

ПОСТНАТАЛНО РАЗВИТИЕ НА МАЛЪК МОЗЪК ПРИ МИШКА

Искрен Великов, Радослав Спасов, Станислав Морфов, Виктория Михайлова,
Ирина И. Стоянова, Антон Б. Тончев

*Катедра по анатомия и клетъчна биология, Медицински факултет,
Медицински университет – Варна*

POSTNATAL CEREBELLAR DEVELOPMENT IN A MOUSE

Iskren Velikov, Radoslav Spasov, Stanislav Morfov, Victoria Mihailova,
Irina I. Stoyanova, Anton B. Tonchev

*Department of Anatomy and Cell Biology, Faculty of Medicine,
Medical University of Varna*

РЕЗЮМЕ

Малкият мозък е регион от централната нервна система, който играе важна роля в координацията на волевите движения, както и в когнитивните функции и дискриминативната сетивност. Развитието му протича в два етапа: пренатален и постнатален. Малкомозъчният зачатък произлиза от ромбичната устна. Клетъчните популации са две основни групи - глутаматергични и ГАВА-ергични неврони. Тези клетки се генерират в различни пространствено-времеви интервали. В постнаталния период най-съществено развитие претърпяват клетките на Пуркиние и техните синаптични контакти. Друг ключов момент е формирането на заковлящи центрове и фолиацията на малкия мозък.

Ключови думи: глутаматергични неврони, ГАВА-ергични неврони, клетки на Пуркиние, фолиация, малък мозък

ABSTRACT

The cerebellum is a part of the central nervous system, which plays an important role in cognitive functions, discriminative sensibility, and the coordination of voluntary movements. Its development takes place in two stages: prenatal and postnatal. The cerebellar germ originates from the rhombic lip. There are two major groups of cells: glutamatergic and GABAergic neurons, which are generated at different spatial-temporal intervals. In the postnatal period, Purkinje cells and their synaptic contacts undergo the most significant development. Another key point is the formation of anchoring centers and the foliation of the brain.

Keywords: glutamatergic neurons, GABAergic neurons, Purkinje cells, foliation, cerebellum

ВЪВЕДЕНИЕ

Малкият мозък играе важна роля в когнитивните функции, дискриминативната сетивност, както и в координацията на волевите движения (Ito 2008). Развитието му е отличен модел за изучаване на неврогенезата и формирането на невроналните вериги поради сравнително простата му и стереотипна цитоархитектоника (Sillitoe and Joyner 2007). Чрез прилагането на транскрипционния метод неотдавна бе създаден пълен профил на клетъчния състав на отделните лобули при мишка (Kozareva, Martin et al. 2021). На

базата на анализ на огромен брой неврони същата изследователска група е обособила 46 клъстера, всеки от които е причислен към един от 18-те известни клетъчни типа, характеризиращи се със специфични маркери, морфологични, хистологични и функционални характеристики.

Независимо че повечето данни за структурата и развитието на малкия мозък са от изследвания при бозайници, доказано е значително сходство и с този на костните риби (Hibi and Shimizu 2012). Смята се, че церебелумът произлиза от аларната пластинка на първи ромбомер, който е най-пред-

ният сегмент на метенцефалона (Zervas, Millet et al. 2004). Церебеларните клетъчни популации показват значителна хетерогенност. Глутаматергичните и GABA-ергичните неврони произхождат съответно от ромбичната устна (RL) и малкомозъчната вентрикуларна зона (VZ), които са две пространствено разграничени зародишни ниши на малкия мозък (Pascual, Abasolo et al. 2007). Вентрикуларната зона дава началото на различни невроглиални клетки, включително Бергманова глия, олигодендроцити и астроцити. Различните видове GABA-ергични и глутаматергични неврони се генерират в определени пространствено-времеви интервали (Sudarov, Turnbull et al. 2011). Установени са около 50 отделни клъстера от клетки на Пуркиние (PCs) в късните етапи на бременността. Впоследствие те се трансформират в надлъжни ивици по медиолатералната ос (Dastjerdi, Consalez et al. 2012).

Неврогенеза и миграция на зърнести неврони

Зърните (GCs) неврони са глутаматергични и произхождат от ромбичната устна. По време на ранния постнатален период множеството митози водят до разрастването на външния зърнест слой. В резултат на това той се превръща от монослой в шест-осем клетъчен слой. Между ембрионален ден (E) 12.5 и 16 прекурсорите на GCs (GCP) се разпространяват по дорзалната повърхност на церебеларния примордиум, за да образуват външния зърнест слой (EGL) (Miale and Sidman 1961). През този период те експресират различни транскрипционни фактори. Транскрипционният фактор Sonic hedgehog (Shh), синтезиран от клетките на Пуркиние, стимулира пролиферацията на GCP (Wechsler-Reya and Scott 1999). Молекулярно-генетичните изследвания показват, че Atoh1 (Ben-Arie, Bellen et al. 1997) и MYCN (Knoepfler, Cheng et al. 2002) са необходими за спецификацията на GCs и разширяването на групата от GCP в ранния постнатален период. Генетични анализи доказват, че Shh сигнализацията контролира фолиацията в малкомозъчната кора (Corrales, Blaess et al. 2006). Предполага се, че дефекти в Shh-сигнализацията имат значение за образуването на медулобластом (Hatten and Roussel 2011). Notch2 е фактор, който стимулира пролиферацията на GCP и инхибира диференциацията на GCs (Solecki, Liu et al. 2001). Този транскрипционен фактор регулира и експресията на Atoh1 (Machold, Kittell et al. 2007).

