

**НЕЙРОГЕНЕЗ
КАК АДАПТИВНАЯ
ФУНКЦИЯ МОЗГА**

2014 Москва

**О.А.ГОМАЗКОВ
НИИ биомедицинской
ХИМИИ**

ГОМАЗКОВ О.А.

НЕЙРОГЕНЕЗ КАК АДАПТИВНАЯ ФУНКЦИЯ МОЗГА

ИНСТИТУТ БИМЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ ИМЕНИ В.Н.ОРЕХОВИЧА

Книга профессора О.А.Гомазкова, специалиста в области биохимии и физиологии нейропептидов и ростовых нейротрофических факторов, анализирует информацию о нейрогенезе как адаптивной функции взрослого мозга.

Данная книга представляет попытку иллюстрации молекулярной и клеточной «механики» современного мозга. В течение всей жизни в организме идет непрерывный процесс трансформации нейральных стволовых клеток и рождения новых структур. Процесс, сложно регулируемый и непреложно увязанный с приспособительными возможностями здорового, стареющего и больного мозга. Книга представляет систематизированное изложение этапных превращений стволовых клеток мозга. Эти материалы вносят дополнительные аргументы в нивелирование старой догмы о том, что *«нервные клетки не восстанавливаются...»*.

В наглядной форме представлена клеточная и молекулярная полифония нейрогенеза, его зависимости от факторов окружающей человека среды и от большого числа фармакохимических влияний. Значительное место в этих процессах принадлежит сигнальным молекулам, важным интеграторам приспособительных процессов в мозге. Благодаря этой информации стирается граница физиологических, молекулярных и генетических принципов организации нервной системы. Становится зримым понимание биохимических основ когнитивных и эмоциональных процессов. В книге суммированы сведения о роли новообразующихся нейронов в патологии ишемических, нейродегенеративных, травматических и психических заболеваний человека. Важна информация о связи психических расстройств человека и инверсий нейрогенеза. Исходя из анализа информационных массивов, здесь также открываются новые терапевтические подходы.

Книга рассчитана на медицинских и научных работников среднего и высшего звена, аспирантов, ординаторов и студентов, интересующихся проблемами неврологии, психиатрии, биохимии и физиологии современного мозга.

Книга содержит Приложение (Словарь основных понятий), 8 рисунков и 6 таблиц.

*Гомазков Олег Александрович. E-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru
НИИ биомедицинской химии. Москва 119121. Погодинская ул. 10.*

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

1. СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ МОЗГА

- 1.1. Общие принципы нейрогенеза
- 1.2. Этапы трансформации нейральных стволовых клеток в мозге
- 1.3. Нейрогенная, или стволовая ниша
- 1.4. Концепция «обогащенной среды»
- 1.5. Нейрогенез и микроглия

2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОГЕНЕЗА

- 2.1. Нейротрансмиттеры
- 2.2. Нейрогенез и формирование медиаторного фенотипа
- 2.3. Регуляция этапов нейрогенеза нейротрофическими полипептидами

3. НЕЙРОГЕНЕЗ И ПОДДЕРЖКА АДАПТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ. ПЛАСТИЧНОСТЬ. КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ

- 3.1. Нейропластичность
- 3.2. Нейрогенез и когнитивные функции
- 3.3. Нейрогенез и возрастное старение

4. РОЛЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В ТРАНСФОРМАЦИИ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

- 4.1. Нейротрофины и трансдукторные процессы
- 4.2. Транскрипторные белки и внутриклеточная сигнализация
- 4.3. Уровни молекулярной регуляции адаптивных функций
- 4.4. Эпигенетическая регуляция как конечная стадия организации пластичности мозга

5. НЕЙРОГЕНЕЗ КАК АДАПТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ПРИ ПАТОЛОГИИ

- 5.1. Ишемическая патология и нейрогенез
- 5.2. Нейрогенез и травма нервной системы
- 5.3. Нейродегенеративные процессы и нейрогенез

6. НЕЙРОГЕНЕЗ И ПСИХОСОМАТИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА

- 6.1. Депрессия как системное нарушение пластичности мозга
- 6.2. Стимуляция нейрогенеза антидепрессантами

7. МОЛЕКУЛЯРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА И ВОЗМОЖНОСТИ НОВОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СТРАТЕГИИ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

XX-й век – столетие исследования мозга. Оно началось с фундаментальных работ С.Рамона Кахаля и К.Гольджи по анатомии и нейрогистологии, а завершилось утверждением международного проекта "Мозг-XXI". В качестве одного из положений этого проекта было сформулировано: «...расшифровать, как отдельные нейроны (нервные клетки мозга) с помощью их коллективного взаимодействия порождают человеческий интеллект». Выглядело как задача для фантастов.

XX-й век – столетие грандиозных технической и информационной революций, которые сделали человека основным творцом этого мира и основной жертвой. Как никогда прежде встает вопрос об экологии современного мозга. О мере адаптивных возможностей в условиях перенасыщения техническими, информационными и социальными привилегиями. Ныне не когти и зубы, не телесная броня и быстрая реакция, как было некогда на заре человечества, - мозг становится органом выживания индивидуума и популяции в целом.

Данная книга представляет попытку осмысления молекулярной и клеточной механики современного мозга. Тех превращений химических молекул, которые как слагающиеся в партитуру ноты определяют гармонию исполняемых процессов. Благодаря этой информации стирается граница физиологических, молекулярных и генетических принципов организации нервной системы. Становится зримым путь, по которому можно приблизиться к пониманию биохимических основ когнитивных и эмоциональных процессов. Более того, становится возможным извлечь из спутанного клубка проблем, связанных с заболеваниями мозга, причинные звенья и рассматривать их как мишени фармако-терапевтического влияния.

Книга анализирует эти проблемы на основе новой страницы исследования мозга – нейрогенеза. В течение всей жизни индивидуума идет непрерывный процесс трансформации нейральных стволовых клеток и рождения новых структур. Процесс сложно и гармонично регулируемый. Процесс, непреложно увязанный с приспособительными возможностями здорового, стареющего и больного мозга.

В этой книге предпринята попытка на основе просмотра, отбора, анализа и описания множества научных публикаций представить структурированную картину нейрогенеза, как одной из наиболее значимых функций мозга. Функции, определяющей его адаптивный потенциал в условиях этим же мозгом создаваемой среды обитания.

1. СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ МОЗГА

1.1. Общие принципы нейрогенеза

Исходным посылом времени долгое время бытовала догма о неизменности морфологической структуры взрослого сформировавшегося мозга. Этот скорее логический постулат был выдвинут на основании цитологических исследований Сантьяго Рамона Кахаля, великого испанского ученого, который в 1913 году писал:

"Как только развитие закончено, рост и регенерация аксонов и дендритов прекращаются. Центры взрослого мозга представляют собой нечто установленное, законченное и неизменное. Всё может умереть, ничто не может быть восстановлено. Для будущей науки это, по-видимому, неизбежная закономерность». Цит по: Colucci-D'Amato L, Bonavita V, di Porzio U. *The end of the central dogma of neurobiology: stem cells and neurogenesis in adult CNS. Neurol. Sci. 2006;27:266–270.*

Поэтому следовал пессимистический (и, в общем-то, противоречащий биологической идеологии) вывод, что потеря клеток нервной системы, обусловленная болезнью, травмой или старением, носит фатальный характер. Непреложность догмы оказалась столь авторитетной, что открытие Джохева Альтмана, впервые описавшего в 1962 году пролиферацию нейронов в зрелом мозге (*J. Altman (Are new neurons formed in the brains of adult mammals? Science 1962; 135, 1127–1128)*), было тогда проигнорировано. Несколько лет спустя удалось продемонстрировать новообразование нейрональных клеток во взрослом мозге мышей и птиц. Весьма популярным оказалось открытие функционального смысла нейрогенеза, которое связывается с именем профессора Рокфеллеровского института Фернандо Ноттеба. Его исследование (*Nottebohm F. From bird song to neurogenesis. Scientific American 1989. 260: 74-9*). удивительным образом соединяло зоопсихологию с нейробиологией. Выяснилось, что с наступлением сезона спаривания у самок канареек в ядрах мозга, связанных с вокализацией и обучением, резко возрастает число нейронов. «*Это было реальным шоком, потому что нам всегда преподавали, что взрослый мозг сохраняет тот же самый размер, с теми же самыми клетками, навсегда. Это было неоспоримым фактом знания мозга. Как их могло стать больше? Это противоречило всему, что я когда-либо изучал...*» - писал голландец.

P.Eriksson и соавт. впервые продемонстрировали образование новых нейронов в гиппокампе человека (*Eriksson P. S., Perfilieva E., Bjork-Eriksson T., et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. Nat. Med. 1998;4: 1313–1317*). В 1999 году в «Science» появилось исследование группы Элизабет Гоулд, где было продемонстрировано, что мозг высших приматов производит от 20 до 40 тысяч новых нейронов в день в течение всей жизни (*Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, Gross CG. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. Science. 1999 ;286(5439):548-52*). Статья вызвала мгновенный отклик: «Новые нейроны: экстраординарные доказательства или

экстраординарное заключение?» (Comment: *R. Nowakowski, N. Hayes. New neurons - extraordinary evidence or extraordinary conclusion? Science. 2000: 288(5467):771*). Однако процесс получения новых доказательств уже набирал силу...

«Для натуралиста - всё дело в методе», - писал некогда классик физиологии И.П.Павлов. В отношении нейрогенеза важный методический прорыв определился внедрением специальной гистологической метки, аналога тимидина (5-бром-3'-деоксиуридин, BrdU), фиксирующей S-фазу митоза и пролиферации нервных клеток. Метод разрешал визуализировать новые клетки, реагирующие на специфические маркеры. Число таких маркеров, постоянно увеличивалось и позволяло теперь выявлять последовательность и скорость образования новых клеток. Большинство исследований, связанных с нейрогенезом, базируется на использовании маркеров тимидиновых аналогов или на выявлении маркеров пролиферации и зрелых клеток: даблкортин и бета-тубулин, белки, ассоциированные с микротрубочками, возникающие в дифференцирующихся пронеуронах; винментин, который синтезируется в несформировавшейся глии; кислый глиальный белок GRAF; Neu-N - определяемый в ядрах зрелых клеток и др. (См. Приложение «Нейрогенез» и «Маркеры нейрогенеза»).

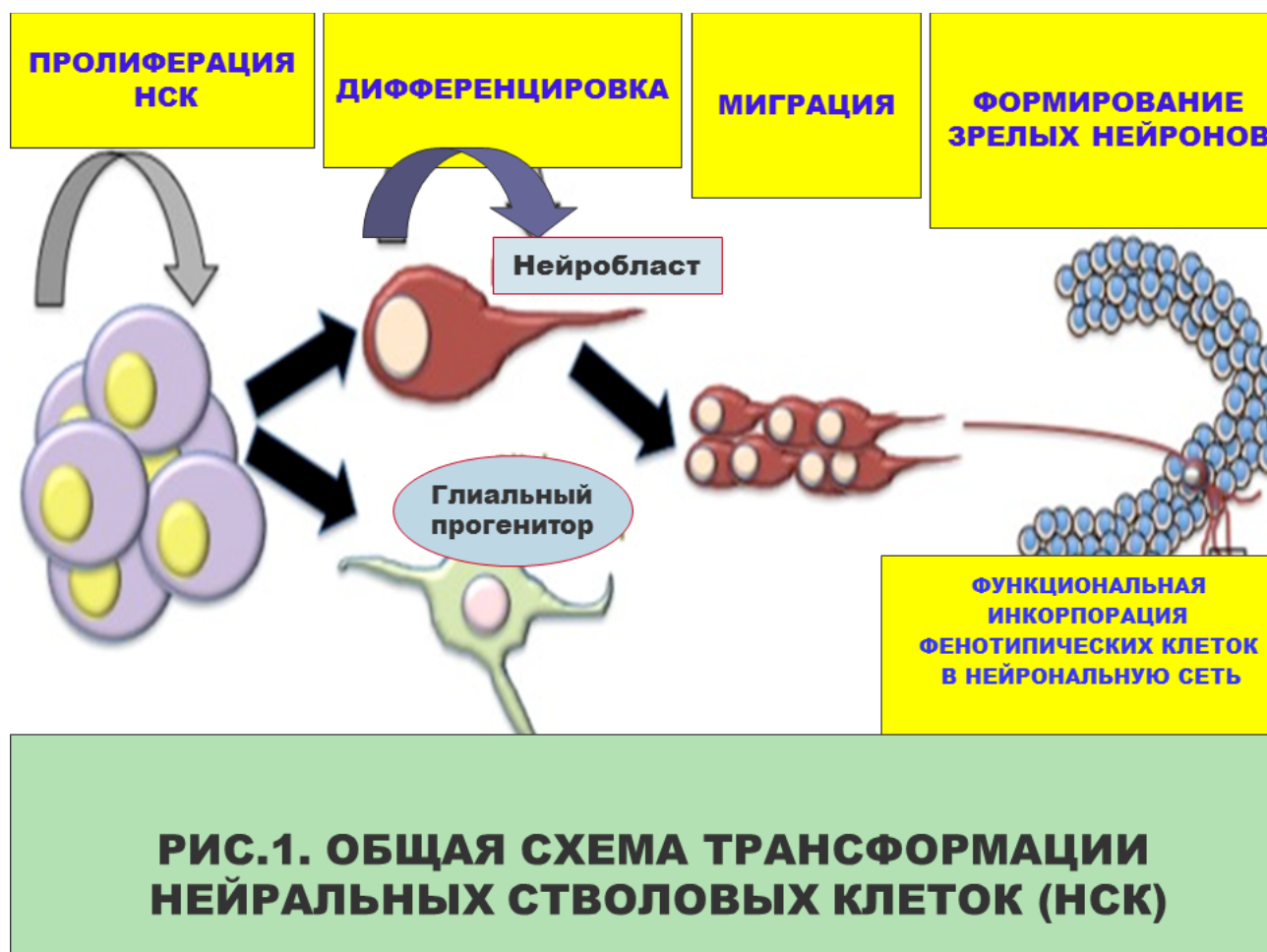
Нейрогенез понимается как многоступенчатый регулируемый процесс, который начинается с трансформации нейрональных предшественников, нейробластов, проходит стадии пролиферации, миграции, дифференцировки генерируемых структур и заканчивается включением интегрированного в нейрональную сеть «зрелого» нейрона.

Нейрогенез проходит в несколько этапов. Образовавшаяся после асимметричного деления стволовых предшественников прогениторная клетка начинает делиться с образованием нейробластов, которые, выстраиваясь в цепочки, тангенциально мигрируют в направлении ольфакторной зоны. Достигнув обонятельной луковицы, нейробласты трансформируются уже радиально к месту конечного назначения (РИС. 1).

Нейрогенез, т.е. образование новых нейронов, олигодендроцитов, астроцитов в результате трансформации эндогенных стволовых клеток происходит в течение всей жизни. Этот процесс служит основой обеспечения пластической функции мозга и регулируется многими факторами. Экспрессивное образование новых нейрональных структур происходит во взрослом мозге при увеличенной физической активности, гипоксии, стрессе, обучении, пребывании в благоприятной «обогащенной среде». Стимуляция нейрогенеза наблюдается также при ишемии мозга, травме, начальных стадиях нейродегенеративной патологии. (См. Приложение «Трансформация стволовых клеток в мозге»).

Ныне многостороннее исследование нейрогенеза – одна из актуальных страниц современной нейробиологии и нейромедицины. Наряду с изучением молекулярных и физиологических аспектов проблемы, всё более очевидной оказывается возможность влияния на нейрогенез фармакологическими или трансплантационными приемами для лечения нейрональных и психических заболеваний. Эти подходы обосновали новое направление - регенеративной нейробиологии, исследующей механизмы регенерации нервной системы. Суть их состоит в

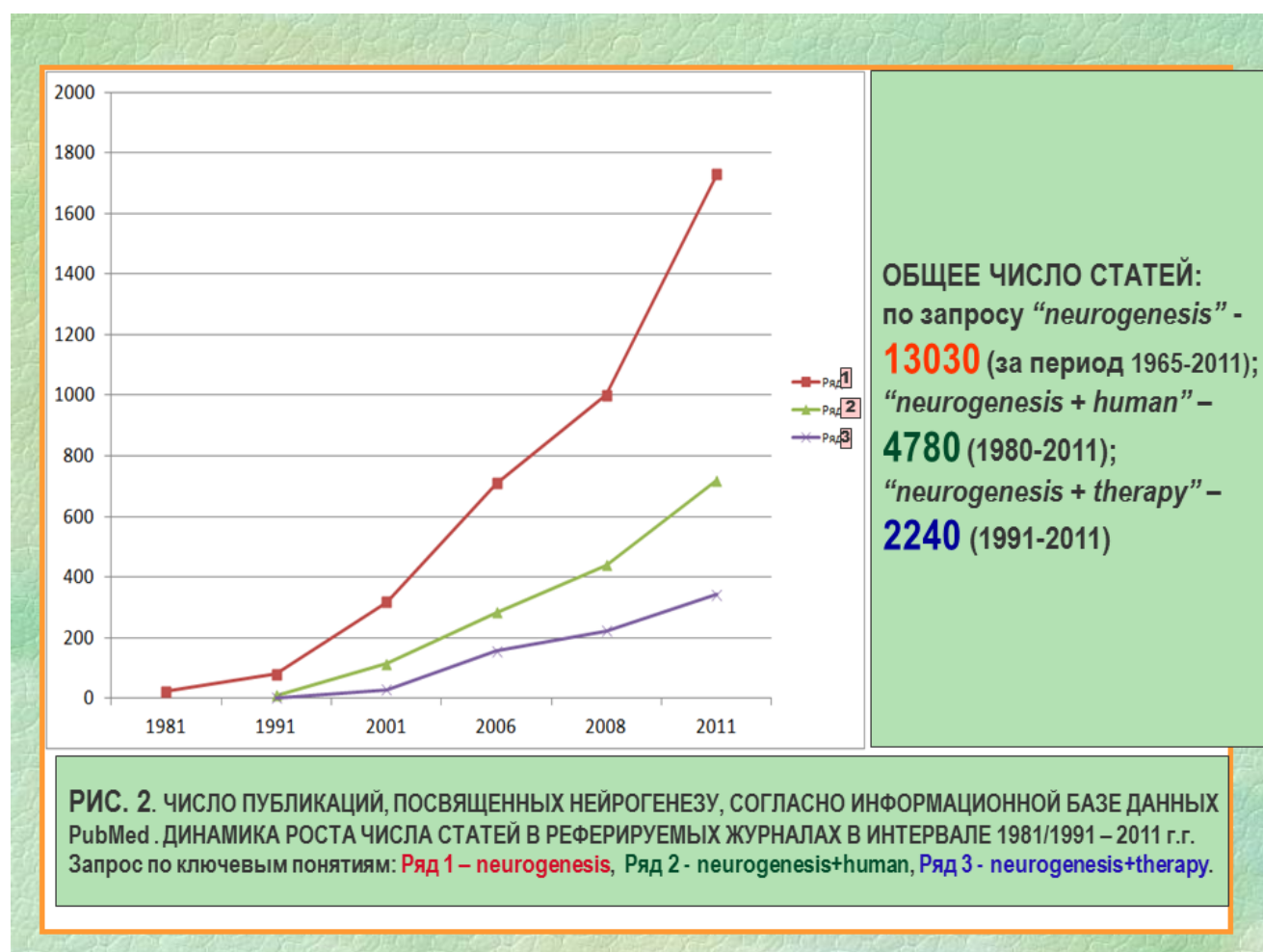
«стимуляции процессов репаративной регенерации нейронов, создании условий, перmissive для регенерации нервных и глиальных клеток и роста нервных волокон, и на блокировании факторов, препятствующих нейрогенез (К.Н. Ярыгин, В. Н. Ярыгин. *Нейрогенез в центральной нервной системе и перспективы регенеративной неврологии. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2012. Том 112, N 1. С. 4-13).*..



Нейрогенез является ключевой адаптивной функцией мозга. Определение роли новообразующихся клеток как компенсаторного материала изнашиваемых с возрастом или вследствие повреждения структур мозга, или как способа усиления его функционального потенциала принесло немало интересных результатов.

Нейрогенез у взрослых организмов представляет один из важнейших механизмов пластичности мозга, который выражается в увеличении числа клеток, участвующих в структурной перестройке нейрональных сетей, формировании и перекодировке синапсов как узлов переключения информационного сигнала, увеличении функциональных возможностей мозга и его выживания в меняющихся условиях среды обитания. Таким образом, основная функция нейральных стволовых клеток заключается в постоянной и естественной компенсации клеток мозга, утрачиваемых организмом в процессе жизнедеятельности или вследствие патологических причин. В этом огромная биологическая роль нейрогенеза как фактора регуляции клеточного и тканевого гомеостаза.

Определение основных форм трансформации исходных прогениторных структур в специализированные клетки мозга и встраивание последних в уже существующую нейрональную сеть служит важной доказательной базой нейрогенеза в зрелом мозге. Однако остается «повисающим» аргументом то обстоятельство, что: (а) нейрогенез происходит в ограниченных регионах мозга (церебровентрикулярная и гранулярная зона зубчатой извилины гиппокампа) и (б) количество вновь образуемых клеток, в сущности, ничтожно мало в сравнении с общей «массой» клеток, составляющих нейрональную сеть мозга в целом. Эти резоны серьезно смущают оппонирующую часть специалистов. Ниже будут представлены основанные на фактическом материале данные, которые, по-видимому, позволят более конкретно представить не только этапы, уровень и скорость трансформации новых клеток, но и определить сложную систему регуляторных процессов нейрогенеза в различных обстоятельствах.



Хорошим подтверждением «интересности» того или иного научного направления служит информация о количестве статей, посвященных этой теме. Сравнительный анализ числа статей, представленных в базе данных PubMed, демонстрирует резкий «взрыв» интереса к проблеме нейрогенеза в последнее пятилетие (РИС. 2). Резко возросший уровень экспериментальных исследований за счет иммунофлуоресцентной цитохимии, конфокальной микроскопии, ген-трансферной технологии или модельных опытов на животных стимулировал поисковую мотивацию исследователей. С другой стороны, несмотря на сложность работы с человеческим

материалом (биопсийные и постмортальные исследования и естественные ограничения технического и этического порядка) число работ по нейрогенезу в мозге человека составляет более трети от общего количества статей.

В настоящее время, несмотря на значительное количество исследований, определенным недостатком остается сущность опосредованного свидетельства трансформаций НСК. Доказательства образования новых нейронов документируются в большинстве случаев с помощью характерных меток (даблкортин, калбиндин, NeuN и др.), а функциональный итог в виде изменений электрофизиологических, поведенческих или когнитивных критериев. Важными являются исследования с трансгенными или нокаутными животными, доказывающими наличие факта нейрогенеза и отдельных молекулярных звеньев его регуляции «от противного». Тем не менее, современный исследователь имеет основания считать, что цитоморфология уровня исследований С. Рамона Кахала и К. Гольджи обрела новые черты убедительности, которые свидетельствуют не только о самом факте образования новых нейронов во взрослом мозге, но и о способах управления этими процессами, и более того – перспективой влиять на них в терапевтических целях.

1.2. Этапы трансформации нейральных стволовых клеток в мозге

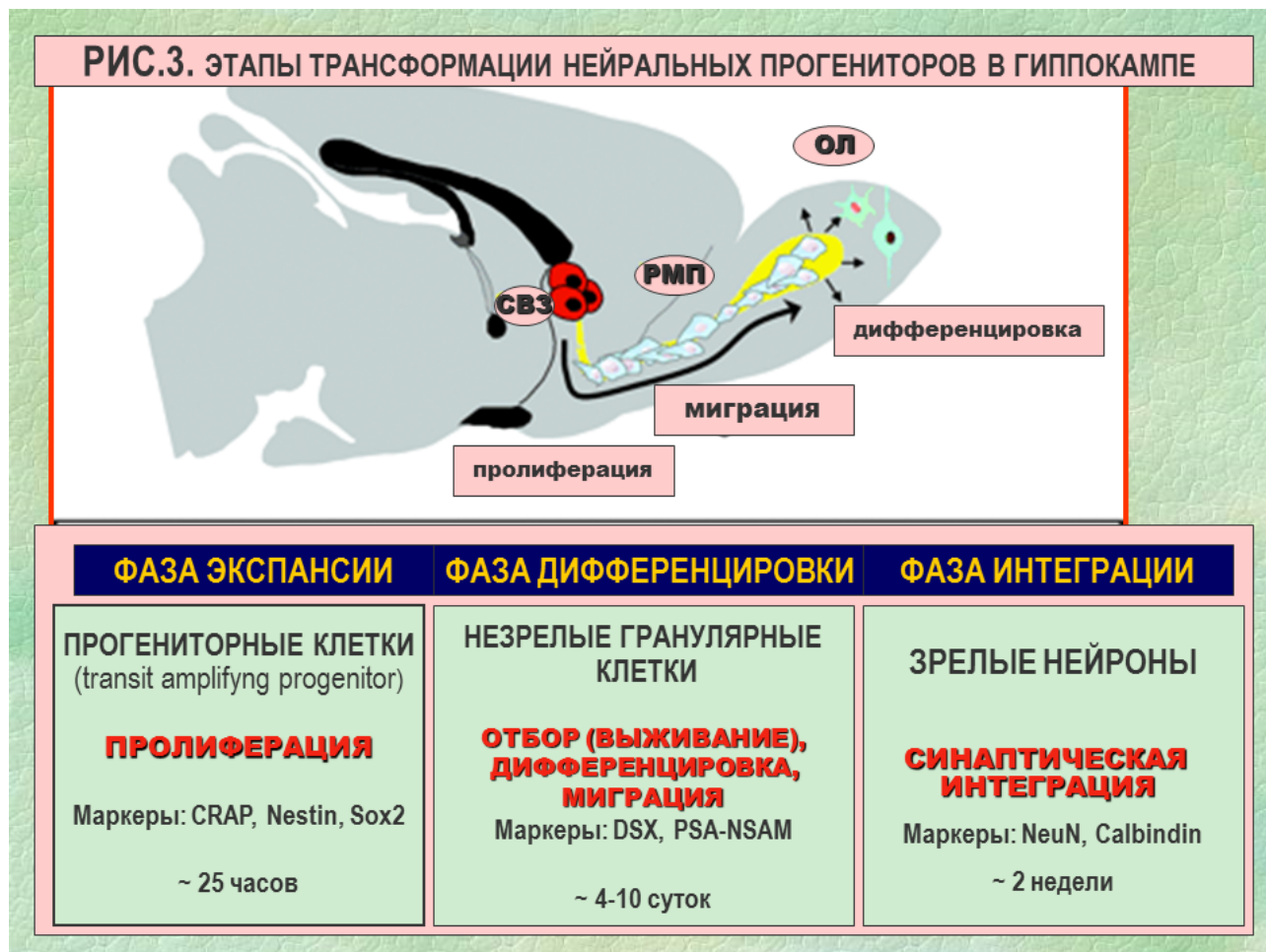
Нейральные стволовые клетки (НСК) были впервые выделены из эмбриональной ткани, а затем из мозга взрослых животных. Доказательства наличия ранних нейрональных предшественников и их последующая дифференцировка были установлены в широком ряду биологического мира: насекомых, рыб, амфибий, птиц, обезьян, человека.

Постулируется, что вновь образующиеся нейроны происходят из резидентных стволовых клеток взрослого мозга, которые являются полипотентными клетками, образующими нейроны, астроциты и олигодендроциты.

Новые нейроны постоянно образуются во взрослом мозге в двух регионах: субгранулярной зоне гиппокампа и субэпендиме боковых желудочков в пределах так называемых «нейрогенных ниш». Исходно нейральные стволовые клетки (“neural stem-like cells”) последовательно трансформируются в транзиторный прогенитор, далее – в нейробласт и зрелый нейрон. Трансформация нейральных стволовых клеток проходит стадии пролиферации («экспансии»), апоптоза («селекции») новообразованных клеток, дифференцировки в клетки определенного фенотипа, с конечной интеграцией «готовых» клеток в нейрональную сеть (РИС. 3).

Таким образом, исходно речь идет о клетках особого рода, которые являются некими «предварительными» единицами и остаются недифференцированными до получения индуцирующего сигнала. Этапы трансформации НСК – самоподдержание, дифференцировка и превращение в специализированную клетку определяются «обстановкой» микроокружения и химическими стимулами, получаемыми в виде секретлируемых молекул. Дочерняя клетка,

вступившая на путь дифференцировки, обозначается как "transient amplifying cell". Такие клетки делятся более часто, чем стволовые, но обладают все же ограниченным пролиферативным потенциалом и рассматриваются как инициальная ступень на пути к дифференцировке.



Скорость умножения числа новых клеток в зубчатой извилине гиппокампа взрослого мозга определяется как 9000 единиц в течение суток, или около 250 тысяч в месяц. Число новых нейронов, образующихся ежемесячно, составляет 6 % от общей популяции гранулярных клеток. Эти расчеты были проведены на основании экспериментов *H.Cameron* и соавторов, которые впервые использовали высокие дозы BrdU. До того низкие дозы этого маркера метили фракции клеток только в S-фазе (*Cameron HA, McKay RD. Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. J Comp Neurol. 2001;435:406–17*).

Скорость нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа и в субвентрикулярной зоне модулируется различными стимулами окружающей среды. Физическая нагрузка активирует нейрогенез в зубчатой извилине. В условиях патологии, при инсульте, травме мозга потенцируется образование новых клеток, и они замещают группы поврежденных нейронов. Анализ «следов миграции» таких клеток указывает на их происхождение из субвентрикулярной зоны. Согласно данным (*Arvidsson A, Collin T, Kirik D, et al. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. Nat Med. 2002;8:963–70.*), около 0,2%

дегенерированных клеток замещаются в стриатуме после фокальной ишемии мозга. Стресс, нейральное воспаление и старение организма, напротив, замедляют ход нейрогенеза.

Нейральные прогениторы первоначально обосновываются в гранулярном слое зубчатой извилины. Эти клетки классифицируются в несколько подтипов: (а) тип 1 – «предварительные» («putative») НСК; (б) тип 2а – ранние прогениторы; (в) тип 2b – коммитированные нейральные прогениторы; (г) тип 3 – клетки, обладающие электрофизиологическими характеристиками.

Новообразованные нейроны демонстрируют свойства и физиологические функции, отличные от зрелых клеток. Молодые гранулярные клетки в структурах зубчатой извилины отличаются по реакции на стимулы, исходящие от медиатора ГАМК. Только после интеграции в нейрональную сеть эти клетки могут функционально замещать ранее сформировавшиеся нейроны зрелого мозга.

Данные о числе и скорости образования новых нейронов, стимулируемом внешними и эндогенными факторами, служат основанием для утверждения, что новообразованные нейроны участвуют в процессах обучения, и пространственной памяти (*Gould E, Beylin A, Tanapat P, et al. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. Nat Neurosci. 1999;2:260–5; Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, et al. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. Nature. 2001;410:372–6*).

