

УДК 611.438:611.018

СОВРЕМЕННЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВНЫХ ПРОВОДНИКОВ

¹Е. С. Петрова, ²Н. В. Павлова, ¹Д. Э. Коржевский

¹Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия
²Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

ADVANCED MORPHOLOGICAL APPROACHES TO THE STUDY OF PERIPHERAL NERVE REGENERATION

¹E. S. Petrova, ²N. V. Pavlova, ¹D. E. Korzhevsky

¹Institute of Experimental Medicine of the North West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St.-Petersburg, Russia

²Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, St.-Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2012 г.

Настоящий обзор посвящен проблеме восстановления периферических нервных проводников после травматических воздействий. Актуальность проблемы обусловлена распространенностью травм нервных стволов и недостатком фундаментальных знаний о механизмах регенерации периферических нервных волокон, роли микроокружения, трофических факторов, шванновских клеток в этом процессе. В обзоре дана характеристика основных иммуногистохимических методов селективного выявления структур осевых цилиндров, специфических белков, связанных с аксональным транспортом, маркеров шванновских клеток и миелиновых оболочек, а также методов ретроградного мечения мотонейронов и сенсорных нейронов, применяемых для оценки целостности периферических нервов в экспериментальных исследованиях. Для иллюстрации возможностей этих методов в обзоре приводятся наиболее интересные результаты экспериментальных исследований, выполненных в последние годы. Основными направлениями исследований, разрабатываемыми в настоящее время, являются использование биodeградируемых кондуитов и скаффолдов, соединяющих концы поврежденного нерва, и применение клеточной терапии для ускорения роста аксонов. Представленные в статье материалы содержат необходимую информацию о сложных и эффективных методах молекулярного и клеточного анализа, применяемых при изучении механизмов восстановительных процессов, развивающихся в нервной системе после травмы. Широкое использование этих подходов должно способствовать повышению эффективности научных исследований, направленных на разработку новых медицинских технологий.

Ключевые слова: периферические нервные проводники, нейрофиламенты, тубулин, периферин, основной белок миелина, PGP 9.5, GAP-43, белок S 100, ретроградное мечение нейронов.

This review is devoted to the recovery of peripheral nerves after injury. The prevalence of injuries of nerves and lack of knowledge about the mechanisms of regeneration of peripheral nerve fibers determine the actuality of the problem. Characteristics of the main methods for selective immunohistochemical detection of neuronal markers, proteins of axonal transport, markers of Schwann cells and myelin sheaths are given in the review. Methods of retrograde labeling of motoneurons and sensory neurons are also characterized. The most interesting results of recent experimental studies using these methods are given in the review. There are two basic strategies to connect the segments of nerve damage: the use of biodegradable scaffolds and conduits and the application of stem cells. Stem cells are source of the growth and trophic factors. This paper contains the necessary information about the complicated and efficient methods of molecular and cellular analysis used in studying of the mechanisms of recovery processes which develop in the nervous system after injury. The widespread use of these morphological approaches should help improve the efficiency of scientific research on the development of new medical technologies.

Key words: peripheral nerve, neurofilament, tubulin, periferin, myelin basic protein, PGP 9.5, GAP-43, S-100 protein, retrograde labeling of neurons.

Введение. Несмотря на то, что исследования репаративной регенерации нервов продолжают уже более ста лет, проблема полного восстановления периферических нервных проводников остается нерешенной. История изучения регенерационных процессов в поврежденных нервах берет начало с иссле-

дований А. Уоллера (A. Waller) [1]. Значительный прогресс в изучении регенерации нервной системы был достигнут на рубеже XIX–XX веков благодаря работам С. Рамон-и-Кахалы, предложившего ряд эффективных импрегнационных методов [2]. В настоящее время известно, что периферические нервные волокна, в отличие от аксонов ЦНС, имеют большие потенциалы к регенерации, однако их полное структурное и функциональное восстановление не всегда возможно. После травмирования нервов, как правило, образуется соединительнотканый рубец, препятствующий росту регенерирующих аксонов, и нередко формируется неврома. Одним из способов снижения риска возникновения невром является совершенствование шовной техники и методов нейропластики [3–8]. Кроме того, в тканях-мишенях и органах-мишенях из-за недостаточной трофики после травмирования нерва наблюдаются дистрофические изменения, которые порой имеют необратимый характер. Во избежание этого делаются попытки ускорить рост регенерирующих нервных волокон, например, с помощью применения различных трофических и ростовых факторов и синтетических лекарственных препаратов [9–15].