Експерименти с трансгенни мишки, при които липсва транскрипционният фактор Neuro D, показват редуциране на GCs в малкия мозък

и хипокампуса (Miyata, Maeda et al. 1999). Смята се, че няколко фактора подтискат пролиферацията на GCP, включително BMP4, WNT3 и убиквитин лигазата на стимулиращия анафазата комплекс/циклозома (APC/CCdh1). WNT3 потиска растежа на GCP, като активира протеин киназите (MAPKs), RAS-зависимите извънклетъчни сигнално-регулирани кинази 1/2 (ERK1/2) и ERK5. WNT3 инхибира пролиферацията на GCP, супресирайки таргетните гени на митогена Shh и bHLH транскрипционния фактор Atoh1 (Anne, Govek et al. 2013). Друг важен регулатор на пролиферацията на GCP е SK1δ, чиято липса или супресия ограничава разширяването на GCP. Условното изтриване на APC/CCdh1 активатора, Cdh1, в церебеларните GCPs води до по-високи нива на SK1δ, което предполага важна роля за APC/CCdh1 комплекса в края на клетъчния цикъл (Penas, Govek et al. 2015). Постмитотичните GCP започват да мигрират тангенциално, след което миграцията става радиална по хода на Бергмановата глия. В този процес важна роля играе Semaphorin (Kerjan, Dolan et al. 2005) и неговото свързване с Plexin A2 (Renaud, Kerjan et al. 2008). Мигриращите GCPs образуват адхезивни контакти с глиални клетки с помощта на неврон-глиалния адхезивен протеин ASTN1 (Adams, Tomoda et al. 2002). Постмиграционни GCs се установяват във формиращия се зърнест слой (GL), където разширяват дендритното си дърво и образуват синапси с аферентни аксони от мъхести влакна (Leto, Arancillo et al. 2016).

Униполярни четковидни неврони

Униполярните четковидни неврони (UBCs) са възбудни интерневрони в малкомозъчната кора (Kalinichenko and Okhotin 2005, Bell, Han et al. 2008). Най-разпространени са във флокуло-нодуларния дял и nucleus cochlearis dorsalis - области, които обработват сензорно-моторни сигнали, регулиращи позицията на главата, тялото и очите. Развитие, пролиферацията и миграцията на тези клетки са сходни при всички бозайници. Миграцията им зависи от транскрипционния фактор Tbr2, при липсата на който в церебелума на мишки мутанти напълно липсват UBCs (McDonough, Elsen et al. 2020). Миграционният път на Tbr2+ UBCs прекурсори при гризачите е идентичен с този при човека и на сагитални срези наподобява фонтан (Englund, Kowalczyk et al. 2006). От тялото на UBCs излиза един израстък (дендрит), завършващ с множество дендриоли, които селективно образуват синаптични контакти с мъхести влакна (Nunzi, Birnstiel et al. 2001, Mugnaini, Sekerková et al. 2011, Balmer

and Trussell 2019). В зависимост от комплемента на глутаматните рецептори върху дендритите, синапсите могат да генерират бавни възбудни (ON) или инхибиторни (OFF) постсинаптични отговори (Balmer and Trussell 2019, Balmer and Borges-Merjane 2021).

Познати са два морфологично и функционално различни подтипа UBCs (тип I и тип II) (Kim, Sekerková et al. 2012). Клетките тип I експресират Calretinin, а тип II са позитивни за метаботропния глутаматен рецептор mGluR1α (Mugnaini, Sekerková et al. 2011, Guo and Huson 2021). Независимо че двата подтипа UBCs се появяват през различни времеви интервали (Sekerková, Ilijic et al. 2004), наблюдава се частично припокриване при тяхната експресия в областта на лобул X (nodulus) (Nunzi, Shigemoto et al. 2002). При човек UBCs тип I не се наблюдават преди 28 гестационна седмица, при раждането броят им е сравнително малък, но постепенно се увеличава през първата година от живота, въпреки че все още е по-нисък от този при възрастни. Това подсказва, че цитоархитектониката на церебелума не е формирана преди края на първата година (Vig, Takács et al. 2005). При мишка клетки тип I възникват към E14-17, а тип II през по-дълъг времеви диапазон – E16-P1. Първоначално се е предполагало, че и двата клетъчни типа произлизат от външния зърнест слой (Abbott and Jacobowitz 1995), но по-късни проучвания показват произход от вентрикуларната зона (Ilijic, Guidotti et al. 2005). Маркиране с Tbr2 недвусмислено демонстрира, че четковидните неврони произхождат от АТНО1-експресиращи прогенитори в ромбичната устна (Wang, Rose et al. 2005).

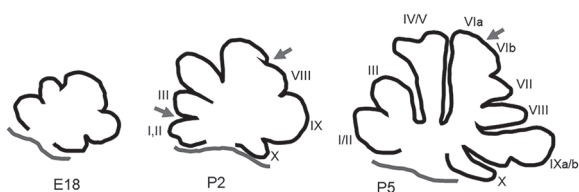
UBCs мигрират дорзално през бялото вещество и достигат до зърнестия слой към P10, няколко дни преди невrogenезата там да завърши (Englund, Kowalczyk et al. 2006). Окончателната им диференциация става между P2 и P28. Според степента на развитие на дендритното дърво в съзряването на клетките от тип I могат да се обособят четири стадия: протодендритен, стадий на филоподии, междинен и дендритен (Morin, Diño et al. 2001). В последния етап (P21-P28) UBCs са морфологично зрели. Предполага се, че соматодендритната диференциация е различна при двата подвида. В клетъчни култури от P8 мишки само тип II развиват четковидни израстъци, докато тип I притежават дълги разклонени дендрити. Към P7 повечето неврони експресират calretinin и mGluR1α, а само около 10% експресират само calretinin. Към P21 броят на двойно позитивните клетки драстично намалява и на двумесечна въз-

раст те напълно изчезват (Mugnaini, Sekerková et al. 2011), като същевременно броят на клетките, позитивни само за calretinin, се увеличава с 33%. Това предполага различни механизми на постнатална диференциация при двата подтипа. Формирането на четковиден дендрит и спадът в експресията на mGluR1α при тип I към P12 вероятно съвпада с формирането на първите синаптични контакти с мъхестите влакна (Leto, Arancillo et al. 2016).

Фолиация на малкия мозък

Фолиация е най-значимият процес в развитието на малкия мозък при бозайници, птици и някои риби, който е съхранен в еволюционен план и представлява обособяване на дялове, лобули и сублобули, разделени един от друг чрез серия от фисури (Altman and Bayer 1997). При повечето видове този процес е симетричен спрямо срединната линия и фисурите се разполагат перпендикулярно на срединната линия при вермиса. При хемисферите на бозайниците разположението на фисурите варира спрямо сагиталната равнина (Leto, Arancillo et al. 2016). В средата на миналия век е въведена унифицирана система за номериране дяловете във вермиса на птици и бозайници с римски цифри от I до X, считано отпред назад, а за прецизиране на фолиативния модел при различните видове се отчитат и делчета (напр. VIa и VIb) (Larsell 1952). Силно нагънатата церебеларна повърхност предоставя терен за разполагане на повече неврони и образуване на голям брой сложни невронални мрежи (Welker 1990). Тъй като малкият мозък модулира функциите на всички области на неокортекса, счита се, че еволюцията на тези структури протича в унисон (Buckner 2013). Спиноцеребеларният път се проектира във вермиса и по този начин хемисферите са ангажирани за връзка с неокортекса.

