



УДК 576.53.6

Обонятельный эпителий как источник аутологических стволовых, прогениторных и других малодифференцированных нейральных клеток

И. В. Клименков^{1,2}, Н. П. Судаков^{2,4}, М. В. Пастухов³

¹*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск*

²*Иркутский государственный университет, Иркутск*

³*Институт геохимии им. А. П. Виноградова СО РАН, Иркутск*

⁴*Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН, Иркутск*

E-mail: iklimen@mail.ru

Аннотация. Обсуждаются вопросы использования в восстановительной медицине обонятельного эпителия в качестве источника аутологических стволовых и других малодифференцированных нейральных клеток. Рассматривается способ существенного увеличения пролиферативного потенциала клеток в обонятельном нейроэпителии путём его длительной хемостимуляции веществами нетоксичной природы.

Ключевые слова: нейрон, апоптоз, нейрогенез, стволовая клетка, трансплантация.

Нейротрансплантация является одним из перспективных подходов для лечения различных органических поражений головного и спинного мозга [1; 2; 12; 13]. При этом одной из основных проблем является поиск оптимальных источников стволовых и других малодифференцированных нейральных клеток, необходимых для их использования в трансплантации при восстановительной терапии. Для решения этих задач в настоящее время предпринимаются попытки использовать плюрипотентные эмбриональные стволовые клетки, обладающие большим пролиферативным потенциалом [5; 6], индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, получаемые из клеток различных тканей [9], а также другие источники и технологии их получения.

Однако создание тканевого трансплантата с заданными свойствами сталкивается со многими трудностями, включая проблемы этического характера. Особенно это касается использования эмбрионального материала. Другая, не менее важная проблема – отдалённые последствия переживания и интеграции трансплантированных клеток в новом, как правило, генетически чужеродном микроокружении. Острота этого вопроса во многом определяется иммунологической совместимостью и потенциальным риском формирования различных новообразований из трансплантата [16].

Можно полагать, что некоторые из этих проблем могут быть преодолены при использовании обонятельного эпителия, который является доступ-

ным и единственным на сегодняшний день источником аутологических нейральных стволовых, прогениторных и обкладочных глиальных клеток [2; 3; 11]. Искусственное получение клеточных культур на основе ольфакторной выстилки с необходимой пролиферативной активностью и потенциалом к образованию различных типов клеток становится важной задачей нейробиологии и восстановительной медицины. В связи с этим в настоящее время активно ведутся работы по выявлению ключевых факторов роста, которые могут в культуре диссоциированных обонятельных клеток активизировать процессы их пролиферации и дифференцировки [7; 14].

Что касается поиска способов повышения пула стволовых и других бластных нейральных клеток в самом хеморецепторном эпителии, то к настоящему времени утвердилось мнение о том, что активировать процессы нейрогенеза *in vivo* можно только в результате экстремальных воздействий на обонятельную систему – после аксотомии обонятельного нерва [15], бульбэктомии [4] или острых токсических воздействий [10]. Это делает неприемлемым использование данных подходов для усиления пролиферативных свойств клеток в обонятельном биоптате человека. Вопреки сложившимся представлениям, нами впервые на рыбах (*Paracottus knerii*, Cottoidei) экспериментальным путём с помощью лазерной конфокальной микроскопии (метод окраски делящихся клеток с помощью бромдезоксигидроуредина по Гратцнеру [8]) показано, что длительная (15 сут.) хемостимуляция эпителия слабоконцентрированной (массовая доля – $1 \cdot 10^{-4}$ %) нетоксичной водорастворимой смесью аминокислот и пептидов вызывает очаговое стрессирование хемочувствительных клеток, их апоптоз и компенсаторное двукратное усиление процессов нейрогенеза (рис.).

Эти данные определяют необходимость дальнейших исследований адаптивной стимул-зависимой дифференцировки и нейрогенеза клеточных элементов ольфакторного эпителия животных на разных сроках их стимуляции запахowymi веществами нетоксичной природы. Полученные результаты создают предпосылки для разработки неинвазивных способов повышения потенциала аутологического биопсийного материала с увеличенным содержанием малодифференцированных нейральных клеток для их использования в восстановительной терапии болезней нервной системы.

