

УДК 591.48:591.88

НЕЙРОГЕНЕЗ У ВЗРОСЛЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ: ВОПРОСЫ АДАПТАЦИИ, ЭВОЛЮЦИИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ

Е.В. Пушина, Е.И. Жарикова, А.А. Вараксин

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17)

Ключевые слова: нейрональные стволовые клетки, нейроны, глия, немлекопитающие позвоночные.

NEUROGENESIS IN THE ADULT VERTEBRATE ANIMALS: THE ISSUES OF ADAPTATION, EVOLUTION AND FUNCTIONAL SPECIALIZATION

E.V. Puschina, E.I. Zharikova, A.A. Varaksin

A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690041 Russian Federation)

Summary. The review compares the current data on neurogenesis in the mammalian brain and understanding of the process in fish, reptiles, amphibians and birds. In the course of studying the molecular and cellular long-lived features of neuronal precursor cells, defined for each class, we obtained evidence that adult neuronal progenitor cells non-mammalian vertebrates are equivalent in its properties mammalian stem cells. These observations raise the fundamental question of why neurogenesis is present in some species and is absent in others. Discussions on the subject, brings together consideration of internal and external factors that enhance or hinder brain plasticity and the way in which it changes throughout life in different animal species.

Keywords: neural stem cells, neurons, glia, non-mammalian vertebrates.

Pacific Medical Journal, 2016, No. 2, p. 55–61.

Тканеспецифичные (тотипотентные) стволовые клетки имеют большое значение для функционирования многих органов, поскольку являются донорами при физиологическом обновлении клеток и в случае их потери в результате травмы или болезни. Отсутствие подобных стволовых клеток считается причиной ограниченной регенерации в центральной нервной системе взрослых млекопитающих. Однако недавно в мозге взрослых млекопитающих, в субэпендимной зоне бокового желудочка, где формируются интернейроны обонятельной луковицы, мигрирующие в составе рострального миграционного потока, и субгранулярной зоны зубчатой извилины гиппокампа, продуцирующей гранулярные нейроны, были обнаружены клетки, обладающие функциями стволовых [30, 39]. Физиологические факторы и молекулярные механизмы, управляющие судьбой нейральных стволовых клеток, в настоящее время интенсивно исследуются [32].

Большое внимание изучению нейрогенеза уделял П.А. Мотавкин. К началу 70-х годов прошлого века был известен ряд факторов, позволяющих считать, что в эпендимной зоне спинного мозга наблюдается не просто облитерация центрального канала, а образование многокомпонентного нейроэндокринного

комплекса. П.А. Мотавкин был первым, кто рассмотрел пролиферацию эпендимных клеток, ангио- и нейрогенез в хроно- и топологическом единстве и доказал, что он формируется в определенном возрасте в результате взаимодействия этих процессов, и назвал это образование интраспинальным органом. При его исследовании П.А. Мотавкиным впервые были рассмотрены процессы пролиферации глиоцитов эпендимы, их последующая дифференцировка и формирование дефинитивного органа [1, 44]. На сегодняшний день мозг грызунов (мышей и крыс) используется в качестве общепринятой модельной системы, имитирующей условия в мозге человека. Тем не менее нейрогенез в зрелом мозге обнаруживается не только у млекопитающих, но и у других позвоночных, в том числе птиц, рептилий, амфибий и рыб [11, 28]. Интересные данные были получены при исследовании этих видов немлекопитающих позвоночных, обеспечивающие сравнительные модели для изучения «взрослого» нейрогенеза. Это связано, в частности, с анализом влияния клеточного микроокружения и факторов, необходимых для поддержания жизнедеятельности нейрональных стволовых клеток (НСК), регулирующих скорость образования взросло-рожденных нейронов в пролиферативных областях мозга [33, 50].

Локализация нейрогенных зон у взрослых немлекопитающих позвоночных

Нейрогенез во взрослом возрасте значительно ярче представлен в мозге у птиц, рептилий, амфибий и рыб, чем у млекопитающих [3]. Этот процесс, как правило, регистрируется в перивентрикулярных областях мозга и выполняет адаптивные функции. Однако области мозга, в которых расположены пролиферативные зоны, могут варьировать у разных видов в соответствии с их последующей функциональной специализацией [35, 58]. Можно рассмотреть данные для некоторых широко распространенных модельных объектов, хотя в настоящее время сказывается нехватка детальной информации для сравнительной оценки видоспецифических отличий и определения общего значения таких наблюдений для каждой систематической группы.

Впервые исследования нейрогенеза у взрослых немлекопитающих животных были проведены на певчих птицах [4, 14, 51]. Певчие птицы, у которых обучение потомства не ограничено возрастом, и птицы,

Пушина Евгения Владиславовна – д-р биол. наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник ИБМ; e-mail: puschina@mail.ru

ограниченные возрастными рамками при обучении птенцов (канарейка, черный дрозд, скворец, воробей, зебровая амадина) – известные модели для нейрогенетических исследований [11]. Часть наблюдений проводилась в естественной среде обитания этих птиц, что доказало наличие нейрогенеза во взрослом мозге не только как исключительно лабораторного феномена. Нейрогенез также обнаружен у взрослых рептилий (ящериц и черепах) и у амфибий [18]. Он зарегистрирован у нескольких видов рыб: *Nothobranchius furzeri*, колюшки, аптеронотуса, золотой рыбки, симы и форели [9, 17, 45, 55, 58, 60]. Однако в вышеперечисленных работах не были представлены данные о конкретных фенотипах клеток, участвовавших в нейрогенезе. Недавно описаны особенности нейрогенеза у взрослых данео (*Danio rerio*), имеющего существенные отличия от нейрогенеза у других видов рыб [27, 32, 35]. Эти исследования позволяют более полно охарактеризовать сравнительную картину организации нейрогенных зон, а также исследовать выживание и интегрирование в нейрональные сети взросло-рожденных нейронов.

