

МЕХАНИЗМИ НА НЕВРОРЕГЕНЕРАЦИЯ ОТ СТВОЛОВИ/ПРОГЕНИТОРНИ МОЗЪЧНИ КЛЕТКИ

М. Варадинова, Р. Методиева и Н. Бояджиева

Катедра по фармакология и токсикология,

Медицински факултет, Медицински университет – София

Резюме. Невронната регенерация от мозъчни стволони и от техни прогениторни клетки включва участието на различни ендогенни и екзогенни вещества и механизми. В обзора е описана ролята на растежните фактори, като FGF, VEGF, GDNF, BDNF, erythropoietin, G-CSF, както и на angiopoietin-1 (Angpo-1) и angiopoietin-2 (Angpo-2). Диференцирането на неврони в различни зони на мозъка включва и участие на цитокини като TNF- α , IL-6, IL-1, адхезионни молекули и ензими. Епигенетичните механизми се отразяват на патогенезата на мозъчните заболявания, неврорегенерацията и фармакотерапията. Ролята на histone acetyltransferase p300/CBP-associated factor в епигенетичното модулиране на неврорегенерация също е отразена в обзора. Новодиференцирани от нас хипоталамични бета-ендорфинови неврони от мозъчни стволони клетки са внедрени експериментално при мозъчни увреждания. Новостите в механизмите на неврорегенериране се прилагат при лечение на мозъчен инсулт, мозъчни и гръбначномозъчни травми и различни невронални заболявания.

Ключови думи: неврорегенерация, стволони мозъчни клетки, мозъчен инсулт, мозъчни травми, FGF, VEGF, GDNF, BDNF, еритропоедин

MECHANISMS OF NEUROREGENERATION FROM NEURONAL STEM/PROGENITOR BRAIN CELLS

M. Varadinova, R. Metodieva and N. Boyadjieva

Department of pharmacology and toxicology, Medical Faculty,

Medical University – Sofia

Summary. Neuronal regeneration from neuronal stem cells (NSCs) and their progenitor cells in brain is important in the treatment of various diseases. The roles of different growth factors as the FGF, VEGF, GDNF, BDNF,

erythropoietin, G-CSF, as well as an angiopoietin-1 (Angpo-1) and angiopoietin-2 (Angpo-2) in mechanisms of neuronal regeneration from stem cells in brain are illustrated in the present paper. In addition various cytokines as the TNF-alpha, IL-6, IL-1, or adhesion molecules are involved in differentiation of NSCs. Epigenetic mechanisms are discovered in pathogenesis and pharmacotherapy of brain diseases as well as in neuronal regeneration. New molecule, histone acetyltransferase p300/CBP-associated factor is involved in epigenetic mechanisms of differentiation of brain cells from stem cells. The data presented here suggest that various factors may have a role in the mechanisms of brain tissue recovering and in the neuronal function after trauma, ischemia, etc. by activation of neuronal development from NSCs.

Key words: neuronal regeneration, stem cells, stroke, brain trauma, FGF, VEGF, GDGF, BDNF, erythropoietin

Въведение

Неврорегенеративни процеси в мозъка се развиват в различни области и се определят от наличието на невронни стволови клетки (neural stem cells; NSCs) както при ембриони, така и при млекопитаещи (бозайници). Образуването на нови неврони е документирано в различни зони, като хипокампус, латерален вентрикулум, субвентрикуларна зона и други. От субвентрикуларната зона новите генерирани неврони достигат до тяхната крайна точка на нивото на олфакторното ядро. Процесът на мигриране на тези новообразувани неврони се нарича *rostral migratory stream* (RMS).

