

Комиссарова С.В.¹, Дубровин И.П.¹, Пальцын А.А.^{1,2}

Регенерация нейронов

¹ — Федеральное бюджетное государственное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской Академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

² — Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская Академия последипломного образования, 123995, Москва, ул. Баррикадная, 2/1

В обзоре рассматривается развитие представлений о регенерации нейронов от утверждения «нервные клетки не восстанавливаются» до лавинообразного потока сообщений о нейрогенезе. Анализируется литература, посвященная четырем известным способам регенерации нейронов: 1 — нейрогенез; 2 — внутриклеточная регенерация; 3 — слияние ВМДС с нейронами Пуркинье в трансгенном эксперименте; 4 — слияние региональных клеток коры. Представлены некоторые тактические и методические проблемы, возникшие в исследованиях по регенерации. Излагаются соображения о месте указанных способов регенерации в современной неврологии.

Ключевые слова: нейрогенез, слияние клеток, регенерация мозга

Komissarova S.V.¹, Dubrovin I.P.¹, Paltsyn A.A.^{1,2}

Regeneration of neurons

¹ — Institute of General Pathology and Pathophysiology of the Russian Academy of Medical Sciences, 125315, Baltiskaya Street, 8, Moscow, Russia

² — Russian Medical Academy of Postgraduate Education, 123995, Barricadnaja Street 2/1, Moscow, Russia

Describes the development of ideas about the regeneration of neurons from the approval «neurons are not restored» to an avalanche stream of messages on neurogenesis. We analysing literature about four ways of neuron regeneration. 1 — neurogenesis; 2 — intracellular regeneration; 3 — BMDC fusion with Purkinje neurons in transgenic experiment; 4 — regional cortical cells fusion. In observed some tactical and methodological problems which appears in researches about regeneration. Describes the reasons about the place of these methods of regeneration in modern neuroscience.

Key words: neurogenesis, cell fusion, brain regeneration

Способность мозга взрослых млекопитающих восстанавливаться после повреждений известна. Для объяснения этой способности надо знать, во-первых, какие изменения нейронов обеспечивают восстановление и, во-вторых, как после повреждения организуется ткань мозга: нейроны, глия, сосудистая сеть. В XIX и XX веках предпринимались многочисленные попытки исследовать механизм восстановления нейронов. Идеологической предпосылкой этих попыток было убеждение в том, что в любом органе единственным выражением восстановления является размножение обеспечивающих функцию клеток. Структурно-функциональная сложность зрелых клеток мозга, непосредственно обеспечивающих его функцию, т.е. нейронов и глиоцитов, несовместимость этой сложности с «хореографией» митоза, конечно, была замечена «старыми», но неплохо ориентирующимися в исследуемой проблеме авторами. Они понимали бесперспективность поиска картин митоза в нейронах или глиоцитах. Формули-

ровки «нейральная стволовая клетка» в то время не было, но это не очень влияло на направление и глубину проникновения исследовательской мысли. Ученые искали деление не нейронов, а сегодняшних стволовых и прогениторных клеток в то время называвшихся камбиальными. Иными словами, идеологически (но не методологически) прошлые эксперименты по регенерации мозга были вполне разумны по современным научным меркам. Выводы этих экспериментов были практически однозначны (исключения будут рассмотрены) — деления клеток нет, нейроны взрослых млекопитающих не обновляются. Это мнение отражено в руководствах XX века по гистологии. Вековую непоколебимость мнения иллюстрируют цитаты из руководств, изданных в 1908 и 2001 гг. Профессор Московского университета И.Ф. Огнев писал в учебнике гистологии 1908 г. [4] «Жизнь нервных клеток длится столько же времени, сколько и жизнь целого организма, в состав которого они входят». Профессора Казанского университета Э.Г. Улумбеков и Ю.А. Чельшев по существу повторили [13] в учебнике гистологии 2001 г. «Нейроны — классический пример клеток, относя-

Для корреспонденции: Комиссарова С.В. — науч. сотр. лаб. регуляции репаративных процессов ФГБУ НИИОПП РАМН, e-mail: lrrp@mail.ru

щихся к статической популяции. Ни при каких условиях они *in vivo* не способны к пролиферации и обновлению». Так же думал Сантьяго Кахаль. Общепринятость представления о равной продолжительности жизни нейронов и индивидуума отразилась в опирающейся на авторитет Кахалья поговорке: «нервные клетки не восстанавливаются».

Таким образом, исследования XIX, XX веков не разрешили, а лишь ужесточили противоречие жизни (практики) и теории в проблеме регенерации мозга. Нервные болезни подвергаются обратному развитию, а нейроны не восстанавливаются. Размышление об этом противоречии рождало следующие вопросы:

1. Может быть, результаты, отвергающие новообразование клеток в мозге, ошибочны?
2. Может быть, связь регенераторной реакции с клеточным делением, верная для многих органов тела, не соблюдается в мозге, а компенсация нарушенных функций проявляется в какой-то иной форме, нежели в других органах?

Мыслительный и экспериментальный поиск ответов оказались плодотворными и создали современное представление о процессах регенерации мозга. Интересным моментом истории науки стало то обстоятельство, что основополагающие работы по первому предположению были сделаны иностранными учеными, а по второму — русскими.

Первым серьезным указанием на существование деления предшественников и обновления нервных клеток мозга (нейрогенеза в точном смысле слова, нейрогенеза по сложившейся в литературе традиции) стали работы Altman'a с соавторами, выполненные в 60-х годах XX века [15—18].

Оставалось 30 лет до открытия нейральной стволовой клетки но, схема экспериментов показывает, что по существу у исследователей не было лишь слова стволовая в языке, но в уме было четкое понятие о биологической сущности явления. Работы Altman'a с соавторами выполнены методом автордиографии, сегодня неразумно забытым. Меченый тритием низкомолекулярный компонент ДНК — нуклеозид тимидин, будучи введенным в организм, включается в те клетки, которые во время циркуляции тимидина находились в периоде синтеза ДНК. Если интересующий исследователя объект зафиксировать через 1—2 ч после введения тимидина, то β -излучение трития будет обнаружено во всех клетках, вступивших в митотический цикл и создающих перед делением второй набор хромосом. Altman с соавторами понимали, что нейроны не могут быть в митотическом цикле и синтезировать ДНК. Поэтому материал фиксировали не через 1—2 ч, а через 30—70 сут. после введения тимидина. Они полагали, что за этот срок предшественники нейронов, готовившиеся в момент

циркуляции тимидина к митозу и включившие тимидин, пройдут дифференцировку, превратятся в зрелые, неделящиеся клетки и метка обнаружится над нейронами. Надежда авторов оправдалась. В гранулярном слое зубчатой извилины гиппокампа они нашли меченые ядра, соответствующие величиной и расположением гранулярным нейронам. Проверка и перепроверка наблюдений не разубедила Altman'a и его сотрудников в существовании постнатального нейрогенеза. Однако как это нередко случается с открытиями, отношение к новости научного сообщества было пренебрежительным и предвзято отрицательным. Позднее проведено автордиографическое исследование зубчатых извилин гиппокампа и обонятельных луковиц у 3-месячных крыс [49]. Для большей убедительности своих результатов Kaplan и Hinds применили электронно-микроскопическую идентификацию меченых тимидином клеток. Они показали дендриты и синапсы у меченых клеток. Но и эта работа не спасла идею нейрогенеза от неприятия современниками. «Нервные клетки не восстанавливались» до конца века.

Психологический перелом произошел в конце прошлого века под влиянием открытия В. Reynolds и S. Weiss [82] нейральной стволовой клетки. Из стриатума взрослых мышей выделяли клетки, которые при последующем культивировании *in vitro* экспрессировали маркер прогениторов — нестин, а затем дифференцировались в клетки морфологически и иммуноцитохимически не отличавшиеся от нейронов и астроцитов. Это наблюдение очень скоро было подтверждено [65, 83]. Превращение стволовой клетки в нейроны наблюдали и *in vivo* [90].