У всех исследованных до настоящего времени немлекопитающих животных нейрогенез в мозге идет в течение всей жизни. У птиц зоны пролиферации чаще всего расположены вдоль стенок бокового желудочка конечного мозга и продуцируют новые нейроны в дорсальных ядрах теленцефалона, в нидопаллиуме (являющимся высшим голосовым центром), гиппокампе и параolfакторной доле стриатума, содержащей ядро блуждающего нерва [4, 14]. У рептилий нейрогенез регистрируется во всех крупных отделах мозга и, в меньшей степени, – в мозжечке [18]. У лягушек и аксолотля он происходит в конечном мозге, преоптических ядрах и коре большого мозга [13]. Фундаментальное отличие от других видов выявлено у рыб, нейрогенез у которых хотя и распространен во всех подразделениях головного мозга, как и у других позвоночных, однако, концентрируется в локальных участках (что свидетельствует о существовании каких-либо особых условий его регуляции) [13, 60].

Нейрональные стволовые клетки у взрослых немлекопитающих позвоночных

Источниками новых нейронов у взрослых млекопитающих являются НСК, и важно выяснить, имеют ли они и предшественники нейронов у немлекопитающих сходные характеристики. Зрелая НСК должна обладать двумя основными свойствами, первое из них – мультипотентность [7]. Так, НСК способны преобразовываться в нейроны и глиальные элементы, как в условиях организма, так и *in vitro*, хотя направление дифференцировки может определяться клеточным микроокружением и другими факторами [2]. Второе свойство – способность НСК к самовозобновлению. В ходе деления клетка либо дает начало двум дочерним стволовым клеткам, либо порождает стволовую

клетку и клетку, которая впоследствии дифференцируется в нейрон или глиоцит [26]. Теоретически самовозобновление не является предопределенным. Более того, одной из базовых характеристик стволовых клеток можно назвать состояние покоя, то есть процессы деления регистрируются сравнительно редко [7].

Несмотря на то, что выявление НСК – относительно простая процедура, ее довольно трудно продемонстрировать на практике. В частности, способность к пролиферации и мультипотентность могут быть проверены только путем выполнения повторяющихся последовательных трансплантаций одиночных клеток и последующего истощения всей популяции, как было установлено для кроветворной системы [40]. Медленное деление обычно констатируют постфактум: стволовыми являются либо те клетки, которые сохраняются в цикле без разбавления бромдезоксифуридиновой (BrdU) метки в течение достаточно долгого времени. Следовательно, точная идентификация эндогенных взрослых НСК в настоящее время трудноосуществима. На практике определяются «долгосрочные», «самовозобновляющиеся» или «медленно пролиферирующие» группы клеток-предшественников, то есть те, которые включают BrdU при накопительной экспозиции и остаются в цикле в течение длительного времени (по сравнению с продолжительностью жизни) без разбавления и/или удаленной миграции метки [11, 27]. Вслед за доказательством существования нейрогенеза в мозге взрослых позвоночных основная дискуссия связана с тем, какие элементы могут рассматриваться в качестве НСК в соответствии с описанными критериями. Также актуален вопрос, какой из этих критериев однозначно реализуем для НСК млекопитающих. С момента появления первых доказательств существования нейрогенеза в мозге взрослых грызунов, опубликованных более 40 лет назад, набор инструментов для выявления и изучения НСК значительно расширился [30, 32].

Медленнопролиферирующие клетки-предшественники

В исследованиях на мышах были получены противоречивые результаты, относительно того, что эндимициты, выстилающие стенки бокового желудочка, являются стволовыми клетками [50]. Одно время была широко распространена гипотеза о том, что астроциты, экспрессирующие глиальный фибриллярный кислый белок, и есть источники новых нейронов [16]. Однако в дальнейшем эта гипотеза не подтвердилась: было установлено, что астроциты формируют гетерогенную популяцию, и только некоторые из них могут быть названы стволовыми [54]. Одна из морфологических характеристик НСК – наличие одной реснички, контактирующей с просветом мозгового желудочка [16]. Существование медленно пролиферирующих астроцитов было установлено с помощью фармакологических препаратов, снижающих скорость пролиферации,

и маркирования BrdU. Например, цитозинарабиноза убивает пролиферирующие клетки, при этом не оказывая подобного влияния на покоящуюся популяцию [16]. Таким образом, маркировка BrdU в условиях воздействия цитозинарабинозы позволяет выявить медленно пролиферирующие клетки.

В субэпендимной зоне были идентифицированы три популяции клеток. Медленно делящиеся В-клетки, представляют собой астроциты, связанные с желудочком через эпендиму и дающие начало популяции быстро пролиферирующих С-клеток, которые затем производят А-клетки – мигрирующие нейробласты [20]. На основе ретровирусных методик (с помощью цитозинарабинозы) и электронной микроскопии в субгранулярной зоне были выявлены первичные предшественники – клетки радиальной или горизонтальной популяции медленно делящихся астроцитов. Они преобразуются в пролиферирующие клетки D1, которые генерируют молодые нейроны [53].

