

УДК 612.818.014.3:612.017.1
doi:10.22494/cot.v5i2.76

Вплив екзогенного лейкемія-інгібіторного фактору на репаративну регенерацію периферичного нерва у мишей



Лабунець І. Ф.¹, Демидчук А. С.², Шамало С. М.², Утко Н. О.¹, Родніченко А. Є.¹, Римар С. Ю.¹, Чайковський Ю. Б.^{1,2}, Бутенко Г. М.¹

¹ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

²Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця Міністерства охорони здоров'я України, Київ, Україна

e-mail: irina_labunets@ukr.net

РЕЗЮМЕ

Відома роль трофічних та ростових факторів для регенерації ушкодженого периферичного нерва. Лейкемія-інгібіторний фактор (LIF) виявляє властивості не тільки поліфункціонального цитокіну, але і нейротрофічного фактору. Регенерація периферичного нерва порушується під час розвитку оксидативного стресу в ділянці травми.

МЕТОЮ роботи було дослідити в експерименті вплив рекомбінантного LIF людини (rhLIF) на ефективність репаративної регенерації сідничного нерва.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Дорослих мишей лінії FVB/N розділили на групи: псевдооперовані; травма (перерізання) правого сідничного нерва; травма нерва та ін'єкції rhLIF з третьої доби після ушкодження нерва щоденно підшкірно в дозі 1 мкг/тварину. Дослідження проводили через 4 тижні після травми. При морфометрії оцінювали щільність нервових волокон у дистальних відрізках нерва після імпрегнації азотнокислим сріблом. Рухову функцію оцінювали в тесті «відкрите поле» по кількості пересічених квадратів, по відстані між крайніми пальцями правої стопи. У ділянці травми м'язової тканини оцінювали вміст малонового діальдегіду, активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази.

РЕЗУЛЬТАТИ. Загальна кількість нервових волокон у дистальному відрізку нерва мишей з травмою та введенням rhLIF більша ($p < 0,05$), ніж у мишей тільки з травмою нерва та не відрізняється від псевдооперованих тварин. Горизонтальна рухова активність у мишей з травмою нерва нижча ($p < 0,05$), ніж у групах мишей псевдооперованих та з введенням цитокіна. Відстань між крайніми пальцями стопи у мишей псевдооперованих більша ($p < 0,05$), ніж у мишей з травмою нерва, а також травмою та ін'єкціями rhLIF, проте після введення цитокіна показники більші ($p < 0,05$), ніж у групі мишей без нього. Після травми у м'язовій тканині зростає вміст малонового діальдегіду та активність каталази, а активність глутатіонредуктази знижується ($p < 0,05$). Під впливом rhLIF показники змінюються до значень псевдооперованих мишей, крім того, суттєво зростає активність глутатіонпероксидази.

ВИСНОВКИ. Введення rhLIF мишам із травмою сідничного нерва сприяє більш повноцінному відновленню структурної організації ушкодженого нерва та покращує рухову функцію травмованої кінцівки. При цьому в м'язовій тканині у ділянці травми нерва поліпшується баланс між факторами оксидативного стресу і антиоксидантного захисту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лейкемія-інгібіторний фактор; сідничний нерв; регенерація нервової тканини; антиоксидантні ферменти; рухова функція

Актуальність проблеми ушкодження периферичних нервів обумовлена розповсюдженістю цієї патології, недостатньою ефективністю традиційних методів лікування та високою інвалідизацією пацієнтів [1, 2]. Нові підходи, які спрямовані на підвищення ефективності регенерації ушкоджених периферичних нервів, включають викорис-

тання мікрохірургічних методик, фармакологічних препаратів, електростимуляції, клітинних технологій із трансплантацією стовбурових клітин різного генезу у ділянку травми [2-5]. В останній час велика увага надається розробці патогенетичних підходів до прискорення регенерації травмованого периферичного нерва на основі вивчення її

механізмів, зокрема дослідження значення факторів мікрооточення для процесів мієлінізації та росту аксонів нейронів [6].

Відома участь різних цитокінів, трофічних і ростових факторів, які синтезуються різними типами клітин (макрофаги, фібробласти, шванівські клітини), як у процесах дегенерації, так і регенерації ушкоджених периферичних нервів [3, 7, 8, 9]. Так, у репаративній регенерації периферичних нервів показана ефективність мозкового нейротрофічного фактору (BDNF), фактору стромальних клітин (SDF-1), фактору росту нервів (NGF) тощо, які вводять у ділянку травми *per se*, за допомогою плазмідних конструкцій, стовбурових клітин різного генезу, що їх синтезують [2, 3, 10].

