

Ключевым открытием является то, что хроническая фотостимуляция астроцитов *in vivo*, приводящая к реактивному астроглиозу, не оказывает существенного влияния на пролиферативную активность клеток-предшественников (о чем свидетельствует неизменный уровень Ki67), но при этом избирательно и значимо подавляет нейрональную дифференцировку, что проявляется в резком снижении количества DCX⁺ клеток и двойных позитивных клеток (Ki67⁺/DCX⁺) в срезах мозжечка.

Выявленный нами эффект сохранения пролиферации при блокировке дифференцировки является центральным патогенетическим звеном, выявленным в нашей работе. Он позволяет объяснить, почему при нейродегенеративных заболеваниях, сопровождающихся хроническим реактивным астроглиозом, собственный регенеративный потенциал мозжечка оказывается нереализованным. Пул предшественников формально активен (Ki67⁺), но микроокружение, формируемое активированными астроцитами, создает токсические условия, неблагоприятные для нейрогенеза. Это подтверждается резким снижением ко-локализации Ki67/DCX, что указывает на разрыв в критической цепи деление → дифференцировка. Это позволяет предположить, что реактивные астроциты избирательно стимулируют дифференцировку астроцитарных линий, а не усиливают нейрональную дифференцировку или пролиферацию клеток-предшественников (Fajerson et al., 2006; Robel et al., 2011).

Важнейшим аргументом в пользу ведущей роли именно микроокружения, а не клеточно-автономных дефектов, служат данные экспериментов *in vitro*. В культуре клеток, изолированных от влияния системных факторов и хронического нейровоспаления, внутренняя способность клеток-предшественников к пролиферации и дифференцировке сохранялась. Это доказывает, что сам по себе акт стимуляции астроцитов не является токсичным для предшественников. Напротив, их потенциал подавляется опосредованно через паракринные сигналы (провоспалительные цитокины, факторы роста, нарушения гомеостаза), доминирующие в ткани *in vivo* (Robel et al., 2011; Li et al., 2019).

Полученные результаты коррелируют с данными других исследований, демонстрирующих двойственную

роль реактивного астроглиоза (Fajerson et al., 2006; Götz et al., 2015). Реактивный астроглиоз способствует изоляции очагов повреждения и поддержанию тканевого гомеостаза, с одной стороны, а с другой — индуцирует выделение факторов, нарушающих синаптическую пластичность и процессы регенерации. Наши данные позволяют уточнить этот тезис: хронический астроглиоз целенаправленно подавляет именно нейрогенез, возможно, перенаправляя ресурсы на другие цели, например на глиогенез или формирование глиального рубца.

С клинической точки зрения, наши результаты предупреждают о потенциальных рисках терапевтических стратегий, направленных на общую стимуляцию пролиферации без учета состояния микроокружения. Бесконтрольное усиление пролиферации в условиях хронического астроглиоза может оказаться не только неэффективным, но и потенциально вредным, способствуя накоплению клеток, склонных к гибели или неправильной дифференцировке.

ВЫВОДЫ

1. Хроническая оптогенетическая активация астроцитов *in vivo* избирательно подавляет нейрональную дифференцировку (снижение DCX⁺ и Ki67⁺/DCX⁺ клеток), не оказывая значимого влияния на пролиферацию клеток-предшественников (уровень Ki67⁺).
2. Подавление нейрогенеза опосредовано не клеточно-автономными дефектами клеток-предшественников, а токсическим микроокружением, формируемым реактивными астроцитами *in vivo*, что подтверждается сохранением их пролиферативного и дифференцировочного потенциала в изолированной культуре *in vitro*.
3. Ключевым звеном нарушения регенерации является разрыв между пролиферацией и дифференцировкой, что проявляется в резком снижении количества клеток, ко-экспрессирующих Ki67 и DCX.
4. Полученные данные указывают на необходимость разработки терапевтических стратегий, направленных не на стимуляцию пролиферации, а на коррекцию микроокружения (подавление патологического нейровоспаления, обеспечение нейротрофической поддержки) для создания условий, благоприятных для выживания и интеграции новообразованных нейронов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шuvaев А. Н., Белозор О. С., Можей О. И., Яковлева Д. А., Шuvaев А., Смольникова М. В., Пожиленкова Е. А., Каспаров С., Салмин В. В., Салмина А. Б. 2021. Влияние реактивной глиии Бергмана на кратковременную синаптическую пластичность в моделях мозжечковой нейродегенерации, вызванной хронической активацией ChR2 и экспрессией мутантного атаксина 1. *Анналы клинической и экспер. неврологии*. Т. 15. № 1. С. 51. (Shuvaev A. N., Belozor O. S., Mozhey O. I., Yakovleva D. A., Shuvaev A., Smolnikova M. V., Pozhilenkova E. A., Kasparov S., Salmin V. V., Salmina A. B. 2021. Study of reactive gliabergmani on severe synaptic plasticity in models of cerebellar neurodegeneration caused by sequential activation of chr2 and expression of mutant attack1. *Annals Clin. Exper. Neurol.* V. 15. No. 1. P. 51). <https://doi.org/10.25692/ACEN.2021.1.6>

