates the boundaries of the CP, red arrows – the main inputs of the olfactory nerve bundles into the mouse skull

galli), где проходят дорсальные волокна обонятельного нерва.

Влияние модуляторов образования NO на отток ЦСЖ через РК

Далее мы исследовали влияние интраназального введения модуляторов продукции NO на отток ЦСЖ через РК. Ранее показано, что в регуляции оттока ЦСЖ из мозга в носовую полость участвуют как лимфатические сосуды, проходящие через РК, так и кровеносные, находящиеся в твердой мозговой оболочке [19, 20]. Известно, что NO влияет и на тонус кровеносных сосудов, и на интенсивность перистальтики лимфатических сосудов [21, 22]. Таким образом, концентрация назального NO может являться значимым фактором регуляции оттока ЦСЖ. Измерение движения жидкости в области РК проводилось при помощи ДВ МРТ через 30 минут после введения донора NO (SNAP) или ингибитора NO-синтазы (L-NAME). В качестве характеристики

этого процесса использовали отношение ADC-коэффициентов движения ЦСЖ через РК до и после введения веществ, которое рассчитывали индивидуально для каждой мыши (рис. 2).

При однократном введении SNAP в носовую полость мыши мы отметили достоверное по сравнению с контрольной группой, которой интраназально вводили растворитель, снижение отношения $ADC_{\text{после/до}}$, что говорит о снижении скорости диффузии протонов через РК. L-NAME, неспецифический ингибитор NO-синтазы, достоверно усиливал отток жидкости через РК (см. рис. 2, б). Для оценки пространственных паттернов в проявлении наблюдаемых эффектов модуляторов образования NO мы построили «тепловые» карты воксельного сравнения ADC коэффициентов до и после введения препаратов (см. рис. 2, в). Исходя из полученных данных, и усиление, и снижение оттока ЦСЖ под действием SNAP и L-NAME происходило относительно равномерно по всей площади РК.