Иммуномаркирование глиальным фибриллярным кислым протеином и жиросвязывающим белком мозга позволило установить наличие клеток радиальной глии вдоль всего мозга рыб *D. rerio*. Эта популяция медленно пролиферирующих клеток была также обнаружена *in vivo* с помощью BrdU и ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA – proliferating cell nuclear antigen) [5, 10]. Этот эксперимент проводился с целью разделить популяции быстро пролиферирующих (BrdU⁺/PCNA⁺) и медленно пролиферирующих (BrdU⁻/PCNA⁺) клеток. Суть эксперимента заключалась в том, что PCNA должен присутствовать во всех фазах клеточного цикла за исключением фазы G1, когда ингибитор клеточного цикла p21 вызывает деградацию PCNA [31], а BrdU включался только в S-фазе. В целом, если клеточный цикл будет коротким, большое количество клеток останется в S-фазе, а если клеточный цикл будет длинным, то количество маркированных BrdU клеток уменьшится. Опираясь на эту парадигму, а также на факт сохранения BrdU-метки, у *D. rerio* были выявлены элементы с длинным клеточным циклом в конечном мозге, ножке шишковидного тела, гипоталамусе, мозжечке, крыше среднего мозга и в районе перешейки [5, 10, 21]. Используя BrdU в качестве маркера быстро пролиферирующей популяции клеток в этих областях в дальнейшем было установлено наличие нейробластов и нейронов [36].

Самообновление нервных клеток-предшественников у позвоночных

Доказательства процесса самовозобновления нервных клеток у млекопитающих основаны на так называемом анализе нейросфер [19]. Диссоциированные клетки из субгранулярной или субэпендимной зоны культивировали *in vitro* в присутствии факторов роста, (эпидермального или фактора роста фибробластов), в результате чего клетки начинали формировать кластеры

сферической формы. После этого анализировали клетки, полученные из вторичных нейросфер, которые в свою очередь были получены из одиночных клеток первичной нейросферы. Хотя преимущество подобного подхода заключается в выявлении потенциала выделенных элементов, тем не менее данный метод не позволяет полностью раскрыть существо процессов клеточного самовозобновления. К примеру, неясно, каким образом клетки в нейросфере формируют прогениторы переходного типа. Этот вопрос особенно актуален для субгранулярной зоны, где способность клеток генерировать вторичные нейросферы остается спорной [52]. Кроме того, накапливается все больше свидетельств, что клетки в нейросферах ведут себя иначе, чем *in vivo*. Например, в культуре этих клеток были обнаружены такие комбинации маркеров, которые никогда не встречались *in vivo* [41]. Более того, даже такой параметр, как плотность распределения клеток, может влиять на состояние их пролиферации и/или жизнеспособность [43]. Наконец, культивирование *in vitro* может изменить генетические и эпигенетические свойства клеток [41].

В условиях *in vivo*, «неопределенное самовозобновление» НСК у млекопитающих также может быть поставлено под сомнение. Снижение уровня пролиферации, связанное с возрастом (как показывает маркирование BrdU) и выживание новорожденных нейронов наблюдали как в субгранулярной, так и в субэпендимной зонах [2, 37]. Предположительно, НСК фактически не самовозобновляются, в отличие, например, от гематопоэтических стволовых клеток. Является ли данный феномен результатом изменений внутренних свойств стволовых клеток или он возникает из-за отсутствия внешнего влияния, оказываемого нейрогенной нишей, предстоит выяснить в будущих исследованиях.

Свойство мультипотентности клеток-предшественников у грызунов и рыб

Потенциальные судьбы клеток-предшественников субгранулярной и субэпендимных зон часто прослеживаются *in vitro* с помощью нейросфер, поскольку они содержат не только сами «стволовые клетки», но и их уже дифференцированных потомков. Впрочем, этот способ имеет значительные ограничения.

НСК и в субгранулярной, и в субэпендимной зонах в основном производят новые нейроны. Обновление глии несколько ограничено, хотя олигодендроциты могут происходить либо из клеток субэпендимной зоны, либо путем глиальной дифференцировки клеток-предшественников в составе роstralного миграционного потока [23]. *In vivo* при инъекции ретровирусов в желудочки головного мозга наблюдали пролиферацию клеток [42]. Тем не менее данный метод ограничен двумя факторами. Во-первых, из-за небольшого временного окна, аналогично BrdU, вирус интегрируется в геном только быстропролиферирующих популяций, и не затрагивает медленно

размножающиеся стволовые клетки. Во-вторых, по статистике, вирус интегрируется только в одну из двух дочерних клеток [24]. Лентивирусы, напротив, могут включаться в покоящиеся клетки, и, следовательно, подходят для использования при отслеживании потомков субгранулярных субэпендимных стволовых клеток [12]. При данном подходе мультипотентность одиночной инфицированной клетки позволяет использовать нейросферный анализ во время диссоциации и роста культуры прогениторных зон, инфицированных лентивирусами [34].

У рыб нейросферы из конечного мозга и мозжечка аптеронотуса могут дифференцироваться в нейроны, а также в клетки глии [25]. Однако ограничения, существующие при интерпретации данных нейросферных исследований, здесь также справедливы. Для того, чтобы определить мультипотентность клеток-предшественников *in vivo*, важно исследовать их без пересева в культуру. У *D. rerio*, как и у млекопитающих, из клеток-предшественников образуются в основном нейроны, а не глиальные клетки. Ранее у этой рыбы были описаны несколько новых ненейрональных клеток во внешнем слое обонятельной луковицы и в паренхиме конечного мозга [36]. Кроме того, небольшое число вновь образованных клеток, экспрессирующих маркер астроцитов – белок S100, было обнаружено вдоль желудочка конечного мозга, в дорсальной части гипоталамуса и в мозжечке [21]. Каковы причины такого паттерна распределения нейронов и ненейрональных клеток у данио пока неясно, однако, ограниченная продукция астроцитов во взрослом мозге находится в соответствии с их общим низким содержанием в мозге костистых рыб.

