

© В. Е. Варенцов, Т. А. Румянцева, Е. В. Киселева, Т. С. Мясичева, 2019
УДК 611.813.3.018:599.323.4

*В. Е. Варенцов*¹, *Т. А. Румянцева*¹, *Е. В. Киселева*², *Т. С. Мясичева*¹

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ В ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦАХ У КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

¹ Кафедра анатомии человека (зав. — проф. Т. А. Румянцева), ² кафедра нервных болезней с медицинской генетикой и нейрохирургией (зав. — проф. Н. Н. Спирин), ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

Цель — оценить влияние гибели части нейронов в неонатальном периоде на пролиферативную активность в обонятельной луковице у крыс (ОЛ).

Материал и методы. Исследование проведено на 48 крысах-самцах линии Wistar разного возраста с 1-х по 90-е сутки жизни. Объектом исследования служила правая ОЛ. Моделирование нейродегенерации проводили путем однократного подкожного введения крысам на 1-е сутки жизни 10% раствора капсаицина. Ki-67 выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител (ab16667, UK, 1:100). На микрофотографиях стандартных срезов определяли численную плотность позитивных ядер (шт./мм²).

Результаты. Активность пролиферации клеток в ОЛ зависит от возраста и слоя. В ответ на введение капсаицина пролиферативная реакция повышается в течение 1-й недели. Выраженность активизации имеет топологические особенности — максимальный и самый ранний эффект наблюдается в центре ОЛ, затем распространяется в наружные слои. В начале наблюдения основным источником пролиферирующих клеток является герминативная зона ОЛ, в последующие сроки — мигрирующие нейрональные предшественники рострального потока.

Выводы. Диффузная гибель части нейронов, вызываемая введением капсаицина, приводит к развитию компенсаторного процесса, проявляющегося активизацией канонических стволовых ниш и герминативной зоны ОЛ, а также пролонгацией пролиферативной активности радиально мигрирующих клеток до 90-х суток жизни крыс.

Ключевые слова: обонятельные луковицы, нейрогенез, Ki-67, онтогенез, капсаицин

Введение. Оценка интенсивности нейрогенеза в стволовых нишах головного мозга в норме и при экспериментальных воздействиях открывает новые перспективы изучения регенераторных способностей и закономерностей развития мозга. К каноническим зонам головного мозга позвоночных животных, в которых на протяжении всей жизни сохраняется нейрогенез, относят субвентрикулярную зону латеральных желудочков (СВЗ) и субгранулярную зону гиппокампа (СГЗ). Новообразованные нейроны из СВЗ и СГЗ мигрируют в ростральном направлении, это явление имеет тангенциальный характер на всем протяжении рострального миграционного потока (РМП). Лишь достигнув середины обонятельной луковицы (ОЛ), цепочки незрелых нейронов распадаются, и клетки начинают радиальную миграцию. Так они достигают наружных клеточных слоёв ОЛ, где происходит их окончательная дифференцировка. Мигрирующие нейробласты расходятся в радиальном направлении во все слои ОЛ, фор-

мируя множественные синаптические контакты, интегрируясь в нейрональную сеть.

Для изучения тонкостей нейрогенеза, как процесса, течение которого контролируется разнообразными факторами, существуют селективные маркёры для выявления мигрирующих, пролиферирующих и дифференцирующихся нейробластов. Одним из маркеров пролиферации является Ki-67, который присутствует только в активных фазах клеточного цикла (G1, S, G2 и M), является ядерным белком, связанным с транскрипцией p-РНК в ядрышках клетки.