Открытие нейральной стволовой клетки вызвало несоизмеримое с прежними годами увеличение числа попыток найти постнатальный нейрогенез. Вторым следствием открытия стало исчезновение предвзято отрицательного отношения к находкам. Открытие не только нейральной, но и всех остальных стволовых клеток породило романтические надежды на их скорое терапевтическое использование. В ослеплении увлеченности многие (профессионалы) решили, что стволовые клетки это готовый или почти готовый препарат, введением которого можно вылечить многие тяжелые болезни. Найти нейрогенез очень хотелось, и журналы запестрели описаниями удач. В двух зонах мозга (как раз тех, о которых писали первооткрыватели Altman и Kaplan) постнатальный нейрогенез находили наиболее часто, количество новых нейронов было максимальным, а количество опровергающих сообщений минимальным. Эти зоны — субвентрикулярная боковых желудочков мозга [32, 46, 66] и субгранулярная зубчатой фасции гиппокампа [37, 51, 52, 53, 58].

В 1998 г. появилось сообщение о нейрогенезе в гиппокампе человека [35]. В 90-х годах XX века клеточное размножение определяли, как и раньше, по включению низкомолекулярного предшественника в ДНК нейронов. Однако в противоположность предыдущим десятилетиям тимидин заменили его аналогом — бромдиоксиуридином (BrdU) [68]. Многие достоинства тимидина (меньшая токсичность, отсутствие необходимости денатурировать ДНК и тем повреждать ткань [104], возможность получать количественные данные, меньшая склонность к изменению судьбы клетки, включившей естественный нуклеозид — тимидин, а не синтетический BrdU [33], меньшая вероятность, даже невозможность, перекрывания меченного ядра немеченым) были пожертвованы двум преимуществам BrdU.

1. Флуоресцентную метку BrdU можно совмещать с флуоресцентно-мечеными маркерами нейронов [70] или предшественников нейронов и по присутствию маркера судить о том, какая клетка новообразовалась (пометилась BrdU);

2. Результат эксперимента с тимидином приходится ждать 2—6 нед. для накопления в фотослое метки, а результат с BrdU можно узнать в день фиксации материала по связыванию клеткой антител к BrdU, меченных ферментом или флуорохромом.

BrdU иногда вводится человеку для определения по результатам анализа биопсий скорости пролиферации опухолей. Именно эти ситуации и были изучены Eriksson с соавторами [35]. Они описали данные исследования мозга у пяти больных, умерших через 15 дней — 2 года после введения BrdU. У всех был обнаружен нейрогенез в гиппокампе.

Нейрогенез в гиппокампе подвергся особо тщательному и многостороннему исследованию. Был не просто доказан факт новообразования нейронов в гиппокампе взрослых млекопитающих, но морфологически прослежена интеграция новообразованных нейронов в местную сеть [95, 96, 108]. Обнаружена связь нейрогенеза с обучением и памятью [54, 73, 88, 92, 102, 103], с поведением и локомоторными способностями животных [41]. Показана зависимость нейрогенеза от действия повреждающих факторов среды [69]. Выяснилось, что благотворное действие физической нагрузки на функции гиппокампа реализуется через нейрогенез [80]. При лечении моделированной болезни Альцгеймера наблюдали синхронное повышение нейрогенеза и улучшение когнитивной функции [98].

Таким образом, сегодня не нужно доказывать существование нейрогенеза в гиппокампе. Журналы содержат многочисленные сообщения о влиянии нейрогенеза на функции гиппокампа. Столь же несомненен нейрогенез в субвентрикулярном слое боковых желу-

дочков и миграция нейробластов в обонятельные луковицы [66]. Установлена связь субвентрикулярного нейрогенеза с обонятельной функцией [27]. Нейрогенез в субвентрикулярной зоне, миграция в обонятельные луковицы и интеграция в местные сети необходимы для нормального осуществления обонятельной функции [62]. Нейрогенез в обонятельных луковицах, подобно гиппокампу, обнаружен не только у грызунов, но и у человека [28].

Регенерация нейронов в коре. После открытия и окончательного доказательства нейрогенеза в гиппокампе и в окружности боковых желудочков в нейробиологии утвердился термин «нейрогенные», обозначающий зоны собственно нейрогенеза: субгранулярный и субвентрикулярный слой, а также зоны, куда приходят нейробластами вновь образованные нейроны: гранулярный слой зубчатой извилины и обонятельные луковицы. Все остальные отделы мозга называют «не нейрогенными». Были заявления и даже неоднократные о нейрогенезе в коре, стриатуме, амигдале, гипоталамусе, черной субстанции, стволе мозга [36]. Но всё же определение «не нейрогенные» за перечисленными отделами сохранилось. Причина простая: последующие исследования не подтвердили первичных заявлений [64]. Последнее предложение относится ко всем перечисленным участкам мозга.

Однако в данном обзоре на вопрос о нейрогенезе в коре нельзя ответить одним предложением, его следует рассмотреть подробнее. Причин для этого несколько. Кора — область особого интереса нейробиологии. Это отразилось и в количестве исследований нейрогенеза в коре, несоизмеримым с другими зонами мозга. Неоднократно объектом изучения был мозг человека, но не было сообщений об обнаружении нейрогенеза в коре. Упорство сторонников нейрогенеза в коре намного больше, чем сторонников нейрогенеза других локализаций. Если одни согласились с возражениями, то другие «корьеристы» продолжают публиковать свои данные. Мы не принимаем их как доказательства, но, стремясь быть объективными, не считаем возможным игнорировать без объяснения нашей позиции. Устойчивость идеи нейрогенеза, непрекращающиеся упорные поиски его виждутся на двух догмах:

1) упрощенческое, безальтернативное сведение сложного процесса регенерации только к пролиферации клеток;

2) столь же упрощенное понимание роли стволовых клеток только как поставщиков новых поколений дефинитивных клеток органа, непосредственных исполнителей функции (в мозге таковыми мыслятся только нейроны).

Непроизносимой, но ощущаемой подоплекой живучести мечты о нейрогенезе является ложное убеж-

дение в том, что отсутствие нейрогенеза означает провал популярнейшей сегодня идеи лечения стволовыми клетками. Так, японские исследователи Takayuki Nakagomi и др. [71] признают, что хотя они не нашли дифференцировку нестин-положительных клеток в нейроны в постинсультной коре, такие клетки могут развиваться: «Although we could not detect differentiation of nestin-positive cells into neurons *in vivo*, our current observations indicate that endogenous neural stem/progenitors with the potential to become neurons can develop within post-stroke cerebral cortex». Несмотря на недоказанность превращения предшественников в нейроны, их появление рассматривается как восстановление поврежденной коры: «...cells in the injured cerebral cortex have the potential to serve as a source for neurons driving CNS repair after brain injury» и перспектива клеточной терапии: «Identification of neural stem progenitor cells in the adult CNS raises the possibility of repair of CNS lesions, including repopulation of such damaged areas with neurons».

Давно, когда слова «стволовая клетка» были известны только их автору А.А. Максимову и читателям его книги [2], универсальность этих догм была всемирно скомпрометирована регенерацией печени, осуществляющейся, главным образом, не по догмам, а полиплоидией. Но этот факт не учитывается в рассуждениях о восстановлении системы такой «неудобной» для пролиферативного варианта регенерации, как ЦНС. Не обращается внимание на то, что в глиоцитах и нейронах нет митозов. На то, что идея смены клеточных поколений плохо или совсем не вяжется с хранением нейронами памяти в течение всей жизни индивидуума, на то, что пролиферация настолько несвойственна нейронам, что они никогда не образуют опухолей и, наконец, на то, что нейральная стволовая клетка, выделенная из коры, в культуре обычно дифференцируется только в глиоциты. Её можно заставить дифференцироваться *in vitro* в нейроны, но для этого нужно повысить концентрацию ростовых факторов до уровня многократно превышающего тот, который достаточен для нейрональной дифференцировки стволовой клетки из гиппокампа [77]. Наконец, в рассуждениях о регенерации мозга почти не звучит тема о возможности компенсации ущерба не путем восполнения количества утраченных функционирующих структур — нейронов, а путем восполнения количества утраченных функционирующих структур — синапсов. Имеются пока немногочисленные, но интересные и перспективные для терапии данные о синхронизации низкочастотной электрической активности поврежденных ишемией нейронов. Эта активность совпадает с усиленным ростом аксонов и несвойственна неповрежденным нейронам [23—25, 29, 43]. Иными словами, ускоряется образование новых

связей между нейронами, что может компенсировать утрату части этих клеток.