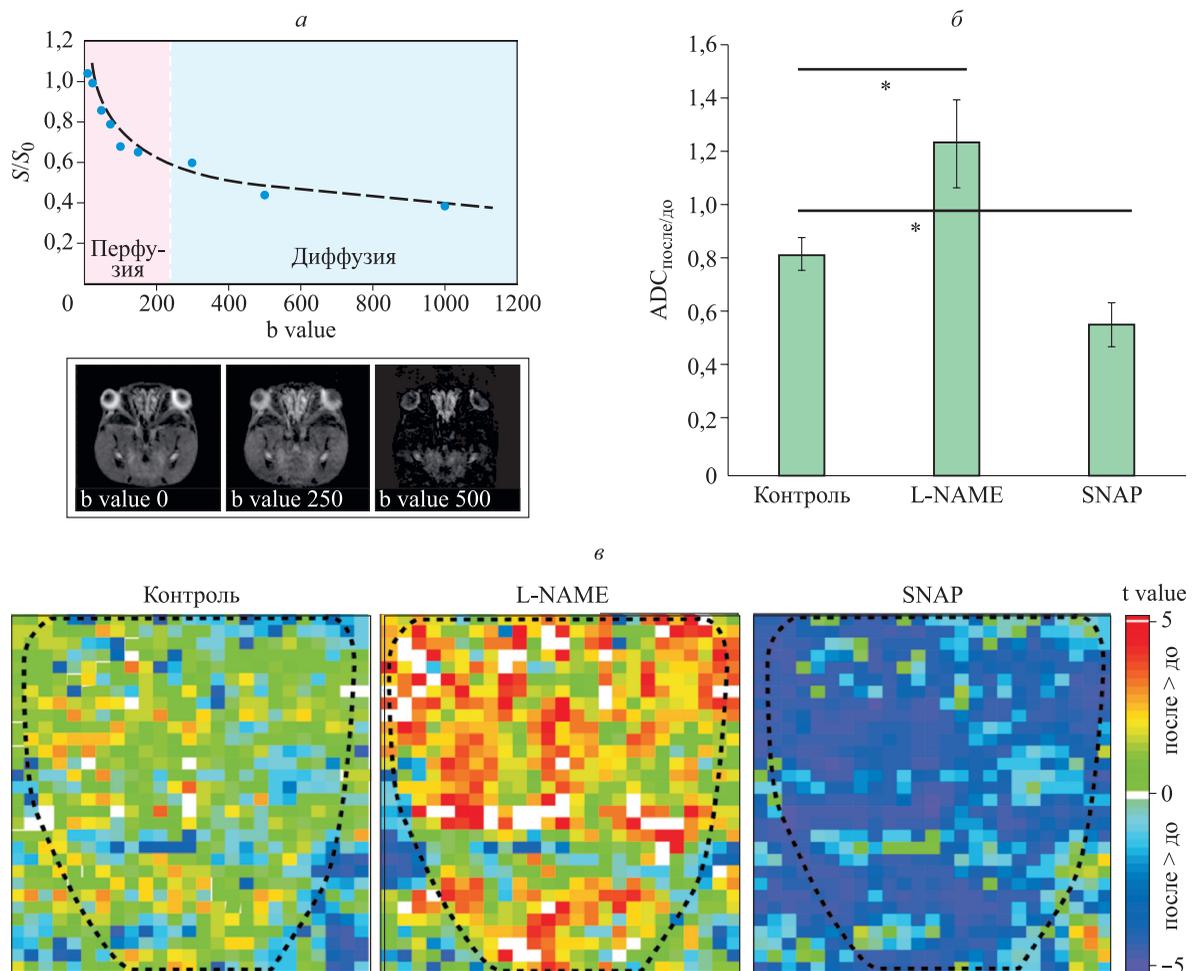


Рис. 2. Влияние модуляторов клеточной продукции NO на диффузию воды через РК. а – зависимость интенсивности сигнала на T2*-взвешенных МРТ-изображениях от градиента магнитного поля (b-value). МРТ-сигнал выражен как отношение сигнала в области интереса при определенных значениях b (10–1000 мТ/см²) к сигналу в этой же области в отсутствие градиента магнитного поля. На панели снизу приведены примеры T2*-взвешенных МРТ изображений при разных значениях b. б – отношение величин ADC до и через 30 мин после введения препаратов (растворитель (контроль) (n = 6), L-NAME (n = 6), SNAP (n = 6)). в – пространственные паттерны распределения t-критерия (обозначен цветом), полученного в результате повоксельных сравнений ADC РК (границы обозначены пунктиром) до и после введения препаратов. Для построения «тепловых» карт использовали значение t-критерия Стьюдента для зависимых выборок, * – отличие от соответствующих величин в контроле статистически значимо ($p < 0,05$)

Fig. 2. Effect of modulators of cellular NO production on water diffusion through the CP. а – dependence of signal intensity of T2*-weighted MR images on magnetic field gradient (b-value). MRI signal is expressed as the ratio of the signal in the region of interest at certain b values (10–1000 mT/cm²) to the signal in the same region in the absence of magnetic field gradient. The panel at the bottom shows examples of T2*-weighted MR images at different b-values. б – actual diffusion coefficient (ADC) ratio before and 30 min after drug administration (solvent (control) (n = 6), L-NAME (n = 6), SNAP (n = 6)). в – spatial patterns of t-test distribution (indicated by color) obtained from voxel comparisons of ADC (boundaries of CP indicated by dashed lines) before and after drug injection. The t-test value for dependent samples was used to construct heat maps, * – significant differences compared to control ($p < 0.05$)

Обсуждение

ВЧД определяется мозговым кровообращением и циркуляцией ЦСЖ. При этом сосудистый компонент трудно выразить количественно, так как он определяется множеством переменных, таких как артериальное давление и церебраль-

ный венозный отток. Наибольшее значение имеет ликвородинамика, играющая ключевую роль в определении ВЧД [23]. Известно, что внутричерепная гипертензия становится причиной многих неврологических заболеваний [18], в связи с этим поиск способов регуляции оттока ЦСЖ – важная

