

Морфохимическая характеристика спинного мозга крыс после торакальной сегментэктомии и трансплантации полимерного коллагенового нейроматрикса «Сферогель–Э»TM с инкорпорированными обкладочными нейроэпителиальными клетками

И.С. Брюховецкий, И.В. Дюйзен, П.А. Мотавкин

Кафедра гистологии Владивостокского государственного медицинского университета

Лаборатория фармакологии Владивостокского государственного медицинского университета

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

The morphology and chemistry of a rat spinal cord after thoracal segmentectomy and transplantation of polymeric collagen neuromatrix "Spherogel - E"TM containing incorporated ensheathing neuroepithelial cells

I.S. Bryukhovetsky, I.V. Dyuzhen, P.A. Motavkin

Department of Histology, Vladivostok State Medical University

Laboratory of Pharmacology, Vladivostok State Medical University

A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, the Far Eastern Branch of the RAS, Vladivostok

С помощью гистологических и иммуногистохимических методов выявления GAP-43 и NF-200 исследованы тканевые перестройки и нейрохимические изменения в тканях рубца спинного мозга крыс, перенесших торакальную сегментэктомию с последующей трансплантацией обкладочных нейроэпителиальных клеток (ОНК), инкорпорированных в нейроматрикс «Сферогель–Э»TM. Изменения в спинном мозге крыс контрольной группы на 1–2 неделе соответствует классическому варианту с формированием к 10–12 неделе плотной глиально-соединительнотканной капсулы. Проллиферативные процессы в спинном мозге экспериментальных животных начинаются в более ранние сроки, характеризуются меньшей выраженностью и особой архитектурой глиальной реакции, активной пролиферацией соединительнотканых клеток и высоким уровнем макрофагальной активности. Сформированный рубец включает в себя большое число новообразованных капилляров и пучков нервных волокон, среди которых преобладают GAP-43- и NF-200-иммунопозитивные элементы. Предполагается, что у животных экспериментальной группы изменение морфохимических свойств рубцовой ткани, замещающей дефект спинного мозга после его перерезки, обеспечивается: 1. модулирующей ролью коллагенового нейроматрикса; 2 – метаболической ролью трансплантированных ОНК, способных секретировать активные нейротрофические факторы, управляющие регенерацией и ремиелинизацией поврежденных нервных проводников.

Ключевые слова: спинной мозг, обкладочные нейроэпителиальные клетки, сегментэктомия, рубец, иммуногистохимическое исследование.

Введение

Активное изучение репаративного потенциала стволовых клеток в настоящее время служит основанием для существенной корректировки некоторых аксиом классической неврологии, касающихся ограниченных возможностей нейрона к самовосстановлению. В этой связи в клинико-экспериментальной практике наблюдается отчетливая тенденция к отходу от традиционно пессимистической оценки реабилитационных возможностей больных с травмой спинного мозга [1, 2]. Известно, что основным препятствием на пути к клинически ценному восстановлению у спинальных больных является посттравматический глиальный рубец и обширные «пустые» пространства, которые необходимо преодолеть

Using classical histological methods and immunocytochemical reaction on GAP43 and NF200 we studied the process of tissue reorganizations and neurochemical changes accompanying the scar formation in rat spinal cord after thoracal segmentectomy and subsequent transplantation of olfactory ensheathing cells, incorporated in neuromatrix «Spherogel». In spinal cord of control rats formation on gliomesodermal capsulus was the result of classical histoproliferative reaction. The morphology of scar tissue in experimental rats differed markedly from control group. Its formations began at early stages and were associated with proliferation of both connective tissue and astrocytes, and macrophages infiltration. As result the new tissue included a lot of capillaries and bundles of nerve fibers with GAP43 and NF-200 immunopositivity. We conclude that the better tissue repair, their revascularization and nerve regeneration, were the result of two main factors: 1 – modulating role of neuromatrix; 2 – metabolic and neurotrophic activity of trasplanted olfactory ensheathing cells.

Key words: spinal cord, ensheathing neuroepithelial cells, segmentectomy, scar, immunohistochemical study.

растущим аксонам для установления утраченных связей [3]. С другой стороны, при отсутствии консолидирующей ткани рубца между краниальным и каудальным отрезками спинного мозга (в случае обширных повреждений), они подвергаются ретракции, что делает восстановление нервных связей невозможным [4, 5]. Поэтому важной задачей реконструктивной нейромедицины является выявление способов управления скоростью и качеством образующейся ткани, замещающей нейрональный дефект.

Значительным шагом в этом направлении стало использование биополимерных материалов, в большой степени решающих эту задачу, а также создающих оптимальные условия для выживания трансплантированных клеточных культур

и реализации их репаративных возможностей. В ряде экспериментов на животных было показано, что через имплантируемую биополимерную композицию, создающую своеобразный «мост» между концами рассеченного спинного мозга, возможно прорастание поврежденных аксонов и восстановление некоторых утраченных функций спинного мозга [6, 7]. При этом, мультипотентные клеточные элементы, внесенные в гелевую полимерную среду, продолжают активно функционировать, направляя вектор своей дифференцировки в соответствии с условиями локального микроокружения [8]. Это, в конечном итоге, способствует созданию благоприятных возможностей для регенерации нервных волокон, что во многом обусловлено секреторной нейротрофической деятельностью клеточных трансплантатов [8, 9].