В наших исследованиях при получении первичной культуры клеток мозга симы *Oncorhynchus masou* и форели *Oncorhynchus mykiss* и маркировке PCNA было установлено, что пролиферативная активность в большей степени характерна для суспензионной фракции и в меньшей степени – для монослоя [47]. Однако пролиферирующие клетки *in vitro* часто экспрессируют фермент синтеза сероводорода – цистатионин β-синтазу, что свидетельствует об участии данного газотрансмиттера во взрослом нейрогенезе. Эти данные соответствуют ранее полученным результатам маркирования этой синтазой клеток в перивентрикулярной и вторичной пролиферативной зонах мозга взрослого карпа и симы *in situ* [46, 49]. Другой особенностью первичной культуры клеток мозга лососевых рыб является их способность экспрессировать маркер нейродифференцировки Nu/CD как в крупных дифференцированных клетках, так и в мелких недифференцированных клетках из нейрогенных зон. Различный уровень интенсивности маркирования в нейронах дефинитивных центров и пролиферативных зонах конечного мозга, мозжечка, зрительного тегмента и продолговатого мозга у форели установлен после нанесения механического повреждения зрительного нерва *in vivo* [48].

Все эти наблюдения указывают на сопоставимые свойства клеток-предшественников, которые дают начало большинству новых нейронов в мозге взрослых рыб и млекопитающих. К настоящему времени достигнут существенный прогресс в вопросах идентификации НСК и несколько расширены их определения в обоих таксонах. Однако показано, что возможность к их неограниченному самовозобновлению не поддерживается в экспериментах *in vivo*. Это предполагает дальнейший анализ мультипотентности единичной прогениторной клетки.

Образование, поддержание и функции взрослых нервных стволовых клеток у немлекопитающих позвоночных

Пролиферативная активность и дальнейшая судьба НСК у взрослых особей зависит от их локализации. Учитывая, что данные свойства имеют существенные межвидовые отличия, сравнение различных моделей помогает раскрытию механизмов, ответственных за пролиферацию и дифференцировку клеток. При рассмотрении отдельно взятого региона мозга возникает вопрос: что именно определяет здесь судьбу отдельных групп НСК у разных видов? Например, субпаллиальная прогениторная зона у *D. rerio*, продуцирующая нейроны обонятельной луковицы, также производит клетки теленцефалона [5]. Это никогда не наблюдается у мышей, чья субэпендимальная зона «поставляет» только нейроны обонятельной луковицы.

Результаты наших исследований распределения тирозингидроксилазы и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) в перивентрикулярном диэнцефалоне, мезенцефалоне и ромбэнцефалоне молодого карпа (рис., а, б) свидетельствуют о наличии катехоламин- и ГАМК-продуцирующих клеток в перивентрикулярных зонах мозга лососей разных возрастных групп [45]. У карпа, напротив, в перивентрикулярной зоне клетки, маркируемые тирозингидроксилазой и PCNA не имеют радиальных отростков (рис., в, г), однако расположены среди волокон радиальной глии. Классические нейромедиаторы, таким образом, выступают не только как регуляторы функциональной активности нейронов и модуляторы синаптической передачи в зрелых нейронных сетях, но и рассматриваются в качестве индукторов развития (морфогенетических факторов) мозга в постэмбриональном онтогенезе рыб. Доказательством этому служит обнаружение фенотипических незрелых элементов, экспрессирующих вышеуказанные молекулы в пролиферативных зонах мозга трехлетней симы, а также элементов, имеющих морфологию радиальной глии.

Паттерны экспрессии маркеров радиальной глии в эмбриональном и взрослом мозге млекопитающих несколько отличаются. Во время эмбрионального развития эта глия в мозге млекопитающих экспрессирует жиросвязывающий белок и глутамат/аспаратный транспортер [6]. Согласно другим данным клетки радиальной глии, расположенные вдоль желудочка во взрослом мозге мыши имеют низкую иммунопозитивность к глутамат/аспаратному транспортеру, но