Характеризуя этапы трансформации новых нейронов, можно считать, что пролиферация есть первичный процесс активного самовозобновления, возможность увеличения пула новых клеток, из которых в результате селекции апоптозом останутся те, которым предстоит дальнейший путь оформления в зрелые интегрированные нейроны. Оценивая следующую за пролиферацией прогениторов фазу, следует скорее говорить не о «выживании» в привычной терминологии («survival»), а о селекции новообразующихся клеток. Kuhn et al. (2005) считает, что баланс между смертью про-нейронов и их селекцией есть одна из существенных сторон нейрогенеза. Причем, баланс регулируемый, когда исходная гиперактивация нейрогенеза (экспрессия фактора Bcl2) может быть ограничена соответствующей элиминацией «ненужного» множества (*Kuhn HG, Biebl M, Wilhelm D, et al. Increased generation of granule cells in adult Bcl-2-overexpressing mice: a role for cell death during continued hippocampal neurogenesis. Eur J Neurosci. 2005;22(8):1907-15*). В последующем изложении аспекту регуляции нейрогенеза путем экспрессии сигнальных молекул различного уровня (трансдукции, транскрипции, эпигенеза) будет уделено особое внимание.

Таким образом, этапы нейрогенеза могут быть представлены следующим образом:

1. Исходно нейральные стволовые клетки получают сигнал, включающий программу их трансформаций;
2. пролиферация прогениторных клеток;
3. селективный апоптотический отбор;
4. миграция клеток;

5. оформление соответствующего нейронального фенотипа;
6. морфологическое и физиологическое созревание до стадии зрелых нейронов;
7. вторичная селекция путем синаптической интеграции в нейрональную сеть гиппокампа.

Существенным оказывается вопрос об индукторах нейрогенеза, т.е. химических или иных стимулах, которые инициируют превращение исходных прогениторных структур в специализированные нейроны, астроциты, олигодендроциты. В первую очередь, была установлена регулирующая роль стероидных гормонов надпочечников и глюкокортикоидов. Была также определена важная роль комплекса внешних обстоятельств – обучения, стресса, гипоксии, физической стимуляции организма в продуцировании новых клеток мозга. Концептуальным оказалось понятие «обогащенной среды» организма («enriched environment»), включающей количественные и качественные факторы социального окружения, а также индивидуальную слуховую, визуальную и тактильную стимуляцию.

1.3. Нейрогенная, или стволовая ниша

Изучение стволовых клеток привело к утверждению концепции «стволовой ниши» (“stem niche”). Понятие “ниши” предполагает сочетание клеточного микроокружения и внеклеточного матрикса, специфичное для определенного типа стволовых клеток, которое может служить местом их трансформации. В нише продуцируются химические факторы, регулирующие пролиферацию, селекцию и дифференцировку НСК. По современным представлениям, «стволовая ниша» представляет особую микросферу, которая включает элементы самой клетки, окружающего матрикса, то есть, ее клеточной «архитектуры». По-видимому, именно окружающая НСК среда обеспечивает сохранение трансформирующихся клеток и регулирует этапы нейрогенеза вплоть до образования зрелых нейронов, астроцитов и олигодендроцитов. Новообразующиеся клетки мигрируют тангенциально в ольфакторную зону мозга через ростральный тракт (главный путь трафика). Далее молодые нейроны дифференцируются в интернейроны соответствующего фенотипа.

Формирующиеся в стволовой нише клетки могут рассматриваться по трем категориям. Первая группа – клетки, которые уже в начальной стадии подвергаются постмитотической гибели. Большая часть вновь образованных клеток подвергается апоптозу, своеобразной «выборке» новой популяции. Нейтральный апоптоз представляет форму «очистки» пула большой массы генерированных клеток. Значение второй группы клеток, не подверженных апоптозу или дифференцировке, - в формировании «ниши» - специализированного микроокружения, которое определяет дальнейшую судьбу клеток. Ангиогенная и астроглиальная нейрогенные ниши выявлены во взрослом мозге в ограниченных регионах, но также участвуют в пролиферации и дифференцировке НСК. Третью группу клеток составляют молодые нейрональные структуры, которые, выживая, становятся зрелыми клетками и интегрируются в нейрональную сеть.

Важно рассмотрение контакта нейральных структур с соседствующими клетками сосудистого эндотелия. Микрососудистое окружение играет большую роль в поддержании нейрогенеза. Трансформация предшественников и образование нейробластов в пределах субгранулярной зоны происходят в непосредственной близости кровеносных сосудов и составляют структурно-функциональные кластеры прогениторов, глиальных клеток, новообразованных нейронов и эндотелиальных клеток. В экспериментах было установлено, что совместное культивирование *in vitro* эмбриональных нейральных стволовых клеток или «взрослых» клеток субвентрикулярной зоны с клетками сосудистого эндотелия стимулирует нейрогенез с последующей дифференцировкой новообразованных нейронов. Это свидетельствует о том, что нейрогенез и васкулогенез представляют собой координированные процессы и химические факторы эндотелия, которые участвуют в контроле определенных этапов нейрогенеза.

Экспрессия в нише химических сигналов оказывается важным регулятором трансформации стволовых клеток из прогениторов в зрелые нейроны. Среди общих химических агентов, участвующих в контроле этих процессов, отмечаются секретируемые эндотелиальными клетками фактор PEDF, полипептидный фактор ингибирования лейкемии (LIF), нейротрофический фактор мозга (BDNF). Все они причастны к конкретным этапам трансформации стволовых клеток.

В качестве важного химического регулятора нейро- и васкулогенеза отмечается также сосудистый ростовой фактор эндотелия (VEGF). Стимулируемый у подопытных крыс физическими упражнениями нейрогенез ассоциируется с активацией этого фактора. Инфузия VEGF в латеральный желудочек мозга стимулирует пролиферацию и последующую трансформацию клеток субвентрикулярной зоны; подобный эффект отмечен также при стимуляции комплекса его рецепторов VEGFR2/Flk-1 (*Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao X.O, Xie L, Greenberg D.A. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2002;99:11 946–11; Fabel K, Tam B, et al. VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. Eur. J. Neurosci. 2003;18:2803–2812*).

1.4. Концепция «обогащенной среды»

Термин «обогащенная среда» («enriched environment») подразумевает благоприятную обстановку жизнеобитания, включающую комфортно устроенное пространство, наличие пищи, возможность свободной поисковой активности. В экспериментах на животных моделирование обогащенной среды включает приемы сенсорной стимуляции (визуальной, слуховой, обонятельной, тактильной), пищевое обеспечение, а также игровую стимуляцию, столь типичную для молодых особей. В современной нейрофизиологии понятие «обогащенной среды» ассоциируется с повышенной пластичностью структур гиппокампа, включающей морфо-функциональные перестройки, которые влияют на когнитивные процессы и устойчивость организма к неблагоприятным влияниям.

Установлено, что в условиях обогащенной среды стимулируется активность нейротрофинов и ростовых факторов, служащих платформой физиологически значимых перестроек в организме. Например, в условиях обогащенной среды и обучения в пространственном лабиринте стимулируется экспрессия VEGF в гиппокампе. Нахождение животных в обогащенной среде способствует экспрессии в нейронах гиппокампа нейротрофина NGF, NF-3, GDNF, BDNF и цАМФ-зависимого сигнального фактора транскрипции CREB.

Немалое число экспериментальных исследований свидетельствует о том, что обогащенная среда позитивно влияет на стимуляцию нейрогенеза. В одном из первых исследований этого направления было выявлено существенно большее число новообразованных нейронов у мышей, перенесенных из стандартных клеток в более комфортные условия. Стереологический анализ подтвердил, что у таких животных слой гранулярных клеток в гиппокампе и их число в зубчатой извилине увеличивался на 15% (*Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. Nature. 1997;386 (6624):493-5.*

Исследования на новорожденных морских свинках показали, что пребывание с первых дней в обогащенной среде значительно повышает количество пролиферирующих клеток и их выживание, а также число нейронов, формирующих гранулярный слой гиппокампа (*Rizzi S, Bianchi P, Guidi S, et al. Impact of environmental enrichment on neurogenesis in the dentate gyrus during the early postnatal period. Brain Res. 2011;1415:23-33.*). Оценка социального статуса индивидуумов, положение доминантой или подчиненной особи, совпадали с увеличенной экспрессией BDNF в субвентрикулярной зоне и в гиппокампе у старых мышей, а также у животных с повышенной активностью холинацетилтрансферазы в перегородке и в базальных ядрах. Эти изменения также подкреплялись повышением концентрации прогениторных гранулярных клеток в субвентрикулярной зоне (*Fiore M, Amendola T, Triaca V, et al. Agonistic encounters in aged male mouse potentiate the expression of endogenous brain NGF and BDNF: possible implication for brain progenitor cells' activation. Eur J Neurosci. 2003;17: 1455-1464.*). Стимулируемый обогащенной средой нейрогенез находит свое выражение в изменении морфологических структур мозга. В опытах на лабораторных мышах, которых в течение 2 месяцев содержали в условиях лесного заповедника, обнаружено значительное увеличение в сравнении с контрольной группой числа возбуждающих и ингибиторных синапсов в структурах IV слоя соматосенсорного комплекса (*Landers MS, Knott GW, Lipp HP, et al. Synapse formation in adult barrel cortex following naturalistic environmental enrichment. Neuroscience. 2011;199:143-52.*

Побуждение животных к физической тренировке после ишемии мозга в условиях «обогащенной среды» способствовали усилению регенеративных процессов в субвентрикулярной зоне (*Komitova M, Zhao L, Gido G, et al Postischemic exercise attenuates whereas enriched environment has certain enhancing effects on lesion-induced subventricular zone activation in the adult rat. Eur J Neurosci. 2005;21:2397-2405.*). Тренировка прерывистой гипоксией, как известно, предотвращает или ослабляет ишемические повреждения мозга; при этом, как следует из данных (*Zhu L, Zhao T, Li HS, et al. Neurogenesis in the adult rat brain after intermittent hypoxia.*

Brain Res. 2005;1055:1-6), стимулирует нейрогенез в субвентрикулярной зоне. Ежедневное пребывание крыс в барокамере на «высоте» 2000-5000 м вдвое увеличивало число BrdU-позитивных клеток в зубчатой фасции после 4 недель тренировки.

Пребывание в обогащенной среде может влиять на генетически обусловленные состояния. Если мышей генетически слабой обучаемости и низким уровнем нейрогенеза содержать в условиях обогащенной среды, то у них существенно улучшается поисковая активность, способность к обучению, которые совпадают с интенсивной дифференцировкой нервных клеток в гиппокампе (*Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. J Neurosci. 1998;18: 3206–3212*).

По-видимому, позитивный результат пребывания в условиях благоприятной сенсорной, пищевой, социальной обстановки не является откровением для современного человека. Культура оздоровительного и реабилитационного отдыха имеет огромный опыт. Однако влияние обогащенной среды на базис адаптивных перестроек ныне подкреплено исследованиями нейрогенеза, в новом аспекте иллюстрирующего нейрофизиологическую сущность этого процесса.

1.4. Нейрогенез и микроглия

Астроциты, или глиальные клетки, функционирующие в мозге как «внутриклеточное подспорье», составляют основную массу нейрональной глии, заполняющей межнейрональное пространство. Результаты недавних исследований свидетельствуют, что специализированные астроциты обеспечивают сигналами прогениторные клетки, стимулируя их трансформацию и нейрогенез. Эта «пронейрогенная» функция микроглии была продемонстрирована также *in vivo* при стимуляции нейрогенеза в гиппокампе с помощью специфических цитокинов, продуцируемых глиальными клетками (*Ekdahl CT. Microglial activation – tuning and pruning adult neurogenesis. Front Pharmacol. 2012;3:41*).

Исследования, демонстрирующие роль активированной микроглии в нейрогенезе, были выполнены на крысах, которым интраперитонеально вводили провоспалительное вещество – липополисахарид. Следствием было резкое снижение выживаемости новообразующихся нейронов в гиппокампе; блокада воспаления восстанавливала нейрогенез (*Monje M, Toda H, Palmer T. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. Science. 2003;302: 1760–1765*). Провоспалительные интерлейкины IL-1, IL-6 и фактор некроза опухоли (TNF- α), выделяемые активированной микроглией, тормозили нейрогенез и пролиферацию клеток гиппокампа (*Iosif RE, Ekdahl CT, Ahlenius H, et al. 2006. Tumor necrosis factor receptor 1 is a negative regulator of progenitor proliferation in adult hippocampal neurogenesis. J. Neurosci. 26, 9703–9712*).

Теоретическое обобщение этих данных подчеркивает роль микроглии в функциональной интеграции новообразующихся нейронов как стабилизирующего, усиливающего и

фильтрующего фактора синаптической функции («*An Equalizer Amplifying and Filtering Synaptic Signaling?* - Ekdahl CT /2009/). Формулируются три основные позиции, связанные с ролью микроглии: (1) Участие микроглии в апоптозе новообразованных нейронов, подверженных селективной выборке. У мышей с нарушенной экспрессией хемокинов отмечается редукция как самой микроглии, так и отложенный апоптоз «негодных» синаптических структур. (2) Модуляция перисинаптических структур за счет активации матриксной металлопротеиназы-9. В этих процессах участвуют активируемые протеазой васкулярный фактор эндотелия (VEGF) и трансформирующий ростовой фактор-бета (TGF- β). (3) Изменение структуры дендритных шипиков и организация синаптической нейротрансмиссии новых нейронов.

Утверждается гипотеза, что активация микроглии при нейральном воспалении не может быть фактором непосредственного влияния на нейрогенез; данные показывают, что речь идет скорее о контроле баланса секретлируемых микроглией молекул про- или противовоспалительного действия (Ekdahl CT, Kokaia Z, Lindvall O. *Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia. Neuroscience. 2009; 158:1021-1029*). К тому следует добавить, что поддержание баланса про- и противовоспалительных регуляторных молекул при нейральном воспалении, при травме мозга, ишемии и инсульте, реакции на стресс и др., согласно современных представлений сопряжено с функцией микроглии. Заключается, таким образом, регуляторная цепочка, сопрягающая роль микроглии в нейрогенезе и синаптической стабилизации, которая способствует поддержанию мозга при различных формах нейральной патологии.

Новый аспект проблемы представляет информацию о роли митохондрий, энергообразующих органелл клетки, в нейрогенезе. Исходной позицией оказываются здесь данные о том, что патохимический механизм глиального воспаления сопряжен с нарушением функции митохондрий. Ингибирование митохондрий и быстрая потеря мембранного потенциала, вследствие действия антимицина, сопровождается активацией апоптоза, снижением жизнеспособности зрелых нейронов и еще большей редукцией меченых по даблкортину нейральных прогениторов (Voloboueva LA, Lee SW, Emery JF, et al. *Mitochondrial protection attenuates inflammation-induced impairment of neurogenesis in vitro and in vivo. J Neurosci. 2010; 30(37): 12242-12251*).

Исследования *in vivo* показывают, что нарушение митохондрий, связанное с образованием гидроперекисей (активных форм кислорода), препятствует нейрогенезу. У мышей с нокаутом фермента-тивного комплекса альфа-кетоглутаратдегидрогеназы снижено число прогениторов в гиппокампе (Calingasan NY, Ho DJ, Wille EJ, et al. *Influence of mitochondrial enzyme deficiency on adult neurogenesis in mouse models of neurodegenerative diseases. Neuroscience. 2008;153:986-996*). Митохондриальный антиоксидант, препарат альфа-липоевой кислоты, восстанавливал заблокированный радиационным воздействием нейрогенез в гиппокампе (Fike JR, Rosi S, Limoli CL. *Neural precursor cells and central nervous system radiation sensitivity. Semin Radiat Oncol. 2009;19:122-132*).

Эти результаты свидетельствуют о вкладе митохондрий в механизмы нейрогенеза и обозначают их как новую мишень терапевтической защиты в условиях нейровоспаления. Приведенные примеры позволяют изменить традиционное понятие о роли микроглии в нейродегенеративной патологии. От первичной идеи о том, что эти клетки играют негативную роль в нейрогенезе, как следствие их провоспалительной функции, к вероятному утверждению нейропротективной роли как причинного фактора нейрогенеза.

2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОГЕНЕЗА

Трансформация нейрональных предшественников осуществляется при содействии множества химических факторов, среди которых особое место принадлежит нейротрансмиттерам, эндогенно высвобождающихся в местах первичной локализации НСК. В последующем будут представлены сведения об основных нейромедиаторах – дофамине, серотонине, оксиде азота, ГАМК и глутамате.

Особого внимания заслуживает информация относительно трансформации нейральных прогениторов в зрелые клетки специфического медиаторного фенотипа. Результаты этих исследований объясняют не только факт количественного «умножения» новых клеток, но и специфичность нейрогенеза, в результате чего образуются нейроны нужного медиаторного назначения. Возникновение новых клеток, замещающих поврежденные структуры при ишемическом поражении мозга, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона и др., конкретизирует задачу поиска фармако-терапевтических средств, стимулирующих образование клеток определенного фенотипа - холинергических, дофаминергических, ГАМКергических и др.

2.1. Нейротрансмиттеры

Современная нейрофизиология выделяет несколько типов нейромедиаторов, значимых для реализации адаптивных процессов в мозге. Как факторы контроля синаптической пластичности, большинство из них оказывается также задействованным в различных видах нейральной патологии. Холинергическая (ацетилхолиновая) система причастна к патогенезу болезни Альцгеймера, расстройства дофаминовой активности – болезни Паркинсона, глутаматная система - патогенезу ишемических и травматических поражений мозга, нейротрансмиттерная функция серотонина оказывается значимой для депрессивных и иных форм психических расстройств. Во всех этих случаях речь идет об инверсии сигнальной функции нейротрансмиттеров: их недостаточная или, напротив, чрезмерная активность ставятся причиной дезорганизации синаптических процессов.

Нейромедиаторы, такие как *дофамин* и серотонин, реализуют свое действие на нейрогенез через проекции в субвентрикулярной зоне. D-1 и D-2 рецепторы дофамина были идентифицированы в нейросферах стволовых клеток субвентрикулярной зоны. В

экспериментах *in vivo* установлено участие этих структур в трансформации нейральных прогениторов эмбриональных и взрослых организмов.

С помощью фармакологических манипуляций (использование селективных агонистов или антагонистов рецепторов дофамина) удалось усилить или, наоборот, ослабить уровень нейрогенеза в субвентрикулярной зоне. Блокада релизинга дофамина приводила к снижению пролиферации; в этот эффект вовлеченным оказывается эпидермальный ростовой фактор (EGF), что указывает на многоступенчатую систему контроля трансформации НСК. Агонист дофаминовых рецепторов бромкриптин стимулирует дифференцировку НСК в условиях химического воздействия, моделирующего болезнь Паркинсона. Экспрессия пролиферации нейрональных микросфер с помощью агониста дофаминовых рецепторов прамипексола, продемонстрировала их последовательную трансформацию через этапы пролиферации, миграции и дифференцировки. Существенно заметить, что названный агонист дофаминовых рецепторов применяется в терапии болезни Паркинсона (*Merlo S, Canonico PL, Sortino MA. Distinct effects of pramipexole on the proliferation of adult mouse sub-ventricular zone-derived cells and the appearance of a neuronal phenotype. Neuropharmacology. 2011;60(6):892-900.*

Среди многообразных функций *серотонина* одной из наиболее значимых является роль центрального нейротрансмиттера. Что касается участия в нейрогенезе взрослого мозга, установлено его потенцирующее влияние на образование и трансформацию нейробластов в субвентрикулярной зоне гиппокампа. Выявлена специфичность различных видов серотониновых рецепторов, причастных к регуляции клеточной пролиферации в субгранулярной в субвентрикулярной зонах. Активация 5-HT_{2C} рецепторов в регионе сосудистого сплетения вдвое увеличивает пролиферацию прогениторов в субвентрикулярной зоне, тогда как блокада 5-HT_{2A} рецепторов ведет к аналогичному снижению числа пролиферирующих клеток в субгранулярной зоне гиппокампа. Следовательно, выявляется гетерогенная регуляция нейрогенеза, связанная с различными типами рецепторов серотонина (*Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A. Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. Neuropsychopharmacology. 2004;29:450-460.* Установлена фазность экспрессии рецепторов серотонина в отношении нейрогенеза: агонисты серотонина позитивно влияли на выживание трансформируемых клеток в субвентрикулярной зоне, но тормозили их миграцию в ольфакторную область (*Soumier A, Banasr M, Goff LK, Daszuta A. Region- and phase-dependent effects of 5-HT(1A) and 5-HT(2C) receptor activation on adult neurogenesis. Eur. Neuropsychopharm. 2010; 20: 336-345.*

Высвобождение *оксида азота (NO)* также влияет на различные стадии трансформации нейрональных предшественников. Систематическое введение ингибитора синтазы азота, т.е. торможение синтеза NO, увеличивало пролиферацию в субвентрикулярной зоне, ростральном миграционном пути и в обонятельной луковице, но не в зубчатой извилине гиппокампа. Это воздействие способствовало также улучшению паттернов памяти и обучения (*Moreno-Lopez B, Noval JA, Gonzalez-Bonet LG, Estrada C. Morphological bases for a role of nitric oxide in adult*

neurogenesis. Brain Res. 2000;869:244–250). Новые исследования подтвердили, что влияние NO на пролиферацию нейральных предшественников опосредовано трансдукторной сигнальной системой с включением cGMP-зависимой киназы и ERK/MAPK киназных белков (*Carreira BP, Morte MI, Lourenço AS. et al. Differential Contribution of the Guanylyl Cyclase-Cyclic GMP-Protein Kinase G Pathway to the Proliferation of Neural Stem Cells Stimulated by Nitric Oxide. Neurosignals. 2012*). Эти данные указывают на новые возможности регуляции нейрогенеза, осуществляемой через систему сигнальных белков. Подробнее см. главу 4.

Рецепторы ГАМК были идентифицированы в астроцитах и в нейробластах в субвентрикулярной зоне и ростральном тракте. Установлено, что предшественники нейрогенеза сами стимулируют синтез ГАМК. Нейральные прогениторные клетки, получаемые из неокортекса эмбрионов мышей, экспрессировали ГАМК(B) рецепторы. Следствием было увеличение пролиферации и образование микросфер, которое потенцировалось внесением ГАМК (*Fukui M, Nakamichi N, Yoneyama M, et al. Modulation of cellular proliferation and differentiation through GABA(B) receptors expressed by undifferentiated neural progenitor cells isolated from fetal mouse brain. J Cell Physiol. 2008; 216(2):507-19*).

ГАМК контролирует различные фазы нейрогенеза: от пролиферации астроцито-подобных предшественников до миграции нейробластов и их дифференцировки. Некоторые из этих эффектов реализуются через включение «канонического» белка CREB, основного фактора пострецепторной сигнальной системы (*Giachino C, De Marchis S, Giampietro C, et al. cAMP response element-binding protein regulates differentiation and survival of newborn neurons in the olfactory bulb. J. Neurosci. 2005;25:10105–10118; Herold S, Jagasia R, Merz K, et al. CREB signalling regulates early survival, neuronal gene expression and morphological development in adult subventricular zone neurogenesis. Mol. Cell Neurosci. 2011;46(1):79-88*).

Глутамат рассматривается как медиатор нейрального воспаления, ассоциируемого с ишемической патологией мозга. Сигналы глутамата реализуются через ионотропные AMPA-каинатные и NMDA рецепторы.

Как отмечалось ранее, большая часть новообразованных нейронов погибает в первые четыре недели после интенсивной пролиферации. Их селекция регулируется химическими сигналами, среди которых важная роль принадлежит глутамату. На микросрезах субвентрикулярной зоны видно, что нейробласты экспрессируют «мозаичный набор» рецепторов глутамата, включая AMPA и GluK5. На нейросферах, получаемых из клеток субвентрикулярной зоны, установлено, что агонисты рецепторов mGluR2 стимулируют пролиферацию клеток, одновременно снижая количество маркеров апоптоза (*Brazel CY, Nunez JL, Yang Z, Levison SW. Glutamate enhances survival and proliferation of neural progenitors derived from the subventricular zone. Neuroscience. 2005;131:55–65*).

При сравнительном анализе роли ГАМК и глутамата в нейрогенезе были получены данные новой тональности. Экспрессия различных подтипов рецепторов ГАМК ведет к стимуляции пролиферации и репликации клеток или к усилению дифференцировки астроглиальных клеток.

Сигналы, исходящие от глутамата, подавляют пролиферацию недифференцированных нейральных прогениторов. Однако, экспрессия III mGluR глутаматных рецепторов ускоряет дифференцировку предшественников в астроглиальную линию. Таким образом, различные варианты трансформации НСК контролируются деликатным балансом ГАМК- и глутаматергических сигналов (*Nakamichi N, Takarada T, Yoneda Y. Neurogenesis mediated by gamma-aminobutyric acid and glutamate signaling. J. Pharmacol Sci. 2009;110(2):133-49.*)

Ацетилхолин – первый из исследованных нейротрансмиттеров. Некогда австрийский фармаколог Нобелевский лауреат Отто Леви выявил его значение как передатчика информации, открыв проблему медиаторного принципа нейрональной связи.

Нарушение холинергической иннервации снижает число новообразующихся нейронов. Инфузия иммунотоксина ¹⁹²IgG-сапорина селективно повреждает холинергические клетки переднего мозга, которые проецируются в две основные зоны нейрогенеза – зубчатую извилину гиппокампа и ольфакторную область. Иммунохимическое повреждение холинергических нервов приводит к снижению в этих зонах числа клеток, меченых по BrdU или ядерному маркеру NeuN. Препарат донепезил, ингибитор ацетилхолинэстеразы, увеличивал выживаемость прогениторов гиппокампа, хотя и не влиял на их пролиферацию и дифференцировку. Донепезил экспрессировал также активность трансдукторного белка CREB, который стимулирует нейрогенез за счет защиты клеток от апоптоза. Таким образом, усиление холинергической нейротрансмиссии способствует новообразованию нейронов на этапе выживания (*Kotani S, Yamauchi T, Teramoto T, Ogura H. Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, enhances adult hippocampal neurogenesis. Chem Biol Interact. 2008;175(1-3):227-30.*)

Помимо веществ, непосредственно значимых для формирования медиаторного фенотипа НСК, определенная роль принадлежит нейропептидам. Можно заметить, что таких исследований немного, однако ряд из них заслуживает внимания, поскольку отдельные пептиды, с короткой аминокислотной последовательностью и специфическими рецепторами (а, следовательно, путями, модулирующими сигнальные процессы), могут представлять дополнительные формы контроля механики нейрогенеза.

PACAP (*Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide* – «полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза»). Этому плейотропному полипептиду, реализующему эффекты через PAC1R рецептор с включением киназных трансдукторных белков MAPK, JNK/SAPK38, P38, принадлежит важная роль в нейропротекции за счет торможения апоптоза в клетках гиппокампа. Установлена экспрессия рецептора PAC1R в вентрикулярной зоне бокового желудочка и в зубчатой извилине гиппокампа. Стволовые клетки субвентрикулярной зоны пролиферировались *in vitro* при внесении агониста рецептора PAC1R, тогда как селективный антагонист PACAP₍₆₋₃₆₎ тормозил этот процесс. Внутривентрикулярная инфузия PACAP вызывала дифференцировку нейральных прогениторов в астроциты мышей, что связывается с влиянием полипептида на секрецию интерлейкина IL-6 (*Shioda S, Ohtaki H, Nakamachi T. et al. Pleiotropic functions of PACAP in the CNS: neuroprotection and neurodevelopment. Ann N Y Acad*

Sci. 2006;1070:550-60; Ohno F, Watanabe J, Sekihara H. et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide promotes differentiation of mouse neural stem cells into astrocytes. Regul Pept. 2005;126(1-2):115-22.

2.2. Нейрогенез и формирование медиаторного фенотипа

Особенностью нейрогенеза является формирование клеток определенной медиаторной специфичности. Первичные исследования, выполненные на эмбриональных клетках, выявили возможность направленной регуляции фенотипа дополнительными воздействиями. Исследования *in vitro*, показали, что дофаминергические нейроны могли быть получены из эмбриональных стволовых клеток человека при их культивировании с астроцитами или нейральными стволовыми клетками. Через 3-4 недели выращивания в культуре и дифференцировки такие клетки обнаруживали наличие тирозингидроксилазы и обладали электрофизио-логической активностью. У 19-дневных эмбрионов крыс в гиппокампе были обнаружены прогениторные клетки, которые при стимулировании ростовыми факторами EGF, FGF-2 и BDNF превращались в нейросферы и реагировали с ГАМК (*Shetty AK. Progenitor cells from the CA3 region of the embryonic day 19 rat hippocampus generate region-specific neuronal phenotypes in vitro. Hippocampus. 2004; 14(5): 595-614.*

В последующих работах было установлено, что из нейральных прогениторов формируется «когорта» новых клеток, которые были способны экспрессировать глутамат, ГАМК, а также нейропептид динарфин. Эти клетки мигрировали в ольфакторную область (*J Neurosci. 2005;25(30):6939-46. Programmed and induced phenotype of the hippocampal granule cells. Gómez-Lira G, Lamas M, Romo-Parra H, Gutiérrez R.*

ГАМК- или глутамат- специфические сигналы, экспрессируя подтипы соответствующих рецепторов, контролировали трансформацию прогениторов в нейроны и астроциты. В частности, глутаматергический сигнал приводит к торможению пролиферации недифференцированных структур, тогда как активация ионотропных рецепторов NMDA, напротив, способствовала дифференцировке этих прогениторов. Существенно также, что активация метаботропных глутаматных рецепторов типа III mGluR потенцировала соответствующую дифференцировку астроглиальных клеток (*Nakamichi N, Takarada T, Yoneda Y. Neurogenesis mediated by gamma-aminobutyric acid and glutamate signaling. J.Pharmacol Sci. 2009;110(2):133-49.*

Следовательно, физиологически необходимое соответствие активности глутаматергической и ГАМКергической систем поддерживается балансом химической сигнализации, обеспечивающей образование новых нейронов и астроцитов соответствующей медиаторной специфичности.

Что касается образования дофаминергических нейронов из нейральных предшественников, их индукция стимулируется при посредстве транскрипторного нуклеарного фактора Nurr1, специфичного для экспрессии дофамина. Образующиеся при посредстве Nurr1 нейроны

демонстрируют *in vitro* функции дофаминергических пресинапсов: способность высвобождения медиатора в ответ на деполяризующие стимулы и реакцию обратного захвата (реаптейка) дофамина. Клетки, «сконструированные» с помощью Nurr1 в субвентрикулярной зоне, проходят типичные этапы трансформации в зрелые нейроны (селекция, дифференцировка, интеграция,) и способны компенсировать поведенческий дефицит в экспериментах на модели паркинсонизма у крыс (*Arenas E. Engineering a dopaminergic phenotype in stem/precursor cells: role of Nurr1, glia-derived signals, and Wnts. Ann N Y Acad Sci. 2005;1049:51-66*).

Таким образом, некоторые нейротрансмиттерные системы, представленные в субвентрикулярной зоне мозга, демонстрируют варибельную картину влияния на нейрогенез. Как было показано выше, дофамин (в черной субстанции) и серотонин (в зубчатом ядре) могут непосредственно влиять на пролиферацию предшественников. Структурные изменения, вызываемые неврологическими заболеваниями различного генеза, ассоциируются с гибелью нейронов определенной медиаторной специфичности. При болезни Альцгеймера затронутыми оказываются структуры холинергической трансмиссии, при болезни Паркинсона – дофаминергические нейроны, Еще более сложными выглядят нарушения медиаторных звеньев при острой ишемии или черепно-мозговой травме. По-видимому, демонстрируемая возможность образования новых клеток определенной медиаторной специфичности может оказаться практически значимой при разработке новых стратегий терапии.