В настоящее время появилось большое количество работ, посвященных изучению факторов и состояний, оказывающих воздействие на нейрогенез. Многими исследователями доказано, что ишемия, инсульт [11, 13], травмы [8, 9] активируют нейрогенез в стволовых нишах. Ряд медикаментов также оказывают стимулирующее воздействие: флуоксетин [6], семакс [3], церебролизин [14] и др. Изменяется активность нейрогенеза и при нейродегенеративных состояниях:

Сведения об авторах:

Варенцов Вячеслав Евгеньевич (e-mail: carabidolog@mail.ru), Румянцева Татьяна Анатольевна (e-mail: rum-yar@mail.ru), Мясичева Тамара Сергеевна, кафедра анатомии человека, Киселева Екатерина Витальевна (e-mail: katerinar_86@mail.ru), кафедра нервных болезней с медицинской генетикой и нейрохирургией, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5

при болезни Альцгеймера в стадии компенсации активируются пролиферация и миграция нейробластов [7], при болезни Паркинсона происходит, наоборот, депрессия нейрогенеза [11].

Основным фактором, определяющим активность нейрогенеза, является возраст — после рождения активность пролиферации в стволовых нишах резко снижается. Вопрос о том, зависит ли реакция стволовых ниш на воздействия от возраста, остается открытым.

Целью данного исследования является оценка влияния гибели части нейронов в неонатальном периоде на пролиферативную активность в обонятельной луковице.

Материал и методы. Исследование проведено на 48 крысах-самцах линии Wistar разного возраста: 1, 3, 7, 14, 21, 35, 60, 75, 90 сут жизни (по 3 крысы в каждой возрастной группе). Экспериментальную группу составили 21 белая крыса, которых исследовали через 7 сут после введения капсаицина в указанные выше сроки до 90 сут. Контрольную группу составили 27 интактных крыс, которых исследовали в те же сроки, начиная с 1-х суток жизни. Объектом исследования служила правая обонятельная луковица.

Моделирование нейродегенерации проводили путем однократного подкожного введения крысам на 1-е сутки жизни 10% раствора капсаицина (N-vanillylonanamide, Sigma) в смеси, состоящей из 1 части спирта, 1 части Твин-100, 8 частей изотонического раствора NaCl в дозе 100 мг/кг [5, 12]. Признаками, подтверждающими развитие нейродегенеративного процесса, считали уменьшение количества и дистрофические изменения нейронов в тройничном ганглии, снижение или отсутствие корнеального рефлекса спустя 14 сут после введения.

Эксперимент одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России (протокол № 20 от 14.12.2017 г.) и выполнен в соответствии с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», Хельсинкской декларации 1975 г. в редакции от 2000 г.

Ki-67 выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител (ab16667, UK, 1:100) и вторичных антител (ab97051, UK, 1:1000) с пероксидазной меткой на парафиновых парагиттальных срезах ОЛ, система детекции DAB Substrate Kit (ab64238). Срезы докрашивали гематоксилином Майера, дегидратировали и заключали в канадский бальзам. Для контроля и исключения артефактов при выполнении реакции часть препаратов обрабатывали только вторичными антителами, без нанесения первичных антител. Микроскопию проводили при помощи светового микроскопа Optica DM-20 (Италия) со встроенной камерой. На микрофотографиях стандартных срезов, проходящих через центральную зону ОЛ, определяли численную плотность нейронов (шт./мм²).

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с использованием пакетов Microsoft Excel 2010 и Statistica 8 (Statsoft). Вариационные ряды соответствовали распределению, близкому к нормальному (критерий Колмогорова—Смирнова), что позволило для проверки статистических гипотез использовать параметрические методы (t-критерий Стьюдента). Значимым считали различие сравниваемых показателей при $p < 0,05$. Средние значения изучаемых показателей представлены в виде $(\bar{x} \pm s_{\bar{x}})$,

где \bar{x} — среднее арифметическое, а $s_{\bar{x}}$ — стандартная ошибка среднего.

Результаты исследования. У контрольных животных иммунопозитивные клетки распределялись в трёх слоях ОЛ: субэпендимальном, гранулярном и гломерулярном. По плотности распределения хроматина в ядре можно выделить 2 субпопуляции клеток: у одних — в ядре преобладает конденсированный гетерохроматин, у других — неконденсированный эухроматин.

