

УДК 591.398: 612.822.56: 616-089.811

Цупиков О. М.^{1,2,3}, Кирик В. М.², Мамчур А. А.², Побережний П. А.², Бутенко Г. М.², Скибо Г. Г.^{1,2,3}¹Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця Національної академії наук України, Київ, Україна²Державна Ключова Лабораторія, Київ, Україна³ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

e-mail: oleg_tsupikov@mail.ru

ТРАНСПЛАНТАЦІЯ НЕЙРАЛЬНИХ ПРОГЕНІТОРНИХ КЛІТИН СТИМУЛЮЄ ЕНДОГЕННИЙ НЕЙРОГЕНЕЗ У МИШЕЙ ПІСЛЯ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

РЕЗЮМЕ

Останнім часом активно досліджуються можливості застосування трансплантації стовбурових клітин для лікування ішемічних і дегенеративних захворювань нервової системи.

Досліджено вплив трансплантації гіпокампальних нейральних прогеніторних клітин (НПК) на ендогенний нейрогенез у мишей після ішемії-реперфузії головного мозку, зумовленої 20-хвилинною оклюзією обох сонних артерій. Через 24 год. після оклюзії експериментальним тваринам стереотаксично трансплантували у CA1 зону гіпокампа НПК, що були виділені з гіпокампів мишей лінії *FVB-Cg-Tg(GFPU)5Nagy/J*, трансгенних за геном *GFP*. Для оцінки нейрогенезу у гіпокампі ішемізованих тварин було використане імуногістохімічне фарбування зрізів мозку на *BrdU* та даблкортин (*DCX*).

Встановлено, що трансплантація нейральних прогеніторних клітин збільшувала кількість *BrdU*- та *DCX*-позитивних клітин у зубчастій звинині гіпокампа мишей після короткотривалої глобальної ішемії головного мозку. Ці дані дозволяють припустити, що трансплантація НПК ішемізованим тваринам впливає на ендогенні адаптаційні процеси у головному мозку, у тому числі на нейрогенез.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нейральні стовбурові клітини, стереотаксична трансплантація, ішемія головного мозку, нейрогенез, гіпокамп.

Нейрогенез є одним з механізмів пластичності мозку дорослого організму, які проявляються у збільшенні кількості нейронів, структурній перебудові нейронних мереж та утворенні нових синапсів. У дорослому організмі нейрогенез відбувається головним чином у двох ділянках головного мозку: субвентрикулярній зоні (СВЗ), у якій генеруються нейрони для нюхової цибулини, та субгранулярній зоні (СГЗ) зубчастій звинині [1].

На нейрогенез можуть впливати різні фізичні, фармакологічні та патологічні стани, зокрема ішемічний інсульт [2-4]. Було показано, що ішемічне ушкодження мозку посилює нейрогенез і це може сприяти відновленню втрачених функцій шляхом утворення нових нейронів, які здатні замінити загублені нейрони [5, 6]. Незважаючи на такий ішемія-індукований нейрогенез, пошкоджений мозок ссавців має низьку здатність до регенерації. Однією із причин такого низького регенеративного потенціалу дорослого мозку є зменшення кількості

нейральних стовбурових клітин у зонах нейрогенезу в процесі старіння організму [7, 8].

Тому зараз активно досліджується можливість застосування трансплантації стовбурових клітин різного генезу для лікування ішемічних і дегенеративних захворювань нервової системи [9-12].

Раніше було досліджено, що стереотаксична трансплантація нейральних прогеніторних клітин (НПК) сприяла відновленню просторової пам'яті у експериментальних тварин після ішемічного ушкодження мозку [13]. Також було показано, що саме гомотопічна трансплантація фетальної нервової тканини позитивно впливає на перебіг розладів оперативної пам'яті, спричинених ішемією гіпокампа [14]. Можливий позитивний ефект такої трансплантації може полягати в заміні популяції пошкоджених або загублених клітин новими, підтримці процесів відновлення нейронів реципієнта, поповненні запасів біологічно активних речовин та стимуляції ендогенного нейрогенезу [15, 16].

У зв'язку з наведеним, метою даної роботи було дослідження впливу трансплантації нейральних прогеніторних клітин на ендогенний нейрогенез у гіпокампі мишей після ішемічного uszkodження мозку.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проведені на статевозрілих (12 тижнів постнатального розвитку) мишах лінії *FVB* «дикого» типу та *FVB-Cg-Tg(GFP)5Nagy/J*, трансгенних за геном зеленого флуоресцентного білка (*GFP*). Миші були люб'язно надані Європейською молекулярно-біологічною лабораторією (*Монтеротондо*, Італія). Було витримано параметри приміщення для утримання тварин: температура повітря – 22 °С, відносна вологість повітря – 40-60%, освітленість – 50 лк, відтворено цикл 12-годинного світлового режиму. Тварини мали вільний доступ до води та збалансованого комбікорму.