В итоге можно резюмировать два основных положения о стимулирующей роли медиаторов в процессе нейрогенеза: (1) влияние нейротрансмиттеров, присутствующих в соответствующих нишах, на трансформацию прогениторов и последующее образование «зрелых» нейронов; (2) формирование клеток определенного медиаторного фенотипа, которое стимулируется большим набором факторов - нейротрансмиттеров, нейропептидов, нейротрофинов, трансдукторных и транскрипторных белков.

2.3. Регуляция этапов нейрогенеза нейротрофическими полипептидами

Нейротрофины - семейство крупных полипептидов, которые регулируют выживание, развитие и согласованную функцию нейронов. Секретируемые нейрональными и васкулярными клетками нейротрофины выполняют сигнальную миссию в большом спектре физиологических процессов. Многие факты свидетельствуют, что нейротрофины и некоторые ростовые факторы участвуют в регуляции нейрогенеза – образования из прогениторных нейрональных предшественников новых клеток. Нейротрофические и ростовые факторы играют значимую роль, как элементы «нишеобразующей» среды. Их роль видится всеобъемлющей и она просматривается на всех этапах пре- и постнатального нейрогенеза, в обеспечении физиологической нормы мозга и при некоторых видах нейро- и психопатологии (*См. Гомазков О.А. «Нейротрофическая регуляция и стволовые клетки мозга» М. 2006. ИКАР*).

С нейротрофинами связано понятие «нейротрофичности», которое в современном представлении следует понимать как комплекс клеточно-молекулярных и физиологических процессов, способствующих сохранению структур и сбалансированной активности систем мозга. Более конкретно, речь идет о нейропластичности, нейропротекции и нейрогенезе - базовых процессов здорового и больного мозга (См. Приложение «Нейротрофические ростовые факторы»).

Нейротрофические и ростовые факторы характеризуются как высокомолекулярные полипептиды с последовательностью более 100 аминокислотных остатков. Согласно сегодняшним представлениям, функция нейротрофических и ростовых факторов заключается в модуляции биохимических реакций, осуществляемой на различных уровнях: активации рецепторов, синтеза медиаторов, экспрессии генов функционально значимых белков, организации морфологической целостности нейрональной сети, включении и/или выключении других регуляторных систем.

Эффекты нейротрофинов осуществляются при их взаимодействии с тирозинкиназными рецепторами. Принципиально то, что после соединения рецептора с лигандом запускается каскад сигнальных реакций, специфичных для этого контакта. Нейротрофины активируют тирозинкиназные рецепторы семейства Trk - trk-A, trk-B, trk-C.

Поскольку нейральные стволовые клетки способны дифференцироваться в различные типы - нейроны, олигодендроциты и глиальные клетки, вектор их трансформации, по-видимому, определяется специфическими путями сигнального контроля. Регуляция таких каскадных реакций зависит от ростовых и нейротрофических факторов. Выделяют основные соединения, которые играют роль в трансформации НСК: (1) нейротрофический фактор мозга (BDNF); (2) тромбоцитарный и Эпидермальный факторы роста (PDGF/EGF); (3) трансформирующий ростовой фактор (TGF-beta1) и костный морфогенный белок (BMP); (4) группа, включающая интерлейкин-6 (IL-6), ингибирующий фактор лейкемии (LIF), реснитчатый нейротрофический фактор (CNTF). Эти вещества рассматриваются как лиганды, которые после соединения с рецептором индуцируют специфические сигнальные процессы. В результате экспрессируется активность внутриклеточных мессенджеров и далее - селективная активация транскрипторных факторов, в соответствии с функциональным назначением сигнала.

Нейротрофический фактор мозга (BDNF) выполняет дивергентную функцию в контроле нейрогенеза в течение всей жизни индивидуума. В первичных исследованиях было установлено, что введение этого нейротрофина в субвентрикулярную зону стимулирует образование нейробластов и способствует последующей селекции клеток (*Kirschenbaum B, Goldman SA. Brain-derived neurotrophic factor promotes the survival of neurons arising from the adult rat forebrain subependymal zone. Proc Natl Acad Sci USA.1995;92:210-214*). Инфузия BDNF в боковые желудочки мозга взрослых крыс приводит к удвоению числа новых нейронов в ольфакторной зоне (*Zigova T, Pencea V, Wiegand SJ, Luskin MB. Intraventricular administration of BDNF increases the number of newly generated neurons in the adult olfactory bulb. Mol Cell*

Neurosci. 1998;11:234–245). Более того, как установили Pencea V и соавторы (2001), инфузия BDNF стимулировала новообразование нейронов в полосатом теле, таламусе и перегородке мозга (Pencea V, Bingaman KD, Wiegand SJ, Luskin MB. *Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. J. Neurosci. 2001;21:6706–6717*).

Опыты на генетически модифицированных мышах с пониженной экспрессией BDNF выявили значительное уменьшение числа новых клеток в ольфакторной зоне вследствие сниженной пролиферации прогениторов (Bath KG, Mandairon N, Jing D, et al. *Variant brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) alters adult olfactory bulb neurogenesis and spontaneous olfactory discrimination. J Neurosci. 2008; 28:2383–2393*). Из этих экспериментов можно было заключить, что BDNF играет важную роль в селекции и миграции нейробластов в процессе трансформации.

Одним из источников высвобождения BDNF, как регулятора нейрогенеза, оказываются эндотелиальные клетки, локализованные в структурах субвентрикулярной зоны. На нокаутных мышах с дефицитом нейротрофина в сосудистых клетках выявлены значительные нарушения миграции нейробластов в системе ростального пути (Snaryan M, Lemasson M, Brill MS, et al. *Vasculature guides migrating neuronal precursors in the adult mammalian forebrain via brain-derived neurotrophic factor signaling. J. Neurosci. 2009;29:4172–4188*). Этот пример иллюстрирует тесную морфологическую связь сосудистых элементов (наличие эндотелиальных клеток) и гранулярных структур нейрогенной ниши в контроле начальных этапов нейрогенеза.

Новообразованные нейроны изначально локализуются на внешней стороне гранулярного слоя зубчатой извилины гиппокампа, контактируя с клетками уже имеющейся нейрональной сети. Было установлено, что BDNF существенно влияет на организацию синаптического взаимодействия с учетом нейрогенеза: у животных с трансгенным дефицитом рецептора TrkB обнаруживается сниженное выживание новообразованных нейронов, и основная часть популяции погибает в процессе миграции. Интересно также, что, хотя нарушение сигнальной функции рецепторов TrkB казалось бы относится только к новообразованным нейронам, у таких животных отмечаются черты фобийного поведения (Bergami M, Rimondini R, Santi S, et al. *Deletion of TrkB in adult progenitors alters newborn neuron integration into hippocampal circuits and increases anxiety-like behavior. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105:15570–15575*).

В отношении другого нейротрофина – фактора роста нервов (NGF) – было установлено, что интравентрикулярное его введение стимулировало нейрогенез и пролиферацию клеток в субвентрикулярной зоне; аппликация NGF in vitro усиливала рост дендритов, связанный с нейрогенезом (Gascon E, Vutskits L, Zhang H, et al. *Sequential activation of p75 and TrkB is involved in dendritic development of subventricular zone-derived neuronal progenitors in vitro. Eur J Neurosci. 2005;21:69–80*). Еще один нейротрофин – NT-3 стимулировал пролиферацию в субвентрикулярной зоне перинатального мозга. Генетический дефицит NT-3 влияла на выживание и пролиферацию возникающих из субвентрикулярных региона олигодендроцитов (Kahn MA, Kumar S, Liebl D, et al. *Mice lacking NT-3, and its receptor TrkC, exhibit profound*

deficiencies in CNS glial cells. Glia. 1999;26:153–165). У мышей с нокаутным дефицитом NT-3 выявляется нарушение нейрогенеза, относящееся к дифференцировке предшественников в зубчатой извилине гиппокампа. У таких мышей констатируется также нарушение долговременной потенциации (LTP) и пространственной памяти. Таким образом, подтверждается роль нейрогенеза, как фактора поддержания процесса консолидации памяти и обучения у взрослых особей (*Shimazu K, Zhao M, Sakata K, et al. NT-3 facilitates hippocampal plasticity and learning and memory by regulating neurogenesis. Learn Mem. 2006; 13(3):307-15*).

См. Приложение «Долговременная потенциация».

Фактор роста фибробластов-2 (FGF-2), подобно нейротрофинам, стимулирует нейрогенез при интравентрикулярной аппликации. Было установлено наличие соответствующих рецепторов - FGFR-1 и FGFR-2 - в пролиферирующих предшественниках и эпендимальных клетках (*Tropepe V, Craig CG, Morshead CM, van der Kooy D. Transforming growth factor-alpha null and senescent mice show decreased neural progenitor cell proliferation in the forebrain subependyma. J Neurosci. 1997;17:7850–7859*). У мышей с нокаутом FGFR1 выявляются нарушения пролиферации прогениторных клеток. Электрофизиологические тесты подтвердили нарушение в структурах зубчатой извилины гиппокампа долговременной нейрональной потенциации (LTP), основного компонента консолидации памятного следа (*Zhao M, Li D, Shimazu K, et al. Fibroblast growth factor receptor-1 is required for long-term potentiation, memory consolidation, and neurogenesis. Biol Psychiatry. 2007;62:381–390*).

При исследовании роли эпидермального ростового фактора (EFG) установлено его влияние на дифференцировку олигодендроцитов и клеток глиал-подобного фенотипа. Супрессия рецепторов этого фактора снижала миграцию и дифференцировку олигодендроцитов из субвентрикулярной зоны (*Gonzalez-Perez O, Romero-Rodriguez R, Soriano-Navarro M, et al. Epidermal growth factor induces the progeny of subventricular zone Type B cells to migrate and differentiate into oligodendrocytes. Stem Cells. 2009;27:2032–2043*).

Ряд исследований посвящен эндотелиальному фактору роста сосудов (VEGF), также стимулирующему нейрогенез. Сверхэкспрессия VEGF, вызванная генетической модификацией, увеличивала пролиферацию клеток субвентрикулярной зоны с последующей миграцией в район ишемического повреждения (*Wang YQ, Jin K, Mao XO, et al. VEGF-overexpressing transgenic mice show enhanced post-ischemic neurogenesis and neuromigration. J Neurosci Res. 2007;85:740–747*).

Представленные данные дают мотив для рассмотрения нейрогенез-стимулирующей способности нейротрофинов и ростовых факторов с целью коррекции некоторых заболеваний мозга. В экспериментах было продемонстрировано, что внутривенная инфузия BDNF на фоне модельного инсульта сопровождалась стимуляцией нейрогенеза в субвентрикулярной зоне, при этом новообразованные клетки мигрировали в область стриатума, улучшая сенсомоторные реакции животного (*Schabitz WR, Steigleder T, Cooper-Kuhn CM, et al. Intravenous brain-derived*

neurotrophic factor enhances poststroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis. Stroke. 2007;38:2165–2172).

3. НЕЙРОГЕНЕЗ И ПОДДЕРЖКА АДАПТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ. ПЛАСТИЧНОСТЬ. КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ МОЗГА.

3.1. Нейропластичность

Исходной позицией для последующего изложения служит постулат о высокой ПЛАСТИЧНОСТИ нервной системы, связанной не только с реорганизацией межнейронных связей, но и с генерацией новых клеток мозга. (См. Приложение «Нейропластичность»). Применительно к функциям мозга пластичность рассматривается как способность нервных элементов к адаптивной перестройке под влиянием внешних воздействии, очаговых повреждений нервной ткани или под влиянием химических факторов. В условиях патологии нейропластичность обеспечивает компенсаторную (восстановительную) функцию мозга. Нейропластичность может проявляться как для отдельной клетки (потенциация и/или компенсация функции, защита от повреждения), так и на уровне интегративной работы мозга в целом (адаптация, доминанта, обучение). Структурные, физиологические и молекулярные компоненты пластичности включают изменения порога возбудимости потенциал-зависимых каналов, медиаторную сигнализацию, изменения афинности рецепторов, формирование новых синаптических структур, изменения конфигурации дендритов.

Результаты современных экспериментальных и клинических исследований позволяют выделить несколько уровней нейрональной пластичности: клеточный, синаптический и молекулярно-генетический (транскрипторный). В общем плане нейрональная пластичность рассматривается как интегративная программа, связующая соматическую, ментальную и социальную сферы жизнедеятельности. Дисфункция их, сопряженная с медиаторным дисбалансом, является одной из причин развития нейродеструктивных и психических расстройств (*Дамулин И.В. Основные механизмы нейропластичности и их клиническое значение. «Журнал неврологии и психиатрии им. Корсакова», 2009, № 4:4-8).*

Физиологическая перестройка, связанная с реорганизацией мозга, реализуется в пострецепторной системе «разводящих» сигнальных молекул и экспрессии генов ядерного аппарата нейрона. Селективная активация генов в ответ на стимулы внутренней и внешней среды обеспечивает индукцию многих процессов, из которых складывается тонкая настройка феномена нейропластичности. Многие из этих молекулярных событий оказываются сопряженными с формированием нейродеструктивных заболеваний и, соответственно, могут служить мишенями терапевтического воздействия.

Среди большого числа молекул, регуляторов нейрональной пластичности, важное место занимают нейротрофины и ростовые факторы. Отмечается их значение для конструкции нейрональной сети: от образования цитоскелета, новых синапсов, рецепторных образований до упорядочения синаптических взаимодействий. Нейротрофины и ростовые факторы участвуют в росте аксонов и дендритов, высвобождении нейротрансмиттеров, функционировании синапсов.

Существенна роль нейротрофинов и ростовых факторов для поддержания равновесия синаптических медиаторных процессов. BDNF контролирует баланс возбуждающих (глутамат) и тормозных (ГАМК) нейротрансмиттерных реакций. Нарушение этого соотношения, эксцессивный релизинг глутамата и развитие эксайтотоксичности оказывается одной из ведущих причин ишемической патологии мозга. В структурах гиппокампа медиаторные процессы, связанные с функцией возбуждающих NMDA и AMPA рецепторов, оказываются значимыми для синаптической устойчивости, реализуемой как "долговременная потенциация" (LTP). Совместно с LTD (долговременной депрессией) долговременная потенциация представляет собой двунаправленный механизм контроля синаптической пластичности. Эти процессы играют важную роль в реализации процессов памяти и обучения (Lu Y, Christian K, Lu B. *BDNF: a key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? Neurobiol Learn Mem.* 2008;89(3):312-23)

3.2. Нейрогенез и когнитивные функции мозга

Сегодня общепринято, что нейробиологические субстраты памяти связаны с управляемым контролем синаптической активности и ремоделированием нейронных сетей, которые перестраиваются во время обучения. С открытием физиологического феномена долговременной потенциации утвердилось положение, что синаптическая стабильность как форма нейропластичности является ключевой для поддержания когнитивных процессов. Последующие работы определили значение синаптогенеза, новых синаптических связей, реконструкции синапсов для этой функции. Исследование нейрогенеза, как процесса возникновения новых структур, интегрирующихся в нейрональную сеть, утверждает новые возможности формирования и хранения памятных следов в зрелом мозге. Однако, развивая эти позиции, можно говорить о роли синаптических механизмов в дезорганизации ментальных процессов при неврологических и психических заболеваниях. Деменциальные расстройства, пост-инсультные поражения, травмы мозга, депрессии и др. представляют собой патологические процессы, при которых разбалансировка синаптической координации занимает важное место.

Нивелирование давней сентенции о неизменной организации взрослого мозга и, по сути, бытовой концепции о том, что «нервные клетки не восстанавливаются», позволило внести новое содержание в представление о пластичности, что явилось своеобразной революцией в современной нейрофизиологии, нейропсихологии и нейрофармакологии.

Мозг представляет собой высоко организованную структуру, основная функция которой заключается в координации адаптивных реакций в ответ на различные внешние и внутренние факторы. Физическая активность, благоприятная среда, стресс, патологические инциденты, возрастные перемены и др. оказываются индукторами процессов, стимулирующих нейрогенез. Образование новых нейронов и поддержание синаптических взаимодействий рассматриваются в этом контексте как форма усиления адаптивной функции мозга.

При исследовании нейрогенеза в постнатальном мозге было установлено, что пребывание животного в обогащенной среде потенцирует ускоренное созревание гранул зубчатой извилины

гиппокампа с повышенной экспрессией маркера даблкортина и нейрональных маркеров NeuN, калбиндина и MAP2. На исходе второй недели постнатального нейрогенеза обнаруживалось увеличение плотности дендритных осей в поперечных структурах зубчатой извилины, постсинаптических мостков и содержания рецепторных белков, идентифицируемых как рецепторы глутамата и ГАМК (*Liu N, He S, Yu X. Early natural stimulation through environmental enrichment accelerates neuronal development in the mouse dentate gyrus. PLoS One. 2012; 7(1):e30803*).

Интеграция новых клеток в нейрональную сеть сопровождается изменением функциональных характеристик синапсов. Представлены морфологические доказательства конструирования синапсов из новообразованных гранулярных клеток, которые формируют контакты с интернейронами и способны высвобождать глутамат, в качестве основного нейротрансмиттера (*Toni N, Laplagne DA, Zhao C, et al. Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. Nat Neurosci. 2008; 11:901-7*).

Количественная оценка экспрессии белков и зрелых гранул выявляет ускоренное развитие синаптических контактов среди новообразованных нейронов. Электрофизиологические характеристики демонстрируют функциональную готовность этих синапсов уже через 6-10 дней постнатального формирования (*Cheyne JE, Grant L, Butler-Munro C, et al. Synaptic integration of newly generated neurons in rat dissociated hippocampal cultures. Mol Cell Neurosci. 2011;47(3):203-14*). Новообразующиеся нейроны обнаруживают особые электрофизиологические характеристики и также участвуют в специфической организации нейрональной пластичности. На генетической модели мышей, когда уничтожалась значительная часть структур зубчатой извилины гиппокампа, было отмечено нарушение синаптической нейротрансмиссии, снижение уровня долговременной электрической потенциации и нарушение пластичности. Эти процессы восстанавливались при стимулируемом нейрогенезе (*Massa F, Koehl M, Wiesner T, et al. Conditional reduction of adult neurogenesis impairs bidirectional hippocampal synaptic plasticity. Proc Natl Acad Sci USA. 2011;108(16):6644-9*).

Клиническая практика показывает, что гиппокамп оказывается особенно уязвимой зоной мозга к заболеваниям, связанным с ожирением, диабетом, гипертонзией, ишемическими расстройствами, травмой головного мозга, а также депрессивными и биполярными расстройствами. Пациенты с такими заболеваниями часто имеют выраженное снижение когнитивных функций, которые сочетаются с атрофией гиппокампа. Уменьшение объема гиппокампа, детектированное магниторезонансной томографией, служит признанным индикатором перехода от нормального процесса старения к умеренным когнитивным нарушениям и деменции. С другой стороны, гиппокамп является ключевой зоной нейрогенеза: вызываемая той или иной причиной атрофия гиппокампа ассоциируется с нивелированием нейрогенеза. Таким образом, в здоровом, возрастном и «больном» мозге неизменно связанной оказывается структурно-функциональная триада: гиппокамп - нейрогенез - когнитивная функция.

Накапливается материал, косвенно или непосредственно указывающий на значимость феномена нейрогенеза для процессов обучения и памяти, решения познавательных задач. Установлено также, что изменения в продуцировании новых нейронов приводят к ухудшениям памяти. На уникальном материале из образцов ткани гиппокампа, получаемых при хирургическом вмешательстве у больных эпилепсией, было установлено, что низкий уровень пролиферации и дифференцировки стволовых клеток коррелировал с нарушениями памяти. У пациентов с высокой пролиферативной потенцией нейральных стволовых клеток уровень когнитивной функции, тестируемой до операции, соответствовал норме (*Coras R, Siebzehnrubl FA, Pauli E, et al. Low proliferation capacities of adult hippocampal stem cells correlate with memory dysfunction in humans. Brain. 2010;133(11):3359-72*).

К тому можно добавить результаты экспериментальных работ. В опытах *in vitro* продемонстрирована связь между экспрессией нейрогенеза и эмоциональным (депрессивным) статусом организма (*Sahay A., Hen R. Hippocampal neurogenesis and depression. Novartis Found Symp. 2008;289:152-60*). Внутривенная инъекция культуры нейрональных прогениторов приводила к улучшению памяти и когнитивных признаков у крыс, подвергнутых ишемии мозга. При этом констатировалась экспрессия нейротрофического фактора BDNF (*Mochizuki N, Moriyama Y, Takagi N, et al. Intravenous injection of neural progenitor cells improves cerebral ischemia-induced learning dysfunction. Biol Pharm Bull. 2011;34(2):260-5*).

Предпринята попытка компьютерного моделирования нейрогенеза и сопряженных показателей обучения и памяти. Один из принципиальных выводов этих построений сводится к тому, что возникновение новых нейронов в структурах гиппокампа ассоциируется с кодированием новых паттернов памяти. Компьютерное исследование также демонстрирует, что нейроны, находящиеся на различных стадиях трансформации, неоднозначно влияют на реализацию процессов памяти и обучения. На стадии, предшествующей окончательному созреванию, новообразующиеся нейроны могут функционировать как интеграторы событий памятного следа, сопряженных во времени (*Aimone JB, Wiles J, Gage FH. Computational influence of adult neurogenesis on memory encoding. Neuron. 2009;61(2):187-202*).

Установлено, что вновь образующиеся нейроны на различных стадиях своего становления вносят неодинаковый вклад в поддержание когнитивных процессов. В частности, как показывают компьютерные расчеты, в период, предшествующий полному созреванию, стволовые клетки гиппокампа выполняют роль интеграторов «новой памяти», способных «кодировать события, происходящие в период, близкий во времени» (*Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? Nat Rev Neurosci. 2010;11(5):339-50*).

Уровень гиппокампального нейрогенеза стимулируется благоприятной средой обитания, при физической нагрузке, а также при хроническом применении антидепрессантов. То есть, теми воздействиями, которые потенцируют когнитивные процессы, обучение и память. Было установлено, что усиление нейрогенеза за счет стимулированной селекции (выживания)

прогениторов улучшает показатели исполнения специальных когнитивных тестов. Мыши со стимулированным нейрогенезом демонстрировали обычные характеристики распознавания объекта, пространственной ориентации, фобийного поведения, но имели лучшие показатели анализа контекстной ситуации. Для нейрогенеза, сочетающегося с произвольной физической нагрузкой, были заметны более выраженные черты поискового поведения. Подобные черты поведения могли наблюдаться также под влиянием анксиолитиков и антидепрессантов. По-видимому, дополнение физических воздействий (как стимуляторов нейрогенеза) способствует экспрессии сигнальных молекул (медиаторов, ростовых и нейротрофических факторов и др.), которые мобилизуют новые способы трансформации нейральных прогениторов. Конкретизировать эти влияния довольно сложно, однако авторы этой концепции переносят её смысл на обоснование терапевтической стратегии с использованием репаративного нейрогенеза (*Sahay A, Scobie KN, Hill AS, et al. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. Nature. 2011;472 (7344): 466-70.*

Установлено, что экспериментальное нарушение нейрогенеза изменяет памятные следы предыдущего периода. Такие результаты были получены в опытах с дозированным гамма-облучением или селективным токсином метилазометилэтанолом, Ультраструктурный анализ гистологических срезов зубчатой извилины гиппокампа свидетельствовал о нарушении стволовых ниш прогениторных клеток. Одновременно были констатированы затруднения в реализации реверсивной пространственной памяти и способности лабильно использовать навыки новой стратегии поведения (*Hernández-Rabaza V, Llorens-Martín M, Velázquez-Sánchez C, et al. Inhibition of adult hippocampal neurogenesis disrupts contextual learning but spares spatial working memory, long-term conditional rule retention and spatial reversal. Neuroscience. 2009;159(1):59-68.*

Нарушение экспрессии сигнальных молекул препятствует трансформации нейральных прогениторов и, соответственно, негативно влияет на когнитивные функции. У мышей с нокаутом митоген-активированной киназы ERK5 происходит нарушение гиппокампального нейрогенеза. Одновременно у таких животных обнаруживаются изменения форм памяти, включая реакций страха, вызываемых слабым электрошоком. ERK5-нокаутные мыши даже через три недели тренировки теста пассивного избегания неприятного воздействия не способны воспроизводить необходимые памятные навыки (*Pan YW, Chan GC, Kuo CT, et al. Inhibition of adult neurogenesis by inducible and targeted deletion of ERK5 mitogen-activated protein kinase specifically in adult neurogenic regions impairs contextual fear extinction and remote fear memory. J Neurosci. 2012; 32(19):6444-55.*

Рассмотрение постулированной выше связки: *гиппокамп > нейрогенез > когнитивная функция* - позволяет впервые представить особые свойства новообразующихся нейронов, важные для адаптивной организации взрослого мозга.

ПЕРВОЕ. Незрелые гранулярные клетки зубчатой извилины обнаруживают повышенную возбудимость и пластичность, что отличает их от более «статичных» клеток зрелого

гиппокампа. Был выделен критический период, когда новые нейроны демонстрируют амплитуду повышенной долговременной потенциации и сниженный порог чувствительности. Эти показатели пластичности новообразованных нейронов зависят от функции синаптических NMDA рецепторов. Характер такой стимулированной пластичности может служить в определенный временной период поддержанию стабильности нейрональных процессов в зрелом мозге (*Ge S, Yang CH, Hsu KS, et al. A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. Neuron. 2007;54(4):559-66*).

ВТОРОЕ. Неокончательно трансформировавшиеся нейроны соответствуют короткому временному периоду, который кодирует их свойства в данной обстановке. Определенная во времени трансформация предшественников оказывается механизмом, когда новые нейроны выполняют ключевую роль для процессов обучения и памяти, реализуемых структурами гиппокампа (*Kee N, Teixeira CM, Wang AH, Frankland PW. Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. Nature Neuroscience. 2007;10:355-362; Tashiro A, Makino H, Gage FH. Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. J Neurosci. 2007;27(12):3252-9*).

ТРЕТЬЕ. Процесс нейрогенеза является ключевой функцией зубчатой извилины гиппокампа, в которой концентрируется значительный потенциал адаптивных процессов взрослого мозга. В этой связи следует напомнить о концепции «нейрогенной ниши», морфологической и молекулярной среды обитания прогениторных клеток, которая оказывается колыбелью многоэтапного процесса нейрогенеза.

ЧЕТВЕРТОЕ. При рассмотрении проблемы экзогенной индукции нейрогенеза следует обратить внимание на изменения активности синаптических структур, обусловленные медиаторным дисбалансом. Был поставлен вопрос, могут ли параметры долговременной потенциации возбуждающих синапсов, как одного из важных компонентов синаптической пластичности, влиять на течение нейрогенеза? Индукция долговременной потенциации новых синапсов стимулирует пролиферацию нейрональных предшественников в зубчатой извилине и последующее долгосрочное сохранение большей части новообразованных клеток (*Bruel-Jungerman E, Davis S, Rampon C, Laroche S. Long-term potentiation enhances neurogenesis in the adult dentate gyrus. J Neurosci. 2006;26(22):5888-93*).

Структурные и функциональные изменения, происходящие в гиппокампе, такие как синаптическое ремоделирование и долговременное потенцирование, служат ключевыми механизмами памяти. Открытие *de novo* генеза нейронов во взрослом мозге явилось мостиком к механизмам обучения и памяти и, образно говоря, представили нового исполнителя, причастного к этим процессам. Новые нейроны необходимы для дифференцирования событий, основанных на их пространственных и временных компонентах. Функция, которая представляет уникальность явления памяти.

Адаптивная функция нейрогенеза, экспрессируемая трансформация новых нейронов, оказывается необходимой для сохранения или восстановления гомеостаза отдельных систем или организма в целом. И потому выявление «точек» нарушенной трансформации прогениторных клеток, то есть «репаративного резерва», инверсии адаптивной миссии нейрогенеза в целом оказываются значимыми в стратегии новых форм терапии.

3.3. Нейрогенез и возрастное старение

С возрастом связана дезинтеграция большинства процессов, что оказывается следствием постепенного ослабления активности химических и физиологических регуляторов. Эти процессы характерны и для депрессии нейрогенеза, когда этапная трансформация НСК демонстрирует «вялую» пролиферацию, усиление процессов уничтожения лишних клеток, сниженную интеграцию пронейронов в синаптическую сеть.

Большое число исследований доказательно свидетельствует о значении нейрогенеза в поддержании пластических функций в период постнатального развития. Как показывает клинический опыт, физиологическое старение не является одномерным процессом. Темпы и выраженность его течения – сугубо индивидуальны. Современная геронтология постулирует, что риски возникновения возрастных нарушений памяти оказываются предопределенными событиями раннего возраста. Эти фенотипические особенности могут развиваться во времени как следствие пережитых ранее позитивных или негативных событий, и они будут определять траекторию последующей жизни. Объективная истина состоит в том, что субъекты с исходно высоким уровнем нейрогенеза обладают более пластичным мозгом и, следовательно, могут обладать большей устойчивостью к развитию возрастных заболеваний. Таким образом, возрастная история нейрогенеза играет ключевую роль в уязвимости мозга при его старении.

Возрастные процессы в мозге сопровождаются ослаблением нейрогенеза, которое констатируется: (1) уменьшением числа нейрональных предшественников, (2) снижением их пролиферативной активности, (3) удлинением клеточного цикла трансформации, (4) нарушением пропорции выживших клеток к общему числу трансформирующихся нейробластов, (5) дифференцировкой клеток преимущественно в сторону глиального фенотипа. Эти процессы приводят к гибели новообразующихся клеток еще до того, как они дифференцируются в гранулярные нейроны или клетки других фенотипов.

Прролиферативная активность гиппокампальных НСК, как было показано на крысах в возрастном интервале от 2 месяцев до 2-х лет, снижается в 10 раз. Постапоптотическое выживание трансформирующихся клеток составляет, соответственно, 40 и 4 %%. Подобные данные были получены также в исследованиях на приматах и человеке (*Cuppini R, Bucherelli C, Ambrogini P, et al. Age-related naturally occurring depression of hippocampal neurogenesis does not affect trace fear conditioning. Hippocampus. 2006;16(2):141-8; Gould E, Reeves AJ, Fallah M, et al. Hippocampal neurogenesis in adult old world primates. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96:5263–5267*).

Конфокальная микроскопия срезов мозга мышей показала большие изменения цитоархитектуры субвентрикулярной зоны со снижением нейрогенеза и трансформации НСК. Детектируется значительное торможение пролиферативной активности, числа нейробластов и дифференцирующихся клеток. Соответственно, оказываются измененными морфологические паттерны нейрогенеза. Эти компоненты включают регрессию роста и ветвления дендритов, ремоделирования синаптических контактов. В то же время обнаружено увеличение числа астроцитов, располагающихся в эпендиме в субгранулярной зоне зубчатой извилины (Luo J, Daniels SB, Lenington JB, et al. *The aging neurogenic subventricular zone. Aging Cell. 2006;5(2):139-52*).