Серед розмаїття клітинних факторів із стимулюючим впливом на репаративну регенерацію периферичних нервів нашу увагу привернув лейкоїя-інгібіторний фактор (LIF) із родини інтерлейкінів-6 (IL-6), який виявляє властивості не тільки поліфункціонального цитокіну, але й нейротрофічного фактору [11, 12]. Зокрема, встановлено, що LIF попереджує демієлінізацію, є ростовим фактором для нейральних стовбурових клітин (НСК), шванівських клітин і аксонів, зменшує їх апоптоз, підвищує тривалість життя мотонейронів. Доведено підсилення експресії LIF в шванівських клітинах уже в перші години після ушкодження, тому цей цитокін є фактором нейротравми [13]. Разом з тим, ефект цитокіну на відновлення функціонального стану кінцівки після ушкодження периферичного нерва залишається недостатньо вивченим. Також є важливими дослідження можливості змін під впливом LIF активності компонентів антиоксидантного захисту в тканинах травмованої кінцівки, оскільки регенерація ушкодженого периферичного нерва порушується в умовах після травматичного оксидативного стресу [14, 15].

Тому робота була спрямована на дослідження впливу введення рекомбінантного LIF людини (rhLIF) на ефективність відновлення структури ушкодженого сідничого нерва та рухової функції травмованої кінцівки, а також на оцінку в її м'язовій тканині зміни активності факторів оксидативного стресу і антиоксидантного захисту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Тварини. Дослідження проводили на мишах-самцях лінії FVB/N віком 6-8 міс. ($n = 24$). Тварин отримували із віварію ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН». Мишей утримували в стандартних умовах віварію (вільний доступ до води та їжі) при фіксованому світловому режимі (12:12). Біологічний матеріал для дослідів брали у тварин у ранковій годині доби під ефірним наркозом. Усі роботи виконували з дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006), «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986 р).

Експериментальні групи тварин. Мишей розділили на наступні групи: 1- псевдооперований контроль (мобілізація правого сідничого нерва без його хірургічного перетину); 2 – травма сідничого нерва (перерізання правого нерва в ділянці середньої його третини) та ін'єкції 0,9 % розчину хлориду натрію [1]; 3 – травма правого сідничого нерва та ін'єкції rhLIF з третьої доби після ушкодження нерва, щоденно, підшкірно в ділянку травми, в дозі 1 мкг/тварину [16]. Показано, що rhLIF виявляє свою біологічну активність по відношенню не тільки до клітин людини, але й клітин мишей і після введення останнім взаємодіє з рецепторами до цього цитокіну на клітинах нервової системи [17]. В кожній експериментальній групі було по 8 тварин. Дослідження проводили через 28 діб після операції. Всі оперативні втручання виконували під авертиновим наркозом (2,5 % розчин, 125 мг/кг, внутрішньоочеревинно).

Морфологічне дослідження сідничого нерва. Фрагменти правого сідничого нерва, які містили регенераційні неврони з прилеглими проксимальним і дистальним відрізками, фіксували впродовж доби у 10 %-му розчині нейтрального формаліну. Після промивання ви-

готовляли криостатні зрізи, які імпрегнували нітратом срібла за швидким методом імпрегнації елементів периферичної нервової системи [18]. Частину зрізів дофарбовували азур II-еозином з метою вивчення структури сполучної тканини.

Гістологічні препарати вивчали і фотографували, застосовуючи мікроскоп BX 51 (*Olympus*, Японія), з'єднаний з цифровою фотокамерою C 3040 ZOOM та комп'ютером. Для морфометричного аналізу використовували стандартну окулярну вставку і програму «UTHSCSA Image Tool for Windows» (Version 2.00). Вимірювали кількість нервових волокон на 1 мм² поперечного перерізу нерва.

Рухову функцію травмованої кінцівки оцінювали в тесті «відкритого поля» по кількості пересічених квадратів (горизонтальна рухова активність), а також у тесті «відбитків підошовних поверхонь стопи» по відстані (мм) між крайніми пальцями стопи травмованої кінцівки [19]. Як нами встановлено, спільне використання цих методик для оцінки рухової функції задніх кінцівок експериментальних мишей дозволяє вірогідно оцінити ефективність відновлення рухової функції після травми сідничого нерва.