В субвентрикуларната зона се намират NSCs, които са прекурсори на астроцити. Възрастовите невронни стволови прогениторни клетки (SPCs) са обект на значими изследвания, свързани с развитието на клетъчно базирана регенеративна терапия за централната нервна система, включително за лечение на травми – увреждания на гръбначния стълб. При посочените увреждания се диагностицират морфологични и функционални нарушения както на възходящите, така и на низходящите аксони, които се придружават с клетъчна деструкция, възпаление и демиелинизация. Причините за уврежданията на гръбначния стълб и свързаните с него невронни пътища са различни. Анализът показва, че в световен мащаб процентът на хората, страдащи от травми на ниво гръбначен стълб, е значим и се увеличава при всяка възраст. Нарушенията в двигателната активност до пълна загуба на чувствителност и автономен контрол на функциите на органи и системи са част от сериозните проблеми в неврология и невротравматологията. Раждането на деца с посоче-

ните увреждания е проблем, свързан със значими както медицински, така и социални и финансови грижи. Отчитайки, че първичното увреждане включва клетъчни и тъканни механични промени, които водят до вторични, понякога значими увреждания, свързани с каскада на биохимични нарушения и прогресивна деструкция на гръбначномозъчната тъкан, в обзора са представени съвременни факти за ролята на растежни фактори, цитокини и на епигенетични механизми в неврорегенерацията. Известно е, че фармакотерапията на подобни увреждания включва използването на високи дози глюкокортикостероиди (често се съобщава за метилпреднизолон), приложението на различни противовъзпалителни нестероидни лекарства, аналгетици, имуностимулиращи лекарства и други. В терапията се включват и хирургични интервенции за стабилизиране на гръбначния стълб, а също и рехабилитационни грижи. Необходимостта от възстановяване на мозъчната тъкан след мозъчен инсулт, травми изисква познания за механизми и фактори, които регулират диференцирането на мозъчни клетки от стволови клетки.

В механизмите на диференциация на неврони в кората на мозъка се включват различни външни и вътрешни сигнални фактори, които са свързани с физиологично и патологично диференциране. Тези механизми се осъществяват както по време на развитие на фетуса, така и в мозъка на възрастния човек [38].

Пътища на приложение на стволови клетки в мозъка

Документирани са различни пътища на въвеждане на суспензия от стволови клетки в мозък и са изследвани механизмите на тяхното диференциране в неврони или глиални клетки. Чрез стереотаксична техника в различни области на мозъка са инжектирани стволови клетки [13, 32, 35] чрез интравентрикуларно инжектиране [15], интравенозни инфузии и др. Пътят на въвеждане има роля за степента на възстановяване (регенериране) на увредени неврони при исхемични лезии в мозъка.

Растежни фактори при стимулиране пролиферацията и диференциацията на ендогенните невронални прогениторни клетки/стволови клетки

Растежните фактори имат важна роля във физиологичните процеси на пролифериране на невронните стволови клетки както по време на ембрионалното развитие, така и в следембрио-

налното развитие, включително в мозъка на възрастния човек. Научните изследвания доказват ролята на следните растежни фактори:

Фибробластен растежен фактор (fibroblast growth factor; FGF-2). В изследвания [6, 7, 40] върху невронни стволови клетки и тяхното диференциране в бета-ендорфинови хипоталамични невронни клетки е документирано използването на FGF-2 за поддържане на стволовите клетки в *in vitro* система преди стартиране на тяхното диференциране. Ние считаме, че FGF-2 се отразява на диференцирането на хипоталамични неврони както по време на ембриогенеза, така и във възрастен мозък [6].

Групата FGF влияе на невронното регенериране, пролиферирането на невронните прогениторни клетки в някои области на мозъка, диференцирането на неврони [9]. Анализът на повечето протоколи от експериментални и експериментално-клинични изследвания показва, че FGF участват като стимулатори на невронните прогениторни клетки. Опитите върху животни също документират, че FGF са важни за регенериране на неврони от стволови клетки/невронни прогениторни клетки в различни части на мозък с увреждания (мозъчен инфаркт, травма, лезии). Механизмите на участие на лигандите на FGF са свързани с техните рецептори и с HSPGs. Комплексът между тях е важен компонент в сигналните трансдукционни каскади на диференциация на мозъчни клетки [8, 17, 18, 29, 39].