Важным элементом, ограничивающим нейрогенез в стареющем мозге, оказывается недостаточное влияние ростовых и нейротрофических факторов, активность которых (как и экспрессия тирозинкиназных рецепторов) существенно снижаются. Известно, что инсулиноподобный ростовой фактор (IGF-I) экспрессируется в ранний период постнатального развития, однако его уровень постепенно снижается в возрастном мозге. В среднем возрасте IGF-I стимулирует пролиферацию и нейрональную дифференцировку в гиппокампе, однако при старении как сам IGF-I, так и его рецептор подвергаются депрессии, совпадающей со снижением нейрогенеза (Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Bennett SA, et al. *Intracerebroventricular infusion of insulin-like growth factor-I ameliorates the age-related decline in hippocampal neurogenesis. Neuroscienc 2001;107, 603–613*). Интрацеребральная инфузия IGF-I стимулирует de novo темпы нейрогенеза в мозге старых крыс, увеличивая втрое число клеток за счет ускоренной пролиферации (Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Bennett SA, et al.. *Intracerebroventricular infusion of insulin-like growth factor-I ameliorates the age-related decline in hippocampal neurogenesis. Neuroscience. 2001;107:603–613*).

Микрососуды мозга являются важным компонентом «ниши» нейрогенеза: сосудистая стенка служит проводником дистантно действующих паракринных регуляторов (гормонов, ростовых факторов и др.). В субвентрикулярной зоне и в зубчатом ядре вновь образующие нейральные клетки группируются в тесной близости кровеносных сосудов, где отмечается высокая экспрессия сосудистого эндотелиального фактора (VEGF). Возрастные изменения в мозге характеризуются редукцией сети церебральных сосудов, а кроме того – понижением микроциркуляторной лабильности и уменьшенным синтезом VEGF (Shetty AK, Hattiangady B, Shetty GA. *Stem/Progenitor cell proliferation factors FGF-2, IGF-1, and VEGF exhibit early decline during the course of aging in the hippocampus: role of astrocytes. Glia 2005; 51, 173–186*). В зубчатом ядре в возрастном мозге снижение числа капилляров достигает 25% в сравнении со зрелыми животными. Редуцированный ангиогенез, сниженный церебральный кровоток и совпадающее с ними уменьшение уровня VEGF составляют «триаду» возрастного нейрогенеза. Было установлено, что со старением увеличивается дистанция между эндотелиальными и эндогенными стволовыми клетками (Drapeau E, Nora Abrous D. *Stem cell review series: role of neurogenesis in age-related memory disorders. Aging Cell. 2008;7(4): 569-89*). Это обстоятельство может, в свою очередь, снизить доступность транспортируемых с кровью регуляторных молекул

(Hattiangady B, Shetty AK. Aging does not alter the number or phenotype of putative stem/progenitor cells in the neurogenic region of the hippocampus. Neurobiol. Aging.2008; 29: 129–177).

В качестве одной из ведущих причин возрастного ослабления нейрогенеза предполагаются изменения в нейрогенной нише активности сигнальных трансдукторных и транскрипторных молекул. Хотя основные процессы нейрогенеза – пролиферация, выживание, дифференцировка и интеграция новых клеток - тесно взаимосвязаны, роль регуляторных молекул здесь совсем не одинакова. Функции сигнальных молекул, приуроченных к определенным этапам нейрогенеза, оказываются в возрастном мозге нарушенными, что выражается в их пониженной экспрессии или, напротив, гиперактивации.

Протеомные исследования профиля белков, включенных в структуры зубчатой извилины гиппокампа, показали, что среди нескольких сотен таких молекул отмечается связанное с возрастом увеличение глиального фибриллярного кислого белка, убиквитин карбоксигидролазы 1, глутатион S-трансферазы-омега и препроальбумина. В то же время содержание коллапсиновых белков (CRMP-4, -5), регуляторов аксонального роста, и микросомальной протеазы ER60 с возрастом снижается. Эти белки рассматриваются как регуляторные компоненты нейрогенеза и изменение их функций в возрастном мозге ассоциируется с пониженной пролиферативной активностью прогениторов (*McGinn MJ, Colello RJ, Sun D. Age-related proteomic changes in the subventricular zone and their association with neural stem/progenitor cell proliferation. J Neurosci Res. 2012 ;90(6):1159-68).*

Определенная роль в этих процессах принадлежит сигнальным молекулам CDK4/CyclinD1 и Bax - индукторов апоптоза. Акцентирование этих «точек» нарушенной регуляции нейрогенеза в гиппокампе рассматривается с позиций возможностей терапевтического влияния на функции возрастного мозга (*Artegiani B., Calegari F. Age-related cognitive decline: Can neural stem cells help us? Aging (Albany NY). 2012; 4(3): 176–186.*

Возрастные изменения, тормозящие нейрогенез, могут быть связаны также с нивелированием активности трансдукторных молекул, таких как протеинкиназа C, кальций/кальмодулин зависимая киназа (CaMK), тирозин-киназа. Изменения трансформации НСК в стареющем мозге транспонируются на ослабление контроля когнитивных функций этими сигнальными белками (*Govoni S, Amadio M, Battaini F, Pascale A. Senescence of the brain: focus on cognitive kinases. Curr Pharm Des. 2010;16(6):660-71).*

Новый аспект информации, связанный с нарушениями нейрогенеза в возрастном мозге, открывают исследования микроглии. Суммируя представленную в обзоре (*Gemma C, Bachstetter A, Bickford P. Neuron-Microglia Dialogue and Hippocampal Neurogenesis in the Aged Brain. Aging Dis. 2010; 1(3):232–244),* информацию, можно выделить следующие позиции.

(1) Микроглия, как компонент нейрального воспаления, содержит факторы, индуцирующие окислительный стресс, промотируя апоптотические процессы в нейрогенной нише.

(2) Активация микроглии ассоциируется с интерлейкином IL-1 β и фактором некроза опухоли TNF- α , причастным к инициации воспаления. Эти факторы также негативно влияют на нейрогенез возрастного мозга.

(3) Микроглия участвует в регуляции нейрогенеза за счет продуцирования нейротрофических регуляторов IGF-1 и BDNF, ведущих факторов процесса. Ослабление их активности влечет дисрегуляцию трансформации нейральных предшественников в гиппокампе.

В этом контексте интересно, казалось бы парадоксальное наблюдение, следующее из работ *K.Jakubs* и соавторов: нейральное воспаление контролирует интегрирование новообразующихся клеток в нейрональную сеть. Возбуждающая активность синапсов в новых клетках существенно увеличивается при стимулированном нейральном воспалении, что обеспечивает их большую функциональную пластичность (*Jakubs K, Bonde S, Iosif RE, et al. Inflammation regulates functional integration of neurons born in adult brain. J Neurosci. 2008;28(47):12477-88*). Таким образом, налицо еще один аспект регуляции возрастного мозга, поддерживающий его адаптационный потенциал.

Среди трансдукторных молекул, влияющих на нейрогенез, важная роль принадлежит нейроиммунному белку фракталину (CX3CL1). Нарушение сигнальной функции фракталина служит причиной ослабления нейрогенеза у возрастных организмов вследствие сверхэкспрессии провоспалительных цитокинов. При экзогенном введении фракталина отмечается значительная активация гиппокампального нейрогенеза. Использование этого вещества рассматривается в рамках концепции коррекции возрастной патологии, связанной с нейральным воспалением (*Neurobiol Aging. 2011;32(11):2030-44. Fractalkine and CX 3 CR1 regulate hippocampal neurogenesis in adult and aged rats. Bachstetter AD, Morganti JM, Jernberg J, et al.*).

Таким образом, исследование особенностей нейрогенеза у возрастных организмов свидетельствует, что нарушение циклов трансформирующихся клеток и снижение темпов образования новых нейронов являются следствием дезорганизации нейрохимических регуляторных процессов. Развивающиеся на этом фоне возрастные заболевания встречают сниженный адаптивный резерв организма, обусловленный, в частности, ослабленной функцией нейрогенеза.

В возрастном мозге нейрогенез может быть реактивирован соответствующими сигналами, исходящими из среды. Следовательно, связанное со старением ослабление нейрогенеза не является необратимым внутриклеточным процессом. Благоприятная среда, физическая стимуляция, сбалансированное питание и др. оказывают позитивное влияние на нейрогенез. И если корневой проблемой старения мозга является ограничение пластичности, реактивация нейрогенеза порождает надежды на улучшение адаптивных возможностей в новых условиях.

4. РОЛЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В ТРАНСФОРМАЦИИ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

4.1. Нейротрофины и трансдукторные процессы при нейрогенезе

Реализация любых эффектов нейротрофинов осуществляется при участии тирозинкиназных рецепторов с последующим включением трансдукторных реакций. Активация тирозинкиназных рецепторов стимулирует многовариантный каскад реакций, ведущих к образованию продуктов с последовательной экспрессией (фосфорилированием) новых белков. Результатом этих процессов оказывается релизинг Ca^{++} в цитоплазме нейрона, торможение апоптоза и стимулирование выживания клеток. Далее, результатом трансдукторных реакций является перенос сигнала в ядро нейрона и стимуляция транскрипторных процессов, реализуемых на уровне ДНК, осуществляющих синтез продуктов, необходимых для функции клеток.



На РИС. 4 представлена общая схема сигналов, включенных взаимодействием нейротрофинов с тирозинкиназными рецепторами (TrKs). Пути экспрессии отдельных трансдукторных молекул и каскадных путей демонстрируют большую вариабельность. Данная схема может иметь иные

комбинации в зависимости от начального сигнала (нейротрофины, ростовые факторы, гормоны, онкогены, нейротрансмиттеры и т.п.). Однако конечная суть этих молекулярных взаимодействий – в передаче сигнала на уровень транскрипторных посредников в ядро клетки с кодированием синтеза функционально значимых белков структурного или регуляторного назначения, как «инструментов» адаптивных процессов.

Активация тирозинкиназных рецепторов ведет к инициации молекулярных сигналов, нацеленных на экспрессию генов, кодирующих соответствующие функциональные белки. Активация TrKs ведет к активации PLC- γ (фосфолипаза C- γ), PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа) и PIP2 (фосфатидинозитол 3,5-бифосфат). Путь сигнальной регуляции, указанный в правой части рисунка, предусматривает после активации PLC- γ образование DAG (диацилглицерол) и IP3 (инозитолтрифосфат). Молекулы, рассматриваемые как вторичные посредники, стимулируют активность PKC- δ (протеинкиназа- δ) и увеличение внутриклеточного Ca^{2+} ; эти процессы являются ключевыми в активации кальмодулина (CaM), образования и дифференцировки нейронов.

Еще один путь включает активацию молекул семейства Ras (небольшие G-белки гуанитидилтрифосфатазы), далее белки Raf-киназы, промотирующие, в свою очередь, фосфорилирование и активацию системы MAPK/ERK (MAPKs – митоген-активированные белки и ERK1/2 – внеклеточные сигнал-регулируемые киназы). Эти фосфорилированные белки транслоцируются далее в клеточное ядро, где они участвуют в активации транскрипторных факторов CREB, NF- κ B, c-JUN (и др.), регулируя экспрессию генов, промотирующих формирование нейронов. Например, связывание нейротрофина NGF с рецептором TrKA в терминалях аксонов стимулирует рост последних как результат «прозвания» цепочки ERK1/2- CREB. На культуре симпатических нейронов было установлено, что торможение сигнального пути Ras-PI3K-Akt снижает выживание трансформирующихся клеток после апоптоза. MAPK-ERK1/2 участвуют в нейрогенезе, контролируя селекцию клеток путем индукции генов выживания и торможением проапоптических белков. Ras также подавляет апоптоз через экспрессию PI3K-Akt, которые блокируют проапоптические белки.

Другие сокращения на РИС. 4.

NF- κ B – нуклеарный каппа-фактор B. Белковый комплекс контролирующей транскрипцию ДНК. Обнаруживается в клетках всех типов и имеет широкий спектр активности.

JNKs (с-Jun N-концевые киназы). Группа митоген-активированных протеинкиназ, реагирующих на разнообразные стрессогенные факторы. Активируются также цитокинами и ростовыми полипептидами.

Akt (протеинкиназа B). Серин/треонин специфическая киназа, которая играет роль интегрирующего компонента в передаче сигналов роста и выживания клеток, контроле клеточного цикла, дифференцировки и др. Промотирует сигналы инсулина и VEGF в ангиогенезе.

PKC (протеинкиназа C). Серин/треонин-специфическая протеинкиназа, которая участвует в фосфорилировании (активации) многих белков. Регулирует пути сигнальной трансдукции, участвует в контроле клеточного цикла, роста и дифференцировки клеток.

Таким образом, регуляторная функция нейротрофинов в контроле различных этапов нейрогенеза осуществляется путем индукции сопряженных процессов. Такой принцип биохимических взаимодействий оказывается здесь универсальным для контроля внутриклеточных и межклеточных отношений. Нейротрофины и ростовые факторы оказываются ведущими регуляторами функций мозга, в первую очередь, за счет новообразованных «рабочих солдатиков» - нейронов, астроцитов, олигодендроцитов.

4.2. Транскрипторные белки и внутриклеточная сигнализация

Нейральные прогениторы в процессе трансформации проходят несколько стадий, прежде чем они превратятся в «зрелые» и фенотип-специфические клетки. Каждая стадия сопровождается активацией определенных регуляторных молекул, «инструктирующих» вступление в последующий этап. Число таких сигнальных молекул представляется, по современным воззрениям, необычайно большим. Используя технологию мультидименсионной идентификации белков, *L. Liao* и соавторы смогли представить количественные характеристики нескольких сотен веществ, которые экспрессируются в нейросомальных препаратах синапсов в процессе их созревания в культуре (*Liao L, Pilotte J, Xu T, et al. BDNF induces widespread changes in synaptic protein content and up-regulates components of the translation machinery: an analysis using high-throughput proteomics. J Proteome Res. 2007;6(3): 1059-71*). Эти белки делятся на несколько категорий, активирующих мРНК, процессы транскрипции и трансляции, образование синаптических везикул, ремоделирования структур.

В отличие от эмбрионального нейрогенеза, трансформация стволовых клеток во взрослом мозге протекает гораздо медленнее, проходя последовательные превращения пролиферации, миграции и созревания. «Взрослый» нейрогенез, являясь процессом гетерогенным, реализуется как во времени, так и в пространстве микросреды (стволовой ниши) гиппокампа. Представления сигнальных регуляторов эмбрионального и «взрослого» нейрогенеза могут совпадать во многих деталях, однако, учитывая экспрессию нейрогенеза в условиях физических и стрессорных нагрузок, ишемической или нейродегенеративной патологии мозга, возрастных изменений, спектр сигнальных молекул выглядит много более разнообразным.

Сведения об основных сигнальных молекулах, наиболее активно исследуемых в настоящее время, как факторов регуляции нейрогенеза, представлены в разделе «Приложение» (см. «Сигнальные молекулы, участвующие в нейрогенезе; Эпигенетические факторы»).

Notch. Сигнальный белок, который занимает ключевое место в системе транскрипторных факторов. *Notch* как рецептор активируется специальными лигандами, вследствие чего его

интраклеточный домен расщепляется пресенилином-1 и гамма-секретазой с транслокацией в ядро клетки.

Развитие мозга сопровождается специфической трансформацией прогениторов, и сигнальная роль Notch рассматривается как одна из основных программ этого процесса. Активация системы *Notch* ведет к увеличению популяции НСК и, напротив, инактивация фактора снижает ее. В субвентрикулярной зоне мозга дифференцировка прогениторов или её ингибирование зависит от, соответственно, высокого или низкого уровней активируемого Notch. Получаемый от цилиарного нейротрофина (CNTF) сигнал, экспрессирующий Notch, стимулирует образование астроцитов. При участии эпидермального ростового фактора (EGF) Notch запускает сигнальную цепочку трансформации нейральных прогениторов, в которую вовлечены также молекулы SHH и WNT, промотирующие экспрессию генов.

Активация системы *Notch* наблюдается на ранней стадии трансформации НСК зрелого мозга. Плейотропные функции *Notch* относятся к контролю синаптической пластичности зрелых нейронов и таких функций как долговременная потенция и долговременная депрессия (LTD).

Установлено, что развитие спорадической формы болезни Альцгеймера связано с повышенной экспрессией уровня Notch 1 в гиппокампе (*Berezovska O, Xia MQ, Hyman BT. Notch is expressed in adult brain, is coexpressed with presenilin-1, and is altered in Alzheimer disease. J Neuropathol Exp Neurol. 1998;57:738-745*). В экспериментальных исследованиях было выявлено, что церебральная ишемия активирует изоформу *Notch1* в субвентрикулярной зоне мозга. Внутрижелудочковая инфузия лиганда *Notch* совместно с фактором фибробластов (FGF-2) уменьшала апоптоз нейрональных клеток и способствовала нейрогенезу (*Leker RR, Soldner F, Velasco I, et al. Long-lasting regeneration after ischemia in the cerebral cortex. Stroke. 2007;38(1):153-61*). В условиях фокальной ишемии мозга *Notch* стимулирует экспансию прогениторов и дифференцировку новообразующихся клеток (*Wang L, Chopp M, Zhang RL, et al. The Notch pathway mediates expansion of a progenitor pool and neuronal differentiation in adult neural progenitor cells after stroke. Neuroscience. 2009;158(4):1356-1363*).

ЦИКЛИН-ЗАВИСИМАЯ КИНАЗА 5 (CDK). Cdk5 играет ключевую роль в развитии нервной системы за счет фосфорилирования белков, вовлеченных в формирование синаптической активности и созревания нейронов. Cdk5 причастна к контролю миграции новообразованных клеток в гранулярный слой и формированию дендритов. Имеются данные о том, что Cdk5 непосредственно участвует в активации тирозинкиназного рецептора BDNF, влияя далее на рост дендритов в гиппокампе (*Cheung ZH, Chin WH, Chen Y, et al. Cdk5 is involved in BDNF-stimulated dendritic growth in hippocampal neurons. PLoS Biol. 2007;5(4):e63*).

При участии Cdk5, было продемонстрировано улучшение тестов пространственной ориентации и обучения. Этот неизвестный ранее механизм подчеркивает роль Cdk5-сопряженной сигнальной системы в контроле синаптической пластичности и когнитивных процессов (*Hawasli AH, Benavides DR, Nguyen C, et al. Cyclin-dependent kinase 5 governs learning and synaptic plasticity via control of NMDAR degradation. Nat Neurosci. 2007;10(7):880-6*).

DISC1. Экспрессия транскрипторного белка DISC1 представлена во многих регионах мозга в период эмбриогенеза. В зрелом мозге она ограничена гранулами зубчатой извилины гиппокампа и интернейронами ольфакторной зоны. Нокаутный дефицит DISC1 в гиппокампе ведет к гипертрофии сомы клеток, ненормированному ветвлению дендритов и чрезмерной возбудимости новых синапсов. Внутривентрикулярное введение мемантина, антагониста NMDA рецепторов, препятствуя экспрессии DISC1, тормозит миграцию новообразованных нейронов (Namba T, Ming GL, Song H, et al. *NMDA receptor regulates migration of newly generated neurons in the adult hippocampus via Disrupted-In-Schizophrenia 1 (DISC1)*. *J Neurochem*. 2011;118(1):34-44).

Данные, полученные на клеточных культурах, мышах-мутантах и постмортальном материале, указывают на значение дефицита DISC1 для патогенеза шизофрении и других ментальных расстройств.

CREB (*Cyclic AMP-responsive element binding protein*) – является одним из ведущих транскрипторных факторов регуляции трансформации клеток и клеточной активности. Стимулами к активации (фосфорилированию) CREB служат гипоксия, окислительный стресс, ишемия. Нивелирование активности CREB стимулирует апоптоз в симпатических нейронах; в то же время сверхэкспрессия CREB предупреждает спровоцированную гибель клеток за счет антиапоптотического фактора bcl-2. Сигнальная активность CREB ассоциируется с выживанием и морфологической трансформацией нейрональных прогениторов в субвентрикулярной зоне мозга. При дефиците CREB (нокаутные животные) обнаруживается увеличенная гибель трансформирующихся нейробластов. Соответственно, имеет место ограниченная экспрессия других транскрипторных белков, которые соучаствуют в миграции нейронов по роstralному пути (Herold S, Jagasia R, Merz K. et al. *CREB signalling regulates early survival, neuronal gene expression and morphological development in adult subventricular zone neurogenesis*. *Mol Cell Neurosci*. 2011; 46(1):79-88).

CREB-зависимая экспрессия генов играет важную роль в организации синаптической пластичности и долговременной памяти. В опытах на мышах с нокаутом CREB выявлялся дефицит ассоциативной и распознавательной памяти (Chen G, Zou X, Watanabe H, et al. *CREB binding protein is required for both short-term and long-term memory formation*. *J Neurosci*. 2010;30(39):13066-77). Измененная экспрессия CREB и цитоскелет-ассоциированного гена (*Arc*) тормозила нейрогенез в гиппокампе и снижала когнитивные функции животного в условиях сенсомоторной депривации (Li F, Zhang YY, Jing XM, et al. *Memory impairment in early sensorimotor deprived rats is associated with suppressed hippocampal neurogenesis and altered CREB signaling*. *Behav Brain Res*. 2010;207(2):458-65). Таким образом, CREB оказывается в центре «стратегической» позиции, объединяющей функцию ген-промотирующего компонента, регуляции нейрогенеза на различных этапах контроля ассоциативной и распознавательной памяти, как важной адаптивной функции организма.

Изменение активности сигнальной системы CREB связывается с признаками депрессивного поведения. Экспериментально подтверждено, что, с одной стороны, при депрессии

констатируется снижение нейрогенеза, а с другой - длительное применение антидепрессантов стимулирует нейрогенез. Оба этих положения объединяет сигнальный белок CREB, экспрессия которого характерна как для нивелирования депрессии, так и потенцирования нейрогенеза.

МИКРО-РНК (miRNA) – эндогенно активируемые короткие молекулы РНК, которые регулируют экспрессию на посттрансляционном уровне. Связываясь с РНК, эти молекулы контролируют уровень синтезируемых белков, ответственных за реализацию многих процессов в организме – от эмбрионального развития до функций головного мозга в норме и при патологии. Считается, что более 1100 единиц микро-РНК насчитывается в клетках человека, которые составляют многофакторную регуляторную сеть, участвующую в экспрессии до двух третей всех генов. Специфические функции микроРНК охватывают огромный спектр белок-белковых и белок-РНК взаимодействий в ядре и цитоплазме клетки (*Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. Nat Rev Genet. 2010; 11:597–610*). При участии микро-РНК происходит трансформация нейральных стволовых клеток, их пролиферации, дифференцировка и созревание.

Субклеточная локализация и расположение в зрелых нейронах указывает на значение микроРНК для комплекса процессов: синаптической пластичности, адаптивных реакций на стресс, обучения, памяти. Количество микро-РНК (miR-34) меняется с возрастом и коррелирует с изменениями в мозге; при блокаде miR-34 активировались гены ускоренного старения. У мышей с нокаутом микро-РНК-124-1 выживаемость нейронов существенно снижалась (*См. Olde Loohuis NFM, Kos A, Martens GJM. et al. MicroRNA networks direct neuronal development and plasticity. Cell Mol Life Sci. 2012; 69(1): 89–102; Sanuki R., Onishi A., Koike C. et al. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression. Nat. Neurosci. 2011;14, 1125–1134*).

Новые данные определяют значение инверсий микро-РНК в патогенезе ряда заболеваний. В этом списке - хорея Гентингтона, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, синдром Ретта, шизофрения, прионовая патология, с указанием конкретных клеточно-молекулярных причин дисрегуляции и отделов мозга, где эти события исходно возникают. Даже небольшие изменения в микро-РНК оказывают серьезное влияние на работу головного мозга и могут служить причиной нейродегенеративных и аффективных расстройств (*Serafini G, Pompili M, Innamorati M, et al. The role of microRNAs in synaptic plasticity, major affective disorders and suicidal behavior. Neurosci Res. 2012;73(3):179-90*).

У крыс, подверженных церебральной ишемии, снижается экспрессия специфической для нейронов микро-РНК-124а в прогениторных клетках. Этот эффект сочетается также с активацией сигнала фактора Notch. Трансфекция нейральных прогениторных клеток с микро-РНК-124а промотирует дифференцировку и увеличивает число нейробластов (*Liu XS, Chopp M, Zhang RL, et al. MicroRNA profiling in subventricular zone after stroke: MiR-124a regulates proliferation of neural progenitor cells through Notch signaling pathway. PLoS One. 2011;6(8):e23461*.)

Эти данные позволили считать микро-РНК своеобразным «менеджером» нейрогенеза, опосредующим процессы транскрипторного синтеза белков, необходимых для реализации огромного спектра функций мозга (Papagiannakopoulos T, Kosik KS. *MicroRNA-124: micromanager of neurogenesis. Cell Stem Cell. 2009 8;4(5):375-6.*

4.3. Уровни молекулярной регуляции адаптивных функций мозга

Приведенные сведения о системах сигнальных регуляторных процессов создают впечатление огромной сложности и ... несистемности. Как если бы партитуры симфонического оркестра были выложены на одном пюпитре. Современная научная литература, где аналитические обзоры занимают заметное место, представляет избранные попытки упорядочения многообразной информации. Несмотря на определенную полезность этих построений, чаще они оказываются уделом некоторых фантазий, и тогда, в конечном счете, понять, почему «их» (различных видов сигнальных молекул) так много, и как они взаимодействуют в определенных обстоятельствах многоэтапного процесса нейрогенеза, представляется невозможным. На поверку, однако, остается исходный, почти философский подход, выработанный эволюцией: сложный физиологический процесс должен быть обеспечен не менее сложной системой молекулярных посредников, выстроенной в многоуровневые связи. Как иллюстрация позитивистского взгляда английского философа XX века Тулина Эделстона: *«Я еще не видел такой проблемы, какой бы сложной она ни была, которая при верном взгляде на нее не становилась бы еще более сложной».* Дополнением к этой сентенции звучит соображение процитированного ранее Френсиса Крика: *«...эти открытия касаются феноменов, возникших на ранней стадии эволюции животных. Несколько отрезвляет то обстоятельство, что в молекулярной биологии основные прорывы тоже были связаны с механизмами, возникшими уже очень давно. Часто сложные природные явления основаны на простых процессах, но эволюция обычно украшала их всякими видоизменениями и добавлениями в стиле барокко. Разглядеть скрытую под ними простоту, которая в большинстве случаев появлялась достаточно рано, часто бывает чрезвычайно трудно»* («Мозг. Мысли о мозге». Мир. М.1984).

Исходя из выше приведенного анализа можно попытаться суммировать некоторые позиции.

(1) Экстраклеточная сигнализация, на уровне рецепторов нейротрансмиттеров (NMDA, GABA) и нейротрофических и ростовых факторов (TrKs, EGF-R). Вероятно, здесь же, на экстраклеточном уровне, включается действие таких «универсальных» молекул как Notch, Wnt, гамма-секретаза.

(2) Инициация активности трансдукторных молекул, систем фосфорилированных белков (PLC γ , PKC, PI3K/JNK, MAPK/ERK и др.) промотирующих сигналы пролиферации, торможения или индукции апоптоза (то-есть, селекции прогенеторов), передачи сигнала в клеточной ядро на транскрипционный уровень.

(3) На транскрипционном уровне – экспрессия таких молекул как CREB, CDK, DISC1, необходимых для синтеза продуктов структурного, энергетического, регуляторного

обеспечения функций. В конечном виде эти процессы выражаются в образовании новых клеток (нейрогенез), контроле клеточного цикла, отборе (выживании) клеток, формировании нейрональных сетей и синапсов, поддержании пластичности.

В предыдущих разделах были представлены основные этапы нейрогенеза и описаны группы сигнальных молекул. Нейрогенез, этапно развивающийся в субгранулярной зоне гиппокампа по плану:

- *Нейральная стволовая клетка >*
- *Транзиторный прогенитор >*
- *Нейробласт >*
- *Мигрирующий пронейрон >*
- *Недифференцированный нейрон >*
- *Зрелый нейрон >*
- *Интегрированный нейрон*

- находится под постоянным контролем сигнальных молекул.

Исходным в понимании «механики» нейрогенеза взрослого мозга оказывается представление о нейрогенной (стволовой) нише и о её микроокружения. Именно здесь осуществляется работа внутринаправленной сигнализации, этапно сопутствующей клеточной трансформации. Внутренние детерминанты, связанные с типическим статусом клетки, воспринимают сигналы внешнего микроокружения, трансформируя их в сеть сигналов, работающих в нише. Эти факторы (внеклеточные сигналы роста, трансформации и межклеточных контактов) регулируют эмбриональную и взрослую биологию стволовой клетки. Они также регулируют адаптивное поведение клеток в ответ на физиологические и патологические стимулы.

Ниши НСК описаны во многих областях мозга, включая субвентрикулярную зону гиппокампа, кору головного мозга, обонятельную луковицу, сетчатку глаза, спинной мозг и мягкие мозговые оболочки. Согласно воззрениям *I. Decimo* и соавторов ниша может существовать как индивидуальная единица и\или как структурная сеть, особенности которой проявляются репертуаром реакций на физиологическую, фармакологическую и патологическую стимуляцию. Центром такой «нишевой сети», вероятно, следует считать субвентрикулярную и сугранулярную зону зубчатой извилины гиппокампа, которые можно рассматривать как «резервуар» собственных стволовых клеток мозга (*Decimo I, Bifari F, Krampera M, Fumagalli G. Neural stem cell niches in health and diseases. Curr Pharm Des. 2012;18(13):1755-83*). Гипотеза «сетевой ниши» обосновывается специфичностью внешних и внутренних сигналов (экспрессия сигнальных молекул), выстраивающих программу поведения нейральных стволовых клеток на каждом этапе трансформации.

Однако на уровне этих знаний возникают следующие вопросы: как эти молекулы экспрессируются «в нужный момент и в нужном месте»? Кто выстраивает пластично организованные взаимодействия? Как заключается обратная связь, сигнализирующая о результате и переходе процесса на следующий уровень? Определить точную картину не

представляется возможным, поскольку, во-первых, эта информация складывается из разнородных экспериментов, комбинаций опытов, выполненных *in vitro* и *in vivo*, а, во-вторых, динамичная картина нейрогенеза, выполняемая «по капризу» многих обстоятельств, оказывается столь вариабельной, что установить точные правила также затруднительно.

Тем не менее, исходя из практической сущности, сложная картина сигнальных регуляторных молекул позволяет вычлнить звенья и мишени, через которые можно было бы влиять на ход нейрогенеза в нужном направлении. Обоснованием принципиально нового подхода оказывается информация о том, что некоторые лекарства могут усиливать и ускорять нейрогенез, и это обстоятельство может быть использовано в качестве новой стратегии терапии.

В последующих разделах будет суммирована информация об особенностях нейрогенеза, как адаптивной функции мозга, в условиях нормальной жизнедеятельности, при выполнении функциональных задач, адаптации к меняющимся условиям среды, а также при патологии различного происхождения и определена роль систем сигнальных процессов в этих условиях.