Ростральный миграционный поток переходит в центральную часть ОЛ — субэпендимальный слой, который в эмбриональном и раннем постнатальном периодах имеет полость — продолжение переднего рога латерального желудочка. В субэпендимальном слое на 1-е сутки наибольшее скопление иммунопозитивных клеток наблюдается вокруг полости зародышевого желудочка, плотность $1251,2 \pm 47,1$ шт./мм². Иммунопозитивные ядра — мелкие, содержат как гетеро-, так и эухроматин; имеют форму «гантелей» с первичной перетяжкой либо в виде «диплококка» с завершённым кариокинезом. В неонатальном периоде к 3-м суткам численная плотность Ki-67-позитивных ядер снижается ($p < 0,05$). В последующие сроки заданная динамика параметра сохраняется (таблица), и к 21-м суткам численная плотность в 5 раз ниже, чем при рождении ($p < 0,05$). На 35-е сутки плотность распределения пролиферирующих клеток в окончании рострального миграционного потока не изменяется. В ювенильном возрасте на 60-е сутки численная плотность пролиферирующих клеток вновь многократно в 9–11 раз снижается. В зрелом возрасте в центральной зоне ОЛ пролиферирующие клетки встречаются редко (единичные).

Представленные данные свидетельствуют об активном функционировании собственной герминативной зоны в области зародышевого желудочка до 14-х суток жизни. В дальнейшем заполнение центральной зоны пролиферирующими клетками происходит из рострального миграционного потока.

У новорожденных крысят гранулярный слой заполнен округлыми клетками с крупным ядром, занимающим практически всю клетку, в ядре хорошо дифференцируется хроматин, Ki-67-позитивные клетки встречаются с численной плотностью $512,8 \pm 28,3$ шт./мм², у 7-суточных крысят плотность снижается в 2 раза и затем у 14-суточных ещё раз вдвое ($p < 0,05$), ядра приобретают округлую форму, хроматин конденсирован (рисунок). В последующие сроки экспрессия Ki-67 в клетках гранулярного слоя практически отсутствует.

Численная плотность Ki-67-положительных клеток в различных слоях обонятельной луковицы у крысы контрольной группы (КГ) и при экспериментальном воздействии (ЭГ) ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, шт./мм²)

Возраст, сут	Гломерулярный слой		Гранулярный слой		Субэпендимальный слой	
	КГ	ЭГ	КГ	ЭГ	КГ	ЭГ
1	1616,6±92,7	Введение токсина	826,1±45,6	Введение токсина	1251,2±47,1	Введение токсина
3	1266,0±71,8*	–	512,8±28,3*	–	962,3±39,9*	–
7	923,6±46,4*	1078,3±35,5	246,4±17,1*	398,6±21,2	626,6±48,5	987,2±51,1**
14	246,2±24,0*	411,3±42,5**	123,4±11,3*	252,4±15,7**	548,8±34,9	766,4±62,4
21	0–1–2*	221,3±28,2**	Единичные	143,4±22,3**	235,9±32,1*	526,4±42,4**
35	0–1–2	131,5±13,7**	Единичные	72,1±9,0**	187,8±26,3	497,3±22,3**
60	0–1	41,2±4,2**	Единичные	28,4±5,5	24,7±4,1*	75,5±6,3**
75	0–1	3–4	Единичные	Единичные	Единичные	17,3±3,6**
90	0–1	0–1–2	Единичные	Единичные	Единичные	11,6±2,8

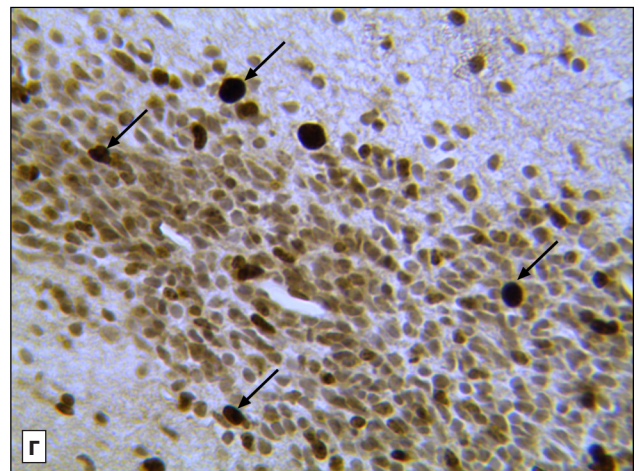
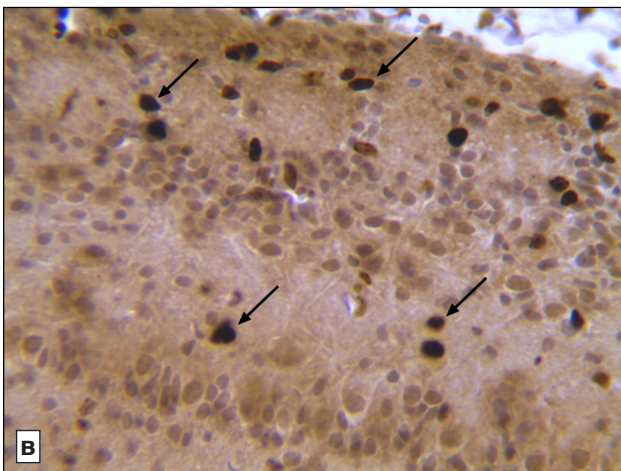
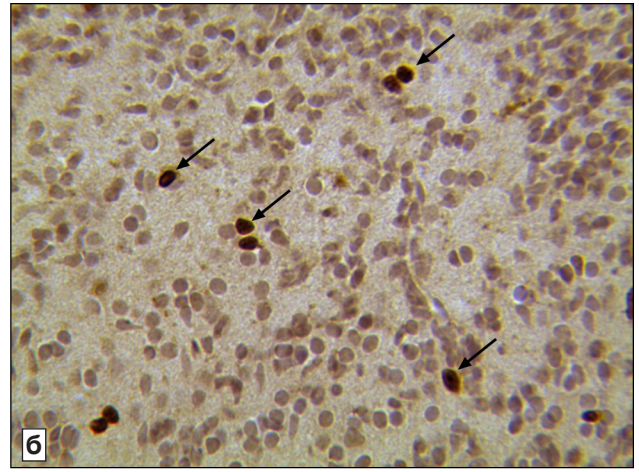
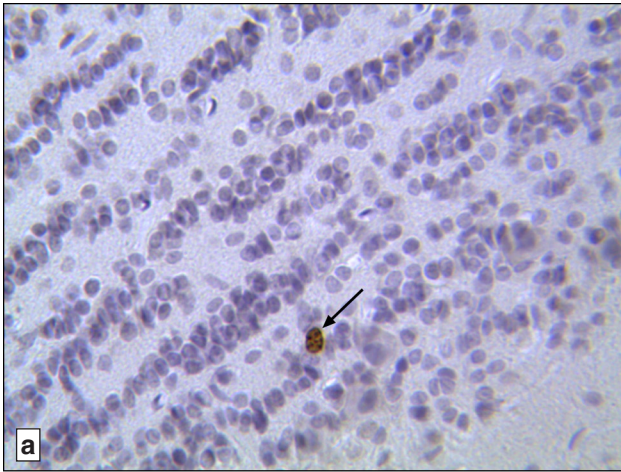
* Различия значимы по сравнению с предыдущим сроком; ** различия значимы по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$.

В гломерулярном слое ОЛ иммунопозитивные клетки диффузно распределяются на фоне иммунонегативных. Выявляются ядра с фестончатыми краями, находящиеся на стадии кариокинеза. У новорожденных крысят (1 сут) численная плотность Ki-67-положительных клеток составляет 1616,6±92,7 шт./мм². На 3-и сутки жизни гломерулы окружены иммунопозитивными клетками, плотность которых значимо ниже, чем в предыдущий срок ($p < 0,05$). У 7-суточных крысят гломерулярный слой приобретает более зрелую морфологию: клубочки выстраиваются в ряд по периметру ОЛ, приобретают капсулу. Перигломерулярные клетки с крупными ядрами содержат преимущественно гетерохроматин, большинство из них Ki-67-негативны. Численная плотность пролиферирующих клеток значимо снижена. На 14-е сутки экспрессия Ki-67 резко падает почти в 4 раза. С 21-х суток встречаются одиночные иммунопозитивные нейроны с крупным ядром, ровными краями и плотно конденсированным хроматином, по 1–2 клетки на гломерулу. На 35-е сутки гломерулярный слой становится Ki-67-иммунонегативным (см. таблицу).

Эксперимент с неонатальным введением капсаицина показал, что у экспериментальных животных наиболее выраженные изменения экспрессии маркера пролиферации наблюдаются в субэпендимальном слое ОЛ. На 7-е сутки численная плотность позитивных ядер в экспериментальной группе превышает контрольную в 1,5 раза ($p < 0,05$) (см. рисунок, г). Иммунопозитивные клетки локализуются группами по несколько штук, образуя скопления в герминативной зоне зародышевого желудочка ОЛ. При иммерсионной микроскопии визуализируются Ki-67-положительные ядра, находящиеся на стадии тело-

фазы митоза (кариокинез). Размеры этих ядер варьируемы, чем крупнее ядро, тем интенсивнее хромоген заполняет кариоплазму нейронов. Это говорит о сохранении высокой пролиферативной активности данной зоны, причем различия с показателями у 3-суточных крысят незначимы. В следующий срок наблюдения (14 сут) относительная плотность позитивных ядер продолжает превышать уровень контрольной группы в 1,5 раза ($p < 0,05$). На 21-е сутки полость зародышевого желудочка закрывается. Подсчёт Ki-67-положительных клеток в центральной зоне у крыс на этом сроке показал значимо меньшую их численную плотность по сравнению с 14-суточными. На 35-е сутки численная плотность пролиферирующих клеток в окончании роstralного миграционного потока значимо не отличается от предыдущего срока, но превышает контрольный уровень в 2,7 раза ($p < 0,05$). На 60-е сутки активность маркера резко снижена в 6,6 раза, на 75-е сутки — в 4,4 раза и на 90-е сутки — в 1,5 раза по сравнению с предыдущим сроком эксперимента (см. таблицу) ($p < 0,05$ для всех групп сравнения). В контрольной группе на 75-е и 90-е сутки встречаются лишь единичные Ki-67-иммунопозитивные клетки. Введение капсаицина приводит к сохранению высокого уровня и пролонгации пролиферации до 90-х суток в центральной части ОЛ, т. е. активации нейрогенеза. При этом направленность динамики показателя — снижение плотности к периоду полового созревания — не изменяется.

Гистотопографические особенности распределения маркера пролиферации в гранулярном слое ОЛ при моделировании нейродегенерации не отличаются от таковых в контрольной группе. У 7-суточных крысят гранулярные клетки достаточно плотно заполняют одно-



Экспрессия маркера пролиферации Ki-67 (стрелки) в различных слоях обонятельной луковицы (ОЛ) у крыс.

а — контрольная группа; б–г — экспериментальная группа. а — Ki-67-иммунопозитивное (Ki-67+) ядро в гранулярном слое ОЛ (14-е сутки); б — Ki-67+-ядра в гранулярном слое ОЛ (14-е сутки); в — Ki-67+-ядра в гломерулярном и наружном плексиформном слое ОЛ (7-е сутки); г — Ki-67+-ядра в дистальной части РМП (7-е сутки). Реакция на Ki-67, докраска гематоксилином Майера. Ув. 400

именный слой, часть ядер экспрессируют Ki-67. Численная плотность иммунопозитивных ядер превышает в 1,62 раза этот показатель в контрольной группе ($p < 0,05$), но значительно ниже, чем у 3-суточных животных контрольной группы. На 14-е сутки иммунопозитивные ядра имеют округлую форму с конденсированным хроматином (см. рисунок, б), численная плотность их снижается в 1,57 раза, но вдвое превышает таковую в контрольной группе ($p < 0,05$). К 21-м суткам у крыс экспериментальной группы показатель численной плотности ещё в 1,7 раза ниже, но остаётся на уровне, соответствующем 2-недельному контролю, при том, что у контрольных животных, начиная с 21-х суток, встречаются лишь единичные в поле зрения Ki-67-позитивные ядра. К 30-м и 60-м суткам показатель продолжает значительно снижаться ($p < 0,05$) (см. таблицу). Популяция клеток с Ki-67-позитивными ядрами гранулярного слоя морфологически однородна.

Через 7 сут после введения капсаицина в гломерулярном слое ОЛ Ki-67 выявляется в ядрах перигломерулярных нейробластов, численная плотность пролиферирующих клеток в 1,16 раза превышает контроль ($p < 0,05$) и в 1,17 раза меньше показателя у 3-суточных контрольных крысят (см. рисунок, в). К 14-м суткам этот показатель снижается в 2,6 раза, но сохраняет высокие значения, превышая в 1,67 раза данные в контрольной группе ($p < 0,05$). Количество иммунопозитивных перигломерулярных клеток составляет 6–7 штук на гломерулу против 3–4 штук в контроле. К 21-м суткам численная плотность иммунопозитивных ядер, как и в гранулярном слое, находится на уровне 14-суточного контроля по сравнению с единичными перигломерулярными Ki-67-иммунопозитивными ядрами в контрольной 21-суточной группе ($p < 0,05$). Последующее наблюдение показало, что экспрессия Ki-67 сохраняется до 75-х сут жизни животного (см. таблицу). Эффект введения капсаицина

в гранулярном и гломерулярном слоях по направленности сопоставим с изменениями в центральной части ОЛ: также наблюдается пролонгация значимой экспрессии Ki-67 до 60-х суток (в контроле до 14-х суток), но численная плотность иммунопозитивных ядер увеличивается не более чем вдвое.

Обсуждение полученных данных. В результате проведенного исследования доказано, что активность пролиферации Ki-67-иммунопозитивных клеток в ОЛ зависит от возраста и слоя. В предыдущих исследованиях нами установлено, что максимальная экспрессия Ki-67 в ОЛ наблюдается в плодном периоде [2], а затем постепенно снижается на протяжении 2 нед постнатальной жизни до единичных случаев к 21-м суткам во всех слоях, за исключением центральной зоны. Сходные результаты получены в исследованиях ОЛ у мышей BALB/c [10]. Таким образом, характер распределения Ki-67-иммунопозитивных ядер показывает, что активная пролиферация прогениторных клеток в слоях ОЛ ограничена подсосным возрастом. Можно предположить, что в последующих возрастах мигрирующие радиально клетки не пролиферируют, а только проходят стадии дифференцировки.

Неонатальное введение капсаицина вызывает массовую гибель нейронов в ОЛ [1]. Нами показано, что в ответ на введение капсаицина пролиферативная реакция повышается уже в течение 1-й недели.

Выраженность активизации имеет топологические особенности — максимальный и самый ранний эффект наблюдается в центре луковицы, затем распространяется на периферию в наружные слои. Скорость развития реакции доказывает, что в начале наблюдения основным источником пролиферирующих клеток является герминативная зона зародышевого желудочка ОЛ, а в последующие сроки — мигрирующие предшественники роstralного потока. Проллиферирующие клетки начинают постепенную радиальную миграцию, заполняя слои ОЛ в течение 1 мес после воздействия. Данные об активизации субэпендимальных зон при нейродегенерации и ишемии у взрослых животных за пределами СГЗ и СВЗ представлены в ряде исследований [4]. Однако данные о возрастных особенностях реакции в литературе мы не встречали.