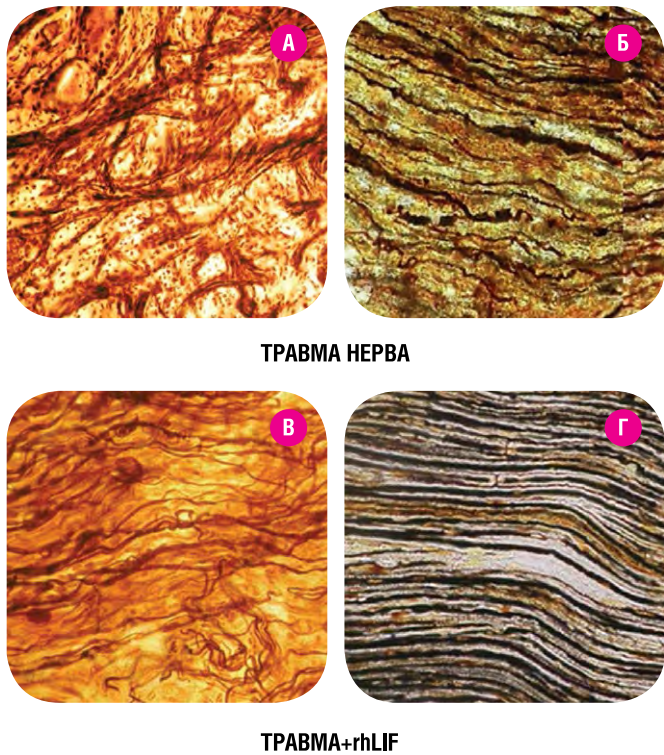
Активність факторів оксидативного стресу та антиоксидантного захисту в м'язовій тканині у ділянці травми. Як фактор оксидативного стресу, в гомогенатах м'язової тканини визначали вміст малонового діальдегіду (malondialdehyde – MDA) за методом Uchiyama [20], з незначними модифікаціями. Принцип методу полягає у визначенні інтенсивності забарвлення, що утворюється у ході реакції між MDA і тіобарбітуратною кислотою (ТБК), яка відбувається у кислому середовищі при високій температурі. В результаті реакції утворюється триметиновий комплекс, що містить одну молекулу MDA і дві молекули ТБК і має характерний спектр поглинання з максимумом при довжині хвилі 535 нм.

Активність антиоксидантних ферментів оцінювали у супернатантах гомогенатів м'язової тканини експериментальних груп тварин (10 000 г протягом 20 хв.) на спектрофотометрі μ Quant™ (*Bio-Tek*, США) [21]. Так, для дослідження активності супероксиддисмутази (СОД) використовували метод, заснований на здатності ферменту пригнічувати реакцію аутоокиснення адреналіну (*Fluka*, Німеччина) в адренохром при рН 10,2; активність СОД виражали в умовних одиницях із розрахунку на 1 мг білка за 1 хв. Активність каталази визначали з кінетики руйнування H₂O₂ (*Riedel-deHaën*, Німеччина) і виражали в мікромолях утилізованого H₂O₂ на 1 мг білка за 1 хв. Активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази вимірювали за зменшенням NADPH у глутатіонредуктазній реакції з додаванням у реактивну суміш відповідних реагентів (*Sigma*, США) і виражали в наномолях окисненого NADPH на 1 мг білка за 1 хв. Вміст білка у м'язовій тканині вимірювали за методом Лоурі.

Статистична обробка даних. Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою методів параметричної статистики (t-критерій Стьюдента) [22]. Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною при значенні $p < 0,05$. Для статистичного аналізу використовували програму Statistica 7.0 (*StatSoft Inc.*, США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

МОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРИ УШКОДЖЕНОГО СІДНИЧОГО НЕРВА У ТВАРИН ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП. Результати дослідження структури регенераційної невроми і дистального відрізка сідничого нерва експериментальних груп тварин наведено на **рис. 1, А-Г**. Встановлено, що у тварин після перетину нерва в ділянці травми формується регенераційна неврома, яка включає в себе нервові волокна, кровоносні судини, клітинні елементи (переважно фібробласти), колагенові волокна і основну речовину сполучної тканини. У тварин з травмою нерва без застосування препарату LIF відбувається формування щільного сполучнотканинного рубця, в якому переважають колагенові волокна, зустрічаються малосудинні зони. Нервові волокна розташовуються невпорядковано: частина має поздовжній,



ТРАВМА НЕРВА

ТРАВМА+rhLIF

Рис. 1. Мікрофотографії гістологічних препаратів сідничого нерва у мишей лінії FVB/N. Вплив введення rhLIF на структуру ушкодженого нерва. А, В – регенераційна неврома; Б, Г – дистальний відрізок нерва. Імпрегнація азотнокислим сріблом x400.