4.4. Эпигенетическая регуляция как конечная стадия организации пластичности мозга

Сложная картина физиологических процессов, происходящих в мозге, требует столь же сложного биохимического регуляторного обеспечения. Помимо упоминавшихся нейромедиаторов, нейротрофинов, ростовых факторов, трансдукторных сигнальных молекул, огромную роль играют компоненты эпигенетического контроля. Эпигенетические механизмы оказываются регулирующими посредниками раздражителей внешнего мира и внутреннего состояния организма в соответствии с его функциональным статусом и уровнем адаптивных потребностей. Эти механизмы подразумевают интрануклеарные процессы, которые, не изменяя геномной последовательности, влияют на ДНК и обуславливают стойкие биологические эффекты. Процессы, которые могут влиять на химические радикалы структуры ДНК, такие как метилирование ДНК, модификация гистонов, хроматина и транскрипционной петли обратной связи, представляют основные эпигенетические механизмы. Эпигенетические механизмы интегрируют разновариантные сигналы внутриклеточных трансдукторных каскадов, переводя сигнал на уровень считывания кодов ДНК.

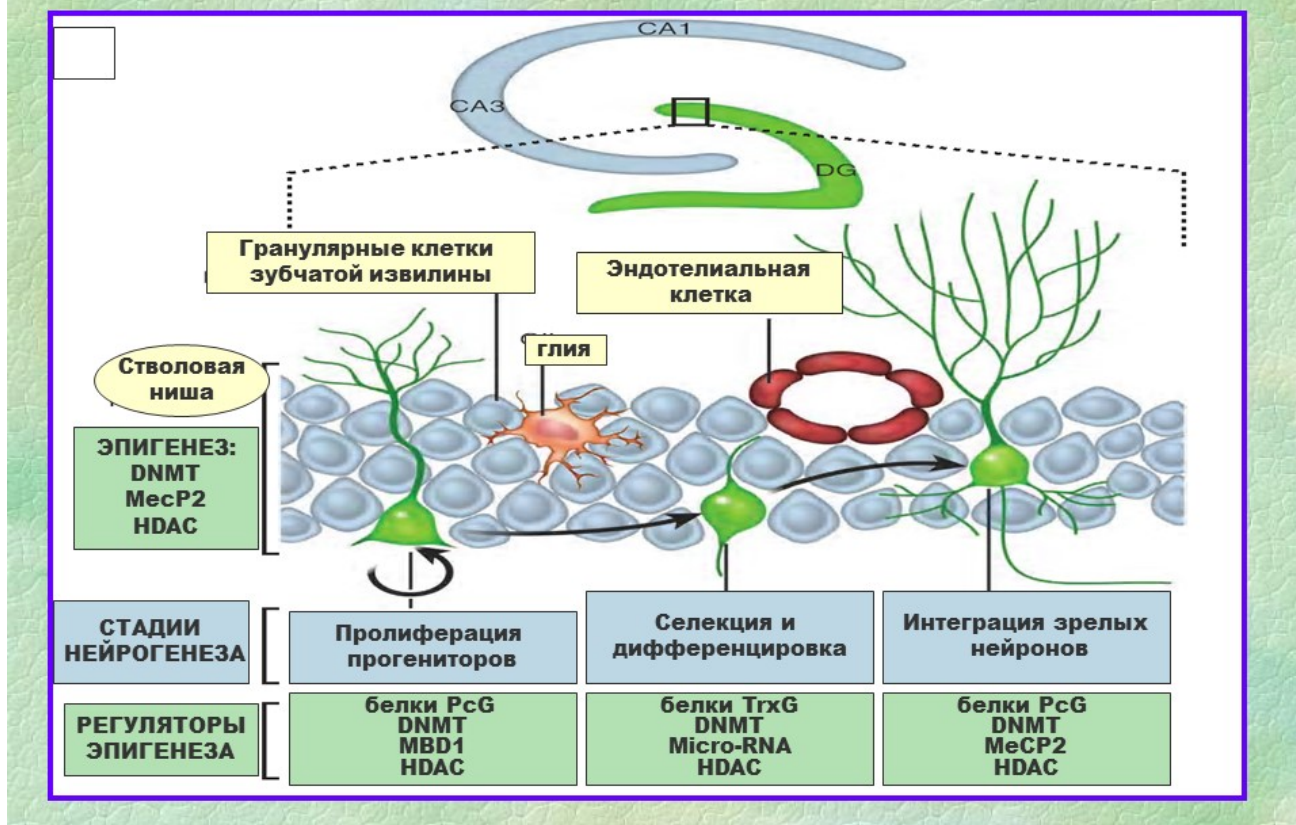
Выявлены эпигенетические регуляторы - деацетилаза гистонов (HDACs), ацетилтрансфераза гистонов (HATs), метилтрансфераза ДНК (HMTs), функциональные белки-антагонисты поликомб (PcG) и триторакс (TrxG) и др., которые связаны с тонкой регуляцией пролиферации, дифференцировки и становления новых нейральных структур. Эффекты этих и других молекул подтверждены на всех последовательных этапах трансформации нейральных прогениторов, вплоть до интеграции новых нейронов (*A.Mateus-Pinheiro, L.Pinto, N.Sousa. Epigenetic*

(de)regulation of adult hippocampal neurogenesis: implications for depression. *Clin Epigenetics*. 2011; 3(1):5). (См. Приложение «Эпигенетика и эпигенетические механизмы»).

Один из факторов эпигенетического контроля – ранее упоминавшийся сигнальный белок Disc1, изначально исследованный как фактор генетического контроля шизофрении (*DISC1 - Disrupted in Schizophrenia 1*, «Нарушенный при шизофрении») — белок, кодируемый одноимённым геном. Установлено участие Disc1 в нейрогенезе взрослого мозга за счет взаимодействия с сигнальной системой GSK3β/β-катетин. Интрига этих комбинаций молекулярных построений усиливается еще и тем, что сигнальный путь GSK3β/β-catenin считается общей мишенью многих нервно-психических расстройств (Wada A. *Lithium and neuropsychiatric therapeutics: neuroplasticity via glycogen synthase kinase-3beta, beta-catenin, and neurotrophin cascades. J Pharmacol Sci*. 2009;110:14–28); Duan X, Chang JH, Ge S, et al. *Disrupted-In-Schizophrenia 1 regulates integration of newly generated neurons in the adult brain. Cell*. 2007;130:1146–58; Mao Y, Ge X, Frank CL et al. *Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling. Cell*. 2009;136:1017–31).

РИС. 5. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ «ХОРЕОГРАФИЯ» НЕЙРОГЕНЕЗА

(Ma DK, et al./ *Nature neurosci*. 2010. модифицировано)



Процесс нейрогенеза управляется обширной программой, включающей разнообразные эпигенетические механизмы. Ключевые этапы трансформации нейральных прогениторов и формирования новых структур, происходящие в стволовой нише, сопровождаются активацией эпигенетических посредников. Некоторые эпигенетические факторы промотируют

пролиферацию и выживание пронеурональных структур и таким образом могут содействовать самообновлению нервных клеток. Как впервые отметили *R.Holiday and K.Waddington*, кстати, авторы термина «эпигенетика», «трансформация клеток в процессе развития существенно зависит от эпигенетических изменений временного и пространственного контроля активности генов» (См.: *Holliday R. Epigenetics: a historical overview. Epigenetics. 2006;1(2):76-80*).

Эпигенетические механизмы, по-видимому, играют исключительную роль, влияя на «молекулярное содержание» нейрогенной ниши, переводя сигналы внеклеточного окружения в адаптивные изменения нервных клеток взрослого мозга. Таким образом, внешние и внутренние эпигенетические механизмы помогают поддерживать функционально необходимый уровень нейрогенеза в течение всей активной жизни индивидуума. Сложный рисунок меняющихся комбинаций сигнальных молекул напоминает при некотором допущении фантазии подвижные картинки, что позволило *D.K.Ma* и соавторам говорить о «хореографии» эпигенеза применительно к пластическому разнообразию согласованных функций (*Ma DK, Marchetto MC, Guo JU et al./ Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. Nature neuroscience. 2010;13(11):1338-44*). (РИС. 5).

Благодаря информации об эпигенетических механизмах, лишь в последние годы становится понятной молекулярная регуляция поведенческих и эмоциональных актов взрослого мозга. Эпигенетические модификации влияют на функциональные состояния гиппокампа и связаны с возникновением нервно-психических расстройств, включая депрессию и шизофрению (См.: *Hsieh J, Eisch AJ. Epigenetics, hippocampal neurogenesis, and neuropsychiatric disorders: unraveling the genome to understand the mind. Neurobiol Dis. 2010;39(1):73-84*).

Многообразие форм регуляторного участия в контроле нейрогенеза иллюстрирует таблица I. В ней представлен весь спектр сигнальных молекул – медиаторов, полипептидов, трансдукторных и транскрипторных белков, эпигенетических факторов.

ТАБЛ. I. СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ОПРЕДЕЛЕННЫЕ ЭТАПЫ НЕЙРОГЕНЕЗА В ЗРЕЛОМ МОЗГЕ (по *Y. Mu, et al/Curr Opin Neurobiol. 2010*; модифицировано).

ЭТАПЫ НЕЙРОГЕНЕЗА. СИГНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ	ВЛИЯНИЕ НА ТРАНСФОРМАЦИЮ ПРОНЕЙРОНОВ
Пролиферация	
<i>Трансдукторные факторы</i>	
Shh	Увеличение пролиферации нейральных прогениторов
Sox2	Увеличение пролиферации нейральных прогениторов
Wnt	Увеличение пролиферации нейральных прогениторов
Дифференцировка	
<i>Транскрипторные факторы</i>	
Ascl1	Трансформация клеток ГАМК- и глутаматергического фенотипа. Стимуляция образование олигодендроцитов.

Neurog2	Трансформация нейронов глутаматергического фенотипа
<i>Эпигенетические факторы</i>	
Gadd45b	Ветвление дендритов
MBD1	Нейрональная дифференцировка
MeCP2	Созревание нейронов
Интеграция	
<i>Экзогенные факторы</i>	
Нейротрофины и медиаторы	
BDNF	Выживание нейронов и ветвление дендритов
FGF-2	Поддержка нейрональной пластичности
GABA	Ветвление дендритов и образование синапсов
Glutamate	Выживание клеток; синаптическая пластичность
NT-3	Поддержка синаптической пластичности
BDNF	Выживание нейронов и ветвление дендритов
<i>Эндогенные факторы</i>	
Трансдукторные белки	
Cdk	Выживание про-нейронов и ветвление дендритов
CREB	Увеличение выживания про-нейронов и ветвления дендритов
DISC1	Отрицательный контроль синаптической интеграции
NeuroDI	Созревание и выживание про-нейронов
Cdk	Выживание про-нейронов и ветвление дендритов
CREB	Увеличение выживания про-нейронов и ветвления дендритов

Речь идет о своеобразной полифонии регуляторных процессов, из которых, в конечном счете, складывается функциональная гармония мозга. Дело в том, что приведенные сигнальные молекулы участвуют в регуляции не только нейрогенеза. Их роль в каком-то смысле универсальна. Они и есть те самые ноты партитуры, которые играют симфонию. С другой стороны, эти конкретно обрисованные молекулы могут служить не только для толкования регулируемого процесса, но также МИШЕНЬЮ влияния на этот процесс. Таким образом, спектр возможностей для разработки новых средств терапии значительно увеличивается. Сущность нейральной патологии – будь то ишемические поражения нервной системы, или травмы мозга, или нейродегенеративные расстройства, типа болезни Альцгеймера, Паркинсона (и др.), или психосоматические заболевания – проявляется столь же сложной клинической симптоматикой, и её причины связаны с дизрегуляцией различного рода сигнальных факторов, включая эпигенетические молекулы. В ряде публикаций последнего периода «нащупываются» пути к пониманию роли эпигенетических факторов в когнитивных процессах (обучения и памяти) и, соответственно, патогенеза психоневрологических расстройств, типа депрессии, шизофрении, деменции, аутизма и др. (Mikaelsson MA, Miller CA. *The path to epigenetic treatment of memory disorders. Neurobiol Learn Mem.* 2011;96(1):13-8; Day JJ, Sweatt JD. *Epigenetic mechanisms in cognition. Neuron.* 2011;70(5):813-29). Таким образом, благодаря информации о множестве этих регуляторов и их роли в конкретном исполнении, у клинициста появляется простор терапевтических возможностей воздействия на болезнь.

Многочисленные данные показывают, что существует динамическая «игра» между инициирующим эффектом экстраклеточных факторов (нейротрофины, цитокины, гормоны, факторы стресса, индукторы внешней среды и т.д.) и внутриклеточной программой, которая включает компоненты эпигенетических модификаций. Сюда относится экспрессия эпигенетических механизмов, включающих метилирование ДНК, модификации гистонов, экспрессия микро-РНК. Нарушения баланса в системе эпигенетической «сети» становятся причиной серьезных заболеваний, от онкологических до психоневрологических проявлений. На этом пути ставится задача, с одной стороны, разработки диагностических мишеней, а с другой – идентификации средств «эпигенетической терапии», включающих ингибиторы, которые могут контролировать ферменты эпигенетических модификаций.

Обобщая роль эпигенетических факторов в отношении функций мозга, можно считать, что они выполняют посредническую миссию в организации нейрогенеза, синаптической пластичности, поведенческих, эмоциональных и когнитивных процессов. Таким образом, речь идет о едином функциональном полотне, когда сигналы внешнего мира посредством внутриклеточных трансдукторных мессенджеров и эпигенетических компонентов превращаются в акты физиологической реализации. Конечным этапом оказываются процессы, организованные как поведенческие, когнитивные и эмоциональные акты жизнедеятельности. По-видимому, на этом уровне, на исходе первой декады XXI века, просматривается контекст некогда сформулированной задачки для фантастов: *«...расшифровать, как отдельные нейроны (нервные клетки мозга) с помощью их коллективного взаимодействия порождают человеческий интеллект».*

5. НЕЙРОГЕНЕЗ КАК АДАПТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ НЕЙРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Нейрогенез, то-есть, последовательная трансформация стволовых клеток мозга, проходит регулируемые стадии, в результате чего в структуру взрослого мозга интегрируются новые нейроны, астроциты и олигодендроциты. Установлено, что новые клетки обнаруживаются в местах повреждения мозга, будучи «доставленными» из субвентрикулярной или субгранулярной зон мозга. Их функция способствует усилению адаптивных возможностей мозга в меняющихся условиях внешней и внутренней среды организма. В спектр этих влияний входят среди прочих изменения, связанные с болезнью, когда потребность в адаптационной поддержке гомеостаза существенно возрастает.

В ТАБЛИЦЕ II приведены суммированные данные, демонстрирующие изменения нейрогенеза при различных формах патологии, а также в стареющем мозге. Как отмечалось ранее, большинство результатов, связанных с изучением нейрогенеза, было получено в экспериментальных исследованиях; настоящая таблица приводит сравнение данных, получаемых на животных (грызунах) и человеке. Результаты свидетельствуют, что при

инсульте и психических заболеваниях заметна стимуляция нейрогенеза, тогда как при нейродегенеративных заболеваниях констатируется депрессия этого процесса. Повидимому, в первом случае стимуляция образования новых клеток имеет адаптивное значение для компенсации пораженных структур. Что касается болезней Альцгеймера и Паркинсона, их патогенез связан с формированием сложных молекулярных дезорганизаций - образования различных форм токсических амилоидов или нарушением дофаминовой медиации, которые развиваются в течение длительного времени. Поэтому депрессия нейрогенеза скорее отражает здесь молекулярные девиации, характерные для этих заболеваний.

ТАБЛ. II. СУММИРОВАННЫЕ ДАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОГЕНЕЗА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ У ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

(по: Sierra A, Encinas JM, Maletic-Savatic M.// *Front Neurosci.* 2011;5:47 (модифицировано, дополнено).

ПАТОЛОГИЯ	ЗОНА МОЗГА	ЖИВОТНЫЕ	ЧЕЛОВЕК
<i>ИНСУЛЬТ</i>	Субвентрику-лярная зона	Стимуляция нейрогенеза; активная пролиферация	Увеличенная пролиферация прогениторов и нейробла-стов
	гиппокамп	Стимуляция нейрогенеза; активная пролиферация	Атипичная дифференцировка клеток.
	Кора мозга	Стимуляция нейрогенеза Увеличенная пролиферация	Увеличенная пролиферация нейробластов. Миграция в зону поражения.
<i>БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА</i>	Субвентрику-лярная зона	.Сниженная пролиферация.	Появление новых нейронов в гиппокампе. Увеличенная пролиферация в субграну-лярной зоне.
	гиппокамп	Снижение дифференцировки и выживания клеток	Нет изменений пролиферации; увеличение числа нейроластов
<i>БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА</i>	Субвентрику-лярная зона	Сниженная пролиферация; депрессия нейрогенеза в ольфакторной зоне	Снижение пролиферации; общее снижение нейрогенеза Увеличение нейрогенеза и дофаминовых нейронов
	гиппокамп	Сниженная пролиферация НСК	Уменьшение нейральных прогениторов
	Черная субстанция	Стимуляция нейрогенеза	Отсутствие пролиферации пронейронов
<i>БОЛЕЗНЬ ГЕТТИНГТОНА</i>	Субвентрику-лярная зона	Неизменная или увеличенная пролиферация и миграция в стриатум	Увеличенная пролиферация; увеличение числа прогени-торов и нейробластов
<i>ЭПИЛЕПСИЯ</i>	гиппокамп	Резко увеличенный нейрогенез	Увеличенная или неизменная пролиферация НСК
	Аберрантный нейрогенез	Снижение или увеличение нейробластов	Аберрантный нейрогенез
<i>ДЕПРЕССИЯ</i>	гиппокамп	Антидепрессанты стимулируют нейрогенез	Увеличения нейральных прогениторов при лечении антидепрессантами
<i>СТАРЕНИЕ</i>	гиппокамп	Снижение числа пролиферирующих клеток; увеличение астроцитов; антидепрессанты НЕ стимулируют нейрогенез.	Уменьшение объема гиппо-кампа; антидепрессанты НЕ стимулируют нейрогенез

Добавленные в этот список сведения по нейрогенезу возрастных организмов отражают результаты магниторезонансной томографии, свидетельствуют об уменьшении объема гиппокампа и снижения общего нейрогенеза. Следует также отметить, что у возрастных индивидуумов антидепрессантная терапия не стимулирует нейрогенез, как это наблюдается у пациентов с депрессией среднего возраста (*Couillard-Despres S, Wuertinger C, Kandasamy M, et al. Ageing abolishes the effects of fluoxetine on neurogenesis. Mol Psychiatry 2009; 14: 856–864; Lucassen PJ, Stumpel MW, Wang Q, Aronica E. Decreased numbers of progenitor cells but no response to antidepressant drugs in the hippocampus of elderly depressed patients. Neuropharmacology 2010;58:940–949*).

В последующих разделах приводятся данные по изменениям нейрогенеза при различных формах нейральных и психических заболеваний. Этот материал анализирует возможности стимулирования нейрогенеза как адаптивной функции в условиях патологии. Учитывая разделы, где подробно описывается молекулярная палитра регуляции нейрогенеза, эта информация ориентирована на выявление биохимических мишеней терапии в связи с особенностями конкретного заболевания.

5.1. Ишемическая патология и нейрогенез

Нарушение церебрального кровотока снижает обеспечение клеток мозга кислородом. Вследствие аноксической деполяризации развивается быстрая потеря мембранного потенциала с последующей дисрегуляцией ионных потоков и нарушением функции ионотропных рецепторов глутамата и АТФ. Ишемический инсульт провоцирует образование активных форм кислорода, которые, с одной стороны, экспрессируют реакции апоптоза, а с другой - запускают каскад провоспалительных факторов, цитокинов и хемокинов. Цитокины активируют, в свою очередь, структуры микроглии, с последующим усилением окислительного стресса и высвобождением матриксных металлопротеиназ в поврежденных зонах. Эти постишеми-ческие процессы ведут к расстройству гемато-энцефалического барьера, отеку тканей мозга и гибели нейронов. Последствия ишемического инсульта и травмы мозга сказываются длительными нарушениями неврологических показателей.

На этапе 90-х годов прошлого столетия обнаруживается всплеск экспериментальных работ, в которых утверждалось, что ишемия мозга сопровождается активной стимуляцией нейрогенеза. Выполненные изначально на традиционной модели окклюзии церебральных сосудов эти исследования демонстрировали динамику ишемического поражения, его локализацию, участие регуляторных молекул, наконец, возможности активации нейрогенеза. Этот большой спектр экспериментальных работ был подтвержден в клинических исследованиях на биопсийном или постмортальном материале человека.

В экспериментах на животных, как правило, используется модель временной окклюзии средней мозговой артерии крыс, при которой область инфаркта захватывает часть коры и стриатума. В

опытах на этой модели установлено, что ишемический инсульт в бассейне средней мозговой артерии усиливает клеточную пролиферацию в ипсилатеральном отделе желудочков мозга. Иммунохимический анализ выявил, что на фоне фокальной ишемии мозга значительно, в 12 раз, увеличивается число новых BrdU-реактивных клеток в субвентрикулярной зоне. Эффект был замечен при 10-минутной окклюзии; 2-минутная ишемия на нейрогенез не влияла. Конфокальная микроскопия продемонстрировала, что BrdU-иммунореактивные клетки в гранулярном слое были колокализированы с нейрон-специфическими маркерами ядерных антигенов, ассоциированных с микротрубочками белка-2 и калбиндина D28k. Это указывало на то, что новобразующиеся клетки мигрировали из субвентрикулярной зоны в гранулярный слой и превращались в зрелые нейроны. Новые клетки нейронального фенотипа наблюдались с 26 дня после ишемического воздействия и сохранялись, по меньшей мере, в течение 7 месяцев наблюдения (*Liu J, Solway K, Messing RO, Sharp FR. Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. J Neurosci. 1998;18(19):7768-78.*

5-10-минутная глобальная церебральная ишемия вызывала у животных 10-кратное увеличение нейрогенеза в субвентрикулярной зоне. Существенно, что фиксируемая по специфическим маркерам трансформация прогениторов начиналась через 7 дней ишемического воздействия и, достигнув пика к 11-му дню, далее постепенно снижалась. В процессе апоптической селекции выжившими оставалось около 40% клеток, которые далее мигрировали в направлении зубчатой извилины, и среди этих клеток около половины приобретали статус астроцитов (*Sharp FR, Liu J, Bernabeu R. Neurogenesis following brain ischemia. Brain Res Dev Brain Res. 2002;134(1-2):23-30.*

Ишемическое воздействие сопровождается стимулированием ангиогенеза в ипсилатеральной зоне субвентрикулярной зоны и дорзомедиальном отделе стриатума. Через 2, 6 и 16 недель после перевязки церебральных артерий крыс большинство нейробластов мигрирует к зоне поражения, которая тесно связана с микроциркуляторной сетью. При этом важная роль как инициатора ангиогенеза отводится эндотелиальному ростовому фактору (VEGF), экспрессия которого отмечается на ранних этапах ишемии (*Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. J Clin Invest. 2000;106:829-38.*) Таким образом, стимуляция ангиогенеза и усиление васкуляризации субвентрикулярной зоны является важной частью репаративного механизма стратегии нейрогенеза после ишемического поражения.

С помощью микроинъекций флуоресцентного белка удалось проследить миграцию новообразованных нейронов в зону стриатума. После ишемического инсульта новые клетки располагались в проекции стриатонигрального пути. Эти клетки экспрессировали рецепторы глутамата (NR2) и дофамина (D2L), обеспечивая функции кортикальных медиаторов в новых условиях (*Sun X, Zhang QW, Xu M. et al. New striatal neurons form projections to substantia nigra in adult rat brain after stroke. Neurobiol Dis. 2012;45(1):601-9.*) В рамках «обратного контроля» были проведены опыты на мышах, у которых предварительно был нарушен нейрогенез с помощью препарата ганцикловира, вещества, тормозящего синтез ДНК. После 2-х недельной

обработки этим соединением фокальная ишемия мозга вызывала тяжелые нарушения: объем инфарктной зоны и, соответственно, неврологический дефицит были выражены в большей степени, чем в контроле (Wang X, Mao X, Xie L, et al. *Conditional depletion of neurogenesis inhibits long-term recovery after experimental stroke in mice. PLoS One. 2012;7(6):e38932*).

Суммируя экспериментальные данные, можно сделать ряд выводов.

- Ишемический инсульт стимулирует трансформацию эндотелиальных клеток субвентрикулярной зоны мозга.
- В коре мозга и в субвентрикулярной зоне документируется пролиферация и дифференцировка прогениторных клеток у крыс, подвергнутых церебральной ишемии. Установлены пролиферативные и динамические характеристики этих клеток.
- Активируемые ишемией нейробласты мигрируют в направлении зоны инфарктного поражения коры мозга и стриатума, располагаясь вблизи зоны пенумбры.

Исследование постмортального материала пациентов, страдавших от ишемического инсульта, выявил увеличенную пролиферацию клеток-прогениторов и нейробластов в субвентрикулярной зоне. Индукция нестин-позитивных клеток (как свидетелей нейрональных предшественников) и клеток муссаши 1 (как показателя пролиферации нейробластов), наблюдалась в зоне ишемии уже через 1 сутки после инсульта (Nakayama D, Matsuyama T, Ishibashi-Ueda H, et al. *Injury-induced neural stem/progenitor cells in post-stroke human cerebral cortex. Eur J Neurosci. 2010;31(1):90-8*). Иммуногистохимический анализ биопсийных образцов установил, что клетки, пограничные ишемическому поражению, экспрессировали маркеры, типичные для новообразованных нейронов. Увеличенное число новых клеток было обнаружено после ишемического инсульта даже в мозге 60-87-летних пациентов (Macas J, Nern C, Plate KH, Momma S. *Increased generation of neuronal progenitors after ischemic injury in the aged adult human forebrain. J Neurosci. 2006;26:13114-13119*; Jin K, Wang X, Xie L, et al. *Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103: 13198-13202*). В зоне мозга, пограничной с ишемическим инфарктом, выявлено большое число иммунопозитивных клеток эндотелиального ростового фактора (VEGF) и новых кровеносных микрососудов, что свидетельствовало о сопряженной стимуляции васкуло- и нейрогенеза после ишемического поражения мозга человека (Minger SL, Ekonomou A, Carta EM, et al. *Endogenous neurogenesis in the human brain following cerebral infarction. Regen Med. 2007;2(1):69-74*).

Эти данные, полученные в клинических исследованиях, подтвердили, что нейрогенез, выявляемый в зоне пенумбры, носит особый характер, для которого характерна атипичная миграция клеток. Дифференцировка новорожденных нейробластов и обретение ими фенотипа нейронов стриатума свидетельствуют о замещении структур, повреждаемых ишемией. Можно полагать, что такой репаративный механизм причастен к снижению неврологического дефицита у пациентов с ишемическим инсультом. Данные о репаративном нейрогенезе в

регионе кортикальной пенумбры и в перигематомной зоне у пациентов с интрацеребральной геморрагией свидетельствуют в пользу этой еще недавно фантастической идеи (Zhang ZG, Chopp M. Neurorestorative therapies for stroke: underlying mechanisms and translation to the clinic. *Lancet Neurol.* 2009;8(5):491-500).

Резонно встает вопрос о молекулярных факторах, инициирующих трансформации стволовых предшественников в субвентрикулярной и субвгранулярной зонах мозга. Одним из свидетельств появления «повреждающего сигнала» могут служить молекулы, стимулирующие нейральное воспаление. В условиях ишемии мозга образуются токсические продукты как следствие гиперактивации возбуждающих синапсов. Связанное с ишемией нарушение эндотелия церебральных сосудов стимулирует инвазию лейкоцитов. Эти клетки вкупе с активированными астроцитами и микроглией секретируют цитотоксические агенты. К таковым относятся интерлейкин-1, интерферон- γ и TNF- α , которые снижают уровень нейрогенеза в мозге.

С другой стороны, ишемический инсульт сопровождается экспрессией нейротрофических рецепторов и самих нейротрофинов, причастных, как было продемонстрировано выше, к стимуляции нейрогенеза. В исходных экспериментах *in vitro* установлено, что фракции митотических прогениторов позитивно реагировали при контакте с тирозинкиназными рецепторами TrkB. В последующей работе на обезьянах была выявлена постишемическая пролиферация микроглии в CA1 секторе гиппокампа и этот процесс сопровождался активацией нейротрофинов NGF и BDNF (Tonchev AB. Brain ischemia, neurogenesis, and neurotrophic receptor expression in primates. *Arch Ital Biol.* 2011;149(2):225-31).

Через 7 дней после моделирования ишемии семикратно увеличивается число новых клеток в зубчатой извилине гиппокампа. Одновременно в этой ткани возрастает активность индуцибельной синтазы азота (iNOS); торможение этого фермента аминоксидином предотвращает вызываемый ишемией нейрогенез. У мутантных мышей с нокаутом гена iNOS также не наблюдается экспрессии нейрогенеза после церебральной ишемии (Zhu DY, Liu SH, Sun HS, Lu YM. Expression of inducible nitric oxide synthase after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult rodent dentate gyrus. *J Neurosci.* 2003; 23(1):223-9).

Сопряженность процессов нейрогенеза и ангиогенеза в условиях церебральной ишемии демонстрируется участием белка ангиопоэтина 2, ростового фактора ангиопоэза, стимулирующего трансформацию нейральных прогениторов. Рекомбинантный препарат ангиотензина-2 rhANG2 способствовал дифференцировке и миграции прогениторных клеток в субвентрикулярной зоне после ишемического инсульта (Liu XS, Chopp M, Zhang RL, et al. Angiopoietin 2 mediates the differentiation and migration of neural progenitor cells in the subventricular zone after stroke. *J Biol Chem.* 2009;284(34):22680-9).

Регуляция нейрогенеза в условиях церебральной ишемии связана с трансдукторными и транскрипторными сигнальным молекулам. Упоминание об этих процессах важно для конкретизации внутриклеточных механизмов контроля нейрогенеза и поддержания нейрогенеза в условиях ишемического инсульта.

Одним из начальных ишемических инцидентов служит провоцируемый окислительным стрессом апоптоз. Было установлено, что экспрессия белка Bcl-2, рассматриваемого как трансдукторный антиапоптотический компонент, резко стимулирует нейрогенез в условиях ишемии. Действие Bcl-2 осуществляется за счет другого белка, бета-катенина, ключевого посредника сигнального пути Wnt/ β -catenin. Эти продукты были обнаружены в ипсилатеральной зоне стриатума после ишемии, где были идентифицированы признаки нейрогенеза (Lei ZN, Liu F, Zhang LM, et al. Bcl-2 increases stroke-induced striatal neurogenesis in adult brains by inhibiting BMP-4 function via activation of β -catenin signaling. *Neurochem Int.* 2012;61(1):34-42).