Фактори за ангиогенеза и ремоделиране на мозъчен инсулт. Документирано е, че различни фактори, като bFGF, VEGF (васкуларен епителен растежен фактор), angiopoietin-1 (Angpo-1) и angiopoietin-2 (Angpo-2) запазват трансплантирани неврони и стволови клетки в мозък. Мозъчните инсулти се дължат често на хипоксия – исхемия на мозъчна тъкан. Установено е, че FGF съхранява нервните клетки и участва в ремоделиране на нервната тъкан при експериментална исхемия и изследвания както *in vitro*, така и *in vivo*, върху експериментални животни с травматично увреждане на мозъка [30, 36]. Описани са и директните ефекти на VEGF върху невронните клетки на мозъка и тяхната протекция [17]. Водеща е ролята на този фактор при ангиогенезата. Доказано е, че въвеждането на VEGF интрацеребровентрикуларно редуцира зоната на мозъчен инфаркт, подобрява неврологичната симптоматика, увеличава запазването на новодиференцирани от стволови клетки неврони в dentate gyrus и

субвентрикуларната пролиферативна зона. Стимулиращо действие на VEGF върху ангиогенезата се отчита като водещ механизъм в посочените ефекти.

Глия-образуващ невротрофичен фактор (GDNF). Доказан е невропротективният ефект на GDNF при различни невронни увреждания при експерименти както *in vitro*, така и *in vivo* [1, 11, 27, 37]. Установено е, че въвеждането на екзогенен GDNF намалява размера на мозъчния инфаркт при плъхове с нарушено кръвоснабдяване от средната церебрална артерия, както и активиране на неврогенезата при други експериментални модели на мозъчен инфаркт [21, 22, 27]. Интересни са проучванията с локално приложение на GDNF върху увредена мозъчна тъкан, при които е документирано, че GDNF потиска отока и намалява броя на TUNEL-позитивни неврони [43, 44]. GDNF потиска механизми на апоптоза, включително и каспази (каспаза-1 и каспаза-3). Има данни, че третирането с GDNF увеличава броя на невронните стволови клетки в различни зони на мозъка [12].

Гранулоцит-колони-стимулиращ фактор (GCSF). GCSF е гликопротеин, който е част от групата на цитокините и има невропротективно действие. В клиничната практика се използва при трансплантация на костен мозък и за мобилизация на стволовите клетки при пациенти с различни кръвни заболявания. Доказан експериментално е невропротективният ефект на GCSF при мозъчни травми.

Еритропоетин (EPO). Еритропоетинът е създаден като растежен фактор за лечение на пациенти с кръвни заболявания – анемии. Клинични и експериментални проучвания показват, че EPO е с действие върху мозъчната тъкан, като потиска апоптозата на нервните клетки, намалява възпалението и подобрява ангиогенезата на мозъчната тъкан [41, 42]. След приложение на EPO е установено редуциране на TNF- α , IL-6 и други провъзпалителни цитокини в мозък на плъхове. EPO намалява активацията на микроглия в мозък на новородени плъхчета. Противовъзпалителното действие на EPO е един от механизмите, чрез които този растежен фактор редуцира невронната клетъчна смърт и подобрява функцията на засегнатата от травма мозъчна тъкан. Доказано е, че астроцитите и олигодендроцитите, ендотелните клетки, невроните и микроглията на мозъка могат да продуцират EPO [4, 5]. Действието на EPO е чрез собствени рецептори и е установено,

че ЕРО взаимодейства с други растежни фактори в мозъка, осъществявайки неврпротекция и антиапоптозен ефект [14, 15, 16].