В настоящее время вопрос о выборе оптимального клеточного материала для биоинженерной терапии таких поврежденных встает особенно остро. Нерешенность ряда как биомедицинских (иммунологический конфликт, онкологическая опасность), так и этико-правовых вопросов существенно ограничивает спектр допустимых для применения клеточных линий. В свете вышесказанного, использование обкладочных нейроэпителиальных клеток (ОНК) позволяет избежать проблем иммунного конфликта, а технология их получения не имеет этических, юридических и моральных ограничений. Использование только собственного донорского материала снижает (исключает) риск заражения пациента. ОНК могут быть в достаточном количестве получены из образцов ткани обонятельной выстилки носа, не формируя при этом непоправимого тканевого дефекта, поскольку их популяция находится в состоянии непрерывного самообновления [10].

В качестве основы для тканевой терапии современные исследователи предлагают использовать различные природные и синтетические материалы — коллаген, полиглюколевую кислоту, карбонильные нити и т. д. [11, 12]. Наилучшие результаты в этом направлении были получены в лаборатории S. Woerly (1993–1998), который предложил заполнять дефекты нервной ткани биополимерным протезом «НейроГель»™ [7], и Ch. Vacantu с соавт. (1996), которые описали результаты экспериментального использования биоматрикса [6]. В России сотрудники клиники «НейроВита» (А.С. Брюховецкий с соавт., 2002) совместно с лабораторией биоматериалов НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ (В.И. Севастьянов с соавт., 2002, 2004) разработали и запатентовали универсальный гетерогенный коллагеновый матрикс «Сферогель-Э»™ и отработали способ его получения и использования (патент РФ RU №2249462). Помимо функции «моста» Сферогель-Э™ способен выполнять роль «питательной среды» для содержащихся в нем клеточных элементов, индуцирующих прорастание поврежденных аксонов нервных клеток через патологически измененные участки ткани спинного мозга [11].

Целью настоящего исследования была оценка тканевых перестроек, пролиферативных процессов и характера нейрохимических изменений в тканях рубца спинного мозга у крыс, перенесших торакальную сегментэктомию с последующей трансплантацией ОНК, инкорпорированных в биополимерный нейроматрикс «Сферогель-Э»™.

Материал и методы

В эксперименте использованы половозрелые беспородные крысы самки массой не менее 300 г. Все животные были разделены на две группы — контрольную (n=12) и опытную (n=10). Нами использована экспериментальная модель травмы спинного мозга, разработанная S. Woerly (2001) [7] и создающая ситуацию полного анатомического перерыва с утратой целостности спинномозговых оболочек. Обезболивание осуществлялось путем внутривентрального введения 1 мл

смеси, состоящей из 2% раствора ксилазина (0,18 мл), 10% раствора кетамина (0,36 мл) и 0,5% раствора новокаина (0,46 мл). После проведения торакальной сегментэктомии (иссечение фрагмента спинного мозга на уровне Th8–Th10) у крыс контрольной группы дефект спинного мозга заполняли гемостатической губкой и изолировали от окружающих тканей подкожно-жировой клетчаткой. У крыс опытной группы дефект спинного мозга заполняли препаратом «Сферогель-Э»™ с инкорпорированными в него ОНК. ОНК внедряли в нейроматрикс непосредственно перед трансплантацией путем последовательного насаивания и центрифугирования (1000 об/мин, 10 мин.) при температуре +10°C и вводили в количестве 250 тыс. каждому животному. Биополимерный нейроматрикс «Сферогель-Э»™ и культура обкладочных нейроэпителиальных клеток слизистой оболочки носа человека, полученная по методике X. Zhang и соавт. (2004) [13], были доставлены из лаборатории ЗАО «НейроВита» (Россия, Москва).

Условия содержания животных, проведения операции и послеоперационного ухода соответствовали требованиям правил лабораторной практики в РФ (2003 г.).

Для проведения гистологического анализа изменений тканей спинного мозга в ранний (через 1–2 недели) и поздний (10–12 недель) послеоперационный период животных усыпляли путем внутривентрального введения 10% раствора кетамина. Участок позвоночного столба длиной 2–2,5 см, содержащий фрагмент поврежденного спинного мозга, фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. После декальцинации в растворе муравьиной кислоты образцы заключали в парафин. Гистологические препараты изготавливали по традиционной методике. Продольные срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и 1% раствором метиленового синего.

