

УДК 616.28-099-07:616

МОЖЛИВІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ НЕЙРОНАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ ЗАПОБІГАННЯ ТА ЛІКУВАННЯ АМІНОГЛІКОЗИДНОГО ОТОТОКСИКОЗУ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Сапіжак І. І.**Державна установа «Інститут отоларингології імені професора О. С. Коломійченка Національної академії медичних наук України», м. Київ**

Вступ. В Україні нараховується понад 270 тис. пацієнтів з різними формами сенсоневральної приглухуватості (СНП) (0,6 % від загальної кількості населення), у тому числі близько у 100 тис. діагностовано глухоту. За даними ВООЗ (2002 р.), шум займає друге місце серед семи професійних факторів ризику розвитку професійних захворювань.

Мета дослідження – вивчити ефективність дії суспензії ембріональних стовбурових клітин при експериментально викликаному аміноглікозидному ототоксикозі в морських свинок.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на 40 статевозрілих морських свинках. Сенсоневральну приглухуватість викликали введенням аміноглікозидного антибіотика – гентаміцину сульфату в дозі 100 мг/кг 14 діб (1 група). Суспензію нейрональних стовбурових клітин (НСК) вводили в об'ємі 2 млн клітин у 0,5 мл інтра-тимпанально та 4 млн клітин у 1,0 мл внутрішньом'язево на 1, 8, і 15 добу експерименту.

Результати. Використана методика забору та приготування суспензії ембріональних стовбурових клітин дозволяє забезпечити потрібну їх кількість для подальшої трансплантації *in vivo*, з незмінними для цих клітин характеристиками. Аміноглікозидний токсикоз, отриманий, зокрема, 14-денним введенням розчину гентаміцину морським свинкам у дозі 100 мг/кг ваги супроводжується загальною інтоксикацією: зниженням апетиту, втратою ваги, частим сечовипусканням, випадінням шерсті. Ін'єкція НСК у першу добу, до та після введення аміноглікозиду повністю, а на 8 та 15 – частково нівелює приведені симптоми. 14-денне введення гентаміцину морським свинкам викликає порушення архітекτονіки та морфології внутрішнього вуха, мікроциркуляції в судинній смужці, що підтверджено даними морфологічного дослідження. Уведення НСК у перший день штучно змодельованого аміноглюкозидного ототоксикозу попереджало його розвиток при 14-денних ін'єкціях гентаміцину, що підтверджено даними функціональних та морфологічного досліджень.

Висновки. Отримані дані свідчать про доцільність обраного напрямку вивчення можливості використання НСК для попередження та лікування ототоксичного впливу аміноглікозидів на внутрішнє вухо морських свинок.

Ключові слова: нейрональні стовбурові клітини, сенсоневральна приглухуватість, аміноглікозидний антибіотик, морські свинки

Вступ

За даними ВООЗ, 5–8 % населення земної кулі страждають зниженням слуху, з яких 65–93 % – сенсоневральною приглухуватістю. В Україні нараховується понад 270 тис. пацієнтів з різними формами сенсоневральної приглухуватості (0,6 % від загальної кількості населення), у тому числі близько в 100 тис. діагностовано глухоту. Особливо поширеною є сенсоневральна приглухуватість (СНП), зумовлена впливом шуму [5]. За даними ВООЗ (2002 р.), шум займає друге місце серед семи професійних факторів ризику розвитку професійних захворювань [3]. Ю. І. Кундієв, А. М. Нагорна зазначають, що проблема професійних захворювань, спричинених систематичною дією шуму, залишається однією з найгостріших у сучасній медицині праці [5, 12].

Окрім того, до найрозповсюдженіших пошкоджуючих факторів, які часто призводять до загибелі волоскових клітин (ВК) внутрішнього вуха, відносять генні порушення, у тому числі спадкові, аутоімунні процеси, бактеріальну та вірусну інфекції, ототоксичні лікарські засоби тощо [16, 18].

У той самий час відсутність ефективності медикаментозного лікування цієї патології, незважаючи на велику кількість запропонованих методів, змушує шукати нові шляхи вирішення даної проблеми.