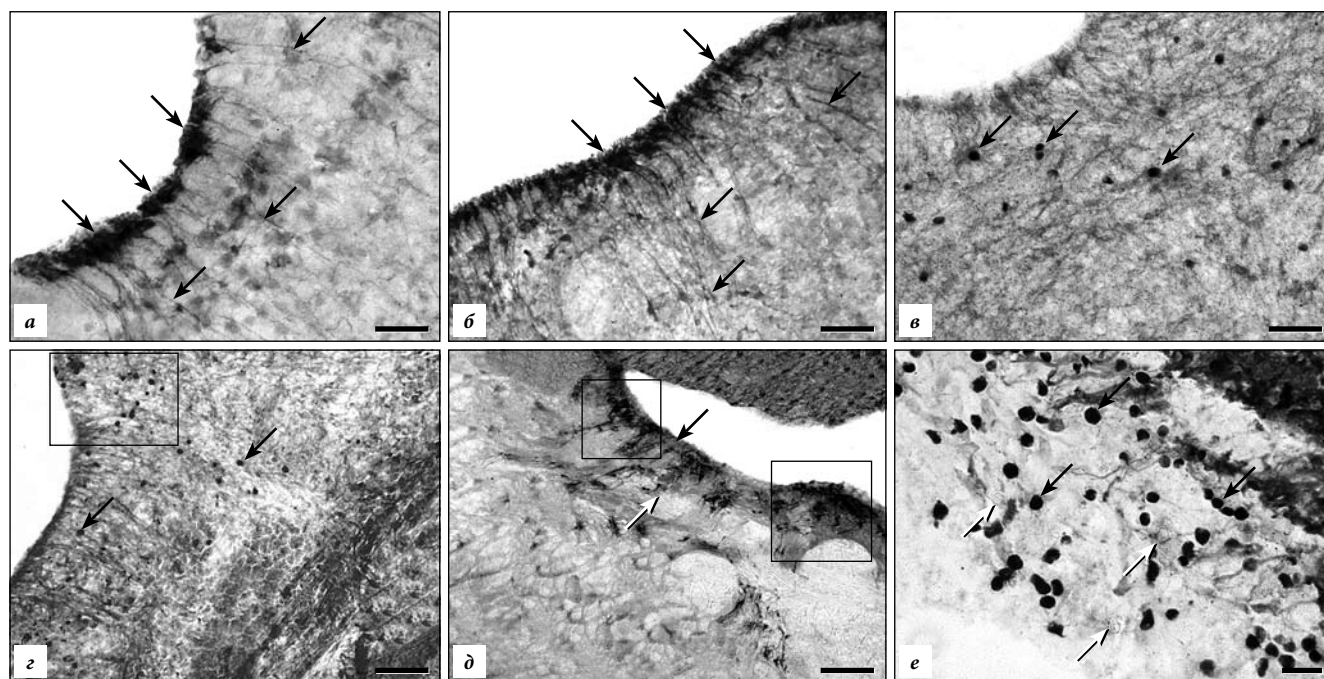


Рис. Маркеры клеток перивентрикулярной области симы *Oncorhynchus masou* (а, б, д) и карпа *Cyprinus carpio* (в, г, е):

а – тирозингидроксилаза в перивентрикулярном диэнцефалоне; б – ГАМК в вентральном таламусе; в – тирозингидроксилаза в клетках перивентрикулярной зоны ствола мозга; г – ядерный антиген пролиферирующих клеток в перивентрикулярных клетках ствола (скопление клеток выделены прямоугольником); д – NADPH-диафораза в клетках перивентрикулярной зоны ствола (скопления реактивных клеток выделены прямоугольником); е – цистатионин β-синтаза-иммунопозитивные клетки перивентрикулярной зоны продолговатого мозга. Черными стрелками показаны иммунопозитивные клетки и радиальные волокна, белыми – иммунонегативные. Масштаб: а, в – 50 мкм, б, г – 100 мкм, д – 200 мкм, е – 20 мкм.

при этом экспрессируют глиальный фибриллярный кислый протеин и виментин [56]. В мозге взрослых рыб клетки радиальной глии вырабатывают глиальный фибриллярный кислый протеин, что сходно с мозгом млекопитающих, но эти клетки в мозге рыб также являются позитивными на жиросвязывающий белок [57]. Подобные клетки участвуют в нейрогенезе и нейрональной миграции как в интактном, так и в поврежденном мозге рыб, что в свою очередь определяет высокий нейрорегенеративный потенциал [59].

Гипотеза о том, что радиальная глия во взрослом мозге направляет миграцию нейронов, была подтверждена в многочисленных исследованиях на рыбах. В частности, морфология и размеры клеток радиальной глии с длинными отростками, достигающими базальной мембраны и играющими ключевую структурную роль во время нейрональной миграции во взрослом мозге рыб, являются очень сходными с таковыми в развивающемся мозге [15]. Распределение и ориентация волокон этой глии в мозге взрослых особей указывает на направления миграции вновь образованных нейронов, использующих радиально-ориентированные волокна как направляющие для достижения дефинитивного месторасположения внутри кортикальной пластинки [61]. Подобная стратегия оправдана в случае миграции клеток на большие расстояния. Другой особенностью радиальной глии можно назвать экспрессию микротубулин-связывающего белка даблкортина, обнаруженного вблизи от мигрирующих нейронов и радиальных волокон в мозге взрослых крыс, что подтверждено данными электронно-микроскопических исследований [8, 22].

Результаты иммунофлуоресцентного маркирования BrdU и нейронального протеина Hu/CD, идентифицирующие вновь образованные нейроны, перекрываются с маркированием волокон радиальной глии, иммунопозитивных к кислому глиальному фибриллярному белку, показывая, что вновь образованные нейроны мигрируют вдоль радиальных волокон [59, 38].

Согласно другой гипотезе, прогениторы из вентрального субпаллиума во взрослом теленцефалоне данио, мигрирующие в обонятельную луковицу в составе рострального миграционного потока, затем дифференцируются в катехоламин- и ГАМК-ергические клетки [5]. Популяция реснитчатых серотонинергических клеток на границе среднего мозга и мозгового ствола данио дифференцируется в нейроны и глию [10]. В мозжечке взрослого данио НСК обладают характеристиками нейроэпителиальных элементов и продуцируют предшественники гранулярных клеток в присутствии фактора роста фибробластов [29]. Эти данные указывают, что клетки-предшественники во взрослом мозге данио сохраняют свойства, сходные с таковыми в центральной нервной системе млекопитающих. Таким образом, взрослый мозг рыб может рассматриваться как удачная модель взрослого нейрогенеза позвоночных [11, 28].