терапевтической задача. Основная доля ЦСЖ абсорбируется арахноидальными грануляциями, которые выпячиваются из субарахноидального пространства в венозные синусы твердой мозговой оболочки [21]. Любые подходы к регуляции ЦСЖ через системное воздействие на кровеносную систему индуцируют большое количество побочных эффектов в организме [4], поэтому локальные методы модуляции ликворооттока более предпочтительны с терапевтической точки зрения. Помимо сосудистых сплетений, отток ЦСЖ происходит по менингеальным лимфатическим сосудам, располагающимся в твердой мозговой оболочке, и вдоль черепно-мозговых нервов, среди которых особое внимание уделяется обонятельным [5]. Показано, что у мышей дренаж ЦСЖ вдоль обонятельных нервов является одним из основных путей оттока ликвора из головного мозга, у крупных млекопитающих играет значимую роль в ликвородинамике [6]. Учитывая возможность неинвазивно регулировать ольфакторный отток ЦСЖ, назначая препараты интраназально, данный способ дренажа ликвора может расширить возможности терапии внутричерепной гипертензии и снизить количество побочных эффектов.

Назальный отток предполагает движение ЦСЖ через отверстия РК с последующим всасыванием экстракраниальными лимфатическими сосудами носовой полости. Расположение и размеры отверстий РК демонстрируют высокую межиндивидуальную изменчивость, тем не менее у всех мышей имеется две пары (дорсальная и вентральная) отверстий с консервативной локализацией на РК [7]. В нашем исследовании с помощью данных ДВ МРТ, совмещенных с результатами КТ-картирования РК, мы детектировали значимый отток ЦСЖ через дорсальные, вентральные и крупные отверстия, расположенные вдоль носовой перегородки (см. рис. 1). При этом скорость оттока ЦСЖ через дорсальные отверстия РК была наибольшей. Возможно, полученные данные объясняются анатомическими особенностями этих двух областей назального эпителия. У млекопитающих через дорсальную, самую крупную, пару отверстий проходят аксоны ольфакторных нейронов, обладающих большей чувствительностью к запаховым стимулам в сравнении с нейронами вентральной части носовой полости [24]. Это возможно благодаря высокой скорости потока воздуха в дорсальной части носового хода, что, с одной стороны, позволяет концентрировать большее количество молекул запахового стимула в мукозальном слое [20, 25], с другой – предполагает более высокую седиментацию наноразмерных ксенобиотиков и патогенов

[20]. При этом отток ЦСЖ по межклеточным пространствам ольфакторных нервов препятствует парааксональному проникновению патогенов в мозг млекопитающих [26]. В свете этого более высокая скорость оттока ЦСЖ из ЦНС в носовую полость по инвестицию дорсальных пучков аксонов ольфакторных нейронов может компенсировать повышенный риск контаминации в этой области.

Исходя из современных представлений о возможных механизмах назального оттока, ЦСЖ либо движется вдоль оболочек обонятельных нервов через интерстициальное пространство до лимфатических сосудов подслизистой оболочки [27], либо дренирование ЦСЖ лимфатическими сосудами происходит непосредственно в субарахноидальном пространстве [23]. NO, являясь не только одним из наиболее эффективных вазодилататоров, но и регулятором перистальтики лимфатических сосудов [13, 21], может изменять и ликвороотток ЦСЖ из ЦНС в носовую полость. Данные по влиянию NO на ольфакторный отток особенно интересны в связи с тем, что он активно вырабатывается клетками параназального синуса и назальным эпителием [13]. Используя ДВ МРТ, мы показали, что интраназальное введение донора NO приводит к снижению скорости диффузии воды через РК, тогда как аппликация неспецифического ингибитора NO-синтазы в носовую полость усиливает ток ЦСЖ через РК. Эффекты используемых модуляторов не имели каких-либо выраженных пространственных паттернов, ток ЦСЖ достоверно менялся по всем отверстиям РК вне зависимости от их размера или локализации. Показано, что NO индуцирует перистальтическую активность лимфатических сосудов, усиливая таким образом лимфоотток [28]. Мы наблюдали обратный эффект, из чего можно заключить, что изменения оттока ЦСЖ возникают не за счет движения жидкости по лимфатическим сосудам РК. Одним из возможных механизмов реализации данных эффектов может быть вызываемая NO вазодилатация сосудов носовой полости. Управляя локальной концентрацией NO, можно менять тонус сосудов РК, ее гидравлическое сопротивление и, соответственно, назальный отток ЦСЖ. Кроме того, изменение тонуса сосудов может приводить к увеличению тканевого давления и снижению вследствие этого перфузии ткани и лимфооттока. Другим возможным механизмом влияния NO на диффузию воды через РК может быть его действие на транспорт электролитов. Известно, что NO, продуцируемый NO-синтазой в почках, способствует натрийурезу и диурезу за счет расширения почечной сосудистой сети и ингибирования транспорта по нефрону [29]. На-