Стовбурова терапія швидко розвивається і, на наше переконання, має великий потенціал застосування в лікуванні сенсоневральних уражень, в одну з перших черг, хворих з приглухуватістю та глухотою.

Перші спроби вивчення можливості стовбурових клітин (СК) у терапії функціональних порушень внутрішнього вуха були проведені Т. Nakagawa

(2005 р.). Він показав, що трансплантовані нейрональні стовбурові клітини (НСК) можуть вижити у внутрішньому вусі й диференціюватись у фенотипи нейронних клітин, гліальних та волоскових.

М. М. Магомедов (1998 р.), один з перших, хто при порушеннях слуху в людини застосував ембріональну нервову тканину у вигляді гомогенату ембріональних клітин. Спостереження були проведені за 14 хворими на нейросенсорну приглухуватість II–III ступенів із давністю захворювання від 6 місяців до 3 років. Після одноразового застосування відбулося покращання слуху за даними тональної порогової аудіометрії у середньому на 10 дБ та аудіометрії в розширеному діапазоні частот на 5 дБ [4].

Матеріали та методи дослідження

Для вивчення ефективності застосування НСК при аміноглікозидному ототоксикозі були проведені експериментальні дослідження на 40 морських свинках вагою 250–900 г без проявів соматичної патології та ознак запального процесу в зовнішньому та середньому вусі (мікроскопічно), а також збереженням рефлексом Преуєра.

Досліди проводили відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених III Національним конгресом по біоетиці й узгоджених з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей».

Забір нейрональної тканини та приготування суспензії НСК проводили на базі відділення культивування клітин ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України».

Перед вилученням ембріонів вагітну самку вводили в наркоз за допомогою ефіру, обробляли шкіру живота 5 % спиртовим розчином йоду, а потім 70 % спиртом. Тварину фіксували на пробковій дошці й робили хірургічними ножицями круговий розріз шкіри під передніми лапками і на бокових відділах живота, після чого шкіру відтягували донизу, оголюючи передню черевну стінку. Новою парою ножиць та пінцета широко розкривали черевну порожнину, відсікали роги матки й переносили їх у стерильний фізіологічний розчин у чашку Петрі. У стерильному боксі вилучали ембріони з рогів матки і переносили їх у свіжу порцію фізіологічного розчину, що містився в чашці Петрі. Препарування структур мозку проводили під бінокулярною лупою за допомогою мікро-

інструментів у сольовому розчині PBS (без іонів Са та Mg, Sigma). Мозок вилучали з черепної коробки ембріона і за допомогою тонких пінцетів та скальпелів ретельно видаляли мозкові оболонки, а потім вирізували кору головного мозку. Невеликі шматочки кори головного мозку інкубували в розчині PBS протягом 5–7 хв при кімнатній температурі, а потім дрібнили мікроножицями та дисоціювали багаторазовим всмоктуванням скляними піпетками Пастера з оплавленими кінчиками для запобігання пошкодження клітин. Отриману клітинну суспензію центрифугували при 1000 об/хв, надосадов зливали, а осад клітин ресуспендували в поживному середовищі Ігла (Sigma).

Ступінь дисоціації й стан клітин контролювали під мікроскопом (рис. 1, 2). Для визначення концентрації клітин та підрахунку живих клітин використовували камеру Горяєва й метод забарвлення 0,2 % розчином трипанового синього (Sigma). Для цього суспензію ретельно перемішували, 0,5 мл клітинної суспензії розводили в 5 разів 0,2 % розчином трипанового синього, інкубували при 37 °С протягом 3–5 хв. Суспензію знову ретельно перемішували та вводили в камеру Горяєва. Визначення життєздатності дисоційованих клітин ґрунтується на здатності трипанового синього забарвлювати в синій колір тільки загиблі клітини. У подальшому підрахунок клітин проводили за формулою

$$X = N \cdot S \cdot 10\,000,$$

де X – кількість клітин у 1 см³ суспензії; N – кількість клітин у 25 квадратах; S – кратність розведення суспензії фарбою; 10 000 – величина постійна. Відсотковий уміст живих клітин (незабарвлених) підраховували за формулою:

$$\frac{\text{загальна кількість клітин} - \text{кількість мертвих клітин}}{\text{загальна кількість клітин}} \cdot 100$$

У дослідах уміст живих клітин у суспензії досягав 60–73 %.

