

Amanda SIERRA, Juan M. ENCINAS, Mirjana MALETIC-SAVATIC
Department of Pediatrics, Baylor College of Medicine, Jan and Dan Duncan Neurological Research Institute
at Texas Children's Hospital, Houston, TX, USA

НЕЙРОГЕНЕЗ У ВЗРОСЛЫХ: ОТ МИКРОСКОПИИ ДО МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ (Печатается с сокращениями)

Продолжение. Начало на суперобложке

В настоящее время нейрогенез является одной из наиболее горячих тем в нейронауке, особенно в связи с новыми возможностями, которые могут быть привнесены в лечение нейродегенеративных заболеваний либо путем вовлечения местных клеток-предшественников в регенерацию утраченной ткани (Sohur и соавт., 2006), либо путем применения клеточных трансплантатов (Goldman и Windrem, 2006). В настоящее время исследование нейрогенеза набирает обороты, о чем свидетельствует экспоненциальный рост публикаций по ключевым словам «adult» AND «neurogenesis OR neural stem cells» (что в русском варианте эквивалентно запросу «взрослые» И «нейрогенез ИЛИ нервные стволовые клетки». — Прим. перев.) (поиск в PubMed был выполнен по состоянию на 31 декабря 2010 г.): в общей сложности было опубликовано 6437 статей,

из которых 57 % (3695) было опубликовано в течение последних 5 лет (рис. 1). Однако только в 8 % из опубликованных статей (530 статей) были представлены данные, полученные при исследовании людей (в поиск было включено ключевое слово «human» (что в русском варианте эквивалентно ключевому слову «люди». — Прим. перев.), которое должно было присутствовать в названии статьи). Это свидетельствует о том, что исследование нейрогенеза у взрослых людей все еще находится в начальном состоянии. Поэтому истинные знания о течении нейрогенеза у зрелых людей ограничены и во многих случаях прямо экстраполированы из исследований на грызунах. В рамках настоящего обзора мы рассмотрим методы, используемые для оценки нейрогенеза у взрослых людей, и его статус при ряде нейропсихиатрических расстройств.

