

Haistmisümbrisrakkude omadused ja nende terapeutiline potentsiaal

Martin Keba – TÜ arstiteaduskond

Kesknärvisüsteemi (KNS) kahjustusele ei järgne tavaliselt intensiivset aksonaalset regeneratsiooni. See on piiratud tänu pidurdavale miljööle, mille tekitavad astrotsüüdid, oligodendrotsüüdid, nende eellasrakud ja mikroglia. Samuti on KNSi kahjustusele omane gliossete armide teke ja närvikasvufaktorite ebapiisavus (1). Haistmissibul (*bulbus olfactorius*) on eelnevale erandiks, sest seal on normaalsed ja vigastatud haistaksonid võimelised regenereruma ja taastama sünaptilisi kontakte oma sihtmärkrakkudega kogu organismi eluea vältel (2). Seda nähtust seletatakse haistmisümbrisrakkude (HÜR) (ingl *olfactory ensheathing glial cells*) toimena naabruses paiknevatele neuronitele. Need gliiarakud on teadusringkonnale väga intrigeeriv uurimisobjekt, kuna seni tähelestatud neuroregeneratiivseid omadusi ei osata veel ammendavalt seletada ning esialgsed HÜRidel põhinevad rakusiirded on näidanud kliinilist potentsiaali mitmete närvihaguste ravis (1, 3).

HAISTMISÜMBRISRAKUD HAISTMISELUNDIS

1991. aastal avastati, et erinevalt teistest KNSi sisenevatest neuronitest leidub primaarsete haistmisnärvide transitoorses tsoonis neuraalharjast pärinevaid omapäraseid gliiarakke – haistmisümbrisrakke (vt joonis 1) (4). Taasuuenevad primaarsed haistmisnärvid innerveerivad haistmissibula päsmakesi, nende aksonid on kaetud HÜRide jätketega ning nad läbivad koos limaskestast päriskihi, sõellu sõellestme ning sisenevad KNSi (3, 4). Eristatakse haistmissibulast ja haistlimaskestast pärinevaid HÜRe.

Inimestel puudub sünni järel haistmissibulas neurogenees. Teistel imetajatel toimub tugev närvitüvirakkude migratoorne aktiivsus subventrikulaartsoonist haistmis-

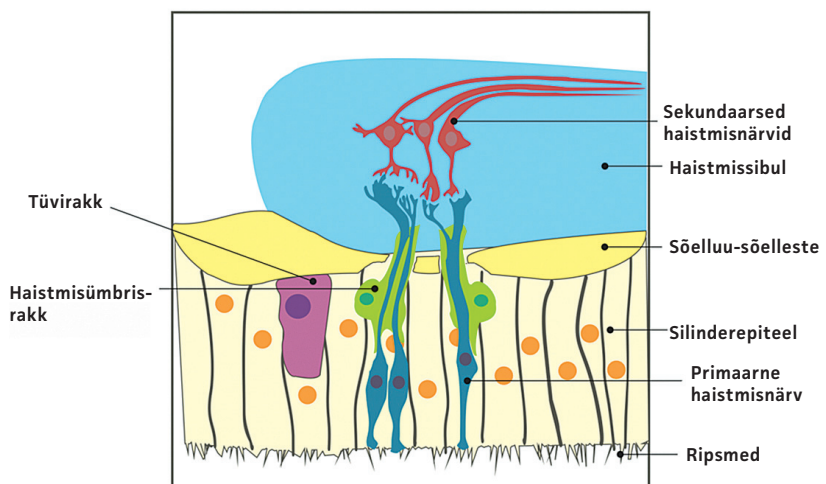
sibulasse, millega kaasneb sealne neuroblastide rohkus. Põhjust, miks inimestel puudub samaväärne tüvirakkude aktiivsus haistmissibulas, seletab vastava meele osatähtsuse vähenemine evolutsiooni käigus (5). Samas on sarnaselt teiste imetajatega inimesel säilinud haistmissibula neuronite väga suur regeneratiivne potentsiaal ning haistlimaskestast närvitüvirakud, mis taastavad seal-

sete primaarsete haistmisnärvide ja gliiarakkude populatsiooni (3, 4).