Наличие маркеров газообразных посредников (оксида азота и сероводорода) в областях, экспрессирующих PCNA, свидетельствует об участии газотрансмиттеров в регуляции постэмбрионального нейрогенеза рыб. У рыб с пролонгированным циклом развития (сима и карп) экспрессия таких маркеров

в перивентрикулярных пролиферативных областях мозга может различаться (рис., д, е), что согласуется с представлением о том, что в функционально сходных комплексах у животных могут быть задействованы различные сигналотрансдукторные системы [46]. Развитие нервной системы лососей, карпов и осетров, в отличие от широко распространенной нейрогенетической модели *D. rerio*, происходит в течение длительного времени. По нашим данным, развитие различных структур центральной нервной системы характеризуется выраженной гетерохронией, т.е. клетки каудальных отделов мозга значительно раньше, чем нейроны переднемозговых отделов, приобретают черты фенотипической специализации. Мы полагаем, что мозг этих животных долгое время сохраняет признаки фетальной организации, и наличие в течение первого и второго годов жизни малодифференцированных фенотипически незрелых клеточных форм, подтверждает эту гипотезу.

Если рассматривать проблему более глобально, на уровне всего мозга, главным вопросом становится определение того, какие механизмы и молекулярные компоненты содействуют активному нейрогенезу у одних видов, и почему они не работают у других, как например, долгоживущие клетки-предшественники, расположенные вдоль поверхности желудочков конечного мозга *D. rerio* [35]. У мышей нейрогенез не регистрируется в коре головного мозга. Таким образом, выяснение его механизмов в конечном мозге у позвоночных различных филогенетических групп поможет выявить то, что отсутствует, или, наоборот, то, что должно присутствовать у млекопитающих во взрослом мозге для формирования новых нейронов. Это обоснование справедливо и для других областей, где был обнаружен нейрогенез у взрослых особей. Наконец, сравнивая модели животных с разными стилями жизни, особенностями поведения и обитающих в различных экологических условиях мы сможем достичь более глубокого понимания механизмов нейрогенеза.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ (МД 4318.2015.04) и программы фундаментальных исследований ДВО РАН «Дальний Восток» (проект № 15-1-6-116). Литература

1. Мотавкин П.А., Бахтинов А.П. Интраспинальный орган человека // Архив анат. гистол. эмбриол. 1990. Т. 99, № 10. С. 5–19.
2. Abrous D.N., Koehl M., Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology // *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85. P. 523–569.
3. Abrous D.N., Koehl M., Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology // *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85. P. 523–569.
4. Absil P., Pinxten R., Balthazart J., Eens M. Effect of age and testosterone on autumnal neurogenesis in male European starlings (*Sturnus vulgaris*) // *Behav. Brain Res.* 2003. Vol. 143. P. 15–30.
5. Adolf B., Chapouton P., Lam C.S. [et al.]. Conserved and acquired features of adult neurogenesis in the zebrafish telencephalon // *Dev. Biol.* 2006. Vol. 295. P. 278–293.
6. Anthony T.E., Klein C., Fishell G., Heintz N. Radial glia serve as neuronal progenitors in all regions of the central nervous system // *Neuron.* 2004. Vol. 41. P. 881–890.
7. Berninger B., Hack M.A., Gotz M. Neural stem cells: on where they hide, in which disguise, and how we may lure them out // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2006. Vol. 174. P. 319–360.
8. Brunne B., Zhao S., Derouiche A. [et al.]. Origin, maturation, and astroglial transformation of secondary radial glial cells in the developing dentate gyrus // *Glia.* 2010. Vol. 58. P. 1553–1569.
9. Candal E., Anadon R., DeGrip W.J., Rodriguez-Moldes I. Patterns of cell proliferation and cell death in the developing retina and optic tectum of the brown trout // *Brain Res. Dev. Brain Res.* 2005. Vol. 154. P. 101–119.
10. Chapouton P., Adolf B., Leucht C. [et al.]. *her5* expression reveals a pool of neural stem cells in the adult zebrafish midbrain // *Development.* 2006. Vol. 133. P. 4293–4303.
11. Chapouton P., Jagasia R., Bally-Cuif L. Adult neurogenesis in non-mammalian vertebrates // *Bioessays.* 2007. Vol. 29. P. 745–757.
12. Consiglio A., Gritti A., Dolcetta D. [et al.]. Robust *in vivo* gene transfer into adult mammalian neural stem cells by lentiviral vectors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol. 101. P. 14835–14840.
13. Coumailleau P., Pellegrini E., Adrio F. [et al.]. Aromatase, estrogen receptors and brain development in fish and amphibians // *Biochim. Biophys. Acta.* 2015. Vol. 1849. P. 152–162.
14. DeWulf V., Bottjer S.W. Age and sex differences in mitotic activity within the zebra finch telencephalon // *J. Neurosci.* 2002. Vol. 22. P. 4080–4094.
15. Diotel N., Vaillant C., Gueguen M.M. [et al.]. *Cxcr4* and *Cxcl12* expression in radial glial cells of the brain of adult zebrafish // *J. Comp. Neurol.* 2010. Vol. 518. P. 4855–4876.
16. Doetsch F., Caillé I., Lim D.A. [et al.]. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain // *Cell.* 1999. Vol. 97. P. 703–716.
17. Ekstrom P., Johnsson C.M., Ohlin L.M. Ventricular proliferation zones in the brain of an adult teleost fish and their relation to neuromeres and migration (secondary matrix) zones // *J. Comp. Neurol.* 2001. Vol. 436. P. 92–110.
18. Font E., Desfilis E., Perez-Canellas M.M., Garcia-Verdugo J.M. Neurogenesis and neuronal regeneration in the adult reptilian brain // *Brain Behav. Evol.* 2001. Vol. 58. P. 276–295.
19. Gage F.H. Mammalian neural stem cells // *Science.* 2000. Vol. 287. P. 1433–1438.
20. Garcia A.D., Doan N.B., Imura T. GFAP-expressing progenitors are the principal source of constitutive neurogenesis in adult mouse forebrain // *Nat. Neurosci.* 2004. Vol. 7. P. 1233–1241.
21. Grandel H., Kaslin J., Ganz J. [et al.]. Neural stem cells and neurogenesis in the adult zebrafish brain: origin, proliferation dynamics, migration and cell fate // *Dev. Biol.* 2006. Vol. 295. P. 263–277.
22. Gubert F., Zaverucha-do-Valle C., Pimentel-Coelho P.M. [et al.]. Radial glia-like cells persist in the adult rat brain // *Brain Res.* 2009. Vol. 1258. P. 43–52.
23. Hack M.A., Saghatelian A., de Chevigny A. [et al.]. Neuronal fate determinants of adult olfactory bulb neurogenesis // *Nat. Neurosci.* 2005. Vol. 8. P. 865–872.
24. Hajihosseini M., Iavachev L., Price J. Evidence that retroviruses integrate into post-replication host DNA // *EMBO J.* 1993. Vol. 12. P. 4969–4974.
25. Hinsch K., Zupanc G.K. Isolation, cultivation, and differentiation of neural stem cells from adult fish brain // *J. Neurosci. Meth.* 2006. Vol. 158. P. 75–88.
26. Huttner W.B., Kosodo Y. Symmetric versus asymmetric cell division during neurogenesis in the developing vertebrate central nervous system // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2005. Vol. 17. P. 648–657.
27. Ito Y., Tanaka H., Okamoto H., Ohshima T. Characterization of neural stem cells and their progeny in the adult zebrafish optic tectum // *Dev. Biol.* 2010. Vol. 342. P. 26–38.
28. Kaslin J., Ganz J., Brand M. Proliferation, neurogenesis and regeneration in the non-mammalian vertebrate brain // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2008. Vol. 363. P. 101–122.
29. Kaslin J., Ganz J., Geffarth M. [et al.]. Stem cells in the adult zebrafish cerebellum: initiation and maintenance of a novel stem cell niche // *J. Neurosci.* 2009. Vol. 29. P. 6142–6153.