Миші лінії *FVB* «дикого» типу були розподілені випадковим чином на три групи. До контрольної групи увійшли псевдооперовані тварини (3 тварини), у яких проводили оперативне втручання, як і при створенні ішемії, за винятком перетискування сонних артерій і без трансплантації нейральних прогеніторних клітин (НПК). До 2-ї та 3-ї груп увійшли тварини з ішемією мозку, яким через 24 год після ішемії стереотаксично вводили культуральне середовище (2-га група, 3 тварини) і свіжовиділені *GFP*-позитивні НПК (3-я група, 5 тварин).

Усі експерименти на тваринах проводились з дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою», а також усіх норм біоетики та біологічної безпеки.

Глобальна короткотривала ішемія головного мозку

Ішемію викликали у наркотизованих (2,2,2-трибромоетанол 125-240 мг/кг, інтраперитонеально) тварин лінії *FVB* «дикого» типу перетискуванням (оклюзією) обох загальних сонних артерій протягом 20 хв з наступним зняттям затискачів і відновленням кровопостачання (реперфузія). Псевдооперованим тваринам контрольної групи було виконано лише препарування артерій і вони перебували під наркозом протягом 20 хв без накладання затискачів.

Оцінку регіонального мозкового кровотоку (РМК) та підтвердження ішемічного стану проводили за допомогою лазерної доплерівської флоуметрії (флоуметр *moor-VMS-LDF-1*, *Moor Instruments*, Великобританія) до і під час оклюзії, і відразу ж після реперфузії. Отримані дані проаналізовані за допомогою програмного забезпечення *moorLAB* (*Moor Instruments*, Великобританія). У подальших дослідженнях використовували лише тварин, РМК яких опускався нижче 15% від нормального базового рівня до оклюзії.

Отримання нейральних прогеніторних клітин

У стерильних умовах з мозку плодів 17-18 доби ембріонального розвитку від мишей лінії *FVB-Cg-Tg(GFP)5Nagy/J*, трансгенних за *GFP*, виділяли гіпокампи. Фетальну нервову тканину механічно дисоціювали за допомогою пастерівських піпеток різного діаметру у середовищі *Neurobasal* (*Gibco*, США). Отриману суспензію клітин пропускали через нейлонові клітинні фільтри (*Falcon*, США) з діаметром пор 40 мкм. Очищену фракцію нейральних прогеніторних клітин (НПК) отримували центрифугуванням суспензії клітин у градієнті щільності (22% розчин *Percoll*). Відмиті у середовищі НПК трансплантували ішемізованим тваринам. Відсоток життєздатних клітин у суспензії визначали методом проточної цитометрії за допомогою лазерного цитофлюориметра-сортера *BD FACSAria* (*Becton Dickinson*, США) після інкубації суспензії клітин з 7-аміноактиноміцином *D* (7-AAD).

Трансплантація НПК

Суспензію *GFP*-позитивних НПК (2–2,5•10⁵ клітин у 2 мкл середовища *Neurobasal*) стереотаксично трансплантували в гіпокамп ек-

спериментальних тварин (координати від брегми: *lateral* ± 1,5 мм, *posterior* – 2,0 мм, *dorsoventrally* 1,7 мм) під комбінованим 2,2,2-трибромоетаноловим наркозом (125 мг/кг, інтраперитонеально) через 24 год після ішемії/реперфузії. Несправжньо-оперованим тваринам робили ін'єкцію 2 мкл середовища культивування *Neurobasal* у такі ж координати.

Ін'єкції BrdU

Для виявлення проліферуючих клітин тваринам з усіх експериментальних груп перед забором матеріалу для морфологічних досліджень вводили 5-бромдезоксидуридин (*BrdU*). Ін'єкції *BrdU* (50 мг/кг) робили внутрішньоочеревинно протягом 2 діб перед забором матеріалу двічі на день.