Вероятно, выявленные изменения обусловлены целым рядом механизмов. К ним можно отнести как снижение выработки факторов, ингибирующих пролиферацию, так и появление сигнальных молекул от гибнущих нейронов, которые стимулируют нейрогенез.

Заключение. Таким образом, диффузная гибель части нейронов, вызываемая введением капсаицина в неонатальном периоде онтогенеза, приводит к развитию компенсаторного процесса, проявляющегося активизацией канонических стволовых ниш и герминативной зоны ОЛ, а также пролонгацией пролиферативной активности радиально мигрирующих клеток до 90-х суток жизни крыс.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Т. А. Р., В. Е. В.

Сбор и обработка материала: В. Е. В.

Статистическая обработка данных: В. Е. В., Т. С. М.

Анализ и интерпретация данных: Т. А. Р., В. Е. В., Е. В. К.

Написание текста: В. Е. В., Т. А. Р.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Невзорова М.Н., Тятенкова Н.Н., Комарова И.П. Развитие клеточных слоев обонятельных луковиц белой крысы в постнатальном онтогенезе // *Морфология*. 2012. Т. 141, вып. 3. С. 112 [Nevzorova M.N., Tyatenkova N.N., Komarova E.P. Development of the cellular layers of the olfactory bulbs of albino rat in the postnatal ontogenesis // *Morfologiya*. 2012. Vol. 141, № 3. P. 112. In Russ.].
2. Румянцева Т.А., Варенцов В.Е., Пшениснов К.К., Пожилов Д.А. Распределение DCX и Ki-67 позитивных клеток в роstralном миграционном потоке у крысят // *Морфология*. 2018. Т. 153, № 3. С. 234–235 [Rumyantseva T.A., Varentsov V. Ye., Pshenishnov K. K., Pozhilov D. A. Distribution of DCX and Ki-67-positive cells in rostral migratory stream in infant rats // *Morfologiya*. 2018. Vol. 153, № 3. P. 234–235. In Russ.].
3. Тимошенко Т.В., Полетаева И.И., Павлова Г.В., Ревещин А.В. Влияние неонатального введения нейропептида семакса на пролиферативную активность клеток в зубчатой фасции гиппокампа крыс двух генотипов // *ДАН*. 2009. Т. 424, № 6. С. 846–848 [Timoshenko T.V., Poletaeva I.I., Pavlova G.V., Revishchin A.V. Effect of neonatal injections of the neuropeptide Semax on cell proliferation in hippocampal dentate area in rats of two genotypes // *Dokl. Biol. Sci.* 2009. Vol. 424, № 1. P. 78–80].
4. Alvarez-Buylla A., Lim D.A. For the Long Run: Maintaining germinal niches in the adult brain // *J. Neuron*. 2004. Vol. 41, № 5. P. 683–686.
5. Brzozowski T., Kontirek S.J., Pytko-Polonczyk J., Warzecha Z. Gastric adaptation to stress: role of sensory nerves, salivary glands and adrenal glands // *Scand. J. Gastroenterol.* 1995. Vol. 30, № 1. P. 6–16.
6. Couillard-Despres S., Wuertinger C., Kandasamy M., Caioni M., Stadler K., Aigner R., Bogdahn U., Aigner L. Ageing abolishes the effects of fluoxetine on neurogenesis // *Mol. Psychiatry*. 2009. Vol. 14, № 9. P. 856–864. doi: 10.1038/mp.2008.147
7. Yu Y., He J., Zhang Y., Luo H., Zhu S., Yang Y., Zhao T., Wu J., Huang Y., Kong J., Tan Q., Li X.M. Increased hippocampal neurogenesis in the progressive stage of Alzheimer's disease phenotype in an APP/PS1 double transgenic mouse model //