Эти особенности ЦНС хорошо согласуются с теорией регенерации, созданной Д.С. Саркисовым [8—11]. Основной постулат теории идет от глубинных основ мироздания. В природе нет ничего кроме материи и движения. Движущая сила живой материи — взаимодействие разрушения и восстановления, распада и синтеза, диссимилиации и ассимиляции. Восстановление во всех его формах и есть регенерация. Иными словами регенерация — одна из двух составляющих явления под названием жизнь. Регенерируют все живые объекты, но различно, соответственно их структурно-функциональным особенностям. Регенерация выполняет в природе структурно-функциональную задачу, она обеспечивает функцию путем постоянного воссоздания выполняющих эту функцию структур. Самой малой биологической структурой является молекула. Макромолекулы клетки постоянно разрушаются и воссоздаются. То же происходит и с надмолекулярными внутриклеточными структурами. Этот вечно текущий в клетках процесс разрушения и восстановления Д.С. Саркисов называл внутриклеточной регенерацией. Философски безупречную, и в этом смысле не требующую доказательств теорию, Д.С. Саркисов доказал многими убедительными биологическими фактами. Понятно, что внутриклеточная регенерация свойственна всем разновидностям клеток организма. Почти все разновидности клеток организма регенерируют не только внутриклеточно, но и путем смены клеточных поколений. А нейроны, как считал Д.С. Саркисов, регенерируют только внутриклеточно. Этим объяснением он устранил вековое противоречие восстанавливаемости мозга и якобы не восстанавливаемости нейронов. Конечно, Д.С. Саркисов прав и нейроны восстанавливаются путем внутриклеточной регенерации. Но в то же время этот факт сам по себе, не исключает возможность регенерации нейронов и другим путем. Уже в течение 20 лет после открытия нейральной стволовой клетки в качестве другого пути разыскивается нейрогенез. Но до сих пор нет уверенности в том, что в большинстве отделов мозга нейрогенез — реальность.

В литературе, посвященной локальному воспалению в коре, главное внимание уделяется регенерации нервной ткани. И этот вопрос, на наш взгляд, не решается или решается формально. Регенерация мыслится только как нейрогенез [48]. С начала XXI века и до сих пор появляются публикации, в которых выражается мнение, что нейрогенез в коре отсутствует только в нормальных условиях, а при болезни, локальном воспалении в частности, он обнаруживается [71, 87]. Однако доказательства того, что описываемые события есть нейрогенез, недостаточны, они не

соответствуют современному уровню науки, так, Sai-по с соавторами [87], описывая динамику содержания при инсульте нестин-положительных клеток, почему-то и в тексте и даже в заглавии употребляют слово *нейрогенез*. Близкую по идее, методике эксперимента и по трактовке результатов работу опубликовали Jing-Hui Xue с соавторами [105]. Авторы в качестве доказательств новообразования нейронов представили совмещение метки BrdU или даже PCNA (менее надежный маркер пролиферации, чем BrdU) с GFAP и нестином. GFAP — маркер астроцитов, нестин — маркер прогениторных клеток не только нейрональной, но и глиальной дифференцировки. Пожизненная пролиферация глиоцитов не нуждается в доказательствах, она доказана [20, 21, 26, 89], а нейрогенез не доказан, да и в обсуждаемых работах не показали меченых BrdU зрелых нейронов. Поэтому более правдоподобно рассматривать нестин-положительные клетки в качестве предшественников глиоцитов. Таковую трактовку подтверждает исследование [89], в котором при повреждении коры у взрослых мышей обнаружена лишь пролиферация клеток, находящихся на различных этапах дифференцировки олигодендроцитов. В разном по количеству использованных иммуноцитохимических методов исследовании [74] и в названии и в тексте публикации ставится слово *нейрогенез*, а в документах представлены CDX⁺ (маркер нейробластов) клетки. Гибель нейробластов описана [94] и нет гарантии их обязательного превращения в нейроны.

Конечно, в таком сложном, противоречиво излагаемом вопросе как *нейрогенез* в коре, реальность которого не доказана, следует быть осторожнее и не использовать слово *нейрогенез* в тех случаях, когда не установлено образование *нейронов*. Авторы описывают миграцию *предшественников* в перинфарктную зону коры из субвентрикулярного слоя (на 4 мм у мышей). Указывают на тесную связь «нейрогенеза» с васкуляризацией и поэтому перинфарктную зону называют *нейроваскулярной* нишей.

В обсуждаемых выше работах строгих доказательств *нейрогенеза* просто не было и утверждения о нем основывались только на такой ненаучной категории, как внутренняя убежденность авторов. Возникла устойчивая привычка не считаться с общепринятым по итогам большого труда разделением мозга на *нейрогенные* и не *нейрогенные* зоны. Привычка выражается в использовании слова *нейрогенез* в заглавиях статей, описывающих экспериментальные исследования инсульта в любых отделах мозга. Таких сообщений много, и своим изобилием они создают представление, что *нейрогенез* обыденное явление, почти как эритрогенез. Из чтения текста становится ясно, что *нейрогенез* (не отметив этого в названии) авторы ре-

гистрировали в *нейрогенной* зоне, где он действительно обыденное явление, а инсульт развивался в других не *нейрогенных* отделах мозга. Получается, что авторы научных работ, если прямо не искажают научную истину, то, по крайней мере, не стремятся просто, без затей изложить её читателю. Как нечастый пример ответственного отношения к заголовкам о *нейрогенезе* при инсульте приводим сообщение [109].

Методика поиска *нейрогенеза* сложна и, как всякая сложная методика, таит много возможностей для ошибок. В работах, где такие возможности старались закрыть, педантично подбирали схему эксперимента, где для идентификации зрелых нейронов использовали строгие морфологические и цитохимические критерии, не удавалось обнаружить ни *нейрогенез* в коре, ни признаки миграции в кору *нейральных* предшественников из субвентрикулярного слоя [14, 21, 34, 55, 57, 59, 91, 71]. Один из ведущих современных *нейроморфологов* P. Rakic уже в 2002 г. (*Adult neurogenesis in mammals: an identity crisis*. J. Neurosci. 2002, Vol. 22(3): P. 614—618) обращал внимание энтузиастов *нейрогенеза* на необходимость строго контролировать наблюдения и не навязывать природе желание исследователя. В статье, озаглавленной: «*Adult neurogenesis in mammals: an identity crisis*» он писал: «the compelling desire for curing neurological disorders has fostered an uncommon willingness to accept unsound evidence for adult neurogenesis under normal and experimental condition» (неконтролируемое желание лечить неврологические болезни способствовало повышенной готовности признать ненадежные доказательства *нейрогенеза* у взрослых). Неубедительность «доказательств» появления новых нейронов в коре отражена в дискуссии по техническим моментам исследования *нейрогенеза* на страницах журнала Science под выразительным названием *New neurons: extraordinary evidence or extraordinary conclusion?* [72].