Мозъчнообразуван невротрофичен фактор (brain-derived neurotrophic factor; BDNF). Ролята на BDNF в невrogenезата и регулацията на взаимодействието между неврони и глия се изучава през последните години. Ние за първи път доказахме и съобщихме, че BDNF потиска невроналната клетъчна смърт на развиващи се ембрионални хипоталамични бета-ендорфинови неврони [6]. По-късно доказахме важната роля на BDNF във взаимодействието между неврони и микроглия, чрез предпазване невроните от токсичните продукти на активирана микроглия. Взети заедно, нашите проучвания показват, че BDNF има важна роля на ниво хипоталамус за протекция на невроните, за функция на астроцитите и при развитието на нови неврони от стволови клетки. В други публикации е документирано също, че BDNF стимулира продукцията на нови неврони от спинални прогениторни клетки (SPCs), което е важен фактор за регенерацията на неврони при травма на гръбначния стълб.

Инсулиноподобен растежен фактор-1 (insulin-like growth factor; IGF). IGF-1 стимулира диференциацията на олигодендрцити, които са част от глията на мозъка в хипокампуса. Установени са мултипотентни SPCs (spinal core progenitor cells) в хипокампус. IGF-1 инхибира важен протеин, bone morphogenic protein (BMP), чрез активиране на негови антагонисти като Smad6, Smad7 и Noggin. През последните години вниманието се фокусира върху BMP антагонист noggin. Той участва в механизми на насочване на диференциация от астроцити към неврони на ниво стриатум.

Роля на интерлевкини за невrogenеза. Съществуват изследвания, които доказват ролята на два интерлевкина (interleukin-1 – IL-1, и interleukin-6 – IL-6) при невронно диференциране от SPCs. Тези интерлевкини активират невронното диференциране и намаляват инхибиращото действие на инсулиноподобен растежен фактор на свързващ протеин 6 (insulin-like growth factor binding protein 6; IGFBP6) и на протеогликана деколин.

PCAF-зависими епигенетични промени промотират регенерация на аксони в централната нервна система. Проучванията върху регенерация на нервни клетки доказват, че невроните на периферната нервна система могат да бъдат възстанове-

ни/регенерират. Съществува дискусия относно възможностите да бъдат регенерирани периферни неврони при гръбначномозъчни увреждания чрез въздействие върху ЦНС. Различни изследвания разкриват, че химични и генетични фактори могат да се включат във възстановяване на периферните нерви след увреждания. На базата на епигенетични проучвания се достигна до хипотезата, че увредените периферни нерви дават „ретроградни“ сигнали, активиращи епигенетична програма, която се включва и инициира растеж на нервни влакна. Малко са познанията и фактите за точния механизъм на връзката между ретроградния сигнал и епигенетичния механизъм, както и малко са осветлени епигенетичните процеси при активиране растежа на невроните.

Изследователи от Imperial College London и Hertie Institute, University of Tuebingen, сравняват отговорите на два вида неврони – периферни и централни, към увреждащи действия. Те използват дорзалния канален ганглион, който е връзката между двата вида неврони (изследванията са проведени както върху клетъчни култури, така и върху модели на експериментални мишки). Чрез последващи системни епигенетични модуляции се открива един протеин, който е много важен и определящ за каскада от химични и генетични промени в регенерацията на неврони. Посоченото е обобщено в публикацията на R. Puttagunta и сътр. (2014) [33]. Те наричат този протеин PCAF, който е histone acetyltransferase p300/CBP-associated factor. Установено е, че PCAF активира/улеснява ацетилирането на хистон-3-лизин-9 (histone 3 Lys 9) към промоторите. Посоченият факт дава основание да се мисли, че този протеин е ключ за регенериране при периферните нервни увреждания. Проучванията върху мишки с увреждания на ЦНС показват, че: след инжектиране на протеина PCAF се установява статистически значимо увеличаване броя на нервните фибри, които се възвръщат към мозъка. Посочените резултати са оптимистични във връзка с регенерация на неврони в ЦНС. Ретроградните сигнални механизми за PCAF-зависимата регенерация на генното репрограмизиране включват сигнален трансдукционен механизъм с участието на екстрацелуларна сигнално регулирана киназа (ERK). Установено е, че тази киназа е необходима като условие за стартиране на регенерация на аксони при травма на гръбначния стълб и мозъка. Посоченото е фундаментална новост за ролята на епигенетичните модуляции на нивото на хистоните в

експерименталните и клиничните изследвания за регенерация на неврони. Тези проучвания ще допринесат за лечение и спасяване на много хора, страдащи от гръбначно-мозъчни увреждания, мозъчен инсулт, мозъчна травма, включително увреждания на нервната система, свързани с парализи, парези, загуба на чувствителност и други. Във фундаментално направление тези проучвания дават нова светлина върху ролята на епигенетиката за медицината.