Імуногістохімічне фарбування

Збір матеріалу для імуногістохімічного аналізу проводили у тварин на 14-у добу після трансплантації НПК. Перед забором матеріалу мишей наркотизували внутрішньом'язовим введенням калісолу (75 мг/кг) та інгаляційно – ефіром. Фіксацію тканини у тварин виконували методом транскардіальної перфузії-фіксації 4%-м розчином параформальдегіду на 0,1 М фосфатному буфері (ФБ) з *pH* 7,4. За допомогою вібратора *VT1000A* (*Leica*, Німеччина) виготовляли фронтальні зрізи мозку завтовшки 40 мкм. Після промивки у 0,1 М ФБ зрізи блокували у розчині 0,1 М фосфатного буфера (*pH* 7,4) з додаванням 0,5% бичачого сироваткового альбуміну (БСА) та 0,3% Тритон X-100. Для виявлення астроцитів використовували антитіла до *GFAP* (титр 1:1500, *DAKO*, Данія); для донорських клітин – антитіла до *GFP* (титр 1:750, *Molecular Probes Inc.*, США), для попередників нейронів – антитіла до даблкортину *DCX* (титр 1:100; *Santa Cruz Biotechnology*, США), для проліферуючих клітин – антитіла до *BrdU* (clone *BU1/75* (*ICR1*), титр 1:100, *Oxford Biotech*, Великобританія). Перед імуногістохімічним фарбуванням антитілами до *BrdU* зрізи інкубували протягом 30 хв при 37 °С у розчині *HCl* (2*H*) для денатурації ДНК, а далі – за стандартним протоколом.

Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою вторинних антитіл, кон'югованих з *Alexa Fluor 488* та *Alexa Fluor 555* (титр 1:1000, *Molecular Probes Inc.*, США). Пофарбовані зрізи покривали середовищем *Immu-MOUNT* (*Thermo Scientific*, США). Імуногістохімічно забарвлені зрізи мозку досліджували за допомогою конфокального скануючого мікроскопа *FV1000-BX61WI* (*Olympus*, Японія).

Кількісний та статистичний аналізи

Кількість *BrdU*- або *DCX*-позитивних клітин підраховували у зубчастій звині гіпокампа в кожному п'ятому фронтальному зрізі мозку (координати: від 1,7 мм до 2,3 мм *posterior* від брегми). Усього було досліджено по 5 зрізів на тварину і сумарна кількість *BrdU*- або *DCX*-позитивних клітин наведена у вигляді середнього значення ± стандартна похибка середнього.

Статистичну обробку даних виконували з використанням програмного забезпечення *Statistica* (версія 5, *StatSoft*). Непараметричний критерій Колмогорова-Смірнова був використаний для оцінки відмінностей між значеннями. Статистично значимими вважали відмінності при *p* < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для створення експериментальної глобальної ішемії головного мозку ми використовували двосудинну оклюзію загальних сонних артерій у мишей лінії *FVB* дикого типу. Було показано, що така модель призводить до uszkodження пірамідних нейронів гіпокампа разом із активацією гліальних клітин [17]. Відомо, гіпокамп – структура мозку, в якій нейрогенез динамічно регулюється протягом усього життя [18, 19]. Тому для дослідження впливу ішемічного uszkodження на нейрогенез ми обрали саме гіпокамп.

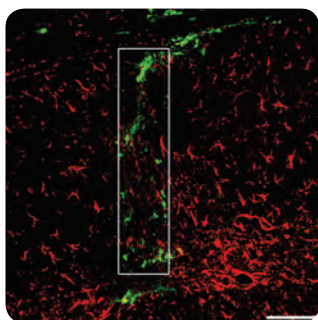


Рис. 1. Подвійне імуногістохімічне фарбування на *GFP* (зелений колір) та *GFAP* (червоний колір) гіпокампа тварин з ішемією мозку та трансплантацією НПК. *GFP*-позитивні НПК (зелений колір) виявлені у *CA1* зоні гіпокампа. Зона трансплантації позначена прямокутником. Шкала – 100 мкм.

Через 24 год після двобічної оклюзії загальних сонних артерій експериментальним тваринам 3-ї групи стереотаксично трансплантували у гіпокамп свіжоізолювані *GFP*-позитивні нейральні прогеніторні клітини. Трансплантовані клітини візуалізували за допомогою імуногістохімічного фарбування зрізів мозку з використанням антитіл до *GFP*. *GFP*-позитивні клітини виявлялись в *CA1* зоні гіпокампа і не мігрували далеко від місця ін'єкції (**рис. 1**).

За дві доби до забору матеріалу для морфологічних досліджень тваринам з усіх експериментальних груп вводили *BrdU* – синтетичний нуклеозид, здатний замінювати тимідин у процесі реплікації ДНК, вбудовуючись в нову ДНК, що дозволяло виявляти пул проліферуючих клітин (**рис. 2**).