30. Kempermann G. Adult neurogenesis: stem cells and neuronal development in the adult brain. New York: Oxford Univ. Press, Inc., 2006. 434 p.
31. Kippin T.E., Martens D.J., van der Kooy D. p21 loss compromises the relative quiescence of forebrain stem cell proliferation leading to exhaustion of their proliferation capacity // *Genes Dev.* 2005. Vol. P. 756–767.
32. Krogh K., Sørensen C., Nilsson G.E., Øverli Ø. Forebrain cell proliferation, behavior, and physiology of zebrafish, *Danio rerio*, kept in enriched or barren environments // *Physiol. Behav.* 2010. Vol. 101. P. 32–39.
33. Lema S.C., Hodges M.J., Marchetti M.P., Nevitt G.A. Proliferation zones in the salmon telencephalon and evidence for environmental influence on proliferation rate // *Comp. Biochem. Physiol.* 2005. Vol. 141A. P. 327–335.
34. Lie D.C., Colamarino S.A., Song H.J. [et al.]. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis // *Nature.* 2005. Vol. 437. P. 1370–1375.
35. Lindsey B.W., Darabie A., Tropepe V. The cellular composition of neurogenic periventricular zones in the adult zebrafish forebrain // *J. Comp. Neurol.* 2012. Vol. 520. P. 2275–2316.
36. Lindsey B.W., Donato S., Kaslin J., Tropepe V. Sensory-specific modulation of adult neurogenesis in sensory structures is associated with the type of stem cell present in the neurogenic niche of the zebrafish brain // *Eur. J. Neurosci.* 2014. Vol. 40. P. 3591–3607.
37. Luo J., Daniels S.B., Lenington J.B. [et al.]. The aging neurogenic subventricular zone // *Aging Cell.* 2006. Vol. 5. P. 139–152
38. Marin O., Rubenstein J. Cell migration in the forebrain // *Annu. Rev. Neurosci.* 2003. Vol. 26. P. 441–483.
39. Ming G.L., Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system // *Annu. Rev. Neurosci.* 2005. Vol. 40. P. 223–250.
40. Morrison S.J., Wandycz A.M., Hemmati H.D. [et al.]. Identification of a lineage of multipotent hematopoietic progenitors // *Development.* 1997. Vol. 124. P. 1929–1939.
41. Morshead C.M., Benveniste P., Iscove N.N., van der Kooy D. Hematopoietic competence is a rare property of neural stem cells that may depend on genetic and epigenetic alterations // *Nat. Med.* 2002. Vol. 8. P. 268–273.
42. Morshead C.M., Craig C.G., van der Kooy D. In vivo clonal analyses reveal the properties of endogenous neural stem cell proliferation in the adult mammalian forebrain // *Development.* 1998. Vol. 125. P. 2251–2261.
43. Morshead C.M., van der Kooy D. Disguising adult neural stem cells // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2004. Vol. 14. P. 125–131.
44. Motavkin P.A., Bactinov A.P. Postnatal development of human spinal cord ependymal innervation // *Neurosci. Behav. Physiol.* 1973. Vol. 6. P. 253–259.
45. Pushchina E.V., Obukhov D.K., Varaksin A.A. Features of adult neurogenesis and neurochemical signaling in the cherry salmon *Oncorhynchus masou* brain // *Neur. Regen. Res.* 2013. Vol. 8. P. 13–23.
46. Pushchina E.V., Obukhov D.K., Varaksin A.A. Participation of catecholamines, H₂S and NO in neurotransmission, neuromodulation and regulation of adult neurogenesis in carp brain // *Carp and Catfish: Biology, Behavior and Conservation Strategies* / Ed. B. Regan. New York: Nova Sci. Publishers, Inc., 2015. P. 135–191.
47. Pushchina E.V., Shukla S., Varaksin A.A. Hydrogen sulfide factor regulates differentiation and proliferation of nerve cells in primary culture of cells of brain and spinal cord of the salmonids // *Nitric Oxide.* 2014. Vol. 39. P. S34.
48. Pushchina E.V., Shukla S., Varaksin A.A., Obukhov D.K. Expression of neuronal marker HuCD in matrix areas in the brain of trout *Oncorhynchus mykiss* after mechanical injury of the optic nerve // *Proc Joint Symp. 4th Intern. Neural Regen. Symp., 6th Intern. Spinal Cord Injury Treatments and Trials Symp. and 9th Asia Pacific Symp. Neural Regen.* Nanjing, China. 2014. P. 75–76.