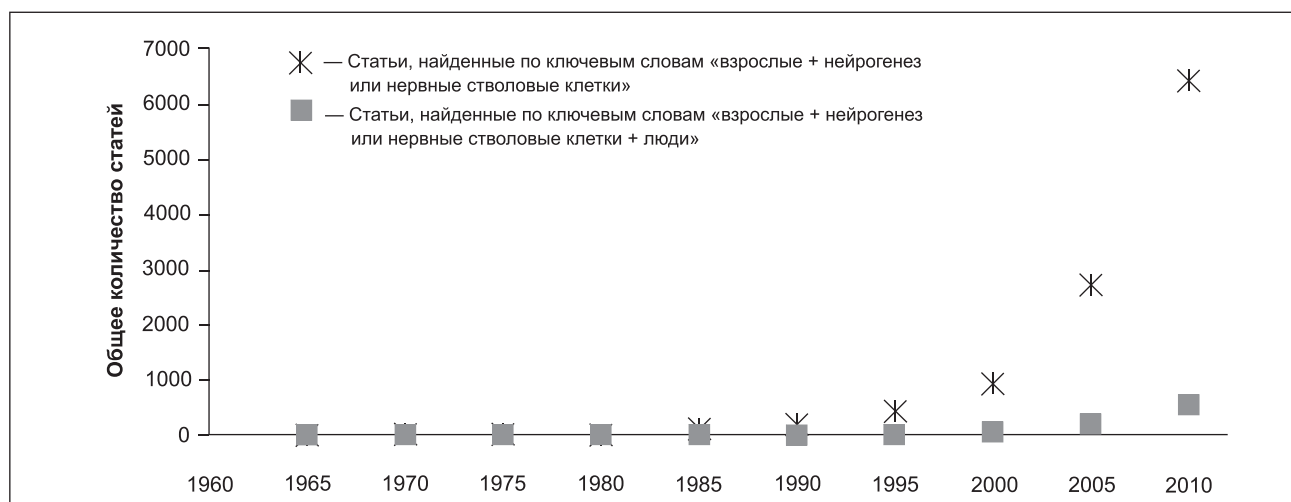


Рисунок 1. Количество статей, опубликованных по теме «нейрогенез у взрослых»: на графике представлено общее количество статей, опубликованных с начала 1960 г., которые были найдены в PubMed по ключевым словам «adult» AND «neurogenesis OR neural stem cells» (что в русском варианте эквивалентно запросу «взрослые» И «нейрогенез ИЛИ нервные стволовые клетки». — Прим. перев.). Звездочки отражают общее количество статей, в то время как серые квадратик — статьи, в названии которых присутствует ключевое слово «human» (что в русском варианте эквивалентно ключевому слову «люди». — Прим. перев.)