Отриману суспензію клітин тримали в CO₂-інкубаторі (Nuve, Туреччина), де постійно підтримується температура 37 °С та 5 % CO₂, до моменту операції трансплантації.

Моделювання патологічного процесу глухоти проводили за допомогою ототоксичного антибіотика аміноглікозидної групи – гентаміцину сульфату, який вводили з розрахунку 100 мг/кг внутрішньом'язево щоденно протягом 14 днів.

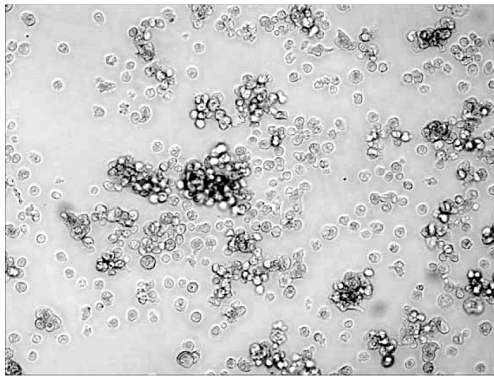


Рис. 1. Дисоційовані клітини кори головного мозку ембріонів морської свинки. Пояснення в тексті. Жива культура. $\times 200$

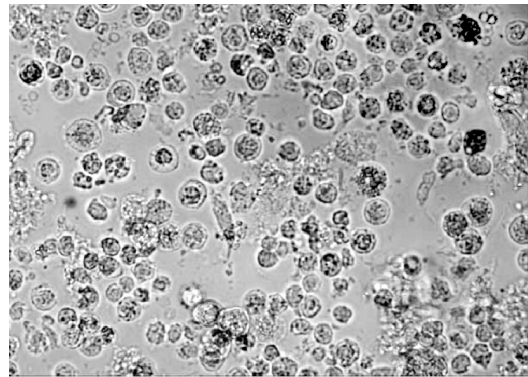


Рис. 2. Дисоційовані клітини кори головного мозку ембріонів морської свинки. Пояснення в тексті. Жива культура. $\times 400$.

Результати дослідження та їх обговорення

На початку експерименту всі тварини вищезазначених груп (таблиця) були рухливими, активними, їхня шерсть — блискучою, гладкою. Ознак соматичної та отомікроскопічної патології не виявлено. Рефлекс Ргеуєґа — позитивний.

У свинок I групи починаючи з 8–9 доби дослідження з'являлися незначні ознаки інтоксикації, які проявлялися в'ялістю, зниженням рухливості, частим діурезом та слабопозитивним рефлексом Ргеуєґа.

У тварин II групи (контрольна група) на 14 добу від початку введення фізіологічного розчину ніяких поведінкових змін та патологічних порушень не було виявлено. Тварин даних груп виводили з експерименту через 14 діб з початку введення розчину натрію хлориду та гентаміцину відповідно.

Морським свинкам III групи в перший день експерименту в стерильних умовах під бінокулярною лупою при 4-разовому збільшенні було введено суспензію НСК 2 млн клітин у 0,5 мл інтратимпанально. Надалі проводили введення розчину гентаміцину сульфату внутрішньом'язево з розрахунку 100 мг/кг протягом 14 днів. Змін загального стану тварин протягом експерименту не відмічали, вони були активними, рефлекс Ргеуєґа залишався позитивним.

Під час проведення досліду в тварин IV групи були відмічені ознаки загальної інтоксикації, а саме: в'ялість, зниження рухливості та частий діурез. Екзитувала 1 тварина на 7 день. Після введення НСК (8 доба) вищезазначені симптоми поступово зменшувалися, і на момент виведення з експерименту загальний стан морських свинок був стабільним.

