

© Геращенко С.Б., Дельцова О.І., Чайковський Ю.Б.

УДК: 611.81+611.864+576.35

**Геращенко С.Б., Дельцова О.І., Чайковський Ю.Б.**

ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет" (вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018), Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (бульвар Шевченка, 13, м. Київ, 01601, Україна)

## НЮХОВІ НЕРВОВІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ (НЕЙРОГЕНЕЗ У ДОРОСЛИХ)

**Резюме.** *Огляд літератури присвячений питанням нейрогенезу в ЦНС дорослих. Розглянута локалізація ніш нервових стовбурових клітин у головному мозку, проліферація, міграція і диференціювання клітин-попередниць та їхні маркери в ростральному міграційному потоці на шляху до нюхової цибулини. Описуються результати сучасних досліджень стовбурових клітин нюхової ділянки слизової оболонки носової порожнини. Висловлюється думка вчених про можливість використання цих клітин із метою культивування і трансплантації в лікуванні нейротравм і нейродегенеративних захворювань.*

**Ключові слова:** *нейрогенез, нервові стовбурові клітини.*

Мета даної роботи: вивчення та аналіз результатів сучасних досліджень стовбурових клітин нюхової ділянки слизової оболонки носової порожнини. Нейрогенез у ссавців, в основному, завершується до перинатального періоду і нові нейрони генеруються безперервно протягом дорослого життя в обмежених ділянках мозку - у зубчастій звивині морського коника, субвентрикулярній зоні бічного шлуночка [García-Verdugo et al., 1998; Kirschenbaum et al., 1999; Pencea et al., 2001; Mandairon et al., 2003; De Marchis et al., 2004; Curtis et al., 2009]. Вважається, що нові нейрони в дорослих походять від мультипотентних стовбурових нервових клітин [Duan et al., 2008]. Запропоновано в цій зоні виділяти три типи стовбурових клітин, більшість з яких становлять мігруючі нейробласти (А тип), що проліферують. Ці клітини формують мережу тангенційно орієнтованих шляхів стінки бічного шлуночка. А-клітини переміщуються на великі відстані через цю мережу з високою швидкістю у складі ростральних міграційних потоків у нюхову цибулину, де вони диференціюються в інтернейрони [Hirota et al., 2012]. Другий тип клітин - В - належить до повільно мігруючих астроцитів. Найбільш активно проліферуючими є С-клітини, які утворюють кластери серед структур мережі і є вогнищами розмноження безпосередньо біля А-клітин. Нині з'являється все більше доказів того, що нейрогенез у дорослих має важливе значення для підтримання різних функцій мозку, зокрема нюхової і просторової пам'яті. Безперервний нейрогенез досягається за рахунок узгоджених проліферації і диференціювання дорослих нейронних стовбурових клітин [Imayoshi et al., 2009; Imayoshi, 2012].

Міграція клітин із субвентрикулярної зони бічного шлуночка до нюхової цибулини, досліджена за допомогою забарвлення нейронів методом Нісля, виглядає як доріжка в основі переднього рогу бічного шлуночка, що огинає головку хвостатого ядра і продовжується латерально і вентрально аж до нюхового тракту і цибулини. У складі цієї доріжки виявлені BrdU-імунореактивні клітини з маркерами клітин-попередниць і незрілих нейронів (Ki-67 і doublecortin), але не з NeuN - маркером зрілих нейронів [Malik et al., 2012]. Із цієї доріжки клітини-попередниці можуть розповсюджуватися в різні ділянки головного мозку, відхиляючись від основного

рострального міграційного потоку. Це було доведено на підставі результатів виявлення маркерів комітованих нейронів (TuJ1), постмітотичних гранульованих нейробластів (Tuc-4) або зрілих нейронів (MAP-2, NeuN). Практично всі з них експресували антиапоптотичний білок Bcl-2 [B?dard et al., 2002].

У ростральному потоці проліферація і диференціація клітин регулюється кількома внутрішніми і зовнішніми факторами, зокрема регуляторним білком-інгібітором p19 (INK4d) (посередник виходу з клітинного циклу) і сигнальними кістково-морфогенетичними білками (BMP) [Coskun, Luskin, 2002]. In vitro клітини прозорої перегородки і судинного сплетення секретують відштовхуючі фактори, які можуть орієнтувати міграцію клітин-попередниць. Відомі два репеленти для аксонів, що розвиваються з імітацією такого ефекту в ембріогенезі й у дорослих - Slit1 і Slit2. У відсутності Slit1 міграція клітин зростає [Nguyen-Ba-Charvet et al., 2004].

Генерація нових нейронів у нюховій цибулині триває в дорослих і є багатоетапним процесом, який включає в себе проліферацію, міграцію, виживання і диференціювання. Нейронні клітини-попередниці виникають у субвентрикулярній зоні і мігрують уздовж ростральних міграційних потоків до нюхової цибулини і перетворюються в інтернейрони різного типу [Lledo et al., 2008]. Там вони швидко ініціюють ріст дендритів і встановлення дендро-дендритних контактів із мітральними/китичковими клітинами [Belvindrah et al., 2009]. Задля визначення особливостей нейро- і гліогенезу в ростральному міграційному потоці можна використати імуноцитохімічні методи з застосуванням маркерів-антитіл проти ядер нейронів (NeuN) і гліоцитів (гліальний фібрилярний кислий білок, GFAP) [Fukushima et al., 2002]. Клітини-попередниці гліобластів можна розпізнати також за маркером олігодендроцитів Nkx2.2 [Aguirre, Gallo, 2004]. У регуляції нейрогенезу (нейропроліферації та диференціації) у різних ділянках головного мозку, зокрема в морському конику і ростральному міграційному потоці, беруть участь домен-вмісні трансмембранні рецептори смерті 4 і 5 (DR4, DR5), які при зв'язуванні з апоптоз-індукуючим лігандом або лігандом Apo2 (членом супер-родини цитокінів фактора некрозу пухлин) викликають апоптоз [Niu et al., 2012].