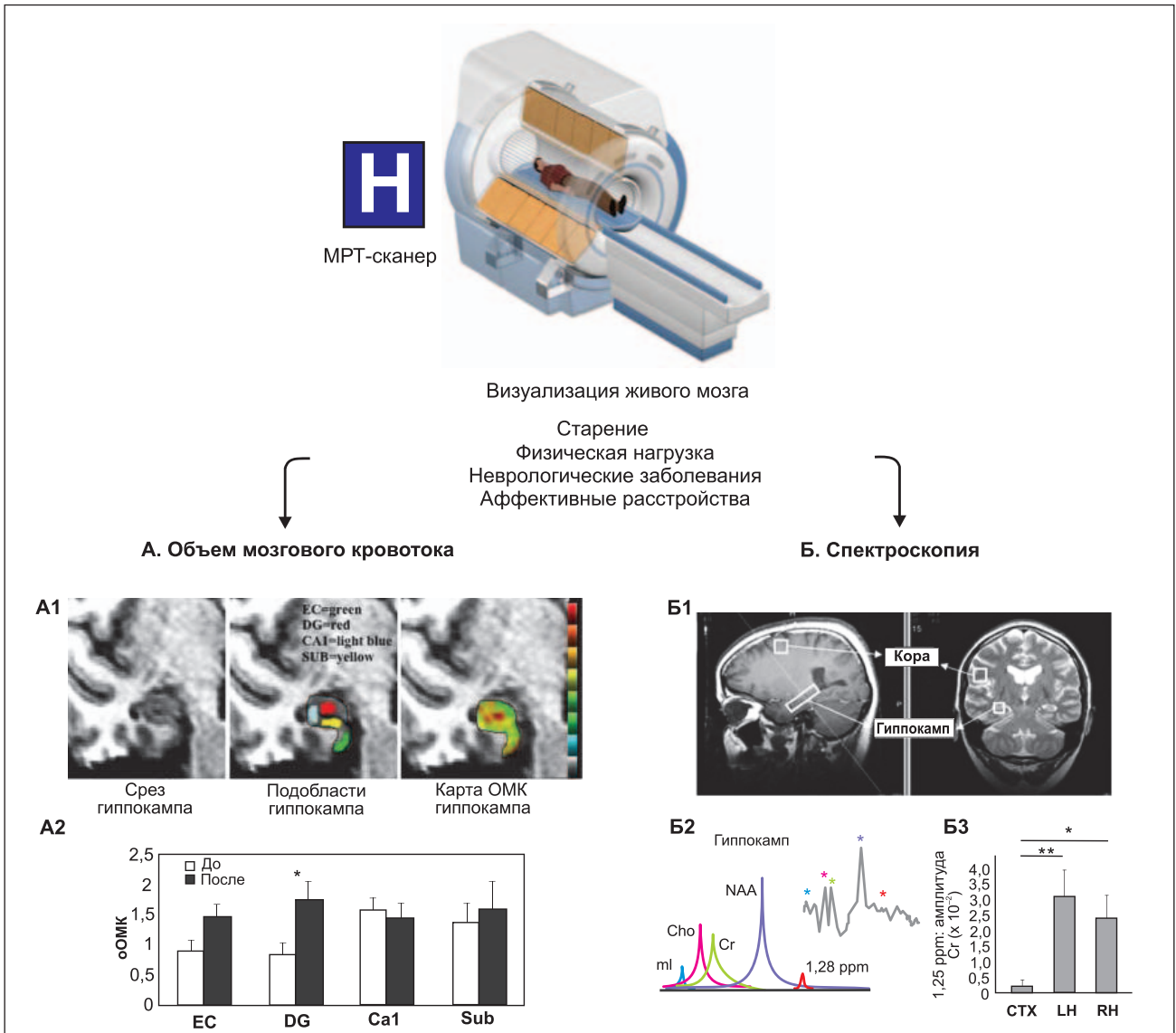


Рисунок 3. Методы для оценки выраженности нейрогенеза в головном мозге взрослых живых людей: все эти методы основаны на магнитном резонансе, с использованием МРТ-сканеров, доступных в клиниках по всему миру. Вследствие отсутствия побочных эффектов как здоровые, так и больные люди могут проходить повторное сканирование по мере старения, до и после физической нагрузки, чтобы проследить эффективность фармакологической интервенции и т.д. Для непрямого количественной оценки нейрогенеза у людей взрослого возраста были разработаны два основных метода МРТ: А) измерение объема мозгового кровотока (ОМК). ОМК зубчатой извилины отражает выраженность нейрогенеза в исследованиях с физической нагрузкой. Данный метод основан на последовательной корреляции «нейрогенез — ангиогенез» и «ангиогенез — ОМК»; А1) МРТ-срез высокого разрешения гиппокампа взрослого человека (левая панель), на котором видны различные подобласти гиппокампа (энторинальная кора, ЕС, зеленый цвет; зубчатая извилина, DG, красный цвет; аммонов рог, СА1, светло-голубой цвет; подставка, SUB, желтый цвет; центральная панель) и типичная карта ОМК гиппокампа (более теплые цвета отражают более высокий ОМК; правая панель); А2) количественная оценка среднего относительного ОМК (oOMK) гиппокампа до (белые квадратики) и после (черные квадратики) физической нагрузки у здоровых людей. Как и у мышей, физическая нагрузка приводила к достоверному увеличению ОМК только в DG (звездочка); Б) спектроскопия. В качестве маркера NPCs у грызунов было идентифицировано резонирование липидных метаболитов при 1,28 ppm (ppm — parts per million — частей на миллион. — Прим. перев.); Б1) позиционирование интересующего вокселя (воксель — элемент объемного изображения. — Прим. перев.) в коре и гиппокампе здорового человека; Б2) спектроскопический анализ содержания метаболитов в гиппокаммальном вокселе с помощью сингулярной декомпозиции и быстрого преобразования Фурье (маленькая вставка сверху). Идентифицированными метаболитами оказались миоинозитол (ml, светло-голубой цвет), холин (Cho, пурпурный цвет), креатин (Cr, зеленый цвет), N-ацетиласпартат (NAA, темно-синий цвет) и 1,28 ppm метаболит (красный цвет); Б3) количественная оценка содержания 1,28 ppm метаболита в корковом (CTX) и гиппокаммальном вокселях (LH и RH для левого и правого гиппокампа соответственно), нормализованная к амплитуде креатинового пика. Видно, что в гиппокампе находилось намного более высокое содержание метаболита 1,28 ppm по сравнению с корой. Врезка с МРТ-сканером с разрешения Национальной лаборатории сильных магнитных полей и взята с сайта (<http://www.magnet.fsu.edu/education/tutorials/magnetacademy/mri/>). Рисунки А1, А2 перепечатаны с разрешения Pereira и соавт. (2007), copyright 2007, Национальная академия наук США. Рисунки Б1, Б3 взяты из Manganas и соавт. (2007) и напечатаны с разрешения Американской ассоциации содействия развитию науки