Упомянутый ранее белок Notch оказывается важным регулятором нейрогенеза. В экспериментах *in vitro* на клетках нейральных прогениторов, выделенных из субвентрикулярной зоны ишемизированного мозга, выявлялся повышенный уровень Notch, его внутриклеточного домена NICD и белка Hes 1. Таким образом, связанный с Notch сигналинг опосредует пролиферацию и дифференцировку нейральных предшественников при ишемическом инсульте (Wang L, Chopp M, Zhang RL, et al. The Notch pathway mediates expansion of a progenitor pool and neuronal differentiation in adult neural progenitor cells after stroke. *Neuroscience.* 2009;158(4):1356-63). В непосредственной связи с этими результатами было также установлено, что у крыс, подверженных фокальной ишемии мозга, снижается экспрессия miR-124a, нейрон-специфической микро-РНК, в прогениторах субвентрикулярной зоны. Функция miR-124a инверсно сопряжена с активностью сигнальной молекулы Notch. Таким образом, устанавливаются уравновешивающие сигналы экспрессии трансдукторных молекул, которые контролируют уровень нейрогенеза в условиях ишемии (Liu XS, Chopp M, Zhang RL, et al. MicroRNA profiling in subventricular zone after stroke: MiR-124a regulates proliferation of neural progenitor cells through Notch signaling pathway. *PLoS One.* 2011;6(8):e23461).

Поиску клинических препаратов предшествует, как правило, опыт экспериментальной терапии, которая позволяет выбрать вещества, действующие на различные мишени с учетом смоделированной патологии. Эти результаты заслуживают внимания, поскольку эффекты сопряжены с влиянием на различные этапы трансформации нейральных стволовых клеток мозга при его ишемии. В Таблице III суммированы некоторые данные экспериментальной терапии ишемического повреждения мозга и влияния ее на нейрогенез. Спектр препаратов – от растительного продукта гинзеноида до виагры – оказывается достаточно разнородным, хотя во всех выбранных случаях позитивный терапевтический эффект сочетается с экспрессией нейрогенеза. Этот вывод подкреплен цитоморфологическими исследованиями пролиферации и миграции новообразованных нейронов, а также функциональными и поведенческими тестами в отдаленный период экспериментальной терапии. В некоторых случаях, как следует из таблицы, отмечено участие сигнальных молекул, промотирующих нейрогенез: активация циклического ГМФ, блокада каспазы-3 (торможение апоптоза), экспрессия белков типа Sonic hedgehog, Notch и Hes. Как было описано в предыдущих разделах, эти молекулы непосредственно причастны к контролю трансформации нейральных прогениторов и образования новых нейронов.

ТАБЛ. III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА. СТИМУЛЯЦИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА.

Вещество	Ишемия мозга	Влияние на нейрогенез	Дополнител. показатели	Авторы
МЕЛАТОНИН, i.p., 5-10 мг/кг	Мыши, ОСАМ (*)	Увеличение числа пролиферирующих клеток в периинфарктной зоне	Увеличение выживаемости животных	CHERN, et al, 2012
ЛЕПТИН, i.p., 1 мг/кг	Летучие мыши Тромбоз САМ	4-х кратное увеличение нейральных прогениторов в зоне инфаркта	Улучшение неврологического индекса	AVRAHAM, et al, 2010
ФОЛИЕВАЯ К-ТА, 12 мг/кг, per os	Крысы, ОСАМ	Увеличение числа нейронов	Улучшение поведенческих и когнитивных реакций; экспрессия сигнальных белков Notch 1, Hes1.	ZHANG et al. 2012
ГИНЗЕНОЗИД Rb1 i.v., 40 мг/кг,	Крысы, ОСАМ и реперфузия	Увеличение числа нестин-позитивных клеток	Улучшение шкалы неврологическ. критериев. Снижение активности каспазы-3.	GAO et al. 2010
SONIC HEDGEHOG (**), интратекально	Крысы, ОСАМ	Стимуляция нейрогенеза в субвентрикулярной зоне гиппокампа. Увеличение числа нестин-позитивных клеток	Редукция зоны инфаркта. Улучшение поведенческих тестов	BAMBAKIDIS et al. 2012
ЦЕРЕБРОЛИЗИН 2,5 -5,0 мл/кг; в первые сутки	Крысы. ОСАМ	Увеличение числа BrdU (+) клеток в субвентрикулярной зоне и мигрирующих нейробластов в зоне ишемии стриатума	Улучшение неврологических показателей. Эффект опосредован PI3K/AKT трансдукторами.	ZHANG et al., 2010
ПРАВАСТАТИН 14 дней	Крысы. ОСАМ	Увеличение числа BrdU (+) клеток в зубчатой извилине гиппокампа и стриатуме. Миграция зрелых нейронов.	Уменьшение инфарктной зоны. Снижение невролог. дефицита. Уровень холестерина в крови не меняется.	ZENG et al. 2007
СИЛДЕНАФИЛ (ВИАГРА), 5-7 мг/кг; 7 дней	Крысы. ОСАМ	Увеличение числа прогениторов в субвентрикулярной зоне и зрелых нейронов в ипсилатеральной зоне и стриатуме.	Улучшение функциональных показателей. Увеличение активности циклогМФ за счет торможения фосфодиэстеразы 5.	ZHANG et al., 2002; 2006
ЦИЛОСТАЗОЛ (***)	Мыши, фокальная ишемия мозга	Увеличение числа BrdU-позитивных клеток в периинфарктной зоне: экспрессия BDNF	Снижение неврологического дефицита	TANAKA et al. 2010

ПРИМЕЧАНИЯ. Приведены результаты позитивного влияния препаратов на показатели нейрогенеза в сравнении с ишемизированными животными, не получавших фармакотерапии. Основная модель ишемического инсульта (* ОСАМ) – окклюзия средней артерии мозга.

(*) ОСАМ – окклюзия средней артерии мозга; (**) SONIC HEDGEHOG – сигнальный белок (см. главу 4); (***) ЦИЛОСТАЗОЛ (Cilostazol) – ингибитор фосфодиэстеразы 3 типа, контролирующей активность сигнального белка CREB.

ССЫЛКИ

Chen CM, Liao JF, Wang YH, Shen YC. Melatonin ameliorates neural function by promoting endogenous neurogenesis through the MT2 melatonin receptor in ischemic-stroke mice. *Free Radic Biol Med.* 2012;52(9):1634-47

Avraham Y, Davidi N, Lassri V, et al. Leptin induces neuroprotection neurogenesis and angiogenesis after stroke. *Curr Neurovasc Res.* 2011;8(4):313-22

Zhang X, Huang G, Liu H, et al. Folic acid enhances Notch signaling, hippocampal neurogenesis, and cognitive function in a rat model of cerebral ischemia. *Nutr Neurosci.* 2012;15(2):55-61.

Gao XQ, Yang CX, Chen GJ, et al. Ginsenoside Rb1 regulates the expressions of brain-derived neurotrophic factor and caspase-3 and induces neurogenesis in rats with experimental cerebral ischemia. *J Ethnopharmacol.* 2010;132(2):393-9.

Bambakidis NC, Petrullis M, Kui X, et al. Improvement of neurological recovery and stimulation of neural progenitor cell proliferation by intrathecal administration of Sonic hedgehog. *J Neurosurg.* 2012;116(5):1114-20.

Zheng Z, Chen B. Effects of Pravastatin on neuroprotection and neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Neurosci Bull.* 2000;23(4):189-97.

Zhang R, Wang Y, Zhang L, et al. Sildenafil (Viagra) induces neurogenesis and promotes functional recovery after stroke in rats. *Stroke*. 2002;33(11):2675-80.

Zhang RL, Zhang Z, Zhang L, et al. Delayed treatment with sildenafil enhances neurogenesis and improves functional recovery in aged rats after focal cerebral ischemia. *J Neurosci Res*. 2006;83(7):1213-9.

Zhang C, Chopp M, Cui Y, et al. Cerebrolysin enhances neurogenesis in the ischemic brain and improves functional outcome after stroke. *J Neurosci Res*. 2010 Nov 15;88(15):3275-81.

Tanaka Y, Tanaka R, Liu M, et al. Cilostazol attenuates ischemic brain injury and enhances neurogenesis in the subventricular zone of adult mice after transient focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2010;171(4):1367-76.

В практике современного клинициста-невролога имеется значительный арсенал известных терапевтических средств ограничения ишемической катастрофы и постинсультных последствий. Общее назначение применяемой в настоящее время терапии относится к поддержанию структур, где разыгрывается основная нейрохимическая картина дисрегуляции: нейронов, астроцитов, эндотелиальных клеток церебральных сосудов, за счет ограничения их деструкции. Очевидно, эта стратегия может теперь включать воздействия, активирующие нейрогенез, ангиогенез, аксональный спрутинг и синаптогенез в ишемизированной ткани. Ремоделирование структур мозга после инсульта и улучшение неврологического статуса оказываются результатом эффективно используемой ресторативной терапии, когда стимуляция нейрогенеза и миграции нейробластов к зонам поражения способствуют восстановительным процессам в ишемизированном мозге. Нельзя, конечно, не отметить, что эффекты фармакотерапии (антитромботической, антиоксидантной, нейротрофической) в первые часы инсультного удара существенно отличаются от стимуляции нейрогенеза, эффективные признаки которого проявляются спустя время, измеряемое сутками.

Высказывается сомнение в возможности непосредственного приложения данных экспериментальной терапии в клинике. Ограничение временных параметров «терапевтического окна» и тактики реабилитационной терапии ограничивают возможность использования выводов экспериментальных исследований. И, тем не менее, во-первых, на данном этапе поиска ставится вопрос о принципиальных механизмах, которые определяют терапевтические «мишени» конкретного исполнения. Во-вторых, эта информация дает большие основания для разработки тактики нейропротективной терапии путем превентивного влияния на звенья постишемической дезорганизации.

5.2. Нейрогенез и травма нервной системы

Травма головного мозга вызывает сложный комплекс структурных и биохимических дезорганизаций, которые становятся причиной нередко не совместимых с жизнью патологических эксцессов. На фоне механического нарушения структур мозга, всплеска активности факторов гормонального стресса, разлада нейрональной синаптической регуляции, основным негативным феноменом оказывается экспрессия провоспалительных и проапоптических молекулярных систем. Деструкция нейрональных структур и потеря части клеток отражаются на функциональном уровне как неврологический и когнитивный дефицит, с нередким развитием психических осложнений. Глубина структурного, нейрохимического и

функционального разлада при травме мозга определяется: (а) степенью повреждающего воздействия; (б) исходной устойчивостью нейрохимических систем к патологическому воздействию; (в) быстротой и степенью включения защитных нейрохимических и функциональных систем, сдерживающих или компенсирующих развитие патологических событий. Очевидно, к разряду необходимых защитных процессов относится стимуляция пластической репарации за счет трансформации нейрональных стволовых клеток, выполняющих адаптивную функцию в поврежденном мозге. Данные об экспрессии нейрогенеза в условиях модельной травмы головного и спинного мозга доказательно иллюстрируют этот процесс. И хотя исходные причины структурных и биохимических нарушений при ишемическом инсульте и травме нервной системы существенно отличаются, общая картина и этапы трансформации нейрональных прогениторов оказываются сходными.

При травме мозга из поврежденных клеток высвобождаются продукты, которые активируют астроциты и микроглию, и в то же время ростовые нейротрофические факторы, стимулирующие пролиферацию и выживание стволовых предшественников. На модели кортикальной травмы выявлена ранняя активация прогениторных клеток. Сравнительный анализ прогениторных клеток с различной степенью трансформации продемонстрировал появление нестин-экспрессирующих прогениторов, которые демонстрировали пролиферативную и мигрирующую активность в направлении субвентрикулярной зоны и зубчатой извилины гиппокампа (Yu TS, Zhang G, Liebl DJ, Kernie SG. *Traumatic brain injury-induced hippocampal neurogenesis requires activation of early nestin-expressing progenitors. J Neurosci.* 2008;28(48):12901-12; Gao X, Enikolopov G, Chen J. *Moderate traumatic brain injury promotes proliferation of quiescent neural progenitors in the adult hippocampus. Exp Neurol.* 2009;219(2):516-23).

Вновь подтверждается значение ростовых факторов как стимуляторов нейрогенеза. Внутрижелудочковое введение в течение 7 дней ростового фактора bFGF стимулирует нейрогенез при травме мозга; признаки трансформации прогениторов по соответствующим клеточным маркерам отмечались в субвентрикулярной зоне. Через 4 недели после инфузии bFGF заметно значительно большее число выживших нейронов. Одновременно улучшались показатели когнитивной функции животного (Sun D, Bullock M, McGinn MJ, et al. *Basic fibroblast growth factor-enhanced neurogenesis contributes to cognitive recovery in rats following traumatic brain injury. Exp Neurol.* 2009;216(1):56-65). Терапия крыс с травмой мозга аторвастатином или симвастатином в течение 14 дней стимулировала нейрогенез в зубчатой извилине. В регионе CA3 клеток гиппокампа статины снижали потерю нейронов, вызванную травмой. Одновременно отмечалась стимуляция ангиогенеза. На 35 сутки в результате терапии статинами улучшались показатели пространственной памяти и обучения у травмированных крыс (Lu D, Qu C, Goussev A, et al. *Statins increase neurogenesis in the dentate gyrus, reduce delayed neuronal death in the hippocampal CA3 region, and improve spatial learning in rat after traumatic brain injury. J Neurotrauma.* 2007 ; 24(7):1132-46). При анализе механизма нейрогенез-стимулирующего действия симвастатина в условиях травмы мозга выявлена экспрессия сигнального белка CREB,

участвующего в активации циклического АМФ и других продуктов трансдукторных каскадов, а, кроме того, экспрессия регуляторов нейро- и ангиогенеза - BDNF and VEGF. Эти эффекты сопровождались усиленной пролиферацией и дифференцировкой пронеуронов в зубчатой извилине и восстановлением тестов пространственной памяти животного (Wu H, Lu D, Jiang H, Xiong Y, et al. *Simvastatin-mediated upregulation of VEGF and BDNF, activation of the PI3K/Akt pathway, and increase of neurogenesis are associated with therapeutic improvement after traumatic brain injury. J Neurotrauma. 2008; 25(2):130-9*).

Что касается *травмы спинного мозга*, количество исследований здесь сравнительно невелико. Проллиферация клеток в сохранившихся структурах белого вещества увеличивается на 1-7 сутки после травмы. Мигрирующие клетки включают олигодендроциты, астроциты, макроглиальные макрофаги и экспрессированные NG2(+) глиальные предшественники. Маркеры микроглиальных макрофагов и кислого глиального белка GFAP свидетельствуют, что около половины экспрессированных клеток составляют олигодендроциты и астроциты. Следовательно, миграция клеток в течение первой недели после травмы спинного мозга способствует замещению потери глиальных структур (Zai LJ, Wrathall JR. *Cell proliferation and replacement following contusive spinal cord injury. Glia. 2005; 50(3):247-57*).

Воспаление, развивающееся при спинальной травме, играет особую роль в индукции спинальных прогениторов за счет активности провоспалительных цитокинов и клеток иммунной системы. В зависимости от того, экспрессируются ли глиальные клетки интерфероном-альфа или интерлейкином-4, они различно влияют на судьбу спинальных прогениторов. Стимулированные интерлейкином-4 клетки микроглии способствуют трансформации олигодендроцитов, тогда как стимуляция микроглии интерфероном-гамма смещает процесс в направлении нейрогенеза. Таким образом, микроглиальный фенотип играет ключевую роль в репаративной миссии стволовых клеток при нейрональной травме (Butovsky O, Ziv Y, Schwartz A, et al. *Microglia activated by IL-4 or IFN-gamma differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells. Mol Cell Neurosci. 2006;31(1):149-60*).

5.3. Нейродегенеративные процессы и нейрогенез

БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Впервые идентифицированная в 1906 году немецким неврологом Луисом Альцгеймером новая патология, превратилась в настоящую психопандемию и обросла за эти десятилетия огромной информацией о причинах заболевания и способах терапии. Статистика юбилейного 2006 года насчитывает число пациентов с болезнью Альцгеймера в мире более 26 миллионов, и эта цифра продолжает увеличиваться. Объяснение может быть следующее: данное нейродегенеративное расстройство полностью отвечает условиям современной цивилизации, которые, стремительно прогрессируя, создает сам человек. Согласно базе данных PubMed число публикаций, включающих клинические и научные исследования по ключевому запросу "*Alzheimer disease*", резко увеличивается. Если на рубеже 60-х годов количество статей в реферируемых журналах

мира исчислялось единицами, то уже в 1990 году оно перевалило за 1000 в год, а к 2011 году четырехкратно превысило эту цифру. Всего в базе PubMed за период с 1946 года появилось более 62 тысяч таких статей в ведущих журналах мира.

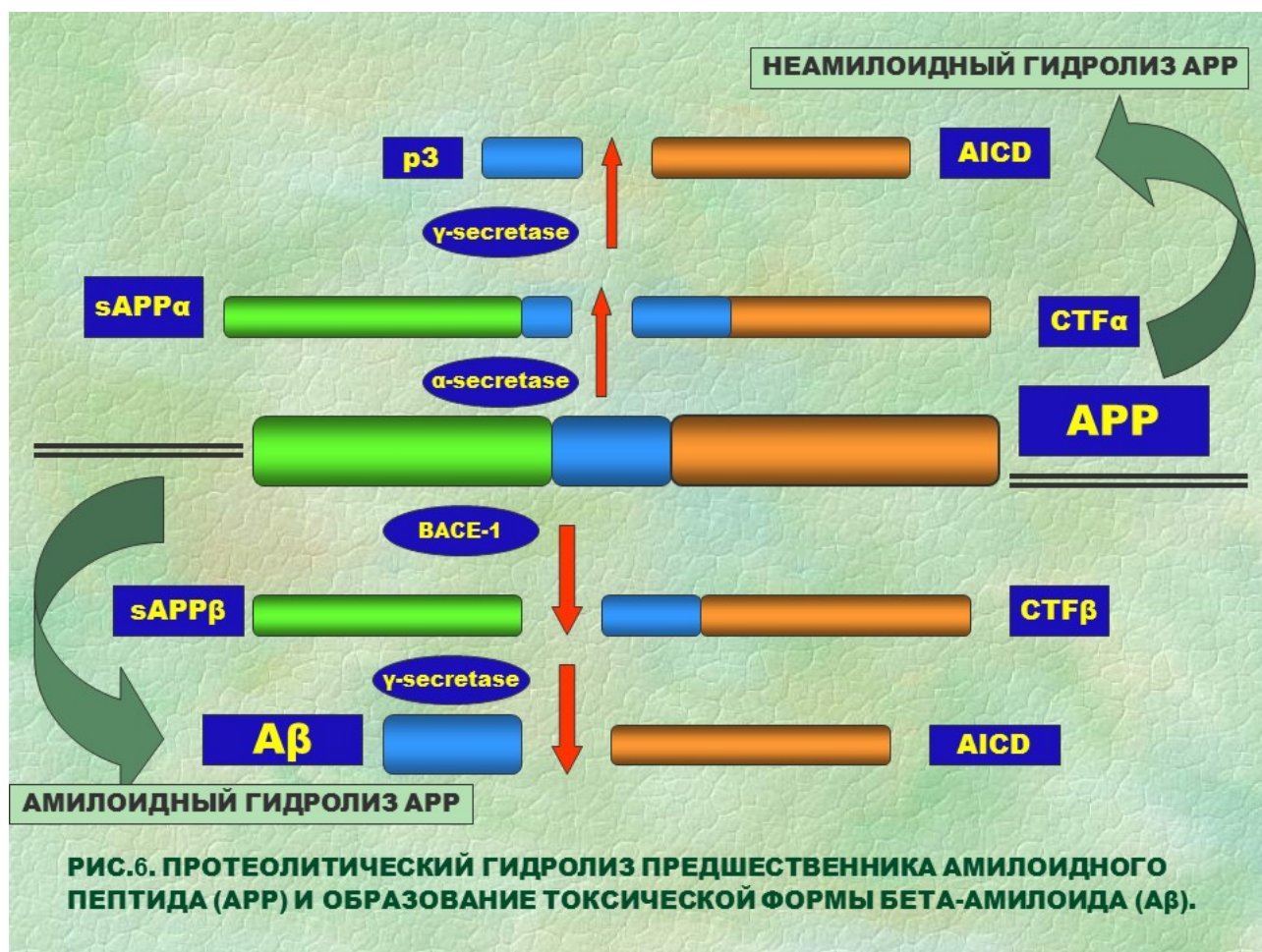
Болезнь Альцгеймера (БА), стадийное заболевание, которое характеризуется дисфункцией и гибелью нейронов в таких регионах мозга, как гиппокамп и фронтальная кора. В общепринятом представлении для деменциального расстройства, связанного с БА, характерным оказывается ряд событий, непреложно связанных между собой: дефицит холинергических медиаторов в структурах переднего мозга; связанная с избытком глутамата экспрессия токсических продуктов; мутации предшественника амилоидного пептида или полиморфизм APO-E генов, Эти негативно сопряженные процессы ведут к образованию токсических амилоидов, отложению амилоидных бляшек и образованию нейрофибриллярных сплетений. Соответственно, как показывают морфологические исследования, отмечается нарастающая потеря нейрональных и синаптических структур в гиппокампе и коре. Все эти процессы существенно влияют на стабильность нейрональных характеристик, включая синаптическую пластичность, процессы памяти, обучения, социальной ориентации.

Среди патохимических реакций, ведущих к развитию нейродегенеративных расстройств, важное место принадлежит процессам, связанным с пониженной перфузией церебральных сосудов. Концепция «критического порога церебральной гипоперфузии» рассматривает недостаточность мозгового кровообращения в качестве исходного фактора деменции Альцгеймеровского типа. Региональные расстройства церебральной микрогемодинамики влекут функциональные изменения эндотелия с нарушением синтеза и высвобождения важного продукта - оксида азота. Нарушение биохимических процессов в васкуло-нейрональном партнерстве оказывается существенным для процесса нейрогенеза, компенсаторного образования новых нейронов при патологии.

Болезнь Альцгеймера характеризуется прогрессирующей дегенерацией нейронов в коре мозга и в лимбической системе и нарушением когнитивных процессов - памяти, логического анализа, смысловой и поведенческой ориентации и др. Согласно нынешним позициям болезнь Альцгеймера оказывается полифакториальной патологией, зависящей как от ген-обусловленной предрасположенности, так и огромного давления окружающей среды. Появляется всё больше свидетельств, что нейрпатологические процессы, характерные для болезни Альцгеймера, могут быть обнаружены за несколько лет до появления настоящих клинических симптомов (*Reichman WE, Rose NS. History and experience: the direction of Alzheimer's disease. Menopause. 2012;19(7):724-34*). Становится обоснованной точка зрения, что болезнь Альцгеймера имеет предсимптоматическую, продромальную, фазу в виде мягкого когнитивного нарушения, и это обстоятельство оказывается значимым для концепции превентивной терапии нейродегенеративных расстройств. Современные методы нейровизуализации, цереброспинальные биомаркеры и более адекватные когнитивные тесты позволяют с большой чувствительностью выявлять начальные этапы деменциальной патологии.

В качестве основной причины формирования болезни Альцгеймера рассматривается аккумуляция «испорченных» белков, которые образуют токсические олигомеры и нейрофибриллярные сплетения. Основным участником нейрпатологии – амилоид-бета ($A\beta$) – является продукт протеолиза белка амилоидного предшественника (APP) с помощью β - и γ -секретаз. Так называемый неамилоидогенный путь гидролиза APP α -секретазой приводит к образованию растворимого домена $sAPP\alpha$ и мембраносвязанного N-концевого фрагмента. Расщепление APP β -секретазой и γ -секретазой представляет амилоидогенный путь метаболизма, в результате которого образуются внутриклеточный домен (AICD) и фрагмент $A\beta_{38-43}$. Особенность состоит в том, что $A\beta$ склонен к агрегации, и его молекулы, слипаясь, образуя вязкие, нерастворимые бляшки. Нейродегенеративные процессы при болезни Альцгеймера начинаются с повреждения синапсов и аксонов с аккумуляцией токсических продуктов $A\beta$ в экстра- и интрацеллюлярном пространстве клеток (РИС. 6).

Последовательное накопление нейрофибриллярных отложений в нейронах является результатом гиперфосфорилирования цитоскелетного белка tau и отложения амилоида-бета в форме сенильных бляшек на нейрональных структурах. Принято считать, что эти цитоморфологические процессы являются первыми признаками манифестации патологии Альцгеймера.



Установлено, что развитие болезни Альцгеймера (трансгенная модель фенотипа *APP/PS1*) ассоциируется с нарушением нейрогенеза. Результаты, полученные на этой модели, показали, что у мышей с многочисленными отложениями $A\beta$ увеличена пролиферация прогениторных

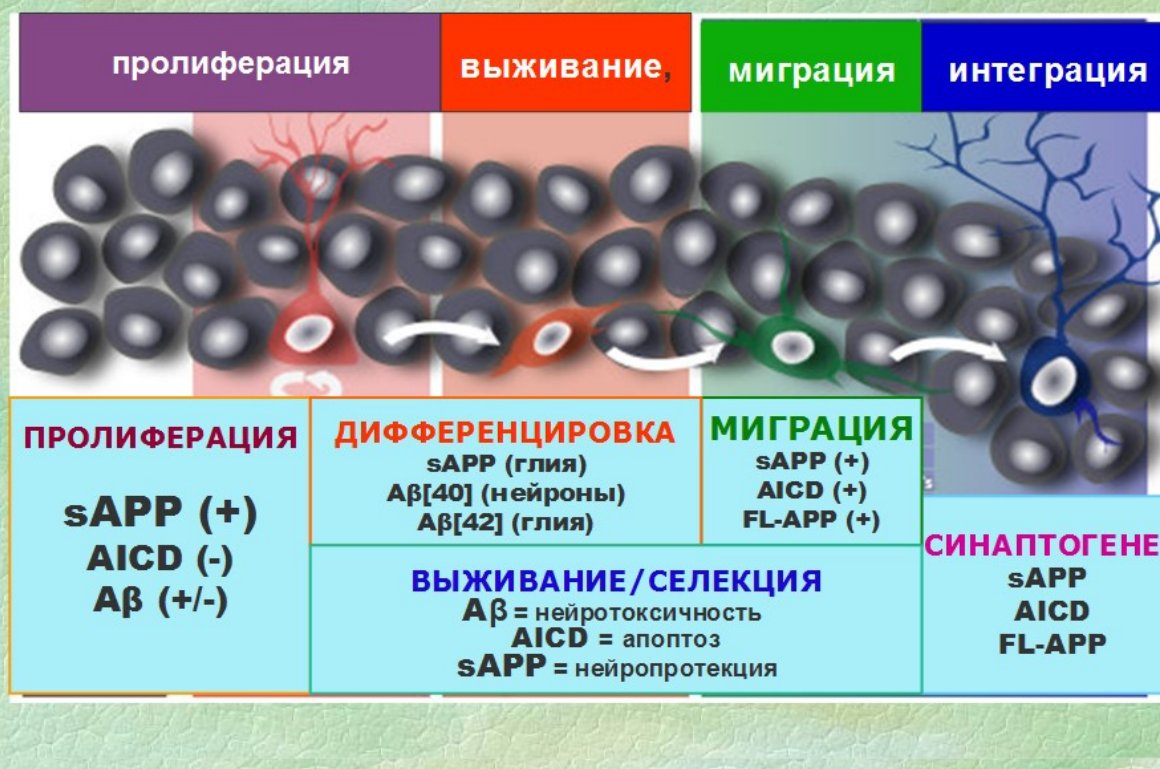
клеток гиппокампа. Число гиппокампальных BrdU-позитивных клеток, свидетелей дифференцирующегося нейрогенеза, существенно увеличивалось у возрастных мышей с прогрессивной стадией заболевания (Yu Y, He J, Zhang Y. *Increased hippocampal neurogenesis in the progressive stage of Alzheimer's disease phenotype in an APP/PS1 double transgenic mouse model. Hippocampus. 2009;19(12):1247-53*).

Немало данных подтверждают то неожиданное обстоятельство, что APP и его фрагменты могут существенно влиять на пролиферацию нейральных прогениторов и последующие этапы их трансформации. Эти процессы контролируются на уровне транскрипторной активности определенных генов. Влияние APP на нейрогенез реализуется за счет фрагментов APP: секретируемого sAPP α и интрацеллюлярного амилоидного домена AICD. Поскольку метаболизм APP и образование его фрагментов контролируется α -, β - и γ -секретазами, баланс этих ферментов играет ключевую роль в болезни Альцгеймера. Соответственно, этот биохимический механизм контролирует через гидролиз APP образование AICD, sAPP α и токсического амилоидного белка $A\beta$, ответственного за нарушение нейрональной морфологии и гибели клеток. Растворимая внутриклеточная форма sAPP стимулирует пролиферацию, дифференцировку и миграцию прогениторных клеток при нейрогенезе. Этот фрагмент APP расценивается как естественный нейротрофический компонент. Амилоидный внутриклеточный домен (AICD) и $A\beta$, напротив, препятствуют пролиферации и рассматриваются как факторы апоптоза и нейротоксичности.

На трансгенных мышах, активно экспрессирующих фрагмент AICD, исследовался нейрогенез в возрастной динамике крыс от 1,5 до 12 месяцев. Было установлено, что пролиферация гиппокампальных прогениторов последовательно снижалась с возрастом у AICD-трансгенных животных, указывая на прогрессирующее нарушение нейрогенеза. Сниженная пролиферация и выживаемость трансформирующихся клеток предотвращалось противовоспалительными веществами ибупрофеном и напроксеном (Ghosal K, Stathopoulos A, Pimplikar SW. *APP intracellular domain impairs adult neurogenesis in transgenic mice by inducing neuroinflammation. PLoS One. 2010;5(7):e11866*).

Рисунок 7 показывает, как перечисленные метаболиты APP могут влиять на ход нейрогенеза - стимулируя или, напротив, блокируя отдельные этапы. Существенно, что анализ временных позиций свидетельствует об активации нейрогенеза на ранних стадиях заболевания - до формирования амилоидных депозитов и гибели зрелых нейронов. Эти наблюдения позволили заключить, что нейрогенез оказывается неотъемлемой частью событий, ассоциированных с болезнью Альцгеймера (Mu Y, Gage FH. *Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease. Mol Neurodegener. 2011;6:85*).

РИС 7 МЕТАБОЛИТЫ ПРЕДШЕСТВЕННИКА АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА (APP) ВЛИЯЮТ НА ХОД НЕЙРОГЕНЕЗА



В постмортальном материале мозга пациентов с болезнью Альцгеймера была выявлена экспрессия белков-маркеров, которые указывали на появление новых нейронов в гиппокампе. Была констатирована повышенная экспрессия даблкортина и маркера TUC-4, которые ассоциируются с пролиферацией прогениторов в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа. Было высказано предположение, что появление новых нейронов в зоне типичного поражения нейронов может играть протективную роль при данной патологии (*Jin K, Peel AL, Mao XO, et al. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci USA. 2004; 101(1): 343–347.*

Реализация нейрогенеза при болезни Альцгеймера контролируется группами сигнальных белков, которые промотируют или тормозят трансформацию нейральных прогениторов. Нейродегенерация при патологии Альцгеймера ассоциируется с активацией циклин-зависимой киназы-5 (CDK5) и гликоген-синтазы-3 (GSK-3β). (См. Приложение «Сигнальные молекулы, участвующие в нейрогенезе» и РИС. 8). Эти основные протеинкиназы участвуют в аномальном фосфорилировании белка tau, основного компонента образования нейрофибриллярных белков (*Crews L, Patrick C, Adame A, et al. Modulation of aberrant CDK5 signaling rescues impaired neurogenesis in models of Alzheimer's disease. Cell Death Dis. 2011;2:e120.*



Другой компонент сигналинга – Wnt играет роль протективного фактора патологии Альцгеймера. Активация этого белка связана с защитой от нейротоксических повреждений, вызываемых амилоидом A β , и торможением активности GSK3- β . Нивелирование функции Wnt служит триггером образования токсических амилоидов. В то же время было установлено, что увеличение активности Wnt-3 стимулирует дифференцировку нейральных прогениторов и астроцитов (Shruster A, Eldar-Finkelman H, Melamed E, Offen D. Wnt signaling pathway overcomes the disruption of neuronal differentiation of neural progenitor cells induced by oligomeric amyloid β -peptide. *J Neurochem.* 2011;116(4):522-9).