Епигенетични механизми за неврорегенерация от стволови клетки

Епигенетиката изучава промени, които засягат хистоните на хроматина и се унаследяват през поколения. Различни механизми на епигенетика са описани за промени в мозъчните неврони, като: метилиране, ацетилиране и фосфолириране на хистони и ДНК метилиране. Наши публикации документират епигенетични промени при различни заболявания на мозъка и употребата на различни психоактивни средства [7, 40]. Епигенетичните модуляции имат роля в невродиференцирането от стволови клетки. Тези епигенетични промени са в основата на различни мозъчни заболявания, като аутизъм, шизофрения, болест на Паркинсон и др. Съвременен направление е изследването на вещества – инхибитори върху епигенетичните модулиращи ензими (например блокери на ензимите хистон-ацетилази), за лечение на мозъчни увреждания. Съвременните научни проучвания и техните резултати очертават бъдещето в епигенетичното направление на неврорегенериране от стволови клетки в мозък.

Заклучение

Взети заедно, всички посочени публикувани факти документират, че различни молекули, като растежни фактори, цитокини, ензими, със или без епигенетични промени участват в неврорегенерацията и невропротекцията. В клиничната практика е внедрена част от достигнатия експериментален прогрес за лечение със стволови клетки (развитието на допаминергични неврони и тяхното трансплантиране при пациенти със заболяване на Паркинсон [19]). Ролята на трансформиращия растежен фактор-бета е установена при протекция на допаминергичните неврони спрямо ток-

сичност на вещество MPP. Различни други растежни фактори също участват в диференцирането на допаминергични неврони от стволови клетки и тяхното трансплантиране при мозъчни нарушения [23, 25, 26]. Новост в знанията върху стволовите клетки е тяхната способност да се диференцират в кортикални неврони чрез регулиране на FGF рецептори с FGF [31]. Има прогрес и при лечението на мозъчен инсулт, включително и чрез инжектиране локално и чрез фармакологични средства за неврорегенерация. Различни адхезионни молекули също участват в диференциране на неврони [20]. Способността на стволовите клетки да се диференцират в бета-ендорфинови хипоталамични неврони за първи път е публикувана от нашия колектив [6, 7, 40], вкл. и с ролята на цАМФ в този процес. Трансплантиране на диференцирани от стволови клетки бета-ендорфинови невронни клетки в хипоталамус на плъхове предизвиква активиране на имунни механизми, подобрене на поведението при алкохолни увреждания и оказва протекция за развитие/метастазиране на различни тумори. Изучаването на механизмите, чрез които мозъчни стволови клетки и техните прогениторни клетки могат да предизвикат невронна регенерация, е с бъдеще за лечението на различни мозъчни и други заболявания.

Библиография

1. Beck, K. D. et al. Mesencephalic dopaminergic neurons protected by GDNF from axotomy-induced degeneration in the adult brain. – *Nature*, **373**, 1995, 339-341.
2. Begley, C. G., et al. Purified colony-stimulating factors enhance the survival of human neutrophils and eosinophils in vitro: a rapid and sensitive microassay for colony-stimulating factors. – *Blood*, **68**, 1986, 162-166.
3. Bel-Vialar, S., N. Itasaki et R. Krumlauf. Initiating Hox gene expression: in the early chick neural tube differential sensitivity to FGF and RA signaling subdivides the HoxB genes in two distinct groups. – *Development*, **129**, 2002, 5103-5115.
4. Bernaudin, M. et al. Neurons and astrocytes express EPO mRNA: oxygen-sensing mechanisms that involve the redox-state of the brain. – *Glia*, **30**, 2000, 271-278.
5. Bernaudin, M. et al. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. – *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **19**, 1999, 643-651.
6. Boyadjieva, N. et D. Sarkar. Cyclic adenosine monophosphate and brain-derived neurotropic factors decreased oxidative stress and apoptosis in