Міграційні властивості стовбурових і клітин-попередниць та розповсюдження їхніх аксонів *in vitro* підтримують металопротеїнази MMP-2, MMP-9 і MT1-MMP, що дозволяє по-новому глянути на механізми нейрорегенерації для оптимізації стратегій клітинної терапії [Ould-Yahoui et al., 2013].

В якості маркерів стовбурових клітин/клітин-попередниць субвентрикулярної зони і рострального міграційного потоку використовуються бромдезоксипіридин (BrdU), полісіалові (polysialyted) молекули клітинної адгезії (PSA-NCAM), нейронний ядерний антиген (NeuN) і GFAP [60]. PSA-NCAM бере участь у регуляції мієлінізації нервових волокон ЦНС, їхньої функціональної пластичності, формуванні синапсів [Nguyen et al., 2003]. У дорослих PSA-NCAM-клітини часто експресують нейронну NOS-синтетазу. Найбільше таких клітин міститься в субвентрикулярній зоні і їхня кількість зменшується по мірі наближення до нюхової цибулини [Moreno-Lopez et al., 2000].

Серед клітин зі слабким вираженням PSA-NCAM можна визначити trophinin-(+) клітини. Останні експресують Ki-67 і нестин. У клітинах рострального потоку в дорослих також виявляється бістин. У залежності від експресії тих чи інших маркерів можна ідентифікувати різні типи клітин А, В, гліоцити. У культурі клітини-попередниці нейронів експресують і трофінін, і бістин [Ma et al., 2006]. До процесів сигналізації в клітинах-попередниках залучається також білок езрин (Ezrin, syrovillin, villin-2), який є членом родини цитоплазматичних мембранних білків і відіграє роль у функціях клітинної поверхні - адгезії, міграції і організації.

У дорослих із субвентрикулярної зони клітини-попередниці розповсюджуються на досить великі відстані, щоб досягти кінцевого пункту призначення - нюхової цибулини. Для цього необхідна висока динамічність їхнього цитоскелета з можливістю реагувати на навколишні подразники. Останнім часом конкретне вираження білка езрина було виявлено в ростральному міграційному потоці. Членом родини ERM (Езрин, Radixin, Moesin) є radixin, який зв'язує актин цитоскелета з позаклітинним матриксом через трансмембранні білки. Методами імуногістохімії та конфокальної мікроскопії показано, що radixin сильно виражений у нейробластах цих ділянок у дорослих. Продемонстровано наявність radixin у клітинах кори головного мозку, смугастого тіла, мозочка, таламуса, морського коника, а також гранульованих і periglomerular шарів нюхової цибулини. Radixin виявлено також у нейросферах культури цих клітин методом Вестерн-блот. Експресія radixin вказує на його роль у міграції нейронних клітин-попередниць і їхньої диференціації в дорослому ростральному міграційному потоці. Розуміння такої регуляції має важливе значення для розробки нових терапевтичних втручань із використанням ендogenous клітин для відновлення нейронів при нейродегенеративних захворюваннях [Persson et al., 2010].

У мембрані гліальних клітин присутній бета-катенін, характерний для клітин-попередниць нейронів, який підтримує їхні проліферативні і міграційні процеси [Cleary et al., 2006].

У мігруючих клітинах у ростральному міграційному потоці й у нюховій цибулині виявлені дребрин-позитивні клітини. Дребрин - це білок, який бере участь у стовбуровоклітинних зв'язках (хімічних та електричних) і клітинній проліферації клітин-попередниць, регулює розвиток дендритів і синаптичну пластичність нейронів. Його присутність у цій ділянці підтверджує міграційну здатність клітин і зникнення експресії дребрину свідчить за припинення їхньої міграції [Song et al., 2008].

Відомо, що регуляцію експресії факторів плюрипотентності стовбурових клітин здійснює Sox2. Нині встановлено, що проліферація нервових стовбурових клітин у дорослому нейрогенезі належить осі p21/Sox2/p53, при цьому p21 має негативний вплив на експресію Sox2 у нервових стовбурових клітинах [Marques-Torres et al., 2013]. Стосовно нюхових стовбурових клітин, то в постембріональному періоді Wnt3a сприяє поширенню Sox2 (+) у культуральних сферах із нюхового епітелію. Wnt-стимульовані клітини зі сфер нюхового епітелію, зберігають свою мультипотентність і можуть диференціюватися в більшість типів нейронів і не-нейрональних епітеліальних клітин. Крім того, Wnt-активатори збільшують кількість диференційованих нюхових сенсорних нейронів, особливо, після травми. *In vivo* Wnt модулятори істотно змінюють регенераційний потенціал [Wang et al., 2011]. Встановлено нову роль Wnt5a у розвитку інтернейронів нюхової цибулини і висловлено припущення, що канонічний і неканонічний шляхи Wnt динамічно протистоять один одному в регуляції дозрівання дендритів [Pino et al., 2011].

Для диференціації нервових нюхових стовбурових клітин необхідний транскрипційний фактор P63 (Trp63) - своєрідний молекулярний перемикач, який відповідає за активацію резервних стовбурових клітин при виникаючій необхідності [Curtis et al., 2009].

Не меншого значення в дорослих нервових стовбурових клітинах субependимальної ділянки набуває Notch-сигнальний шлях, надмірна експресія якого не тільки зберігає стовбуровоклітинні характеристики, але й може надавати додаткових властивостей "стовбуровості" для клітин-попередниць [Piccin et al., 2013].