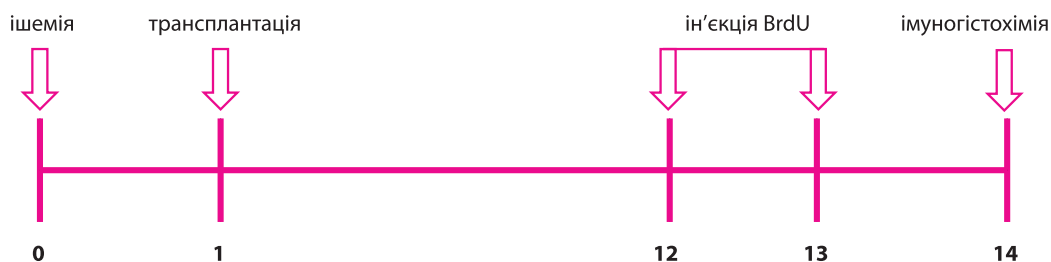
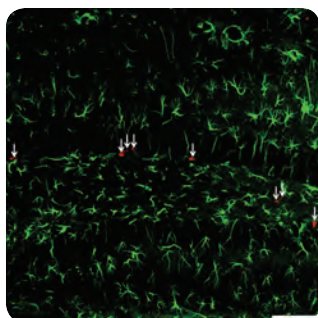
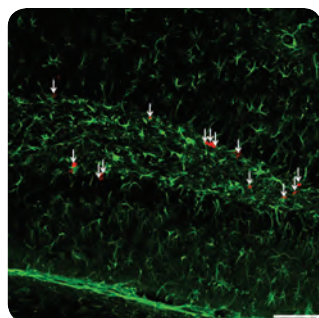


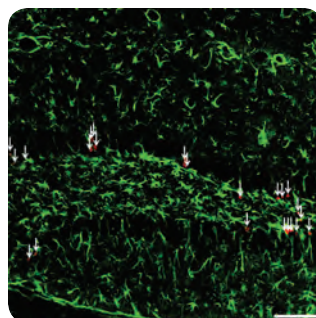
Рис. 2. Схема експерименту.



А



Б



В

Рис.3. Подвійне імуногістохімічне фарбування на *BrdU* (червоний колір) та *GFAP* (зелений колір) зубчастої звивини гіпокампа. **А** – контроль, **Б** – ішемія мозку + введення культурального середовища, **В** – ішемія мозку + трансплантація НПК. *BrdU*-позитивні клітини (вказані стрілками) розташовувались у субгранулярній зоні зубчастої звивини. Шкала – 100 мкм.

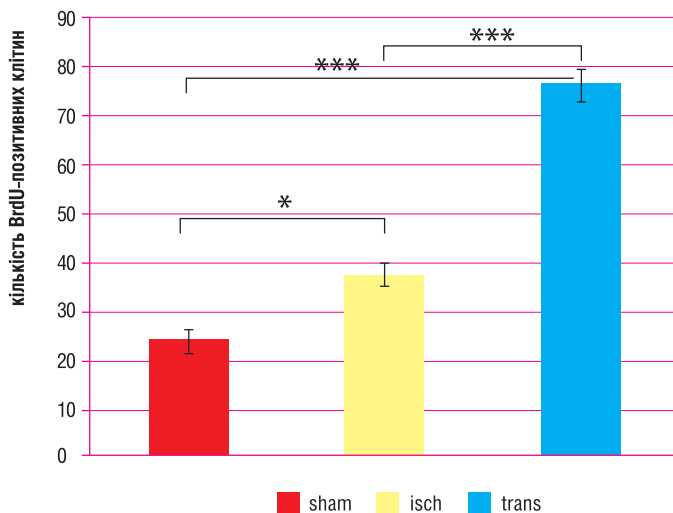


Рис. 4. Кількість *BrdU*-мічених клітин у зубчастій звивині гіпокампа тварин контрольної групи (*sham*), ішемічної (*isch*) та групи ішемізованих тварин, яким трансплантували НПК (*trans*). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Імуногістохімічне дослідження зрізів мозку з використанням антитіл до *BrdU* показало, що в гіпокампі псевдооперованих тварин спостерігався базовий рівень включення *BrdU* в клітини субгранулярної зони зубчастої звивини і кількість *BrdU*-позитивних клітин становила $24,3 \pm 2,1$ (**рис. 3А; 4**).

Після експериментальної ішемії-реперфузії мозку у мишей спостерігалось збільшення кількості *BrdU*-мічених ядер і їх значення сягало $37,7 \pm 2,3$ (**рис. 3Б, 4**).