VÕRDLUS SCHWANNI RAKKUDEGA

Sarnaselt Schwanni rakkudega moodustavad ja reguleerivad HÜRid aksoni müeliinkesta. Lisaks eelnevale sarnanevad nad omavahel värtna-taolise kuju, madala afiinsusega närvikasvufaktori retseptori (p75NTR) ja gliaalse fibrillaarse happelise valgu ekspressiooni poolest, samuti reaktiivsuse poolest gliia kasvufaktoritele, forskoliinile ja tavalisele fibroblasti kasvufaktorile (6). Märkimisväärne erinevus nende kahe gliiatüübi vahel on selles, et HÜRid sisenevad koos aksonitega KNSi (vt joonis 2), kuid Schwanni rakud lõpetavad aksonite ümbritsemise enne KNSi sisenemist (7).

Laboratoorselt eristatakse HÜRe ja Schwanni rakke kahe tunnuse põhjal. Esimeseks võrdlusaluseks on epidermaalse kasvufaktori retseptori



Joonis 1. Haistmise juhttee perifeerse osa HÜRid ümbritsevad primaarsete haistmisnärvide aksoneid ning saadavad neid KNSi.

Saabunud toimetusse: 01.04.2015
Avaldamiseks vastu võetud: 11.08.2015
Avaldatud internetis: 30.09.2015

Kirjavahetajaautor:
Martin Keba
martinkeba@gmail.com

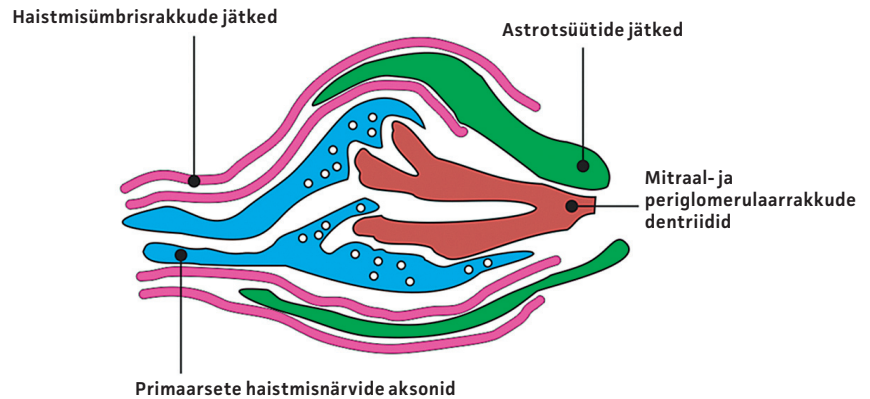
Võtmesõnad:
haistmisümbrisrakud, regeneratsioon,
närvisüsteem

perekonna (erbB) ekspressioon. Need retseptorid seovad peale epidermaalse kasvufaktori ka neureguliini perekonna proteiine, mis on potentsed mitogeenid mõlemale gliiatüübile. Reaalaja polümeraasahelreaktsiooni ja immunotsütokeemia abil on näidatud HÜRidel erbB2 ja erbB4 ekspressiooni, kuid Schwanni rakkudel ekspresseeruvad eelkõige erbB2 ja erbB3. Teine ning olulisem võrdlusalus HÜRide ja Schwanni rakkude vahel seisneb interaktsioonis astrotsüütidega. Schwanni rakud ja astrotsüüdid ei kasva teineteist kattes ning astrotsüütidel võivad olla hüpertroofia tunnused. Sellele vastanduvalt kasvavad HÜRid ja astrotsüüdid teineteist kattes (vt joonis 3). Molekulaarsed mehhanismid nende erinevuste taga vajavad edaspidist uurimist (6).