- developing hypothalamic neuronal cells: role of microglia. – *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **37**, 2013, № 8, 1370-1379.
7. Boyadjieva, N. et M. Varadinova. Epigenetics of psychoactive drugs. – *J. Pharm. Pharmacol.*, **64**, 2012, № 10, 1349-1358.
 8. Ciccolini, F. et C. N. Svendsen. Fibroblast growth factor 2 (FGF-2) promotes acquisition of epidermal growth factor (EGF) responsiveness in mouse striatal precursor cells: identification of neural precursors responding to both EGF and FGF-2. – *J. Neurosci.*, **18**, 1998, 7869-7880.
 9. Guillemot, F. et C. Zimmer. From cradle to grave: the multiple roles of fibroblast growth factors in neural development. – *Neuron*, **71**, 2011, № 4, 574-588.
 10. Hamann, G. F. et al. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. – *Stroke*, **26**, 1995, 2120-2126.
 11. Henderson, C. E. et al. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. – *Science*, **266**, 1994, 1062-1064.
 12. Hermann, D. M. et al. Adenovirus-mediated GDNF and CNTF pretreatment protects against striatal injury following transient middle cerebral artery occlusion in mice. – *Neurobiol. Dis.*, **8**, 2001, 655-666.
 13. Hoehn, M. et al. Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: a highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 2002, 16267-16272.
 14. Iwai, M. et al. Erythropoietin promotes neuronal replacement through revascularization and neurogenesis after neonatal hypoxia/ischemia in rats. – *Stroke*, **38**, 2007, 2795-2803.
 15. Kawakami, M. et al. Erythropoietin inhibits calcium-induced neurotransmitter release from clonal neuronal cells. – *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **279**, 2000, 293-297.
 16. Kawakami, M. et al. Erythropoietin receptor-mediated inhibition of exocytotic glutamate release confers neuroprotection during chemical ischemia. – *J. Biol. Chem.*, **276**, 2001, 39469-39475.
 17. Kawamata, T. et al. Intracisternal basic fibroblast growth factor (bFGF) enhances behavioral recovery following focal cerebral infarction in the rat. – *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **16**, 1996, 542-547.
 18. Kessar, N. et al. Cooperation between sonic hedgehog and fibroblast growth factor/MAPK signalling pathways in neocortical precursors. – *Development*, **131**, 2004, 1289-1298.
 19. Kim, J. H. et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. – *Nature*, **418**, 2002, 50-56.
 20. Kiss, J. Z. et al. Activity-dependent mobilization of the adhesion molecule polysialic NCAM to the cell surface of neurons and endocrine cells. – *EMBO J.*, **13**, 1994, 5284-5292.
 21. Kitagawa, H. et al. Reduction of ischemic brain injury by topical application of glial cell line-derived neurotrophic factor after permanent middle cerebral artery occlusion in rats. – *Stroke*, **29**, 1998, 1417-1422.