частина – косий або поперечний (відносно поздовжньої осі нерва) хід (рис. 1, А). Після введення rhLIF тваринам із травмою нерва спостерігається інша структурна організація невроми: її сполучна тканина має менш щільний вигляд завдяки переважанню клітинних елементів і відсутності малосудинних зон. Нервові волокна розташовуються більш упорядковано, переважно прямолінійно (рис. 1, В).

Після травми нерва без застосування препарату порушується вrostання нервових волокон у дистальний відрізок нерва (рис. 1, Б): визначається невелика кількість новосформованих нервових волокон. Вони, як і в ділянці невроми, розташовані неупорядковано, характеризуються явищами гіпер- або гіпоімпрегнації. Введення rhLIF суттєво впливає на регенерацію нервових волокон у дистальному відрізку травмованого нерва: новосформовані нервові волокна мають прямолінійний хід, характеризуються рівномірною імпрегнацією, їхня кількість набагато більша, ніж у тварин без застосування препарату (рис. 1, Г).

При морфометричному аналізі встановлено, що щільність нервових волокон у дистальному відрізку сідничого нерва мишей з травмою нерва, що отримували rhLIF, більша ($p < 0,05$), ніж у мишей тільки з травмою нерва, і при цьому практично не відрізняється від показника у псевдооперованих тварин (рис. 2).

РУХОВА ФУНКЦІЯ ЗАДНІХ КІНЦІВОК У ТВАРИН ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ГРУП. Встановлено, що у мишей із травмою нерва кількість перетнутих квадратів в тесті «відкритого поля» суттєво менша, ніж у групах псевдооперованих мишей і тварин із травмою нерва, яким вводили rhLIF (рис. 3, А). При дослідженні «відбитків підшовних поверхонь стопи» виявлено, що відстань між крайніми пальцями стопи травмованої кінцівки у мишей контрольної групи більша, ніж у мишей з травмою нерва, травмою і одночасним введенням цитокіну (рис. 3, Б). Разом з тим, у піддослідних мишей, які отримували rhLIF, значення показника більші ($p < 0,05$), ніж у мишей лише з травмою нерва.

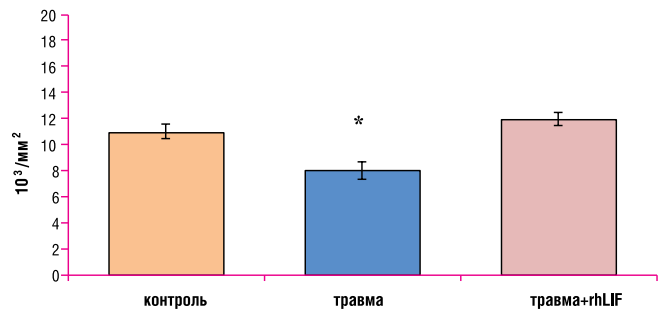


Рис. 2. Кількість нервових волокон на 1 мм² поперечного перерізу дистального відрізка сідничого нерва мишей під впливом rhLIF. Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з псевдооперованими тваринами.

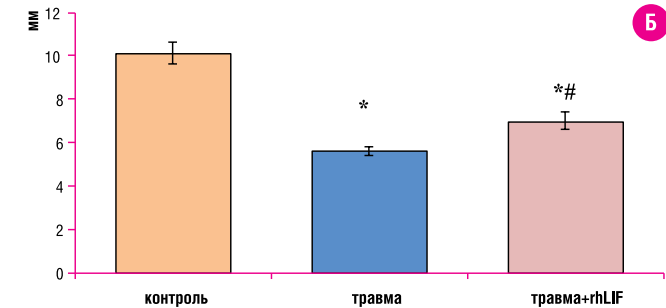
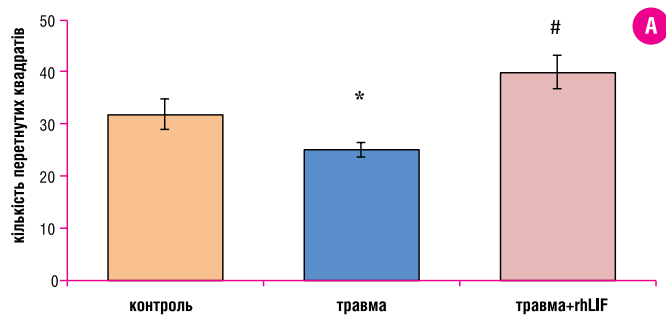