Таблиця

Розподіл експериментальних тварин на групи залежно від способу введення нейрональних стовбурових клітин

Номер групи	Умова експерименту	Кількість дослідних тварин
I	14-разове введення гентаміцину (100 мг/кг)	5
II	14-разове введення 0,9 % NaCl внутрішньом'язево	5
III	14-разове введення гентаміцину + нейрональні стовбурові клітини інтратимпанально на першу добу	5
IV	14-разове введення гентаміцину + нейрональні стовбурові клітини інтратимпанально на восьму добу	5
V	14-разове введення гентаміцину + нейрональні стовбурові клітини інтратимпанально на 15 добу	5
VI	14-разове введення гентаміцину + нейрональні стовбурові клітини внутрішньом'язево на першу добу	5
VII	14-разове введення гентаміцину + нейрональні стовбурові клітини внутрішньом'язево на восьму добу	5
VIII	14-разове введення гентаміцину + нейрональні стовбурові клітини внутрішньом'язево на 15 добу	5

Після введення НСК на 15 добу (V група) спостерігали поступове покращання загального стану тварин протягом 14 діб до моменту виведення їх з експерименту. Відмічали зменшення проявів ототоксикозу, тварини стали рухливішими, зменшилося випадіння шерсті, збільшився апетит, однак, рефлекс Преуєра був слабкопозитивним.

Тваринам VI групи (5 морських свинок) у перший день введення розчину гентаміцину сульфату з розрахунку 100 мг/кг внутрішньом'язево було введено суспензію НСК 4 млн клітин (1,0 мл). Надалі протягом 14 днів щоденно внутрішньом'язево вводили розчин гентаміцину сульфату з розрахунку 100 мг/кг ваги. Протягом експерименту екзитувала 1 свинка. Решта (4 тварини) були в задовільному стані, активними.

Тваринам VII групи (5 морських свинок) протягом перших 7 днів проводили внутрішньом'язеве введення розчину гентаміцину сульфату з розрахунку 100 мг/кг. У процесі проведення експерименту на 5 та 6 день екзитувала 1 морська свинка. На 8 день введення розчину гентаміцину піддослідним тваринам введено суспензію НСК 4 млн клітин (1,0 мл). Протягом наступних 7 днів піддослідним тваринам продовжували щоденно вводити розчин гентаміцину сульфату з розрахунку 100 мг/кг. На 15 день експерименту морським свинкам було проведено обстеження слуху. Наступні 10 днів тварини знаходилися під спостереженням. Вони були активними, без ознак патології. На 25 день експерименту морських свинок вивели з експерименту.

Тварини VII групи отримували розчин гентаміцину сульфату 100 мг/кг внутрішньом'язево протягом

14 днів. У 4 тварин на 12 добу з'явилися ознаки загальної інтоксикації, а саме: в'ялість, випадіння шерсті, зменшення ваги. П'ять морських свинок екзитували. На 15 день дослідним тваринам ввели суспензію НСК 4 млн клітин 1,0 мл внутрішньом'язево. Наступні 14 днів морські свинки знаходилися під спостереженням. З 18 дня експерименту в тварин відмічали покращання загального стану, вони стали рухливішими, зменшилося випадіння шерсті, однак, рефлекс Преуєра був відсутнім.

Усім тваринам на початку експерименту, перед введенням НСК та по закінченні дослідження проводили обстеження стану слуху методом реєстрації отоакустичної емісії та коротколатентних слухових викликаних потенціалів (ОАЕ, КСВП).

Виведення морських свинок із експерименту проводили під тіопентал-натрієвим наркозом у дозі 20 мг/кг. Після гільйотинної декапітації виділяли блоки скроневих кісток, які поміщали в 10 % розчин формаліну та відправляли для подальшого морфологічного дослідження

Висновки

Проведені експерименти свідчать про доцільність обраного напрямку вивчення можливості використання нейрональних стовбурових клітин для попередження та лікування ототоксичного впливу аміноглікозидів на внутрішнє вухо морських свинок.

Загалом комплекс досліджень, в основному, підтвердив очікуваний прогноз про доцільність використання НСК для запобігання розвитку експериментально викликаного ототоксикозу.