Описані відмінності в експресії маркерних білків нервових стовбурових клітин і клітин-попередниць у субвентрикулярній зоні і нюховій цибулині. *In vitro* характеристики проліферації нейронних попередників зберігаються в обох регіонах, а протеомні і імуногістохімічні дані свідчать про те, що попередниці клітин із двох регіонів відрізняються за морфологією і функціональністю, але не здатністю до проліферації [Maurer et al., 2008]. За кількістю виділено дві фракції клітин-попередниць за експресією GFAP - у субвентрикулярній зоні 94% клітин GFAP-позитивні, у нюховій

цибулині - поодинокі, за морфологією - у другому вони більш розгалужені.

У профілях експресії генів нервових стовбурових клітин ембріона і дорослої людини спостерігаються великі відмінності. Спільними є гени, які беруть участь у структуруванні обох популяцій (ALDH1A2, Foxa2), клітин-попередниць (LMX1a, ALDH1A1, Sox10), проліферації нервових клітин-попередниць (Wnt1 і Wnt3a), neuroplastin (NPTN), POU3F1 (Oct6), нейролігін (NLGN4X), MEIS2, і NPAS1. Експресія генів була зосереджена в трьох сигнальних шляхах - Notch, Wnt, і mTOR, що визначають долю нервової стовбурової клітини. Знайдені і розшифровані також гени, які беруть участь в епігенетичних модифікаціях у дорослих - із родини SWI/SNF ДНК хроматину, у тому числі SMARCC1 і SMARCE1 [Marei et al., 2012].

Нейропептиди також необхідні в ході нюхового нейрогенезу: NPY діє як трофічний фактор для дозрівання і виживання нюхових рецепторних нейронів, тоді як PYY відіграє важливу роль у регуляції їхньої диференціації [Doyle et al., 2012; Jia, Hegg, 2010; Jia, Hegg, 2012]. Для дофамінергічної диференціації клітин-попередниць має значення експресія фактора Id2 [Havrda et al., 2008]. Гіпотетично два гени відповідають за регуляцію в нюхових цибулинах допаміна - рецептор Nurr1, але не гомеобокс-вмісні, які містять гени Dlx-1 і -2 [Saino-Saito et al., 2004]. У нейрогенезі в нюховій цибулині дорослих також беруть участь Ngn2, NeuroD і фактор транскрипції Tbr [Roybon et al., 2009]. Водночас ці клітини експресують Neurog1 [Guo et al., 2010] і якщо не всі, то майже всі безпосередні клітини-попередниці нейронів - NeuroD1 [Packard et al., 2011].

Із метою візуалізації міграції клітин-попередниць нейронів у мишей була використана магнітно-резонансна томографія з часточками оксиду заліза мікронних розмірів [Shapiro et al., 2006; Vreys et al., 2010] і встановлено, що цей метод може дати уявлення про абераційні міграції на моделях захворювань і, можливо, у людини.

Останнім часом на різних етапах дорослого нейрогенезу в мишей були знайдені деякі фактори, класично відомі з їхнього впливу на серцево-судинну систему. Виявилось, що в дорослих нюхових нервових клітинах провідна роль належить фактору росту ендотелію судин рецептора-1 (VEGFR-1) [Wittko et al., 2009].

Таким чином, нейрогенез клітин нюхової цибулини в дорослих тісно пов'язаний із відновленням нейронів головного мозку.

У нюховій частині слизової оболонки носової порожнини існує можливість відновлення епітелію і нюхового нерву після його пошкодження під впливом декількох факторів росту - TGF-альфа, FGF2, BMP і TGF-бета. Реіннервація нюхових цибулин у тварин швидка і надійна з відновленням нюхових рецепторів на поверхні клітин нюхових клубочків, які розташовуються у вигляді кластерів із клубочкових клітин [Schwob, 2002].

У нюховому епітелії дорослих містяться ніші з проліферуючими клітинами трьох типів клітин - стовбуровими і двома популяціями клітин-попередниць у базальній частині епітелію, які в подальшому розвиваються в два типи гліоцитів і клітини, які оточують нюховий нерв [Beites et al., 2005]. При бульбектомії останні можуть мігрувати з периферійної ділянки нюхового нерва і заповнювати нюхову цибулину [Chehrehasa et al., 2012].

Серед базальних клітин виділили горизонтальні базальні клітини, як нейронні стовбурові клітини, у нюховому епітелії дорослих. Динаміку розвитку стовбурових клітин, як і в інших епітеліях, регулює транскрипційний фактор р63 з родини р53 - супресорів пухлин. Його дія проявляється в обмеженні клітинної диференціації при самооновленні нюхових стовбурових клітин, що дає підстави для правильного розуміння цих процесів у стовбурових клітинах [Fletcher et al., 2011].

Поєднання методів маркування, імуноцитохімії, електронної мікроскопії, функціональної візуалізації кальцію і бромдезоксіуридину (BrdU) виявило експресію пуринергічних рецепторів у базальних клітинах і нуклеотид-індукованої Ca (2+) сигналізації в цих клітинах, які беруть участь у регуляції клітинного оновлення в нюховому епітелії [Hassenklover et al., 2009].

Показано, що регулювання нюхового нейрогенезу критично залежить від декількох сигнальних молекул із двох різних факторів росту - фібробластів і трансформуючого фактора росту-бета. Ці молекули, по-перше, регулюють проліферацію та диференціювання і, по-друге, відіграють ключову роль у зворотному зв'язку, обумовлюють об'єми пулів клітин-попередниць і таким чином і кількість нейронів у процесі розвитку і регенерації [Kawauchi et al., 2004].

У дорослих тварин у регуляції спеціалізації, міграції та диференціації нюхового епітелію значну роль відіграє транскрипційний фактор Pax6 [Nomura et al., 2007]. Транскрипційні фактори Sox2 і Pax6 виявлені в декількох видах клітин нюхового епітелію - опорних і основних (базальних) епітеліоцитах.

