

Abstract

- <sup>1)</sup> Petriv T. I.;  
<sup>1)</sup> Tsymbalyuk Y. V.;  
<sup>2)</sup> Potapov O. O.;  
<sup>3)</sup> Honcharuk O. O.;  
<sup>4)</sup> Kvasnits'kyu M. V.;  
<sup>1)</sup> Tatarchuk M. M.,

1) SI "Romodanov Institute of Neurosurgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine";

2) Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine;

3) SNI "Scientific and Practical Center for Preventive and Clinical Medicine" of the State Administration;

4) Higher Educational Institution "International Academy of Ecology and Medicine"

STEM CELL TECHNOLOGY IN PERIPHERAL NERVE RESTORATION

Peripheral nerve injuries are significant problem in the medical and socio-economic plan, as they are accompanied by a high incidence of disability by people of working age.

In recent decades, significant progress has been made in the restorative surgery of the peripheral nervous system, in particular through the introduction into clinical practice of microsurgical techniques. However, the problem of restoring the peripheral nerve after its traumatic injury has not been resolved yet.

Review article addresses the current state of developing stem cell technologies for peripheral nerve repair. Basic concepts of peripheral nerve regeneration after traumatic injury, methods of their restoration in experimental and clinic conditions are considered. The prospect of using stem cells of different origins is shown in the experiment by many authors, and the positive effect of stem cells on peripheral nerve regeneration is explained by their ability to secrete many trophic factors and differentiation to a neural phenotype. An essential issue in the tissue engineering approach is the choice of the optimal material to be used as a scaffold for large size peripheral nerve defects grafting.

The article focuses on the main types of stem cells, as well as their combinations with biopolymers, which have shown efficiency in the experiment. Despite the advances in the use of the latest technologies, the search for the necessary components is underway to provide the most favorable conditions for peripheral nerve regeneration in the clinic.

**Keywords.** Peripheral nerve injury, stem cells, biopolymers, tissue engineering, experiment.

Corresponding author: [petrivtaras@gmail.com](mailto:petrivtaras@gmail.com)

Резюме

- <sup>1)</sup> Петрів Т. І.;  
<sup>1)</sup> Цимбалюк Ю. В.;  
<sup>2)</sup> Потапов О. О.;  
<sup>3)</sup> Гончарук О. О.;  
<sup>4)</sup> Квасніцький М. В.;  
<sup>1)</sup> Татарчук М. М.;

КЛІТИННІ ТЕХНОЛОГІЇ У ВІДНОВЛЕННІ ПЕРИФЕРИЧНИХ НЕРВІВ

Травми периферичних нервів є важливою проблемою медичного і соціально- економічного плану, адже супроводжуються високою частотою інвалідизації, а пацієнтами є, в більшості випадків, люди працездатного віку.

Протягом останніх десятиліть відбувся значний прогрес у відновній хірургії периферичної нервової системи, зокрема завдяки впровадженню в клінічну практику мікрохірургічної техніки. Про-

<sup>1)</sup>ДУ “Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України”;

<sup>2)</sup>Сумський державний університет МОН України;

<sup>3)</sup>ДНУ “Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини” Державного управління справами;

<sup>4)</sup>ПВНЗ “Міжнародна академія екології та медицини”

те, проблема відновлення периферичного нерва після його травматичного ушкодження ще не вирішена.

Дана оглядова стаття присвячена сучасному стану питання з розробки клітинних технологій для відновлення периферичних нервів. Розглянуті базові поняття регенерації периферичних нервів після травматичного ушкодження, способи їх пластики в умовах експерименту та у клініці. Перспектива використання стовбурових клітин різного походження показана у експерименті багатьма авторами, а позитивний вплив стовбурових клітин на регенерацію периферичного нерва пояснюється їх здатністю до секреції низки трофічних факторів та диференціювання в нейральний фенотип. Важливим питанням тканинно-інженерного підходу є вибір оптимального матеріалу, який буде використовуватися в якості матрикса для пластики дефектів периферичних нервів великого розміру.

У статті зроблено акцент на основних видах стовбурових клітин, а також на їх комбінаціях з біополімерами, які показали ефективність у експерименті. Попри успіхи у використанні новітніх технологій, триває пошук необхідних складових, які б забезпечували максимально сприятливі умови для регенерації периферичного нерва у клініці.

**Ключові слова.** Травма периферичних нервів, стовбурові клітини, біополімери, тканинна інженерія, експеримент.

**Автор, відповідальний за листування:** [petrivtaras@gmail.com](mailto:petrivtaras@gmail.com)

## Вступ

Травми периферичних нервів є важливою проблемою, як у медичному так і в соціально економічному плані, адже супроводжуються високою частотою інвалідизації, а пацієнтами є, в більшості випадків, люди працездатного віку. У розвинутих країнах частота травм периферичних нервів складає від 13 до 23 випадків на 100000 населення щороку [1]. Основними причинами ушкодження периферичних нервів є транспортний та побутовий травматизм, а також вогнепальні поранення. При політравмі ушкодження периферичних нервів поєднується з переломами кісток та вивихами у 50–79 % потерпілих, ушкодженням судин - у 23 %, пошкодженням м'язів та сухожиль - у 20–22 %. Ушкодження периферичних нервів виявляють у 77 % спостережень при травмі верхньої кінцівки, у 23 % нижньої, а під час військових дій цей показник складає 12 % [2]. У структурі травм опорно-рухового апарату, ушкодження периферичних нервів становить від 1,5 до 6 % [3, 4].

Протягом останніх десятиліть відбувся значний прогрес у відновній хірургії периферичної нервової системи, зокрема завдяки впровадженню в клінічну практику мікрохірургічної техніки. Найбільш проблемною є ситуація, коли пот-

рібно відновлювати периферичний нерв при його великому дефекті (> 3см). У таких випадках проводиться операція аутонейропластики. Проте, на сьогоднішній день аутонейропластика не може вважатися “золотим стандартом” через недоліки притаманні їй. Це необхідність додаткової операції для забору нерва-донора і наступний дефіцит у ділянці його іннервації, ліміт довжини трансплантата [5]. Крім цього використання чутливих нервів у якості ауто трансплантата для пластики дефектів рухових нервів спричиняє морфологічну невідповідність природного мікрооточення, діаметру аксонів, що затримує проліферацію шванівських клітин та їх здатність мієлінізувати нервові волокна [6].

Найбільш перспективним підходом у вирішенні цієї проблеми є тканинна інженерія периферичних нервів, що передбачає використання біополімерів та стовбурових клітин для пластики дефектів нерва великого розміру [7].

## Сучасні уявлення про процеси регенерації периферичних нервів

Якщо травмуючий фактор спричиняє повне порушення цілісності ПН, це закономірно викликає процес, який відомий під назвою валлерівська дегенерація. Це явище описане у 1850р. фізіологом Augustus Waller і було назване на його честь [8]. Стадійний розвиток морфологіч-

них змін ПН після такої травми залежить від типу нервового волокна та дистанції від місця пошкодження [9].

Згідно досліджень J.V.Griffin та співавторів у експерименті латентний час перед початком валлерівської дегенерації для тонких мієлінізованих волокон складав 25 годин, а для товстих 45 годин. Швидкість прогресування процесу в дистальному напрямку складав для тонких мієлінізованих волокон 250 мм в день, а для товстих 46 мм в день [10].

Відразу після пошкодження аксонів відбувається розпад мієлінової оболонки, і окремі фрагменти її набувають форми овоїдів [8, 11]. Спершу такі фрагменти з'являються у перехопленнях Ранв'є, а надалі захоплюють всю мієлінову оболонку. Частина нейронів піддається апоптозу у відповідь на пошкодження їхніх аксонів на периферії і кількість регенеруючих аксонів стає меншою. Тіла нейронів набрякають, що пов'язано із підвищеними метаболічними потребами внаслідок активації репаративних процесів [9]. Подальший розпад мієлінової оболонки відбувається за участю шванівських клітин, які можуть змінювати свій фенотип відповідно до потреб мікрооточення: мієлінізувати нервові волокна чи викликати хемотаксис макрофагів у вогнище пошкодження та стимулювати фагоцитоз, що має у таких випадках санаційні властивості. Під час фагоцитозу залишків мієлінової оболонки макрофаги виділяють значну кількість цитокінів та нейроактивних факторів для того, щоб підготувати субстрат для запуску репарації аксонів [8, 9].

Поряд із санаційними процесами запускаються регенеративні процеси, які включають проліферацію шванівських клітин. Перші їх мітози можна виявити вже через 2–4 дні після травми, і залежно від типу нервових волокон їх кількість може збільшуватися у 8 разів. Цей процес досягає максимуму через 20–30 днів. Шванівські клітини утворюють поздовжньо орієнтовані колонії клітин які називаються “стрічки Бюнгнера” [9, 11, 12]. Змінюється також стан і сполучнотканинних оболонок нерва. Ендоневрій спочатку набрякає, а після перериву аксона і розпаду мієлінової оболонки знову зморщується. За відсутності можливості направленої росту аксонів збільшується вміст колагену в регенеруючому нерві, прогресує атрофія шванівських клітин та “стрічок Бюнгнера”. Одночасно із процесами дегенерації, які мають дистальну спрямованість стосовно місця травми, відбува-

ється і ретроградна дегенерація, у напрямку до тіла нейрона [8, 9, 12].

Після процесу ретроградної дегенерації, регенерація нервових волокон починається із аксонів проксимального відрізка, де протягом кількох днів утворюється потовщення, яке називається “колбою росту” із якого виростає кілька колатеральних відростків аксона. Ключовим є питання досягнення “стрічками Бюнгнера” дистального відрізка, які є направляючими для росту аксонів. Чим ближче до тіла нейрона відбулася травма, тим швидкість регенерації аксонів вища, і вона значно сповільнюється при збільшенні дистанції від місця пошкодження до тіла нейрона [13, 14].

Надзвичайно важливим чинником є те, що навіть після ретроградної дегенерації аксонів велика частина нейронів не дегенерують, і більшість із них залишаються збереженими. Вагому роль у цьому процесі відіграють численні нейротрофічні фактори, що поділяються на 3 групи: нейротрофіні (NGF, BDNF, NT3, NT4), нейротрофічні фактори, що продукуються гліальними клітинами (GDNF) та нейротрофічні цитокіни або нейрокіні (CNTF) [15]. Серед них фактор росту нерва (NGF) є найбільш вивченим і сприяє проліферації та диференціації нейронів [16].