Стереотаксична трансплантація нейральних прогеніторних клітин збільшувала кількість *BrdU*-позитивних клітин у субгранулярній зоні зубчастої звивини вдвічі порівняно із 2-ю групою тварин і становила $76,4 \pm 3,3$ (**рис. 3В; 4**).

BrdU-позитивні клітини у тварин усіх експериментальних груп утворювали проліферативні кластери у субгранулярній зоні (**рис. 5**), що є характерним для клітин-попередників зубчастої звивини [20].

Для з'ясування фенотипу клітин, які утворювали проліферативні кластери у зубчастій звивині гіпокампа, ми використали імуногістохімічне фарбування на даблкортин (*DCX*). Цей фосфопротеїн, асоційований із мікротрубочками, експресується в незрілих нейронах і використовується як маркер нейрогенезу [8, 21].

Імуногістохімічний аналіз показав, що *DCX*-позитивні клітини спостерігалися у субгранулярній зоні (СГЗ) зубчастої звивини. Ці клітини утворювали численні кластери та мали добре розвинені відростки, які були спрямовані в молекулярний шар зубчастої звивини (**рис. 6**).

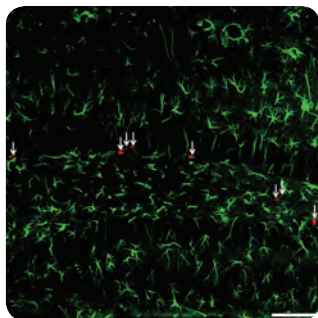
Після ішемії-реперфузії спостерігали збільшення кількості *DCX*-позитивних клітини ($227,7 \pm 10,3$) у тварин 2-ї групи (ішемія

мозку + введення культурального середовища) порівняно із контрольною групою, в якій кількість DCX-позитивних клітин становила $136,3 \pm 6,4$ (рис. 7А, Б; 8).

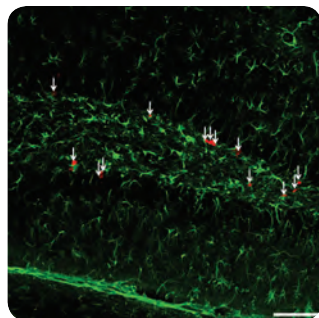
У тварин 3-ої групи (ішемія мозку + трансплантація НПК) кількість DCX-позитивних клітин у субгранулярній зоні зубчастої звивини збільшувалась в 1,6 рази порівняно із 2-ю групою тварин і становила $362,6 \pm 18,6$ (рис. 7Б, В; 8).

Отже, результати нашого дослідження показали, що на 14-у добу після глобальної короткотривалої ішемії збільшувалася кількість BrdU- та DCX-позитивних клітин у субгранулярній зоні гіпокампа мишей. Ці результати узгоджуються з попередніми дослідженнями, які показали, що індукція нейрогенезу починалася на 3-4-у добу після експериментальної ішемії у дорослих гризунів і сягала максимуму на 7-10-у добу [22-24].

Відомо, що субгранулярна зона зубчастої звивини ссавців навіть у дорослому віці містить нейральні стовбурові/прогеніторні клітини і є осередком нейрогенезу [19]. Було показано, що новоутворені клітини в зубчастій звивині диференціювалися в нові зрілі нейрони після ішемічного uszkodження мозку у дорослих щурів, мишей і піщанок [6, 25, 26]. Але відомо, що з віком така здатність новоутворених клітин диференціюватися за нейральним фенотипом після ішемічного uszkodження мозку значно зменшується [4]. Це може бути пов'язано зі зниженням продукування нейрогенних факторів, таких як фактор росту фібробластів, інсуліноподібний фактор росту 1, нейрогенезин-1 і судинний ендотеліальний фактор росту в нейрогенних зонах мозку [27-29].



А



Б

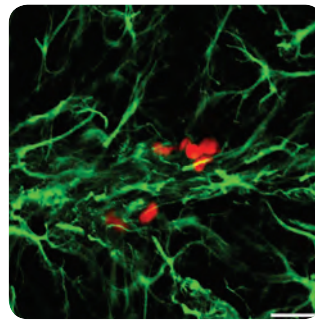


Рис. 5. Подвійне імуногістохімічне фарбування на BrdU (червоний колір) та GFAP (зелений колір) зубчастої звивини гіпокампа тварини з ішемією мозку та трансплантацією НПК. BrdU-позитивні клітини утворюють проліферативні кластери у субгранулярній зоні зубчастої звивини. Шкала – 20 мкм.