Нюховий епітелій миші є ідеальною моделлю системи регенерації нервових структур. У нейронній лінії нюхового епітелію розглядають 4 етапи розвитку нервових стовбурових клітин: 1) стовбурові клітини, локалізуються в базальному шарі епітелію і експресують Sox2. Ті з них, які взяли на себе зобов'язання перетворитися на нейрони, ранні клітини-попередниці експресують пронеуральний ген Mash1; 2) останні проліферують і переходять у стадію транзитних (безпосередніх) клітин-попередниць і експресують другий пронеуральний ген NGn1, 3) дочірні від останніх клітини піддаються кінцевому (термінальному) диференціюванню в постмітотичні клітини і експресують NCAM [Gokoffski et al., 2010]. Як і в інших епітеліях, диференціація відбувається від базального шару до поверхневого. Автори зауважили, що при культивуванні клітин епітелію без сироватки, вони інтенсивно проліферують протягом 1-2 діб,

а після цього швидко втрачають здатність до нейрогенезу. Це спостереження викликало численні дослідження для пошуку сигнальних впливів, важливих для самооновлення і підтримки нейрогенного потенціалу нюхового епітелію.

Останнім часом з'явилися роботи, в яких обговорюється питання походження нервових клітин носового епітелію - із плакод чи з нервового гребеня. Автори наводять дані про те, що нервовий гребінь відіграє більшу роль у розвитку нюхової системи, ніж вважалося раніше, і припускають, що клітини-похідні нервового гребеня можуть бути частково відповідальні за високу здатність нюхового епітелію до нейрогенезу і регенерації [Forni et al., 2011; Katoh et al., 2011; Suzuki et al., 2013].

Вплив патологічних чинників на міграцію нюхових клітин-попередниць у ростральному потоці до цього часу мало вивчений. На моделі епілептичного статусу показали, що протягом 1-2 тижнів після введення пілокарпіну збільшується кількість мічених бромдезоксіуридином (BrdU) клітин у дзьобі (ростріумі) переднього мозку і ростральний міграційний потік містить велику кількість проліферуючих клітин і незрілих нейронів [Parent et al., 2002].

Із нюхової ділянки слизової оболонки носової порожнини можна селективно виділити і культивувати клітини-попередниці з різними маркерами (нейронні і не-нейронні) із подальшою трансплантацією в пошкоджену слизову оболонку для відновлення нюхових клітин [Othman et al., 2003; Chen et al., 2004]. Використовуються методи створення плаваючих культур у вигляді нейросфер. Найкраще нюхові нейросфери розвиваються від клітин новонароджених, а від дорослих вони слабо сферогенні. У клітинах сфер локалізуються клітини з епітеліальними маркерами (цитокератинами), нейрон-специфічними антигенами, E-кадгеринами, Sox2 і Sox9. Клітини сфер, вирощених у кондиціонованому середовищі (із використанням форбол-активованого ефіру LM) після їхньої трансплантації виявляють виражену проліферацію і є більш ефективними для приживлення мультипотентних нюхових клітин-попередниць, порівняно з культуральними [Krolewski et al., 2011].

М. Othman et al. [2005] ізолювали і культивували популяцію клітин нюхового епітелію від трупів дорослих і від пацієнтів, які перенесли операцію на приносних пазухах, і виявили, що вона представлена клітинами-попередницями нейронів і гліоцитів. Клітини-попередниці з цих культур продовжували розмножуватися і формували нейросфери з нестин-позитивними клітинами. Автори використали клональний і популяційний аналіз для визначення процесів самооновлення і визначення мультипотентності клітин. Мітотичну активність клітин визначали за допомогою бромдезоксіуридину (BrdU). В ідентифікації нейронів і гліоцитів використовували різні антитіла: SS-тубуліну ізотипів III, нейронні молекули клітинної адгезії (NCAM) і білки, пов'язані з

мікротрубочками (MAP2), для астроцитів - GFAP, для олігодендроцитів - galactocerebroside (Galc). У результаті спостережень виявлено, що експресія нестина з кожним поділом зменшується, але автори зробили висновки, що отримані клітини можуть служити унікальним джерелом нейронних клітин-попередниць для майбутніх стратегій заміни клітин при лікуванні нейротравм і нейродегенеративних захворювань. Нюхова слизова оболонка може стати джерелом отримання дорослих нервових стовбурових клітин із метою вивчення молекулярних аномалій у мозку при різних захворюваннях. Вона є доступною для забору біопсійного матеріалу і забезпечує "відкрите вікно" у дорослої людини для виконання порівняльного аналізу - геномного, транскриптомного, епігеномного, протеомного [Girard et al., 2011].

Цікавими виявилися спроби автологічної трансплантації нервових клітин нюхової цибулини або нюхової ділянки слизової оболонки носової порожнини для регенерації пошкодженого спинного мозку і периферійного нерва у тварин, і встановлено, що вони здійснюють нейротрофічну і нейропротекторну дію через секрецію хемокінів [Ao et al., 2007; Radtke et al., 2011]. За останніми даними, у регенераційних процесах у спинному мозку при пересадці клітин зі слизової оболонки велику роль відіграють мезенхімальні стовбурові клітини власної, пластинки слизової оболонки, що було показано в досліджах *in vitro*. У кондиціонованих середовищах ефект промієлінізації був виразнішим, у порівнянні з фібробластами [Lindsay et al., 2013].

Тобто, можна отримати нюхові стовбурові клітини, виростити їх у культурі у вигляді нейросфер, трансплантувати/імплантувати при травматичних і нейродегенеративних пошкодженнях ЦНС і обійти етичні проблеми використання ембріональних стовбурових клітин чи донорських клітин із необхідністю імуносупресії [Marshall et al., 2006]. Використання малоінвазивних методів виділення нюхового епітелію людини має важливе значення для клінічної практики, оскільки він стає джерелом автологічних клітин для трансплантації і виключає імунну реакцію відторгнення, ризик передачі вірусних інфекцій і генетичних дефектів, які можуть бути пов'язані з алотрансплантацією [Viktorov et al., 2006].