Нейротрофічний фактор, який продукується мозком (BDNF) відіграє важливу роль у індукції відповіді тіла нейрона на пошкодження його аксона і впливає на процеси збільшення діаметру нервових волокон. При додаванні BDNF до культури стовбурових клітин, вони починають диференціюватися по нейральній лінії [17]. Тромбоцитарний фактор росту (PDGF) при синергічній дії з нейротрофінами (NT-3, NT-4/5) сприяє виживанню та диференціюванню шванівських клітин [18], інсуліноподібний фактор росту (IGF-1) сприяє регенерації моторних та сенсорних нейронів, стимулює спраутинг аксонів при високій його концентрації у денервованому м'язі [19]. Крім того, доведена важлива роль у виживанні та диференціюванні нейронів циліарного нейротрофічного фактора (CNTF), який належить до нейротрофічних цитокінів або нейрокінів [20, 21].

Фактор росту, що продукується гліальними клітинами (GDNF) сприяє відновленню переважно моторних нейронів. Підвищення його концентрації спостерігали в експериментальних тварин з моторними невропатіями. Також, на моделі перетину СН у щура та пластики його трубчатим протезом із додаванням ламініну та

GDNF, виявлено позитивний ефект на ріст аксонів та ступінь їх мієлінізації через 6 тижнів від початку експерименту [22].

Для повноцінної регенерації нерва, необхідне адекватне кровопостачання, що забезпечується паралельною васкуляризацією регенеруючого нерва. Фактор росту ендотелію судин (VEGF) стимулює проростання капілярів, завдяки чому прискорюється регенерація аксонів та міграція шванівських клітин. В умовах гіпоксії VEGF діє як нейропротективний агент [23, 24].

#### **Принципи хірургічної тактики при ушкодженнях периферичних нервів**

Сьогодні для відновлення цілісності та провідності ПН при їх травматичному ушкодженні використовуються різноманітні методики: шов нерва кінець-у-кінець, аутонейропластика (АНП), невротизація, шов нерва кінець-у-бік, використовуються спеціально оброблені алотрансплантати та штучні матрикси [25].

Шов ушкодженого нерва кінець-у-кінець є методом вибору при відсутності дефекту ПН великого розміру. Для оптимального протікання процесів регенерації в ушкодженному нерві, його проксимальний та дистальний кінці повинні бути зближені без натягу і зшиті за допомогою мікрохірургічної техніки без їх додаткової травматизації.

За S. J. Belkas та співавт., цей метод оперативного втручання може принести позитивний результат, коли діастаз між кінцями нерва, що зшиваються, є не більшим ніж 5 мм. Якщо ж діастаз більший ніж 5 мм, а кінці нерва все-таки можна співставити, то натяг нерва, який виникає при цьому, буде суттєво погіршувати процеси регенерації [26].

АНП застосовується при дефекті нерва великого розміру. Розмір дефекту вважають великим, коли шов кінець-у-кінець та спонтанна регенерація нерва є неможливою. На думку більшості авторів, це розмір дефекту нерва 3 см і більше) [27, 28, 29].

Операцією вибору у пацієнтів з великими дефектами нервів протягом близько п'ятдесяти останніх років залишається "золотий стандарт" – аутонейропластика [30, 31]. Вперше АНП в експерименті на собаках виконали J. Philireaux та A. Vulpian у 1870 році. У клініці першу операцію АНП виконав E. Albert у 1876 році, проте вона виявилась невдалою. Спочатку нейрохірурги використовували цілі нервові стовбури, що погано реваскуляризувалися і приживалися. У 1947 році S. Seddon використав для АНП кілька

"вставок" із нерва, меншого діаметру, що прижилися краще. H. Millesi першим почав застосовувати принципи мікрохірургії при АНП і показав, що при використанні такої методики, можна отримати кращий результат, ніж при епіневральному шві "кінець-у-кінець" під натягом [32].

Проте АНП має ряд недоліків. Для отримання аутоотрансплантата використовують чутливі нерви та найпоширенішим в якості донора є n. suralis. Використання чутливих нервів у якості аутоотрансплантата для пластики дефектів рухових нервів спричиняє морфологічну невідповідність природного мікрооточення, діаметру аксонів, що затримує проліферацію шванівських клітин та їх здатність мієлінізувати нервові волокна [29, 30, 33]. Крім цього небажаними є додаткова операція (для забору трансплантата), функціональний дефіцит в автономній зоні нерва донора, утворення двох зон нейрорафії, виникнення невром та рубців, що утруднює проростання аксонів [34].

#### **Використання синтетичних матриксів для відновлення ушкоджених периферичних нервів**

Алотрансплантація – це методика, що передбачає використання в якості трансплантата нерв, забраний від іншої особи в межах одного виду, і ксенотрансплантація – пластика дефекту нервом, забраним від особи іншого виду. Ці методики не знайшли широкого застосування у клініці. Алотрансплантація та ксенотрансплантація вимагають застосування тривалої імуносупресивної терапії, є високий ризик контамінації та вторинного інфікування [35, 36]. Наступним кроком була розробка ацелюлярного трансплантата нерва, який отримували шляхом поєднання ферментативних, фізичних та хімічних методів для того, щоб виключити його імуногенність та зберегти екстрацелюлярний компонент, створюючи фактично природний матрикс для направленого росту аксонів. Недоліками такого підходу є пошкодження білків, нуклеїнових кислот, лізис клітин трансплантата під впливом хімічних реагентів та фізичних методів впливу, що є вкрай небажаним. До того ж ферменти та хімічні реагенти повинні бути повністю еліміновані із трансплантата, щоб при його використанні не спричиняти пошкодження навколишніх тканин донора, що теж практично неможливо. Не зважаючи на це, у кількох дослідженнях була показана можливість пластики дефекту ПН завдовжки 1–2 см ацелюлярним трансплантатом у щурів [34, 37]. Також було показано, що аксо-

ни не завжди проростають з проксимального кінця нерва у дистальний без додаткового застоювання факторів, що сприяють цьому, як, наприклад, хондроїтиназа [38]. Результати дослідження, метою якого було порівняння результатів пластики дефекту нерва ацелюлярним алотрансплантатом і матриксом на основі колагену в експерименті, показали, що різниця у регенерації нерва через 12 тижнів практично відсутня [23]. Оброблений хімічними детергентами та хондроїтиназою ацелюлярний алотрансплантат використовувався для пластики дефекту лицевого нерва [39] та дефекту чутливих нервів руки довжиною 3 см у клініці [40].

У кінці XIX ст. з'явилася ще одна методика оперативних втручань при дефектах ПН великого розміру. Це тубаж, суть якого полягає у тому, що кінці ушкодженого нерва з'єднуються порожнистою трубкою, матриксом, із природних чи штучно синтезованих матеріалів, і аксони із проксимального кінця ростуть у напрямку дистального кінця [41].

Т. Gluck у 1880 році запропонував з'єднати кінці ушкодженого нерва декальцинованою кіс-

ткою. О. Bungner у 1891 році використовував для тубажу сегмент артерії. Т. Chiu наприкінці 80-х років провів серію експериментів, у яких показав ефективність пластики нерва аутовеною [32].

Багато біоматеріалів випробовувалося у експериментах [42], найбільш обнадійливі результати були досягнуті за допомогою полігліколевої кислоти (ПГК). Була показана здатність полігліколевих трубок покращувати регенерацію ПН при його критичних дефектах, як у експерименті [43], так і у клініці [44].

С. Kragup зі співавторами опублікували результати успішної пластики дефекту середнього нерва завбільшки 5 см у приматів за допомогою колагенової трубки [45]. Трохи раніше F. J. Rodriguez зі співавторами зробили висновок, що комбінована пластика з використанням шваннівських клітин, матригелю і полілактаткапролактонових трубок є достойною альтернативою традиційній АНП [46]. Розроблено кілька синтетичних порожнистих матриксів для тубажу нервів (табл. 1). Вони є альтернативою АНП у клініці, але їх застосування обмежується дефектами розміром 3 см [44].

**Таблиця 1 – Види матриксів для регенерації ПН [26]**

Біоматеріал	Діаметр (d), довжина (L)	Час біодеградації
Ацелюлярний алотрансплантат трупного нерва	d = 1–5 мм L = 1,5–7 см	невідомо
Полівініл алкоголь	d = 2–10 мм L = 6,35 см	не біодеградує
Полігліколева кислота	d = 2,3–8 мм L = 2–4 см	6–12 місяців
Колаген I типу	d = 1,5–7 мм L = 2–3 см	36–48 місяців
Колаген I типу	d = 2–6 мм L = 2,5 см	4–8 місяців
Колаген I типу	d = 2–6 мм L = 2,5 см	4–8 місяців
Підслизова оболонка тонкого кишківника свиней	d = 1,5–7 мм L = 4 см	невідомо
Полі (лактид-капролактон)	d = 1,5–10 мм L = 3 см	16 місяців
Колаген I типу	d = 3–10 мм L = 2–4 см	36–48 місяців
Колаген I типу	d = 4–12 мм L = 2,5–5 см	4–8 місяців
Полівініл алкоголь	d = 2–10 мм L = 6,35 см	не біодеградує

Синтетичні порожнисті матрикси сприяють зменшенню інфільтрації зони шва міофібробластами та утворенню рубців і невром, гальмують колатеральний спраутинг, створюють сприятли-

ві мікрооточення шляхом сприяння накопиченню нейротрофічних факторів.

Однак, бажаного відновлення ПН у клініці неможливо досягти через відсутність у синтети-

чних трубках шванівських клітин, які є регуляторами направленою росту аксонів.

#### **Принципи тканинної інженерії для відновлення периферичних нервів**

Тканинна інженерія є одним із напрямків розв'язання проблеми пошкодження нервової системи, як центральної, так і периферичної. Триває розробка конструкцій, що будуть захищати кінці нерва від залучення у рубець, топічно доставляти специфічні трофічні фактори, сприяти направленому росту аксонів, завдяки включенню в їх склад прорегенеративних медіаторів: медикаментів та стовбурових клітин [50].

Сучасний розвиток тканинної інженерії передбачає застосування синтетичних трубчатих протезів, якими можна з'єднати кінці ушкодженого нерва і забезпечити проростання аксонів, але інертне мікрооточення в таких ситуаціях дозволяє проводити нейропластику при невеликих дефектах (до 3 см у людей) [9, 12, 47, 48].

Наступним кроком є комбінація матриксів із природних чи синтетичних матеріалів з потрібними фізико-хімічними властивостями та пептидів екстрацелюлярного матриксу, факторів росту, стовбурових клітин [9, 12, 50].

#### **Джерела і види стовбурових клітин для відновлення периферичних нервів**

Надзвичайно перспективним є застосування стовбурових клітин, що є джерелом нейротрофічних факторів та молекул екстрацелюлярного матриксу для регенеруючих аксонів, і в перспективі можуть прискорювати їх відновлення, а також попереджувати ретроградну дегенерацію та дегенерацію відповідних нейронів спинного мозку у відповідь на пошкодження на периферії [9, 51–53].

Критерії “ідеальних” стовбурових клітин включають швидкий та малоінвазивний спосіб їх отримання, швидке нарощування у культурі *in vitro*, здатність до виживання, проліферації та інтеграції в тканини центральної та периферичної нервової систем реципієнта, здатність до стабільної трансфекції віральними векторами та експресії відповідних екзогенних генів [9, 54, 55].