Работа выполнена при финансовой поддержке проектов РФФИ № 11-04-01231-а и № 12-04-10007-к

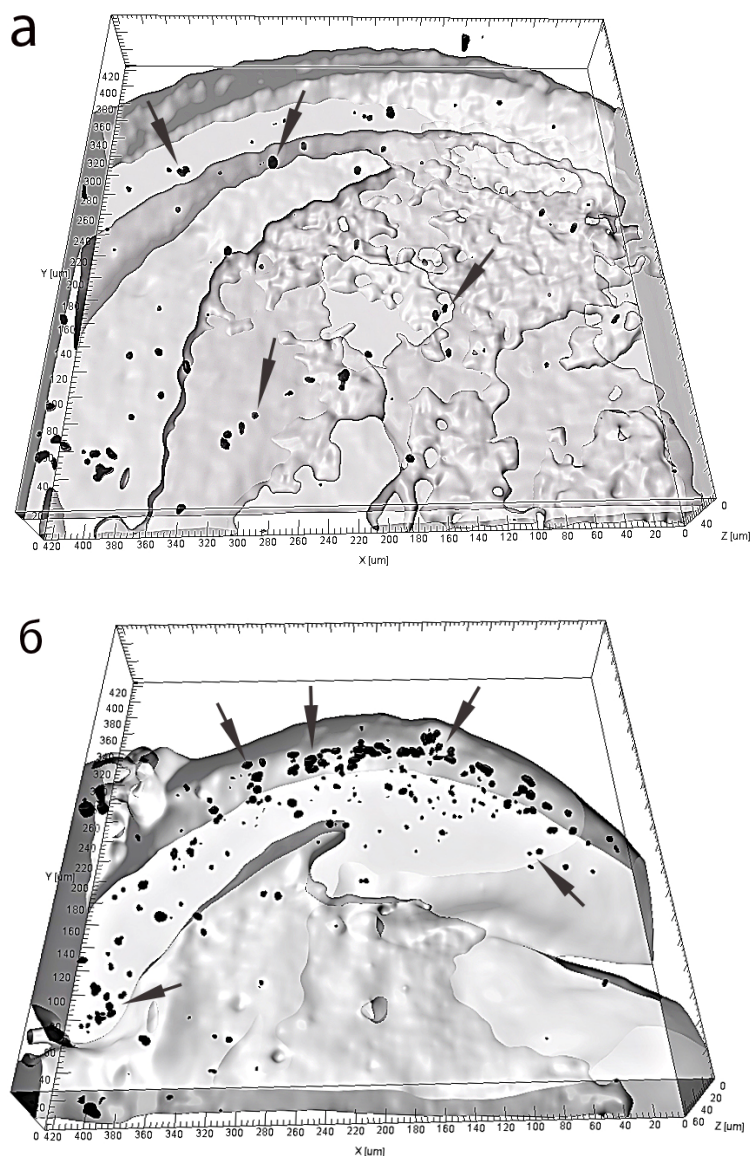


Рис. 3D-реконструкция (конфокальная микроскопия) отдельных складок обонятельного нейроэпителия каменной широколобки (*Paracottus knerii*, Cottoidei) в контроле (а) и в эксперименте – после продолжительной хемостимуляции (б). Митотически активные ядра клеток показаны стрелками (избирательная окраска ядер с помощью антител, меченых FITC к бромдезоксипуридину)

Список литературы

1. Корочкин Л. И. Стволовые клетки как генетическая проблема / Л. И. Корочкин // Вестн. ВОГиС. – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 73–80.
2. Мультипотентные стволовые и прогениторные клетки обонятельного эпителия / И. В. Викторов [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2006. – № 4. – С. 185–193.