Методы, используемые для оценки нейрогенеза у людей

Расширение наших знаний о течении нейрогенеза у людей взрослого возраста прямо коррелирует с набором методов, которые могут быть применены для исследования тканей головного мозга человека. Существует ряд методов, однако все они разнятся по чувствительности, специфичности и единицам количественного оценивания, что затрудняет сравнение различных исследований между собой. Кроме того, ряд методов позволяет оценить только пролиферацию (NPCs или общее количество пролиферирующих клеток), в то время как другие позволяют получить данные о нейрогенезе (нейробласты (NBs), клетки, коммитированные в нейроны) или новообразованные нейроны).

Методы, используемые для оценки нейрогенеза *in vivo*

Совсем недавно были разработаны специальные методы для оценки выраженности нейрогенеза в головном мозге живых людей с помощью магнитно-резонансной визуализации (магнитно-резонансная томография, МРТ; рис. 3). Находясь в МРТ-сканере, субъекты подвергаются воздействию безвредного магнитного поля, которое выравнивает магнитный спин всех протонов в ткани до низкоэнергетической конфигурации; затем субъектам выполняют радиочастотную электрическую стимуляцию, которая побуждает спины выходить из равновесия. Затем спины естественным образом возвращаются обратно в свою исходную конформацию с временными константами T1 (время спин-решеточной релаксации, для продольного намагничивания) и T2 (время спин-спиновой релаксации, для поперечного намагничивания; Maletic-Savatic и соавт., 2008). Разница во времени релаксации для различных молекул, таких как вода и жир, используется для того, чтобы получить детальные МРТ-изображения головного мозга. Помимо этого, из упомянутых констант может быть извлечена дополнительная информация и различные методы МРТ могут быть адаптированы для изучения нейрогенеза (Modo и Bulte, 2011).

Основные преимущества МРТ-методов сводятся к тому, что они выполняются у живых индивидуумов, без побочных эффектов, что дает возможность применять их повторно в ходе длительных исследований. Следовательно, эти методы дают возможность использовать более контролируемый экспериментальный дизайн, и такие переменные, как причина или возраст смерти, можно больше не принимать в расчет. Тем не менее эти методы полагаются на корреляции с непрямой оценкой нейрогенеза, и, следовательно, необходимо провести хорошую валидизацию этих методов у грызунов и у людей, чтобы убедиться, что они являются специфичными для нейрогенеза. Наиболее важно определить, коррелируют ли данные с количеством NPCs, пролиферирующими NPCs (по сравнению с другими типами клеток, которые пролиферируют) и новообразованными нейронами. Еще одним крупным преимуществом МРТ-методов является то, что МРТ-сканеры широко

доступны в клиниках и в научно-исследовательских центрах по всему миру. Следовательно, эти методы могут быть легко реализованы во многих лабораториях и открывают уникальную возможность для исследователей углубить наше представление о роли нейрогенеза у взрослых людей.

Значимость нейрогенеза при заболеваниях у взрослых людей

В большинстве исследований нейрогенеза у людей производили сравнение данных здоровых людей с данными пациентов с различными неврологическими заболеваниями. В табл. 2 представлены обобщенные данные по изменению нейрогенеза в моделях заболеваний у грызунов и у пациентов с данными заболеваниями. В этих исследованиях для определения биомаркеров пролиферации и специфических типов клеток была использована иммуногистохимия, поэтому полученные в них данные могут быть использованы только для оценки различий в пролиферации и содержании pNPCs (клетки, предположительно являющиеся нервными клетками-предшественниками — putative neuroprogenitor cells) и pNBs (клетки, предположительно являющиеся нейробластами — putative neuroblasts), но не для оценки реального нейрогенеза (т.е. образования новых нейронов). Мы обозначили эти клетки как «предположительно являющиеся», поскольку ни в одном из исследований не было продемонстрировано, что пролиферирующие клетки дифференцируются в зрелые, функционирующие нейроны. Для того чтобы прямо убедиться, что имеет место именно нейрогенез, требуется отслеживание судьбы клеточной линии с помощью BrdU или других аналогов.