Полукълбата са изградени от четири дяла, разположени странично от делчета VI и VII, вермисът има осем или девет дяла (в зависимост от породата), защото при някои от тях делчета I и II не са разделени, а при други породи делчета IV и V са слети (Larsell 1952). При мишка зачатъкът на малкия мозък се формира между E9-E12 (Sgaiet, Millet et al. 2005), фолиацията на вермиса започва към E17,5 и продължава постнатално, като развитието на всичките десет дяла на хемисферите завършва към P7 (Kim and Scott 2014) (фиг.1). По време на развитието на ЦНС и особено на церебелума се наблюдава наличие на особено голямо количество протеини от семейството на Neuron Navigator, кодирани в Neuron Navigator 2 (NAV2)



Фиг. 1. Схематично изображение на етапите в малкомозъчната фолиация. Нагъването на повърхността започва през ембрионалния период и продължава постнатално. На E18 се установяват пет малкомозъчни фолия, чиито брой на P2 се увеличава до десет (обозначени с римски цифри). Всяко фолио съответства на един малкомозъчен дял. Впоследствие към P5 настъпва допълнително нагъване на малкомозъчните фолия и образуване на поддялове (Via, VIb, IXa/b). Този процес води началото си от т. нар. закотвящи центрове (стрелки).

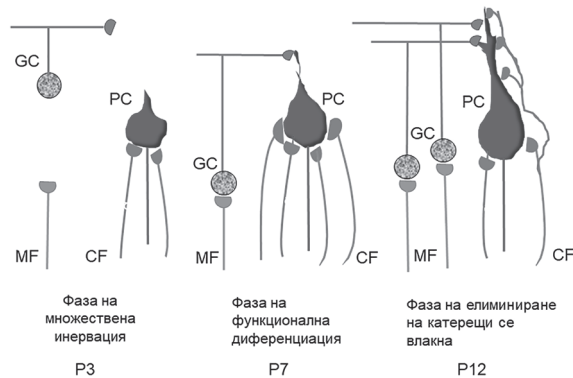
гена (MIM:607,026), които играят ключова роля в развитието на цитоскелета, нарастването на невритите и миграцията на клетките. Дефицитът на Nav2 довежда до малкомозъчна хипоплозия и дисплазия, включително редуциран брой на фолиата (Accogli, Lu et al. 2022).

Обемът на малкия мозък, сравнен с обема на целия мозък, е относително постоянна величина при различните видове, като най-голямо пропорционално нарастване на обема се наблюдава при церебелум и неокортекс (Yopak, Lisney et al. 2010). Съотношението между броя неврони в малкия мозък и неокортекса е относително постоянно при различните бозайници (Herculano-Houzel 2010), а трасирането на невроналните вериги между тези структури при бозайници показва важната роля на малкия мозък за консолидиране на паметовите процеси по време на сън (Xu, De Carvalho et al. 2021). От голям интерес са пътищата на аксоните от парасагиталната ивица на клетките на Пуркиние до неокортекса и обратно, тъй като се счита, че тяхното идентифициране ще разкрие пространствената организация на невроните в малкомозъчната кора и определени гънки на крайния мозък. Вероятно ще бъдат открити и нови вериги, специфични само за човешкия мозък (Leto, Arancillo et al. 2016).

Развитие на аферентните катерещи се влакна

Клетките на Пуркиние (PCs) в постнаталния период получават аферентни влакна от аксоните на зърнестите неврони и катерещите се влакна (CFs). Последните са аксони, идващи от nucleus olivaris inferior в продълговатия мозък. Всяка клетка на Пуркиние със своите дендрити осъществява около 100 000 синаптични контакта.

Един аксон от катерещите се влакна образува синапси с няколко PCs. По време на пренаталното развитие всяка PCs е инервирана от множество катерещи се влакна (Crepel, Mariani et al. 1976), като незрели оливо-церебеларни аксони изграждат множество колатерали около PCs през т. нар. пълзящ етап от развитието (Chedotal and Sotelo 1993). Незрелите PCs нямат големи първични дендрити и CFs завършват върху перисоматичните бодилести израстъци по тялото на PCs. Към P2-P3 няколко CFs образуват множество синапси с една PC. Към P6 дендритите на PCs започват да прорастат в молекулярния слой, като телата им все още се инервират от множество CFs. При плъхове след края на първата постнатална седмица (P8-P9) повече от половината PCs са инервирани от поне две отделни и функционално независими CFs, а на P15 се установява, че едно катерещо се влакно се прикрепва селективно за тялото на една определена PC (Crepel, Mariani et al. 1976), процес, наречен функционална диференциация (фиг. 2). При експериментални мишки с дефицит на Cav2.1 (субединица на волтаж-зависим Ca²⁺ канал) се наблюдава увреждане на селективното прикрепване на единичните CFs, което подсказва, че притокът на Ca²⁺ е от ре-



Фиг. 2. Илюстрация на постнаталното развитие на синаптичните контакти между катерещите се влакна (CF) и клетките на Пуркиние (PC), преминаващо през няколко стадия. До P3 всяко от катерещите се влакна образува относително еднакъв брой синаптични контакти с телата на клетките на Пуркиние. От P3 до P7 едно влакно започва да доминира над останалите, образувайки голям брой синапси, процес, наречен „функционална диференциация“. След P9 влакното с най-силни контакти се премества към нарастващите дендрити на клетките на Пуркиние (фаза на транслокация). Влакната с по-слаби контакти (зубещите) остават около тялото на клетката на Пуркиние, където впоследствие постепенно се елиминират.