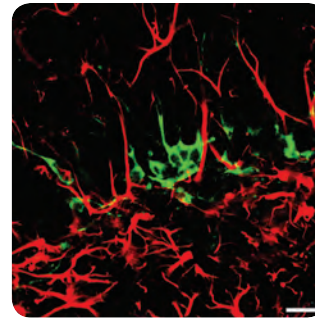
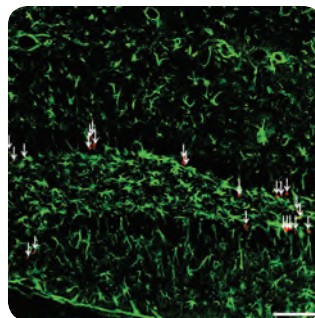


Рис. 6. Подвійне імуногістохімічне фарбування на DCX (зелений колір) та GFAP (червоний колір) зубчастої звивини гіпокампа миші з ішемією мозку та трансплантацією НПК. DCX-позитивні клітини утворюють кластери у субгранулярній зоні зубчастої звивини. Шкала – 20 мкм.



В

Рис. 7. Подвійне імуногістохімічне фарбування на DCX (зелений колір) та GFAP (червоний колір) зубчастої звивини гіпокампа. А – контроль, Б – ішемія мозку + введення культурального середовища, В – ішемія мозку + трансплантація НПК. DCX-позитивні клітини (вказані стрілками) розташовувалися у субгранулярній зоні зубчастої звивини. Шкала – 20 мкм.

Саме тому активно вивчається можливість застосування трансплантації нейральних клітин для компенсації наслідків ішемічного uszkodження мозку за рахунок активації власних репаративних механізмів [16]. Було показано, що трансплантація фетальної тканини ЦНС, що містила клітини CA1 зони гіпокампа, зменшувала когнітивні порушення, викликані uszkodженням пірамідних нейронів CA1 зони у дорослих щурів після глобальної ішемії [14]. НПК, трансплантовані в дорослий мозок, диференціювалися в зрілі нейрони з морфологічними та біохімічними особливостями, характерними для оточуючих нейронів мозку реципієнта. Це свідчить про те, що стовбурові клітини ЦНС здатні реагувати на сигнали мікрооточення, а також впливати на тканину реципієнта [30, 31].

Отримані нами дані показали, що трансплантація НПК після ішемічного uszkodження мозку достовірно збільшувала кількість як BrdU-, так і DCX-позитивних клітин у субгранулярній зоні зубчастої звивини. Можна припустити, що трансплантація нейральних прогеніторних клітин у ішемізований гіпокамп може стимулювати ендогенний нейрогенез у субгранулярній зоні гіпокампа за рахунок секреції різноманітних ростових факторів, які у високих концентраціях містять фетальна нервова тканина.

ВИСНОВКИ

НЕЙРАЛЬНІ ПРОГЕНІТОРНІ КЛІТИНИ, ТРАНСПЛАНТОВАНІ В ГІПОКАМП ІШЕМІЗОВАНИХ МИШЕЙ, ЗДАТНІ СТИМУЛОВАТИ ЕНДОГЕННИЙ НЕЙРОГЕНЕЗ У СУБГРАНУЛЯРНІЙ ЗОНІ ЗУБЧАТОЇ ЗВИВИНИ І ТИМ САМИМ СПРИЯТИ ВІДНОВЛЕННЮ ВТРАЧЕНИХ ФУНКЦІЙ.

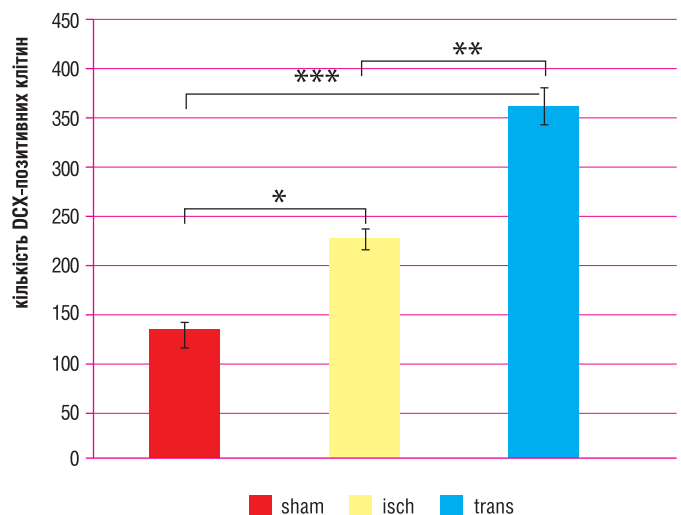


Рис. 8. Кількість DCX-позитивних клітин у зубчастій звивині гіпокампа тварин контрольної групи (sham), ішемічної (isch) та групи ішемізованих тварин, яким трансплантували НПК (trans). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