против, NO, генерируемый NO-синтазой в эндотелиальных клетках системной сосудистой сети, ингибирует захват Na⁺ и способствует задержке жидкости [30].

Таким образом, в рамках данной работы нам впервые удалось показать связь между синтезом NO в носовой полости млекопитающих и оттоком ЦСЖ через РК. Полученные результаты демонстрируют потенциальную возможность неинвазивной локальной регуляции ликвородинамики, что может быть полезно при разработке как новых подходов к терапии внутричерепной гипертензии различной этиологии, так и методов детоксикации ЦНС.

Список литературы / References

- Hablitz L. M., Nedergaard M. The glymphatic system: a novel component of fundamental neurobiology. *J. Neurosci.* 2021;41(37):7698–7711. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0619-21.2021
- Nedergaard M., Goldman S.A. Brain drain. *Sci. Am.* 2016;314(3):44–49. doi: 10.1038/SCIENTIFICAMERICAN0316-44
- Poca M.A., Sahuquillo J. Short-term medical management of hydrocephalus. *Expert. Opin. Pharmacother.* 2005;6(9):1525–1538. doi: 10.1517/14656566.6.9.1525
- Rangel-Castillo L., Gopinath S., Robertson C.S. Management of intracranial hypertension. *Neurol. Clin.* 2008;26(2):521–541. doi: 10.1016/J.NCL.2008.02.003
- Proulx S.T. Cerebrospinal fluid outflow: a review of the historical and contemporary evidence for arachnoid villi, perineural routes, and dural lymphatics. *Cell. Mol. Life Sci.* 2021;78(60):2429–2457. doi: 10.1007/S00018-020-03706-5
- Spera I., Cousin N., Ries M., Kedracka A., Castillo A., Aleandri S., Vladymyrov M., Mapunda J.A., Engelhardt B., Luciani P., Detmar M., Proulx S.T. Open pathways for cerebrospinal fluid outflow at the cribriform plate along the olfactory nerves. *EBioMedicine.* 2023;91:104558. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104558
- Norwood J.N., Zhang Q., Card D., Craine A., Ryan T.M., Drew P.J. Anatomical basis and physiological role of cerebrospinal fluid transport through the murine cribriform plate. *Elife.* 2019; 8:e44278. doi: 10.7554/ELIFE.44278
- Silver I., Kim C., Mollanji R., Johnston M. Cerebrospinal fluid outflow resistance in sheep: impact of blocking cerebrospinal fluid transport through the cribriform plate. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2002;28(1):67–74. doi: 10.1046/J.1365-2990.2002.00373.X
- Chen L., Liu P., Gao H., Sun B., Chao D., Wang F., Zhu Y., Hedenstierna G., Wang C.G. Inhalation of nitric oxide in the treatment of severe acute respiratory syndrome: a rescue trial in Beijing. *Clin. Infect. Dis.* 2004;39(10):1531–1535. doi: 10.1086/42535
- Djupesland P.G., Chatkin J.M., Qian W., Haight J.S. Nitric oxide in the nasal airway: a new dimension in otorhinolaryngology. *Am. J. Otolaryngol.* 2001;22(1):19–32. doi: 10.1053/AJOT.2001.20700
- Ghaffari A., Miller C., McMullin B., Ghahary A. Potential application of gaseous nitric oxide as a topical antimicrobial agent. *Nitric oxide.* 2006;14(1):21–29. doi: 10.1016/J.NIOX.2005.08.003
- Scallan J.P., Hill M.A., Davis M.J. Lymphatic vascular integrity is disrupted in type 2 diabetes due to impaired nitric oxide signalling. *Cardiovasc. Res.* 2015;107(1):89–97. doi: 10.1093/CVR/CVV117
- Martel J., Ko Y.F., Young J. D., Ojcius D.M. Could nasal nitric oxide help to mitigate the severity of COVID-19? *Microbes Infect.* 2020;22(4-5):168–171. doi: 10.1016/j.micinf.2020.05.002
- Ромашенко А.В., Киреева П.Е., Шарапова М.Б., Запара Т.А., Ратушняк А.С. Сенсорная пластичность нейронов ольфакторного эпителия мыши при ассоциативном обучении. *Вавил. ж. генет. и селекции.* 2018;22(8):1070–1077. doi: 10.18699/VJ18.452
- Romashchenko A.V., Kireeva P.E., Sharapova M.B., Zapara T.A., Ratushnyak A.S. Learning-induced sensory plasticity of mouse olfactory epithelium. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2018;22(8):1070–1077. [In Russian]. doi: 10.18699/VJ18.452
- Romashchenko A., Petrovsky D., Moshkin M.P. Congruence of intranasal aerodynamics and functional heterogeneity of olfactory epithelium. *Biology Bulletin Reviews.* 2018;8:23–31. doi: 10.1134/S207908641801005X
- Ромашенко А.В., Шарапова М.Б., Петровский Д.В., Мошкин М.П. Эффективность ольфакторного транспорта наночастиц оксида марганца (II) при однократном или многократном интраназальном введении. *Вавил. ж. генет. и селекции.* 2017;21(3):304–311. doi: 10.18699/VJ17.24
- Romashchenko A.V., Sharapova M.B., Petrovskii D.V., Moshkin M.P. Olfactory transport efficiency of the manganese oxide nanoparticles (II) after their single or multiple intranasal administrations. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2017;21(3):304–311. [In Russian]. doi: 10.18699/VJ17.248
- Завьялов Е.Л., Разумов И.А., Герлинская Л.А., Ромашенко А.В. *In vivo* МРТ-визуализация динамики развития глиобластомы U87 в модели ортотопической ксенотрансплантации мышам линии SCID. *Вавил. ж. генет. и селекции.* 2015; 19(4):460–465. doi: 10.18699/J15.061
- Zavjalov E.L., Razumov I.A., Gerlinskaya L.A., Romashchenko A.V. *In vivo* MRI visualization of growth and morphology in the orthotopic xenotransplantation U87 glioblastoma mouse SCID model. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of*