При використанні стовбурових клітин для відновлення ушкоджених ПН, акцент робиться на збільшенні кількості та активності шванівських клітин, які є ключовою клітинною ланкою в регенерації ПН. Але важкість та трудомісткість виділення аутологічних шванівських клітин, що передбачає біопсію нерва, довгий період очищення та нарощування культури, змушує шукати альтернативні джерела стовбурових клітин.

Тривала денервація приводить до апоптозу нейронів та атрофії цільових м'язів, тому використання аутологічних шванівських клітин зараз у практичному плані є не вигідним [56].

Одним із ключових факторів у використанні стовбурових клітин будь-якого походження для покращення регенерації ПН є концепція “мінімальних маніпуляцій”. За визначенням E.J. Culme-Seymour та C. Mason [57] “маніпуляції з клітинами не повинні ушкоджувати їхні біологічні властивості”. Нарощування клітин у культурі, для того, щоб збільшити їх кількість перед імплантацією, вимагає додавання різноманітних хімічних реагентів та факторів росту, що можуть змінити лінію диференціювання стовбурових клітин [58].

До сьогодні не існує єдиної думки яка ж кількість стовбурових клітин повинна бути імплантована для того, щоб отримати позитивний ефект від їх застосування. Одні дослідники використовують  $4 \times 10^3$  клітин для трансплантації на одну тварину [59], інші –  $2 \times 10^7$  [60]. Цікаво, що при використанні шванівських стовбурових клітин у кількості  $80 \times 10^6$  на одну тварину були отримані гірші результати відновлення нерва ніж при використанні  $20 \times 10^6$  клітин [9]. Тому, у даному дослідженні використовувалася кількість клітин  $1 \times 10^6$ , для того щоб визначити ефект від їх застосування і при цьому забезпечити достатню кількість місця та ресурсів для контакту з природним мікрооточенням ушкодженого нерва.

Інтенсивний поділ клітин може пошкодити їх генотип, і збільшити кількість мутацій, тому, краще використовувати клітинні культури з меншою кількістю пасажів [61, 62].

Сьогодні, всі зусилля науковців спрямовані на пошук джерела стовбурових клітин дорослого організму, які були б не менш ефективними у плані тканинної інженерії, але спосіб їх отримання був малоінвазивним, неболючим та виключав використання загальної анестезії. Стовбурові клітини дорослого організму присутні практично у всіх тканинах. Вони можуть бути отримані зі строми кісткового мозку, жирової тканини, пульпи зуба, м'яза, пуповинної крові, Вартонових драглів, піднебіння, волосяного фолікула, як у експериментальних тварин так і у людей [9, 64–66].

Стовбурові клітини можна імплантувати у недиференційованому стані або після процесу предиференціювання у стовбурові клітини з фенотипом, подібним до шванівських. Останні

мають здатність інтегруватися у стрічки Бюнгнера і стимулювати направлений ріст аксонів. Потенційні переваги такого предиференційованого полягає у кращій здатності таких клітин до виживання у новому середовищі після імплантації, посиленні секреції нейротрофічних факторів та мієлінізації аксонів [67, 68].

Проте, позитивний вплив недиференційованих стовбурових клітин також виявлений у дослідженнях [9, 69–73]. Прихильники такого виду клітин вважають, що пре диференціювання *in vitro* затримує імплантацію, що у свою чергу відтерміновує процеси регенерації тканин, що вкрай небажано у клінічному застосуванні [74, 75].

Одним з ефектів впливу на відновлення ПН є стимуляція стовбуровими клітинами нейротрофічних та ангіогенних факторів, а також молекул екстрацелюлярного матриксу. Ці ефекти можуть реалізуватися за допомогою паракринних механізмів та стимуляції ендогенних шванівських клітин до посилення власної активності. Такі молекули екстрацелюлярного матриксу як колаген I типу, колаген IV типу, фібронектин та ламінін сприяють регенерації нерва [9, 59, 68].

У багатьох роботах описано секрецію фактору росту нерва, нейротрофічного фактору, що продукується мозком, нейротрофічного фактору, що продукується гліальними клітинами, циліарного нейротрофічного фактору та нейротрофіну-3, як ендогенними шванівськими клітинами, так і стовбуровими клітинами дорослого організму різного походження [77, 78].

Імуномодуючий та помірний імуносупресивний ефект стовбурових клітин дорослого організму різного походження забезпечується ймовірно секрецією гранулоцитарного та макрофагального колоніестимулюючих факторів, інтерлейкінів 6, 7, 8 та 11 типів та фактора некрозу пухлин. Пригнічення імунної відповіді реципієнта допомагає попередити запалення та фіброз після операцій на ПН, а також, дозволяє використовувати алогенну трансплантацію, що є одним із найважливіших моментів у трансплантології та регенеративній медицині [54, 77].

Перші спроби трансплантації закладок ембріональної нервової тканини в ушкоджений нерв були зроблені ще у 80-90-х роках ХХ століття. Первиною метою цих експериментів було намагання довести принципову можливість такого виду трансплантації та дослідження подальшого диференціювання клітин ембріональної нервової тканини і їх вплив на регенерацію ушкодженого нерва [79]. Гарні результати були

отримані при алогенній трансплантації ембріональної нервової тканини в експерименті, що підтверджено даними електрофізіологічного та морфологічного досліджень [80, 81].

У 1998 р. бурхливий розвиток технологій дозволив виділяти ембріональні стовбурові клітини (ЕСК) із бластоцисти. Вперше ці клітини із людської бластоцисти були виділені групою вчених під керівництвом J. A. Thomson [82]. ЕСК здатні формувати тканини трьох зародкових листків, мають значно вищий потенціал проліферації у порівнянні із мезенхімальними стовбуровими клітинами (МСК) [83]. Проте диференціація цих клітин у нейральні лінії проблемна, а спеціальні протоколи розроблені тільки для обмеженої кількості цих типів клітин [84]. Додаткові проблеми пов'язані з їхньою імуногенністю, туморогенністю та морально-етичними проблемами, адже забір ЕСК передбачає руйнування ембріона на стадії бластоцисти [82, 84]. Кількість робіт, що стосуються трансплантації ЕСК при ушкодженні ПН невелика, що обумовлено вищевказаними проблемами, а також труднощами подальшого клінічного використання.

Нейральні стовбурові клітини мають здатність диференціюватися у нейрони та клітини глії і знаходяться у субвентрикулярній зоні неокортексу і зубчатій звивині гіпокампа. Однак, їх активна проліферація відбувається під час ембріогенезу, а у дорослому організмі – тільки після ушкодження центральної нервової системи. W. Heine зі співавт. показали, що застосування нейрогенних стовбурових клітин справляє позитивний ефект не тільки при гострій травмі нерва, а і при хронічній денервації, що підтверджувалося електрофізіологічними та морфологічними методами [9, 85]. Застосування їх обмежується тому, що використання нейральних стовбурових клітин при різних видах травми ПН супроводжується високим ступенем утворення нейробластом [86], тому увагу дослідників привернули більш диференційовані клітини, а саме клітини нюхової цибулини [87]. Виявлено, що вони здатні продукувати речовини, які стимулюють регенерацію ПН: FGF, NGF, BDNF, GDNF, білки екстрацелюлярного матриксу [88, 89]. Трансплантація цих клітин в ушкоджений ПН справляла позитивний вплив, що було підтверджено результатами електрофізіологічних та морфологічних досліджень. Коли ж проводили трансплантацію клітин нюхової цибулини сумісно зі шванівськими клітинами, результати ви-

явилися ще кращими ніж при трансплантації цих двох видів клітин поодиночі. Такий ефект, очевидно, пов'язаний зі стимулюючим впливом клітин нюхової цибулини на шванівські клітини [90]. До того ж методом із GFP-позитивними клітинами була доведена здатність клітини нюхової цибулини мієлінізувати регенеруючі аксоли ПН [89].

Однак, для подальшого використання клітин нюхової цибулини в якості кандидата для клітинної терапії ушкоджень ПН потрібно більш детально вивчити їх гістобіологічні властивості, механізми дії та способи їх ідентифікації [89, 90].

МСК вперше були виявлені А. J. Fridenstein в стромі кісткового мозку у 1963 році [9]. Пізніше МСК були знайдені у багатьох тканинах організму: жировій, пульпи зуба, пуповинній крові, вартонових драгльях пуповини [91–95]. Мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку (МСК-КМ) позбавлені таких недоліків, як туморогенність і морально-етичні проблеми, можуть бути отримані за допомогою пункції кісткового мозку, а в спеціальних умовах культивування можуть диференціюватися у нейрони, астроцити та шванівські клітини [96, 97]. Багато дослідників показали, що використання МСК-КМ сумісно з матриксами для тубажу нерва чи ацелюлярними нервами дає кращі результати ніж використання самих порожнистих матриксів без МСК-КМ [74, 98–100], інші, що позитивний ефект від застосування МСК-КМ гірший ніж при використанні культивованих шванівських клітин [101], але більшість погоджуються з думкою, що ефект приблизно однаковий [102, 103].

Іншою проблемою є висока інвазивність і болючість процедури забору кісткового мозку, тому для успішного впровадження у клініку потрібні стовбурові клітини, забір яких менш інвазивний, зокрема це жирова тканина, волосяний фолікул, тканини плоду. Крім цього МСК-КМ володіють меншим коефіцієнтом диференціації та проліферації ніж ЕСК, нейральні стовбурові клітини чи культивовані шванівські клітини [9].

Жирова тканина людини є багатим джерелом мультипотентних стовбурових клітин. Крім адипоцитів та преадипоцитів вона містить гетерогенну групу клітин, що складається із фібробластів, мікрovasкулярних ендотеліальних клітин, стовбурових клітин. Завдяки адгезивним властивостям стовбурових клітин, можна виділити мезенхімальні стовбурові клітини жирової тканини (МСКЖТ) [104–106].

Основними перевагами застосування МСКЖТ, є можливість отримання жирової тканини у достатньому об'ємі від будь-якого пацієнта, а також відносно прості умови її культивування. Загальна кількість стовбурових клітин у ліпоаспіраті складає в середньому 2 % (із 300 мл жиру можна виділити від 10 до  $20 \times 10^6$  клітин), а здатність викликати імунну реакцію шляхом експресії молекул головного комплексу гістосумісності є тільки у 1 % цих клітин. Для порівняння: строма кісткового мозку містить від 0,001 до 0,1 % стовбурових клітин, які володіють нижчим коефіцієнтом проліферації при аналогічній здатності до диференціації. Все вищесказане робить МСКЖТ надзвичайно перспективними для стимуляції регенерації тканин, зокрема периферійної нервової системи при аlogenній трансплантації [107, 108].

