

Трансляционные исследования в нейробиологии

*«Что мы знаем о заболеваниях мозга и откуда? Какую информацию мы можем почерпнуть из клинических исследований, а какую — из экспериментальных научных работ? Как грамотно перенести результаты исследований от пробирки и лабораторной мыши к использованию во врачебной практике? Оказывается, последним вопросом занимается отдельная область медицинской науки — **трансляционная медицина**, о которой и пойдет речь в этой статье. Но сначала разберемся с терминами.»*

Как известно, задачей **фундаментальных научных исследований** является понимание природы и ее законов. Подобные исследования не преследуют практических целей, хотя любое фундаментальное научное знание дает возможность решить множество практических задач. И поиском таких решений занимаются **прикладные исследования**. Клинические исследования (*clinical trials*) изучают эффективность определенных терапевтических вмешательств/препаратов или новых медицинских технологий при определенных заболеваниях (подробнее о клинических исследованиях). Если взять шире, то научные исследования, проводимые в клинике (*clinical research*), ставят перед собой цель в целом углубить знания о болезнях человека. Исследования в клинике всегда проводятся на человеке (или материале, полученном от живого человека — образцах ткани или, например, когнитивных феноменах).

Однако, между фундаментальными исследованиями и исследованиями, проводимыми в клинике, существует огромная пропасть, названная *Nature* «долиной смерти». Такие исследования проводятся, как правило, независимо разными группами ученых, что приводит, с одной стороны, к непониманию практических задач клинических врачей учеными, занимающимися фундаментальной наукой, и наоборот — к незнанию результатов фундаментальных исследований врачами, занимающимися исследованиями в клинике. Кроме того, исследования на человеке имеют серьезные ограничения, поскольку молекулярные и клеточные уровни организации мозга практически недоступны для прямого изучения на живом человеке. Зачастую заболевания изучают только на образцах, взятых при **аутопсии** (после смерти), либо на материале, полученном в результате операции или **биопсии** (взятом при жизни).

Студенческая газета

Физиолог

кафедра зоологии, физиологии и генетики
биологический факультет

УО «Гомельский государственный университет им. Ф.
Скорины»



Выпуск №5, ноябрь 2020

Редколлегия: Нарский Игорь

Редактор: Л.А. Евтухова

Преодоление «долины смерти» — задача трансляционных исследований. Под **трансляционными исследованиями** понимают научные работы, цель которых — перенос новых знаний о механизмах работы мозга и его заболеваниях, полученных в лаборатории, в сферу разработки и применения новых методов диагностики, лечения или предотвращения заболеваний человека. Обозначенное направление переноса знания — от лабораторного стола с пробирками к постели пациента — называется *bench-to bedside* (рис. 1).



Рисунок 1. Направления трансляционных исследований

Очевидно, что для изучения механизмов заболевания ученым в лаборатории необходимо как можно более точно смоделировать болезнь человека на животном. Воспроизведение определенных симптомов болезни человека на лабораторной мыши или даже в отдельно взятых нейронах в чашке Петри также является задачей трансляционных исследований, которые носят название *bedside-to-bench* (рис. 1). К таким исследованиям, например, относятся работы с целенаправленным изменением генов мыши, если известно, что такие изменения приводят к заболеванию у человека (подробнее об исследованиях на мышах см.; о методах, применяемых в нейробиологии в целом). Изучение таких мышей может многое сказать о роли мутаций в развитии заболеваний у человека. Давайте теперь рассмотрим несколько примеров трансляционных исследований.

Активность нейронов и содержание кислорода в крови

Первым примером будет работа, показавшая зависимость степени активации нейронов и увеличения BOLD-сигнала при использовании функциональной МРТ. В физиологических работах на животных часто используют метод регистрации электрической активности отдельных нейронов (*single unit recording*), для чего тонкий электрод вживляется в мозг непосредственно вблизи изучаемого нейрона. Это позволяет понять, при каких условиях тот или иной нейрон проявляет активность (иначе говоря, генерирует **потенциал действия** — сигнал, который передается другим нейронам). За изучение функции мозга именно таким методом у крыс в свободном поведении группа ученых из Норвегии получила Нобелевскую премию в области физиологии или медицины в 2014 году («за описание механизмов пространственной памяти у крыс»).