Рис. 3. Показники рухової функції після введення rhLIF мишам із травмою сідничого нерва: А – горизонтальна рухова активність в тесті «відкритого поля»; В – відстань між крайніми пальцями стопи в тесті «відбитків стопи». Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з псевдооперованими тваринами; # – $p < 0,05$ порівняно з травмою нерва.

АКТИВНІСТЬ ФАКТОРІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В М'ЯЗОВІЙ ТКАНИНІ У ДІЛЯНЦІ ТРАВМИ. Нами встановлено суттєве зростання вмісту MDA в м'язовій тканині в ділянці травми порівняно з контрольною групою (табл. 1). У м'язовій тканині тварин із травмою сідничого нерва спостерігається значне зростання активності каталази, тоді як активність глутатіонредуктази знижується. Після введення rhLIF експериментальним тваринам відбувається суттєве падіння вмісту MDA до рівня псевдооперованих тварин і значне зростання активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази.

Таким чином, введення rhLIF дорослим мишам із травмою сідничого нерва сприяє більш повноцінному відновленню структурної організації ушкодженого нерва та покращує рухову функцію травмованої кінцівки. При цьому в м'язовій тканині у ділянці травми поліпшується баланс між факторами оксидативного стресу і антиоксидантного захисту.

Таблиця 1. Показники оксидативного стресу і антиоксидантного захисту у м'язовій тканині правої кінцівки тварин експериментальних груп ($M \pm m$).

ПОКАЗНИК	ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ГРУПА		
	ПСЕВДОоперація (КОНТРОЛЬ)	ТРАВМА НЕРВА	ТРАВМА НЕРВА-ВВЕДЕННЯ rhLIF
Малоновий диальдегід (нмоль/мг)	4,6 ± 0,3	9,4 ± 0,5*	5,1 ± 0,3#
Супероксиддисмутаза (од/мг•хв)	7,4 ± 0,5	6,7 ± 0,4	6,4 ± 0,6
Каталаза (мкмоль/мг•хв)	1,4 ± 0,3	2,1 ± 0,4*	2,0 ± 0,5*
Глутатіонпероксидаза (нмоль/мг•хв)	2,5 ± 0,2	2,9 ± 0,3	3,5 ± 0,3*
Глутатіонредуктаза (нмоль/мг•хв)	8,1 ± 0,4	6,8 ± 0,3*	9,6 ± 0,5#

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з псевдооперованими тваринами; # – $p < 0,05$ порівняно з травмою нерва.

Можливість нейропротекторного ефекту LIF при ушкодженні нервової системи автори досліджували переважно при тривалому внутрішньоочеревинному введенні [12, 23]. За нашими попередніми даними, такий спосіб ін'єкції rhLIF мишам призводить до зростання числа нервових волокон у дистальному відрізьку травмованого нерва. Разом з тим, в даній роботі ми використовували тривале підшкірне введення rhLIF у ділянку травми сідничого нерва [16]. Такий підхід може сприяти підтримці достатньо стабільного вмісту цитокіну у ділянці ушкодження, що, за даними Ostasov [11], важливо для розвитку в ній регенеративних процесів. Дійсно, ми спостерігали не тільки зростання числа нервових волокон у дистальному відрізьку травмованого сідничого нерва, але й покращення структури регенераційної неврони. У мишей з травмою нерва, які отримували rhLIF, позитивні зміни структури ушкодженого нерва можуть пояснюватись впливом цитокіну на аксони нейронів, експресію NGF, антиапоптозним ефектом на нервові клітини [11, 12]. Ми не виключаємо, що у цих мишей відбуваються також позитивні зміни у функціонуванні мотонейронів спинного мозку.

Як зазначає Петрова [3], ефективність регенерації сідничого нерва після ушкодження в значній мірі залежить від стану мотонейронів спинного мозку. На моделі травми спинного мозку показано, що в цьому органі LIF посилює проліферацію НСК та сприяє їх переважному диференціюванню у нейрональному напрямку, покращує виживання утворених та функціонуючих мотонейронів, стимулює ріст нейритів [11, 24, 25]. Встановлено, що в мотонейронах спинного мозку є рецептор LIFR, а нокаутні миші (LIFR^{-/-}) виявляють 40 % редукцію мотонейронів [11]. Доведена можливість ретроградного транспорту LIF, подібно NGF, із нервових терміналей до тіл сенсорних нейронів у спинномозкових гангліях як фактора виживання [12]. Після травми периферичного нерва LIF ретроградно транспортується і в моторні нейрони, де він слугує фактором виживання та зменшує втрату нейронів після перерізання нерва [26]. Дефіцит LIF призводить до зміни не тільки у нервових терміналях у поперечно-посмугованій мускулатурі, але й у нервово-м'язових закінченнях, які важливі для ретроградного транспорту інших факторів виживання мотонейронів, зокрема циліарного нейротрофічного фактору (CNTF) [27]. В подальшій нашій роботі ми плануємо провести дослідження структури мотонейронів спинного мозку у тварин із травмою сідничого нерва, що отримували rhLIF.

Встановлено позитивний вплив LIF не тільки на функціонування нейронів, але й гліальних клітин, зокрема мієлінсинтезуючих. Так, після введення цитокіну спостерігається посилення проліферації цих клітин і синтез ними мієліну, ремієлінізація аксонів нейронів після ушкодження [23, 28]. В наших дослідженнях поліпшення рухової функції травмованої кінцівки у експериментальних мишей опосередковано свідчить про стимуляцію утворення мієлінових нервових волокон після введення rhLIF.

Разом з тим, на думку Ostasov [11], важливість LIF при патології нервової системи та розвитку в ній регенеративних процесів, пов'язана не тільки з впливом цитокіну на розвиток і функції нейро-

нів в моторній системі, але й визначається його властивостями як інтегративної молекули між нервовою та імунною системами. Зокрема, LIF виявляє функцію хемокіна для макрофагів, сприяючи їх міграції у ділянку травми периферичного нерва [29]. Навпаки, у LIF-knock-out мишей інфільтрація макрофагами ушкодженого периферичного нерва суттєво пригнічується. Функція хемокіна є специфічною для LIF, оскільки макрофаги не реагують на інші нейропоетичні цитокіни, такі як CNTF, IL-6, IL-11, онкостатин М. Важливість функції хемокіна для LIF пов'язана з тим, що макрофаги є ключовими клітинами в ушкодженому нерві, які фагоцитують продукти розпаду мієліну [15, 30]. Ці клітини проходять через гемато-невральний бар'єр впродовж перших 2-3-х днів після ушкодження нерва, інфільтрують його і синтезують прозапальні цитокіни (IL-1 β , TNF α) [9]. Показано, що макрофаги відіграють критичну роль і у регенераційних процесах в ушкоджених периферичних нервах, впливаючи на проліферацію нейролемоцитів і розчинення ліпідів мієліну для їх реутилізації під час регенерації. Існує можливість змін фенотипу макрофагів з прозапального на антизапальний в динаміці дегенерації і наступної регенерації периферичного нерва [8]. Беручи до уваги протизапальні властивості LIF [12], ми не виключаємо можливості перемикання прозапального фенотипу макрофагів на протизапальний під впливом rhLIF і в нашому дослідженні.

За нашими даними, у механізмі стимулюючого впливу rhLIF на регенерацію ушкодженого сідничого нерва можуть також мати значення його антиоксидантні властивості. Відомо, що оксидативний стрес – результат прискореного утворення вільних радикалів, активних форм кисню, а також змін активності ключових ферментів антиоксидантного захисту – СОД, каталази, глутатіонпероксидази [21]. Показано, що при розвитку оксидативного стресу LIF, з одного боку, знижує рівень активних форм кисню, MDA, з іншого – підвищує активність СОД [31]. У нашій роботі ми досліджували вміст факторів оксидативного стресу і антиоксидантного захисту в м'язовій тканині, в якій можливе порушення не тільки трофічної функції травмованого нерва, але й нервово-м'язових контактів. Ми виявили пригнічуючий ефект rhLIF на підвищений вміст MDA у м'язовій тканині. Відсутність активації СОД в досліджуваній тканині тварин, що отримували цитокіни, можна частково пояснити строками дослідження, оскільки активація цього ферменту є першою ланкою антиоксидантного захисту, яка відбувається, як правило, в ранні строки після ушкодження. Проте нам вдалось встановити під впливом rhLIF активацію глутатіонпероксидази, яка після дії СОД контролює перетворення H₂O₂ до H₂O разом із каталазою. Є також важливим після введення даного цитокіну відновлення активності глутатіонредуктази, яка відповідає за відновлення окисненого глутатіону в реакції, що каталізує глутатіонпероксидаза. Результатом подібних біохімічних змін під впливом rhLIF може бути покращення обмінних процесів у денервованій м'язовій тканині.

ВИСНОВКИ

1. **Екзогенний rhLIF стимулює репаративну регенерацію ушкодженого сідничого нерва і поліпшує рухову активність травмованої кінцівки у мишей.**
2. **У механізмі позитивних морфо-функціональних змін ушкодженого сідничого нерва має значення вплив цитокіну на фактори оксидативного стресу і антиоксидантного захисту.**
3. **Результати можуть бути корисними в клітинних технологіях, які використовують LIF як фактор мікрооточення, а також у пошуку фармацевтичних препаратів, які підвищують синтез цього цитокіну у ділянці травми.**

СПИСОК ЦИТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Чайковський Ю. Б. Міжклеточні взаємодії периферійного нерва в нормі та патології / Ю. Б. Чайковський, О. І. Дельцова, С. Б. Геращенко // Івано-Франківськ: Лілея-НВ, 2009. – 408 с.
2. Бутенко Г. М. Стволові клітини і проблема відновлення периферичних нервів / Г. М. Бутенко, Ю. Б. Чайковський // Мистецтво лікування – 2013. – Т. 101, № 5. – С. 56-58.
3. Петрова Е. С. Применение стволовых клеток для стимуляции регенерации поврежденного нерва / Е. С. Петрова // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 7. – С. 525-540.
4. Морфологічні зміни периферичних нервів після нейрорафії та електростимуляції / Ю. В. Цимбалюк, Т. А. Малишева, С. О. Руденко, та ін. // Морфологія. – 2013. – Т. 7, № 4. – С. 78-85.
5. Effects of neural crest-derived multipotent stem cells on regeneration of an injured peripheral nerve in mice / R. Vasyliiev, A. Rodnichenko, S. Shamalo, et al. // Neurophysiology. – 2015. – Vol. 47, № 1. – P. 80-83.
6. Casey D. Effects of enhancing neurogenesis and peripheral nerve regeneration / D. Casey, J. Dipollina, Fornaro M. // Neural Regen Res. – 2016. – Vol. 11, № 2. – P. 220-221. – Режим доступу: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.177717>.
7. Madduri S. Schwann cell delivery of neurotrophic factors for peripheral nerve regeneration / S. Madduri, B. Gander // J Peripheral Nervous System. – 2010. – Vol. 15. – P. 93-103.
8. Rotshenker Sh. Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury / Sh. Rotshenker // J Neuroinflam. – 2011. – Vol. 8. – P. 109-114. – Режим доступу: <http://www.jneuroinflammation.com/content/8/1/109>.
9. Dubovy P. Role of inflammation and cytokines in peripheral nerve regeneration / P. Dubovy, R. Jancalek, T. Kubek // Int Rev Neurobiol. – 2013. – Vol. 108. – P. 173-200.
10. Страфун С. С. Ультроструктурна оцінка відновлення травмованого сідничого нерва при аутопластиці його великих дефектів у щурів в експерименті / С. С. Страфун, В. В. Гайович, С. І. Савосько // Український нейрохірургічний журнал. – 2014. – № 4. – С. 50-54.
11. Role of leukemia inhibitory factor in the nervous system and its pathology / P. Ostasov, Z. Houdek, J. Cendelin, et al. // Rev Neurosci. – 2015. – Vol. 26, № 4. – P. 443-59.
12. Nicola N. Leukemia inhibitory factor / N. Nicola, J. Babon // Cytokine Growth Factor Rev. – 2015. – Vol. 26. – P. 533-544.
13. Dowsing B. Expression Of leukemia inhibitory factor in human nerve following injury / B. Dowsing, R. Romeo, W. Morrison // J Neurotrauma. – 2001. – Vol. 18, № 1. – P. 1279-1287.
14. Role of oxidative stress in pathophysiology of peripheral neuropathy and modulation by N-acetyl-L-cysteine in rats / A. Naik, S. Tandan, S. Dudhgaonkar, et al. // Eur J Pain. – 2006. – Vol. 10, № 7. – P. 573-579.
15. The neuroimmunology of degeneration and regeneration in peripheral nervous system / A. DeFrancesco-Lisowitz, J. Lindborg, J. Niemi, et al. // Neuroscience. – 2015. – Vol. 302. – P. 174-203.
16. Спосіб моделювання стимуляції регенерації ушкоджених периферичних нервів: патент на корисну модель № 114550 (UA): МПК G09B23/28 / Лабунець І. Ф., Римар С. Ю., Чайковський Ю. Б., Бутенко Г. М.; опубл. 10.03.2017, Бюл. № 5. – 4 с.
17. Cross-species receptor binding characteristics of human and mouse leukemia inhibitory factor suggest a complex binding interaction / M. Layton, P. Lock, D. Metcaff, et al. // J Biol Chem. – 1994. – Vol. 269. – P. 17048-17055.
18. Колонийцев А. К. Быстрый метод импрегнации азотнокислым серебром элементов периферической нервной системы, пригодный для парафиновых и целлоидиновых срезов / А. К. Колонийцев, Ю. Б. Чайковський, Т. Л. Терещенко // Арх анат. – 1981. – № 8. – С. 93-96.
19. Спосіб оцінки в експерименті ефективності відновлення рухової функції нижньої кінцівки після ушкодження периферичного нерва: патент на корисну модель № 113678 (UA): МПК G09B 23/28 / Лабунець І. Ф., Демидчук А. С., Шамало С. М.; опубл. 10.02.2017, Бюл. № 3. – 4 с.
20. Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test / M. Uchiyama, M. Mihara // Anal Biochem. – 1978. – Vol. 86, № 1. – P. 271-278.
21. Pair-wise linear and 3D nonlinear relationships between the liver antioxidant enzyme activities and the rate of body oxygen consumption in mice / Kh. Muradian, N. Utko, T. Mozzhukhina, et al. // Free Radic Biol Med. – 2002. – Vol. 33. – P. 1736-1739.
22. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин // М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
23. Deverman B. Exogenous leukemia inhibitory factor stimulates oligodendrocyte progenitor cell proliferation and enhances hippocampal remyelination / B. Deverman, P. Patterson // J Neurosci. – 2012. – Vol. 32, № 6. – P. 2100-2109.
24. Johansson C. Identification of neural stem cell in the adult mammalian central nervous system / C. Johansson, S. Momma, D. Clarke // Cell. – 1999. – Vol. 96, № 1. – P. 25-34.
25. Li Y. The neuron regrowth is associated with the proliferation of neural precursor cells after leukemia inhibitory factor administration following spinal cord injury in mice / Y. Li, D. Zang // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 13. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116031>.
26. Retrograde axonal transport of LIF is increased by peripheral nerve injury: correlation with increased LIF expression in distal nerve / R. Curtis, S. Scherer, R. Somogyi, et al. // Neuron. – 1994. – Vol. 12. – P. 191-204.

27. Triple knock-out of CNTF, LIF and CT-1 defines cooperative and distinct roles of these neurotrophic factors for motoneuron maintenance and function / *B. Holtmann, S. Weise, M. Samsam, et al.* // J Neurosci. – 2005. – **Vol. 25**. – P. 1778-1787.
28. Effect of leukemia inhibitory factor on the myelinogenic ability of Schwann-like cells induced from human adipose-derived stem cells / *S. Razavi, M. Mardani, M. Kazemi, et al.* // Cell Mol Neurobiol. – 2013. – **Vol. 2**. – P. 283-290.
29. Leukemia inhibitory factor is required for normal inflammatory responses to injury in the peripheral and central nervous systems *in vivo* and is chemotactic for macrophages *in vitro* / *Sh. Sugiura, R. Lahav, J. Han, et al.* // Eur J Neurosci. – 2000. – **Vol.** – P. 457-466.
30. The role of macrophages in immune-mediated damage to the peripheral nervous system / *R. Keifer, B. Kieseier, G. Stoll, et al.* // Prog Neurobiol. – 2001. – **Vol. 64, № 2**. – P. 109-127.
31. Protective effects of leukemia inhibitory factor against oxidative stress during high glucose-induced apoptosis in podocytes / *Xu Jing, Li Zhigui, Xu Pengjuan, et al.* // Cell stress and chaperons. – 2012. – **Vol. 17**. – P. 485-493.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автори підтверджують відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 13.09.2017 р.

Прийнята до друку 30.11.2017 р.