МСКЖТ продукують різноманітні трофічні та ростові фактори незалежно від віку донора та локалізації анатомічної ділянки забору. Завдяки цьому, навіть, поживне середовище у якому вони культивувалися, також стимулює ріст аксонів і попереджує загибель нейронів [109].

У кількох роботах було показано, що за здатністю МСКЖТ стимулювати регенерацію ПН, вони не поступаються аутологічним шванівським клітинам [110–112]. Ще у кількох дослідженнях автори не виявили різниці у відновленні ПН при використанні матриксів із МСКЖТ та АНП [113–115].

Навколоплодові тканини є джерелом популяції більш онтогенетично ранніх МСК. Їх можна виділити з амніотичної рідини, безпосередньо із амніона, пуповинної крові та вартонових драглів пуповини. Таким МСК притаманна менша частота мутацій, так як вони починають своє існування із закладки ембріона і продовжують існувати, в більшості випадків, не довше 42 тижнів (протягом виношування вагітності). Після пологів їх можна виділити із навколоплодових тканин і у відповідних умовах культивування вони також проявляють нейральний фенотип [9, 116].

Стовбурові клітини амніотичної рідини можуть проявляти фенотип як МСК, так і нейральних стовбурових клітин і при їхній трансплантації на моделі дефекту СН у щура, мають здатність стимулювати його регенерацію [117]. Стовбурові клітини пуповини також мають здатність прискорювати відновлення ПН на моделях його розчавлення чи перерізання [118].

Проте, стовбурові клітини такого походження викликають імунну реакцію організму при алогенній трансплантації, що не характерно для стовбурових клітин дорослого організму (МСКЖТ, МСК-КМ) а ауотрансплантація не завжди можлива, так як стовбурові клітини навколоплідних оболонок потрібно заготовляти після народження плода і зберігати впродовж усього життя людини. Можливо у майбутньому проблема буде вирішена шляхом збільшення кількості спеціальних банків, де зберігатимуться такі клітини [9].

У 2002 році М. Tamaki зі співавторами повідомили, що мультипотентні стовбурові клітини присутні у скелетних м'язах [120]. Пізніше було виявлено, що вони здатні диференціюватися у клітини мезодермальної (скелетні м'язи та ендотелій) та ектодермальної лінії *in vivo* [121]. Однією із переваг цих клітин є їхня здатність проліферувати та виживати в умовах гіпоксії та оксидантного стресу [122].

У експерименті виявлена здатність стовбурових клітин скелетних м'язів набувати фенотипу шванівських клітин та мієлінізувати регенеруючі аксони, а також стимулюють ріст ендотеліальних клітин, перичитів та фіброblastів. Ці властивості були виявлені у експерименті на моделі аксонотмезису (розчавлення нерва) та невротмезису (дефект нерва з пластикою ацелюлярним трансплантатом) [123].

У 2006 році описано відкриття ще одного типу стовбурових клітин: індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, що вперше виділені у мишей. Це соматичні клітини дорослого організму, індуковані у плюрипотентні, шляхом ектопічної ко-експресії факторів транскрипції [124]. Існує спеціальний протокол для індукції плюрипотентних стовбурових клітин у нейральній лінії [125], і кілька досліджень показали позитивний ефект від застосування їх для відновлення як центральної, так і периферичної нервової систем [126–128]. Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини подібні до ЕСК, проте не мають недоліків: морально-етичних проблем у застосуванні та необхідності імуносупресії при їх трансплантації. Однак, епігенетична інформація, яка залишилася від соматичних клітин попередників, у вигляді хромосомних аберацій як наслідок генетичного ре-програмування, може зробити ці клітини ще більш туморогенними ніж ЕСК [129].

Наявність серед клітин НГ стовбурових клітин було встановлено відносно недавно [130].

НГ – це транзиторна ембріональна структура, яка утворюється під час змикання нервових валіків у нервову трубку (нейруляції). Надалі клітини НГ мігрують в товщу тканини сомітів і дають початок клітинним елементам периферичної нервової системи та структурам не нейронального типу [131].

Власне термін “стовбурові клітини нервового гребеня” вперше використали D. Stemple та D. Anderson, після того, як виділили культуру клітин НГ, шляхом флуоресцеїн активованого сортирування тканин ембріона щура, використовуючи антитіла проти низькоафінного рецептора росту нерва p75 [132]. Наступне культивування цих клітин показало, що більшість із них стали нейронами та невелика кількість незрілими шванівськими клітинами. У популяції клітин наступного клону виявлялися клітини нейрального типу і неспецифічні не нейральні клітини зі здатністю давати генерацію мультипотентних субклонів. Згодом у такий самий спосіб авторам вдалося виділити стовбурові клітини нервового гребеня (СКНГ), що представляли постміграторну популяцію, із фетального СН щура. Клітини постміграторної культури СКНГ *in vitro* диференціювалися у нейрони, шванівські клітини, міофіброblastи. При трансплантації цієї культури без періоду культивування безпосередньо в курячі ембріони спостерігався ріст нейрональних та гліальних структур у різних відділах периферичної нервової системи [133].

СКНГ ростральної частини НГ дають початок більшості кістково-хрящових структур обличчя, нервовим гангліям та гладким міоцитам судин голови, вагусної та сакральної частин – нейронам стінки кишечника, тункусної – структурам периферичної нервової системи, пігментним клітинам шкіри, ендокринним клітинам наднирників [134, 135].

Із СКНГ утворюються не тільки клітини гліального та нейрального типу, а й фіброblastи ендоневрію, тобто утворення всіх елементів ПН залежить від мультилінійної диференціації одного типу клітин – похідних НГ [135].

Волосяний фолікул складається із концентрично розташованих циліндрів, що містять клітини, які продукують високоспеціалізовані протеїни, зокрема кератин, основний компонент волосся і перебуває у постійному динамічному стані: фаза росту (анаген), перехідна фаза (катаген), фаза спокою (телоген) [136]. Такий активний життєвий цикл передбачає наявність стовбурових клітин [137].

Валик бруньки волосяного фолікула є нішею для епідермальних та меланоцитарних стовбурових клітин. Також у волосяному фолікулі є популяція клітин, які є похідними НГ, що мають надзвичайно широкий потенціал до диференціювання та експресують нестин, маркер стовбурових клітин нейрального типу [130, 135, 136].

Група вчених під керівництвом M.Sieber-Blum відкрили їх у 2004 році й довели походження цих клітин із НГ [130].

На сьогодні доведено, що СКНГ, виділені із волосяного фолікула, можуть диференціюватися у нейрони, гліальні клітини, кератиноцити, гладком'язові клітини, меланоцити *in vitro* [139–141]. Нестин-позитивні, кератин 15-негативні клітини, можуть диференціюватися у нейрони при їх підшкірній імплантації білими мишам [140, 142]. Фенотип та особливості культивування СКНГ доводять, що вони мають високий проліферативний потенціал, здатні до мультилінійного диференціювання, експресують антигени, характерні для мультипотентних стовбурових клітин (CD44, CD73, CD90 і Sca-1) та CD117 (маркер мігруючих клітин НГ). В культурі *in vitro* СКНГ демонструють здатність до клонального росту та самооновлення [137, 138]. Виділені із волосяних фолікулів гризунів та людини СКНГ, залежно від умов культивування перетворювалися у нейрони та S100-імунопозитивні гліоцити, що експресували  $\beta$ -3-тубулін та кислий гліальний протеїн фібрил

### Висновки

Таким чином, щоб розробити ефективну методику відновлення ПН при їх дефектах великого розміру, необхідно використовувати регенеративні клітинні технології, які передбачають розробку біологічних субститутів, що підтриму-

### Перспективи подальших досліджень

Перспективним є розробка комплексного підходу з використанням новітніх полімерів біологічного та небіологічного походження, електроспіннгу, магнітоспіннгу, нанотехнологій з

(GFAP) [137, 143]. Пізніше було встановлено, що використання цих стовбурових клітин може стимулювати регенерацію ушкодженого ПН щура [137]. Введення СКНГ, отриманих із волосяного фолікула щурів, у аутонейротрансплантат також стимулювало відновлення ПН при його значному дефекті [144, 145].

У кількох дослідженнях вивчався вплив недиференційованих СКНГ на регенерацію СН та великогомілкового нерва на моделі краш-ушкодження. Результати показали здатність СКНГ диференціюватися у GFAP-позитивні клітини, що були подібні до шванівських, і мієлінізувати аксони. У таких експериментальних групах результати функціонального відновлення були значно вищими [145, 146].

Вивчався також вплив на регенерацію нерва диференційованих СКНГ імплантованих у ацелюлярний ксенотрансплантат. Підтверджена здатність клітин тривалий час підтримувати диференційований стан кількість регенеруючих аксонів та ступінь мієлінізації у таких ксенотрансплантатах була значно вищою, ніж у трансплантатах без СКНГ [147].

Попри те, що СКНГ подібні до ЕСК, вони не є туморогенними та не втрачають потенціалу до диференціювання після заморожування та розморожування, що вкрай важливо з точки зору їх застосування у клініці та надає перевагу над індукованими плюрипотентними стовбуровими клітинами та ЕСК [141, 147].

ватимуть, відновлюватимуть чи покращуватимуть функцію певного виду тканини чи цілого органу. Використання комплексного підходу, а не тільки вдосконалення якогось окремого напрямку.

інкорпорованими стовбуровими клітинами чи ростовими факторами з дозованим виділенням для розробки трансплантатів, які володіли б якостями, максимально наближеними до інтактного периферичного нерва.

### Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

### Відомості про авторів

**Петрів Тарас Ігорович**, канд. мед. наук, лікар-нейрохірург відділення відновлювальної нейрохірургії з рентгеноопераційною, ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України", вул. П. Майбороди 32, Київ, Україна, 04050.

**Цимбалюк Юлія Віталіївна**, д-р. мед. наук, лікар-нейрохірург відділення відновлювальної нейрохірургії з рентгеноопераційною, ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України", вул. П. Майбороди 32, Київ, Україна, 04050.

**Потапов Олександр Олександрович**, д-р. мед. наук., професор, завідувач кафедри неврології та нейрохірургії, Сумський державний університет МОН України, вул. Римського-Корсакова 2, Суми, Україна, 40007.

**Гончарук Олег Олександрович**, д-р. мед. наук., професор, завідувач кафедри хірургії ПВНЗ "Міжнародна академія екології та медицини", вул. Верхня 5, Київ, Україна, 02000.

**Квасніцький Микола Васильович**, д-р. мед. наук., професор, головний науковий співробітник наукового відділу малоінвазивної хірургії, Державна наукова установа "Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини" Державного управління справами, Харківське шосе 121, Київ, Україна, 02000.

**Татарчук Михайло Михайлович**, канд. мед. наук, лікар-нейрохірург відділення відновлювальної нейрохірургії з рентгеноопераційною, ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України", вул. П. Майбороди 32, Київ, Україна, 04050.

### References (список літератури)

- Torres RY, Miranda GE. Epidemiology of Traumatic Peripheral Nerve Injuries Evaluated by Electrodiagnostic Studies in a Tertiary Care Hospital Clinic. *P R Health Sci J.* 2016;35(2):76-80. PMID: 27232868
- Puzović V, Samardžić M, Jovanović M, Živković B, Savić A, Rasulić L. Etiology and mechanisms of ulnar and median forearm nerve injuries. *Vojnosanitetski Pregled.* 2015;72(11):961-7. PMID: 26731969
- Tymbaliuk VI, Strafun SS, Haiko OG, Gaiovych VV. [The concept of limb function recovery in traumatic injury of peripheral nerves]. *Ukrainian neurosurgical journal.* 2016;(3):48-54.
- Tymbaliuk VI, Mogila VV, Nicholas ZhI. [Principles of surgical treatment of traumatic lesions of the median nerve at different levels]. *Ukr Med Chasopis.* 2005;47(3):64-8.
- Rasulić L, Puzović V, Rotim K, Jovanović M, Samardžić M, Živković B, et al. The epidemiology of forearm nerve injuries – a retrospective study. *Acta Clinica Croatica.* 2015;54(1):19-24. PMID: 26058238
- Jonsson S, Wiberg R, McGrath AM, Novikov LN, Wiberg M, Novikova LN, et al. Effect of Delayed Peripheral Nerve Repair on Nerve Regeneration, Schwann Cell Function and Target Muscle Recovery. *PLoS ONE.* 2013;8(2): e56484. doi: 10.1371/journal.pone.0056484.
- Belanger K, Dinis TM, Taourirt S, Vidal G, Kaplan DL, Egles C. Recent Strategies in Tissue Engineering for Guided Peripheral Nerve Regeneration. *Macromol Biosci.* 2016;16(4):472-81. doi: 10.1002/mabi.201500367
- Fairbairn NG, Meppelink AM, Ng-Glazier J, Randolph MA, Winograd JM. Augmenting peripheral nerve regeneration using stem cells: A review of current opinion. *World J Stem Cells.* 2015;7(1):11-26. doi: 10.4252/wjsc.v7.i1.11
- Griffin JW, Hogan MV, Chhabra AB, Deal DN. Peripheral nerve repair and reconstruction. *J Bone Joint Surg Am.* 2013;95(23):2144-51. doi: 10.2106/JBJS.L.00704
- Hansen C, Dinis TM, Vidal G, Ben-Mansour K, Bresson D, Egles C, et al. In-vivo analysis of nerve regeneration after sciatic nerve injury in a rat model. *International Biomechanics.* 2016;3(1):57-65. DOI: 10.1080/23335432.2016.1233077
- Faroni A, Mobasseri SA, Kingham PJ, Reid AJ. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015;82-83:160-7. doi: 10.1016/j.addr.2014.11.010
- Tymbaliuk VI, Tretyak IB, Gatsky OO. [The research of sciatic nerve combined plastics efficiency at it's large defect by it's functional recovery quantification in rats in experiment]. *Ukrainian neurosurgical journal.* 2012;(3):48-51.
- Tymbalyuk VI, Tretyak IB, Gatsky OO, Vernygorodskiy SV. [Morphometric evaluation of efficacy of modified nerve guidance tubes at bridging large rat sciatic

- nerve gap: experimental study]. *Ukrainian neurosurgical journal*. 2013;(1):32-9.
14. Sebben AD, Lichtenfels M, Braga da Silva JL. Peripheral nerve regeneration: cell therapy and neurotrophic factors. *Rev Bras Ortop*. 2011;46(6):643-9. doi: 10.1016/S2255-4971(15)30319-0
  15. Seidel MF, Wise BL, Lane NE. Nerve growth factor: an update on the science and therapy. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21(9):1223-8. doi: 10.1016/j.joca.2013.06.004
  16. Gómez-Palacio-Schjetnan A, Escobar ML. Neurotrophins and synaptic plasticity. Neurogenesis and neural plasticity. In: Belzung C, Wigmore P, eds. *Neurogenesis and Neural Plasticity*. Springer; 2013. Current Topics in Behavioral Neurosciences. Vol.15.p.117-136. doi: 10.1007/7854\_2012\_231
  17. Funa K, Sasahara M. The roles of PDGF in development and during neurogenesis in the normal and diseased nervous system. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2014;9(2):168-81. doi: 10.1007/s11481-013-9479-z
  18. Ramburrun P, Kumar P, Choonara YE, Bijukumar D, du Toit LC, Pillay V. A review of bioactive release from nerve conduits as a neurotherapeutic strategy for neuronal growth in peripheral nerve injury. *BioMed Research International*. Vol.2014, Article ID 132350, 19 pages, 2014. doi: 10.1155/2014/132350.
  19. Godinho MJ, Teh L, Pollett MA, Goodman D, Hodgetts SI, Sweetman I, et al. Immunohistochemical, ultrastructural and functional analysis of axonal regeneration through peripheral nerve grafts containing Schwann cells expressing BDNF, CNTF or NT3. *PLoS One*. 2013;8(8):e69987. doi: 10.1371/journal.pone.0069987
  20. Zhang Y, Zhang H, Katiella K, Huang W. Chemically extracted acellular allogeneic nerve graft combined with ciliary neurotrophic factor promotes sciatic nerve repair. *Neural Regen Res*. 2014;9(14):1358-64. doi: 10.4103/1673-5374.137588. PubMed PMID: 25221592; PubMed Central PMCID: PMC4160866
  21. Liu G-Y, Jin Y, Zhang Q, Li R. Peripheral nerve repair: a hot spot analysis on treatment methods from 2010 to 2014. *Neural Regen Res*. 2015;10(6):996-1002. doi: 10.4103/1673-5374.158368. PMID: 26199620; PMCID: PMC4498365
  22. Whitlock EL, Tuffaha SH, Luciano JP, Yan Y, Hunter DA, Magill CK, et al. Processed allografts and type I collagen conduits for repair of peripheral nerve gaps. *Muscle Nerve*. 2009;39(6):787-99. doi: 10.1002/mus.21220. PubMed PMID: 19291791
  23. Paczkowska E, Kaczyńska K, Pius-Sadowska E, Rogińska D, Kawa M, Ustianowski P, Safranow K, et al. Humoral activity of cord blood-derived stem/progenitor cells: implications for stem cell-based adjuvant therapy of neurodegenerative disorders. *PLoS One*. 2013;8(12):e83833. doi: 10.1371/journal.pone.0083833. eCollection 2013. PubMed PMID: 24391835; PubMed Central PMCID: PMC3877125
  24. Battiston B, Titolo P, Ciclamini D, Panero B. Peripheral Nerve Defects: Overviews of Practice in Europe. *Hand Clin*. 2017;33(3):545-550. doi: 10.1016/j.hcl.2017.04.005. Review. PubMed PMID: 28673630
  25. Belkas JS, Shoichet MS, Midha R. Peripheral nerve regeneration through guidance tubes. *Neurol Res*. 2004;26(2):151-60. Review. doi: 10.1179/016164104225013798. PubMed PMID: 15072634
  26. Brooks DN, Weber RV, Chao JD, Rinker BD, Zoldos J, Robichaux MR, et al. Processed nerve allografts for peripheral nerve reconstruction: a multicenter study of utilization and outcomes in sensory, mixed, and motor nerve reconstructions. *Microsurgery*. 2012;32(1):1-14. doi: 10.1002/micr.20975. PubMed PMID: 22121093
  27. Kim BS, Yoo JJ, Atala A. Peripheral nerve regeneration using acellular nerve grafts. *J Biomed Mater Res A*. 2004;68(2):201-9. doi: 10.1002/jbm.a.10045. PubMed PMID: 14704961
  28. Ikegami Y, Ijima H. Development of heparin-conjugated nanofibers and a novel biological signal by immobilized growth factors for peripheral nerve regeneration. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2020;129(3):354-362

29. Pabari A, Yang SY, Seifalian AM, Mosahebi A. Modern surgical management of peripheral nerve gap. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(12):1941-8. doi: 10.1016/j.bjps.2009.12.010. PMID: 20061198
30. Birch R. Nerve Repair. In: Wolfe S, Pederson W, Kozin SH. *Green's Operative Hand Surgery.* 6th ed. Philadelphia; 2011p.1035-1074.
31. Zolotov AS, Pak OY. [K voprosu ob istoriyi xirurgicheskix operaciy pry raneniyax peryfericheskix nervov]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii.* 2013;(3):162-166.
32. Gatsky OO. [Kombinovana plastyka peryferichnykh nerviv pry yich velykix defektax (eksperymentalne doslidzhennya) [dysertaciya]. Kyiv: In-t nejrochirurgiyi im. A.P. Romodanova NAMN Ukraine; 2015. p23.
33. Kehoe S, Zhang XF, Boyd D. FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy. *Injury.* 2012;43(5):553-72. doi: 10.1016/j.injury.2010.12.030
34. Safa B, Buncke G. Autograft Substitutes: Conduits and Processed Nerve Allografts. *Hand Clin.* 2016;32(2):127-40. doi: 10.1016/j.hcl.2015.12.012. Review. PubMed PMID: 27094886
35. Yan Y, MacEwan MR, Hunter DA, Farber S, Newton P, Tung TH, et al. Nerve regeneration in rat limb allografts: evaluation of acute rejection rescue. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(4):499e-511e. doi: 10.1097/PRS.0b013e31828275b7. PubMed PMID: 23542267; PubMed Central PMCID: PMC3613760
36. García-Medrano B, Mesuro Domínguez N, Simon Perez C, Garrosa García M, Gayoso del Villar S, Mayo Íscar A, et al. Repair of nerve injury by implanting prostheses obtained from isogenic acellular nerve segments. *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (English Edition).* 2017;61(5):359-366. doi: 10.1016/j.recote.2017.08.011
37. Neubauer D, Graham JB, Muir D. Chondroitinase treatment increases the effective length of acellular nerve grafts. *Exp Neurol.* 2007;207(1):163-70. doi:10.1016/j.expneurol.2007.06.006. PMID: 17669401; PMCID: PMC2956445
38. Gunn S, Cosetti M, Roland JT Jr. Processed allograft: novel use in facial nerve repair after resection of a rare racial nerve paraganglioma. *Laryngoscope.* 2010;120(4):S206. doi: 10.1002/lary.21674. PubMed PMID: 21225804
39. Karabekmez FE, Duymaz A, Moran SL. Early clinical outcomes with the use of decellularized nerve allograft for repair of sensory defects within the hand. *Hand (NY).* 2009 Sep;4(3):245-9. doi: 10.1007/s11552-009-9195-6. PubMed PMID: 19412640; PubMed Central PMCID: PMC2724628
40. Braga Silva J, Marchese GM, Cauduro CG, Debiasi M. Nerve conduits for treating peripheral nerve injuries: A systematic literature review. *Hand Surg Rehabil.* 2017;36(2):71-85. doi: 10.1016/j.hansur.2016.10.212. PubMed PMID: 28325431
41. Mackinnon SE, Dellon AL. Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg.* 1990;85(3): 419-24. PMID:2154831. doi: 10.1097/00006534-199003000-00015
42. Costa MP, Teixeira NH, Longo MV, Gemperli R, Costa HJ. Combined polyglycolic acid tube and autografting versus autografting or polyglycolic acid tube alone. A comparative study of peripheral nerve regeneration in rats. *Acta Cirurgica Brasileira.* 2015;30(1):46-53. doi: 10.1590/S0102-86502015001000006. PubMed PMID:25627270
43. Konofaos P, Ver Halen JP. Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. *J Reconstr Microsurg.* 2013;29(3):149-64. doi: 10.1055/s-0032-1333316. PMID: 23303520
44. Krarup C, Archibald SJ, Madison RD. Factors that influence peripheral nerve regeneration: an electrophysiological study of the monkey median nerve. *Ann Neurol.* 2002;51(1):69-81. PubMed PMID:11782986
45. Rodríguez FJ, Verdú E, Ceballos D, Navarro X. Nerve guides seeded with autologous schwann cells improve nerve regeneration. *Exp Neurol.* 2000;161(2):571-84. PubMed PMID: 10686077. DOI: 10.1006/exnr.1999.7315

46. Benga A, Zor F, Korkmaz A, Marinescu B, Gorantla V. The neurochemistry of peripheral nerve regeneration. *Indian J Plast Surg.* 2017;50(1):5-15. doi: 10.4103/ijps.IJPS\_14\_17. PubMed PMID: 28615804; PubMed Central PMCID: PMC5469235
47. Rbia N, Shin AY. The Role of Nerve Graft Substitutes in Motor and Mixed Motor/Sensory Peripheral Nerve Injuries. *J Hand Surg Am.* 2017;42(5):367-377. doi: 10.1016/j.jhsa.2017.02.017. PMID: 28473159
48. Lui H, Vaquette C, Bindra R. Tissue Engineering in Hand Surgery: A Technology Update. *J Hand Surg Am.* 2017;42(9):727-735. doi: 10.1016/j.jhsa.2017.06.014. PMID: 28751113
49. Sensharma P, Madhumathi G, Jayant RD, Jaiswal AK. Biomaterials and cells for neural tissue engineering: Current choices. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;77:1302-15. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.264. PMID: 28532008
50. Wang EW, Zhang J, Huang JH. Repairing peripheral nerve injury using tissue engineering techniques. *Neural Regen Res.* 2015;10(9):1393-4. doi: 10.4103/1673-5374.165501. PMID: 26604891; PMCID: PMC4625496
51. Gao Y, Wang YL, Kong D, Qu B, Su XJ, Li H, et al. Nerve autografts and tissue-engineered materials for the repair of peripheral nerve injuries: a 5-year bibliometric analysis. *Neural Regen Res.* 2015;10(6):1003-8. doi: 10.4103/1673-5374.158369. PMID: 26199621; PMCID: PMC4498331.
52. Jones S, Eisenberg HM, Jia X. Advances and Future Applications of Augmented Peripheral Nerve Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2016;17(9). pii: E1494. doi: 10.3390/ijms17091494. Review. PubMed PMID: 27618010; PubMed Central PMCID: PMC5037771
53. Jiang L, Jones S, Jia X. Stem Cell Transplantation for Peripheral Nerve Regeneration: Current Options and Opportunities. *Int J Mol Sci.* 2017;18(1):94. doi: 10.3390/ijms18010094. PMID: 28067783; PMCID: PMC5297728
54. Sullivan R, Dailey T, Duncan K, Abel N, Borlongan CV. Peripheral Nerve Injury: Stem Cell Therapy and Peripheral Nerve Transfer. *Int J Mol Sci.* 2016;17(12):2101. doi: 10.3390/ijms17122101. PMID: 27983642; PMCID: PMC5187901
55. Walsh S, Midha R. Practical considerations concerning the use of stem cells for peripheral nerve repair. *Neurosurg Focus.* 2009;26(2):E2. doi: 10.3171/FOC.2009.26.2.E2. PMID: 19435443
56. Culme-Seymour EJ, Davies JL, Hitchcock J, Mason J, Carpenter MK, Mason C. Cell Therapy Regulatory Toolkit: an online regulatory resource. *Regen Med.* 2015;10(5):531-4. doi: 10.2217/rme.15.33. PMID: 26237697
57. Grochmal J1, Midha R. Recent advances in stem cell-mediated peripheral nerve repair. *Cells Tissues Organs.* 2015;200(1):13-22. doi: 10.1159/000369450. PMID: 25825283
58. Hundepool CA, Nijhuis TH, Mohseny B, Selles RW, Hovius SE. The effect of stem cells in bridging peripheral nerve defects: a meta-analysis. *J Neurosurg.* 2014;121(1):195-209. doi: 10.3171/2014.4.JNS131260. PubMed PMID: 24816327
59. Nijhuis TH, Bodar CW, van Neck JW, Walbeehm ET, Siemionow M, Madajka M, et al. Natural conduits for bridging a 15-mm nerve defect: comparison of the vein supported by muscle and bone marrow stromal cells with a nerve autograft. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66(2):251-9. doi: 10.1016/j.bjps.2012.09.011. PubMed PMID: 23063384.
60. Sverdlov ED, Mineev K. Mutation rate in stem cells: an underestimated barrier on the way to therapy. *Trends Mol Med.* 2013;19(5):273-80. doi: 10.1016/j.molmed.2013.01.004. Review. PubMed PMID: 23481596
61. Wang Y, Zhang Z, Chi Y, Zhang Q, Xu F, Yang Z, et al. Long-term cultured mesenchymal stem cells frequently develop genomic mutations but do not undergo malignant transformation. *Cell Death & Disease.* 2013;4(12):e950. doi: 10.1038/cddis.2013.480.
62. Dąbrowska AM, Skopiński P. Stem cells in regenerative medicine – from laboratory to

- clinical application – the eye. *Cent Eur J Immunol.* 2017;42(2):173-180. doi: 10.5114/cej.2017.69360. PMID: 28860936. PMCID: PMC5573891.
63. Hakki SS, Turaç G, Bozkurt SB, Kayis SA, Hakki EE, Şahin E, et al. Comparison of Different Sources of Mesenchymal Stem Cells: Palatal versus Lipoaspirated Adipose Tissue. *Cells Tissues Organs.* 2017;204(5-6):228-240. doi: 10.1159/000478998
64. Heo JS, Choi Y, Kim HS, Kim HO. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *Int J Mol Med.* 2016;37(1):115-25. doi: 10.3892/ijmm.2015.2413. PMID: 26719857 PMCID: PMC4687432
65. Macrin D, Joseph JP, Pillai AA, Devi A. Eminent Sources of Adult Mesenchymal Stem Cells and Their Therapeutic Imminence. *Stem Cell Rev.* 2017;13(6):741-756. doi: 10.1007/s12015-017-9759-8. PMID: 28812219
66. Lynch K, Pei M. Age associated communication between cells and matrix: a potential impact on stem cell-based tissue regeneration strategies. *Organogenesis.* 2014;10(3):289-98 doi: 10.4161/15476278.2014.970089. Review. PubMed PMID: 25482504; PubMed Central PMCID: PMC4594597
67. Chen J, Zhang D, Li Q, Yang D, Fan Z, Ma D, et al. Effect of different cell sheet ECM microenvironment on the formation of vascular network. *Tissue Cell.* 2016;48(5):442-51. doi: 10.1016/j.tice.2016.08.002. PubMed PMID: 27561623
68. Lopatina T, Kalinina N, Karagyaur M, Stambolsky D, Rubina K, Revischin A, et al. Adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves: BDNF secreted by these cells promotes nerve healing and axon growth de novo. *PLoS One.* 2011;6(3):e17899. doi: 10.1371/journal.pone.0017899. PubMed PMID: 21423756; PubMed Central PMCID: PMC3056777
69. Liu G, Cheng Y, Guo S, Feng Y, Li Q, Jia H, et al. Transplantation of adipose-derived stem cells for peripheral nerve repair. *Int J Mol Med.* 2011;28(4):565-72. doi: 10.3892/ijmm.2011.725. PubMed PMID: 21687931
70. Jia H, Wang Y, Tong XJ, Liu GB, Li Q, Zhang LX, et al. Sciatic nerve repair by acellular nerve xenografts implanted with BMSCs in rats xenograft combined with BMSCs. *Synapse.* 2012;66(3):256-69. doi: 10.1002/syn.21508. PubMed PMID: 22127791
71. Mohammadi R, Azizi S, Delirez N, Hobbenaghi R, Amini K, Malekhetabi P. The use of undifferentiated bone marrow stromal cells for sciatic nerve regeneration in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41(5):650-6. doi: 10.1016/j.ijom.2011.10.028. PMID: 22154576
72. Nijhuis TH, Bodar CW, van Neck JW, Walbeehm ET, Siemionow M, Madajka M, et al. Natural conduits for bridging a 15-mm nerve defect: comparison of the vein supported by muscle and bone marrow stromal cells with a nerve autograft. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66(2):251-9. doi: 10.1016/j.bjps.2012.09.011. PubMed PMID: 23063384
73. Nijhuis TH, Brzezicki G, Klimczak A, Siemionow M. Isogenic venous graft supported with bone marrow stromal cells as a natural conduit for bridging a 20 mm nerve gap. *Microsurgery.* 2010;30(8):639-45. doi: 10.1002/micr.20818. PMID: 20842703
74. Salomone R, Bento RF, Costa HJ, Azzi-Nogueira D, Ovando PC, Da-Silva CF, et al. Bone marrow stem cells in facial nerve regeneration from isolated stumps. *Muscle and Nerve.* 2013;48(3):423-9. doi: 10.1002/mus.23768. PMID: 23824709
75. Kingham PJ, Kolar MK, Novikova LN, Novikov LN, Wiberg M. Stimulating the neurotrophic and angiogenic properties of human adipose-derived stem cells enhances nerve repair. *Stem Cells Dev.* 2014;23(7):741-54. doi: 10.1089/scd.2013.0396. PMID: 24124760
76. Lin L, Du L. The role of secreted factors in stem cells-mediated immune regulation. *Cell Immunol.* 2018;326:24-32. doi: 10.1016/j.cellimm.2017.07.010. PMID: 28778535
77. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free

- Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9): pii: E1852. doi: 10.3390/ijms18091852. PMID: 28841158.; PMCID: PMC5618501
78. Petrova ES. [The use of stem cells to stimulate regeneration of damaged nerve]. *Cytology.* 2012; 54(7):525-540.
79. Kerman BE, Kim HJ, Padmanabhan K, Mei A, Georges S, Joens MS, et al. In vitro myelin formation using embryonic stem cells. *Development.* 2015;142(12):2213-25. doi: 10.1242/dev.116517. PMID: 26015546
80. Petrova ES, Isaeva EN, Korzhevskii DE. Differentiation of dissociated rat embryonic brain after allotransplantation into damaged nerve. *Bull Exp Biol Med.* 2013 Nov;156(1):136-8. PMID: 24319710. doi: 10.1007/s10517-013-2296-9
81. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;282(5391):1145-7. PMID: 9804556. doi: 10.1126/science.282.5391.1145
82. Barberi T, Willis LM, Socci ND, Studer L. Derivation of multipotent mesenchymal precursors from human embryonic stem cells. *PLoS Med.* 2005;2(6):e161. DOI: 10.1371/journal.pmed.0020161. PMCID: PMC1160574; PMID: 15971941
83. Li Y, Wang R, Qiao N, Peng G, Zhang K, Tang K, et al. Transcriptome analysis reveals determinant stages controlling human embryonic stem cell commitment to neuronal cells. *J Biol Chem.* 2017;292(48):19590-19604. doi: 10.1074/jbc.M117.796383. PMID: 28972157.
84. Alić I, Kosi N, Kapuralin K, Gorup D, Gajović S, Pochet R, et al. Neural stem cells from mouse strain Thy1 YFP-16 are a valuable tool to monitor and evaluate neuronal differentiation and morphology. *Neurosci Letter.* 2016;634:32-41. doi: 10.1016/j.neulet.2016.10.001
85. Johnson TS, O'Neill AC, Motarjem PM, Nazzal J, Randolph M, Winograd JM. Tumor formation following murine neural precursor cell transplantation in a rat peripheral nerve injury model. *J Reconstr Microsurg.* 2008;24(8): 545-50. doi: 10.1055/s-0028-1088228. PMID: 18819061
86. Roche P, Alekseeva T, Widaa A, Ryan A, Matsiko A, Walsh M, et al. Olfactory Derived Stem Cells Delivered in a Biphasic Conduit Promote Peripheral Nerve Repair In Vivo. *Stem Cells Transl Med.* 2017;6(10): 1894-1904. doi: 10.1002/sctm.16-0420. PMID: 28960910
87. Batioglu-Karaaltin A, Karaaltin MV, Oztel ON, Ovali E, Sener BM, Adatepe T, et al. Human olfactory stem cells for injured facial nerve reconstruction in a rat model. *Head Neck.* 2016;38 (Suppl 1):E2011-20. doi: 10.1002/hed.24371. PubMed PMID: 26829770
88. Kabiri M, Oraee-Yazdani S, Shafiee A, Hanaee-Ahvaz H, Dodel M, Vaseei M, et al. Neuroregenerative effects of olfactory ensheathing cells transplanted in a multi-layered conductive nanofibrous conduit in peripheral nerve repair in rats. *J Biomed Sci.* 2015;22:35. doi: 10.1186/s12929-015-0144-0. PMID: 25986461; PMCID: PMC4437686.
89. Guérout N, Duclos C, Drouot L, Abramovici O, Bon-Mardion N, Lacoume Y, et al. Transplantation of olfactory ensheathing cells promotes axonal regeneration and functional recovery of peripheral nerve lesion in rats. *Muscle Nerve.* 2011;43(4):543-51. doi: 10.1002/mus.21907. PMID: 21305567
90. Guo J, Guo S, Wang Y, Yu Y. Promoting potential of adipose derived stem cells on peripheral nerve regeneration. *Mol Med Rep.* 2017;16(5):7297-304. doi: 10.3892/mmr.2017.7570. PMID:28944869. PMCID:PMC5865858
91. Ullah I, Park JM, Kang YH, Byun JH, Kim DG, Kim JH, et al. Transplantation of Human Dental Pulp-Derived Stem Cells or Differentiated Neuronal Cells from Human Dental Pulp-Derived Stem Cells Identically Enhances Regeneration of the Injured Peripheral Nerve. *Stem Cells Dev.* 2017;26(17):1247-57. doi: 10.1089/scd.2017.0068. PMID: 28657463.
92. Sanen K, Martens W, Georgiou M, Ameloot M, Lambrechts I, Phillips J, et al. Engineered neural tissue with Schwann cell differentiated human dental pulp stem cells: potential for peripheral nerve repair? *J Tissue Eng Regen Med.* 2017;11(12):3362-

3372. doi: 10.1002/term.2249. PMID: 28052540.
93. Hei WH, Almansoori AA, Sung MA, Ju KW, Seo N, Lee SH, et al. Adenovirus vector-mediated ex vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) to human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells (UCB-MSCs) promotes crush-injured rat sciatic nerve regeneration. *Neurosci Letters*. 2017;643:111-120 doi: 10.1016/j.neulet.2017.02.030. PMID:28215880.
94. Xiao B, Rao F, Guo ZY, Sun X, Wang YG, Liu SY, et al. Extracellular matrix from human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a scaffold for peripheral nerve regeneration. *Neural Regen Res*. 2016;11(7):1172-9. doi: 10.4103/1673-5374.187061. PMID: 27630705; PMC4994464; PMID: 27630705.
95. Guo ZY, Sun X, Xu XL, Zhao Q, Peng J, Wang Y. Human umbilical cord mesenchymal stem cells promote peripheral nerve repair via paracrine mechanisms. *Neural Regen Res*. 2015;10(4):651-8. doi: 10.4103/1673-5374.155442. PMID: 26170829; PMCID: PMC4424761
96. Cai S, Tsui YP, Tam KW, Shea GK, Chang RS, Ao Q, et al. Directed Differentiation of Human Bone Marrow Stromal Cells to Fate-Committed Schwann Cells. *Stem Cell Reports*. 2017;9(4):1097-1108. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.08.004. PubMed PMID: 28890164; PubMed Central PMCID: PMC5639182.
97. Nijhuis TH, Brzezicki G, Klimczak A, Siemionow M. Isogenic venous graft supported with bone marrow stromal cells as a natural conduit for bridging a 20 mm nerve gap. *Microsurgery*. 2010;30(8):639-45. doi: 10.1002/micr.20818. PMID: 20842703
98. Wang Y, Jia H, Li WY, Tong XJ, Liu GB, Kang SW. Synergistic effects of bone mesenchymal stem cells and chondroitinase ABC on nerve regeneration after acellular nerve allograft in rats. *Cell Mol Neurobiol*. 2012;32(3):361-71. doi: 10.1007/s10571-011-9764-4. PMID: 22095068
99. Ladak A, Olson J, Tredget EE, Gordon T. Differentiation of mesenchymal stem cells to support peripheral nerve regeneration in a rat model. *Exp Neurol*. 2011;228(2):242-52. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.01.013. PMID: 21281630
100. Zarbakhsh S, Bakhtiyari M, Faghihi A, Joghataei MT, Mehdizadeh M, Khoei S, et al. The effects of schwann and bone marrow stromal stem cells on sciatic nerve injury in rat: a comparison of functional recovery. *Cell J*. 2012;14(1):39-46. PubMed PMID:23626936; PubMed Central PMCID: PMC3635819
101. Yang Y, Yuan X, Ding F, Yao D, Gu Y, Liu J, et al. Repair of rat sciatic nerve gap by a silk fibroin-based scaffold added with bone marrow mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(17-18):2231-44. doi: 10.1089/ten.TEA.2010.0633. PMID: 21542668
102. Zheng L, Cui HF. Enhancement of nerve regeneration along a chitosan conduit combined with bone marrow mesenchymal stem cells. *J Mater Sci Mater Med*. 2012;23(9):2291-302. doi: 10.1007/s10856-012-4694-3. PMID: 22661248
103. de Luca AC, Fonta CM, Raffoul W, di Summa PG, Lacour SP. In vitro evaluation of gel-encapsulated adipose derived stem cells: Biochemical cues for in vivo peripheral nerve repair. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(3):676-686. doi: 10.1002/term.2486
104. Xie S, Lu F, Han J, Tao K, Wang H, Simental A, et al. Efficient generation of functional Schwann cells from adipose-derived stem cells in defined conditions. *Cell Cycle*. 2017;16(9):841-851. doi: 10.1080/15384101.2017.1304328. PubMed PMID: 28296571; PubMed Central PMCID: PMC5444349
105. Semenova VM, Lysyanyj NY, Stajno LP, Belskaya LN, Egorova DM. [Proliferative and differentiated potential of mesenchymal stem cells from adipose tissue under cultivation conditions]. *Ukrainian neurosurgical journal*. 2014;3:24-9.
106. Abbas OL, Borman H, Uysal ÇA, Gönen ZB, Aydin L, Helvacioğlu F, et al. Adipose-Derived Stem Cells Enhance Axonal Regeneration through Cross-Facial Nerve Grafting in a Rat Model of Facial Paralysis. *Plast Reconstr Surg*. 2016;138(2):387-96. doi: 10.1097/PRS.0000000000002351. PubMed PMID: 27465163

107. Klein SM, Vykoukal J, Li DP, Pan HL, Zeitler K, Alt E, et al. Peripheral Motor and Sensory Nerve Conduction following Transplantation of Undifferentiated Autologous Adipose Tissue-Derived Stem Cells in a Biodegradable U.S. Food and Drug Administration-Approved Nerve Conduit. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138(1):132-9. doi: 10.1097/PRS.0000000000002291. PubMed PMID: 27348645
108. Sowa Y1, Imura T, Numajiri T, Nishino K, Fushiki S. Adipose-derived stem cells produce factors enhancing peripheral nerve regeneration: influence of age and anatomic site of origin. *Stem Cells Dev.* 2012;21(11):1852-62. doi: 10.1089/scd.2011.0403. PMID: 22150084
109. Tomita K, Madura T, Mantovani C, Terenghi G. Differentiated adipose-derived stem cells promote myelination and enhance functional recovery in a rat model of chronic denervation. *J Neurosci Res.* 2012;90(7): 1392-402. doi: 10.1002/jnr.23002. PMID: 22419645
110. Erba P, Mantovani C, Kalbermatten DF, Pierer G, Terenghi G, Kingham PJ. Regeneration potential and survival of transplanted undifferentiated adipose tissue-derived stem cells in peripheral nerve conduits. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(12):e811-7. doi: 10.1016/j.bjps.2010.08.013. PubMed PMID: 20851070
111. Sun F, Zhou K, Mi WJ, Qiu JH. Repair of facial nerve defects with decellularized artery allografts containing autologous adipose-derived stem cells in a rat model. *Neurosci Lett.* 2011;499(2): 104-8. doi: 10.1016/j.neulet.2011.05.043. PMID: 21651959
112. Kappos EA, Engels PE, Tremp M, Meyer zu Schwabedissen M, di Summa P, Fischmann A, et al. Peripheral Nerve Repair: Multimodal Comparison of the Long-Term Regenerative Potential of Adipose Tissue-Derived Cells in a Biodegradable Conduit. *Stem Cells Dev.* 2015;24(18):2127-41. doi: 10.1089/scd.2014.0424. PubMed PMID: 26134465
113. di Summa PG, Kingham PJ, Campisi CC, Raffoul W, Kalbermatten DF. Collagen (NeuraGen®) nerve conduits and stem cells for peripheral nerve gap repair. *Neurosci Lett.* 2014;572:26-31. doi: 10.1016/j.neulet.2014.04.029. PMID: 24792394
114. di Summa PG, Kalbermatten DF, Raffoul W, Terenghi G, Kingham PJ. Extracellular matrix molecules enhance the neurotrophic effect of Schwann cell-like differentiated adipose-derived stem cells and increase cell survival under stress conditions. *Tissue Eng Part A.* 2013;19(3-4): 368-79. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0124. PMID: 22897220; PMCID: PMC3542878
115. Fairbairn NG, Randolph MA, Redmond RW. The clinical applications of human amnion in plastic surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014;67(5):662-75. doi: 10.1016/j.bjps.2014.01.031. PMID: 24560801
116. Gärtner A, Pereira T, Alves MG, Armada-da-Silva PA, Amorim I, Gomes R, et al. Use of poly(DL-lactide-ε-caprolactone) membranes and mesenchymal stem cells from the Wharton's jelly of the umbilical cord for promoting nerve regeneration in axonotmesis: in vitro and in vivo analysis. *Differentiation.* 2012;84(5):355-65. doi: 10.1016/j.diff.2012.10.001. PMID: 23142731
117. Matsuse D, Kitada M, Kohama M, Nishikawa K, Makinoshima H, Wakao S, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells differentiate into functional Schwann cells that sustain peripheral nerve regeneration. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2010 Sep;69(9):973-85. doi: 10.1097/NEN.0b013e3181eff6dc. PubMed PMID: 20720501
118. Cottle BJ, Lewis FC, Shone V, Ellison-Hughes GM. Skeletal muscle-derived interstitial progenitor cells (PICs) display stem cell properties, being clonogenic, self-renewing, and multi-potent in vitro and in vivo. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8(1): 158. doi: 10.1186/s13287-017-0612-4. PubMed PMID: 28676130; PubMed Central PMCID: PMC5496597
119. Tamaki T, Hirata M, Soeda S, Nakajima N, Saito K, Nakazato K, et al. Preferential and comprehensive reconstitution of severely damaged sciatic nerve using murine skeletal

- muscle-derived multipotent stem cells. *PLoS One*. 2014;9(3):e91257. doi: 10.1371/journal.pone.0091257. eCollection 2014. PubMed PMID: 24614849; PubMed Central PMCID: PMC3948784
120. Johnson TS, O'Neill AC, Motarjem PM, Amann C, Nguyen T, Randolph MA, et al. Photochemical tissue bonding: a promising technique for peripheral nerve repair. *J Surg Res*. 2007;143(2):224-9. PubMed PMID: 17543988. DOI: 10.1016/j.jss.2007.01.028
121. Yoshikawa M, Nakasa T, Ishikawa M, Adachi N, Ochi M. Evaluation of autologous skeletal muscle-derived factors for regenerative medicine applications. *Bone Joint Res*. 2017;6(5): 277-83. doi: 10.1302/2046-3758.65.BJR-2016-0187.R1. PMID: 28473335; PMCID:PMC5457645
122. Tamaki T, Hirata M, Nakajima N, Saito K, Hashimoto H, Soeda S, et al. A Long-Gap Peripheral Nerve Injury Therapy Using Human Skeletal Muscle-Derived Stem Cells (Sk-SCs): An Achievement of Significant Morphological, Numerical and Functional Recovery. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166639. PubMed PMID: 27846318; PubMed Central PMCID: PMC5112878. doi: 10.1371/journal.pone.0166639
123. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4): 663-76. PMID: 16904174. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024
124. Kang S, Chen X, Gong S, Yu P, Yau S, Su Z, et al. Characteristic analyses of a neural differentiation model from iPSC-derived neuron according to morphology, physiology, and global gene expression pattern. *Sci Rep*. 2017;7(1):12233. doi: 10.1038/s41598-017-12452-x. PubMed PMID: 28947763; PubMed Central PMCID: PMC5612987
125. Ikeda M, Uemura T, Takamatsu K, Okada M, Kazuki K, Tabata Y, et al. Acceleration of peripheral nerve regeneration using nerve conduits in combination with induced pluripotent stem cell technology and a basic fibroblast growth factor drug delivery system. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102(5):1370-8. doi: 10.1002/jbm.a.34816. PubMed PMID: 23733515
126. Satarian L, Javan M, Kiani S, Hajikaram M, Mirnajafi-Zadeh J, Baharvand H. Engrafted human induced pluripotent stem cell-derived anterior specified neural progenitors protect the rat crushed optic nerve. *PLoS One*. 2013;8(8):e71855. doi:10.1371/journal.pone.0071855. PubMed PMID: 23977164; PubMed Central PMCID: PMC3747054
127. Uemura T, Takamatsu K, Ikeda M, Okada M, Kazuki K, Ikada Y, et al. Transplantation of induced pluripotent stem cell-derived neurospheres for peripheral nerve repair. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;419(1):130-5. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.01.154. PMID: 22333572
128. Ben-David U, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(4): 268-77. doi: 10.1038/nrc3034
129. Sieber-Blum M, Grim M, Hu Y, Szeder V. Pluripotent neural crest stem cells in the adult hair follicle. *Dev Dyn*. 2004;231(2):258-69. doi: 10.1002/dvdy.20129. PMID: 15366003
130. Tsybalyuk VI, Molotkovets VYu, Medvedev VV, Luzan BM, Petriv TI. [Efficiency weld the damaged peripheral nerve rat according to estimates sciatic nerve functional index]. *Ukrainian neurological journal*. 2017;(2):63-68
131. Achilleos A, Trainor PA. Neural crest stem cells: discovery, properties and potential for therapy. *Cell Res*. 2012;22(2):288-304. doi: 10.1038/cr.2012.11. PMID: 22231630; PMCID: PMC3271580
132. Mii S, Duong J, Tome Y, Uchugonova A, Liu F, Amoh Y, et al. Nestin-Expressing Hair-Follicle-Associated Pluripotent (HAP) Stem Cells Promote Whisker Sensory-Nerve Growth in Long-Term 3D-Gelfoam® Histoculture. *Methods Mol Biol*. 2016;1453:39-47. doi: 10.1007/978-1-4939-3786-8\_6. PubMed PMID: 27431245
133. Tsybaliuk VY, Medvedev VV. [Neurogenic stem cells]. Kiev:Koval; 2005. P.596
134. Hoffman RM. Introduction to Hair-Follicle-Associated Pluripotent Stem Cells. *Methods*

- Mol Biol.* 2016;1453:1-5. doi: 10.1007/978-1-4939-3786-8\_1. PMID: 27431240
135. Hoffman RM. Nestin-expressing hair follicle-accessible pluripotent stem cells for nerve and spinal cord repair. *Cells Tissues Organs.* 2014 Jul; 200(1): 42-7. doi: 10.1159/000366098. PMID: 25766743
136. Vasyliiev RG, Rodnichenko AE, Shamalo SN, Demidchouk AS, Labunets IF, Chaikovskii YuB, et al. Effects of Neural Crest-Derived Multipotent Stem Cells on Regeneration of an Injured Peripheral Nerve in Mice. *Neurophysiology.* 2015;47(1): 80-3. doi:10.1007/s11062-015-9501-6.
137. Vasyliiev RG. [Multipotent Stem Cells of Bulbar Region of Hair Follicle with Properties of Neural Crest Derivatives]. *Problems of cryobiology.* 2012; 22 (2):165-68
138. Motohashi T, Yamanaka K, Chiba K, Aoki H, Kunisada T. Unexpected multipotency of melanoblasts isolated from murine skin. *Stem Cells.* 2009;27(4):888-97. doi: 10.1634/stemcells.2008-0678. PMID: 19350691
139. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Penman S, Hoffman RM. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(15):5530-4. PubMed PMID: 15802470; PubMed Central PMCID: PMC556262. DOI: 10.1073/pnas.0501263102
140. Najafzadeh N, Esmailzade B, Dastan Imchek M. Hair follicle stem cells: In vitro and in vivo neural differentiation. *World J Stem Cells.* 2015;7(5):866-72. doi:10.4252/wjsc.v7.i5.866. PMID: 26131317; PMCID: PMC4478633
141. Amoh Y, Kanoh M, Niiyama S, Kawahara K, Sato Y, Katsuoka K, et al. Hoffman. Human and mouse hair follicles contain both multipotent and monopotent stem cells. *Cell Cycle.* 2009;8(1):176-7. doi: 10.4161/cc.8.1.7342. PMID: 19106614
142. Amoh Y, Hoffman RM. Hair follicle-associated-pluripotent (HAP) stem cells. *Cell Cycle.* 2017;16(22):2169-2175. PMID: 28749199. doi: 10.1080/15384101.2017.1356513
143. Amoh Y, Aki R, Hamada Y, Niiyama S, Eshima K, Kawahara K, et al. Nestin-positive hair follicle pluripotent stem cells can promote regeneration of impinged peripheral nerve injury. *J Dermatol.* 2012;39(1):33-8. doi: 10.1111/j.1346-8138.2011.01413.x. PMID: 22098554
144. Amoh Y, Kanoh M, Niiyama S, Hamada Y, Kawahara K, Sato Y, et al. Human hair follicle pluripotent stem (hfPS) cells promote regeneration of peripheral-nerve injury: an advantageous alternative to ES and iPS cells. *J Cell Biochem.* 2009;107(5): 1016-20. doi: 10.1002/jcb.22204. PMID: 19507228
145. Amoh Y, Li L, Campillo R, Kawahara K, Katsuoka K, Penman S, et al. Implanted hair follicle stem cells form Schwann cells that support repair of severed peripheral nerves. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(49):17734-8. doi: 10.1073/pnas.0508440102. PubMed PMID: 16314569; PubMed Central PMCID: PMC1308908
146. Lin H, Liu F, Zhang C, Zhang Z, Guo J, Ren C, et al. Pluripotent hair follicle neural crest stem-cell-derived neurons and schwann cells functionally repair sciatic nerves in rats. *Mol Neurobiol.* 2009;40(3):216-23. doi: 10.1007/s12035-009-8082-z. PMID: 19728182
147. Yamazaki A, Obara K, Tohgi N, Shirai K, Mii S, Hamada Y, et al. Implanted hair-follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells encapsulated in polyvinylidene fluoride membrane cylinders promote effective recovery of peripheral nerve injury. *Cell Cycle.* 2017;16(20):1927-32. doi: 10.1080/15384101.2017.1363941. PMID: 28886268; PMCID: PMC5638363

(received 21.04.2020, published online 29.06.2020)

(одержано 21.04.2020, опубліковано 29.06.2020)