Современный уровень науки представляет, по существу, один способ доказательства *нейрогенеза*. Должен быть показан, несомненно, нейрон, содержащий несомненное свидетельство протекавшего некогда (в предшественнике нейрона) *репродуктивного* (т.е. в S-периоде клеточного цикла) синтеза ДНК. Если несущий метку предшественник ДНК вводил в взрослому животному, то такой препарат доказывает *постнатальный* *нейрогенез*. Как уже отмечалось, в качестве предшественника ДНК сейчас используется только BrdU [68]. Есть заявления, что метка BrdU позволяет безошибочно идентифицировать *in vivo* новые нейроны. «Technical advances such as the use of bromodeoxyuridine (BrdU) have facilitated unambiguous identification of adult-generated cells in vivo as new neurons» [64]. Но BrdU может включаться

и в ходе *репаративного* синтеза ДНК [50, 106]. Конечно, репаративный синтез ДНК в нейронах усиливается при повреждениях мозга [60]. Это может стать причиной ложного «обнаружения» усиленного нейрогенеза в коре после инсульта [87].

В качестве типичного примера работы, описывающей нейрогенез в коре после инсульта можно привести часто цитируемую в источниках литературы по инсультам статью W. Jiang с соавторами [45]. Авторы подчеркивают, что в норме нейрогенез в коре не происходит. О том же свидетельствует и их эксперимент, в котором у ложно оперированных крыс не находили клеток, совмещавших метку BrdU с меткой какого-либо из трех использованных ими маркеров зрелых нейронов. Через 30 и 60 дней после временной окклюзии средней мозговой артерии в мозге находили десятки клеток с колокализацией указанных маркеров. Количество клеток с двойным мечением увеличивалось с приближением к очагу некроза. Иными словами, описана классическая ситуация для возникновения репаративного синтеза ДНК: синтез только при повреждении и усиливающийся с увеличением степени повреждающего воздействия. Но авторы такое объяснение результатов не рассматривают и соответствующих контролей не делают. Следует особо подчеркнуть, что всё направление работ, свидетельствующих об отсутствии нейрогенеза в норме и возникновении в условиях патологии, покоится на шатком и недоказанном основании. Пока неизвестны примеры регенераторных реакций, которые не были бы механизмом гомеостаза, а были «предусмотрены» природой только для болезни. Иными словами, механизмами репаративной регенерации, не имеющими соответствующих прототипов в механизмах физиологической регенерации. Д.С. Саркисов [10] излагал эту мысль так: «регенерация — это процесс обновления структурных элементов организма и восстановления их количества после повреждения, обеспечивающий нормальную работу органов и нормализацию их нарушенных функций при патологических процессах».

Демонстрация репаративного синтеза ДНК в качестве репродуктивного не единственный механизм ошибочного «выявления» нейрогенеза. В работах с BrdU не только возможна, но наверняка постоянно присутствует, если не применять специальных мер, ошибка наложения, т.е. признание двух ядер, расположенных друг над другом, за одно ядро. Если одно из них, верхнее или нижнее неважно, ядро нейрона, оно, конечно, окрасится специфическим нейрональным маркером. Если другое ядро не нейрона, оно вполне может оказаться меченым BrdU. Рассматриванием, даже внимательным, такой «бутерброд» трудно отличить от одной клетки, совмещающей оба маркера, т.е. искомого новообразованного

нейрона. Вот еще один путь проникновения «нейрогенеза» в журналы. В современной цитохимии часто используется конфокальный микроскоп. Тонкость оптического конфокального среза дает возможность получить красивые с малым фоном картинки якобы доказывающие нейрогенез в коре [38, 42]. Гораздо реже используются уникальные аналитические возможности этого прибора. Конфокальный микроскоп позволяет уверенно различить наложение и совмещение метки. Нужно сканировать срез по трем плоскостям, создать пространственную реконструкцию и рассмотреть предполагаемое совмещение в фас, профиль и снизу. Такой анализ дает надежный результат [31, 37, 86]. Во всех случаях обнаружения в коре клеток с двойной меткой BrdU⁺/NeuN⁺ анализ таких клеток методом пространственной реконструкции в конфокальном микроскопе, обнаруживал, что колокализации меток нет, и метку BrdU несет глиальная клетка, расположенная *рядом* с меченым NeuN нейроном [14].

Существует метод клеточной биологии, позволяющий обнаружить делящуюся клетку без использования предшественников ДНК — инфицирование некоторыми классами ретровирусов. Используются вирусы, которые проникают в клетку только в период митоза, когда отсутствует защищающая геном ядерная мембрана [63, 84]. Если к такому вирусу «прицепить» метку, например, ген зеленого флуоресцентного белка (green fluorescent protein — GFP), то получится вектор, проникновение которого метит зеленым цветом постмитотическую клетку на всю оставшуюся жизнь. Преимущество этого метода перед BrdU-методом заключается в отсутствии артефакта, обусловленного репаративным синтезом ДНК. Кроме того метка GFP, в отличие от метки BrdU, не экранирует структуры клетки, не затрудняет её морфологическую идентификацию [76]. Для исследования нейрогенеза в коре ретровирус впервые применили Ackman с соавторами [14].

В большом (123 крысенок в возрасте 2—19 дней и 11 взрослых крыс) и педантично проведенном эксперименте они находили зеленые нейроны в неокортексе через 48 ч после введения в мозговые желудочки ретровируса с GFP. Через 3 нед. после инфицирования такие нейроны не встречались. Метка BrdU никогда не колокализовалась с GFP или NeuN. Зелеными были клетки по морфологии и цитохимии идентифицированные как астроциты, олигодендроциты, полидендроциты (т.е. NG2⁺ клетки) и микроглиоциты. Исследование 642 зеленых пирамидных нейронов путем объемной реконструкции в конфокальном микроскопе обнаруживало слияние с апикальным дендритом нейрона тела маленькой клетки морфологически похожей на микроглиоцит и несущей метку

ОХ42 (иммуноцитохимический маркер активированной микроглии) и IB4 (гистохимический маркер микроглии). Таким образом, зеленая окраска пирамидных нейронов обуславливалась не тем, что их предшественники заражались геном GFP, а тем, что в тело нейрона перемещался GFP из микроглиальной клетки. Это подтверждается и временной динамикой появления (слишком быстрого — 48 ч) и исчезновения (тоже стремительного — 3 нед.) зеленой метки.

Метка GFP стала ценным методом клеточной биологии. За него в 2008 г. дали Нобелевскую премию. Зеленую метку GFP можно внести генно-инженерным методом в яйцеклетку мыши [75]. В результате этого действия все клетки родившегося мышонка, кроме эритроцитов и волос, светятся зеленым цветом под лучом возбуждения. Получаются зеленые трансгенные мыши. Зеленый цвет клеток дает возможность проследить их судьбу в различных ситуациях, в частности при пересадке в немеченые организмы. Трансгенные пересадки были использованы для изучения дифференцировки стволовых клеток. Казалось, что какие бы превращения не претерпела донорская клетка в организме реципиента, её всегда можно будет узнать по зеленой флуоресценции. Наш интерес к этим экспериментам обусловлен тем обстоятельством, что нейрогенез есть результат дифференцировки нейральной стволовой клетки.

Трансгенные пересадки осуществляют следующим образом. Взрослые мыши-реципиенты получают смертельную дозу облучения. Затем вводят им костный мозг — bone marrow-derived cells (BMDC) от взрослых GFP-положительных доноров. Для подавления реакции трансплантат — против хозяина реципиенты получают большие дозы иммунодепрессантов. Естественно после таких манипуляций у реципиентов находят много зеленых клеток крови. Не так естественно и очевидно, но, тем не менее, это было — встречались зеленые дифференцированные клетки других тканей. Чтобы не отвлекаться от темы, скажем только о мозге. Первые известия о том, что BMDC, развиваясь в теле реципиента могут пересекать рубежи зародышевых листков и из мезодермальных превращаться в эктодермальные клетки мозга появились на рубеже веков в 2000 г. [22, 67]. Выход за границы зародышевых листков получил три красивых названия: пластичность стволовых клеток, трансдифференцировка, трансдетерминация.