Для иммуногистохимического анализа использовались моноклональные антитела к GAP-43 (Chemicon, Anti-Growth Associated Protein 43, clone 9–1E12, P17677, 1:10) и NF-200 (Chemicon, Anti-Neurofilament H&M, phosphorylated, clone NP1, P12036, 1:50). После депарафинирования и регидратации срезов их прогревали на водяной бане в предварительно нагретом до 95–99°C 10 мМ цитратном буфере (pH 6.0) в течение 30 минут для «демаскировки» антигенов. Затем стекла охлаждали при комнатной температуре в течение 15–20 мин. и переносили в 0.1 М фосфатный буфер (pH 7.4) на 5 мин. Для блокирования неспецифического связывания антител срезы инкубировали 15 мин. в 1% растворе бычьего сывороточного альбумина и 1% растворе нормальной лошадиной сыворотки, приготовленном на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.4). Инкубацию с первичными антителами проводили при 37°C в течение 1 часа, затем промывали 2 раза по 10 минут в фосфатном буфере. Иммунологическое выявление мест связывания антител проводили с помощью непрямой стрептавидаин-биотин-пероксидазной реакции с использованием стандартного набора VECTASTAIN Elite ABC Kit Universal (Vector laboratories, PK-7200) в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя.

Результаты

В зависимости от сроков послеоперационного периода все животные были разделены на две группы: 1–2 неделя (ранний период) и 10–12 неделя (поздний период). При гистологическом исследовании тканей спинного мозга животных контрольной и экспериментальных групп обнаружены значительные различия в темпах и характере морфологических изменений, сопровождающих организацию послеоперационного дефекта. Основное внимание мы сконцентрировали на состоянии тканей спинного мозга в области перерезки и пограничных участках.

Через одну неделю после операции у животных контрольной группы консолидация пересеченных фрагментов спинного мозга была еще не завершена: полость между краниальной и каудальной культями заполнена рыхлыми фибриновыми массами, которые перемежаются с очагами кровоизлияний и локальными воспалительными инфильтратами (рис. 1А–Д). В латеральных отделах рубца, примыкающих к мозговым оболочкам, отложения фибрина отграничены соединительно-тканными гландами, которые создавали на границе с веществом СМ рыхлую капсулу, в которой содержатся расширенные микрососуды и клетки воспалительных инфильтратов.

В центре рубца нити фибрина формируют подобие клубка, в то время как на границе с нервной тканью начинается образование глиальной капсулы, толщина и структура которой имеет неоднородное строение. Наиболее типичным для этого периода являются локальные скопления астроцитов на границе рубца, расположенных, преимущественно перпендикулярно длинной оси спинного мозга (см. рис. 1В). В результате между тканью еще не оформленного рубца и смежными зонами образуется отчетливый ограничительный валик, по обе стороны которого наблюдаются единичные или сгруппированные в небольшие кластеры макрофаги и нейтрофилы. В центральных зонах тканевого дефекта, в участках

локальных гематом они превращаются в гемосидерофаги с цитоплазмой, наполненной продуктами распада эритроцитов.

В разреженном веществе спинного мозга, прилегающего к области травмы, как в краниальном, так и в каудальном направлениях, рисунок спинного мозга с резко очерченными границами серого и белого вещества практически не выявляется. Здесь обнаруживаются многочисленные пустоты, различной формы и величины. Скопления отечной жидкости вокруг капилляров, нейронов и глиальных клеток придают ткани мозга сотовидный, ячеистый вид. При малом увеличении микроскопа можно заметить, что заполненные тканевой жидкостью пространства, приобретая сливной характер, разрывают нервную ткань на многочисленные обособленные фрагменты.

Гемодинамические нарушения, максимально выраженные в пограничных зонах, реализуются как путем облитерации и запустения мелких артериол, так и за счет избыточного их расширения и гиперемии. Клетки интимы набухают и выступают в просвет сосуда, а перикапиллярные пространства расширены за счет выхода жидкой части крови через истонченные стенки сосуда. Вследствие некробиотических изменений сосудистой оболочки форменные элементы крови выходят за пределы сосуда, скапливаясь у наружной его границы или постепенно мигрируют вглубь мозговой паренхимы, приводя к образованию вторичных, диапедезных кровоизлияний.