ЛІТЕРАТУРА

1. A specialized vascular niche for adult neural stem cells [Text] / *M Tavazoie, L. Van der Veken, V. Silva-Vargas et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2008. – **Vol. 3, № 3.** – P. 279–288.
2. *Kahle M.P.* Neuronal restoration following ischemic strokeP. influences, barriers, and therapeutic potential [Text] / *M.P. Kahle, G.J. Bix* // *Neurorehabil Neural Repair.* – 2013. – **Vol. 27, № 5.** – P. 469–478.
3. Sublethal transient global ischemia stimulates migration of neuroblasts and neurogenesis in mice [Text] / *Y. Li, S.P. Yu, O. Mohamad et al.* // *Transl. Stroke Res.* – 2010. – **Vol. 3.** – P. 184–196.
4. Comparison of neurogenesis in the dentate gyrus between the adult and aged gerbil following transient global cerebral ischemia [Text] / *J.H. Choi, K.Y. Yoo, C.H. Lee et al.* // *Neurochem. Res.* – 2012. – **Vol. 37, № 4.** – P. 802–810.
5. New striatal neurons form projections to substantia nigra in adult rat brain after stroke [Text] / *X. Sun, Q.W. Zhang, M. Xu et al.* // *Neurobiol. Dis.* – 2012. – **Vol. 45, № 1.** – P. 601–609.
6. Brain ischemia induces regeneration of interneurons but not projection neurons [Text] // *C.R. Sun, Z.H. Chen, S.Y. Yin et al.* // *Restor. Neurol. Neurosci.* – 2013. – **Vol. 31, № 4.** – P. 461–72.
7. Hippocampal epigenetic modification at the doublecortin gene is involved in the impairment of neurogenesis with aging [Text] / *N. Kuzumaki, D. Ikegami, R. Tamura et al.* // *Synapse.* 2010. – **Vol. 64, № 8.** – P. 611–616.
8. Age-related differentiation in newly generated DCX immunoreactive neurons in the subgranular zone of the gerbil dentate gyrus [Text] / *I.K. Hwang, K.Y. Yoo, S.S. Yi et al.* // *Neurochem. Res.* – 2008. – **Vol. 33.** – P. 867–872.
9. Fibroblast growth factor-2 overexpression in transplanted neural progenitors promotes perivascular cluster formation with a neurogenic potential [Text] // *B. Jenny, M. Kanemitsu, O. Tsuykov et al.* // *Stem Cells.* – 2009. – **Vol. 27, № 6.** – P. 1309–1317.
10. Intracranial transplantation of human adipose-derived stem cells promotes the expression of neurotrophic factors and nerve repair in rats of cerebral ischemia-reperfusion injury [Text] / *X.L. Liu, W. Zhang, S.J. Tang et al.* // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2013. – **Vol. 7, № 1.** – P. 174–183.
11. Administration of mesenchymal stem cells and ziprasidone enhanced amelioration of ischemic brain damage in rats [Text] / *P. Kaengkan, S.E. Baek, J.Y. Kim et al.* // *Mol. Cells.* 2013. – **Vol. 36, № 6.** – P. 534–541.
12. Human induced pluripotent stem cell-derived neural stem cells survive, migrate, differentiate, and improve neurological function in a rat model of middle cerebral artery occlusion [Text] / *T. Yuan, W. Liao, N. Feng et al.* // *Stem Cell Res. Ther.* 2013. – **Vol. 4, № 3.** – P. 73–82.
13. Вплив трансплантації нейральних стовбурових клітин на когнітивні функції мишей після церебральної ішемії-реперфузії [Текст] / *О.М. Цупиков, В.М. Кирик, О.А. Рибачук та ін.* // *Клітинна та органна трансплантологія.* – 2013. – **Вип. 1, № 1.** – С. 88–91.
14. Contrasting effects of fetal CA1 and CA3 hippocampal grafts on deficits in spatial learning and working memory induced by global cerebral ischaemia in rats [Text] / *H. Hodges, P. Sowinski, P. Fleming et al.* // *Neuroscience.* – 1996. – **Vol. 72, № 4.** – P. 959–988.
15. Stem cell therapy for cerebral ischemia from basic science to clinical applications [Text] / *K. Abe, T. Yamashita, S. Takizawa et al.* // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* – 2012. – **Vol. 32, № 7.** – P. 1317–1331.