Болезнь Альцгеймера

Болезнь Альцгеймера (БА) характеризуется накоплением β -амилоида и нейрофибриллярных клубков, содержащих гиперфосфорилированный tau-белок, в коре и гиппокампе, что приводит к прогрессированию деменции (Curtis и соавт., 2007a). Ряд патологических признаков БА может быть смоделирован на трансгенных мышцах, экспрессирующих избыточное количество белка-предшественника амилоида и пресенилина 1 (APP/PS1). У этих мышей нарушение памяти и усиление пролиферации в гиппокампе наблюдали в 9-месячном, но не в 3-месячном возрасте (Yu и соавт., 2009). Однако в более ранних работах было показано, что у 6-месячных APP/PS1 мышей не менялась пролиферация и краткосрочная выживаемость (1–13 дней), в то время как наблюдалось достоверное снижение долгосрочной выживаемости (30–42 дня) и дифференцировки (Verget и соавт., 2007). В других моделях БА на трансгенных мышцах были получены противоположные результаты. Например, у мышей, трансгенных по трем генам (APP/PS1/Tau), наблюдалось постепенное снижение пролиферации в субгранулярной зоне (СГЗ) начиная с 6-месячного возраста (Rodriguez и соавт., 2008). С другой стороны, у 3-месячных мышей, экспрессирующих мутированный APP, наблюдалось усиление пролифера-

ции (Jin и соавт., 2004а), которое обращалось до контрольного уровня у животных более старшего возраста (Lopez-Toledano и Shelanski, 2007). Наконец, у 6-недельных трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий APP, было выявлено ослабление пролиферации в контрольных условиях и снижение 4-недельной выживаемости в условиях обогащенной среды (Naumann и соавт., 2010). В посмертных образцах гиппокампа от пациентов с тяжелой БА было обнаружено увеличение экспрессии NBs белков (DCX, PSA-NCAM и NeuroD) по сравнению с аналогичным по возрасту контролем, что указывает на усиление нейрогенеза, возможно, как компенсаторного механизма, помогающего бороться со связанными с БА когнитивными нарушениями (Jin и со-

авт., 2004b). Однако в одном из последних исследований пациентов с пресенильной БА не удалось обнаружить усиление пролиферации в зубчатой извилине, хотя в других областях гиппокампа было показано усиление пролиферации (Ki67+-клетки), связанной с глиогенезом и ангиогенезом. Кроме того, в том же исследовании изменения в DCX-иммуноокрашивании связали с посмертными изменениями (Voekhoorn и соавт., 2006). Таким образом, становится ясным, что необходимо провести более глубокие исследования, чтобы прояснить изменения нейрогенеза в СГЗ при БА. Кроме того, необходимо выяснить взаимосвязь между потенциально нарушенным нейрогенезом и когнитивными нарушениями, наблюдаемыми при БА (Lazarov и соавт., 2010).

Таблица 2. Состояние нейрогенеза во время различных заболеваний

Заболевание	Область	Данные у грызунов	Данные у людей
Эпилепсия	Гиппокамп	Усиление пролиферации в моделях острых приступов Усиление нейрогенеза в моделях острых приступов Образование aberrантных и эктопически расположенных новых нейронов в моделях острых приступов Деплеция нейрогенеза в моделях хронической эпилепсии	Увеличение количества рNPCs и усиление пролиферации у пациентов детского возраста Усиление пролиферации или отсутствие ее изменений у взрослых пациентов Снижение, отсутствие изменений или увеличение количества рNBs у пациентов взрослого возраста
Болезнь Хантингтона	СВЗ	Усиление пролиферации или отсутствие ее изменений в СВЗ Миграция новых нейронов в стриатум	Усиление пролиферации; более выраженное увеличение количества рNPCs и рNBs в СВЗ
Болезнь Альцгеймера	СВЗ Гиппокамп	Ослабление пролиферации Ослабление дифференцировки Усиление, отсутствие изменений или ослабление пролиферации Усиление нейрогенеза Ослабление дифференцировки и выживания вновь образованных нейронов	Ослабление пролиферации Увеличение количества рNPCs Отсутствие изменений в пролиферации Увеличение количества рNBs
Болезнь Паркинсона	СВЗ Гиппокамп Черная субстанция	Ослабление пролиферации Временное ослабление нейрогенеза в ОЛ Усиление нейрогенеза в ОЛ и увеличение общего количества нейронов Ослабление пролиферации Нет пролиферации или NPCs Индукция нейрогенеза	Ослабление пролиферации Снижение количества предполагаемых клеток-предшественников в ОЛ Усиление нейрогенеза в ОЛ и увеличение количества дофаминергических нейронов Уменьшение количества рNPCs Нет пролиферации или рNPCs
Инсульт	СВЗ Гиппокамп Стриатум Кора	Усиление пролиферации Усиление нейрогенеза Усиление пролиферации Усиление нейрогенеза Индукция нейрогенеза из клеток-предшественников СВЗ Индукция нейрогенеза из клеток-предшественников СВЗ	Не сообщены Не сообщены Не сообщены Усиление пролиферации Увеличение количества рNBs
Депрессия	Гиппокамп	Антидепрессанты усиливают пролиферацию и нейрогенез	Усиление пролиферации или отсутствие ее изменений Увеличение количества рNPCs у пациентов, получавших лечение антидепрессантами

Примечания: ОЛ — обонятельная луковица; СВЗ — субвентрикулярная зона; рNPCs — клетки, предположительно являющиеся нервными клетками-предшественниками (*putative neuroprogenitor cells*); рNBs — клетки, предположительно являющиеся нейробластами (*putative neuroblasts*).

В субвентрикулярной зоне (СВЗ) у мышей с моделью БА также отмечено нарушение нейрогенеза. Например, при введении в боковые желудочки Аβ-пептида мышам, трансгенным по APP и PS1, а также интактным мышам наблюдалось ослабление пролиферации в СВЗ по сравнению с контрольными животными (Haughey и соавт., 2002; Rodriguez и соавт., 2009; Veeraghavalu и соавт., 2010). Ослабление пролиферации и нейронной дифференцировки наблюдалось также в культуре NPCs, изолированных из СВЗ с мутантным PS1 (Veeraghavalu и соавт., 2010) и из СВЗ с мутантным APP/PS1 (Demars и соавт., 2010). У пациентов с БА в посмертных срезах наблюдалось ослабление пролиферации (Ki67+-клетки) с неожиданным увеличением экспрессии нестина (Ziabreva и соавт., 2006). Аналогично в культивируемых эмбриональных человеческих NPCs наблюдалось ослабление пролиферации и усиление апоптоза при введении Аβ-пептида по сравнению с контрольными NPCs, куда Аβ-пептид не добавлялся (Haughey и соавт., 2002). Таким образом, были обнаружены сопоставимо более низкие уровни нейрогенеза в СВЗ как у пациентов с БА, так и у грызунов с моделью БА, что подтверждает предположение о том, что нарушение нейрогенеза в СВЗ может иметь функциональные следствия при БА (Curtis и соавт., 2007а). Например, наличие обонятельного дефицита является хорошим прогностическим фактором развития БА у пациентов с легкими когнитивными нарушениями (Devanand и соавт., 2000), хотя связан ли этот обонятельный дефицит со снижением нейрогенеза в СВЗ, остается неясным.