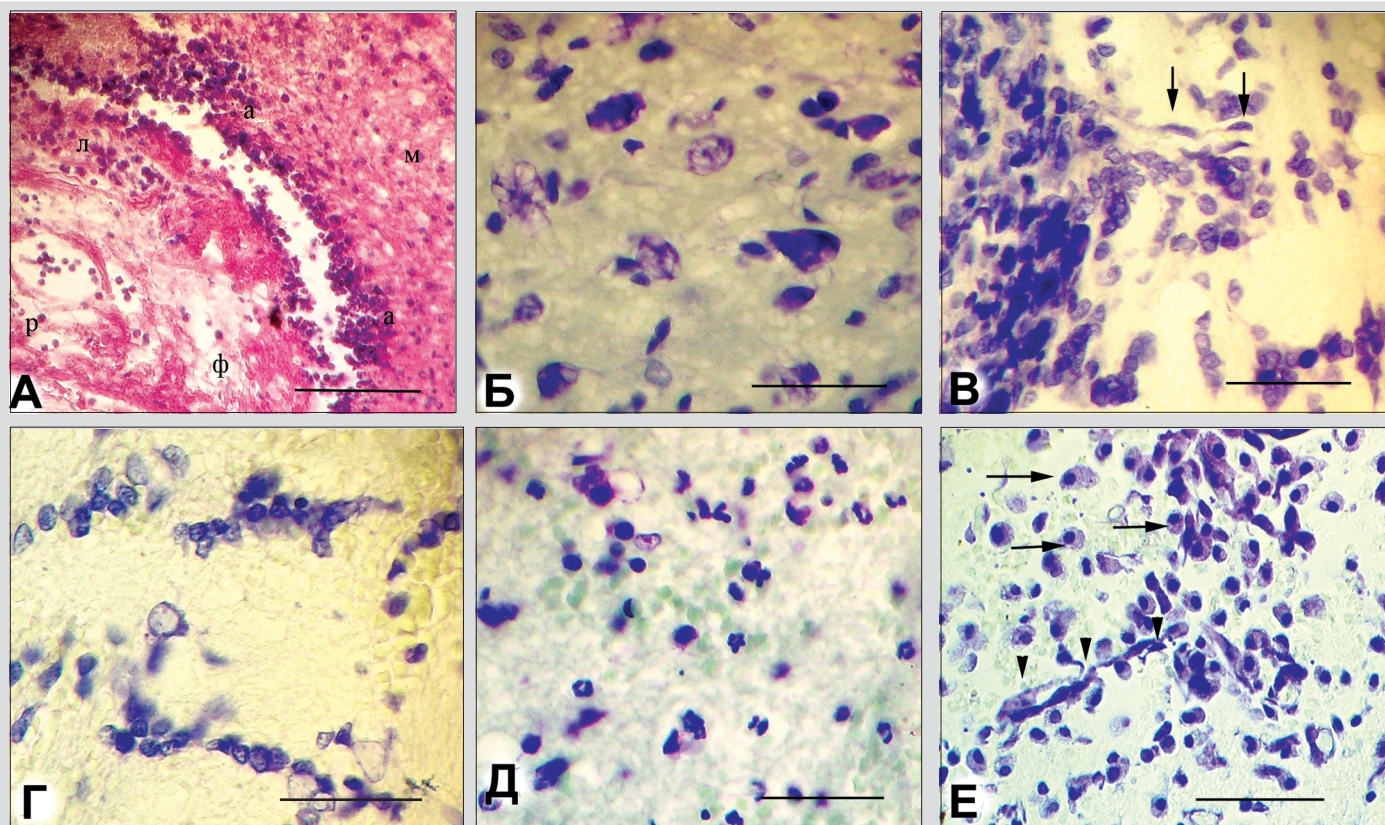


Рис 1. Структура рубцовой ткани в области перерезки спинного мозга у животных контрольной (А, Б, В, Д) и экспериментальной (Г, Е) групп через 1–2 недели после операции. В ткани рубца (р) контрольных животных (А) выявляются отложения нитей фибрина (ф), большое количество лимфоидных инфильтратов (л), а пролиферирующие астроциты (а) скапливаются на границе с веществом мозга (м). В большинстве нервных и глиальных клеток, расположенных в прилежащих областях мозга (Б), определяются признаки глубоких дистрофических изменений в виде вакуолизации цитоплазмы. В области формирования капсулы у контрольных животных глиальные клетки многослойный ограничительный вал, в котором присутствуют единичные фибробласты (В, указаны стрелками), в то время как у животных экспериментальной группы астроциты в пограничной капсуле выстраиваются в длинные продольные тяжи (Г), а многочисленные фибробласты ограничивают стенку новообразованных сосудов (Е), указаны короткими стрелками). Воспалительная реакция в тканях спинного мозга контрольных животных обеспечивается, в основном, полиморфноядеными гранулоцитами (Д), а у экспериментальных животных в эти сроки наиболее выражена макрофагальная активность (Е, указаны длинными стрелками). Окраска: гематоксилином и эозином (А) и метиленовым синим (Б–Е). Масштаб: А – 250 мкм, Б–Е – 50 мкм

В спинном мозге животных опытной группы в этот период обращают на себя внимание характерные изменения в области рубца. Его структура сформирована, большей частью, элементами соединительной ткани, в которой происходит образование новых капилляров (см. рис. 1Е). Соединительнотканые прослойки, окруженные фрагментами «Сферогеля», перемежаются с участками ткани, заполненными глиальными элементами. Проллиферирующие астроциты здесь выстраиваются в тонкие, длинные цепочки, пронизывающие всю толщу рубца и ориентированные вдоль оси спинного мозга (см. рис. 1Г). Сходный глиопродлиферативный процесс протекает и в промежуточной зоне, в результате чего не наблюдается формирование глиомезодермальной капсулы.

В этот период воспалительные процессы наиболее ярко протекают в промежуточной зоне и в прилегающих к ней участках рубца. Они морфологически проявляется инфильтрацией большим количеством макрофагов, сидерофагов, и некоторых лимфоидных клеток (см. рис. 1Е). Морфологические признаки изменений нейронов, глиальных клеток и элементов микроциркуляторного русла сходны с таковыми в контрольной группе и проявляются в виде набухания, вакуолизации цитоплазмы (см. рис. 1Б) или резкого сморщивания.