Література

1. Руководство по культивированию ткани. Методы. Техника. Проблемы / Божкова В. П., Брежестовский Л. А., Буравлев В. М. [и др.]. – Москва : Наука, 1988. – С. 13–14, 33–34.
2. Морфологические аспекты дифференцировки эмбриональных стволовых клеток в культуре / Гордеева О. Ф., Мануилова Е. С., Гуляева Д. В. [и др.] // Цитология. Сутology. – 2011. – Т. 43, № 9. – С. 851.
3. Кундієв Ю. І. Стратегія забезпечення безпечних умов праці збереження здоров'я працюючих в Україні на 2006-2010 роки / Кундієв Ю. І., Нагорна А. М., Чернюк В. І. // Укр. журн. з пробл. медицини праці. – 2005. – № 3–4. – С. 4–10.
4. Магомедов М. М. Использование трансплантации фетальных тканей в отоларингологии. Анализ состояния проблемы и перспективы развития / Магомедов М. М. // Вестник оториноларингологии. – 1998. – № 2. – С. 16–23.

5. Магомедов М. М. Применение фетальных тканей в терапии хронической нейросенсорной тугоухости / Магомедов М. М. // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 75-річчю кафедри та клініки отоларингології Дніпропетровської медичної академії. – Дніпропетровськ, 1997. – С. 140–141.
6. Порівняльна цитоструктурна оцінка росту ембріональної нервової тканини людини в умовах культивування за різних способів її зберігання / Семенова В. М., Цимбалюк В. І., Пічкур Л. Д., Стайло Л. П. // Український нейрохірургічний журнал. – 2008. – № 4. – С. 68–71.
7. Цимбалюк В. І. Нейротрансплантація / Цимбалюк В. І. // Лікування та діагностика. – 2000. – № 3. – С. 15–19.
8. Цимбалюк В. І. Нейротрансплантація / Цимбалюк В. І. // Лікування та діагностика. – 2004. – № 2. – С. 19–23.
9. Шидловська Т. В. Діагностика та лікування сенсоневральної приглухуватості: Навч. посіб. /

Т. В. Шидловська, Т. А. Шидловська, А. Л. Косаковський. – Київ : НМАПО ім. П. Л. Шупика, 2008. – 432 с.

10. Трансплантация эмбриональной нервной ткани в терапии паркинсонизма: современные проблемы / Чехонин В.П., Баклушев В. П., Белопасов В. В., Дмитриева Т. Б. // Журн. неврологии и психиатрии. – 1999. – Т. 99, № 11. – С. 60–66.

11. Groves A. K. The challenge of hair cells regeneration / A. K. Groves // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2010. – V. 235 (4). – P. 434–446.

12. Huisman M. A., Rivolta M. N. Neural crest stem cells and the irpotential application in a therapy for deafness / Huisman M. A., Rivolta M. N. // Frontiers Bioscience (SchoolEd). – 2012. – V. 1, № 4. – P. 121–132.

13. Kersigo J. Inner ear hair cells deteriorate in mice engineered to hav enoordiminised innervation / Kersigo J., Fritzscht B. // Front iersinaging neuro science. – 2015. – V. 7. – P. 570–587.

14. McKay R. Stem cells in the central nervous system / McKay R. // Science. – 1997. – V. 276. – P. 66–71

15. Transplantation of mouse induced pluripoten tstem cells into the cochlea / K. Nishimura, T. Nakagawa, K. Ono [et al.] // Neuroreport. – 2009. – V. 20 (14). – P. 1250–1254.

16. Rivolta M. N. New strategies for the restoration of hearing loss: challenges and opportunities / Rivolta M. N. // British Medical Bulletin. – 2013. – V. 105. – P. 69–84.

Сاپижак И. И.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ АМИНОГЛИКОЗИДНОГО ОТОТОКСИКОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Государственное учреждение «Институт отоларингологии имени профессора А. И. Коломийченко Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Вступление. В Украине насчитывается более 270 тыс. пациентов с различными формами сенсоневральной тугоухости (СНТ) (0,6 % от общего количества населения), в том числе в около 100 тыс. диагностирована глухота. По данным ВОЗ (2002 г.), шум занимает второе место среди семи профессиональных факторов риска развития профессиональных заболеваний.