## Висновки та перспективи подальших розробок

1. Міграція стовбурових клітин до нюхової цибулини відбувається із субвентрикулярної зони бічного шлуночка.

2. Генерація нових нейронів у нюховій цибулині триває в дорослих і є багатоетапним процесом, який включає в себе проліферацію, міграцію, виживання і диференціювання.

У подальшому буде вивчено можливість використання стовбурових клітин нюхової ділянки слизової оболонки носової порожнини із метою лікування нейротравм і нейродегенеративних захворювань.

## Список літератури

- Adult subventricular zone neuronal precursors continue to proliferate and migrate in the absence of the olfactory bulb / B.Kirschenbaum, F.Doetsch, C.Loïs [et al.] // *J. Neurosci.* - 1999. - Vol.19(6). - P.2171-2180.
- Aguirre A. Postnatal neurogenesis and gliogenesis in the olfactory bulb from NG2-expressing progenitors of the subventricular zone /A.Aguirre, V.Gallo // *J. Neurosci.* - 2004. - Vol.24(46). - P.10530-10541.
- Architecture and cell types of the adult subventricular zone: in search of the stem cells /J.M.Garcia-Verdugo, F.Doetsch, H.Wichterle [et al.] // *J. Neurobiol.* - 1998. - Vol.36(2). - P. 234-248.
- Belvindrah R. Postnatal neurogenesis: from neuroblast migration to neuronal integration /R.Belvindrah, F.Lazarini, P.M.Lledo // *Rev. Neurosci.* - 2009. - Vol.20(5-6). - P.331-346.
- Canonical Wnt signaling promotes the proliferation and neurogenesis of peripheral olfactory stem cells during postnatal development and adult regeneration /Y.Z.Wang, T.Yamaga-mi, Q.Gan [et al.] // *J. Cell Sci.* - 2011. - Vol.124(Pt 9). - P. 1553-1563.
- Chen X. Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium /X.Chen, H.Fang, J.E.Schwob // *J. Comp. Neurol.* - 2004. - Vol. 469(4). - P. 457-474.
- Clonal analysis of adult human olfactory neurosphere forming cells /M.Othman, C.Lu, R.Klueber [et al.] // *Biotech. Histochem.* - 2005. - Vol.80(5-6). - P.189-200.
- Combined transplantation of neural stem cells and olfactory ensheathing cells for the repair of spinal cord injuries /Q.Ao, A.J.Wang, G.O.Chen [et al.] // *Med. Hypotheses.* - 2007. - Vol.69(6). - P.1234-1237.
- Continuous neurogenesis in the adult brain / I.Imayoshi, M.Sakamoto, T.Ohtsuka [et al.] // *Dev. Growth Differ.* - 2009. - Vol. 51(3). - P.379-386.
- Coskun V. Intrinsic and extrinsic regulation of the proliferation and differentiation of cells in the rodent rostral migratory stream // V.Coskun, M.D.Luskin // *J. Neurosci. Res.* - 2002. - Vol.69(6). - P.795-802.
- Curtis M.A. The rostral migratory stream and olfactory system: smell, disease and slippery cells /M.A.Curtis, H.J.Monzo, R.L.Faull // *Prog. Brain Res.* - 2009. - Vol.175. - P.33-42.
- Cyclin-dependent kinase inhibitor p21 controls adult neural stem cell expansion by regulating Sox2 gene expression / M.A.Marquès-Torres, E.Porlan, A.Banito [et al.] // *Cell Stem Cell.* - 2013. - Vol. 12(1). - P.88-100.
- De Marchis S. Subventricular zone-derived neuronal progenitors migrate into the subcortical forebrain of postnatal mice / S.De Marchis, A.Fasolo, A.C.Puche // *J. Comp. Neurol.* - 2004. - Vol.476(3). - P. 290-300.
- Death receptor 5 and neuroproliferation /Y.Niu, Y.Li, J.Zang [et al.] // *Cell Mol. Neurobiol.* - 2012. - Vol.32(2). - P. 255-265.
- DeltaNp63 regulates stem cell dynamics in the mammalian olfactory epithelium / A.Packard, N.Schnittke, R.A.Romano [et al.] // *J. Neurosci.* - 2011. - Vol.31(24). - P.8748-8759.
- Differential neurogenesis and gliogenesis by local and migrating neural stem cells in the olfactory bulb //N.Fukushima, K.Yokouchi, K.Kawagishi [et al.] // *Neurosci. Res.* - 2002. - Vol.44(4). - P.467-473.
- Development of neural stem cell in the adult brain /X.Duan, E.Kang, C.Y.Kaufman [et al.] // *Curr Opin Neurobiol.* - 2008. - Vol.18(1). - P.10-115.
- Differentiation of the dopaminergic phenotype in the olfactory system of neonatal and adult mice /S.Saino-Saito, H.Sasaki, B.T.Volpe [et al.] // *J. Comp. Neurol.* - 2004. - Vol.479(4). - P.389-398.