Через 10–12 нед. у крыс обеих экспериментальных групп соединительнотканый рубец полностью сформирован. В контрольной группе он представлен глиомезодермальной тканью с большим количеством соединительнотканых

волокон, ориентированных в различных направлениях. В стенке рубца пучки соединительнотканых волокон и расположенные между ними фибробластов и глиальных клеток (очевидно, пролиферирующих астроцитов) имеют, преимущественно, перпендикулярное длиннику спинного мозга направление. Рубец у животных экспериментальной группы выглядит более рыхло. В его структуре встречаются многочисленные полости, заполненные тканевой жидкостью и окруженные прослойками соединительной ткани, с большим числом капилляров. При окрашивании метиленовым синим в соединительнотканых тяжах наблюдается большое число пучков миелинизированных нервных волокон (рис. 2).

При иммуногистохимическом исследовании на GAP-43 в тканях рубца экспериментальных животных выявляется большое количество иммунопозитивных клеток. Они имеют веретеновидную форму тела, от которого отходят длинные неветвящиеся отростки (рис. 3А). Максимальное скопление клеточных тел расположено в центральных зонах мозгового рубца (см. рис. 3 А, Б), в то время как на периферии (в области проекции белого вещества) доминирующими являются GAP-43-позитивные нервные волокна. Они имеют прямолнейный ход, четкие очертания, мало ветвятся и не образуют пучков (см. рис. 3В). У животных контрольной группы, в эти сроки выявляются только единичные GAP-43-позитивные клеточные элементы и тонкие волокна, преимущественно расположенные в пограничной зоне рубца краниальнее места повреждения (см. рис. 3Г).

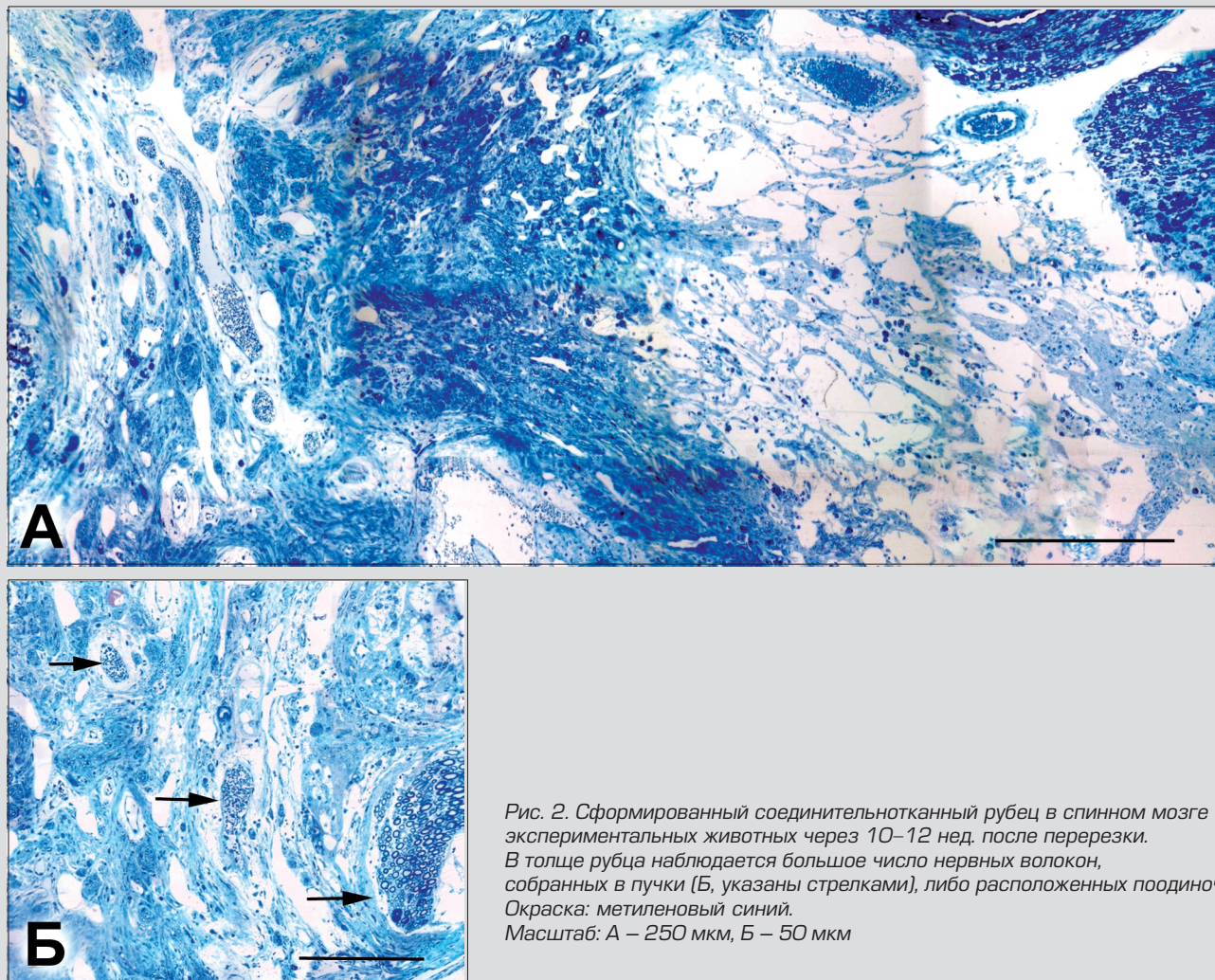


Рис. 2. Сформированный соединительнотканый рубец в спинном мозге экспериментальных животных через 10–12 нед. после перерезки. В толще рубца наблюдается большое число нервных волокон, собранных в пучки (Б, указаны стрелками), либо расположенных поодиночке. Окраска: метиленовый синий. Масштаб: А – 250 мкм, Б – 50 мкм