Значительный объем информации указывает на роль семейства сигнальных молекул микро-РНК в регуляции нейрональных процессов в норме и при патологии. (См. Приложение «Эпигенетика и эпигенетические факторы»). Установлено, что субклеточная локализация этих молекул совпадает с субпопуляциями клеток, причастных к нейрогенезу и синаптической пластичности. Дисфункция или абберантный сигналинг изоформ микро-РНК ведут к развитию нейродегенеративных заболеваний. Образование инвертированных молекулярных форм miR-9, miR-125b и miR-128 выявлено в структурах гиппокампа в постмортальном материале пациентов болезни Альцгеймера. При обработке материала из мозга пациентов болезни Альцгеймера выявлены зоны дизрегуляции микро-РНК. (Satoh J. MicroRNAs and their therapeutic potential for human diseases: aberrant microRNA expression in Alzheimer's disease brains. *J Pharmacol Sci.* 2010; 114(3):269-75).

Среди новых подходов, используемых для коррекции болезни Альцгеймера, можно отметить модельные опыты, демонстрирующие влияние различных веществ на нейрогенез. В опытах на трансгенных мышах при воспроизведении амилоидной формы заболевания, испытывали влияние фрагментов цилиарного нейротрофина CNTF. Вещества, условно обозначаемые как пептиды 6 и 6А, стимулировали образование новых нейронов и их выживание в специфических локусах субвентрикулярной извилины, гиппокампе и ольфакторной луковице (Rockenstein E, Ubhi K, Doppler E, et al. *Regional comparison of the neurogenic effects of CNTF-derived peptides and cerebrolysin in AβPP transgenic mice. J Alzheimers Dis. 2011;27(4):743-52*). Другое вещество – GIP (глюкоза-зависимый инсулиноотропный полипептид), естественный гормон со свойствами ростового нейротрофина, усиливало пролиферацию прогениторов в зубчатой извилине. Хроническое применение двух производных этого соединения (Pro3)GIP и D-Ala2GIP улучшало тесты поведения в открытом поле и показатели долговременной потенциации (LTP) (Faivre E, Hamilton A, Hölscher C. *Effects of acute and chronic administration of GIP analogues on cognition, synaptic plasticity and neurogenesis in mice. Eur J Pharmacol. 2012;674(2-3):294-306*).

Третий пример относится к исследованию фрагмента стероидного гормона аллопрегнанонолона (3α-hydroxy-5α-pregnan-20-one). Было установлено, что длительная аппликация этого вещества (от 1 недели до 6 месяцев) увеличивала выживаемость новообразующихся нейронов на модели болезни Альцгеймера. Аллопрегнанонолон нивелировал показатели нейродегенерации, препятствуя накоплению токсического Аβета в структурах гиппокампа, коры мозга и миндалин. Анализ физиологических показателей выявил позитивное влияние препарата на тесты обучения и памяти у мышей 3xTgAD модели Альцгеймера. Дополнительный анализ свидетельствовал, что эффект вещества связан с его потенцирующим влиянием на диффузию внутриклеточного Ca²⁺ в нейроны ГАМК гиппокампа (Chen S, Wang JM, Irwin RW, et al. *Allopregnanolone promotes regeneration and reduces β-amyloid burden in a preclinical model of Alzheimer's disease. PLoS One. 2011;6(8):e24293*; Singh C, Liu L, Wang JM, et al. *Allopregnanolone restores hippocampal-dependent learning and memory and neural progenitor survival in aging 3xTgAD and nonTg mice. Neurobiol Aging. 2012; 33(8): 1493-506.*).

БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА

Болезнь Паркинсона относится к распространенной нейродегенеративной патологии, захватывающей миллионы людей в мире. Это заболевание вызывается прогрессирующей дегенерацией дофаминовых нейронов черной субстанции *pars compacta*, откуда, проецируясь через дорзальный стриатум, развивается градуальная дисфункция клеток моторной системы. Болезнь Паркинсона связывается с экспрессией нейрального воспаления, активацией микроглии и увеличенным содержанием в спинномозговой жидкости провоспалительных факторов TNF-α, IL-1β, и оксида азота.

Разрушение дофамина и нейральное воспаление тормозят нейрогенез во взрослом мозге. Отмечено снижение числа пролиферирующих клеток и нейральных прогениторов в субгранулярной и субвентрикулярной зонах и в ольфакторной луковице. У мышей, получавших 6-гидроксидофамин (модель патологии с деструкцией дофаминовых нейронов черной субстанции) число

пролиферирующих предшественников уменьшилось до 40% (Baker SA, Baker KA, Hagg T. *Dopaminergic nigrostriatal projections regulate neural precursor proliferation in the adult mouse subventricular zone. Eur J Neurosci. 2004;20(2):575-9*). Эти изменения документированы в опытах на модели болезни Паркинсона и на постмортальном материале (Höglinger GU, Rizk P, Muriel MP, et al. *Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. Nat Neurosci. 2004;7(7):726-35*). Механизм депрессии нейрогенеза при патологии Паркинсона сопряжен с пониженной секрецией прогениторными клетками ростовых нейротрофи-новых полипептидов EGF и CNTF (Yang P, Arnold SA, Habas A, et al. *Ciliary Neurotrophic Factor Mediates Dopamine D2 Receptor-Induced CNS Neurogenesis in Adult Mice. J Neurosci. 2008;28:2231-41*; O'Keefe GC, Tyers P, Aarsland D, et al. *Dopamine-induced proliferation of adult neural precursor cells in the mammalian subventricular zone is mediated through EGF. Proc Natl Acad Sci USA. 2009;106:8754-9*).

Пролиферация нейральных стволовых клеток в субвентрикулярной зоне может быть восстановлена стимуляцией дофаминовых рецепторов D2 и D3 типа. Было обнаружено присутствие таких рецепторов в трансформирующихся прогениторах субвентрикулярной области. Прамипексол (pramipexole), агонист дофаминовых рецепторов, при введении животным с паркинсоновой моделью значительно улучшал пролиферацию прогениторов в субвентрикулярной области и обонятельной зоне. Стимулировались нейрональная дифференцировка и появление новых клеток, фиксируемые даже через 4 недели после отмены препарата. К тому следует заметить улучшение моторных показателей животного в тесте открытого поля (Winner B, Desplats P, Hagl C, et al. *Dopamine receptor activation promotes adult neurogenesis in an acute Parkinson model. Exp Neurol. 2009;219(2):543-52*).

Введение ропинирола (ropinirole), селективного агониста D1/D2 рецепторов, увеличивало число клеток, возникавших в субвентрикулярной области. Внутрижелудочковая инфузия агониста дофаминового рецептора D3 ((7-гидрокси-N, N-ди-n-пропил-2-аминотетралин [7-OH-DPAT]) также стимулировала образование новых клеток (Van Kampen JM, Hagg T, Robertson HA. *Induction of neurogenesis in the adult rat subventricular zone and neostriatum following dopamine D receptor stimulation. Eur J Neurosci. 2004; 19:2377-2387*; Baker SA, Baker KA, Hagg T. *D3 dopamine receptors do not regulate neurogenesis in the subventricular zone of adult mice. Neurobiol Dis. 2005; 18:523-527*).

Эти данные свидетельствуют, что помимо ростовых факторов, о которых было упомянуто выше, в образовании новых клеток при болезни Паркинсона могут участвовать нейротрансмиттеры, например, дофамин. Коррекция нейрогенеза путем стимуляции дофаминовой активности приводит к улучшению моторной активности. Суммируя эти результаты, можно предположить, что нарушение дофаминергической нейротрансмиссии, которое является одной из ведущих причин патологии Паркинсона, сопряжено со снижением нейрогенеза. Однако, на трансгенной модели с нокаутом альфа-синуклеина, когда отсутствует гибель дофаминовых клеток, было, тем не менее, обнаружено нарушение нейрогенеза за счет сниженного выживания нейрональных предшественников (Winner B, Lie DC, Rockenstein E. et al. *Human wild-type alpha-synuclein impairs neurogenesis. J Neuropathol Exp Neurol. 2004;63: 1155-1166*). Следовательно,

в контроль нейрогенеза при болезни Паркинсона могут включаться и другие индуцирующие механизмы, не сопряженные с дофаминовой медиацией.

6. НЕЙРОГЕНЕЗ И ПСИХОСОМАТИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА

Психические расстройства относятся к категории современных социально значимых заболеваний. Человеческое сообщество мучительно приспосабливается к условиям создаваемой им цивилизационной среды обитания и прогрессирующий рост различных форм психических расстройств – весомая расплата. Взаимоотношения человека и стрессогенных факторов постоянно усложняются, расширяя формы нарушений психического здоровья. Поэтому поиск способов предупреждения и лечения непосредственных и отдаленных последствий, включая депрессивные расстройства, остается в центре внимания специалистов.

Депрессия сопровождается функциональными и структурными изменениями отделов лимбической системы мозга, которые контролируют эмоции и когнитивные функции. Постмортальный анализ мозга субъектов, страдавших депрессией, выявил изменения, свидетельствующие об атрофии и гибели нейронов и глиальных клеток. Физиологические изменения указывают на нарушение нейропластичности, как интегрирующей функции здорового мозга.

6.1. Депрессия как системное нарушение пластичности мозга

Нейропластичность отражает функциональный потенциал мозга, реагирующего на изменения окружающей среды и патологические изменения в организме. Адаптационная перестройка, связанная с реорганизацией мозга, восходит к пострецепторной внутриклеточной системе «разводящих» сигнальных молекул и экспрессии генов ядерного аппарата нейрона. Селективная активация генов в ответ на разнообразные стимулы внутренней и внешней среды обеспечивает индукцию многих процессов, из которых складывается тонкая настройка феномена нейропластичности. Многие из этих молекулярных событий оказываются предметом рассмотрения патогенеза нейродегенеративных и психических заболеваний и, соответственно, вероятных мишеней терапевтического воздействия.

На генетической модели мышей, когда уничтожалась значительная часть новообразующихся нейронов зубчатой извилины гиппокампа, было отмечено нарушение синаптической нейротрансмиссии, снижение уровня долговременной электрической потенциации и нарушение пластичности. Эти показатели восстанавливались при стимулируемом нейрогенезе (*Massa F, Koehl M, Wiesner T, et al. Conditional reduction of adult neurogenesis impairs bidirectional hippocampal synaptic plasticity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(16):6644-9.*

По современным представлениям депрессия рассматривается как хроническое заболевание, связанное с понижением эмоционального статуса, физической и интеллектуальной активности,

которые приводят к социальной дезинтеграции личности. Большой массив клинических и экспериментальных исследований свидетельствует, что патогенез депрессивных расстройств обусловлен нарушением комплекса нейро-регуляторных систем – медиаторов моноаминов, гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой «оси», цитокинов, нейропептидов, нейротрофических факторов.

Многосторонний анализ клинических исследований позволяет заключить, что психоневрологические заболевания (депрессии, шизофрения, биполярные и аффективные расстройства, наркотическая зависимость, постнатальная патология и др.) развиваются как системная дезорганизация, в соответствии с видом, тяжестью и динамикой процесса. Изменение клеточных и биохимических компонентов нейропластичности были подтверждены на прижизненном и постмортальном материале при депрессии. Морфометрический анализ выявил уменьшение плотности нейронов и глии в префронтальной коре и снижение числа клеток в гиппокампе (*JH.Krystal, D.F.Tolin, G.Sanacora, et al. Neuroplasticity as a target for the pharmacotherapy of anxiety disorders, mood disorders, and schizophrenia. Drug Discov Today. 2009; 14(13-14):690–697*).

В подтверждение последнего положения можно привести результаты экспериментов, когда были выделены группы животных «депрессивного фенотипа», и «не чувствительных к депрессии». У первых отмечалось уменьшение объема гиппокампа, ретракция дендритов зоны СА3, уменьшение плотности нейрональных шипиков, гипертрофия клеток амигдалы, сниженные потенциалы нейрогенеза, а также уровня нейротрофинов в сыворотке крови и в гиппокампе. Особого интереса в этом контексте заслуживают сведения о том, что терапия антидепрессантами снижала вызванные стрессом атрофию дендритов и потерю глиальных клеток (*Blugeot A, Rivat C, Bouvier E, et al. Vulnerability to depression: from brain neuroplasticity to identification of biomarkers. J Neurosci. 2011; 31(36):12889-99*).

Как показывает клинический анализ, депрессии сопутствуют морфологические изменения специфических регионов мозга, включающие деструкцию нейронов и клеток глии. Уменьшение объема лобной коры затрагивает преимущественно орбитофронтальную кору и префронтальную зону и сопровождается снижением плотности и размера нейронов и глии. При депрессиях отмечается уменьшение объема гиппокампа, плотности клеток зубчатой извилины и пирамидных нейронов поля СА3 гиппокампа пациентов (*Е.И.Гусев, А.Н.Боголепова. Роль процессов нейропластичности в развитии депрессивных расстройств. «Трудный пациент». 2010; №10*). По данным нейровизуализации, полученным в результате сравнительного мета-анализа большой группы пациентов с депрессией, выявлено уменьшение объема гиппокампа и амигдалы. Морфологическим коррелатам нарушенной нейропластичности соответствовали замедление скорости психомоторных реакций, дефицит контроля внимания, нарушения памяти, которые ассоциировались со стресс-обусловленными ментальными расстройствами (*Campbell St., Marriott M., Nahmias Cl., MacQueen G.M. Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis. Am J Psychiatry. 2004;161:598–607*).

Согласно моноаминовой гипотезе исходный нейрохимический механизм депрессии связан с дефицитом определенных групп нейротрансмиттеров и расстройством их функциональных отношений. Предполагается, что недостаточная медиаторная активность вызвана дефектом генов, должных «выдавать команду» на синтез веществ, необходимых для нормальной работы синапсов. Антидепрессанты, в первую очередь, ингибиторы обратного захвата медиатора, задерживают часть молекул в пределах синаптической щели, способствуя потенцированию нейротрансмиттерного акта. Помимо ингибиторов обратного захвата серотонина и норадреналина, в эту группу препаратов входят трициклические антидепрессанты, ингибиторы моноаминооксидазы и др. Их действие направлено на ликвидацию дефицита медиаторов, как передаточных звеньев нейротрансмиттерного процесса.

Однако выявляются существенные расхождения временных параметров восстановления медиаторов и наступления терапевтического эффекта антидепрессантов. Если увеличение содержания моноаминов, вследствие действия ингибиторов реаптейка, составляет часы и минуты, то терапевтический эффект антидепрессантов проявляется лишь через несколько недель. Это обстоятельство ограничивает понимание моноаминовой гипотезы как единственного объяснения патогенеза депрессии. Поскольку действие упомянутых антидепрессантов не относится непосредственно к уровню генной поддержки, следовало допустить существование дополнительных нейрохимических звеньев.

6.2. Стимуляция нейрогенеза антидепрессантами

Существует немало доказательств, связывающих нейрогенез и хронический стресс в этиологии тревожно-депрессивных расстройств. В опытах на крысах и обезьянах было установлено, что даже кратковременный стресс ассоциируется со сниженной продукцией новых нейронов гиппокампа (*Gould E, Tanapat P, McEwen BS, et al. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:3168–71*).

Связь нейрогенеза с депрессией была впервые обоснована в 2000 году, когда *J. Malberg* и соавторы установили, что хроническое применение антидепрессантов стимулировало нейрогенез в зубчатой извилине гиппокампа с появлением новых клеток (*Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. J Neurosci. 2000;20:9104–10*). Эти работы, по сути, продолжали предыдущие исследования, где было установлено, что торможение синтеза серотонина и разрушение серотонинергических нейронов снижают нейрогенез в субвентрикулярной зоне и зубчатой извилине гиппокампа (*Brezun JM, Daszuta A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. Neuroscience. 1999; 89:999–1002*).

На аутопсийном материале пациентов с большим депрессивным расстройством была подтверждена экспрессия нейрогенеза при терапии ингибиторами обратного захвата серотонина (серталином, флюоксетин) и трициклическими антидепрессантами (кломипрамин, нортриптилин). Эти препараты существенно увеличивали число нейтральных стволовых клеток

по сравнению с нелечеными больными и контрольными субъектами. Новые нейроны, выявляемые с помощью NeuN и GFAP маркеров, обнаруживались в ростральном пути и в передней части зубчатой извилины (*Boldrini M, Underwood MD, Hen R, et al. Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. Neuropsychopharmacology. 2009;34:2376–89*).

Экспериментальные исследования показали, что флюоксетин и имипрамин, а также ребоксетин и транилципромин увеличивали пролиферацию клеток-предшественников в зубчатой извилине и хилусе мышей и крыс. Трансформация прогениторных клеток гиппокампа идентифицировалась как нейрональными, так и глиальными маркерами нейрогенеза. Существенно, что экспрессия нейрогенеза отмечалась лишь при длительном (до трех недель) применении веществ. Стимуляция нейрогенеза препаратами различной химической структуры указывало на то, что эффект достигался за счет включения вторичного механизма, индуцирующего трансформацию нейрональных предшественников (*Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. J Neurosci. 2000;20:9104–9110*).

Хроническое применение оланзапина и галоперидола увеличивало выживание и количество новых нейронов в префронтальной коре и стриатуме и стимулировало долговременную потенциацию в зубчатой извилине, как показатель функционального восстановления. При этом отмечались улучшения поведенческих тестов (*Wang HD, Dunnavant FD, Jarman T, Deutch AY. Effects of antipsychotic drugs on neurogenesis in the forebrain of the adult rat. Neuropsychopharmacology. 2004;29:1230–8*).

О связи фармакологических эффектов антидепрессантов и нейрогенеза свидетельствует то обстоятельство, что часть поведенческих реакций животных на применение антидепрессантов нивелируется при нарушенном нейрогенезе. Как показали опыты *D. David* и соавторов, некоторые элементы поведенческой парадигмы у депрессированных мышей, вызываемые длительным применением флюоксетина, отсутствовали при блокаде нейрогенеза, вызываемой локальным X-радиационным облучением (*David DJ, Samuels BA, Rainer Q, et al. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron. 2009;62:479–493*). Такие же результаты были получены на мышах с нулевым уровнем 1A рецептора серотонина, получавших флюоксетин. Таким образом, влияние антидепрессантов в отношении поведенческой активности опосредуется нейрогенезом, стимулируемом в гиппокампе (*Santarelli L, Saxe M, Gross C, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science. 2003;301:805–9*). Как было описано выше, нейрогенез в зубчатой извилине снижается по мере старения организма. Стимулирующее действие флюоксетина на клеточную пролиферацию отсутствовало у возрастных животных (*Couillard-Despres S, Wuertinger C, Kandasamy M, et al. Ageing abolishes the effects of fluoxetine on neurogenesis. Mol Psychiatry. 2009 14(9):856–64*).

В целом, эти исследования определили новую позицию, согласно которой стимулированное антидепрессантами образование новых нейронов служит адаптивным механизмом компенсации

функциональных нарушений мозга, вызванных стрессом, депрессией, фобийными расстройствами и др.

Влияние на нейрогенез антипсихотических препаратов может быть связано с экспрессией нейротрофического фактора BDNF. Длительное применение серталина, транилципромина и дезипрамина значительно увеличивало уровни мРНК BDNF и его рецептора TrkB. При этом экспрессия BDNF отмечалась в субрегионах наиболее активного нейрогенеза (*Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. J Neurosci. 1995;15:7539–47*). Хроническая антидепрессантная терапия способствовала экспрессии белка CREB, важного компонента сигнальной системы, участвующей в контроле нейрогенеза (*Gur TL, Conti AC, Holden J, et al. cAMP response element-binding protein deficiency allows for increased neurogenesis and a rapid onset of antidepressant response. J Neurosci. 2007; 27(29):7860-8*). Более того, у мышей с нокаутом CREB и, соответственно, пониженным нейрогенезом выявляется быстрый ответ на антидепрессанты (*Gass P, Riva MA. CREB, neurogenesis and depression. Bioessays. 2007; 29(10):957-61*). Таким образом, CREB, как транскрипторный регулятор, оказывается сигнальным посредником между уровнем нейрогенеза и терапевтическим эффектом антидепрессантов.

Исследования латентного периода нейрогенеза в связи с эффектом антидепрессантов показали, что стимулятор серотонинергической активности флюоксетин увеличивает число меченых Ki67 клеток (маркер митоза) одновременно с экспрессией сигнальных белков pCREB and Wnt3a. При этом действие на pCREB зависит от активации тирозинкиназного рецептора Trk, необходимого для функции нейротрофина BDNF. Таким образом, комплекс этих сигнальных молекул играет роль триггера в период, предшествующий митотической активации прогениторных клеток (*Pinnock SB, Blake AM, Platt NJ, Herbert J. The roles of BDNF, pCREB and Wnt3a in the latent period preceding activation of progenitor cell mitosis in the adult dentate gyrus by fluoxetine. PLoS One. 2010;5(10):e13652*).

Неожиданный феномен влияния антипсихотических препаратов на стимуляцию нейрогенеза побудил к представлению ряда гипотез и связующих трактовок обширного материала. Одна из гипотез исходит из того, что нарушение нейрогенеза является патогенетическим фактором депрессии, и образование новых нейронов оказывается необходимым адаптивным результатом. Предполагается, что новообразованные нейроны гиппокампа служат посредниками реагирования на изменения в окружающей среде в связи с эмоциональной оценкой внешнего контекста. Можно допустить, что вызываемое хроническим стрессом подавление нейрогенеза отделяет эмоции от внешнего контекста, что провоцирует развитие депрессивной патологии. Стимуляция нейрогенеза антидепрессантом восстанавливает связь личностного настроения с окружающей средой и приводит к нивелированию депрессии. Такова одна из точек зрения в новой стратегии терапии антидепрессантами (*Perera TD, Park S, Nemirovskaya Y. Cognitive role of neurogenesis in depression and antidepressant treatment. Neuroscientist. 2008; 14(4): 326-38*).

Суммируя результаты экспериментального и клинического материала, можно резюмировать, что этому правилу подлежат не только последствия стрессовых расстройств, депрессии, но также

фобии, аффективные состояния, шизофрения (и др.), то есть, те состояния, когда, согласно патофизиологической оценке, нарушен когнитивный и эмоциональный контакт индивидуума с окружающим контекстом.

(1) Современная нейрофизиология постулирует в качестве ведущего положения, что гиппокамп оказывается структурой мозга, где происходит образование новых клеток. Зубчатая извилина гиппокампа предоставляет основную нишу для регулируемой трансформации нейрональных предшественников. Гиппокамп является также отделом мозга, непреложно связанным с реализацией когнитивных функций, а также поведенческих и эмоциональных процессов. В то же время, гиппокамп связан с формированием нейропсихических и неврологических заболеваний, таких как депрессия, алкогольная и наркотическая зависимость, эпилепсия, шизофрения, болезнь Альцгеймера и др. Важное соображение сводится к тому, что сниженный или аберрантный нейрогенез в гиппокампе строго коррелирует со структурной и функциональной недостаточностью, доказываемой на клиническом материале или моделях психоневрологических расстройств.

(2) Стимуляция нейрогенеза в гиппокампе была продемонстрирована при хроническом применении препаратов *различного класса*, используемых для терапии депрессии. В числе таковых: ингибиторы моноаминоксидазы (транилципромин); селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, (флуоксетин); селективные ингибиторы обратного захвата норадреналина (ребоксетин); антагонисты NMDA рецепторов (мемантин); трициклические антидепрессанты (имипрамин). При этом, некоторые антидепрессанты сами по себе не вызывают статистически значимого увеличения нейрогенеза, хотя могут блокировать вызываемое стрессом подавление пролиферации прогениторов.

(3) Это означает, что практически *все классы антидепрессантов* влияют на нейрогенез; более того, поведенческие реакции на эти препараты нивелируются, если нейрогенез был предварительно заблокирован. В другой поставке исследования, при использовании антидепрессантной терапии, в опытах на обезьянах и землеройках, которые подвергались многократному электросудорожному воздействию, как аналога антидепрессантной терапии, было выявлено усиление пролиферации в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа. Большинство предшественников дифференцировалось в нейроны или клетки эндотелия, в то время как некоторые превращались в глиальные клетки. Таким образом, подтверждается гипотеза, что индукция нейрогенеза является необходимым компонентом механизма терапии антидепрессантами.

Таблица IV суммирует результаты экспериментов, полученных на моделях психических заболеваний, которые достаточно определенно свидетельствуют о связи патологии с этапами превращения нейральной стволовой клетки в зрелый нейрон и влияния на эти процессы известных препаратов. *DeCarolis и Eisch (2010)*, публикация которых послужила основой для этой таблицы, делают заключение, что «Гиппокампальный нейрогенез служит может служить мишенью для терапии психических заболеваний».

Учитывая медицинскую значимость проблемы, следует акцентировать, что основная часть фактов, которые послужили предметом столь разнородных обсуждений, получены посредством экспериментальных исследований: в модельных опытах имитации патологии, с помощью клеточных трансгенных технологий, цитоиммунохимического анализа, в тестах различных форм памяти, обучения, поведения и др. Однако без этого материала "мы могли бы не заметить очевидные возможности для поступательного прогресса в клинике», как определяют в своей публикации D.Petrik и соавторы (Petrik D, Lagace DC, Eisch AJ. *The neurogenesis hypothesis of affective and anxiety disorders: are we mistaking the scaffolding for the building?* *Neuropharmacology*. 2012;62(1):21-34).

ТАБЛИЦА IV. ЭТАПЫ ГИППОКАМПАЛЬНОГО НЕЙРОГЕНЕЗА, ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПСИХИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ЭФФЕКТЫ ТЕРАПИИ (DeCarolis NA. and Eisch AJ. Hippocampal neurogenesis as a target for the treatment of mental illness: A critical evaluation. *Neuropharm*. 2010; 58(6):884).

Патология / Терапия	Нейральная стволовая клетка	Дифференцирующийся прогенитор	Постмитотический нейробласт	Зрелый нейрон
Депрессия	↓			↓
<i>Терапия</i>				
<ul style="list-style-type: none"> • Флюоксетин • Имипрамин 		↑	↑	↑
<ul style="list-style-type: none"> • Поведенческая стимуляция 	↑ ↔	↑	↑	↑
Болезнь Альцгеймера	? ↓	↓ ↑	↓ ↑	↓ ↑
<i>Терапия</i>				
<ul style="list-style-type: none"> • NMDA антагонист (мемантин) • ингибиторы АцхЭ (такрин, донепезил) • Ингибит. γ-секре-тазы (дибензазепин) 	↑	↑ ↑ ↓	↑ ↑ ↑	↑
Шизофрения		↓		↓
<i>Терапия</i>				
<ul style="list-style-type: none"> • Галоперидол • Клозепин 	? ↑ ↓	↔ ↑	↔	↔ ↑

7. МОЛЕКУЛЯРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА И ВОЗМОЖНОСТИ НОВОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СТРАТЕГИИ

Сложные адаптивные функции мозга требуют столь же сложного регуляторного обеспечения. В 20-х годах минувшего столетия были нащупаны первые молекулы – нейротрансмиттеры, которые служили посредниками синаптического сигнала. Открытие физиологических рецепторов различного медиаторного назначения явилось мостиком к формированию представлений о вариабельности нейрохимических процессов и одновременно к их фармакологической регуляции. Последующие десятилетия знаменовались открытием сигнальных белков и проникновением к следующим ступеням межклеточной и внутриклеточной регуляции нейрональных процессов. Успехи молекулярной генетики позволили замкнуть эти молекулярные процессы на синтез интранейрональных структур, которые реализуют процессы физиологического назначения. Наконец, успехи клеточной биологии, открытие стволовых клеток и утверждение нейрогенеза как явления, постоянно работающего в течение всей жизни мозга, вывели эти представления на новый уровень. Ныне можно не только доказательно утверждать, что трансформация нейральных стволовых клеток происходит в определенных зонах взрослого мозга, но также идентифицировать десятки молекул, контролирующие генезис новых нейронов, астроцитов, олигодендроцитов, синапсов и аксональных сетей центральной нервной системы.

Физиологические, клеточные и молекулярные характеристики нейрогенеза, как ступенчатого и регулируемого процесса, служат предпосылками для обоснования новых представлений об адаптивной функции мозга. С другой стороны, учитывая информацию о многообразных системах контроля нейрогенеза, системах сигнальных молекул и нейротрофических факторов, возможен поиск новых препаратов, нацелено действующих по этим, еще недавно не ведомым, терапевтическим мишеням. Ныне вводится понятие «сигнальной трансдукторной терапии» (“signal transduction therapy”), как новой тенденции, включающей понимание молекулярной симфонии регуляторных процессов в практическом аспекте.

В качестве итогового обсуждения можно определить несколько основных тезисов.

[1] Информация о молекулярных механизмах регуляции нейрогенеза оказывается важной в двух позициях: (а) понять, какие молекулярные системы служат причиной функциональной дезинтеграции, приводящей к нейральной патологии; (б) рассматривая эти молекулярные системы как «мишени» экзогенного воздействия, предпринимать поиск средств терапевтического влияния.

Становится возможной конкретизация сигналов, необходимых для экспрессии нейрогенеза, образования новых структур и выживания нейронов в условиях патологии. С некоторых пор в специальной литературе фигурирует понятие «репаративного нейрогенеза», как способа адаптивной компенсации патологических процессов. Подход заключается в выборе молекулярных и клеточных «мишеней» и средств фармакологического воздействия на

нейрогенез. Как отмечалось выше, репаративный нейрогенез можно стимулировать с помощью отдельных лекарственных препаратов, цитокинов или факторов роста, физических реабилитационных мероприятий или экзогенной трансплантацией прогениторных клеток. С этой позиции также становится понятным терапевтическое действие уже известных препаратов. Например, эффекты некоторых антиоксидантов, ноотропов, антидепрессантов и др. находят дополнительное объяснение с точки зрения их влияния на определенные стадии нейрогенеза. Установлено, что многие стимулирующие нейрогенез воздействия, в том числе экспрессия нейротрофина BDNF, активация эритропоэтина, прием статинов и виагры, препаратов семакса, церебролизина, кортексина, могут способствовать экспрессии нейральных прогениоров за счет влияния на системы сигнальных молекул.

[2] Индукция нейрогенеза, трансформация прогениоров в зрелые интегрированные клетки непреложно рассматриваются ныне с учетом сигнальных регуляторных процессов. Системы молекул, разновариантно контролирующие пролиферацию, выживание, фенотипическую трансформацию и интеграцию новых нейральных клеток, представляют, по сути, сложную динамическую программу, которая оказывается необходимой для сбалансированного управления не менее сложной организацией функций здорового и больного мозга.