- Genetics and Breeding*. 2015;19(4):460–465. [In Russian]. doi: 10.18699/J15.061
18. Alshuhri M.S., Gallagher L., McCabe C., Holmes W.M. Change in CSF dynamics responsible for ICP elevation after ischemic stroke in rats: a new mechanism for unexplained END? *Transl. Stroke Res*. 2020;11(2):310–318. doi: 10.1007/S12975-019-00719-6
19. Sakka L., Coll G., Chazal J. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *Eur. Ann. Otorhinolaryngol. Head Neck Dis*. 2011;128(6):309–316. doi: 10.1016/J.ANORL.2011.03.002
20. Yang G.C., Scherer P.W., Zhao K., Mozell M.M. Numerical modeling of odorant uptake in the rat nasal cavity. *Chem. Senses*. 2007;32(3):273–284. doi: 10.1093/CHEMSE/BJL056
21. Ohhashi T., Yokoyama S. Nitric oxide and the lymphatic system. *Jpn. J. Physiol*. 1994;44(4):327–342. doi: 10.2170/JPHYSIOL.44.327
22. Zhao Y., Vanhoutte P.M., Leung S.W. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *J. Pharmacol. Sci*. 2015;129(2):83–94. doi: 10.1016/J.JPHS.2015.09.002
23. Kasprowicz M., Lalou D.A., Czosnyka M., Garnett M., Czosnyka Z. Intracranial pressure, its components and cerebrospinal fluid pressure–volume compensation. *Acta Neurol. Scand*. 2016;134(3):168–180. doi: 10.1111/ANE.12541
24. Challis R.C., Tian H., Wang J., He J., Jiang J., Chen X., Yin W., Connelly T., Ma L., Yu C.R., ... Ma M. An olfactory cilia pattern in the mammalian nose ensures high sensitivity to odors. *Curr. Biol*. 2015;25(19):2503–2512. doi: 10.1016/J.CUB.2015.07.065
25. Kimbell J., Godo M., Gross E., Joyner D., Richardson R., Morgan K. Computer simulation of inspiratory airflow in all regions of the F344 rat nasal passages. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 1997;145(2):388–398. doi: 10.1006/TAAP.1997.8206
26. Dhuria S.V., Hanson L.R., Frey W.H. 2nd. Intranasal delivery to the central nervous system: mechanisms and experimental considerations. *J. Pharm. Sci*. 2010;99(4):1654–1673. doi: 10.1002/JPS.21924
27. Martinez J., Duma R., Nelson E., Moretta F. Experimental naegleria meningoencephalitis in mice. Penetration of the olfactory mucosal epithelium by Naegleria and pathologic changes produced: a light and electron microscope study. *Lab. Invest*. 1973;29(2):121–133.
28. Schwager S., Detmar M. Inflammation and lymphatic function. *Front. Immunol*. 2019;10:308. doi: 10.3389/FIMMU.2019.00308
29. Carlström M. Nitric oxide signalling in kidney regulation and cardiometabolic health. *Nat. Rev. Nephrol*. 2021;17(9):575–590. doi: 10.1038/s41581-021-00429-z
30. Perez-Rojas J.M., Kassem K.M., Beierwaltes W.H., Garvin J.L., Herrera M. Nitric oxide produced by endothelial nitric oxide synthase promotes diuresis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2010;298(4):R1050–R1055. doi: 10.1152/AJPREGU.00181.2009

Сведения об авторах:

Петровский Дмитрий Валерианович, к.б.н., ORCID: 0000-0002-0623-0363, e-mail: dm_petr@bionet.nsc.ru
Ким Владимир Александрович, e-mail: akademmik130@yandex.ru
Шарапова Марина Борисовна, ORCID: 0000-0001-9238-2568, e-mail: super.barberry@yandex.ru
Зуев Даниил Сергеевич, e-mail: zudanievil@yandex.ru
Ибраева Ажар Жангельдиновна, e-mail: ibraevaazh@yandex.ru
Сильванович Елизавета Константиновна, e-mail: foxy2002@yandex.ru
Мошкин Михаил Павлович, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0002-5388-2946, e-mail: mmp@bionet.nsc.ru
Ромашенко Александр Викторович, к.б.н., ORCID: 0000-0002-0674-0574, e-mail: arom@bionet.nsc.ru

Information about the authors:

Dmitrii V. Petrovsky, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-0623-0363, e-mail: dm_petr@bionet.nsc.ru
Vladimir A. Kim, e-mail: akademmik130@yandex.ru
Marina B. Sharapova, ORCID: 0000-0001-9238-2568, e-mail: super.barberry@yandex.ru
Daniil S. Zuev, e-mail: zudanievil@yandex.ru
Azhar Zh. Ibrayeva, e-mail: ibraevaazh@yandex.ru
Elizaveta K. Silvanovich, e-mail: foxy2002@yandex.ru
Mikhail P. Moshkin, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5388-2946, e-mail: mmp@bionet.nsc.ru
Aleksandr V. Romashchenko, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-0674-0574, e-mail: arom@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 07.09.2023

Принята к публикации 18.12.2023

Received 07.09.2023

Accepted 18.12.2023