Антителами на NF-200 у животных экспериментальной группы маркируется, исключительно нервные волокна (рис. 4). В отличие от животных контрольной группы, где

наблюдаются только единичные NF-200 позитивные проводники, у крыс экспериментальной группы в толще рубца большое количество проводников содержит этот белок.

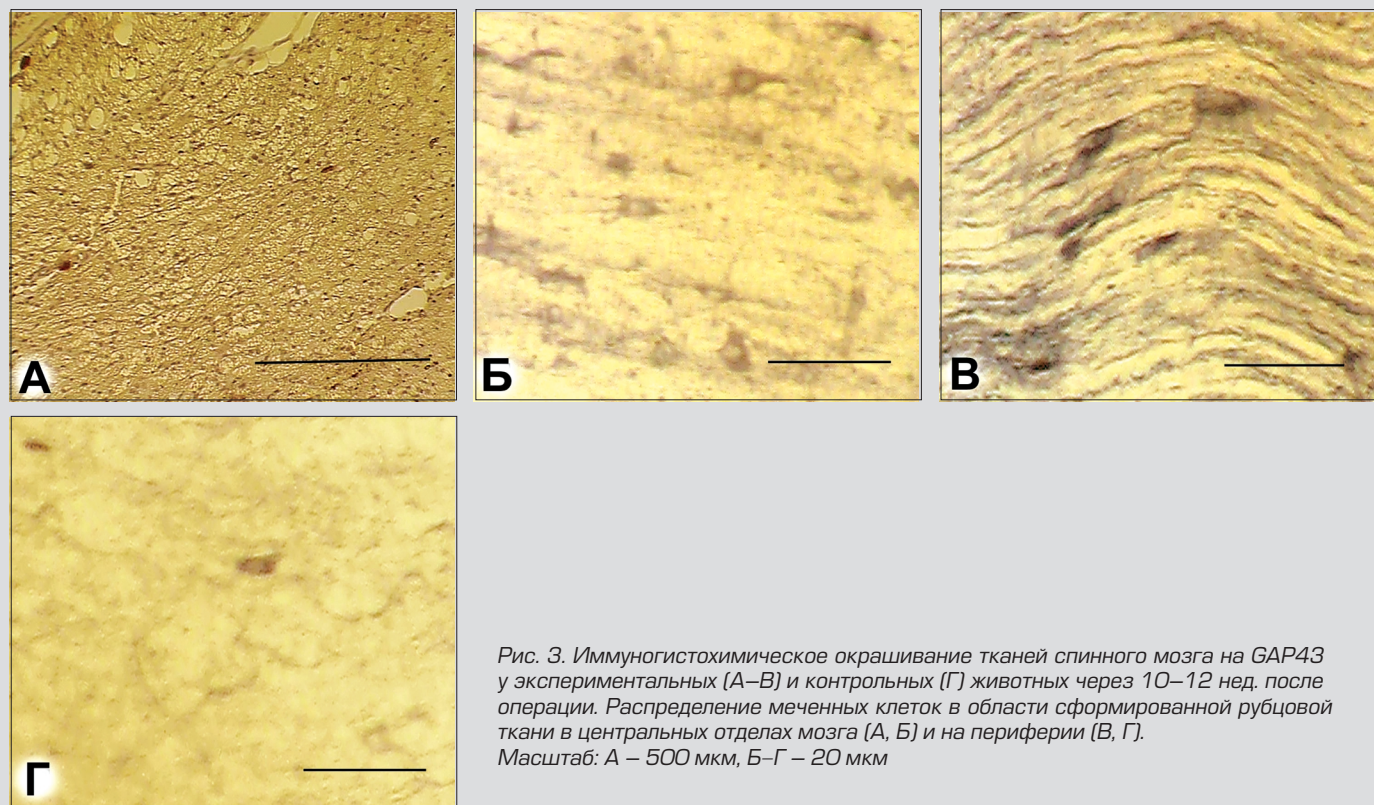


Рис. 3. Иммуногистохимическое окрашивание тканей спинного мозга на GAP43 у экспериментальных (А-В) и контрольных (Г) животных через 10–12 нед. после операции. Распределение меченных клеток в области сформированной рубцовой ткани в центральных отделах мозга (А, Б) и на периферии (В, Г). Масштаб: А – 500 мкм, Б-Г – 20 мкм