шаващо значение за развитието на синаптичните контакти (Watanabe and Kano 2011). Най-здраво свързаното CFs впоследствие разширява зона-та си на контакт от тялото на неврона до дендритите (процес на транслокация). Първо се образуват контакти с фините израстъци, произлизащи от тялото, и се образува сплетение (стадий на перичелуларно гнездо), а след диференциацията на CFs само „победителят“ разширява зоната си на инервация от тялото до стволите дендрити след P9 (стадий „капишон“). В дендритния стадий синапсите на CFs се транслоцират към нарастващите дендрити на PCs (Ramón y Cajal 1911). Слабите CFs остават около тялото на неврона и евентуално биват елиминирани в две фази - ранна, P7-P11, скоро след завършването на функционалната диференциация и повлияваща се от невроналната активност, и късна фаза (P12-P17), зависеща от генерирането на GCs и PF-PC синапси (Watanabe and Kano 2011). Критичен момент при този процес е правилното образуване на възбудни синапси с израстъците на PCs, както и образуването на инхибиторни синапси с кошчевите клетки. При мишки с дефицит на mGluR1 или някоя от неговите низходящи сигнални молекули късната фаза от елиминирането на CFs е силно смутена (Rai, Watanabe et al. 2021). Невротропин рецептор TrkB и инсулиноподобният растежен фактор 1 също участват в елиминиране синапсите на CFs (Hashimoto and Kano 2013). Постсинаптичният семафорин и неговите рецептори върху CFs са включени в каскадата на mGluR1 и поддържат съществуването както на силни, така и на слаби CFs от P8 до P18, като по този начин противодействат на процесите на елиминирането на синапсите на CFs (Uesaka, Uchigashima et al. 2014).

Диференциране на дендритите на клетките на Пуркиние

PCs са крушовидни мултиполярни неврони, подходящ модел за изследване развитието на частите на неврона. Протеините калбиндин (CB) и инозитол фосфат 3 рецептор (IP3R) специфично се експресират в клетките на Пуркиние (Sotelo and Rossi 2013). Генната експресия в тези клетки се задвижва от L7/pcp2 промотора (Oberdick, Smeune et al. 1990). Технологии, позволяващи комбинирането на промотора с индуцируема CRE/loxP система, дават възможност за контролиране генната експресия в PCs (Nishiyama, Hayashi et al. 2012), а използването на органотипни култури дава възможност за изследване на изолирани неврони (Karfhammer 2004).

Постнаталните PCs се разпознават по тяхното голямо дендритно дърво, чието разгръщане в сагиталната равнина наподобява дървовидни разклонения (Ramón y Cajal 1911). При мишки развитието се осъществява през първите три постнатални седмици от живота, процес, който не е линеен, тъй като прекъсва в края на първата постнатална седмица. През тази първа седмица се наблюдават последователни фази на растеж и ретракция (Armengol and Sotelo 1991). Незрелите неврони са доста разнообразни по форма, но за връзката между тях липсват достатъчно научни данни. Към втората седмица се развива дендритното дърво. В началото те имат един ствол-ов сегмент на апикалния полюс, който предопределя формата на зрялото дендритно дърво. През втората и до края на третата седмица дендритното дърво първо се разширява, а след това се издължава. Посредством вирусен вектор се установява, че първоначално PCs са неправилно подредени в трите взаимноперпендикулярни равнини. През третата седмица чрез динамично ремоделиране те достигат своята конфигурация само в една равнина (Kaneko, Yamaguchi et al. 2011). Преходът между първата фаза (на интензивно ремоделиране) и втората (на непрекъснато развитие на зрялото дендритно дърво) се съпътства от дълбоки функционални промени при високи нива на тиреотропния хормон и затова се предполага, че наподобява метаморфозата при земноводните (Dusart and Flamant 2012). Освен това многобройни вътрешни и фактори на околната среда регулират дендритното развитие (Avci, Lebrun et al. 2012), макар че механизъмът на тяхното въздействие все още не е напълно ясен. Според последни изследвания PCs са сред редките видове неврони, които секретират фактори, подпомагащи развитието на дендритното дърво (Chen, Heck et al. 2013). Критичен момент по време на моделирането на невроналните вериги при бозайници е процесът на дендритно самоизбягване (Gibson, Tуманский et al. 2014). Освен това за нормалния растеж на развиващите се дендрити е необходим невротрофин-3, ето защо те се конкурират помежду си за ограничените му количества и изискват антероградния му транспорт от пресинаптичните им контакти, за да могат да нарастват (Joo, Hippenmeyer et al. 2014).

Роля на хормоните на щитовидната жлеза за развитието на малкия мозък

Хормоните на щитовидната жлеза (ТН) Т3 и Т4 играят важна роля за цялостното развитие на организма по време на пренаталния и постнаталния период. Т4 преминава по-лесно кръ-

вно-мозъчната бариера в сравнение с Т3 (Calvo, Obregón et al. 1990) и след преодоляването ѝ се поема от астроцитите и се дейодира до Т3 чрез ензима йодтиронин дейодиназа (Guadaño-Ferraz, Obregón et al. 1997). Впоследствие Т3 се пренася до невроните и олигодендроцитите, вероятно чрез монокарбоксилатен транспортер-8 (Heuer, Maier et al. 2005). Тироидните хормони се свързват с ядрени рецептори и с помощта на транскрипционни ко-фактори повлияват експресията на гени, свързани с клетъчната пролиферация, миграция и диференциация (Ishii, Amano et al. 2021). Хипотиреоидизмът е съпроводен с абнормна морфогенеза на ЦНС, включително на малкия мозък, водещи до нарушена функция, известна му при хората като кретенизъм (Porterfield and Hendrich 1993). Ето защо заместващата терапия трябва да започне възможно най-рано, за да се предотвратят необратими неврологични увреждания. Перинаталният хипотиреоидизъм засяга растежа, дендритната арборизация и формиране на дендритни израстъци при клетките на Пуркиние (Koibuchi, Jingu et al. 2003). Синаптогенезата между клетките и проекционните влакна е силно подтисната, а изчезването на външния зърнест слой е забавено в резултат на забавената пролиферация и миграция на зърнести клетки (Lauder, Altman et al. 1974). Хипотиреоидизмът води и до понижена перинатална експресия на много гени (Koibuchi, Jingu et al. 2003), свързани с невротрофините като nerve growth factor, BDNF, NT3 и NT-4/5 и рецептори като инозитол трифосфат 3 (Strait, Zou et al. 1992). ТН регулират експресията им само в ограничен времеви диапазон. По време на ранното развитие действието на ТН е по-силно в сравнение с това при възрастни, но нивото на рецепторите за тях е по-високо при възрастни (Oppenheimer and Schwartz 1997). Вероятно чувствителността към ТН се регулира от епигенетични механизми, напр. метилиране на ДНК и хистонова модификация (Leto, Arancillo et al. 2016).