- Expression of drebrin E in migrating neuroblasts in adult rat brain: coincidence between drebrin E disappearance from cell body and cessation of migration / M.Song, N.Kojima, K.Hanamura [et al.] // *Neuroscience.* - 2008. - Vol. 152(3). - P.670-682.
- Expression of ezrin in glial tubes in the adult subventricular zone and rostral migratory stream /M.A.Cleary, N.Uboha, M.R.Piccioletto [et al.] // *Neuroscience.* - 2006. - Vol.143(3). - P.851-861.
- Expression of ezrin radixin moesin proteins in the adult subventricular zone and the rostral migratory stream /A.Persson, C.Lindwall, M.A.Curtis [et al.] // *Neuroscience.* - 2010. - Vol.167(2). - P.312-322.
- Expression of pax6 and sox2 in adult olfactory epithelium /Z.Guo, A. Packard, R.C. Krolewski [et al.] // *J. Comp. Neurol.* - 2010. - Vol.518(21). - P.4395-4418.
- Expression of trophinin and bystin identifies distinct cell types in the germinal zones of adult rat brain /L.Ma, M.Yin, X.Wu [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* - 2006. - 23(9). - P.2265-2276.
- Feedback Regulation of Neurogenesis in the Mammalian Olfactory Epithelium: New Insights from Genetics and Systems Biology /K.K. Gokoffski, S. Kawauchi, H.H. Wu [et al.] // *The Neurobiology of Olfaction.* - Boca Raton (FL): CRC Press; 2010. - Chapter 10.
- Gene expression profile of adult human olfactory bulb and embryonic neural stem cell suggests distinct signaling pathways and epigenetic control /H.E.Marei, A.E.Ahmed, F.Michetti [et al.] // *PLoS One.* - 2012. - Vol.7(4). - P.e33542.
- Human mesenchymal stem cells isolated from olfactory biopsies but not bone enhance CNS myelination in vitro /S.L.Lindsay, S.A.Johnstone, J.C.Mountford [et al.] // *Glia.* - 2013. - Vol.61(3). - P.368-382.
- Id2 is required for specification of dopaminergic neurons during adult olfactory neurogenesis /M.C.Havrdá, D.T.Harris, A.Mantani [et al.] // *J. Neurosci.* - 2008. - Vol.28(52). - P.14074-14086.
- Identification and molecular regulation of neural stem cells in the olfactory epithelium /C.L.Beites, S.Kawauchi, C.E.Crocker [et al.] // *Exp. Cell Res.* - 2005. - Vol.306(2). - P. 309-316.
- Identification of the rostral migratory stream in the canine and feline brain /S.Z.Malik, M.Lewis, A.Isaacs [et al.] // *PLoS One.* - 2012. - Vol.7(5). - P.36016.
- Imayoshi I. Neurogenesis in the postnatal and adult brain /I. Imayoshi // *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi.* - 2012. - Vol.32(5-6). - P.293-297.
- Involvement of Ngn2, Tbr and NeuroD proteins during postnatal olfactory bulb neurogenesis /L.Roybon, T.Deierborg, P.Brundin [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* - 2009. - Vol.29(2). - P.232-243.
- Isolating nasal olfactory stem cells from rodents or humans /S.D.Girard, A.Deveze, E.Nivet [et al.] // *J. Vis. Exp.* - 2011. - Vol.(54). - P.2762.
- Jia C. NPY mediates ATP-induced neuroproliferation in adult mouse olfactory epithelium /C.Jia, C.C.Hegg // *Neurobiol. Dis.* - 2010. - Vol.38(3). - P.405-413.
- Jia C. Neuropeptide Y and extracellular signal-regulated kinase mediate injury-induced neuroregeneration in mouse olfactory epithelium /C.Jia, C.C.Hegg // *Mol. Cell. Neurosci.* - 2012. - Vol.49(2). - P.158-170.
- Krolewski R.C. The generation of olfactory epithelial neurospheres in vitro predicts engraftment capacity following transplantation in vivo /R.C.Krolewski, W.Jang, J.E.Schwob // *Exp. Neurol.* - 2011. - Vol. 229(2). - P. 308-323.
- Lledo P.M. Origin and function of olfactory bulb interneuron diversity /P.M.Lledo, F.T.Merkle, A.Alvarez-Buylla // *Trends Neurosci.* - 2008. - Vol.31(8). - P.392-400.
- Magnetic resonance imaging of the migration of neuronal precursors generated in the adult rodent brain // E.M.Shapiro, O.Gonzalez-Perez, J.Manuel Garcia-Verdugo [et al.] // *Neuroimage.* - 2006. - Vol.32(3). -