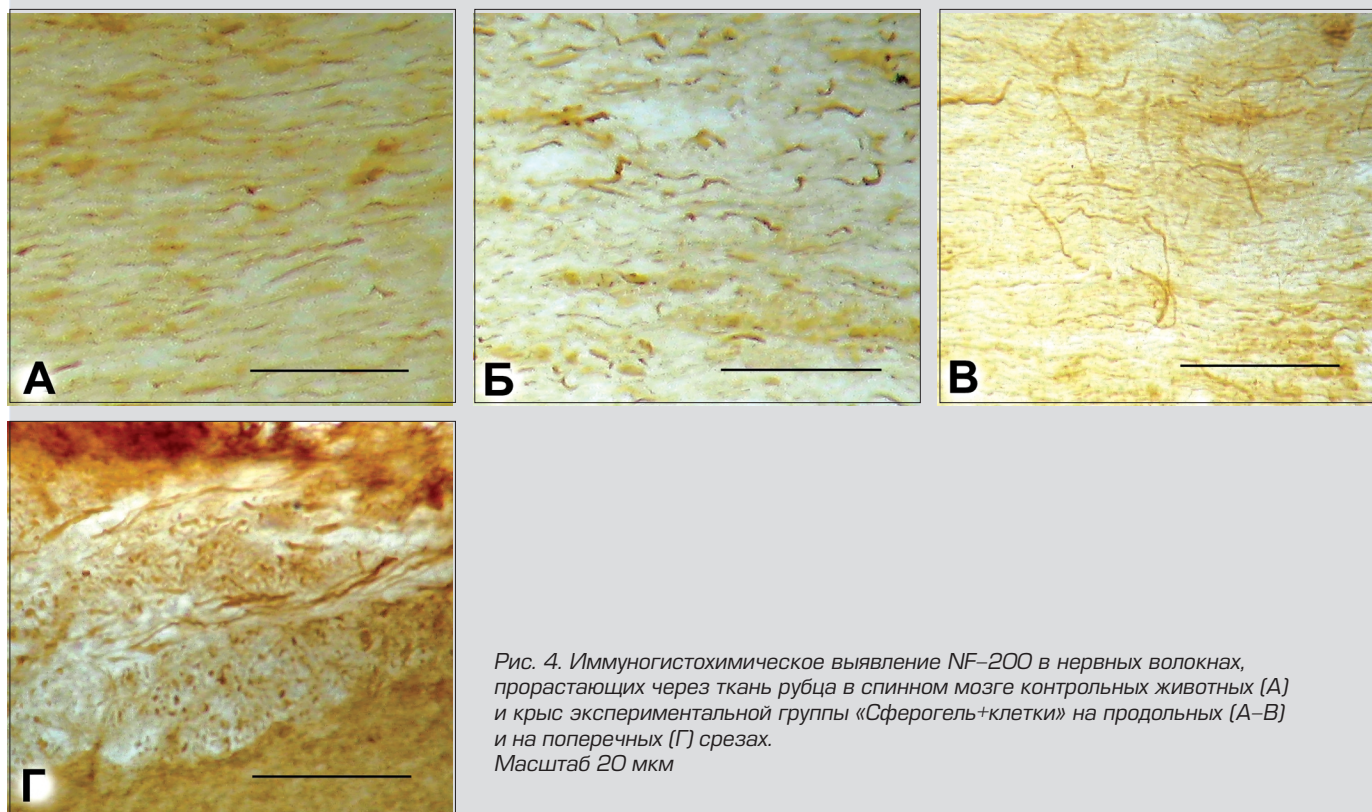


Рис. 4. Иммуногистохимическое выявление NF-200 в нервных волокнах, прорастающих через ткань рубца в спинном мозге контрольных животных (А) и крыс экспериментальной группы «Сферогель+клетки» на продольных (А-В) и на поперечных (Г) срезах. Масштаб 20 мкм

Обсуждение

Характер тканевых перестроек в спинном мозге у животных контрольной группы на 1–2 нед. полностью соответствует классическому посттравматическому стереотипу, неоднократно описанному в литературе [14], который ведет к формированию через 10–12 нед. типичного глиально-соединительнотканного рубца, ограниченного от прилежащих тканей плотной капсулой. У животных, дефект спинного мозга которых заполнялся нейроматриксом «Сферогель – Э»™ с обкладочными клетками, к концу эксперимента рубец полностью сформирован тканью, имеющий иную цитоархитектонику. Наряду с развитой сетью астроцитов, здесь присутствуют также элементы соединительной ткани – фибробласты, пучки волокон и новообразованные микрососуды. Это свидетельствует о более раннем начале ангиогенеза и, следовательно, лучшей оксигенации рубца. Отличительной особенностью данного способа реконструкции нервной ткани является обилие нервных волокон, сопровождающих прослойки ткани в области сформированного рубца.

Предпосылки к такого рода морфологическому эффекту наблюдались уже на раннем этапе эксперимента. Так, у животных опытной группы через 1–2 нед. после операции, обращает на себя внимание иная архитектура пролиферирующих астроцитов, которые выстраиваются в виде длинных клеточных тяжей направленных параллельно длиннику спинного мозга как внутри рубца, так и в пограничной зоне. В то же время астроцитарная реакция в контрольных образцах, протекает, преимущественно, в поперечном направлении и, очевидно, служит препятствием для развития соединительнотканых элементов и дальнейшего роста нервных волокон.