Експериментални модели с генетични модификации на тироидните рецептори (TR) показват, че TR α , TR β и TR α /TR β двойни нокаут мишки не показват очевидни церебеларни дефекти. Това предполага, че вроденият хипотиреоидизъм в мозъка се дължи на вредното въздействие на нелиганден TR. Тази хипотеза се подкрепя от изследвания с трансгенни животни, експресиращи мутантен TR, които показват тежки дефекти в неврологичното развитие (Venero, Guadaño-Ferraz et al. 2005). Тъй като ТН не действа само в мозъка, възможно е малкомозъчното разви-

тие да е повлияно от периферни метаболитни промени. За да се тества тази хипотеза, е използван L7/Pcr2 промотор за генериране на трансгенни мишки, експресиращи мутантен TR α 1 специфично в клетки на Пуркиние след P8, при които се наблюдават ограничени промени в церебеларната морфогенеза (Fauquier, Chatonnet et al. 2014). Ограничена дендритна арборизация и експресия на мутантен TR β 1, както и ниска експресия на ТН-регулирани гени при PCs са отчетени още на P2. Миграцията на зърнестите неврони също е забавена, както и експресията на гени, регулирани от ТН не само в тях, но и в олигодендроцитите (Yu, Iwasaki et al. 2015). Като последица при тази мишка се наблюдава малкомозъчна атаксия, подсказваща, че вероятно ТН въздействат върху клетките на Пуркиние и така регулират цялостното развитие на малкия мозък. Счита се, че критичният период за действие на тези хормони е през първите две постнатални седмици, но може и да е по-рано. Фактори на околната среда, които смущават действието на ТН по време на критичния период, може да доведат до различни неблагоприятни ефекти (Ibhazehiebo and Koibuchi 2014).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Първите научни сведения относно устройството на малкия мозък датират от началото на XX век в трудовете на Ramón y Cajal. През последните десетилетия са натрупани много нови данни за пренаталното и постнаталното му развитие. Основното научно достижение е откриването на истмичния организатор и неговата индуктивна роля за регионалната молекулярна организация на нервната тръба с нейните граници между домейни, експресиращи хомеобокс-гени. Истмичният организатор секретира FGF8, който инициира каскада от реакции, необходими за специфичното изграждане на малкия мозък. Преди повече от век е установено, че невроните популации произлизат от вентрикуларната зона и ромбичната устна, като става ясно, че глутаматергичните неврони (в малкомозъчните ядра, зърнестите неврони и униполярните четковидни неврони) произхождат от ромбичната устна и мигрират през външния зърнест слой, а ГАВА-ергичните неврони (клетки на Пуркиние, интерневроните в молекулярния слой, клетките на Лугаро и на Голджи, както и някои клетки на малкомозъчните ядра) произхождат от вентрикуларната зона. Освен това всяка от двете зони е разделена на поддомейни, и всеки от тях е детерминиран от различни транскрипционни фак-

тори за генериране на съответната популация от неврони. Следващ етап от развитието е невроналната миграция и диференциация. Интерес представлява развитието на клетките на Пуркиние, което започва към E10-E11,5. Впоследствие настъпва обособяване в определени зони на биохимично хетерогенни клетъчни популации. В постнаталния период се наблюдава елиминиране на множествената инервация от катерещите се влакна, като паралелно с тези процеси протича и малкомозъчна фолация, за която важна роля играят закрепващите центрове. Нормалното малкомозъчно развитие протича под влиянието на хормоните на щитовидната жлеза.

ЛИТЕРАТУРА

- Abbott, L. C. and D. M. Jacobowitz (1995). „Development of calretinin-immunoreactive unipolar brush-like cells and an afferent pathway to the embryonic and early postnatal mouse cerebellum.“ *Anat Embryol (Berl)* 191(6): 541-559.
- Accogli, A., S. Lu, I. Musante, P. Scudieri, J. A. Rosenfeld, M. Severino, S. Baldassari, M. Iacomino, A. Riva, G. Balagura, G. Piccolo, C. Minetti, D. Roberto, F. Xia, R. Razak, E. Lawrence, M. Hussein, E. Y. Chang, M. Holick, E. Cali, E. Aliberto, R. De-Sarro, A. Gambardella, U. D. Network, S. S. Group, L. Emrick, P. J. A. McCaffery, M. Clagett-Dame, P. C. Marcogliese, H. J. Bellen, S. R. Lalani, F. Zara, P. Striano and V. Salpietro (2022). „Loss of Neuron Navigator 2 Impairs Brain and Cerebellar Development.“ *Cerebellum*.
- Adams, N. C., T. Tomoda, M. Cooper, G. Dietz and M. E. Hatten (2002). „Mice that lack astrotactin have slowed neuronal migration.“ *Development* 129(4): 965-972.
- Altman, J. and S. A. Bayer (1997). *Development of the cerebellar system: in relation to its evolution, structure, and functions.*, Boca Raton: CRC press.
- Anne, S. L., E. E. Govek, O. Ayrault, J. H. Kim, X. Zhu, D. A. Murphy, L. Van Aelst, M. F. Roussel and M. E. Hatten (2013). „WNT3 inhibits cerebellar granule neuron progenitor proliferation and medulloblastoma formation via MAPK activation.“ *PLoS One* 8(11): e81769.
- Armengol, J. A. and C. Sotelo (1991). „Early dendritic development of Purkinje cells in the rat cerebellum. A light and electron microscopic study using axonal tracing in ,in vitro' slices.“ *Brain Res Dev Brain Res* 64(1-2): 95-114.
- Avcı, H. X., C. Lebrun, R. Wehrlé, M. Doulazmi, F. Chatonnet, M. P. Morel, M. Ema, G. Vodjdani, C. Sotelo, F. Flamant and I. Dusart (2012). „Thyroid hormone triggers the developmental loss of axonal regenerative capacity via thyroid hormone receptor $\alpha 1$ and krüppel-like factor 9 in Purkinje cells.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(35): 14206-14211.
- Balmer, T. S. and C. Borges-Merjane (2021). „Incomplete removal of extracellular glutamate controls synaptic transmission and integration at a cerebellar synapse.“
- Balmer, T. S. and L. O. Trussell (2019). „Selective targeting of unipolar brush cell subtypes by cerebellar mossy fibers.“ *eLife* 8(eLife): e44964.
- Bell, C. C., V. Han and N. B. Sawtell (2008). „Cerebellum-like structures and their implications for cerebellar function.“ *Annu Rev Neurosci* 31: 1-24.
- Ben-Arie, N., H. J. Bellen, D. L. Armstrong, A. E. McCall, P. R. Gordadze, Q. Guo, M. M. Matzuk and H. Y. Zoghbi (1997). „Math1 is essential for genesis of cerebellar granule neurons.“ *Nature* 390(6656): 169-172.
- Buckner, R. L. (2013). „The cerebellum and cognitive function: 25 years of insight from anatomy and neuroimaging.“ *Neuron* 80(3): 807-815.
- Calvo, R., M. J. Obregón, C. Ruiz de Oña, F. Escobar del Rey and G. Morreale de Escobar (1990). „Congenital hypothyroidism, as studied in rats. Crucial role of maternal thyroxine but not of 3,5,3'-triiodothyronine in the protection of the fetal brain.“ *J Clin Invest* 86(3): 889-899.
- Chedotal, A. and C. Sotelo (1993). „The ,creeper stage' in cerebellar climbing fiber synaptogenesis precedes the ,pericellular nest'-ultrastructural evidence with parvalbumin immunocytochemistry.“ *Brain Res Dev Brain Res* 76(2): 207-220.
- Chen, X. R., N. Heck, A. M. Lohof, C. Rochefort, M. P. Morel, R. Wehrlé, M. Doulazmi, S. Marty, V. Cannaya, H. X. Avcı, J. Mariani, L. Rondi-Reig, G. Vodjdani, R. M. Sherrard, C. Sotelo and I. Dusart (2013). „Mature Purkinje cells require the retinoic acid-related orphan receptor- α (ROR α) to maintain climbing fiber mono-innervation and other adult characteristics.“ *J Neurosci* 33(22): 9546-9562.
- Corrales, J. D., S. Blaess, E. M. Mahoney and A. L. Joyner (2006). „The level of sonic hedgehog signaling regulates the complexity of cerebellar foliation.“ *Development* 133(9): 1811-1821.
- Crepel, F., J. Mariani and N. Delhay-Bouchaud (1976). „Evidence for a multiple innervation of Purkinje cells by climbing fibers in the immature rat cerebellum.“ *J Neurobiol* 7(6): 567-578.
- Dastjerdi, F. V., G. G. Consalez and R. Hawkes (2012). „Pattern formation during development of the embryonic cerebellum.“ *Front Neuroanat* 6: 10.
- Dusart, I. and F. Flamant (2012). „Profound morphological and functional changes of rodent Purkinje cells between the first and the second