В 2001 г. была опубликована статья Priller с соавторами [81], обнаруживших в мозжечке реципиентов через год после трансгенной пересадки зеленые нейроны Пуркинье. Точность идентификации клеток не вызывает сомнений. Нейроны Пуркинье уже по топографии расположения и по морфологии нельзя спутать ни с одной другой клеткой организма. Кроме того, зеле-

ные клетки были опознаны и цитохимически: экспрессировали специфические маркеры зрелых клеток Пуркинье: декарбоксилазу глутаминовой кислоты и кальбиндин. Объяснение Priller с соавторами полностью соответствовало моде 2001 г. Они сочли, что мезодермальная BMDC стала эктодермальным нейроном. Иными словами, BMDC прошла столь большой и сложный путь развития, что превратилась в клетку другого зародышевого листка — трансдифференцировалась. Объяснение казалось обоснованным: ведь нейрон зеленый, следовательно, он — ставшая нейроном BMDC. Авторов не смутило то, что чудесное превращение произошло не с эмбриональной клеткой, отличающейся повышенной пластичностью, а с клеткой взрослого животного и в организме взрослого животного с давно (в эмбриональном периоде) сформированным мозжечком. Но, повторяем, эта трактовка не была плодом пылкого воображения маленькой группы людей — авторов статьи. В то время так думала большая часть научного сообщества. Конечно, по до сих пор не изжитому, а в то время безудержному, стремлению всеместно пересаживать стволовые клетки, Priller с соавторами рекомендуют трансплантацию BMDC для лечения в клинике двигательных расстройств. Рекомендация смелая, если не сказать легкомысленная. Во-первых, потому, что при исследовании целого мозжечка находили всего несколько зеленых нейронов Пуркинье, а во-вторых, — условия трансгенного эксперимента бесконечно далеки от реальных условий развития болезней человека.

Серьезный удар по идее постнатального нейрогенеза, а заодно и по популярным и слишком оптимистично оцениваемым представлениям о трансдифференцировке нанесла группа публикаций появившаяся в 2002—2003 гг. [19, 40, 93, 97, 99, 107]. В этих статьях было заявлено, что стволовая клетка может сливаться с дифференцированной клеткой различных тканей. По этой причине «классическое» доказательство пластичности вообще и, в частности, пластическое появление во взрослом мозге нейрона, «трансдифференцировавшегося» из BMDC оказались артефактом. Открытая возможность слияния BMDC дает другое, не столь фантастичное объяснение результатов, якобы демонстрирующих трансдифференцировку. BMDC не превратилась в дефинитивную клетку. У Priller с соавторами — это нейрон Пуркинье. Специфические особенности «взрослого» нейрона Пуркинье не были созданы самостоятельно BMDC. Она просто слилась с дифференцированным нейроном и передала ему свой маркер — зеленый цвет. Следует оговориться, что выше излагались результаты экспериментов *in vivo*. *In vitro* можно изменением условий культивирования добиться трансдифференцировки и превращения мезенхимальной стволовой клетки костного мозга в клетку любого зародышевого листка [106].

Таким образом, трансгенные пересадки вначале, как казалось, доказывающие нейрогенез (да ещё самых сложных нейронов) у взрослых млекопитающих, впоследствии обнажили ошибочность «находок» не только нейрогенеза, но и генеза клеток в некоторых других органах. Этим методом впервые было обнаружено слияние стволовых или прогениторных клеток с нейронами, пока только с одним видом нейронов — клетками Пуркинье [19, 101]. Относительно нейронов Пуркинье есть исследование [101] показавшее, что в клетке с двумя различными ядрами — гетерокарионе: нейрон Пуркинье — VMDC происходит репрограммирование ядра VMDC. Оно увеличивается в размере, в нем становится больше дисперсного хроматина и активируется специфичный для нейронов Пуркинье трансген. Число гетерокарионов увеличивалось по мере старения животных. Увеличение у старых животных числа двухъядерных, способных к большей функциональной нагрузке [39] нейронов указывает роль слияния клеток в регенерации. Регенераторное значение слияний можно предполагать и по результатам работы Johansson с соавторами [47], обнаруживших, увеличение числа тех же гетерокарионов (нейрон Пуркинье — VMDC) при хроническом воспалении у мышей-реципиентов. Понятно, что схема регенерации мозга, основанная на результатах трансгенных трансплантаций, имеет очень шаткое основание. В ней много слабых пунктов.

1. Все результаты получены в трансгенных экспериментах, резко меняющих состояние животных (облучение в летальной дозе, большие дозы иммунодепрессантов);

2. Низкое число слияний (1—2 на 10^6 просмотренных клеток). Маловероятно, чтобы столь редкое событие оказывало репаративное действие;

3. В слияниях участвуют только донорские костномозговые клетки. Роль стволовых клеток мозга или любых других эндогенных клеток невыяснена. Наверняка стволовые клетки реципиента репрессированы, если не уничтожены облучением;

4. Облучение нарушает гематоэнцефалический барьер [30, 85], поэтому нельзя отвергнуть предположение, что костномозговые клетки проникли в мозг благодаря облучению, а у интактных животных проникновение невозможно;

5. Слияния происходят только с клетками Пуркинье, но не с другими видами нейронов. Таким образом, регенеративная роль слияний предполагалась только для одного вида нейронов мозжечка, а не для всех нейронов мозга.

И всё же в проблеме регенерации ЦНС трансгенные эксперименты имеют большое значение. Они испытывали ещё одним методом существование нейрогенеза. Не доказав его, они способствовали кру-

шению догмы о том, что пролиферация клеток единственная форма регенерации. Более того, трансгенные эксперименты открыли альтернативу нейрогенеза — слияние клеток. Скорее всего, слияние, выявляемое в трансгенном эксперименте, не существует в природе — слишком искусственны условия его возникновения. Но раз оно, хотя бы в экзотических условиях, созданных человеком, случается в организме, значит, какая-то биологическая подкладка под ним есть и этот феномен достоин обдумывания и исследования.

Возможно, такого рода мысли натолкнули сотрудников НИИОПП РАМН на внимательное исследование случаев, когда в срезах, окрашенных по Ниссию, ядра нейрона и олигодендрозита кажутся находящимися в одной цитоплазме. Конечно, такое расположение ядер видели все, рассматривавшие срезы мозга в микроскопе. Внимания на этот факт не обращали, по-видимому, считая его, совершенно справедливо, эффектом наложения. Так оно и бывает в действительности, но не во всех случаях. Наложение, т.е. кажущееся расположение на одном уровне структур, находящихся в срезе на разной глубине, обычно обнаруживается при перемещении микровинтом фокальной плоскости изображения. Но, иногда, таким приемом не удается обнаружить, что ядра находятся в разных клетках. Понятно, что и в этом случае нельзя быть уверенным в действительном расположении ядер в общей цитоплазме. Выраженность наложения определяется соотношением величины структуры и толщины среза. В толстом (порядка 10 мкм) парафиновом или криостатном срезе возможны ситуации когда «горбушка» ядра олигодендрозита (диаметр 7—10 мкм), срезанная по верхней или нижней плоскости среза, занимает в нем лишь часть глубины. Если в таком срезе ядро нейрона (диаметр 10—30 мкм) занимает всю толщину среза, то все равно нейрон и олигодендрозит оказываются на разной глубине. Различие может быть и большим, если и нейрон представлен в срезе «горбушкой», а это в десятимикронном срезе возможно. Из таких рассуждений вытекает способ снизить и устранить возможность наложения — уменьшить толщину среза. Исследователи стали заливать образцы в эпоксидную смолу и анализировать полутонкие (1 мкм) и электронно-микроскопические (50—70 нм) срезы. Даже в полутонком срезе исключается вероятность расположения ядер нейрона и олигодендрозита на разных глубинах. Об электронно-микроскопическом и писать нет нужды. И в полутонких, и в электронно-микроскопических срезах обнаруживали гетерокарионы, т.е. клетки с двумя различными ядрами: нейрона и олигодендрозита. Так, учеными НИИОПП была доказана реальность слияний региональных клеток мозга [1, 5, 6, 61].