Наиболее значимым остается вывод о том, что сигнальная молекулярная полифония есть предтеча, если хотите, «инструмент» функциональной организации мозга, который, с одной стороны, способствует созданию рабочих структур - нейронов, астроцитов, синапсов, аксональных сетей и др., а с другой, участвует в управлении реакциями физиологического назначения - пластичности, поведенческих, эмоциональных, когнитивных процессов. То есть, как следует из Таблицы Y, трансдукторная, транскрипторная, эпигенетическая сигнальные системы представляют собой сложный структурно-функциональный комплекс, осуществляющий управление *адаптивной функцией мозга* в условиях нормы, старения, патологии. Соответственно, расстройства функций мозга (ишемические, травматические, нейродегенеративные, психопатические) обусловлены дезинтеграцией этих регуляторных сетей, их гомеостатической целостности. Следовательно, нормализация физиологических процессов в мозге - в зависимости от степени повреждения, а, значит, уровня дезинтеграции - определяется выбранными средствами терапии.

ТАБЛИЦА Y. Молекулярные, клеточные и физиологические уровни адаптивной организации мозга

Ступени внутриклеточной регуляции

- активация сигнальных каскадов трансдукторных факторов (PLC- γ , IP3, DAG, Ras, MAPK, ERK и др.)
- активация транскрипторных факторов (CREB, Shh, Wnt, DISC1 miR-124 и др.)
- изменения эпигенетического контроля (HDACs, HATs, HMTs, PcG, TrxG и др.)
- активация/репрессия генов, управляющих синтезом функционально значимых белков

Стимулирование нейрогенеза – различных этапов трансформации НСК

- пролиферация (превращение нейральных стволовых клеток в транзиторные прогениоры и далее – в нейробласты и астроциты)

- селекция и дифференцировка в клетки соответствующего фенотипа.
- миграция (движение выживших клеток по ростральному пути)
- интеграция зрелых клеток в нейрональную сеть

Модификации синаптической трансмиссии и нейрональной пластичности

- формирование новых синапсов
- реорганизация дендритов
- развитие нейрональной сети
- изменения долговременной потенциации (LTP)
- изменения долговременной синаптической депрессии (LTD)
- организация приспособительных реакций – поведенческих, эмоциональных, когнитивных процессов мозга

Применительно к основной проблеме, рассматриваемой в этой книге, выявление роли, места и знака участия регуляторных сигнальных молекул, означает идентификацию *молекулярных мишеней* коррекции нейрогенеза. Последующая и очень немалая работа – за разработчиками новых лекарств, то есть превращения знания о нейрохимических процессах и конкретных молекулах, их регулирующих, в средства репаративного нейрогенеза.

[3] *A. Enciu* и соавторы формулируют единство процессов нейрогенеза, нейропластичности и нейроресторации применительно к адаптивным перестройкам в больном мозге. Необычный термин «нейроресторация», как поддержание гомеостазиса сигнальных процессов, рассматривается в качестве альтернативной идеи терапевтической стратегии нейропротекции (*Enciu AM, Nicolescu MI, Manole CG, et al. Neuroregeneration in neurodegenerative disorders. BMC Neurol. 2011;11:75*). В последнее десятилетие сведения о трансформации нейральных стволовых клеток обрасли большим фактическим материалом, который позволил представить некоторые обобщения проблемы нейрогенеза в целом. Проблемы, которая затрагивает компетенцию иммунологии, нейрохимии, нейрофизиологии, нейропатологии. Важной позицией в оценке роли нейрогенеза во взрослом мозге явился тезис *репаративного процесса*. Потенциал новообразующихся клеток для компенсации «устаревших» или нарушенных болезнью структур есть важное основание представляемой здесь *концепции об адаптивной роли нейрогенеза*.

Согласно гипотезе нейрогенного резерва, ставится вопрос об оптимизации адаптивных функций гиппокампа в раннем постнатальном периоде. В зрелой жизни, в соответствии с растущими требованиями информационного пространства, стимулируемая потенция нейрогенеза служит механизмом приспособления к таким требованиям. Более конкретная интерпретация предполагает участие нейрогенеза в организации новых форм памяти, обучения, адаптивной структуры поведения в целом (*Glasper ER, Schoenfeld TJ, Gould E. Adult neurogenesis: optimizing hippocampal function to suit the environment. Behav Brain Res. 2012;227(2):380-3*). Пребывание в условиях напряженного влияния среды требует адекватных физиологических ответов, одним из которых оказывается экспрессия нейрогенеза.

Новый подход акцентирован на поддержку ангиогенеза (образование новых кровеносных сосудов с помощью стимулов, исходящих из клеток эндотелия), нейрогенеза (создание новых нейронов) и синаптогенеза (образование новых синапсов), аксонального ремоделирования

(проращение аксонов) и др. Сущность новой стратегии – в выборе средств, которые усиливают эти эндогенные восстановительные процессы, содействуют «ремонту» и возрождению поврежденных структур мозга. Эта стратегия оказывается равнозначно приемлимой для терапии ишемического и травматического поражения, для нейродегенеративных и возрастных заболеваний.

Например, в рамках привычных представлений, применительно к анализу инсульта, речь, как правило, идет о терапевтическом воздействии на зону инфарктного поражения мозга, о границах «терапевтического окна», о возможностях адекватной реперфузии. Во всех этих случаях превалирует подход, исходящий из патофизиологии и патологии, который был подробно документирован сведениями о значении кислородного голодания для ишемизированной ткани, нивелирования оксидативного стресса и апоптоза, стимуляции нейротрофических процессов. Важной оказывалась информация об ограничении гиперактивации глутаматных рецепторов и аккумуляции внутриклеточного кальция, нивелирования нейрального воспаления. Все эти явления были особенно значимы в критической оценке зоны пенумбры (*Kidwell CS, Liebeskind DS, Starkman S, Saver JL. Trends in acute ischemic stroke trials through the 20th century. Stroke. 2001;32(6):1349-59*).

Новая стратегия, учитывающая информацию о конценсусе сигнальных молекул для контроля нейрогенеза, предполагает «нейроресторацию», которая путем экспрессии сигнальных молекул включает стимуляцию нейрогенеза, ангиогенеза, восстановление структур и функций синаптического аппарата, формирования дендритных сетей. Обозначаются пути сигнальных и регуляторных процессов, фармакологическая коррекция которых ведет к восстановлению клеток мозга, его пластичности и функции в целом. Современные исследования указывают на участие регуляторных молекул в восстановлении когнитивных процессов и нормализации поведенческих реакций. Речь идет, таким образом, о конкретных исполнителях «нейрорегенеративного резерва», которые могут быть ориентированы на терапевтическую перспективу.

[4] Остается, тем не менее, вопрос, в какой мере новообразованные клетки могут заместить пластические потери поврежденного мозга? Данные указывают, что число таких новых структур, формирующихся при нейрогенезе в течение нескольких недель, заметно невелико, хотя цитоиммунохимия документирует концентрацию новых клеток в местах повреждения. Однако, достаточно ли вести здесь речь только о «структурной пластической компенсации» повреждений, вызываемых длительным стрессом, депрессией или, как было показано в предыдущих разделах, травмой мозга, ишемией и нейродегенеративными расстройствами?

Новые материалы свидетельствуют о том, что новые клетки могут выступать в качестве своеобразных индукторов компенсаторных процессов в мозге. Повидимому, при нейрогенезе действует механизм аутоэкспрессии нейротрофических и ростовых факторов, поддержки региональной микроциркуляции, стимуляции противовоспалительных хемокинов, реорганизации медиаторной пластичности и др. Как полагает R.Guzman, появление в ткани новых стволовых

клеток в результате трансплантации или эндогенного нейрогенеза, способствует «ремонту» через альтернативные механизмы. Трансформирующиеся клетки нейрогенеза секретируют нейротрофические факторы BDNF, NGF, TGF- α , и факторы роста кровеносных сосудов (VEGF), активации иммуномодуляторов хемокинов и Т-лимфоцитов, экспрессии сигнальных белков типа MAPK-PI/Akt и др. Эти соединения участвуют в организации синаптической пластичности, и нивелировании токсических компонентов воспалительного процесса (R.Guzman. *Cellular stroke therapy: from cell replacement to trophic support. Expert Review of Cardiovascular Therapy.2009;7(10):1187-1190.*). Таким образом, оценка нейрогенеза, как процесса, в результате которого поврежденные структуры мозга получают компенсацию, имеет особую оценку. Такой подход продолжает идею В.Н.Ярыгина о *принципе организующее-индуцирующей терапии* стволовыми клетками. Суть последней состоит в том, что стволовые клетки, участвуя в активации нейротрофинов, ростовых факторов и цитокинов, стимулируют репарационный потенциал собственной ткани пациента (В.Н.Ярыгин. *Тканевые клеточные системы – основа биомедицинских клеточных технологий нового поколения: контуры идеологии. Вестн. Рос.Акад.Мед.Наук.2004;(9):12-19.*).

В регуляцию этапов трансформации нейрональных предшественников оказываются вовлеченными множество молекул, условно структурируемые по функциональной «этажности» как сигнальные белки, трандукторные, транскрипторные и эпигенетические факторы. Вся эта регуляторная полифония организует процессы адаптивной перенастройки систем мозга в норме, патологии и при старении. Таким образом, опираясь на результаты экспериментальных и клинических исследований, где в рамках единой идеи был прослежен путь от начала трансформации нейрональных прогениторов до восстановления поведенческих, эмоциогенных и когнитивных реакций, можно уповать на тот самый «ресторативный» эффект нейрогенеза, стимулируемый новыми терапевтическими принципами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основная часть этой книги посвящена нейрогенезу. Его роли в жизнедеятельности развивающегося, здорового и больного мозга. Современный уровень исследований позволяет обосновать тезис о том, что в мозге идет непрерывный процесс образования новых нейральных структур (нейронов, астроцитов, олигодендроцитов). Доказательно утверждается не только непосредственная «фактология» нейрогенеза, но этапы трансформации эндогенных стволовых клеток - образование нейронов нужного фенотипа, регулируемого большим набором ростовых и нейротрофических факторов и сигнальных молекул. Современные представления о нейрогенезе согласуются с понятием нейропластичности, обобщающей функции мозга. Эти процессы усиливают структурный и функциональный потенциал и служат утверждению адаптивных процессов в здоровом и больном мозге.

На основе большого доказательного материала, что *нервные клетки* (все-таки!) *восстанавливаются*, постулируется концепция АДАПТИВНОЙ МИССИИ НЕЙРОГЕНЕЗА. Тонко регулируемый процесс нейрогенеза охватывает практически все сферы функционирования мозга. Развивающегося. Здорового. Стареющего. Больного. Несомненно, попытка показать механизмы нейрогенеза в конкретных ситуациях – реакциях на изменения среды или многообразных формах нейральной патологии – оставляет ощущение неполноты, будто незавершенности предлагаемой концепции. Однако суммарная информация, представляемая из различных областей исследования – клеточной биологии, биохимии, фармакологии, генетики, патофизиологии и высшей нервной деятельности – создает впечатляющее полотно.

Впервые удастся проложить единую логическую линию между феноменом формирования новых нейронов и интеллектуальной организацией индивидуума. Регуляция когнитивных функций, памяти, поведенческой ориентации, обучения и др. постоянно сопровождают идеологию нейрогенеза. Более того, связь нейрогенеза и комплекса когнитивных процессов корректируется фармакологическими средствами. Интересным открытием оказывается на этом пути информация о влиянии известных антидепрессантов и нейролептиков на нейрогенез. И то, что при экспериментально заблокированном нейрогенезе действие этих препаратов прекращается.

Алгоритм расшифровки механизмов нейрогенеза становится понятным, если учесть, какое большое число сигнальных молекул участвует в этой регуляторной симфонии. На сегодня можно классифицировать четыре этажа таких регуляторов: нейротрофины и ростовые факторы; молекулы трансдукторного каскада; молекулы транскрипторной «проводки» сигнала в репликационный аппарат клетки; эпигенетические факторы, внедряющиеся в управление сигнальной полифонией. С точки зрения медицинской потребности эти молекулы могут стать «мишенями» нацеленного фармакотерапевтического влияния.

Многочисленные данные показывают, что существует динамическая «игра» между инициирующим эффектом экстраклеточных факторов (нейротрофины, цитокины, гормоны, индукторы внешней среды и т.д.) и внутриклеточной программой, которая включает компоненты эпигенетических модификаций. Сюда относятся биохимические процессы метилирования ДНК, модификации гистонов, экспрессии микро-РНК. Нарушения баланса в

системе эпигенетической сети становятся причиной серьезных заболеваний, от онкологических до психоневрологических проявлений. На этом пути ставится задача, с одной стороны, определения диагностических мишеней, а с другой – разработки средств «эпигенетической терапии», создания активаторов или ингибиторов, которые могут контролировать ферменты эпигенетических модификаций.

Обобщая роль сигнальных регуляторов в отношении функций мозга, можно считать, что они выполняют посредническую миссию в контроле нейрогенеза, синаптической пластичности, когнитивных, поведенческих и эмоциональных процессов. Таким образом, речь идет о едином функциональном полотне, когда сигналы внешнего мира посредством внутриклеточных трансдукторных мессенджеров и эпигенетических компонентов превращаются в акты физиологической реальности. Конечным этапом оказываются процессы, организованные как акты психофизиологической организации мозга.

В заключении хочется сослаться на еще один авторитет современной нейробиологии. Нобелевский лауреат Френсис Крик, один из авторов «двойной спирали ДНК», написал в 1972 году:

«Раздумывая о себе самом, человеческий мозг открыл некоторые поразительные факты. Чтобы понять, как он работает, очевидно, нужны новые методики его исследования и новая система понятий» («Мысли о мозге». М. Мир).

В разговоре о нейрогенезе как адаптивной функции современного мозга наличествуют и новые методики исследования (без них был бы невозможен прорыв в молекулярно-клеточную фактуру мозга), и новая система понятий. И, быть может, это последнее и есть главное в понимании триады - *КАК он, мозг, устроен; КАК он работает; и КАК его «починить»* ослабляя или устраняя нарушения, вызванные болезнью, возрастом, негативными влияниями окружающей среды.

ПРИЛОЖЕНИЕ

СЛОВАРЬ ОСНОВНЫХ ПОНЯТИЙ

ПЛЕЙОТРОПНОСТЬ

Понятие, исходящие из генетики, где оно предполагает «влияние гена на несколько фенотипических признаков организма»; находит все более широкое распространение в медицине. В настоящем толковании плейотропность предполагает: (1) влияние регуляторной субстанции/препарата на несколько клеточных мишеней, запускающее различные молекулярные и физиологические процессы в организме; (2) стимулируемую таким воздействием дивергенцию процессов, исходящих от основной «мишени».

НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ

Применительно к нервной системе – способность нервных элементов и регуляторных молекул к адаптивной перестройке под влиянием эндогенных и экзогенных воздействий. В условиях патологии нейропластичность обеспечивает компенсаторную (восстановительную) функцию мозга. Нейропластичность может проявляться как для отдельной клетки (потенциация, защита от повреждения, компенсация функций), так и на уровне интегративной деятельности мозга в целом (адаптация, доминанта, обучение и др.). Структурные, молекулярные и физиологические компоненты нейропластичности включают изменения порога возбудимости потенциал-зависимых мембранных каналов клеток, медиаторную реорганизацию и изменение аффинности рецепторов, изменения структуры и активности синапсов.. Важным фактором регуляции пластичности служит система сигнальных белков (трансдукторных, транскрипторных, эпигенетических – см. ниже), проводящих сигналы от рецепторов к эффекторным мишеням нуклеарного аппарата клетки.

НЕЙРОПРОТЕКЦИЯ

Естественная или терапевтическая стимуляция физиолого - биохимических механизмов, способствующих структурной и функциональной устойчивости мозга. Нейропротекция включает предотвращение гибели нейронов; защиту от окислительного стресса и апоптоза; стабилизацию цитоскелета; поддержание синаптической пластичности; ослабление депозитных образований; стимуляцию нейрогенеза. В идеологии современной медицины нейропротекция, особенно в приложении к возрастным, ишемическим и нейродегенеративным заболеваниям, должна начинаться до проявления клинической картины.

ДОЛГОВРЕМЕННАЯ ПОТЕНЦИАЦИЯ. ДОЛГОВРЕМЕННАЯ ДЕПРЕССИЯ

ДОЛГОВРЕМЕННАЯ ПОТЕНЦИАЦИЯ (длительная потенция; Long-term potentiation, LTP) усиление синаптической передачи между нейронами, сохраняющееся на протяжении длительного времени. LTP участвует в механизмах синаптической пластичности, обеспечивающей адаптацию к условиям внешней среды. Долговременная потенция совместно с долговременной депрессией (LTD) служат основой клеточных механизмов памяти и обучения.

ДОЛГОВРЕМЕННАЯ ДЕПРЕССИЯ (LTD) – активный процесс снижения эффективности синаптического сигнала, которое также может продолжаться длительное время. Совместно с LTP долговременная депрессия представляет двунаправленный контроль синаптической пластичности. Стойкое сохранение LTD способствует приобретению новой информации.

НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ РОСТОВЫЕ ФАКТОРЫ

НЕЙРОТРОФИНЫ - семейство крупных полипептидов, которые регулируют пролиферацию, выживание, дифференцировку и функцию нейронов. Секретируемые нейронами и глией они выполняют сигнальную миссию в большом спектре физиологических процессов. Нейротрофины регулируют структурную и функциональную организацию как отдельных клеток мозга, так и нейрональной сети в целом, являясь модераторами нейрональной пластичности. Одна из основных функций нейротрофинов связана со способностью противостоять окислительному стрессу и апоптозу («программируемой смерти» клетки). Нейротрофины служат регуляторами нейрогенеза, образования из прогениторных (стволовых) нейрональных предшественников новых клеток. Среди наиболее известных нейротрофинов выделяются: фактор роста нервов (NGF), нейротрофический фактор мозга (BDNF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF), инсулиноподобный ростовой фактор (IGF), нейротрофины NT-3 NT-4 и др.

ТРАНСФОРМАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В МОЗГЕ

Исходно процесс начинается в субвентрикулярной зоне и в зубчатой извилине гиппокампа, где образуется так называемая «нейрогенная (стволовая) ниша». В этом микропространстве сконцентрированы факторы, необходимые для деления клеток-предшественников, а также для последующей дифференцировки и интеграции в нейрональную сеть. Большая часть новообразованных клеток подвержена действию апоптоза, своеобразной селекции, однако, этот процесс может контролироваться при экзогенной трофической поддержке (внесение ростовых факторов). Сохранившиеся молодые нейроны образуют синаптические контакты и далее могут функционировать, наряду с другими нейронами. Судьба и фенотипические особенности новых клеток зависят от образованных ими связей и их отсев в результате апоптоза служит механизмом поддержания постоянства численности нейронов. Избежавшие

апоптоза клетки в виде нейробластов мигрируют цепочками, продвигаясь вдоль рострального потока по направлению к обонятельным луковицам. Миграция носит тангенциальный характер; достигнув середины обонятельной луковицы, цепочки новорожденных нейронов распадаются, давая начало радиальной миграции. Здесь происходит их окончательная дифференцировка. Установлено, что клетки-предшественники движутся вдоль кровеносных сосудов, стимулируемые сигнальными молекулами (нейротрофинами и ростовыми факторами), которые синтезируются в эндотелии. Нейрогенез служит одним из механизмов поддержания пластичности мозга. Новообразованные нейроны участвуют в адаптивной перестройке нейрональных сетей, образовании новых синапсов и трансформации синаптических взаимодействий. Эти процессы служат поддержанию эмоциональных и когнитивных функций мозга, обеспечения процессов обучения и памяти.

НЕЙРОГЕНЕЗ

Процесс возникновения новых нейронов, этапной трансформации нейрональных предшественников (прогениторных клеток) в зрелые клетки. Нейрогенез проходит стадии пролиферации, селекции (выживания, *survival*), миграции, дифференцировки и интеграции в нейрональную сеть. Нейрогенез является основной формой возникновения клеток нервной системы в пренатальный период, однако он продолжается в течение всей жизни индивидуума. Основными регионами нейрогенеза в мозге служат субвентрикулярная зона боковых желудочков и субгранулярная зона зубчатой извилины гиппокампа.

ПРОГЕНИТОРНЫЕ КЛЕТКИ — полипотентные стволовые клетки, участвующие в пополнении клеточного пула и ориентированные на дифференцировку в определённый тип клеток. Нейральные прогениторы выполняют функцию предшественников нейральных клеток. В отличие от плюрипотентных стволовых клеток (мезенхимальных клеток), они имеют стойкие биомаркеры, которые позволяют отличить их потомство от клеток других типов.

СУБГРАНУЛЯРНАЯ ЗОНА – пограничная область головного мозга, расположенная между слоем гранулярных клеток и хилусом зубчатой извилины гиппокампа. В субгранулярной зоне происходит постнатальный («взрослый») нейрогенез - образование новых нейронов из полипотентных клеток-предшественников.

СУБВЕНТРИКУЛЯРНАЯ ЗОНА – область головного мозга, которая располагается в латерально расположенной поверхности боковых желудочков мозга. Наряду с субгранулярной зоной зубчатой извилины гиппокампа является основным источником образования новых нейронов.

НЕЗРЕЛЫЕ НЕЙРОНЫ (*Immature Neurons*) - недифференцированные молодые нейроны, еще не интегрированные в нейрональную сеть.

ЗРЕЛЫЕ НЕЙРОНЫ (Mature Neurons) – клетки последней стадии трансформации в нейрогенезе; нейроны, которые инкорпорируются в нейрональную сеть и маркируются по специфическому секретлируемому фактору NeuN.

МИКРОГЛИЯ – ненеурональные клетки центральной нервной системы, которые осуществляют фагоцитарную функцию в околонеурональной среде. Микроглия выделяет также специфические протеазы и цитокины, которые могут повреждать нейроны при выделении избытков глутамата. Чрезмерная активация микроглии приводит к гибели нейронов, являясь одной из причин нейродеструктивных заболеваний.

МАРКЕРЫ НЕЙРОГЕНЕЗА

Принципиальным моментом в идентификации нейральных прогениторов в различные фазы трансформации служит использование химических маркеров. Бета-III-тубулин и даблкортин - ассоциированные с микротрубочками белки, экспрессирующиеся в мигрирующих и дифференцирующихся нейронах. Количественная экспрессия даблкортина отражает нейрогенез во взрослом мозге и его изменения в процессе функциональных перестроек. Нестин - белок промежуточных филаментов, впервые выделенный из нейроэпителия, маркер предшественников в субэпендимной области боковых желудочков мозга. GFAP - глиальный фибриллярный кислый белок. Виментин - синтезируется главным образом в несформировавшейся глии. Глутаминсинтетаза - фермент, участвующий в обмене глутамата и присутствующий только в астроцитах и в олигодендроцитах. Neu-N - белок, определяемый в ядрах зрелых нейронов, их надежный маркер. FABP – маркерный белок, имеющий высокую аффинность к полиненасыщенным жирным кислотам мозга; его низкое содержание свидетельствует о тяжелых нарушениях нервной системы. ПСК-НКАМ - молекула клеточной адгезии нейронов, маркер предшественников нейронов; появление в зрелой нервной ткани отражает перестройки дендритов и аксонов и признается важным фактором пластичности нейронов. Проминин-1 (CD133) - белок плазматической мембраны нейральных стволовых клеток; идентифицируется в качестве нового маркера нейральных прогениторных клеток.

СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В НЕЙРОГЕНЕЗЕ

Notch – семейство сигнальных белков, структурно схожих с эпидермальным ростовым фактором (EGF). Notch представляют собой варианты трансмембранных рецепторов, активация которых стимулирует дифференцировку прогениторных клеток. Трансдукторная сеть Notch причастна ко многим процессам межклеточных взаимодействий, включая нейрогенез в эмбриональном и зрелом мозге. Комбинация этих сигнальных молекул вовлечена в поддержание недифференцированных нейральных прогениторов.

Wnt – сигнальный белок, обозначаемый как комбинация *Wg* (*wingless*) и гомологичного гена *Int*. Семейство *Wnt* экспрессирует множество других сигнальных белков; участвует в регуляции эмбрионального развития. Канонический путь метаболизма *Wnt* связан с изменением концентрации бета-катенина, регулирующего функцию некоторых генов в ядре клетки.

Бета-катенин (β -catenin) – относится к белкам, выполняющим адгезивный контекст. Бета-катенин играет важную роль в процессах эмбрионального и постнатального развития клеток. При последовательной экспрессии *Wnt-Frizzled- β -catenin* последний транслоцируется в ядро клетки.

Ascl1 (*Achaete-scute complex homolog1*). Транскрипционный регулятор; участвует в первичных стадиях трансформации нейральных предшественников.

CDK5 (*Cyclin-dependent kinase 5*). Ферментный белок из семейства циклин-зависимых киназ. Сигнальный фактор трансформации нейральных прогениторов; взаимодействует с рилином, регулятором миграции нейронов. *CDK5* может контролировать активацию NMDA- и дофаминовых рецепторов, влияя на синаптическую пластичность.

Гамма-секретаза (γ -secretase) – внутримембранная протеаза, расщепляющая трансмембранные белки. Основным субстратом служит амилоидный белковый предшественник (*APP*), гидролиз которого приводит к образованию «неправильной» фибриллярной формы – источника амилоидных бляшек. Гамма-секретаза играет важную роль в процессинге белков *Notch*, плейотропных сигнальных молекул нейрогенеза.

DISC1 (*Disrupted in Schizophrenia*, «Нарушенный при шизофрении») – белок, кодируемый одноимённым геном. Мутации этого белка, связаны с шизофренией и с другими психическими расстройствами. *DISC1* взаимодействует с белками, регулирующими рост клеток и их миграцию; участвует в аксональном транспорте молекул. Наивысший уровень *DISC1* в мозге наблюдается на поздних этапах эмбрионального развития коры головного мозга.

Neurogenin-2. Белок, кодируемый геном *NEUROG2*. Образование нейронов глутаматергического фенотипа в ольфакторной луковице происходит из прогениторов, меченых *NEUROG2*. Служит звеном транскрипторного каскада, включающего другие белки (*Pax6, Tbr1, Tbr2*), в процесс нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа и в неокортексе.

CREB (*Cyclic AMP-responsive element binding protein*). Ключевой сигнальный белок который связывается с определенными «локусами» ДНК, регулируя транскрипцию соответствующих генов. Опосредует активацию сигнальных молекул: *c-fos*, нейротрофина *BDNF*, тирозингидроксилазы, энкефалина, кортиколиберина. *CREB* инициирует активность генов, обеспечивающих рост сенсорных нейронов и контакт с моторными нейронами. Сигнальная

миссия CREB сопряжена с регуляцией нейрональной пластичности, пространственной и долговременной памяти.

МикроРНК (miRNA) – короткие молекулы РНК, включающие около 22 нуклеотидов. Контролируют уровень белков, ответственных за реализацию многих основных процессов – от эмбрионального развития и иммунного ответа до адаптивных функций головного мозга. Нейрональный синтез белков, определяющих когнитивные процессы сопряжен с изменениями уровня микроРНК: увеличенный уровень этих молекул ограничивает синтез «шумовых» белков в нейроне, не участвующих в формировании памяти. Однако, изменения в структуре микроРНК могут стать предпосылками к формированию нейродегенеративных заболеваний. МикроРНК участвуют во всех стадиях нейрогенеза (пролиферации, дифференцировки и созревания нейробластов), включая стимуляцию нейрогенеза при ишемии мозга. Выявлено несколько десятков молекул микроРНК, которые контролируют различные фазы нейрогенеза взрослого мозга.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Эпигенетика представляет сумму молекулярных механизмов, необходимых для развертывания генетической программы развития и адаптации организма к требованиям внешней среды. Эпигенетические механизмы подразумевают клеточные процессы, которые, не изменяя геномной последовательности, влияют на ДНК и организуют стойкие биологические эффекты. Основные эпигенетические механизмы включают метилирование ДНК, модификацию гистонов, хроматина и др. Выявлены молекулы – эпигенетические регуляторы; к ним относятся белковые комплексы PcG и TrxG, MeCP2, HDACs, ДНК-метилтрансферазы и др. (см. ниже), которые связаны с регуляцией пролиферации, дифференцировки и становления новых нейральных структур.

За счет влияния этих молекул в ДНК «достраиваются» метильные группы, которые, не меняя содержания генетической информации, значительно влияют на реализацию адаптационных процессов в организме. Экспрессия факторов внешней среды и/или стрессорное воздействие выдают сигналы на стимуляцию нейрогенеза за счет депрессии или экспрессии нейрональных генов, переносящих эти сигналы в геном. Ниже приводятся краткие характеристики отдельных молекул – регуляторов эпигенеза.

PcG. Белки Polycomb group (PcG) являются центральными компонентами эпигенетического контроля онтогенеза. Эта регуляторная система используется также в поддержании плюрипотентности стволовых клеток и их пролиферации.

MECP2 (Methyl CpG binding protein 2). Белок, который кодирует «инструкции», необходимые для синтеза продуктов нормального развития нервных клеток. Установлена роль MeCP2 в экспрессии гена BDNF, важной для модуляции синаптической пластичности. MECP2

конкретизирует роль нейротрофинов в контроле выживания нейронов и синаптических перестройках, необходимых для организации когнитивных процессов в мозге.

HDACs (Histone deacetylases). Деацетилазы гистонов участвуют в нейрогенезе на всех этапах трансформации прогениторов. Генетический нокаут HDAC2 позволил ограничить дегенерацию нейронов на модели болезни Альцгеймера. В материале пациентов, умерших от фатальной деменции, выявлена сверхэкспрессия HDAC2. TrxG.

TRITHORAX (Trithorax). Гетерогенная группа белков, которая участвует в поддержании экспрессии генов, особенно в период эмбрио- и онтогенеза. Участвуют в нейрогенезе на последней стадии специфической дифференцировки и интеграции нейронов.

MBD. Группа метил-ДНК-связывающих белков (methyl-DNA binding proteins). Mbd1 позиционируется как регулятор нейтральных стволовых клеток в субвентрикулярной зоне взрослого мозга. У мышей с нокаутом этого фактора резко снижен нейрогенез и нарушена функция пространственной ориентации.

DNMT. Группа ферментов ДНК-метилтрансферазы, важных в контроле S-фазы клеточного цикла. Dnmt1 и Dnmt3a необходимы для организации синаптической пластичности, обучения и памяти посредством поддержания метилирования ДНК и модуляции экспрессии генов взрослых нейронов. Белки Dnmt's выступают в качестве регуляторов на всех стадиях трансформации нейтральных прогениторов. На модельной ишемии мозга у мышей установлено, что сниженная экспрессия Dnmt1 защищает нейроны от ишемической деструкции. Мутации в механизме метилирования ДНК (дефицит Dnmt1 и Dnmt3a) сопровождаются психическими расстройствами. Сформулирована гипотеза патогенеза шизофрении, где сверхактивность Dnmt1, Dnmt3a и Dnmt 2b ведет к сниженной экспрессии мРНК ГАМК-эргических нейронов. Как следствие, увеличивается возбудимость рецепторов ГАМК и чувствительность нейрональной сети, приводящие к развитию симптомов шизофрении.