22. Kobayashi, T. et al. Intracerebral infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor promotes striatal neurogenesis after stroke in adult rats. – *Stroke*, **37**, 2006, 2361-2367.
23. Kriegstein, K. et al. Trophic and protective effects of growth/differentiation factor 5, a member of the transforming growth factor-beta superfamily, on midbrain dopaminergic neurons. – *J. Neurosci. Res.*, **42**, 1995, 724-732.
24. Kriegstein, K. et al. TGF-beta superfamily members promote survival of midbrain dopaminergic neurons and protect them against MPP+ toxicity. – *EMBO J.*, **14**, 1995, 736-742.
25. Lee, S. H. et al. Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells. – *Nat. Biotechnology*, **18**, 2000, 675-679.
26. Lee, S. M. et al. Evidence that FGF8 signalling from the midbrain-hindbrain junction regulates growth and polarity in the developing midbrain. – *Development*, **124**, 1997, 959-969.
27. Li, L. et al. Rescue of adult mouse motoneurons from injury-induced cell death by glial cell line-derived neurotrophic factor. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 1995, 9771-9775.
28. Liu, A., K. Losos et A. L. Joyner. FGF8 can activate Gbx2 and transform regions of the rostral mouse brain into a hindbrain fate. – *Development*, **126**, 1999, 4827-4838.
29. Liu, J. P., E. Laufer et T. M. Jessell. Assigning the positional identity of spinal motor neurons: rostrocaudal patterning of Hox-c expression by FGFs, Gdf11, and retinoids. – *Neuron*, **32**, 2001, 997-1012.
30. Maiese, K., et al. Peptide growth factors protect against ischemia in culture by preventing nitric oxide toxicity. – *J. Neurosci.*, **13**, 1993, 3034-3040.
31. Maric, D. et al. Self-renewing and differentiating properties of cortical neural stem cells are selectively regulated by basic fibroblast growth factor (FGF) signaling via specific FGF receptors. – *J. Neurosci.*, **27**, 2007, 1836-1852.
32. Modo, M. et al. Mapping transplanted stem cell migration after a stroke: a serial, in vivo magnetic resonance imaging study. – *Neuroimage*, **21**, 2004, 311-317.
33. Puttagunta, R. et al. PCAF-dependent epigenetic changes promote axonal regeneration in the central nervous system. – *Nat. Commun.*, **5**, 2014, 3527.
34. Raballo, R. et al. Basic fibroblast growth factor (Fgf2) is necessary for cell proliferation and neurogenesis in the developing cerebral cortex. – *J. Neurosci.*, **20**, 2000, 5012-5023.
35. Sola, A. et al. Erythropoietin after focal cerebral ischemia activates the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription signaling pathway and improves brain injury in postnatal day 7 rats. – *Pediatr. Res.*, **57**, 2005, 481-487.
36. Tanaka, R. et al. Basic fibroblast growth factor increases regional cerebral blood flow and reduces infarct size after experimental ischemia in a rat model. – *Stroke*, **26**, 1995, 2154-2158.
37. Tomac, A. et al. Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF in vivo. – *Nature*, **373**, 1995, 335-339.
38. Tomassy, G. S. et al. Development and regeneration of projection neuron subtypes of the cerebral cortex. – *Sci. Prog.*, **93**, 2010, 151-169.

39. U n e m o r i , E. N., K.S. Bouhana et Z. Werb. Vectorial secretion of extracellular matrix proteins, matrix-degrading proteinases, and tissue inhibitor of metalloproteinases by endothelial cells. – J. Biol. Chem., **265**, 1990, 445-451.
40. V a r a d i n o v a , M. et N. Boyadjieva. Epigenetics of brain diseases and neuropharmacology. Sofia, 2014, in print.
41. W a n g , L. et al. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. – Stroke, 35, 2004, 1732-1737.
42. Z h a n g , F. et al. Erythropoietin protects CA1 neurons against global cerebral ischemia in rat: potential signaling mechanisms. – J. Neurosci. Res., **83**, 2006, 1241-1251.
43. Z h a n g , W. R. et al. Therapeutic time window of adenovirus-mediated GDNF gene transfer after transient middle cerebral artery occlusion in rat. – Brain Res., **947**, 2002, 140-145.
44. Z h a n g , W. R. et al. Time dependent amelioration against ischemic brain damage by glial cell line-derived neurotrophic factor after transient middle cerebral artery occlusion in rat. – Brain Res., **903**, 2001, 253-256.

✉ **Адрес за кореспонденция:**

Росица Данаилова Методиева
Катедра по фармакология и токсикология
Медицински факултет
Медицински университет
ул. „Здраве” № 2
1431 София

☎ 02/9520539; 0884 750 591
e-mail: rositsa123@abv.bg