В обсуждаемой работе было обнаружено новое биологическое явление — естественное образование гетерокарионов нормальных клеток в организме. Давно известны гетерокарионы, созданные искусственно в культуре [7, 12]. Этот методический прием дал возможность многое узнать о работе генома. Гетерокарион лимфоцит-клетка миеломы был использован для создания гибридомы и производства моноклональных антител [56]. Известна способность раковых клеток объединяться в гетерокарионы [3]. О возможности естественного, представляющего собою один из механизмов онтогенеза, образования гетерокарионов нормальных соматических клеток не знали до упомянутых публикаций НИИОПП. В гетерокарионе нейрон-олигодендроцит ядро олигодендроцита становится постепенно всё более похожим морфологически на ядро нейрона по величине, форме, строению хроматина, в ядре олигодендроцита появляется ядрышко. Происходит нейрон-специфическое репрограммирование ядра олигодендроцита. По завершении процесса репрограммирования ядра становятся неразличимыми. Гетерокарион превращается в клетку с двумя одинаковыми ядрами: дикарион. Иными словами в результате слияния и репрограммирования в нейроне появляется второе нейрональное ядро, второй геном. Нейрональный геном осуществляет нейрональную функцию. Таким образом, за счет дикарионов возрастает суммарный объем функции, выполняемой популяцией нейронов. Это может компенсировать утрату части нейронов в нормальном онтогенезе или при болезни. Авторы первых публикаций по слиянию клеток мозга [5, 6, 61] указывают на увеличение числа двухъядерных клеток в префронтальной коре при ишемическом инсульте. Инсульт они вызывали методом фототромбоза [100]. Таким образом, на регенераторную роль слияний в анализируемой литературе указывают два факта:

1. Репрограммирование ядра олигодендроцита, приводящее к удвоению функционального потенциала клетки;
2. Увеличение числа слияний в коре, окружающей зону инсульта, т.е. при репаративной регенерации.

В последних публикациях нашей лаборатории приводятся доказательства регенерации коры путем слияния клеток и образования дополнительных геномов при геморрагическом инсульте [79] и при действии гипоксии [78].

Итак, в современной литературе описывались четыре механизма регенерации нервной ткани мозга:

- 1 — нейрогенез;
- 2 — внутриклеточная регенерация;
- 3 — слияние BMDC с нейронами Пуркинью в трансгенном эксперименте;
- 4 — слияние региональных клеток коры.

Сегодня учение о нейрогенезе сохраняет актуальность и интенсивно развивается. 15.04.2014 на запрос «нейрогенез у взрослых млекопитающих» PubMed выдал 5066 публикаций. В качестве подтверждения актуальности проблемы указываем, что, например, статья F.H. Gage (Mammalian neural stem cells. Science. 2000, Vol. 287(5457), P. 1433—1438) по состоянию на 10.04.2014 была цитирована 4284 раза (Sci-Hub). Однако в этом стремительном развитии обозначились признаки кризиса, суть которого — отсутствие или низкая эффективность клеточной терапии. В настоящее время в журнале *Frontiers in Neuroscience* развернуто обсуждение этой проблемы под лозунгом: «Adult neurogenesis twenty years later: physiological function versus brain repair». Очевидно, что все эти события естественны для развития нового научного направления. Накопленные знания о нейрогенезе обогащают теорию медицины и, несомненно, выразятся в совершенствовании лечения. Не следует забывать, в то же время, что сфера нейрогенеза ограничена небольшим участком мозга, и необходимость знаний механизмов регенерации нейронов на остальной территории мозга не уменьшилась достижениями в этой сфере.

Второй, а точнее, самый первый, самый общий и фундаментальный механизм регенерации — внутриклеточная регенерация, суть которой сформулировал Д.С. Саркисов. Этот механизм и интенсивно исследуется и широко используется для врачебного вмешательства. Можно уверенно сказать, что большая часть лекарственных, физиотерапевтических, психотерапевтических воздействий опосредуется через этот путь регенерации. Новые знания о молекулярных превращениях в здоровом и больном мозге есть развитие представлений о внутриклеточной регенерации.

Третий механизм регенерации — слияние BMDC с нейронами Пуркинью в трансгенном эксперименте, скорее всего не имеет места за пределами научного эксперимента. Тем не менее, полученные на этом направлении знания оказались полезными, введя феномен слияния клеток в область интереса людей, занимающихся регенерацией мозга.

Четвертый механизм — слияние региональных клеток мозга репрограммирование ядер и образование двухъядерных нейронов. Мы не знаем, насколько распространен в мозге феномен слияния нейронов с олигодендроцитами. Уже имеющиеся результаты дают основания полагать, что, по крайней мере, в коре большого мозга физиологическая и репаративная регенерация нейронов осуществляется путем слияния их с олигодендроцитами и последующего репрограммирования ядер олигодендроцитов. Есть весомые доказательства реальности этого механизма регенерации [5, 6, 78, 79]. Необычность такого способа реге-

нерации, его несходство с уже известными, значимость для биологии вообще и неврологии, в частности, неясность многих деталей — обуславливают необходимость дальнейшего разностороннего изучения регенерации нейронов путем слияния клеток.