Цель исследования – изучить эффективность действия суспензии эмбриональных стволовых клеток при экспериментально вызванном аминогликозидном ототоксикозе у морских свинок.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на 40 половозрелых морских свинках. Сенсоневральную тугоухость вызывали введением аминогликозидного антибиотика – гентамицина сульфата в дозе 100 мг /кг 14 дней (1 группа). Суспензию нейрональных стволовых клеток (НСК) вводили в объеме 2 млн клеток в 0,5 мл интратимпанально и 4 млн клеток в 1,0 мл внутримышечно на 1, 8, и 15 сутки эксперимента.

Результаты. Исползованная методика забора и приготовления суспензии эмбриональных стволовых клеток позволяет обеспечить нужное их количество для дальнейшей трансплантации *in vivo*, с неизменными для этих клеток характеристиками. Аминогликозидный ототоксикоз, полученный, в частности, 14-дневным введением гентамицина морским свинкам в дозе 100 мг/кг веса, сопровождается общей интоксикацией: снижением аппетита, потерей веса, частым мочеиспусканием, выпадением шерсти. Инъекция нейрональных стволовых клеток в первые сутки, до и после введения аминогликозида, полностью, а на 8 и 15 – частично нивелирует приведенные симптомы.

14-дневное введение гентамицина морским свинкам вызывает нарушение архитектоники и морфологии внутреннего уха, микроциркуляции в сосудистой полоске, что подтверждается данными морфологического исследования. Введения НСК в первый день искусственно смоделированного гентамицинового ототоксикоза предупреждало его развитие при 14-дневных инъекциях гентамицина, что подтверждено данными КСВП и морфологически.

Выводы. Проведенные эксперименты свидетельствуют о целесообразности выбранного направления изучения возможности использования нейрональных стволовых клеток для предупреждения ототоксического воздействия аминогликозидов на внутреннее ухо морских свинок.

Ключевые слова: нейрональные стволовые клетки, сенсоневральная тугоухость, аминогликозидный ототоксикоз, морские свинки

Sapizhak I. I.

POSSIBILITY OF USING NEURONAL STEM CELLS FOR PREVENTION AND TREATMENT OF AMINOGLYCOSIDE OTOTOXICOSIS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

State Institution «O. S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kiev

Introduction. In Ukraine there are recorded more than 270 thousand patients with various types of sensorineural hearing loss, (0,6 % of total population), of which deafness has been diagnosed in nearly 100 000 patients. By the WHO data (2002), noise is the second, among seven occupational risk factors, in occupational diseases.

Purpose. To examine the effectiveness of suspensions of embryonic stem cells in experimentally induced aminoglycoside ototoxicosis in Guinea pigs.

Materials and methods. Studies were carried out on 20 adult Guinea pigs. The hearing loss was caused by administration of 100 mg gentamicin per body weight. Neuronal stem cells (NSC) were administered in the volume of 2 million cells in 0,5 ml intratympanally and 4 million cells in 1,0 ml intramuscularly on 1, 8 and 15 days, in experiments.

Results. The methodology of using and preparation of the suspension from embryonic stem cells enables to provide their necessary number for further transplantation *in vivo*, with the same characteristics in cells. Aminoglycoside ototoxicosis obtained, in particular, within a 14-day administration of gentamicin in Guinea pigs in the dose of 100 mg/kg per body weight, was accompanied by the general intoxication: appetite decrease, weight loss, frequent urination, falling of hair. The administration of neuronal stem cells on the first day, before and after administration of aminoglycoside, completely and on 8 and 15 days partially, neutralizes manifestation of symptoms. The administration of gentamicin to Guinea pigs within 14 days caused disorders in architectonics and morphology of the inner ear, microcirculation in the vascular strip, confirmed by morphological investigations. The administration of NSC on the first day of artificially simulated aminoglycosides ototoxicity prevented its development in 14-day injections of gentamicin, that is confirmed by the data of functional and morphological studies.

Conclusions. The obtained data show correctness of the taken direction in studying possibilities of using neuronal stem cells for prevention and treatment of ototoxic effect of aminoglycosides on inner ear in Guinea pigs.