16. Neural stem cells in the ischemic and injured brain: endogenous and transplanted [Text] / *J. Dong, B. Liu, L. Song et al.* // *Cell Tissue Bank.* – 2012. – **Vol. 13, № 4.** – P. 623–629.
17. Міграція та диференціація трансплантованих фетальних нейрогенних клітин у мозку ішемізованих тварин [Текст] / *О.М. Цупиков, Т.А. Півнева, А.О. Поддубна та ін.* // *Фізіологічний журнал.* – 2009. – **Вип. 55, № 4.** – С. 41–49.
18. Rolando C. Neural stem cell of the hippocampus: development, physiology regulation, and dysfunction in disease [Text] / *C. Rolando, V. Taylor.* // *Curr. To: Dev. Biol.* – 2014. – **Vol. 107.** – P. 183–206.
19. *Drew L.J.* Adult neurogenesis in the mammalian hippocampus: why the dentate gyrus? [Text] / *L.J. Drew, S. Fusi, R. Hen* // *Learn. Mem.* 2013. – **Vol. 20, № 12.** – P. 710–729.
20. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation [Text] / *E. Gould, B.S. McEwen, P. Tanapat et al.* // *J. Neurosci.* – 1997. – **Vol. 17.** – P. 2492–2498.
21. Analysis of adult neurogenesis: evidence for a prominent «non-neurogenic» DCX-protein pool in rodent brain [Text] / *T. Kremer, R. Jagasia, A. Herrmann et al.* // *PLoS One.* – 2013. – **Vol. 8, № 5.** – P. e59269.
22. Three steps of neural stem cells development in gerbil dentate gyrus after transient ischemia [Text] / *M. Iwai, K. Sato, N. Omori et al.* // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2002. – **Vol. 22.** – P. 411–419.
23. Enhanced neurogenesis after transient global ischemia in the dentate gyrus of the rat [Text] / *N.J. Kee, E. Preston, J.M. Wojtowicz et al.* // *Ex. Brain Res.* 2001. – **Vol. 136.** – P. 313–320.
24. Neurogenesis by progenitor cells in the ischemic adult rat hippocampus [Text] / *Y. Yagita, K. Kitagawa, T. Ohtsuki et al.* // *Stroke.* – 2001. – **Vol. 32.** – P. 1890–1896.
25. Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils [Text] / *J. Liu, K. Solway, R.O. Messing et al.* // *J. Neurosci.* – 1998. – **Vol. 18.** – P. 7768–7778.
26. Ischemia-stimulated neurogenesis is regulated by proliferation, migration, differentiation and caspase activation of hippocampal precursor cells [Text] / *B. Bingham, D. Liu, A. Wood et al.* // *Brain Res.* – 2005. – **Vol. 1058.** – P. 167–177.
27. Shetty A.K. Stem/progenitor cell proliferation factors FGF-2, IGF-1, and VEGF exhibit early decline during the course of aging in the hippocampus: role of astrocytes [Text] / *A.K. Shetty, B. Hattiangady, G. Shetty* // *Glia.* – 2005. – **Vol. 51.** – P. 173–186.
28. Hippocampal neurotrophin levels after injury: relationship to the age of the hippocampus at the time of injury [Text] / *A.K. Shetty, M.S. Rao, B. Hattiangady et al.* // *J. Neurosci. Res.* 2004. – **Vol. 78.** – P. 520–532.
29. A novel secretory factor, Neurogenesis-1, provides neurogenic environmental cues for neural stem cells in the adult hippocampus [Text] // *T. Ueki, M. Tanaka, K. Yamashita et al.* // *J. Neurosci.* – 2003. – **Vol. 23.** – P. 11732–11740.
30. Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons in vivo [Text] / *J.O. Suhonen, D.A. Peterson, J. Ray et al.* // *Nature.* – 1996. – **Vol. 383.** – P. 624–627.
31. Song H.J. Neural stem cells from adult hippocampus develop essential properties of functional CNS neurons [Text] / *H.J. Song, C.F. Stevens, F.H. Gage.* // *Nat Neurosci.* – 2002. – **Vol. 5, № 5.** – P. 438–445.

Автори підтверджують відсутність можливих конфліктів інтересів.

Стаття надійшла до редакції 07.02.2014 р.

Прийнята до друку 13.03.2014 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG