

УДК: 57.086.833:611.018.834:57.085.23
doi: 10.22494/cot.v6i2.90

Дослідження ремієлінізуючого ефекту лейкокемія-інгібіторного фактора та мелатоніну на токсичній купризоновій моделі демієлінізації культури клітин мозочка мишей *in vitro*



Родніченко А. Є., Лабунець І. Ф.

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

e-mail: arodnichenko@ukr.net

РЕЗЮМЕ

Токсична купризонова модель демієлінізації в системі *in vitro* широко використовується для вивчення процесів де- і ремієлінізації в ЦНС, а також для вирішення питань щодо пошуку потенційних сполук, які впливають на мієлінізацію аксонів нейронів.

МЕТОЮ РОБОТИ було дослідити роль рекомбінантного лейкокемія-інгубуючого фактора (rhLIF) людини та мелатоніну в ремієлінізації, використовуючи купризонову модель демієлінізації *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Для дослідження особливостей процесів демієлінізації та ремієлінізації аксонів нейронів використовували культуру дисоційованих клітин мозочка новонароджених мишей лінії FVB/N віком 7 днів. Для виявлення мієлінових оболонок використовували гістохімічний метод фарбування за допомогою Судана чорного В. Для ідентифікації олігодендроцитів проводили імуноцитохімічне фарбування 28-30-добових культур клітин мозочка на маркер лінії олігодендроцитів Olig2.

РЕЗУЛЬТАТИ. Підтверджено прямий вплив демієлінізуючого фактора купризону та факторів ремієлінізації (rhLIF та мелатонін) на олігодендроцити в культурі *in vitro*. За допомогою гістохімічного та імуноцитохімічного методів фарбування виявлений ремієлінізуючий ефект біологічно активних речовин – rhLIF та мелатоніну на відновлення процесів мієлінізації в дисоційованій культурі клітин мозочка.

ВИСНОВКИ. Купризон-індукована демієлінізація *in vitro* пов'язана із загибеллю Olig2⁺ олігодендроцитів та втратою формування мієлінової оболонки. Застосовані rhLIF та мелатонін запобігли втраті олігодендроцитів і, отже, зменшили руйнування мієлінових оболонок.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мозочок; купризон; демієлінізація; ремієлінізація; LIF; мелатонін

Для демієлінізуючих захворювань центральної нервової системи характерним є руйнування мієлінової оболонки нервових волокон, в результаті чого відбувається порушення проведення нервових імпульсів і пригнічення рухової активності [1–4]. До найбільш розповсюджених демієлінізуючих захворювань відносяться і розсіяний склероз. Для вивчення патогенезу розсіяного склерозу та пошуку нових терапевтичних підходів необхідно застосування адекватних експериментальних моделей цього захворювання [4–9]. Останнім часом велика увага надається моделям, які спрямовані на відтворення патологій нервової системи в системі *in vitro*. Слід зазначити, що мо-

делі *in vitro* є системами, які дозволяють оцінювати функції клітин та процеси, що відбуваються на різних етапах їх розвитку, та безпосередній вплив як демієлінізуючих, так і ремієлінізуючих факторів [10, 11]. Залишається актуальним пошук нових нейропротекторних засобів, вплив яких на динаміку ураження нервової системи є багатofакторним.

Для відновлення мієлінізації при демієлінізуючих патологіях нервової системи перспективними є біологічно активні речовини, зокрема цитокіни та гормони. Серед цитокінів привертає увагу поліфункціональний цитокін лейкокемія-інгібіторний фактор (LIF), який

впливає на нейрональні клітини не тільки в нормі, але й в умовах ушкодження нервової системи [12-14]. Встановлено, що LIF впливає на проліферацію попередників олігодендроцитів та сприяє їх диференціюванню в олігодендроцити [13]. Показано підвищення експресії основного білка мієліну у корі головного мозку мишей після введення LIF мишам із купризозною моделлю демієлінізації [6]. Антиапоптотичний ефект LIF на олігодендроцити пов'язують із зменшенням проявів нейрозапалення в результаті пригнічення продукції прозапального цитокіну TNF-альфа [15]. В нейральных прогеніторах та утворених нових нейронах LIF пригнічує апоптоз, опосередкований каспазами [16]. Було показано поліпшення мієлінізації аксонів нейронів головного мозку шляхом курсового введення інбредним мишам з експериментальною моделлю демієлінізації нейротрофічного цитокіну LIF, внутрішньоочеревинно, у дозі 25 мкг/кг або 50 мкг/кг [17]. В наших попередніх дослідженнях був виявлений нейропротекторний ефект rhLIF на токсичній купризозній моделі демієлінізації в системі *in vivo* в залежності від віку тварин [18].

Слід зазначити, що ефективність репаративних процесів у головному мозку при патологіях нервової системи значною мірою залежить від впливу факторів макрооточення, зокрема гормонів [19]. Мелатонін виявляє широкий спектр біологічної активності, зокрема, показана його участь у антиоксидантному захисті організму. Цей гормон – один із найсильніших прямих антиоксидантів, що поглинає ендогенні вільні радикали (гідроксильний радикал, супероксидний радикал-аніон, синглетний кисень, оксид азоту) і зберігає макромолекули клітин (білки, жири, ядерну та мітохондріальну ДНК) від окисного пошкодження. Мелатонін діє також як непрямий антиоксидант, стимулюючи активність антиоксидантних ферментів у головному мозку тварин із нейродегенеративними захворюваннями [20-22].

Відомо, що антиоксиданти здатні попереджати смерть клітин, що спричинена дією різних токсинів на білки мітохондріальної пори. Саме вільні радикали призводять до відкриття мітохондріальних пор, через які з мітохондрій у цитозоль виходить цитохром C, що активує цитоплазматичні протеолітичні білки (каспази). Це призводить до опосередкованого каспазами посиленого протеолізу клітинних білків, що відіграє значну роль у розвитку апоптозу. Показано безпосередній пригнічувальний вплив мелатоніну на пори мітохондрій [21]. В роботі Kashani I. R. із співавторами, було показано відновлення мієлінізації аксонів нейронів головного мозку після внутрішньоочеревинного курсового введення гормону мелатоніну мишам із експериментальною токсичною купризозною моделлю демієлінізації, з аналізом експресії генів мітохондріальних білків мієлінопродукуючих клітин та ультраструктурних змін мітохондрій [23]. Є дані щодо підсилення під впливом мелатоніну проліферативного потенціалу НСК головного мозку та їх диференціювання у напрямку нейронів [24, 25]. Є дослідження, які вказують на те, що гормон епіфіза мелатонін пригнічує розвиток хвороби Паркінсона або паркінсонізму в умовах експерименту і клініки [26, 27].

Слід зазначити, що в наших попередніх дослідженнях на токсичній купризозній моделі демієлінізації в системі *in vitro* було показано, що після введення нейротоксину купризону впродовж 48 годин у дозі 25 мкг відбувається зникнення кількості Olig2 (oligodendrocytes lineage marker)-позитивних олігодендроцитів, що супроводжувалось демієлінізацією аксонів нейронів мозочка [28, 29].

Тому на цьому етапі роботи **метою досліджень** було вивчення можливості прямої дії rhLIF та мелатоніну на олігодендроцити та процеси мієлінізації *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для дослідження особливостей процесів мієлінізації, демієлінізації та ремієлінізації аксонів нейронів використовували культуру дисоційованих клітин мозочка новонароджених мишей лінії FVB/N віком 7 днів (n = 27). Евтаназію новонароджених мишей проводили шляхом пе-

редозування ефіру медичного для наркозу. Всі роботи з експериментальними тваринами виконували з дотриманням законодавства і принципів біоетики: 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» (Європейська конвенція, Страсбург, 1986 р).

Виділення мозочка проводили на льоду, в стерильних умовах. Мозочок поміщували до середовища, яке містило 90 % ростового середовища DMEM, 10 % інактивованої при 56 °C протягом 30 хв сироватки коней, 6 г/л глюкози, 100 од/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину (все – *Sigma*, США). Дисоційовані клітини отримували шляхом подрібнення ножицями мозочка в 0,25 % розчині трипсину (*Sigma*, США) після попереднього відмивання зразків у розчині фосфатно-сольового буфера (ФСБ) з антибіотиками PenStrep (*Sigma*, США). Отриману суспензію залишали на 5 хв при + 37 °C при постійному перемішуванні, після чого проводили механічну дисоціацію за допомогою піпеток різного діаметру. Дисоційовані клітини мозочка підраховували і переносили для культивування в культуральні чашки Петрі (попередньо покриті водним розчином полі-L-лізину) діаметром 35 мм зі щільністю посіву 2·10⁶ клітин/см². Культивування клітин проводили у середовищі, яке містило 90 % мінімального ростового середовища DMEM, 10 % сироватки коней (*Sigma*, США), 6 г/л глюкози, 10 мкг/мл бичачого інсуліну (*Sigma*, США) та антибіотики (100 од/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину) за стандартних умов: в CO₂-інкубаторі при температурі + 37 °C та зволоженої атмосфери з концентрацією CO₂ 5 % .

В наших попередніх дослідженнях було виявлено, що істотна загальність олігодендроцитів порівняно з контрольними культурами спостерігалася тільки при застосуванні купризону на 18-у добу культивування дисоційованої культури клітин мозочка [28, 29] тому на 18-у добу культивування в культуру мозочка вносили купризон (*Sigma*, США) у дозі 25 мкг на 48 год. Через 48 годин проводили заміну середовища, яке містило рекомбінантний LIF людини (20 нг/мл) або гормон мелатонін (10 мкг/мл). RhLIF або мелатонін вносили в культуру клітин мозочка впродовж трьох діб. Культивування проводилося протягом 28-30 діб із заміною ростового середовища двічі на тиждень. Оцінку стану культивованих клітин проводили за допомогою інвертованого мікроскопу IX71 (*Olympus*, Японія) у режимі фазового контрасту.

Для виявлення мієлінових оболонки використовували гістохімічний метод їх фарбування за допомогою жиророзчинного барвника – Судана чорного В. З цієї метою 28-30 добові культури клітин мозочка промивали ФСБ та фіксували 1 % розчином параформальдегіду на 0,1 М ФСБ протягом однієї години. Потім проводили дегідратацію у водних розчинах етанолу: 25 %, 50 % та 70 % по 5 хвилин у кожному розчині. Фарбували 0,5 % розчином Судана чорного В (*Chemapol Nordic*, Чехія) на 70 % етанолі протягом години. Зафарбовані клітини знебарвлювали у 70 % етанолі 30 секунд. Регідратували у 50 % та 25 % водних розчинах етанолу по 5 хвилин. Зафарбовані препарати досліджували за допомогою інвертованого мікроскопу IX71 (*Olympus*, Японія) у режимі фазового контрасту (об'єктиви x10 та x20).

Для ідентифікації олігодендроцитів проводили імуноцитохімічне фарбування культури маркером лінії олігодендроцитів Olig2. Культури 28-30 доби культивування фіксували 4 % розчином параформальдегіду протягом 30 хвилин. Після відмивання від параформальдегіду культуру клітин блокували у розчині 0,1 М ФСБ (pH = 7,4) з додаванням 0,5 % бичачого сироваткового альбуміну та 0,3 % Тритон X-100 (*Sigma*, США). Протягом 48 годин при + 4 °C культуру клітин інкубували у розчині первинних моноклональних кролячих антитіл до Olig2 (*Chemicon*, США) в титрі 1:200. Первинні антитіла візуалізували вторинними антикролячими антитілами, кон'югованими з флуорохромом AlexaFluor 488 (*Invitrogen*, США) в титрі 1:1000. Ядра клітин контрастували флуоресцентним барвником Hoechst 33342 (*Invitrogen*, США) в титрі 1:5000. Оптичні дослідження проводили за допомогою інвертованого флуоресцентного мікроскопа Axio Observer A1, обладнаного цифровою камерою AxioCam ERc 5s із

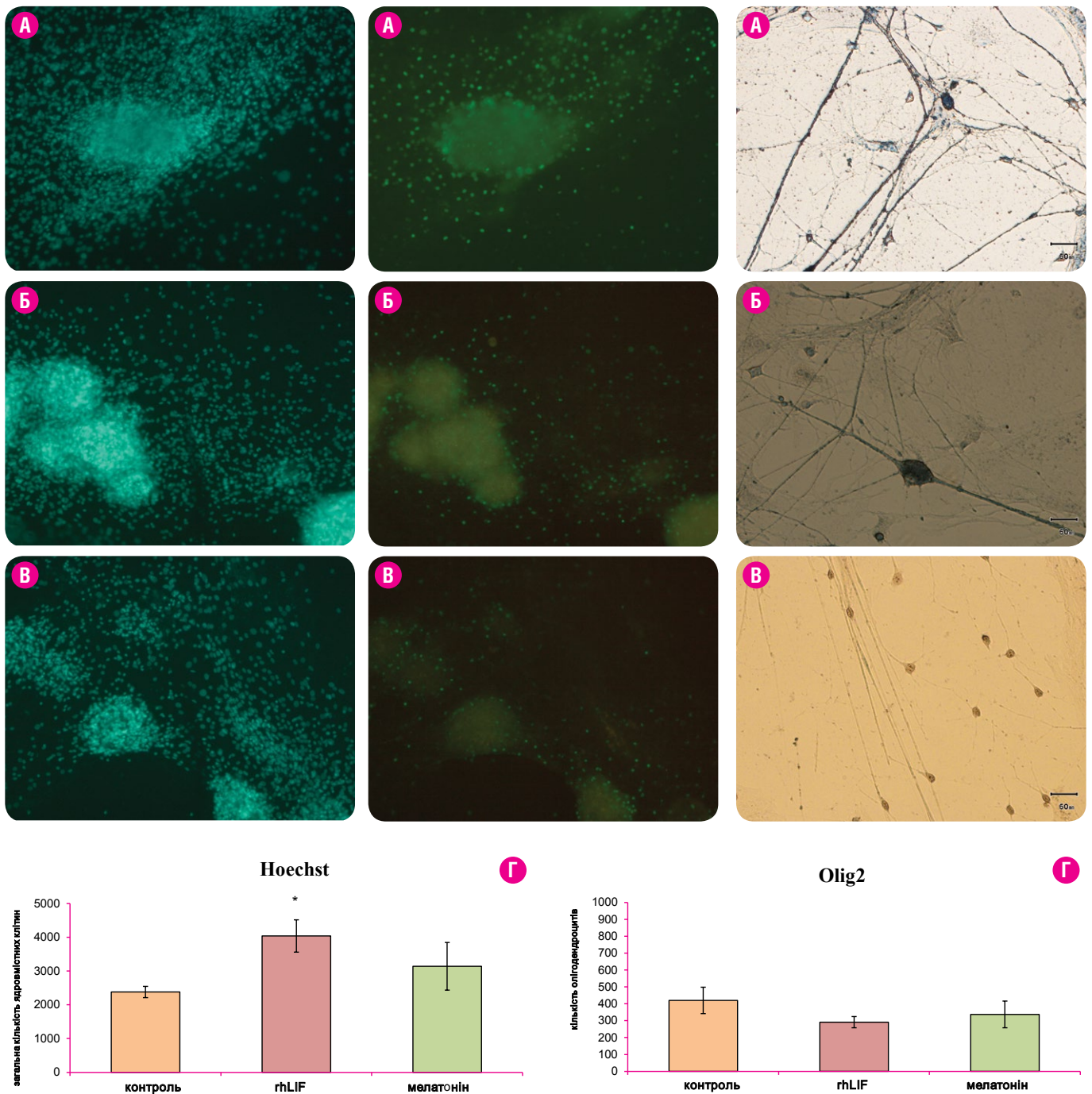


Рис. 1. Мікрофотографії дисоційованої культури клітин мозочка на 28-30-у добу культивування: контрольні культури (А), культури з внесенням 20 нг/мл rhLIF (Б) або 10 мкг/мл мелатоніну (В). Флуоресцентна мікроскопія, імуноцитохімічне фарбування на Hoechst 33342 (бірюзовий) та Olig2 (зелений). Світлова мікроскопія: фарбування мієлінових оболонок аксонів Суданом чорним Б, x200. Гістограми загальної кількості ядровмісних клітин за Hoechst та Olig2⁺ клітин (Г).

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем.

програмним забезпеченням ZEN 2012 і AxioVision 4.8, з використанням фільтра для флуоресценції № 21HE (для Hoechst) та № 56HE (для AlexaFluor 488) (Carl Zeiss, Німеччина). Проводили підрахунок клітин у 5 випадкових полях зору культури кожної експериментальної групи.

Для клонування гену LIF людини з геному людини було використано технологію одержання к-ДНК гену з допомогою зворотно-транскриптазної реакції з послідуною ампліфікацією к-ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції [12]. Встановлено, що LIF

людини та мишей виявляє до 80 % гомологічних послідовностей; LIF людини здатен зв'язуватись з рецепторами LIF на клітинах мишей та активувати їх [29].

Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою методів параметричної статистики (t-критерій Стюдента). Результати представлені у вигляді середнього арифметичного та помилки середнього ($M \pm m$). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною при значенні $p < 0,05$.

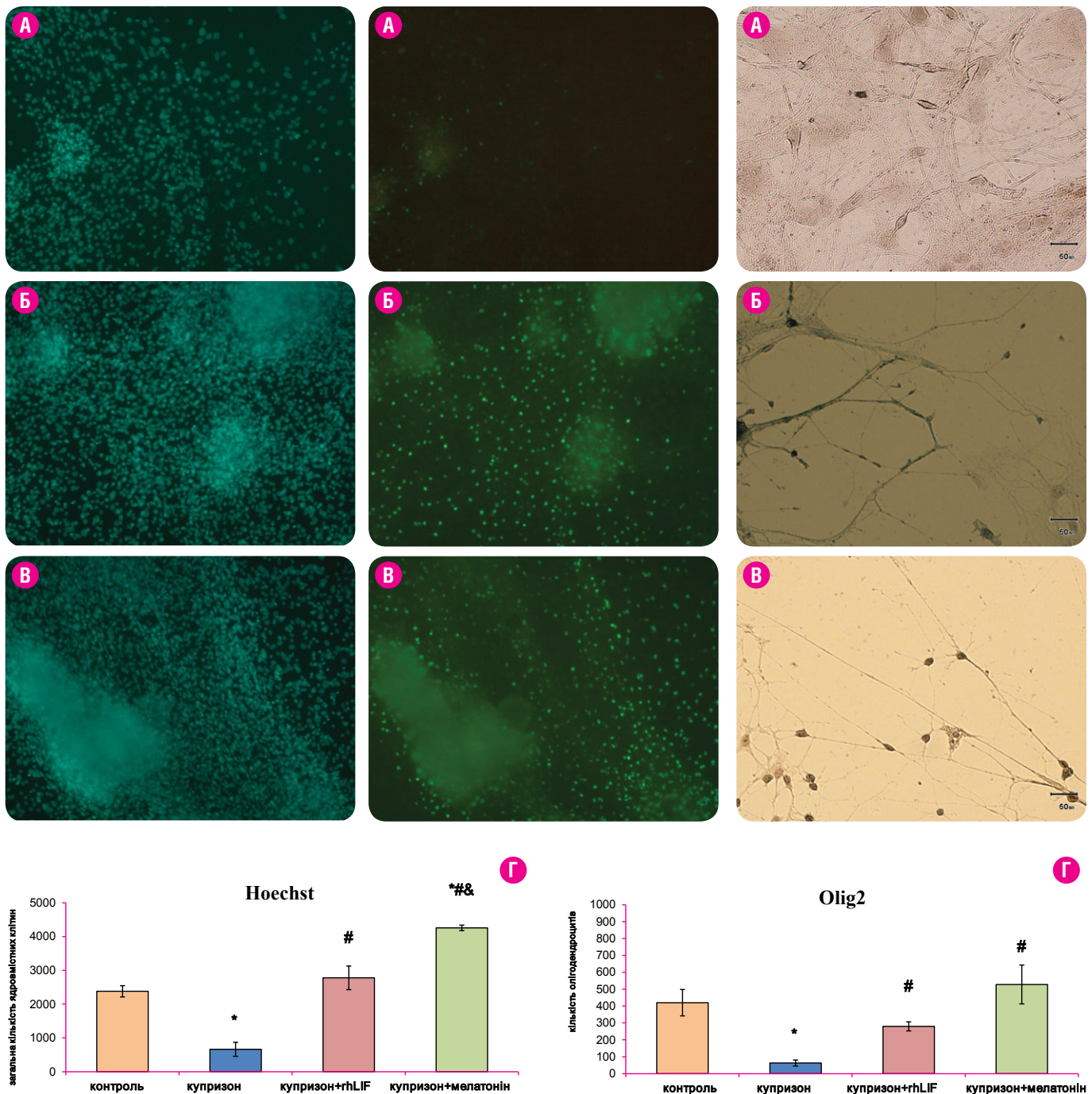


Рис. 2. Мікрофотографії дисоційованої культури клітин мозочка на 28-30-у добу культивування: культури оброблені купризоном (А), культури оброблені купризоном та з внесенням 20 нг/мл rhLIF (Б) або 10 мкг/мл мелатоніну (В). Флуоресцентна мікроскопія, імуноцитохімічне фарбування на Hoechst 33342 (бірюзовий) та Olig2 (зелений). Світлова мікроскопія: фарбування мієлінових оболонок аксонів Суданом чорним Б, x200. Гістограми загальної кількості ядровмісних клітин за Hoechst та Olig2+ клітин (Г).

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем; # – $p < 0,05$ порівняно з купризоном; & – $p < 0,05$ порівняно з купризоном+rhLIF

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В наших попередніх дослідженнях були підтверджені процес мієлінізації, який неможливий без присутності зрілих диференційованих олігодендроцитів та демієлінізації під впливом купризону в умовах *in vitro* [28]. Було виявлено, що індукована купризоном демієлінізація пов'язана з вираженою втратою олігодендроцитів

з подальшим пригніченням формування мієліну. Під час цієї роботи, яка є продовженням попередніх досліджень, ми вивчали пряму дію біологічно активних речовин (rhLIF та мелатонін) на ремієлінізацію з використанням токсичної купризової моделі демієлінізації в системі *in vitro* [30].

Нами було виявлено, що rhLIF без попереднього внесення до культури купризону збільшує загальну кількість ядровмісних клітин у дисоційованій культурі клітин мозочка порівняно з контрольними

культурами, але кількість олігодендроцитів під впливом цього фактору не змінюється (рис. 1). Разом з тим, додавання мелатоніну в культуральне середовище не призвело до значних змін як кількості Olig2⁺, так і загальної кількості ядровмісних клітин у порівнянні з контрольними культурами (рис. 1). Таким чином можна стверджувати, що в умовах норми тільки поліфункціональний цитокін LIF впливає на проліферативний потенціал нейрональних клітин.

В той же час внесення до культури протягом 3 дб hrLIF в концентрації 20 нг/мл або 10 мкг/мл мелатоніну після обробки клітин купризеном призвело до збільшення як кількості олігодендроцитів, так і загальної кількості ядровмісних клітин у порівнянні з культурами, які були обробленими купризеном. Причому обробка культур 25 мкМ купризеном протягом 48 годин з наступним додаванням rhLIF або мелатоніну протягом 3 днів індукувала збільшення загальної кількості клітин в 4,2 та 6,4 рази відповідно порівняно з культурами, що зазнали впливу лише купризону (рис. 2).

Крім того, загальна кількість клітин була значно більшою ($p < 0,05$) у культурах, оброблених купризеном та мелатоніном порівняно з культурами під впливом купризону + rhLIF та контрольними культурами. Можливо, це пов'язано з впливом мелатоніну на активацію ферментів антиоксидантного захисту, яка, з одного боку, сприяє зменшенню ушкодження нейронів головного мозку, а з іншого, створює умови для репаративних процесів в органі за участю Т-лімфоцитів. В роботі

Абдурасулова І. Н. та Клименко В. М. було показано, що Т-лімфоцити відіграють подвійну роль при дії на нервову тканину і прояви їх ушкоджуючого впливу на нейрони головного мозку пов'язані саме із компонентами оксидативного стресу і прозапальними цитокінами [31]. У присутності rhLIF або мелатоніну кількість олігодендроцитів у культурах попередньо оброблених купризеном зросла в 4,4 рази (з $62,5 \pm 18,8$ до $279,8 \pm 26,8$ клітин) та в 8,4 рази (з $62,5 \pm 18,8$ до $528,2 \pm 115,4$ клітини) відповідно (рис. 2). Оскільки Olig2 є фактором транскрипції, який необхідний для активації мієліну, а саме для експресії myelin regulatory factor (MYRF), який в свою чергу регулює мієлінасоціювані білки [32, 33], в наших дослідженнях було виявлено відновлення мієлінових оболонок. Таким чином, rhLIF та мелатонін запобігли втраті олігодендроцитів і, як наслідок, зменшили руйнування мієлінових оболонок.

Купризонова модель демієлінізації в системі *in vitro* є відносно простою і корисною системою для вивчення процесів, які пов'язані з де- та ремієлінізацією в ЦНС (зокрема, в мозочку), та вирішує питання щодо пошуку ремієлінізуючих факторів з метою відновлення мієлінізації аксонів. Результати відновлення синтезу мієліну в демієлінізованій культурі клітин мозочка при дії rhLIF та мелатоніну дозволяють оцінити стан ремієлінізації аксонів нейронів мозочка, що важливо для вивчення патогенезу демієлінізуючих захворювань, зокрема розсіяного склерозу, та можуть розширити арсенал медикаментозних засобів із ремієлінізуючим ефектом.

ВИСНОВКИ

В культурі клітин мозочка мишей без попередньої обробки нейротоксином купризеном після додавання рекомбінантного rhLIF встановлено збільшення загальної кількості клітин. При цьому додавання rhLIF або мелатоніну не впливало на кількість Olig2⁺ олігодендроцитів.

В культурі клітин мозочка мишей з попередньою обробкою нейротоксином купризеном при додаванні гормону епіфіза мелатоніна загальна кількість клітин була істотно більшою, ніж при застосуванні rhLIF. При цьому відновлювалась зменшена під впливом купризону кількість Olig2⁺ олігодендроцитів.

СПИСОК ЦИТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Мельник Н. О. Структура деяких органів нервової та імунної систем за умов демієлінізації та ремієлінізації: дис. ...д.мед.н. Київ, 2005. 358 с.
2. Пивнева Т. А. Механизмы демиелинизации при рассеянном склерозе. Нейрофизиология. 2009. **41**, № 5. С. 429-437.
3. Суслина З. А., Завалишин И. А. Рассеянный склероз: от представленый о патогенезе к лечению. Неврологический вестник. 2010. № 1. С. 6-8.
4. Міщенко Т. С., Шульга О. Д., Бобрик Н. В., та ін. Розсіяний склероз: глобальні перспективи. Укр. мед. часопис. 2014. **101**, № 3. С. 84-87.
5. Абакумова Т. О., Кузькина А. А., Жарова М. В. и др. Купризоновая модель как инструмент для доклинического исследования эффективности диагностики и терапии рассеянного склероза. Бюлл. эксперим. биологии и мед. 2015. **159**, № 1. С. 124-129.
6. Praet J., Guglielmetti C., Berneman Z., et al. Cellular and molecular neuropathology of the cuprizone mouse model: Clinical relevance for multiple sclerosis. Neurosci Biobehav Rev. 2014. **47**. P. 485-505.
7. Acs P., Kalman B. Pathogenesis of multiple sclerosis: what can we learn from the cuprizone model. Methods Mol Biol. 2012. **900**. P. 403-431.
8. Kipp M., Clarner T., Dang J., et al. The cuprizone animal model: new insights into an old story. Acta Neuropathol. 2009. **118**, № 6. P. 723-736.
9. Лабунець І. Ф. Можливості та перспективи використання токсичної купризонової моделі де мієлінізації *in vivo* та *in vitro* в експериментальній і клінічній неврології (огляд літератури та власні дослідження). Український неврологічний журнал. 2018. № 2. С. 63-68.
10. Andrew J. A., Zhang H., Bauer N., et al. *In vitro* modeling of central nervous system myelination and remyelination. In: Glia. 2012. **60**, № 1. P. 1-12.
11. Zhang H., Jarjour A.A., Boyd A., et al. Central nervous system remyelination in culture — A tool for multiple sclerosis research. Experimental Neurology. 2011. **230**. P. 138-148 DOI:10.1016/j.expneurol.2011.04.009.
12. Римар С. Ю., Новикова С. М., Д. М. Іродов Д. М., та ін. Перспективи використання у медицині фактора інгібування лейкоїмії та створення його продуцента. Журн. АМН України. 2010. **16**, № 2. С. 199-212.
13. Deverman B., Patterson P. Exogenous leukemia inhibitory factor stimulates oligodendrocyte progenitor cell proliferation and enhances hippocampal remyelination. J Neurosci. 2012. **32**, № 6. P. 2100-2109.
14. Schmitz T., Chew L. Cytokines and myelination in the central nervous system. Scientific World Journal. 2008. **2**, № 8. P. 1119-1147.
15. Gudi V., Gingele S., Skripuletz Th., et al. Glial response during cuprizone-induced de- and remyelination in the CNS: lessons learned. Frontiers in cellular neuroscience. 2014. **8**, № 73. P. 24.
16. Majumder A., Banerjee S., Harrill J. A., et al. Neurotrophic effects of leukemia inhibitory factor on neural cells derived from human embryonic stem cells. Stem Cells. 2012. **30**, № 11. P. 2387-2399.
17. Marriott M. P., Emery B., Cate H. S., et al. Leukemia inhibitory factor signaling modulates both central nervous system demyelination and myelin repair. Glia. 2008. **56**. P. 686-698.

18. Labunets L.F., Melnyk N.J., Rodnichenko A.E., et al. Cuprizone-induced disorders of central nervous system neurons, behavioral reactions, brain activity of macrophages and antioxidant enzymes in mice of different ages: Role of Leukemia Inhibitory Factor in their improvement. *J Aging Geriatr Med.* 2017. **1**. P. 1-8. DOI: 10.4172/JAGM.1000104.
19. Зозуля Ю. А., Лисяний Н. И. Нейрогенная дифференцировка стволовых клеток. К.: ООО УИПК «ЕксОб», 2005. 368 с.
20. Karaaslan C., Suzen S. Antioxidant properties of melatonin and its potential action in diseases. *Current topics in medicinal chemistry.* 2015. **15**, № 9. P. 894-903.
21. Reiter R. J., Manchestr L. C., Tan D. X. Neurotoxins: free radical mechanisms and melatonin protection. *CurrNeuropharmacol.* 2010. **8**, № 3. P. 194-210.
22. Tomas-Zapico C. A., Coto-Montes A. A proposed mechanisms to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes. *J Pineal Res.* 2005. **39**, № 2. P. 99-104.
23. Kashani I. R., Rajabi Z., Akbari M. et al. Protective effects of melatonin against mitochondrial injury in a mouse model of multiple sclerosis. *Exp Brain Res.* 2014. **232**, № 9. P. 2835-2846.
24. Moriya T., Horie N., Mitome M., et al. Melatonin influences the proliferative and differentiative activity of neural stem cells. *J Pineal Res.* 2007. **42**, № 4. P. 411-418.
25. Srinivasan V. Therapeutic potential of melatonin and its analogs in Parkinson's disease: focus on sleep and neuroprotection. *Ther Adv Neurol Disord.* 2011. **4**, № 5. P. 297-317.
26. Таланов С. А., Сагач В. Ф. Антиоксиданти пригнічують розвиток експериментального геміпаркінсонізму у щурів. *Фізіол. журн.* 2008. **54**, № 4. С. 23-29.
27. Gutierrez-Valdez A. L., Anaya-Martinez V., Ordonez-Librado J. L., et al. Effect of chronic L-Dopa or melatonin treatments after dopamine deafferentation in rats: dyskinesia, motor performance, and cytological analysis. *ISRN Neurology.* 2012. **2012**. P. 1-16.
28. Rodnichenko A. Implementation of a toxic cuprizone model of demyelination *in vitro*. *Cell and Organ Transplantation.* 2018. **6**, № 1. P. 93-98.
29. Layton M. J., Lock P., Metcalf D., et al. Cross-species receptor binding characteristics of human and mouse leukemia inhibitory factor suggest a complex binding interaction. *J. Biol. Chem.* 1994. **269**, № 25. P. 17048-17055.
30. Rodnichenko A., Utko N., Labunets I. *In vitro* cuprizone model as a tool to study remyelination factors. 11th FENS Forum of neuroscience (7-11 July 2018, Berlin, Germany), Abstract number F18-0774.
31. Абдурасулова И. Н., Клименко В. М. Роль иммунных и глиальных клеток в процессах нейродегенерации. 2011. **11**, № 1. С. 12-29.
32. Goldman S. A., Kuypers N. J. How to make an oligodendrocyte. *Development.* 2015. **142**. P. 3983-3995.
33. Patel J. R., Klein R. S. Mediators of oligodendrocyte differentiation during remyelination. *FEBS Letters.* 2011. **585**. P. 3730-3737.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автори підтверджують відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 05.09.2018 р.

Прийнята до друку 30.11.2018 р.