Таким образом, использование «Сферогеля–Э™» с инкорпорированной культурой ОНК позволяет сформировать более качественную протезирующую ткань между каудальным и краниальным отрезками спинного мозга, что не только позволяет избежать их ретракции, но и создает более благоприятные условия для регенерации аксонов, препятствуя образованию глиальной демаркационной линии. Необходимо отметить, что похожие результаты уже получены рядом исследователей в эксперименте с использованием «Сферогеля–Э™» и культуры эмбриональных нервных клеток, полученных из головного мозга крыс [15]. Использование ОНК в нашем эксперименте продиктовано огромным вниманием к ним как наилучшему клеточному материалу для трансплантации. Существуют данные, что ОНК в определенных условиях способны дифференцироваться в нейроны и глиальные элементы, что делает их весьма привлекательным объектом клеточной терапии неврологической патологии [16, 17]. С этих позиций, обнаружение по результатам иммуногистохимического анализа у животных опытной группы GAP43 – основного белка аксоногенеза и NF-200 – белка промежуточных нейрофиламентов, типичного для тканей нейронального происхождения, с достоверностью подтверждает широко обсуждаемую в литературе гипотезу о секреции обкладочными нейроэпителиальными клетками ряда нейротрофических факторов, способствующих ремиелинизации поврежденных нервных волокон, и способности этих клеток при создании соответствующих условий дифференцироваться в нейрональном направлении [15, 16, 18].

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия отечественной науке.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Берсенева А.В. Аутопересадка обкладочных клеток обонятельного анализатора для лечения травмы спинного мозга – австралийское исследование. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2005; 1: 13–4.
2. McDonald J.W., Liu X.Z., Qu Y. et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate, and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat. Med.* 1999; 5(12): 1410–2.
3. Мотавкин П.А., Пиголкин Ю.И., Каминский Ю.В. Гистофизиология кровообращения в спинном мозге. М.: Наука, 1994.
4. Зяблов В.И. Проблемные вопросы регенерации нервной системы. Симферополь, 1986.
5. Stichel C.C., Muller H.M. Experimental strategies to promote axonal regeneration after traumatic central nervous system injury. *Prog. Neurobiol.* 1998; 56: 119–48.
6. Vacanti C.A. Tissue-engineered spinal cord. *Transplant. Proc.* 2001; 33(1–2): 592–8.
7. Woerly S., Pinet E., De Robertis L., Bousmina M. et al. Heterogeneous PHPMA Hydrogels for Tissue Repair and Axonal Regeneration in the Injured Spinal Cord. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* 1998; 9(7): 681–711.
8. Raisman G. A promising therapeutic approach to spinal cord repair. *J. R. Soc. Med.* 2003; 96(6): 259–61.
9. Bamber N.I., Li H., Aebischer P., Xu X.M. Fetal spinal cord tissue in mini-guidance channels promotes longitudinal axonal growth after grafting into hemisectioned adult rat spinal cords. *Neural Plas.* 1999; 6(4): 103–21.

10. Chen X., Fang H., Schwob J. Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium. *J. Comp. Neurol.* 2004; 469(4): 457–74.

11. Брюховецкий А.С. Трансплантация нервных клеток и тканевая инженерия мозга при нервных болезнях. М.: ЗАО «Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии "НейроВита"», 2003.

12. Carter L.A., MacDonald J.L., Roskams A.J. et al. Olfactory horizontal basal cells demonstrate a conserved multipotent progenitor phenotype. *J. Neurosci.* 2004; 24(25): 5670–83.

13. Zhang X., Klueber K.M., Guo Z. et al. Adult human olfactory neural progenitors cultured in defined media. *Exp. Neural.* 2004; 186(2): 112–23.

14. Рогозюк Ю.Д. Морфология спинномозгового рубца при различных способах соединения концов спинного мозга после его перерезки в эксперименте. Автореф. дис... канд. мед. наук. Симферополь 1983.

15. Ярыгин В.Н., Банин В.В., Ярыгин К.Н., Брюховецкий А.С. Регенерация спинного мозга крыс после торакальной сегментэктомии: рост и восстановление нервных проводников. *Морфология* 2006; (129): 30–43.

16. Richter W.M., Fletcher P.A., Liu J., Tetzlaff W., Roskams A.J. Lamina propria and olfactory bulb ensheathing cells exhibit differential integration and migration and promote differential axon sprouting in the lesioned spinal cord. *J. Neurosci.* 2005; 25(46): 10700–11.

17. Chen X., Fang H., Schwob J. Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium. *J. Comp. Neurol.* 2004; 469(4): 457–74.

18. Bianco J.J., Perry C., Harkin D.G. et al. Neurotrophin 3 Promotes Purification and Proliferation of Olfactory Ensheathing Cells From Human Nose. *Glia* 2004; 45(2): 111–23.

Поступила 10.05.2008