Инсульт/ишемия

Инсульт, или острое нарушение мозгового кровообращения, является результатом окклюзии мозговых артерий, приводящей к снижению локального кровотока (ишемия), либо результатом кровоизлияния. В ткани, поврежденной инсультом, можно выделить две области повреждения: центральную область инфаркта, где нейроны гибнут путем некроза и регенерация возможна лишь в очень малых пределах; и периферическую (переходную, краевую) область, которая окружает центральную область, кровоснабжается коллатеральными артериями и где повреждения носят обратимый характер. Учитывая, что ишемический инсульт является третьей наиболее частой причиной смертности в индустриальных странах, значительные усилия ученых направлены на поиск терапии, которая бы ускоряла восстановление после инсульта.

В моделях инсульта у взрослых грызунов и нечеловекообразных приматов, таких как окклюзия средней мозговой артерии (ОСМА), было показано усиление нейрогенеза в субвентрикулярной зоне — ростральном миграционном тракте — обонятельной луковице и гиппокампе (Jin и соавт., 2001; Zhang и соавт., 2001; Koketsu и соавт., 2006; Lledo и соавт., 2006). В дополнение к этому инсульт индуцирует эктопический нейрогенез в периферических областях, таких как стриатум, вследствие атипичической миграции новообразованных клеток из СВЗ (Arvidsson и соавт., 2002). Некоторые исследова-

тели обнаружили наличие кортикального нейрогенеза в периферической области при моделировании инсульта у грызунов (Gu и соавт., 2000; Jin и соавт., 2003), но не все (Arvidsson и соавт., 2002). Интересно, что новообразованные клетки дифференцировались в нейроны стриатума и приобретали тот же самый фенотип нейронов, которые гибли вследствие инсульта; это свидетельствует о том, что при инсульте стриатума может наблюдаться замещение нейронов (Arvidsson и соавт., 2002). И хотя большая часть новообразованных клеток стриатума погибала, возможно, вследствие неблагоприятного микроокружения (Arvidsson и соавт., 2002), индуцированный инсультом нейрогенез в стриатуме имеет, по-видимому, функциональное значение для грызунов, поскольку было показано, что трансгенная абляция NBs белка DCX предотвращала индуцированный инсультом нейрогенез и ухудшала сенсомоторный и поведенческий дефицит после ОСМА (Jin и соавт., 2010).

Результаты этого исследования показали, что вовлечение aberrантного нейрогенеза в стриатуме после инсульта может способствовать уменьшению неврологического дефицита у пациентов (по обзору Zhang и Chopp, 2009). У пациентов, перенесших ишемический инсульт в бассейне средней мозговой артерии, было отмечено усиление пролиферации предполагаемых В-клеток (Ki67-, GFAP+-клетки) и предполагаемых С-клеток (PSA-NCAM+-клетки) в ипсилатеральной СВЗ по сравнению с контралатеральной стороной инсульта (Marti-Fabregas и соавт., 2010). В дополнение к этому были обнаружены следы эктопического нейрогенеза не в стриатуме, но в коре. У пациентов с ишемическим инсультом в кортикальной периферической области было выявлено достоверное усиление пролиферации Ki67+-клеток и pNBs (PSA-NCAM+-клеток) по сравнению с таким же по возрасту контролем (Jin и соавт., 2006; Macas и соавт., 2006), равно как и в перигематомных областях у пациентов с внутримозговым кровоизлиянием (Shen и соавт., 2008). Значимость обнаруженного усиления кортикального нейрогенеза у пациентов с инсультом еще предстоит исследовать, однако наличие данного феномена вселяет надежду на то, что нейрогенез может быть использован в качестве терапии у пациентов с инсультом.

Выводы

Будущее исследований нейрогенеза у взрослых людей и перспективы использования его потенциала для лечения мозговых расстройств будут всецело зависеть от разработки и тщательной валидации методов, пригодных для проведения *in vivo* оценок, поскольку они открывают уникальную возможность для проведения поперечных (кросс-секционных) и продольных (лонгитюдных) исследований нейрогенных ниш, которые остаются интактными внутри живых тканей головного мозга.

Перевод с англ. А.В. САВУСТЬЯНЕНКО
Оригинал статьи опубликован в
Frontiers in Neuroscience, April 2011, Volume 5

Получено 19.03.12 □