Список литературы

1. Комиссарова С.В., Турыгина С.А., Александрин В.В. Модель очага воспаления в коре мозга у крыс. *Патогенез*. 2011; 9 (1): 38—42.
2. Максимов А.А. *Учение о тканях*. СПб., 1915; С. 614.
3. Наперстников В.В., Доросевич А.Е. Соматическая гибридизация клеток при раке как один из механизмов, объясняющих несостоятельность иммунологического надзора. *Архив патологии*. 1986; 6: 83—7.
4. Огнев И.Ф. *Курс нормальной гистологии*. Часть 1, 2-е издание. М., 1908.
5. Пальцын А.А., Колокольчикова Е.Г., Константинова Н.Б. и др. Образование гетерокарионов как способ регенерации нейронов при постишемическом повреждении коры мозга крыс. *Бюллетень эксперимент. биологии и медицины*. 2008; 10: 467—70.
6. Пальцын А.А., Константинова Н.Б., Романова Г.А. и др. Роль слияния клеток в физиологической и репаративной регенерации коры головного мозга. *БЭБиМ*. 2009; 11: 580—3.
7. Рингерц Н., Сэвидж Р. *Гибридные клетки*. М., 1979.
8. Саркисов Д.С. О формах регенераторной реакции. *Экспериментальная хирургия и анестезиология*. 1962; 2: 3—7.
9. Саркисов Д.С. *Регенерация и её клиническое значение*. М., 1970; С.284.
10. Саркисов Д.С. *Очерки истории общей патологии*. М.: Медицина, 1993.
11. Саркисов Д.С., Пальцын А.А., Втюрин Б.В. *Электронно-микроскопическая радиоавтография клетки*. М., 1980; С.264.
12. Харрис Г. *Ядро и цитоплазма*. М.: Мир. 1973; 188.
13. Улумбеков Э.Г., Челышев Ю.А. (ред.), Бойчук Н.В. и др. *Гистология*, изд. 2-е. М.: ГЭОТАР, МЕД, 2001.
14. Ackman J.B., Siddiqi F., Walikonis R.S. et al. Fusion of microglia with pyramidal neurons after retroviral infection. *J. Neurosci*. 2006; 26 (44): 11413—22.
15. Altman J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science*. 1962; 135: 1127—8.
16. Altman J. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *The Anatomical record*. 1963; 145 (4): 573—91.
17. Altman J. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *The Journal of Comparative Neurology*. 1969; 137 (4): 433—57.
18. Altman J., Das G.D. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol*. 1962; 124: 319—36.
19. Alvarez-Dolado M., Pardal R., Garcia-Verdugo J.M. et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature*. 2003; 425 (6961): 968—73.
20. Baumann N., Pham-Dinh D. Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol. Rev*. 2001; 81: 871—927.
21. Bhardwaj R.D., Curtis M.A., Spalding K.L. et al. Neocortical neurogenesis in humans is restricted to development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103: 12564—8.
22. Brazelton T.R., Rossi F.M., Keshet G.J., Blau H.M. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science*. 2000; 290: 1775—9.
23. Carmichael S.T. Themes and Strategies for Studying the Biology of Stroke Recovery in the Post-Stroke Epoch. *Stroke*. 2008; 39 (4): 1380—8.
24. Carmichael S.T., Chesselet M.F. Synchronous neuronal activity is signal for axonal sprouting after cortical lesions in the adult. *J. Neurosci*. 2002; 22: 6062—70.
25. Carmichael S.T., Wei L., Rovainen C.M., Woolsey T.A. New patterns of intra-cortical connections after focal stroke. *Neurobiol. Dis*. 2001; 8: 910—22.
26. Collarini E.J., Pringle N., Mudhar H. et al. Growth factors and transcription factors in oligodendrocyte development. *J. Cell Sci. Suppl*. 1991; 5: 117—23.
27. Corotro F.S., Henegar J.R., Maruniak J.A. Odor deprivation leads to reduced neurogenesis and reduced neuronal survival in the olfactory bulb of the adult mouse. *Neuroscience*. 1994; 61: 739—44.
28. Curtis M.A., Faull R.L., Eriksson P.S. The effect of neurodegenerative diseases on the subventricular zone. *Nat. Rev. Neurosci*. 2007; 8 (9): 712—23.
29. Dancause N., Barbay S., Frost S.B. et al. Extensive cortical rewiring after brain injury. *J. Neurosci*. 2005; 2: 10167—9.
30. Davoust N, Vuillat C, Androdias G, Nataf S. From bone marrow to microglia: barriers and avenues. *Trends. Immunol*. 2008; 29: 227—34.
31. Dayer A.G., Cleaver K.M., Abouantoun T., Cameron H.A. New GABAergic interneurons in the adult neocortex and striatum are generated from different precursors. *J. Cell Biol*. 2005; 168: 415—27.
32. Doetsch F., Caille L., Lim D.A. et al. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*. 1999; 97: 703—16.
33. Duque A., Rakic P. Different effects of bromodeoxyuridine and [³H]thymidine incorporation into DNA on cell proliferation, position, and fate. *J. Neurosci*. 2011; 31 (42): 15205—17.
34. Ehninger D., Kempermann G. Regional effects of wheel running and environmental enrichment on cell genesis and microglia proliferation in the adult murine neocortex. *Cereb. Cortex*. 2003; 13: 845—51.
35. Eriksson P.S., Perfilieva E., Bjork-Eriksson et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat. Med*. 1998; 11: 1313—7.
36. Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nat. Rev. Neurosci*. 2007. 8 (6): 481—8.
37. Gould E., Reeves A.J., Fallah M. et al. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999; 96: 5263—7.
38. Gould E., Reeves A.J., Graziano M.S.A., Gross C.G. Neurogenesis in the Neocortex of Adult Primates. *Science*. 1999; 286 (5439): 548—52.
39. Gregory T.R., Hebert P.D. The modulation of DNA content: proximate causes and ultimate consequences. *Genome Res*. 1999; 9 (4): 317—24.
40. Gussoni E., Bennett R.R., Muskiewicz K.R. et al. Long-term persistence of donor nuclei in a Duchenne muscular dystrophy patient receiving bone marrow transplantation. *J. Clin. Invest*. 2002; 110 (6): 807—14.

41. Hayashi T., Noshita N., Sugawara T., Chan P.H. Temporal profile of angiogenesis and expression of related genes in the brain after ischemia. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2003; 23: 166–80.
42. Itoh T., Satou T., Takemori K. et al. Neural Stem Cells and New Neurons in the Cerebral Cortex of Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats After Stroke. *J. Mol. Neurosci.* 2010; 41: 55–65.
43. Jacobs K.M., Donoghue J.P. Reshaping the cortical motor map by unmasking latent intracortical connections. *Science.* 1991; 251: 944–7.
44. Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L. et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature.* 2002; 418(6893): 41–9.
45. Jiang W., Gu W.G., Brannstrom T. et al. Wester Cortical Neurogenesis in Adult Rats After Transient Middle Cerebral Artery Occlusion. *Stroke.* 2001; 32: 1201–7.
46. Johansson C.B., Momma S., Clarke D.L. et al. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. *Cell.* 1999; 96: 25–34.
47. Johansson C.B., Youssef S., Kolekar K. et al. Extensive fusion of haematopoietic cells with Purkinje neurons in response to chronic inflammation. *Nature cell biology.* 2008; 10: 575–83.
48. Kameda M., Shingo T., Takahashi K. et al. Adult neural stem and progenitor cells modified to secrete GDNF can protect, migrate and integrate after intracerebral transplantation in rats with transient forebrain ischemia. *European Journal of Neuroscience.* 2007; 26: 1462–78.
49. Kaplan M.S., Hinds J.W. Neurogenesis in the Adult Rat: Electron Microscopic Analysis of Light Radioautographs. *Science.* 1977; 197: 1092–4.
50. Katchanov J., Harms C., Gertz K. et al. Mild cerebral ischemia induces loss of cyclin-dependent kinase inhibitors and activation of cell cycle machinery before delayed neuronal cell death. *J. Neurosci.* 2001; 21: 5045–53.
51. Kempermann G., Kuhn H.G., Gage F.H. Genetic influence in the dentate gyrus of mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997a; 94: 10409–14.
52. Kempermann G., Kuhn H.G., Gage F.H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature.* 1997b; 386: 493–5.
53. Kempermann G., Brandon E.P., Gage F.H. Environmental stimulation of 129/SvJ mice causes increased cell proliferation and neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Curr. Biol.* 1998; 8: 939–42.
54. Kitamura T., Saitoh Y., Takashima N. et al. Adult Neurogenesis Modulates the Hippocampus-Dependent Period of Associative Fear Memory. *Cell.* 2009; 139: 814–27.
55. Kodama M., Fujioka T., Duman R.S. Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biol. Psychiatry.* 2004; 56: 570–80.
56. Kohler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature.* 1975; 256 (5517): 495–7.
57. Koketsu D., Mikami A., Miyamoto Y., Hisatsune T. Nonrenewal of Neurons in the Cerebral Neocortex of Adult Macaque Monkeys. *The Journal of Neuroscience.* 2003; 23(3): 937–42.
58. Kornack D.R., Rakic P. Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96: 5768–73.
59. Kornack D.R., Rakic P. Cell proliferation without neurogenesis in adult primate neocortex. *Science.* 2001a; 294: 2127–30.
60. Kuan C.Y., Schloemer A.J., Lu A. et al. Hypoxia-ischemia induces DNA synthesis without cell proliferation in dying neurons in adult rodent brain. *J. Neurosci.* 2004; 24: 10763–72.
61. Kubatiev A., Paltsyn A., Konstantinova N. et al. Cell Fusion and reprogramming nuclei — mechanism of regeneration of brain cortex. 6th International Congress of Pathophysiology. 2010; 183.
62. Lazarini F., Lledo P.M. Is adult neurogenesis essential for olfaction? *Trends in neurosciences.* 2011; 34: 20–30.
63. Lewis P.F., Emerman M. Passage through mitosis is required for oncoretroviruses but not for the human immunodeficiency virus. *J. Virol.* 1994; 68: 510–6.
64. Lichtenwalner R.J., Parent J.M. Adult neurogenesis and the ischemic forebrain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 2006; 26: 1–20.
65. Lois C., Alvarez-Buylla A. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993; 90: 2074–7.
66. Lois C., Alvarez-Buylla A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science.* 1994; 264: 1145–8.
67. Mezey E., Chandross K.J., Harta G. et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science.* 2000; 290: 1779–82.
68. Miller M.W., Nowakowski R.S. Use of bromodeoxyuridine immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Res.* 1988; 457: 44–52.
69. Mirescu C., Peters J.D., Noiman L., Gould E. Sleep deprivation inhibits adult neurogenesis in the hippocampus by elevating glucocorticoids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(50): 19170–5.
70. Mullen R.J., Buck C.R., Smith A.M. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development.* 1992; 116: 201–11.
71. Nakagomi T., Taguchi A., Fujimori Y. et al. Isolation and characterization of neural stem/progenitor cells from post-stroke cerebral cortex in mice. *European Journal of Neuroscience.* 2009; 29: 1842–52.
72. Nowakowski R.S., Hayes N.L. New neurons: extraordinary evidence or extraordinary conclusion? *Science.* 2000; 288: 771.
73. Neves G., Cooke S.F., Bliss T.V. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: A neural network approach to causality *Nature Reviews Neuroscience.* 2008; 9(1): 65–75.
74. Ohab J.J., Fleming S., Blesch A., Carmichael S.T. A Neurovascular Niche for Neurogenesis after Stroke. *The Journal of Neuroscience.* 2006; 26 (50): 13007–16.
75. Okabe M., Ikawa M., Kominami K. et al. «Green mice» as a source of ubiquitous green cells. *FEBS Lett.* 1997; 407(3): 313–9.
76. Okada A., Lansford R., Weimann J.M. et al. Imaging cells in the developing nervous system with retrovirus expressing modified green fluorescent protein. *Exp. Neurol.* 1999; 156: 394–406.
77. Palmer T.D., Markakis E.A., Willhoite A.R. et al. Fibroblast growth factor-2 activates a latent neurogenic program in neural stem cells from diverse regions of the adult CNS. *J. Neurosci.* 1999; 19: 8487–97.
78. Paltsyn A.A., Manukhina E.B., Goryacheva A.V. et al. Intermittent hypoxia stimulates formation of binuclear neurons in brain cortex — A role of cell fusion in neuroprotection? *Exp. Biol. Med.* 2014. [Epub ahead of print]