Но можно ли подобные эксперименты переносить непосредственно на человека? Вживление электродов человеку для изучения функции нейронов очень ограничено, хотя такие работы существуют. К примеру, «нейроны Дженнифер Энистон» — реагирующие активацией при предъявлении изображений известной актрисы — обнаружены именно при помощи инвазивной регистрации отдельных нейронов у пациентов во время обследования и хирургического лечения эпилепсии.

Для изучения активности мозга при определенной когнитивной нагрузке, будь то предъявление фотографий или ориентация в пространстве, в исследованиях на здоровых людях используют функциональную МРТ (**фМРТ**). Метод безопасен и не требует никаких инвазивных вмешательств. Но проблема в том, что он не регистрирует напрямую активность нейрона, как это делает электрод, а регистрирует так называемый **BOLD-сигнал** (*blood-oxygen-level-dependent*), проще говоря — степень насыщения крови кислородом в локальном участке мозга. Предполагается, что степень оксигенации зависит от средней активности нейронов в этой области (подробнее о работе нейрона см.), так как для работы нейронов нужна энергия — глюкоза и кислород. Но на самом деле это утверждение не очень очевидно. Потреблять кислород могут не только активные нейроны, но и нейроны, которые получают подпороговые сигналы, по силе недостаточные для формирова-

ния потенциала действия (то есть такие нейроны остаются неактивными, но имеют высокий уровень метаболизма, связанный с активным изменением мембранного потенциала). Кроме того, в мозге потребляют энергию и все другие клетки, например, клетки **глии**, число которых в мозге превышает число нейронов!

Как же связана активность нейронов (число потенциалов действия за секунду) и уровень сигнала фМРТ (BOLD-сигнал)? Ответить на этот вопрос вызвались ученые из США и опубликовали результаты в 2000 году. Для проверки гипотезы, что BOLD-сигнал фМРТ напрямую зависит от активности нейронов, авторы использовали следующий дизайн эксперимента. В качестве исследуемой области выбрали область зрительной коры V5, которая содержит группы нейронов, специфично активирующихся определенным направлением движения зрительного стимула. В качестве стимула использовали экран с движущимися точками с постепенно увеличивающейся долей точек, движущихся в одном направлении (что заставляет нейроны в V5 постепенно повышать свою активность). Первым этапом исследователи показали при помощи фМРТ на человеке, что BOLD-сигнал возрастает при увеличении доли точек, движущихся в одном направлении. Вторая часть исследования была проведена на обезьянах также с использованием фМРТ — ученые убедились, что BOLD-сигнал у обезьян изменяется аналогичным образом и в тех же условиях. И далее исследователи при помощи электродов регистрировали отдельные нейроны у этих обезьян в зрительной коре и показали линейную зависимость их активности от доли движущихся в одном направлении точек на экране. Таким образом было показано, что степень активации нейронов при регистрации их активности электродом и BOLD-сигнал фМРТ связаны линейно (то есть возрастают пропорционально). Эти выводы подтверждаются и в другом исследовании на обезьянах с одновременной регистрацией фМРТ и нейронов уже другой области зрительной коры (V1), реагирующей на плавное изменение контрастности изображений (рис. 2).

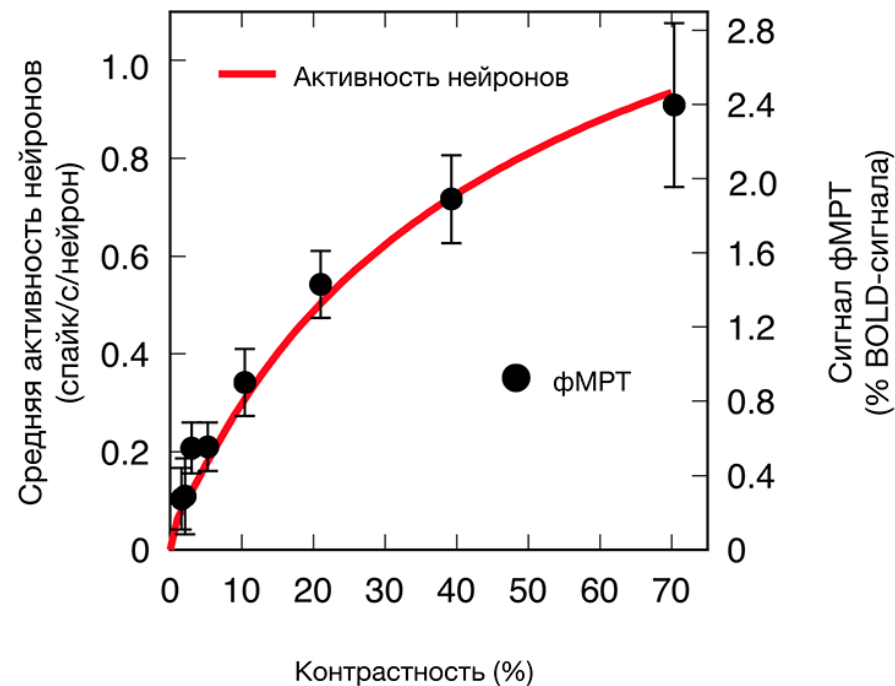


Рисунок 2. Изменение сигнала фМРТ человека пропорционально изменению активности нейронов обезьяны в ответ на один и тот же изменяющийся зрительный стимул. Черными точками обозначены средние значения активности зрительной коры человека (область V1) на фМРТ при разной контрастности предъявляемого изображения («усы» у точек обозначают ± 1 стандартную ошибку среднего). Красная кривая отражает среднюю активность нейронов в зрительной коре обезьяны (область V1), регистрируемую при помощи электродов.

Пусть вас не смущает, что приведенные работы выполнены на здоровых людях и не менее здоровых обезьянах. Функциональная МРТ в клинике применяется при изучении многих заболеваний — в том числе показано снижение сигнала от гиппокампа при таком виде деменции, как болезнь Альцгеймера, что может использоваться в диагностике заболевания. Сложно переоценить значение таких трансляционных исследований — это важная ступень, ведущая нас от результатов фундаментальных исследований на животных к исследованиям на человеке (*bench-to-bedside*).

Механизмы врожденного нистагма у человека

Примером трансляционной работы *bedside-to-bench* может являться исследование по изучению механизмов врожденного нистагма, проведенное в девяти разных научных и клинических центрах Швейцарии, Венгрии и Дании в 2016 году. **Нистагм** — произвольные колебательные движения глаз в сторону. В неврологии появление нистагма тесно связано с повреждением периферической вестибулярной системы (внутреннего уха, вестибулярного нерва) или центральной нервной системы (определенных отделов ствола головного мозга и мозжечка). Появление спонтанного нистагма в неврологической практике говорит о том, что нарушена функция вестибулярного аппарата. **Оптокинетический рефлекс** — это физиологический нистагм, возникающий при наблюдении за движущимися объектами (например, его можно увидеть у человека, который смотрит в окно движущегося автомобиля или поезда). Кроме вышеперечисленных, существует и врожденный нистагм, связанный с определенными мутациями. Наличие определенных аллелей гена *FRMD7* встречаются у более чем половины пациентов с врожденным нистагмом.

Авторы статьи поставили перед собой вопрос — каким именно образом возникает нистагм у пациентов с мутацией в гене *FRMD7*? И пришли к неожиданным результатам. Первое, что сделали исследователи, — описали схожий фенотип у людей с врожденным нистагмом, имеющих мутацию в изучаемом гене, и мышей с намеренно вызванной такой же мутацией, — и у тех, и у других наблюдали потерю горизонтального оптокинетического рефлекса (рис. 3). Наличие у мышей патологического фенотипа крайне важно для исследования (а вдруг обнаруженная у человека мутация все-таки ни при чем?).

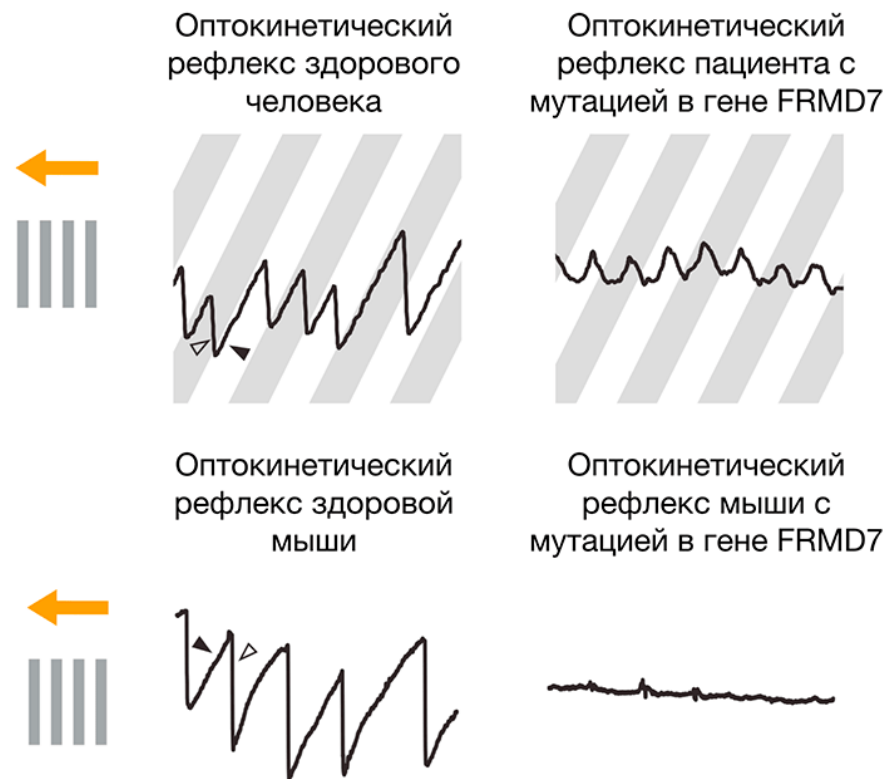


Рисунок 3. Фенотип при наличии мутации в гене *FRMD7* у человека и мыши. Для сравнения приведен оптокинетический рефлекс здоровых человека и мыши. Наличие мутации вызывает потерю оптокинетического рефлекса при предъявлении движущегося объекта (схематично такой объект изображен в *левой части* рисунка, направление движения отмечено *стрелкой*).

Далее авторы провели серию экспериментов, показавших, что нарушение функции происходит не в мозге и даже не в вестибулярном аппарате — а в сетчатке глаза! **Сетчатка** — световоспринимающая часть глаза, состоящая из нескольких слоев нервных клеток, которые не только кодируют изображение и передают его по зрительному нерву в мозг, но и проводят достаточно сложную предварительную обработку поступающих сигналов. Сетчатка содержит вставочные тормозные нейроны, которые способны подавить активность других клеток сет-

чатки. Оказалось, что изучаемый ген *FRMD7* экспрессируется именно в тормозных нейронах сетчатки, что было показано при помощи гибридизации мРНК этого гена на препарате сетчатки (*in situ hybridisation*). Но каким образом это может быть связано с оптокинетическим рефлексом? В сетчатке также имеются ганглиозные клетки, чувствительные только к горизонтальному направлению движения зрительного стимула в определенную сторону (похожи на те нейроны зрительной коры V5, которые были описаны в предыдущей части этой статьи). У мышей с мутацией ученые показали нарушение связи тормозных клеток сетчатки с ганглиозными нейронами, различающими направление зрительного стимула. Сделать это можно, если одновременно регистрировать очень тонкой пипеткой активность тормозного и ганглиозного нейронов (*whole-cell patch*) при предъявлении мыши движущегося стимула. Дело в том, что пока одна часть ганглиозных клеток активируется стимулом, ганглиозные нейроны в противоположной части сетчатки должны быть «выключены» тормозными нейронами. Именно этого в эксперименте у мышей с мутацией не происходило (рис. 4).