- postnatal weeks: a metamorphosis?" *Front Neuroanat* 6: 11.
20. Englund, C., T. Kowalczyk, R. A. Daza, A. Dagan, C. Lau, M. F. Rose and R. F. Hevner (2006). „Unipolar brush cells of the cerebellum are produced in the rhombic lip and migrate through developing white matter.“ *J Neurosci* 26(36): 9184-9195.
 21. Fauquier, T., F. Chatonnet, F. Picou, S. Richard, N. Fossat, N. Aguilera, T. Lamonerie and F. Flamant (2014). „Purkinje cells and Bergmann glia are primary targets of the TRa1 thyroid hormone receptor during mouse cerebellum postnatal development.“ *Development* 141(1): 166-175.
 22. Gibson, D. A., S. Tymanskyj, R. C. Yuan, H. C. Leung, J. L. Lefebvre, J. R. Sanes, A. Chédotal and L. Ma (2014). „Dendrite self-avoidance requires cell-autonomous slit/robo signaling in cerebellar purkinje cells.“ *Neuron* 81(5): 1040-1056.
 23. Guadaño-Ferraz, A., M. J. Obregón, D. L. St Germain and J. Bernal (1997). „The type 2 iodothyronine deiodinase is expressed primarily in glial cells in the neonatal rat brain.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(19): 10391-10396.
 24. Guo, C. and V. Huson (2021). „Graded heterogeneity of metabotropic signaling underlies a continuum of cell-intrinsic temporal responses in unipolar brush cells.“ *Neuron* 12(1): 5491.
 25. Hashimoto, K. and M. Kano (2013). „Synapse elimination in the developing cerebellum.“ *Cell Mol Life Sci* 70(24): 4667-4680.
 26. Hatten, M. E. and M. F. Roussel (2011). „Development and cancer of the cerebellum.“ *Trends Neurosci* 34(3): 134-142.
 27. Herculano-Houzel, S. (2010). „Coordinated scaling of cortical and cerebellar numbers of neurons.“ *Front Neuroanat* 4: 12.
 28. Heuer, H., M. K. Maier, S. Iden, J. Mittag, E. C. Friesema, T. J. Visser and K. Bauer (2005). „The monocarboxylate transporter 8 linked to human psychomotor retardation is highly expressed in thyroid hormone-sensitive neuron populations.“ *Endocrinology* 146(4): 1701-1706.
 29. Hibi, M. and T. Shimizu (2012). „Development of the cerebellum and cerebellar neural circuits.“ *Dev Neurobiol* 72(3): 282-301.
 30. Ibhazehiebo, K. and N. Koibuchi (2014). „Impact of endocrine-disrupting chemicals on thyroid function and brain development.“ *Expert Rev Endocrinol Metab* 9(6): 579-591.
 31. Ilijic, E., A. Guidotti and E. Mugnaini (2005). „Moving up or moving down? Malpositioned cerebellar unipolar brush cells in reeler mouse.“ *Neuroscience* 136(3): 633-647.
 32. Ishii, S., I. Amano and N. Koibuchi (2021). „The Role of Thyroid Hormone in the Regulation of Cerebellar Development.“ *Endocrinol Metab (Seoul)* 36(4): 703-716.
 33. Ito, M. (2008). „Control of mental activities by internal models in the cerebellum.“ *Nat Rev Neurosci* 9(4): 304-313.
 34. Joo, W., S. Hippenmeyer and L. Luo (2014). „Neurodevelopment. Dendrite morphogenesis depends on relative levels of NT-3/TrkC signaling.“ *Science* 346(6209): 626-629.
 35. Kalinichenko, S. G. and V. E. Okhotin (2005). „Unipolar brush cells--a new type of excitatory interneuron in the cerebellar cortex and cochlear nuclei of the brainstem.“ *Neurosci Behav Physiol* 35(1): 21-36.
 36. Kaneko, M., K. Yamaguchi, M. Eiraku, M. Sato, N. Takata, Y. Kiyohara, M. Mishina, H. Hirase, T. Hashikawa and M. Kengaku (2011). „Remodeling of monoplanar Purkinje cell dendrites during cerebellar circuit formation.“ *PLoS One* 6(5): e20108.
 37. Kapfhammer, J. P. (2004). „Cellular and molecular control of dendritic growth and development of cerebellar Purkinje cells.“ *Prog Histochem Cytochem* 39(3): 131-182.
 38. Kerjan, G., J. Dolan, C. Haumaitre, S. Schneider-Maunoury, H. Fujisawa, K. J. Mitchell and A. Chédotal (2005). „The transmembrane semaphorin Sema6A controls cerebellar granule cell migration.“ *Nat Neurosci* 8(11): 1516-1524.
 39. Kim, B. J. and D. A. Scott (2014). „Mouse model reveals the role of RERE in cerebellar foliation and the migration and maturation of Purkinje cells.“ *PLoS One* 9(1): e87518.
 40. Kim, J. A., G. Sekerková, E. Mugnaini and M. Martina (2012). „Electrophysiological, morphological, and topological properties of two histochemically distinct subpopulations of cerebellar unipolar brush cells.“ *Cerebellum* 11(4): 1012-1025.
 41. Knoepfler, P. S., P. F. Cheng and R. N. Eisenman (2002). „N-myc is essential during neurogenesis for the rapid expansion of progenitor cell populations and the inhibition of neuronal differentiation.“ *Genes Dev* 16(20): 2699-2712.
 42. Koibuchi, N., H. Jingu, T. Iwasaki and W. W. Chin (2003). „Current perspectives on the role of thyroid hormone in growth and development of cerebellum.“ *Cerebellum* 2(4): 279-289.
 43. Kozareva, V., C. Martin, T. Osorno, S. Rudolph, C. Guo, C. Vanderburg, N. Nadaf, A. Regev, W. G. Regehr and E. Macosko (2021). „A transcriptomic atlas of mouse cerebellar cortex comprehensively defines cell types.“ *Nature* 598(7879): 214-219.
 44. Larsell, O. (1952). „The morphogenesis and adult pattern of the lobules and fissures of the cerebellum of the white rat.“ *J Comp Neurol* 97(2): 281-356.