Key words: neuronal stem cells, sensorineural hearing loss, aminoglycoside, Guinea pigs

References

- Bozhkova, V. P., Brezhnevsky, L. A., Buravlev, V. M. 1988, Guide on tissue culture. Methods. Technique. Problems. Moscow: Nauka, pp. 13–14, 33–34 (in Russian).
- Gordeyeva, O. F., Manuylova, E. S., Gulyayeva, D. V. [et al.]. 2011, "Morphological aspects in differentiation of embryonic stem cells in a culture", *Cytology*, v. 43, no. 9, p. 851 (in Russian).
- Kundiyeu, Y. I., Nahorna, A. M., Chernyuk, V. I. 2005, "The strategy on providing safe work conditions for health promotion of workers in Ukraine in 2006–2010", *Ukr. J. Occup Health*, no. 3–4, pp. 4–10 (in Ukrainian).
- Magomedov, M. M. 1998, "Use of transplantation of fetal tissues in otolaryngology. Analysis of the problem and perspectives for future", *Vestnik otorinolaryngologii*, no. 2, pp. 16–23 (in Russian).
- Magomedov, M. 1997, Use of fetal tissues in therapy of chronic sensorineural hearing loss. Proceedings of International Scientific Conference dedicated to the 75th anniversary of the Chair and Clinic of Otolaryngology of Dnepropetrovsk Medical Academy. Dnepropetrovsk, pp. 140–141 (in Russian).
- Semenova, V. M., Tsimbalyuk, V. I., Pichkur, L. D., Stailo, L. P. 2008, "Cytocultural comparative evaluation of the growth of human embryonic neural tissue in conditions of cultivation under different types of their storage", *Ukrainian neurosurgical journal*, no. 4, pp. 68–71 (in Ukrainian).
- Tsimbalyuk, V. I. 2000, "Neurotransplantation", *Likuvannya ta diagnostyka*, no. 3, pp. 15–19 (in Ukrainian).
- Tsimbalyuk, V. I. 2004, "Neurotransplantation. Perspectives of development, Likuvannya ta diagnostyka, no. 2, pp. 19–23 (in Ukrainian).
- Shydlovska, T. V., Shydlovska, T. A., Kosakovsky, A. L. 2008, Diagnostics and treatment of sensorineural hearing loss: Guide: NMAPO named after P. L. Shupyk, 432 p. (in Ukrainian).
- Chekhonin, V. P., Baklushev, V. P., Belopasov, V. V., Dmitriyeva, T. B. 1999, "Transplantation of embryonal neuronal tissue in Parkinson's disease therapy", *Zhurnal neurologii i psikiatrii*, v. 99, no. 11, pp. 60–66 (in Russian).
- Groves, A. K. 2010, "The challenge of hair cells regeneration", *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, v. 235, no. 4, pp. 434–446.
- Huisman, M. A., Rivolta, M. N. 2012, "Neural crest stem cells and the irpotential application in a therapy for deafness", *Frontiers Bioscience*, v.1, no. 4, pp. 121–132.
- Kersigo, J., Fritzsich, B. 2015, "Inner ear hair cells deteriorate in mice engineered to have noordiminished innervation", *Frontier sinaging neuroscience*, v. 7, pp. 570–587.
- McKay R. 1997, "Stem cells in the central nervous system", *Science*, v. 276, pp. 66–71.
- Nishimura, K., Nakagawa, T., Ono, K. 2009, "Transplantation of mouse induced pluripotent stem cells into the cochlea", *Neuroreport*, v. 20 (14), pp. 1250–1254.
- Rivolta, M. N. 2013, "New strategies for the restoration of hearing loss: challenges and opportunities", *British Medical Bulletin*, v. 105, pp. 69–84.

Надійшла: 23 грудня 2015 р.

Контактна особа: Сапіжак Ірина Ігорівна, молодший науковий співробітник, ДУ «Інститут отоларингології імені професора О. С. Коломійченка НАМН України», буд. 3, вул. Зоологічна, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 97 951 84 67.