2. *Allahyari R. V., Garcia A. D.* 2015. Triggering reactive gliosis *in vivo* by a forebrain stab injury. *J. Vis. Exp.* V. 100. Art. ID: e52825.
<https://doi.org/10.3791/52825>
3. *Baumann O., Mattingley J. B.* 2022. Cerebellum and emotion processing. *Adv. Exper. Med. Biol.* V. 1378. P. 25.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-99550-8_3
4. *Fajjerson J., Tinsley R. B., Apricó K., Thorsell A., Nodin C., Nilsson M., Blomstrand F., Eriksson P. S.* 2006. Reactive astrogliosis induces astrocytic differentiation of adult neural stem/progenitor cells *in vitro*. *J. Neurosci. Res.* V. 84. P. 1415.
<https://doi.org/10.3791/52825.1002/jnr.21044>
5. *Figueiredo M., Lane S., Stout R. F. Jr., Liu B., Parpura V., Teschemacher A. G., Kasparov S.* 2014. Comparative analysis of optogenetic actuators in cultured astrocytes. *Cell Calcium.* V. 56. P. 208.
<https://doi.org/10.3791/52825.1016/j.ceca.2014.07.007>
6. *Gourine A. V., Kasymov V., Marina N., Tang F., Figueiredo M. F., Lane S., Teschemacher A. G., Szyper K. M., Deisseroth K., Kasparov S.* 2010. Astrocytes control breathing through pH-dependent release of ATP. *Science.* V. 329. P. 571.
<https://doi.org/10.3791/52825.1126/science.1190721>
7. *Götz M., Sirko S., Beckers J., Irmeler M.* 2015. Reactive astrocytes as neural stem or progenitor cells: *in vivo* lineage, *in vitro* potential, and genome-wide expression analysis. *Glia.* V. 63. P. 1452.
<https://doi.org/10.3791/52825.1002/glia.22850>
8. *Leto K., Arancillo M., Becker E. B., Buffo A., Chiang C., Ding B., Dobyns W. B., Dusart I., Haldipur P., Hatten M. E., Hoshino M., Joyner A. L., Kano M., Kilpatrick D. L., Koibuchi N., Marino S., Martinez S., Millen K. J., Millner T. O., Miyata T., Parmigiani E., Schilling K., Sekerková G., Sillitoe R. V., Sotelo C., Uesaka N., Wefers A., Wingate R. J., Hawkes R.* 2016. Consensus paper: cerebellar development. *cerebellum.* V. 15. P. 789.
<https://doi.org/10.1007/s12311-015-0724-2>
9. *Liberto C. M., Albrecht P. J., Herx L. M., Yong V. W., Levison S. W.* 2004. Pro-regenerative properties of cytokine-activated astrocytes. *J. Neurochem.* V. 89. P. 1092.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02420.x>
10. *Li K., Li J., Zheng J., Qin S.* 2019. Reactive astrocytes in neurodegenerative diseases. *Aging Dis.* V. 10. P. 664.
<https://doi.org/10.14336/AD.2018.0720>
11. *Llorente V., Velarde P., Desco M., Gómez-Gaviro M. V.* 2022. Current understanding of the neural stem cell niches. *Cells.* V. 11. P. 3002.
<https://doi.org/10.3390/cells11193002>
12. *Luo L., Guo K., Fan W., Lu Y., Chen L., Wang Y., Shao Y., Wu G., Xu J., Lü L.* 2017. Niche astrocytes promote the survival, proliferation and neuronal differentiation of co-transplanted neural stem cells following ischemic stroke in rats. *Exper. Theor. Med.* V. 13. P. 645.
<https://doi.org/10.3892/etm.2016.4016>
13. *Meeuwssen S., Persoon-Deen C., Bsibsi M., Ravid R., van Noort J. M.* 2003. Cytokine, chemokine and growth factor gene profiling of cultured human astrocytes after exposure to proinflammatory stimuli. *Glia.* V. 43. P. 243.
<https://doi.org/10.1002/glia.10259>
14. *Niranjan R.* 2014. The role of inflammatory and oxidative stress mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease: focus on astrocytes. *Mol. Neurobiol.* V. 49. P. 28.
<https://doi.org/10.1007/s12035-013-8483-x>
15. *Robel S., Berninger B., Götz M.* 2011. The stem cell potential of glia: lessons from reactive gliosis. *Nat. Rev. Neurosci.* V. 12. P. 88.
<https://doi.org/10.1038/nrn2978>
16. *Schneider J., Karpf J., Beckervordersandforth R.* 2019. Role of astrocytes in the neurogenic niches. *Methods Mol. Biol.* V. 1938. P. 19.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9068-9_2
17. *Shuvaev A. N., Belozor O. S., Mozhei O., Yakovleva D. A., Potapenko I. V., Shuvaev A. N., Smolnikova M. V., Salmin V. V., Salmina A. B., Hirai H., Teschemacher A. G., Kasparov S.* 2021. Chronic optogenetic stimulation of Bergmann glia leads to dysfunction of EAAT1 and Purkinje cell death, mimicking the events caused by expression of pathogenic ataxin-1. *Neurobiol. Dis.* V. 154. Art. ID: 105340.
doi: 10.1016/j.nbd.2021.105340
18. *Sofroniew M. V.* 2009. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci.* V. 32. P. 638.
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.08.002>

19. *Song H., Stevens C. F., Gage F. H.* 2002. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature*. V. 417. P. 39. <https://doi.org/10.1038/417039a>
20. *Wagner D. C., Scheibe J., Glocke I., Weise G., Deten A., Boltze J., Kranz A.* 2013. Object-based analysis of astroglial reaction and astrocyte subtype morphology after ischemic brain injury. *Acta Neurobiol. Exper. (Wars.)*. V. 73. P. 79. <https://doi.org/10.55782/ane-2013-1923>
21. *Wilhelmsson U., Faiz M., de Pablo Y., Sjöqvist M., Andersson D., Widestrand A., Potokar M., Stenovec M., Smith P. L., Shinjyo N., Pekny T., Zorec R., Ståhlberg A., Pekna M., Sahlgren C., Pekny M.* 2012. Astrocytes negatively regulate neurogenesis through the Jagged1-mediated Notch pathway. *Stem Cells*. V. 30. P. 2320. <https://doi.org/10.1002/stem.1196>