45. Lauder, J. M., J. Altman and H. Krebs (1974). „Some mechanisms of cerebellar foliation: effects of early hypo- and hyperthyroidism.“ *Brain Res* 76(1): 33-40.
46. Leto, K., M. Arancillo, E. B. Becker, A. Buffo, C. Chiang, B. Ding, W. B. Dobyns, I. Dusart, P. Haldipur, M. E. Hatten, M. Hoshino, A. L. Joyner, M. Kano, D. L. Kilpatrick, N. Koibuchi, S. Marino, S. Martinez, K. J. Millen, T. O. Millner, T. Miyata, E. Parmigiani, K. Schilling, G. Sekerková, R. V. Sillitoe, C. Sotelo, N. Uesaka, A. Wefers, R. J. Wingate and R. Hawkes (2016). „Consensus Paper: Cerebellar Development.“ *Cerebellum* 15(6): 789-828.
47. Machold, R. P., D. J. Kittell and G. J. Fishell (2007). „Antagonism between Notch and bone morphogenetic protein receptor signaling regulates neurogenesis in the cerebellar rhombic lip.“ *Neural Dev* 2: 5.
48. McDonough, A., G. E. Elsen, R. M. Daza, A. R. Bachleda, D. Pizzo, O. M. DelleTorri and R. F. Hevner (2020). „Unipolar (Dendritic) Brush Cells Are Morphologically Complex and Require Tbr2 for Differentiation and Migration.“ *Front Neurosci* 14: 598548.
49. Miale, I. L. and R. L. Sidman (1961). „An autoradiographic analysis of histogenesis in the mouse cerebellum.“ *Exp Neurol* 4: 277-296.
50. Miyata, T., T. Maeda and J. E. Lee (1999). „NeuroD is required for differentiation of the granule cells in the cerebellum and hippocampus.“ *Genes Dev* 13(13): 1647-1652.
51. Morin, F., M. R. Diño and E. Mugnaini (2001). „Postnatal differentiation of unipolar brush cells and mossy fiber-unipolar brush cell synapses in rat cerebellum.“ *Neuroscience* 104(4): 1127-1139.
52. Mugnaini, E., G. Sekerková and M. Martina (2011). „The unipolar brush cell: a remarkable neuron finally receiving deserved attention.“ *Brain Res Rev* 66(1-2): 220-245.
53. Nishiyama, J., Y. Hayashi, T. Nomura, E. Miura, W. Kakegawa and M. Yuzaki (2012). „Selective and regulated gene expression in murine Purkinje cells by in utero electroporation.“ *Eur J Neurosci* 36(7): 2867-2876.
54. Nunzi, M. G., S. Birnstiel, B. J. Bhattacharyya, N. T. Slater and E. Mugnaini (2001). „Unipolar brush cells form a glutamatergic projection system within the mouse cerebellar cortex.“ *J Comp Neurol* 434(3): 329-341.
55. Nunzi, M. G., R. Shigemoto and E. Mugnaini (2002). „Differential expression of calretinin and metabotropic glutamate receptor mGluR1alpha defines subsets of unipolar brush cells in mouse cerebellum.“ *J Comp Neurol* 451(2): 189-199.
56. Oberdick, J., R. J. Smeyne, J. R. Mann, S. Zackson and J. I. Morgan (1990). „A promoter that drives transgene expression in cerebellar Purkinje and retinal bipolar neurons.“ *Science* 248(4952): 223-226.
57. Oppenheimer, J. H. and H. L. Schwartz (1997). „Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development.“ *Endocr Rev* 18(4): 462-475.
58. Pascual, M., I. Abasolo, A. Mingorance-Le Meur, A. Martínez, J. A. Del Rio, C. V. Wright, F. X. Real and E. Soriano (2007). „Cerebellar GABAergic progenitors adopt an external granule cell-like phenotype in the absence of Ptf1a transcription factor expression.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(12): 5193-5198.
59. Penas, C., E. E. Govek, Y. Fang, V. Ramachandran, M. Daniel, W. Wang, M. E. Maloof, R. J. Rahaim, M. Bibian, D. Kawachi, D. Finkelstein, J. L. Han, J. Long, B. Li, D. J. Robbins, M. Malumbres, M. F. Roussel, W. R. Roush, M. E. Hatten and N. G. Ayad (2015). „Casein kinase 1δ is an APC/C(Cdh1) substrate that regulates cerebellar granule cell neurogenesis.“ *Cell Rep* 11(2): 249-260.
60. Porterfield, S. P. and C. E. Hendrich (1993). „The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development--current perspectives.“ *Endocr Rev* 14(1): 94-106.
61. Rai, Y., T. Watanabe, K. Matsuyama, K. Sakimura, N. Uesaka and M. Kano (2021). „Phospholipase C β3 is Required for Climbing Fiber Synapse Elimination in Aldolase C-positive Compartments of the Developing Mouse Cerebellum.“ *Neuroscience* 462: 36-43.
62. Ramón y Cajal, S. (1911). *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Paris, Maloine.
63. Renaud, J., G. Kerjan, I. Sumita, Y. Zagar, V. Georget, D. Kim, C. Fouquet, K. Suda, M. Sanbo, F. Suto, S. L. Ackerman, K. J. Mitchell, H. Fujisawa and A. Chédotal (2008). „Plexin-A2 and its ligand, Sema6A, control nucleus-centrosome coupling in migrating granule cells.“ *Nat Neurosci* 11(4): 440-449.
64. Sekerková, G., E. Ilijic and E. Mugnaini (2004). „Time of origin of unipolar brush cells in the rat cerebellum as observed by prenatal bromodeoxyuridine labeling.“ *Neuroscience* 127(4): 845-858.
65. Sgaier, S. K., S. Millet, M. P. Villanueva, F. Berenshteyn, C. Song and A. L. Joyner (2005). „Morphogenetic and cellular movements that shape the mouse cerebellum; insights from genetic fate mapping.“ *Neuron* 45(1): 27-40.
66. Sillitoe, R. V. and A. L. Joyner (2007). „Morphology, molecular codes, and circuitry produce the three-dimensional complexity of the cerebellum.“ *Annu Rev Cell Dev Biol* 23: 549-577.
67. Solecki, D. J., X. L. Liu, T. Tomoda, Y. Fang and M. E. Hatten (2001). „Activated Notch2 signaling inhibits differentiation of cerebellar granule