- J. Hippocampus. 2009. Vol. 19, № 12. P. 1247–1253. doi: 10.1002/hipo.20587
8. Yu T. S., Zhang G., Liebl D. J., Kernie S. G. Traumatic brain injury-induced hippocampal neurogenesis requires activation of early nestin-expressing progenitors // J. Neurosci. 2008. Vol. 28, № 48. P. 12901–12912. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4629-08.2008
 9. Lu D., Qu C., Goussev A., Jiang H., Lu C., Schallert T., Mahmood A., Chen J., Li Y., Chopp M. 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. Vol. 24, № 7. P. 1132–1146. doi: 10.1089/neu.2007.0288
 10. Nkomozepi P., Mazengenya P., Ihunwo A. O. Age-related changes in Ki-67 and DCX expression in the BALB/c mouse (*Mus Musculus*) brain // Int. J. Dev. Neurosci. 2019. Vol. 72. P. 36–47. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2018.11.005
 11. O’Keeffe G. C., Tyers P., Aarsland D., Dalley J. W., Barker R. A., Caldwell M. A. Dopamine-induced proliferation of adult neural precursor cells in the mammalian subventricular zone is mediated through EGF // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. Vol. 106, № 21. P. 8754–8759. doi: 10.1073/pnas.0803955106
 12. Santicoli P., Del-Bianco E., Geppetti P., Maggy C. A. Release of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity from rat isolated soleus muscle by low PH, capsaicin and potassium // Neurosci. Lett. 1992. Vol. 143, № 1–2. P. 19–22.
 13. Sun X., Zhang Q. W., Xu M., Guo J. J., Shen S. W., Wang Y. Q., Sun F. Y. New striatal neurons form projections to substantia nigra in adult rat brain after stroke // J. Neurobiol. Dis. 2012. Vol. 45. Iss. 1. P. 601–609. doi: 10.1016/j.nbd.2011.09.018
 14. Zhang C., Chopp M., Cui Y., Wang L., Zhang R., Zhang L., Lu M., Szalad A., Doppler E., Hitzl M., Zhang Z. G. Cerebrolysin enhances neurogenesis in the ischemic brain and improves functional outcome after stroke // J. Neurosci Res. 2010. Vol. 88, № 15. P. 3275–3281. doi: 10.1002/jnr.22495

Поступила в редакцию 11.04.2019
Получена после доработки 09.09.2019

THE PROLIFERATION ACTIVITY IN RAT OLFACTORY BULB IN A NEURODEGENERATION MODEL

V. E. Varentsov ¹, T. A. Rummyantseva ¹, E. V. Kiseleva ²,
T. S. Myasishcheva ¹

Objective — to evaluate the effect of neuronal death in the neonatal period on the proliferative activity in the rat olfactory bulb (OB).

Material and methods. The study was conducted on 48 male Wistar 1 to 90 days of age. The object of study was the right OB. Neurodegeneration was induced by single subcutaneous injection of 10% capsaicin solution to the rats on the first day of life. Ki-67 was detected using monoclonal rabbit antibodies (ab16667, UK, 1:100). Microphotographs of standard sections were used to determine the numerical density of positive nuclei (units/mm²).

Results. The activity of cell proliferation in OB depended on the age and layer. In response to capsaicin administration, the proliferative activity increased during the first week. The intensity of the activation had topological characteristic — the maximum and earliest effect was observed in the center of the OB and then it spreaded to the outer layers. At the beginning of the observation, the main source of proliferating cells was the germinative zone of the OB, in the subsequent periods — the migrating neuronal precursors of the rostral migratory stream.

Conclusion. Diffuse death of a part of neurons caused by the capsaicin administration leads to the development of a compensatory process manifested by the activation of the canonical stem niches and the germinative zone of the OB, as well as the prolongation of the proliferative activity of radially migrating cells to the 90th day of life in rats.

Key words: *olfactory bulbs, neurogenesis, Ki-67, ontogenesis, capsaicin*

¹ Department of Human Anatomy; ² Department of Nervous Diseases with Medical Genetics and Neurosurgery, Yaroslavl’ State Medical University, 5 Revolucionnaya St., Yaroslavl’ 150000