- P. 1150-1157.
- Mandaïron N. Deprivation of sensory inputs to the olfactory bulb up-regulates cell death and proliferation in the subventricular zone of adult mice /N.Mandaïron, F.Jourdan, A.Didier //Neuroscience.- 2003.- Vol.119(2).- P.507-516.
- Molecular signals regulating proliferation of stem and progenitor cells in mouse olfactory epithelium /S.Kawauchi, C.L.Beites, C.E.Crocker [et al.] //Dev. Neurosci.- 2004.- Vol.26(2-4).- P.166-180.
- Morphological bases for a role of nitric oxide in adult neurogenesis /B.Moreno-Lopez, J.A.Noval, L.G.Gonzalez-Bonet [et al.] //Brain Res.- 2000.- Vol.869(1-2).- P.244-250.
- MRI visualization of endogenous neural progenitor cell migration along the RMS in the adult mouse brain: validation of various MPIO labeling strategies /R.Vreys, G.Vande Velde, O.Krylychkin [et al.] //Neuroimage.- 2010.- Vol.49(3).- P.2094-2103.
- Multiple roles for slits in the control of cell migration in the rostral migratory stream /K.T.Nguyen-Ba-Charvet, N.Picard-Riera, M.Tessier-Lavigne [et al.] //J. Neurosci.- 2004.- Vol.24(6).- P.1497-1506.
- Multipotent stem and progenitor cells of the olfactory epithelium /I.V.Viktorov, E.A.Savchenko, O.V.Ukhova [et al.] //Bull. Exp. Biol. Med.- 2006.- Vol.142(4).- P.495-502.
- Neural crest and ectodermal cells intermix in the nasal placode to give rise to GnRH-1 neurons, sensory neurons, and olfactory ensheathing cells /P.E.Forni, C. Taylor-Burds, V.S. Melvin [et al.] //J. Neurosci.- 2011.- Vol. 31(18).- P. 6915-6927.
- Neural crest-derived horizontal basal cells as tissue stem cells in the adult olfactory epithelium //J.Suzuki, K.Yoshizaki, T.Kobayashi [et al.] //Neurosci Res.- 2013.- Vol.75(2).- P.112-120.
- Neurogenesis in the subventricular zone and rostral migratory stream of the neonatal and adult primate forebrain /V.Pencea, K.D.Bingaman, L.J.Freedman [et al.] //Exp. Neurol.- 2001.- Vol.172(1).- P.1-16.
- Neuropeptide Y and peptide YY have distinct roles in adult mouse olfactory neurogenesis /K.L.Doyle, Y.J.Hort, H.Herzog [et al.] //J. Neurosci. Res.- 2012.- Vol. 90(6).- P.1126-1135.
- Nomura T. Role of a transcription factor Pax6 in the developing vertebrate olfactory system /T.Nomura, H.Haba, N.Osumi //Dev. Growth Differ.- 2007.- Vol.49(9).- P.683-690.
- Notch Signaling Imparts and Preserves Neural Stem Characteristics in the Adult Brain /D.Piccin, F.Yu, C.M.Morshead //Stem Cells Dev.- 2013.- Vol.22(10).- P.1541-1550.
- Othman M.M. Identification and culture of olfactory neural progenitors from GFP mice /M.M.Othman, K.M.Klueber, F.J.Roisen //Biotech. Histochem.- 2003.- Vol.78(2).- P. 57-70.
- p63 regulates olfactory stem cell self-renewal and differentiation /R.D.Fletcher, M.S.Prasol, J.Estrada [et al.] //Neuron.- 2011.- Vol.72(5).- P. 748-759.
- Parent J.M. Prolonged seizures increase proliferating neuroblasts in the adult rat subventricular zone-olfactory bulb pathway /J.M.Parent, V.V.Valentin, D.H.Lowenstein //J. Neurosci.- 2002.- Vol.22(8).- P.3174-3188.
- Pino D. Wnt5a controls neurite development in olfactory bulb interneurons /D.Pino, Y.Choe, S.J.Pleasure //ASN Neuro.- 2011.- Vol.3(3).- P. e00059.
- Progenitor cell capacity of NeuroD1-expressing globose basal cells in the mouse olfactory epithelium /A.Packard, M.Giel-Moloney, A.Leiter [et al.] //J. Comp. Neurol.- 2011.- Vol.519(17).- P.3580-3596.
- Protein expression differs between neural progenitor cells from the adult rat brain subventricular zone and olfactory bulb /M.H.Maurer, R.E.Jr. Feldmann, H.F.B?rgers [et al.] //BMC Neurosci.- 2008.- Vol.9.- P.7.
- Purinergic signaling regulates cell proliferation of olfactory epithelium progenitors /T.Hassenkl?ver, P.Schwartz, D.Schild [et al.] //Stem Cells.- 2009.- Vol.27(8).- P.2022-2031.
- Role of matrix metalloproteinases in migration and neurotrophic properties of nasal olfactory stem and ensheathing cells /A.Ould-Yahoui, O.Sbai, K.Baranger [et al.] //Cell Transplant.- 2013.- Vol.22(6).- P.993-1010.
- Roles of planar cell polarity signaling in maturation of neuronal precursor cells in the postnatal mouse olfactory bulb /Y. Hirota, M.Sawada, Y.S.Kida [et al.] //Stem Cells.- 2012.- Vol.30(8).- P.1726-1733.
- Schwob J.E. Neural regeneration and the peripheral olfactory system /J.E.Schwob //Anat. Rec.- 2002.- Vol.269(1).- P.33-49.
- Temporal profile of stem cell division, migration, and differentiation from subventricular zone to olfactory bulb after transient forebrain ischemia in gerbils /K.Sato, H.Kamada, N.Omori [et al.] //J. Cereb. Blood Flow Metab.- 2003.- Vol.23(3).- P.331-341.
- The dual origin of the peripheral olfactory system: placode and neural crest /H.Katoh, S.Shibata, K.Fukuda [et al.] //Mol Brain.- 2011.- Vol.4.- P.34.
- The rostral migratory stream in adult squirrel monkeys: contribution of new neurons to the olfactory tubercle and involvement of the antiapoptotic protein Bcl-2 /A.Bedard, M.Levesque, P.J.Bernier [et al.] //Eur. J. Neurosci.- 2002.- Vol.16(10).- P. 1917-1924.
- The therapeutic potential of human olfactory-derived stem cells //C.T.Marshall, C.Lu, W.Winstead [et al.] //Histol. Histopathol.- 2006.- Vol.21(6).- P.633-643.
- Transplantation of olfactory ensheathing cells as adjunct cell therapy for peripheral nerve injury /C.Radtko, K.Wewetzer, K.Reimers [et al.] //Cell Transplant.- 2011.- Vol.20(2).- P.145-152.
- Two phases of replacement replenish the olfactory ensheathing cell population after injury in postnatal mice /F.Chehrehaha, J.A.Ekberg, K.Lineburg [et al.] //Glia.- 2012.- Vol.60(2).- P. 322-332.
- Untangling the functional potential of PSA-NCAM-expressing cells in CNS development and brain repair strategies /L.Nguyen, J.M.Rigo, B.Malgrange [et al.] //Curr. Med. Chem.- 2003.- Vol.10(20).- P. 2185-2196.
- VEGFR-1 regulates adult olfactory bulb neurogenesis and migration of neural progenitors in the rostral migratory stream in vivo /I.M.Wittko, A.Schanzer, A.Kuzmichev [et al.] //J. Neurosci.- 2009.- Vol.29(27).- P.8704-8714.