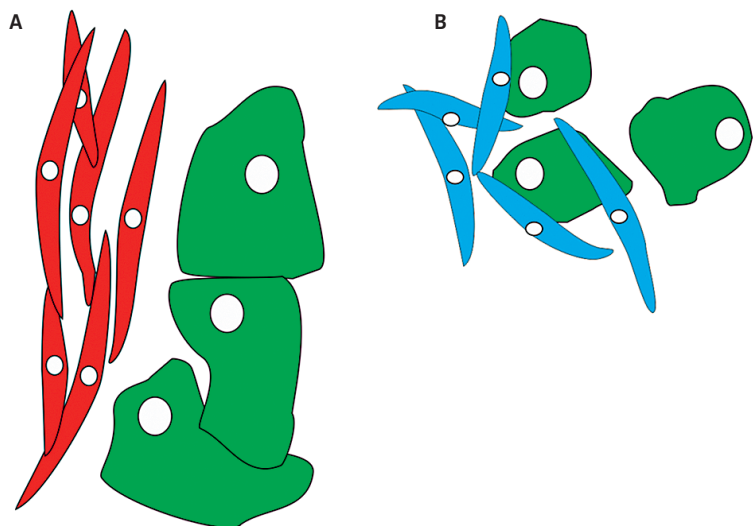
HAISTMISÜMBRISRAKKUDE NEUROREGENERATIIVSED OMADUSED

HÜRid produtseerivad ja taaskasutavad lipiide, näiteks kolesterooli rakulisest jääkainest (vt joonis 4). HÜRide rakumembraanil on identifitseeritud SCARB2 (ingl *scavenger receptor class B, member 2*) retseptor, mis vahendab suure tihedusega lipoproteiini abil ning ka otseselt kolesterooli internaliseerumist. Selle retseptori ekspressioon suureneb aksonaalse vigastuse tagajärjel. Neurotroofilised lipiidid sekreteeritakse põiekestesse, mis seostuvad väikse tihedusega lipoproteiini retseptoriga neuronite rakumembraanil. Seeläbi suureneb närvirakus substraataine sisaldus, mis soodustab aksonite kiiret biosünteesi ning võimaldab neuriitide väljakasvu ja hargnevust (3).

HÜRid reguleerivad erinevaid signaalmolekule auto- ja parakriinsel teel, et soodustada neuroregeneratsiooni. Aksonaalne kasv on kitsalt reguleeritud aksonid suunavate molekulidega. HÜRid ekspresseerivad retseptoreid Wnt1 (ingl *Wingless-type MMTV integration site family, member 1*) ja semaforiin-3A-le, millel on neuriitide kasvu vähendavad omadused, ning nende kontsentratsioon suureneb



Joonis 2. Primaarse haistmisnärvi ümbritsemine kesknärvisüsteemis. Haistmisümbrisrakud (violettne) katavad primaarse haistmisnärvi aksoneid (sinine), mis moodustavad sünapse mitraal- ja periglomerulaarrakkudega (pruun). Selline katmine vähendab otsest kontakti astrotsüütidega (roheline) ja väliskeskonnaga.

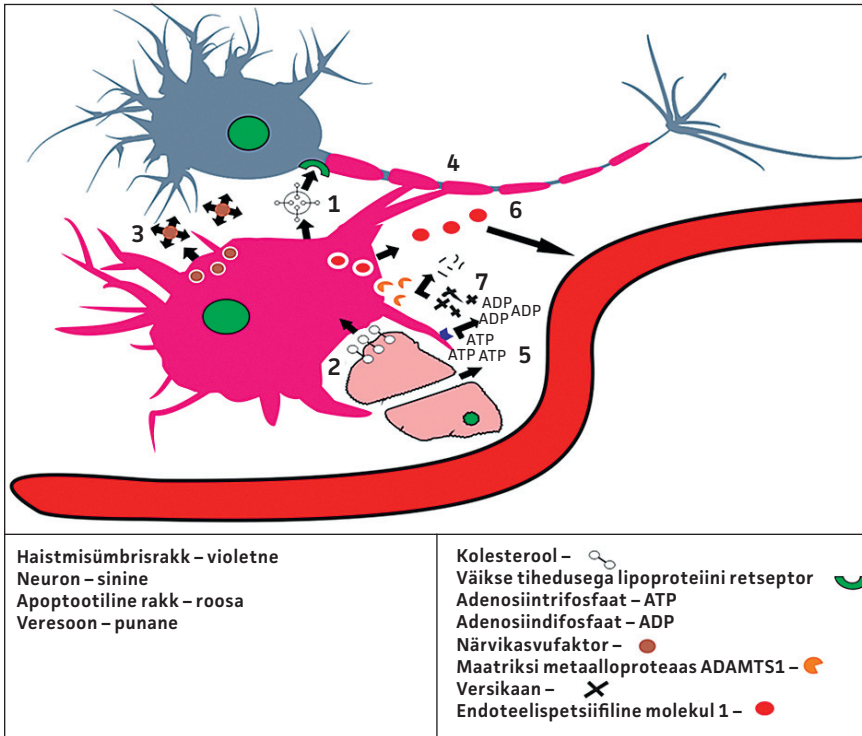


Joonis 3. Rakuline asetus Schwanni rakkudel või HÜRidel astrotsüütide ühiskultuuris. A. Schwanni rakud ja astrotsüüdid ei kattu omavahel kultuuris ning astrotsüütidel on hüpertroofia tunnused. B. HÜRid ja astrotsüüdid kasvavad kultuuris teineteist kattes astrotsüütide hüpertroofiata.

kahjustuse korral. Arvatakse, et HÜRide võime vastavaid ligandeid siduda vähendab nende toimet närvirakkudele. Need signaalmolekulid käituvad normaalses tingimustes kontrollmehhanismina, et vältida neuriitide ebavajalikku moodustumist. Samuti osalevad sekreteeritavad kasvufaktorid ning nende retseptorid aktiivses vastasmõjus närvirakkudega. Kahjustuse korral tõuseb p75NTR ja tema ligandi närvikasvufaktori ekspressioon. Olukorras aga, kus akson on täielikult müeliniseeritud, toimub mõlema molekuli allaregulatsioon tasemele, kus neid ei ole võimalik tehniliselt tuvastada (3).

Adenosiintrifosfaat (ATP) vabaneb suures kontsentratsioonis nekrootilistest ja apoptootilistest rakkudest ning sel on tsütotoksiline toime rakkudele, mis ekspresseerivad ATPd siduvat puriini retseptorit P2X₇-t. HÜRid ekspresseerivad ekto-ATPaase, mis hüdrolüüsivad ekstratsellulaarset ATPd. Kõrge ATP-tase viib rakusisese Ca²⁺ kontsentratsiooni suurenemiseni tsütosoolis ja võimaldab rakusurma mehhanisme. Seega on HÜRidel ka närvirakke kaitsvaid võimeid (3).

HÜRide siirdamise järel on *in vivo* täheldatud angiogeneesi aktiveerumist. Viimast seostatakse endoteeli spetsiifilise molekul 1 taseme



Joonis 4. HÜRide neuroregeneratiivsed omadused. 1. Neurotroofiliste lipiidide sekretsioon. 2. Detriidi fagotsütoos ja lipiidide taaskasutus. 3. Neurotroofiliste faktorite produktsioon. 4. Aksonite (re)müelinisatsioon. 5. Ekstratsellulaarse ATP kontsentratsiooni vähendamine. 6. Angiogeneesi stimuleerimine parakriinsete signaalmolekulidega. 7. Ekstratsellulaarse maatriksi modifitseerimine neuroregeneratsiooni soodustavaks.

tõusuga, mis vahendab vaskulaarse endoteliaalse kasvufaktor-A indutseeritavat angiogeneesi (3).

Ekstratsellulaarse maatriksi koostise iseärasused reguleerivad aksonite kasvu, nende suunamist, immuunvastust ja angiogeneesi. HÜRid sekreteerivad ekstratsellulaarse maatriksi proteiine, maatriksi proteaase, proteaaside inhibiitoreid ja matritsellulaarseid proteiine. Otsest toetavad närvid kasvu erinevad basaalmembraani komponendid, näiteks kollageen IV, fibronektiin ja laminiin, mida ka HÜRid produtseerivad (3). Laminiini olemasolu võib isegi osutada neuroregeneratsiooni eelduseks, kuna seda normaalselt kesknärvisüsteemis ei esine ja selle ekspressioon astrotsüütides toimub alles vahetult pärast kahjustust (8). Lisaks mõjutavad HÜRid ekstratsellulaarset maatriksit proteolüütiliselt, näiteks lõikab sünteetiv maatriksi metalloproteas ADAMTS1 (ingl *a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1*) versikaani,

mis on neuriidi kasvu pidurdava toimega maatriksi proteoglükaan. Samuti ekspresseerivad HÜRid mitmeid seriinproteasid inhibiitoreid, näiteks neuroserpiini, mis reguleerib neuroplastilisust ja sünaptoogeneesi. HÜRide summaarne efekt neuroregeneratsiooni ekstratsellulaarse maatriksi kaudu sõltub viimase ülesehitusest ja muude signaalmolekulide olemasolust (3).

Müeliinkihi moodustamine on närviraku regeneratsiooni üheks eelduseks. Selle saavutamiseks toimub HÜRide tsütoskeleti ümberorganiseerumine, mille korral Ras homologse geeni perekonna liige A reguleerib GTP-aasse aktiivsusega tsütoskeletis aktiini molekule. Selline remodelleerimine on neuriitide väljasopistuste tekke aluseks (3).

HÜRide migratsioonivõime on *in vitro* tingimustes parem kui Schwanni rakkudel. Migratoorne aktiivsus võimendab fagotsütoosi, mis omakorda soodustab aksonaalse

regeneratsiooni jaoks sobivama keskonna tekkimist (2).

HÜRid, mikroglia ja astrotsüüdid ekspresseerivad fraktalkiini ja tema retseptorit. Fraktalkiini retseptor kaitseb neuroneid makrofaagide ja mikroglia vahendatud neurotoksilisuse eest. Samuti vähendavad HÜRid astrotsüütide reaktiivsust. Tuumorinekroosifaktor alfa (TNF- α) mõjub HÜRidele kemotaktselt. TNF- α vahendatav signaalrada võib aktiveerida mitmeid geene, mis põhjustavad HÜRide fenotüüpilist nihet tugevama neuroproteksiooni suunas (3).

NÄRVITÜVIRAKKUDE JA HÜR-IDE SÜNERGISTLIKUD TOIMED RAKUSIIRDAMISEL

HÜRide ja närvitüvirakkude ühis- transplantaat tõstab olulisel määral uute rakkude diferentseerumise astet ja hulka. HÜRid soodustavad tüvirakkude ellujäämist, suurendavad sünaptoogeneesi efektiivsust, juhivad aksonaalset väljakasvu ning kutsuvad esile nende müeliniseerumist. Samuti on täheldatud interleukiin-6 (IL-6) ja Bcl-2-ga seotud rakusurma promootori (ingl lühend BAD) taseme langust. IL-6 on tähtis põletikulise vastuse esilekutsuja traumaatilise ajukahjustuse korral ja võib *in vivo* põhjustada vere-aju barjääri kahjustust. Närvitüvirakkude ja HÜRide koosmõjul väheneb IL-6 kontsentratsioon, samuti langeb BAD tase. BAD on apoptoosi esilekutsuv valk apoptoosi mitokondriaalses rajas (9).

HÜR-IDE SIIRDAMINE NEURODEGENERATIIVSETE HAIGUSTE LOOMUDELITES

Amüotroofse lateraalskleroosi, Parkinsoni tõve ja insuldi loomudelites on näidatud funktsionaalset ning ehituslikku paranemist HÜRide implantatsiooni järel. Neid tähelepanekuid seletatakse neuroproteksiooni, plastilisuse ja remüelinisatsiooni soodustamise kaudu (3).

SELJAAJUVIGASTUSE KORRAL TEHTUD KLIINILISED UURINGUD

Tõestatud on HÜRide implanteerimisega kaasnev aksonaalse rege-

SUMMARY

Properties of olfactory ensheathing cells and their therapeutic potential

Martin Keba¹

Olfactory ensheathing cells possess the ability to promote axonal regeneration. Their cumulative effect on neurons is sufficient to produce neurite outgrowth *in vitro* and *in vivo*. They can be obtained from nasal biopsies and they have advantages over Schwann cells. Olfactory ensheathing cells are possible candidates for autologous transplantation for a number of neuropathologies, including chronic spinal cord injury.

KIRJANDUS/REFERENCES

- Bradbury EJ, McMahon SB. Spinal cord repair strategies: why do they work? *Nat Rev Neurosci* 2006;7:644–53.
- Roloff F, Ziege S, Baumgärtner W, Wewetzer K, Bicker G. Schwann cell-free adult canine olfactory ensheathing cell preparations from olfactory bulb and mucosa display differential migratory and neurite growth-promoting properties *in vitro*. *BMC Neurosci* 2013;14:141.
- Roet KCD, Verhaagen J. Understanding the neural repair-promoting properties of olfactory ensheathing cells. *Exp Neurol* 2014;261:594–609.
- Thuret S, Moon LDF, Gage FH. Therapeutic interventions after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:628–43.
- Ernst A, Frisen J. Adult neurogenesis in humans – common and unique traits in mammals. *PLoS Biol* 2015;13(1):DOI:10.1371/journal.pbio.1002045.
- Barnett SC, Riddell JS. Olfactory ensheathing cells (HURs) and the treatment of CNS injury: advantages and possible caveats. *J Anat* 2004;204:55–67.
- Raisman G. Olfactory ensheathing cells — another miracle cure for spinal cord injury? *Nat Rev Neurosci* 2001;2:369–75.
- Liesi P. Laminin-immunoreactive glia distinguish regenerative adult CNS systems from non-regenerative ones. *EMBO J* 1985;4:2505–11.
- Liu S-J, Zou Y, Belegu V, et al. Co-grafting of neural stem cells with olfactory ensheathing cells promotes neuronal restoration in traumatic brain injury with an anti-inflammatory mechanism. *J Neuroinflammation* 2014;11:66.
- Ibrahim A, Li D, Collins A, et al. Comparison of olfactory bulb and mucosal cultures in a rat rhizotomy model. *Cell Transplant* 2014;23:1465–70.
- Féron F, Perry C, Cochran J, et al. Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human spinal cord injury. *Brain* 2005;128:2951–60.
- Tabakow P, Raisman G, Fortuna W. Functional regeneration of supraspinal connections in a patient with transected spinal cord following transplantation of bulbar olfactory ensheathing cells with peripheral nerve bridging. *Cell Transplant* 2014;23:1631–55.
- Chen L, Huang H, Xi H, et al. A prospective randomized double-blind clinical trial using a combination of olfactory ensheathing cells and Schwann cells for the treatment of chronic complete spinal cord injuries. *Cell Transplant* 2014;23:S35–44.
- Li L, Adnan H, Xu B, et al. Effects of transplantation of olfactory ensheathing cells in chronic spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis. *Eur Spine J* 2015;24:919–30.

neratsiooni suurenemine erinevate seljaajuvigastuste korral. Nende otsese remüeliniseerivate omaduste kõrval on tähtsal kohal kahjustatud aksonite funktsionaalne taasühendamine, gliosse armi organiseerimine, vähenemine ja immuunmoduleeriv toime (3, 6). Omavahel on võrreldud ka haistelimaskestast ja haistmissibulast saadud HÜRe, ja kuigi neil on funktsionaalseid eripärasid, on saadud tulemused sarnased. (10).

Austraalias tehtud kliinilises uuringus implanteeriti autoloogseid HÜRe kolmele seljaajukahjustusega meespatsiendile. Pärast kolme aastat ei täheldatud tüsistusi ega märkimisväärset funktsionaalset paranemist (11). Poolas korraldatud uuringus täheldati kõigi kolme HÜRide siirdamise läbinud patsiendi seljaajuvigastuse leevendumist, samuti ei esinenud tüsistusi. Ühel patsiendil paranes ASIA (*American Spinal Injury Association*) skaalal põhinev hinnang ühe, teisel kahe kategooria võrra. Kolmas opereeritu jäi veel ASIA A-kategooriasse, kuid täheldati motoorse ja sensoorse funktsiooni paranemist (12). Hiinas tehti uuring, et võrrelda erinevate rakkude neuroregeneratiivset efektiivsust. Valimi moodustasid seitse patsienti, kellest ühele siirati Schwanni rakke, teisele HÜRe ja Schwanni rakke ning kolmele patsiendile transplanteeriti ainult HÜRe. Viimased kaks patsienti moodustasid kontrollrühma. Operatsiooni tõhusust hinnati elektromüograafia ning ASIA klassifikatsiooni alusel. Kõigil viiel opereeritul esines funktsionaalne paranemine (13).

SENISTE UURINGUTE NEGATIIVSED KÜLJED

Senised kliinilised uuringud on tehtud väikestel uurimisrühmadel, et mõista HÜRide siirdamise turvalisust ja võimalikke komplikatsioone. Protseduuri efektiivsuse tegelikuks hindamiseks vajatakse suuremahulisi juhuslikustatud kohortuuringuid. Siirdamisejärgsed kõige sagedasemad tüsistused on palavik, pea-seljaaju vedeliku leke, sensoorse ja motoorse funktsiooni halvenemine, kerge aneemia ja süringomüelias. Suremust

on seni esinenud 0,35%-l opereeritustest. Samuti on uuringutele heidetud ette kehva metoodilist kvaliteeti (14).

PERSPEKTIIV

Suuremahuliste kliiniliste katsete ootuses on kasvamas optimism, et HÜRide siirdamine võiks olla efektiivne ravivõimalus seljaajuvigastustega haigetele. Edasised rakutasandi uuringud aitavad selgitada HÜRide neuroregeneratiivseid mehhanisme ning ennetada võimalikke probleeme. Haistmissibulast ja haistelimaskestast saadud HÜRide omapära mõistmine võib tõhustada seniseid saavutusi kliinilistes katsetes. Haiguste spekter ei pruugi piirduda seljaajuvigastusega, kuna HÜRide siirdamisel on tuvastatud häid tulemusi erinevate neurodegeneratiivsete haiguste loomudelites ning see võib anda läbimurde ka teiste närvisüsteemi kahjustavate haiguste korral (3, 6).

KOKKUVÕTE

Haistmissümbri rakud suudavad märkimisväärselt soodustada neurooni regeneratsiooni. Nende aktiivse mõjutamise kumulatiivne toime närvirakkudele on piisav, et põhjustada aksonaalset väljakasvu nii *in vitro* kui ka *in vivo* tingimustes. Lisaks sellele on nad võrdlemisi lihtsalt kättesaadavad nasaalsest bioptaadist, neil on olulisi eeliseid Schwanni rakkude ees, sest nad säilitavad efektiivsuse kesknärvisüsteemis. Need rakud on autoloogse rakusiirdamise arvestatavad kandidaadid seljaajuvigastuse korral ning nad võivad osutada kasulikuks teiste närvihaiguste puhul.

VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autoril puudub huvikonflikt seoses artiklis kajastatud teemaga.

¹ Faculty of Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonia

Correspondence to:
Martin Keba
martinkeba@gmail.com

Keywords:
olfactory ensheathing cells, regeneration, nervous system