3. Adult olfactory sphere cells are a source of oligodendrocyte and Schwann cell progenitors / Y. I. Ohnishi [et al.] // *Stem Cell Res.* – 2013. – Vol. 11, N 3. – P. 1178–1190.
4. Costanzo R. M. Rewiring the olfactory bulb: changes in odor maps following recovery from nerve transaction / R. M. Costanzo // *Chem Senses.* – 2000. – Vol. 25. – P. 199–205.
5. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells / M. J. Shablott [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1998. – Vol. 95. – P. 13726–13731.
6. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts / J. Thomson [et al.] // *Science.* – 1998. – Vol. 282. – P. 1145–1147.
7. Gong Q. Culture of mouse olfactory sensory neurons / Q. Gong // *Curr. Protoc. Neurosci.* – 2012. – Chapter 3: Unit 3.24. doi: 10.1002/0471142301.ns0324s58.
8. Gratzner H. G. Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication / H. G. Gratzner // *Science.* – 1982. – Vol. 218. – P. 474–475.
9. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration / M. Stadtfeld [et al.] // *Science.* – 2008. – Vol. 322. – P. 945–949.
10. Leung C. T. Contribution of olfactory neural stem cells to tissue maintenance and regeneration / C. T. Leung, P. A. Coulombe, R. R. Reed // *Nat. Neurosci.* – 2007. – Vol. 10, N 6. – P. 720–726.
11. Mackay-Sim A. Stem cells and genetic disease / A. Mackay-Sim, P. Silburn // *Cell. Prolif.* – 2008. – Vol. 41, Suppl. 1. – P. 85–93.
12. Neurotransplantation in neurodegenerative disease: a survey of relevant issues in developmental neurobiology / J. Price [et al.] // *Novartis Found Symp.* – 2000. – Vol. 231. – P. 148–165.
13. Pendleton C. Neurotransplantation: lux et veritas, fiction or reality? / C. Pendleton, I. Ahmed, A. Quinones-Hinojosa // *J. Neurosurg. Sci.* – 2011. – Vol. 55, N 4. – P. 297–304.
14. Regulation of adult olfactory neurogenesis by insulin-like growth factor-I / R. D. McCurdy [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 22. – P. 1581–1588.
15. Samanen D. W. Replication and differentiation of olfactory receptor neurons following axotomy in the adult hamster: a morphometric analysis of postnatal neurogenesis / D. W. Samanen, W. B. Forbes // *J. Comp. Neurol.* – 1984. – Vol. 225, N 2. – P. 201–211.
16. Shihabuddin L. S. Neural stem cell transplantation as a therapeutic approach for treating lysosomal storage diseases / L. S. Shihabuddin, S. H. Cheng // *J. American Society for Experimental NeuroTherapeutics.* – 2011. – Vol. 8, N 4. – P. 659–667.

Olfactory Epithelium as a Source of Autological Stem Cells, Progenitor and other Neutral Cells with Poor Differentiation

I. V. Klimenkov^{1,2}, N. P. Sudakov^{4,2}, M. V. Pastukhov³

¹*Institute of Limnology SB RAS, Irkutsk*

²*Irkutsk State University, Irkutsk*

³*Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS, Irkutsk*

⁴*Research Center for Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk*

Abstract. The article examines the usage of olfactory epithelium in rehabilitation medicine as a source of autological stem cells and other neutral cells with poor differentiation.

In particular, we discuss how long-term chemostimulation of olfactory epithelium by non-toxic substances leads to a substantial increase of its cells' proliferative potential.

Key words: neuron, apoptosis, neurogenesis, stem cell, transplantation.

Клименков Игорь Викторович
кандидат биологических наук
старший научный сотрудник; доцент
Лимнологический институт СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
тел.: (3952) 42–32–80
факс: (3952) 42–54–05
Иркутский государственный университет
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
тел.: (3952) 24–18–70
e-mail: iklimen@mail.ru

Klimenkov Igor Viktorovich
Candidate of Sciences (Biology), Senior
Research Scientist; Associate Professor
Institute of Limnology SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42–32–80
fax: (3952) 42–54–05
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003
tel.: (3952) 24–18–70
e-mail: iklimen@mail.ru

Судаков Николай Петрович
кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник; доцент
Научный центр реконструктивной
и восстановительной хирургии СО РАМН
664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100
тел.: (3952) 46–95–66,
факс (3952) 46–95–66
Иркутский государственный университет
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
тел.: (3952) 24–18–70
e-mail: npsudakov@rambler.ru

Sudakov Nikolay Petrovich
Candidate of Sciences (Biology), Senior
Research Scientist; Associate Professor
Research Center for Reconstructive and
Restorative Surgery SB RAMS
100, Yubileiny, Irkutsk, 664079,
tel.: (3952) 46–95–66,
fax: (3952) 46–95–66
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003
tel.: (3952) 24–18–70
e-mail: npsudakov@rambler.ru

Пастухов Михаил Владимирович
кандидат биологических наук
старший научный сотрудник
Институт геохимии им. А. П. Виноградова
СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1а
тел.: (3952) 51–14–42
факс: (3952) 42–66–00
e-mail: mpast@igc.irk.ru

Pastukhov Mikhail Vladimirovich
Candidate of Sciences (Biology)
Senior Research Scientist
Vinogradov Institute of Geochemistry
SB RAS
1a, Favorsky st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 51–14–42,
fax: (3952) 42–66–00
e-mail: mpast@igc.irk.ru