**Герашенко С.Б., Дельцова Е.И., Чайковский Ю.Б.**

#### ОБОНЯТЕЛЬНЫЕ НЕРВНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ (НЕЙРОГЕНЕЗ У ВЗРОСЛЫХ)

**Резюме.** Обзор литературы посвящен вопросам нейрогенеза в ЦНС взрослых. Рассмотрена локализация ниш нервных стволовых клеток в головном мозге, пролиферация, миграция и дифференцировка клеток-предшественниц и их маркеры в роstralном миграционном потоке на пути к обонятельной луковице. Описываются результаты современных исследований стволовых клеток обонятельной области слизистой оболочки носовой полости. Высказывается мнение ученых о возможности использования этих клеток с целью культивирования и трансплантации в лечении нейротравм и нейродегенеративных заболеваний.

**Ключові слова:** нейрогенез, нервные стволовые клетки.

**Geraschenko S.B., Deltsova O.I., Chaikovsky Y.B.**

#### OLFACTORY NEURAL STEM CELLS (NEUROGENESIS IN ADULTS)

**Summary.** The review of the literature is devoted to the issues of neurogenesis in the adult CNS. Localization of neural stem cells

*niches within the brain, proliferation, migration and differentiation of progenitor cells and their markers in the rostral migratory stream towards the olfactory bulb are considered. Results of modern researches on stem cells of the nasal cavity olfactory mucosa are described. Possibility to use these cells for culture and transplantation in treatment of neurotrauma and neurodegenerative diseases is suggested.*

**Key words:** *neurogenesis, neural stem cells.*

Стаття надійшла до редакції 22.05.2013 р.

*Герашенко Сергій Борисович* - доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету; histology@ifnmu.edu.ua;

*Дельцова Олена Іванівна* - доктор медичних наук, професор, професор кафедри гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету; deltsova@ifnmu.edu.ua;

*Чайковський Юрій Богданович* - член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця; yuchaiko@i.ua.

---

© Стопінчук О.В.

УДК: 616:8-00

*Стопінчук О.В.*

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова (вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

## ГОМОЦИСТЕЇН ТА СТРУКТУРНІ УРАЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ: ЧИ Є СТАТИСТИЧНО ДОСТОВІРНИЙ ЗВ'ЯЗОК?

---

**Резюме.** *Стаття є літературним оглядом закордонних досліджень щодо виявлення статистичного зв'язку між рівнем гомоцистеїну плазми крові та структурними ураженнями головного мозку, виявленими на МРТ.*

**Ключові слова:** *гіпергомоцистеїнемія, МРТ, популяційні дослідження, ураження головного мозку, лейкоареоз.*

---

Вперше гомоцистеїн був описаний Butz та duVigneaud у 1932 р., основні публікації щодо зв'язку підвищеного вмісту гомоцистеїну в сироватці крові з патологічними станами людини (серцево-судинними захворюваннями, порушеннями нормального перебігу вагітності, нервово-психічними розладами) з'явилися протягом останніх десятиріч [Perna, 2003]. Тоді ж стали проводитись популяційні дослідження, пов'язані з гіпергомоцистеїнемією [Ciacchio, 2008].

*Мета* роботи - проаналізувати, за даними літератури, вплив гіпергомоцистеїнемії на головний мозок та оцінити достовірність зв'язку між гіпергомоцистеїнемією та структурними ураженнями мозку.

Гомоцистеїн (Hcy) - це природна сірковмісна амінокислота, що є продуктом метаболічного перетворення метіоніну, однієї з восьми незамінних амінокислот організму. Не являючись структурним елементом білків, гомоцистеїн з їжею в організм не потрапляє. В плазмі крові вільний (відновлений) Hcy присутній у невеликій кількості (1 - 2 %). Приблизно 20 % знаходиться в окисленому стані, переважно у вигляді змішаного сульфідну цистенілу гомоцистеїну та гомоцистину. Біля 80 % Hcy зв'язується з білками крові, переважно з альбуміном, утворюючи дисульфідний зв'язок з цистином. Метаболізм Hcy проходить за участі ряду ферментів, основними серед них є 5,10-метилентетрагідрофолатредуктаза та цистатіон-β-синтетаза. Кофакторами в цих процесах виступають вітаміни, передусім піридоксин (вітамін В6), цианкобаламін (вітамін В12) та фолієва кислота (вітамін В9) [Daly, 2005; Friedman, 2001; Szegedi, 2008]. В організмі людини існує декілька шляхів біотрансформації Hcy. Він може зворотньо відновлюватись у метіонін за участю метіонінсин-

тетази, яка використовує у якості донора метильної групи 5-метилтетрагідрофолат. Цей шлях реметильовання відбувається переважно в клітинах печінки. Hcy також може перетворюватись у цистеїн. Під дією цистатіон-β-синтетази Hcy та серин утворюють цистатіон, що розщеплюється цистатіон-γ-ліазою до цистеїну та α-кетобутирату, який в подальшому метаболізується ферментами до сукциніл-КоА. Даний каскадхімічного перетворення відбувається у клітинах печінки, нирок, тонкого кишківника, підшлункової залози. Hcy може виводитись з клітин у кров, але транспортери цього процесу ще не ідентифіковані [Friedman, 2001].

Обидва шляхи перетворення Hcy (реметильовання потребує присутності фолату та піридоксаль фосфату, а перетворення в цистатіон - лише останнього) координуються S-аденозилметіоніном, що діє як алостеричний інгібітор 5,10-метилентетрагідрофолатредуктази та активатор цистатіон-β-синтетази. В плазмі крові метіонін за участю ферменту метіонінаденозилтрансферази перетворюється у S-аденозилметіонін. В результаті реакцій метильовання S-аденозилметіонін під дією метилтрансфераз перетворюється у S-аденозилгомоцистеїн, з якого в процесі гідролізу утворюється Hcy та аденозин. Цей каскад ферментних реакцій, відомий як трансметильовання, відбувається майже в кожній клітині людського організму і важливий для таких процесів, як метильовання нуклеїнових кислот, протеїнів та фосфоліпідів [Kraus, 1998; Naess, 2008; Perna, 2003].

У крові здорової людини Hcy завжди присутній, причому з віком його концентрація зростає. До статевого дозрівання його концентрація у хлопчиків та дівчат приблизно однакова і становить 5 мкмоль/л, в пубертат-