49. Pushchina E.V., Varaksin A.A., Obukhov D.K. Cystathionine β-synthase in the CNS of masu salmon *Oncorhynchus masou* (Salmonidae) and carp *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) // *Neurochem. J.* 2011. Vol. 5. P. 24–34.
50. Riquelme P.A., Drapeau E., Doetsch F. Brain micro-ecologies: neural stem cell niches in the adult mammalian brain // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2008. Vol. 363. P. 123–137.
51. Scharff C., Kirn J.R., Grossman M. [et al.]. Targeted neuronal death affects neuronal replacement and vocal behavior in adult songbirds // *Neuron.* 2000. Vol. 25. P. 481–492.
52. Seaberg R.M., van der Kooy D. Adult rodent neurogenic regions: the ventricular subependyma contains neural stem cells, but the dentate gyrus contains restricted progenitors // *J. Neurosci.* 2002. Vol. 22. P. 1784–1793.
53. Seri B., Garcia-Verdugo J.M., Collado-Morente L. Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus // *J. Comp. Neurol.* 2004. V. 478. P. 359–378.
54. Spassky N., Merkle F.T., Flames N. [et al.]. Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial glial cells during embryogenesis // *J. Neurosci.* 2005. Vol. 25. P. 10–18.
55. Sullivan S.A., Barthel L.K., Largent B.L., Raymond P.A. A goldfish Notch-3 homologue is expressed in neurogenic regions of embryonic, adult, and regenerating brain and retina // *Dev. Genet.* 1997. Vol. 20. P. 208–223.
56. Sundholm-Peters N.L., Yang H.K., Goings G.E. [et al.]. Radial glia-like cells at the base of the lateral ventricles in adult mice // *J. Neurocytol.* 2004. Vol. 33. P. 153–164.
57. Takeuchi A., Okubo K. Post-proliferative immature radial glial cells female specifically express aromatase in the medaka optic tectum // *PLoS ONE.* 2013. Vol. 8. doi: 10.1371/journal.pone.0073663.
58. Tozzini E.T., Baumgart M., Battistoni G., Cellerino A. Adult neurogenesis in the short-lived teleost *Nothobranchius furzeri*: localization of neurogenic niches, molecular characterization and effects of aging // *Aging Cell.* 2012. Vol. 11. P. 241–251.
59. Zupanc G.K., Clint S.C. Potential role of radial glia in adult neurogenesis of teleost fish // *Glia.* 2003. Vol. 43. P. 77–86.
60. Zupanc G.K., Sirbulescu R.F. Teleost fish as a model system to study successful regeneration of the central nervous system // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2013. Vol. 367. P. 193–233.
61. Zupanc G.K., Sirbulescu R.F., Lies I. Radial glia in the cerebellum of adult teleost fish: implications for the guidance of migrating new neurons // *Neuroscience.* 2012. Vol. 210. P. 416–430.

Поступила в редакцию 03.12.2015.

Нейрогенез у взрослых позвоночных животных: вопросы адаптации, эволюции и функциональной специализации

Е.В. Пушина, Е.И. Жарикова, А.А. Варакин
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17)

Резюме. В обзоре сравниваются современные сведения о нейрогенезе в мозге млекопитающих и понимание этого процесса у рыб, рептилий, амфибий и птиц. В ходе изучения молекулярных и клеточных особенностей долгоживущих нейрональных клеток-предшественников, определенных для каждого класса, получены доказательства, что взрослые клетки-предшественники нейронов немлекопитающих позвоночных эквивалентны по своим свойствам стволовым клеткам млекопитающих. Эти наблюдения поднимают принципиальный вопрос о том, почему нейрогенез присутствует у одних видов животных и отсутствует у других. Дискуссия, посвященная данной теме, объединяет рассмотрение внутренних и внешних факторов, усиливающих или препятствующих пластичности мозга и того, каким образом она изменяется в течение жизни у разных видов животных.

Ключевые слова: нейрональные стволовые клетки, нейроны, глия, немлекопитающие позвоночные.