79. Paltsyn A., Komissarova S., Dubrovin I., Kubatiev A. Increased Cell Fusion in Cerebral Cortex May Contribute to Poststroke Regeneration. *Stroke Research and Treatment*. 2013; 16 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/869327>
80. Pereira A.C., Huddleston D.E., Brickman A.M. et al. An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104(13): 5638–43.
81. Priller J., Persons D.A., Klett F.F. et al. Neogenesis of cerebellar Purkinje neurons from gene-marked bone marrow cells in vivo. *JCB*. 2001; 155(5): 733–8.
82. Reynolds B., Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*. 1992; 255 (5052): 1707–10.
83. Richards L.J., Kilpatrick T.J., Bartlett P.F. De novo generation of neuronal cells from the adult mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992; 89: 8591–5.
84. Roe T., Reynolds T.C., Yu G., Brown P.O. Integration of murine leukemia virus DNA depends on mitosis. *EMBO J*. 1993; 12: 2099–108.
85. Rubin P., Gash D.M., Hansen J.T. et al. Disruption of the blood-brain barrier as the primary effect of CNS irradiation. *Radiother. Oncol*. 1994; 31: 51–60.
86. Runyan C.A., Weickert C.S., Saunders R.C. Adult neurogenesis and immediate early gene response to working memory stimulation in the primate prefrontal cortex. *Soc. Neurosci. Abstr*. 2006; 318 (10).
87. Saino O., Taguchi A., Nakagomi T. et al. Immunodeficiency Reduces Neural stem/Progenitor Cell Apoptosis and Enhances Neurogenesis in the Cerebral Cortex After Stroke. *Journal of Neuroscience Research*. 2010; 88: 2385–97.
88. Shors T.J., Miesegaes G., Beylin A. et al. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature*. 2001; 410: 372–6.
89. Simon C., Geotz M., Dimou L. Progenitors in the Adult Cerebral Cortex: Cell Cycle Properties and Regulation by Physiological Stimuli and Injury. *Glia*. 2011; 59: 869–81.
90. Snyder E.Y., Deitcher D.L., Walsh C. Multipotent neural cell lines can engraft and participate in development of mouse cerebellum. *Cell*. 1992; 68(1): 33–51.
91. Spalding K.L., Bhardwaj R.D., Buchholz B.A. et al. Retrospective birth dating of cells in humans. *Cell*. 2005; 122: 133–43.
92. Squire L.R., Bayley P.J. The neuroscience of remote memory. *Curr. Opin. Neurobiol*. 2007; 17(2): 185–196.
93. Terada N., Hamazaki T., Oka M. et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*. 2002; 416: 542–5.
94. Thored R., Arvidsson A., Cacci E. et al. Persistent Production of Neurons from Adult Brain Stem Cells During Recovery after Stroke. *Stem Cells*. 2006; 24: 739–47.
95. Toni N., Laplagne D.A., Zhao Ch. et al. Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. *Nat. Neurosci*. 2008; 11(8): 901–7.
96. Toni N., Teng E.M., Bushong E.A. et al. Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nat. Neurosci*. 2007; 10 (6): 727–34.
97. Vassilopoulos G., Wang P.-R., Russell D.W. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*. 2003; 422: 901–4.
98. Wang J.M., Singh C., Liu L. et al. Allopregnanolone reverses neuron and cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107(14): 6498–503.
99. Wang X., Willenbring H., Akkari Y. et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature*. 2003; 422: 897–901.
100. Watson B.D., Dietrich W.D., Busto R. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann. Neurol*. 1985; 17: 497–504.
101. Weimann J.M., Johansson C.B., Trejo A., Blau H.M. Stable reprogrammed heterokaryons form spontaneously in Purkinje neurons after bone marrow transplant. *Nat. Cell Biol*. 2003a; 5(11): 959–66.
102. Wiltgen B.J., Brown R.A.M., Talton L.E., Silva A.J. New Circuits for Old Memories: The Role of the Neocortex in Consolidation. *Neuron*. 2004; 44: 101–8.
103. Winocur G., Wojtowicz J.M., Sekeres M. et al. Inhibition of Neurogenesis Interferes With Hippocampus-Dependent Memory Function. *Hippocampus*. 2006; 16: 296–304.
104. Wojtowicz J.M., Kee N. BrdU assay for neurogenesis in rodents. *Nature Protoc*. 2006; 1: 1399–405.
105. Xue J.-H., Yanamoto H., Nakajo Y. Induced Spreading Depression Evokes Cell Division of Astrocytes in the Subpial Zone, Generating Neural Precursor-Like Cells and New Immature Neurons in the Adult Cerebral Cortex. *Stroke*. 2009; 40: e606–e613.
106. Yang Y., Geldmacher D.S., Herrup K. DNA replication precedes neuronal cell death in Alzheimer's disease. *J. Neurosci*. 2001; 21: 2661–8.
107. Ying Qi-L., Nichols J., Evans E.P., Smith A.G. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature*. 2002; 416: 545–8.
108. Zhao Ch., Teng E.M., Summers R.G. Jr et al. Distinct Morphological Stages of Dentate Granule Neuron Maturation in the Adult Mouse Hippocampus. *The Journal of Neuroscience*. 2006; 2 (1): 3–11.
109. Zhang R.L., Zhang Z.G., Chopp M. Neurogenesis in the Adult Ischemic Brain: Generation, Migration, Survival, and Restorative Therapy. *Neuroscientist*. 2005; 11: 408–16.

Поступила 28.04.14
Received 28.04.14

Сведения об авторах:

Дубровин И.П. (Dubrovin I.P.) — науч. сотр. лаб. регуляции репаративных процессов ФГБУ НИИОПП РАМН
Пальцын А.А. (Paltsyn A.A.) — д.биол.наук, зав. лаб. регуляции репаративных процессов ФГБУ НИИОПП РАМН; проф. каф. общей патологии и патофизиологии ГБОУ ДПО РМАПО