- neuron precursors by maintaining proliferation.“ *Neuron* 31(4): 557-568.
68. Sotelo, C. and F. Rossi (2013). Purkinje cell migration and differentiation. *Handbook of the cerebellum and cerebellar disorders*. M. Manto, D. L. Gruol, J. D. Schmahmann, N. Koibuchi and F. Rossi. USA, Springer Science and Business Media: 147-178.
69. Strait, K. A., L. Zou and J. H. Oppenheimer (1992). „Beta 1 isoform-specific regulation of a triiodothyronine-induced gene during cerebellar development.“ *Mol Endocrinol* 6(11): 1874-1880.
70. Sudarov, A., R. K. Turnbull, E. J. Kim, M. Lebel-Potter, F. Guillemot and A. L. Joyner (2011). „Ascl1 genetics reveals insights into cerebellum local circuit assembly.“ *J Neurosci* 31(30): 11055-11069.
71. Uesaka, N., M. Uchigashima, T. Mikuni, T. Nakazawa, H. Nakao, H. Hirai, A. Aiba, M. Watanabe and M. Kano (2014). „Retrograde semaphorin signaling regulates synapse elimination in the developing mouse brain.“ *Science* 344(6187): 1020-1023.
72. Venero, C., A. Guadaño-Ferraz, A. I. Herrero, K. Nordström, J. Manzano, G. M. de Escobar, J. Bernal and B. Vennström (2005). „Anxiety, memory impairment, and locomotor dysfunction caused by a mutant thyroid hormone receptor alpha1 can be ameliorated by T3 treatment.“ *Genes Dev* 19(18): 2152-2163.
73. Víg, J., J. Takács, H. Abrahám, G. G. Kovács and J. Hámori (2005). „Calretinin-immunoreactive unipolar brush cells in the developing human cerebellum.“ *Int J Dev Neurosci* 23(8): 723-729.
74. Wang, V. Y., M. F. Rose and H. Y. Zoghbi (2005). „Math1 expression redefines the rhombic lip derivatives and reveals novel lineages within the brainstem and cerebellum.“ *Neuron* 48(1): 31-43.
75. Watanabe, M. and M. Kano (2011). „Climbing fiber synapse elimination in cerebellar Purkinje cells.“ *Eur J Neurosci* 34(10): 1697-1710.
76. Wechsler-Reya, R. J. and M. P. Scott (1999). „Control of neuronal precursor proliferation in the cerebellum by Sonic Hedgehog.“ *Neuron* 22(1): 103-114.
77. Welker, W. I. (1990). „The significance of foliation and fissuration of cerebellar cortex. The cerebellar folium as a fundamental unit of sensorimotor integration.“ *Arch Ital Biol* 128(2-4): 87-109.
78. Xu, W., F. De Carvalho, A. K. Clarke and A. Jackson (2021). „Communication from the cerebellum to the neocortex during sleep spindles.“ *Prog Neurobiol* 199: 101940.
79. Yopak, K. E., T. J. Lisney, R. B. Darlington, S. P. Collin, J. C. Montgomery and B. L. Finlay (2010). „A conserved pattern of brain scaling from sharks to primates.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(29): 12946-12951.
80. Yu, L., T. Iwasaki, M. Xu, R. Lesmana, Y. Xiong, N. Shimokawa, W. W. Chin and N. Koibuchi (2015). „Aberrant cerebellar development of transgenic mice expressing dominant-negative thyroid hormone receptor in cerebellar Purkinje cells.“ *Endocrinology* 156(4): 1565-1576.
81. Zervas, M., S. Millet, S. Ahn and A. L. Joyner (2004). „Cell behaviors and genetic lineages of the mesencephalon and rhombomere 1.“ *Neuron* 43(3): 345-357.

Адрес за кореспонденция:

Искрен Великов

Катедра по анатомия и клетъчна биология

Медицински университет – Варна

ул. „Проф. Марин Дринов“ 55

Варна, 9000

e-mail: iskren.velikov@mu-varna.bg