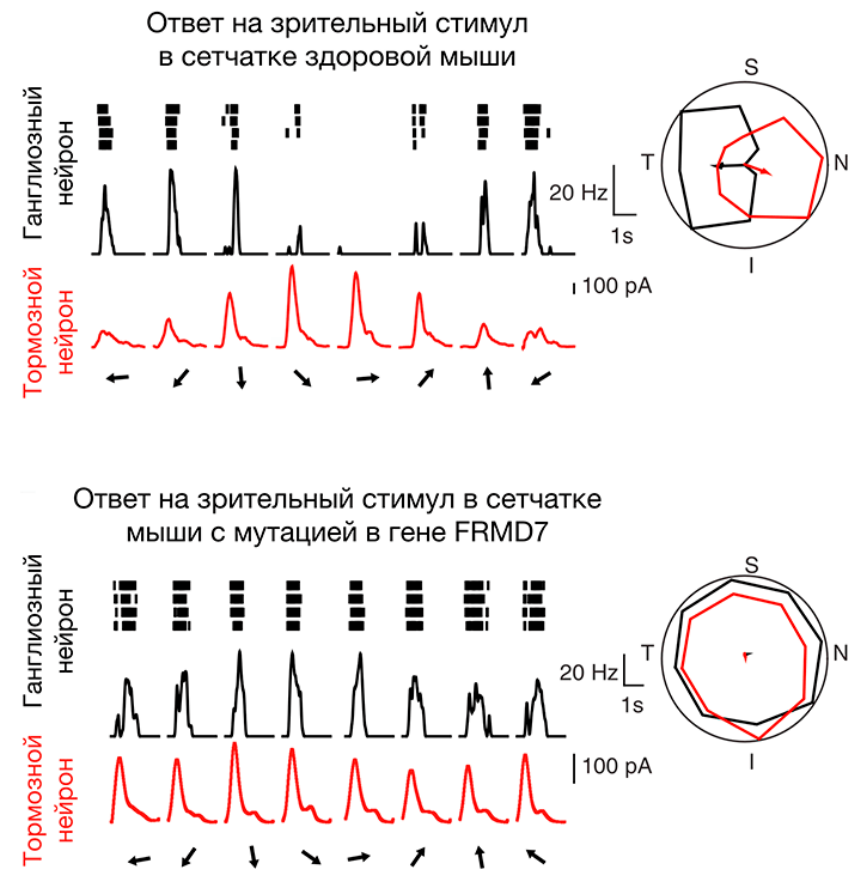


Рисунок 4. Активность нейронов сетчатки мыши при предъявлении движущегося зрительного стимула (направление движения стимула показано черными стрелками). У здоровой мыши тормозные нейроны (их активность показана красным цветом) подавляют активность ганглиозных нейронов (изображены черным цветом) в сетчатке при определенном направлении стимула, чего не происходит у мышей с мутацией. Слева в круге схематично изображена представленность активности тормозных и ганглиозных нейронов сетчатки (поля зрения обозначены: N — *nasalis* (носовая); T — *temporalis* (височная); S — *superior* (нижняя); I — *inferior* (верхняя)). На схеме видно, что при наличии мутации нарушается в норме асимметричное распределение возбуждения и торможения, что и является причиной нарушения восприятия направления движения стимула в сетчатке.

Таким образом, нарушение функции тормозных нейронов в сетчатке вызывало потерю способности различать направление движения стимула в ней и, как следствие, — потерю оптокинетического рефлекса. Такой путь от обнаружения генетической мутации у человека к намеренной генетической мутации у мыши с доказательством наличия физиологического дефекта у мыши и последующим выявлением причины и является трансляционной наукой *bedside-to-bench*. При этом путь в этой небольшой области далеко не закончен — неизвестно, какие молекулярные каскады привели к нарушению функции нейронов в сетчатке у крыс с мутацией в гене *FRMD7*, — а понимание этого необходимо для разработки методов коррекции врожденного нистагма у человека.