Для тех случаев, когда диастаза между концами нерва слишком велика и их анатомическое сопоставление невозможно, разрабатываются способы направленной регенерации нервных волокон по искусственно созданным путям. Проксимальный и дистальный концы нерва соединяются специальными футлярами. Первоначально использовались трубки из искусственных материалов [16], затем в качестве футляра для направленной регенерации поврежденного нерва применялись фрагменты артерий [17, 18]. В настоящее время для создания искусственных футляров, соединяющих концы перерезанного нерва, применяются различные биodeградируемые полимеры [19–26]. Для ускорения роста регенерирующих аксонов, а также для устранения риска ретроградной дегенерации нейронов соответствующих отделов спинного мозга в ответ на повреждение их аксонов на периферии в такие инженерные конструкции вводят стволовые клетки (СК) [27–29]. СК в таких экспериментах рассматриваются как источник ростовых факторов для регенерирующих аксонов. Во всех перечисленных направлениях экспериментальных исследований одной из наиболее важных задач является оценка степени восстановления нервных проводников. Наряду с функциональными тестами и изучением проводимости нервов электрофизиологическими методами важную роль играет морфологический анализ эффективности регенерации.

Цель настоящей работы состоит в анализе современных морфологических подходов, применяемых

в исследованиях репаративной регенерации нервных проводников, и характеристике новых молекулярных маркеров, используемых для оценки структурного восстановления периферического нерва.

Методы, применяемые для оценки эффективности регенерации периферических нервов (ПН) в экспериментальных исследованиях последних лет, основаны на молекулярном и иммуногистохимическом анализе внутриклеточных структур. Из большого числа иммуногистохимических методов, имеющих в арсенале современных исследователей, мы выбрали те, которые являются наиболее информативными и наиболее часто используются для селективного выявления структур нервных стволов с целью морфологической оценки эффективности их регенерации. К ним относятся методы выявления структурных белков осевых цилиндров, специфических белков, связанных с аксональным транспортом, а также глиальных маркеров. Особого внимания заслуживают трейсерные маркеры, на использовании которых основаны методы ретроградного мечения мотонейронов и сенсорных нейронов, применяемые для оценки целостности ПН в эксперименте.

Современные иммуногистохимические методы селективного выявления осевых цилиндров при помощи нейрональных маркеров. В течение многих десятилетий о процессах дегенерации и регенерации нервных проводников судят по состоянию их осевых цилиндров. Изменение структуры осевых цилиндров изучалось с помощью классических морфологических методов (метод импрегнации серебром по Рамон-и-Кахалю и его модификации, методы прижизненного окрашивания нервных волокон, электронная микроскопия и др.) [2, 30–34]. В настоящее время для выявления осевых цилиндров используются нейрональные иммуногистохимические маркеры. К нейрональным маркерам, которые могут быть использованы для селективного выявления осевых цилиндров регенерирующего нерва, относятся белки, обнаруживаемые в аксонах в достаточно высокой концентрации. Это белки нейрофиламентов, периферин, бета-тубулин III и ферменты синтеза нейромедиаторов.

Белки нейрофиламентов. Нейрофиламенты (NF) представляют собой нитевидные образования толщиной 8–10 нм в цитоплазме нейронов. Наряду с кератинами эпителиальных клеток, десмином миоцитов, глиальными филаментами и виментиновыми филаментами клеток мезенхимного происхождения, они относятся к промежуточным филаментам. Последние являются компонентами цитоскелета и по своей толщине занимают промежуточное положение между микротрубочками (24–25 нм) и актиновыми

филаментами (7–8 нм). Нейрофиламенты содержатся только в нервных клетках, и одной из их функций является обеспечение медленного аксонального транспорта. Нейрофиламенты состоят из трех субъединиц, которые представляют собой полипептиды с N-концевым головным доменом, C-концевым хвостовым доменом и центральным стержневым доменом. Субъединицы различаются по молекулярной массе: низкомолекулярные белки нейрофиламентов (NF-L) с молекулярной массой 68–73 кДа, средние (NF-M) — 140–160 кДа и высокомолекулярные (NF-H) — 195–200 кДа [35, 36]. Соотношение данных белков является важным условием для реализации функции нейрофиламентов. Сборка белков в общую структуру осуществляется в перикарионе, после чего нейрофиламенты транспортируются в аксон и фосфорилируются. В эмбриогенезе вначале синтезируются NF-L и NF-M, позже формируются NF-H [36]. Учитывая, что в норме во взрослом организме нейрофиламенты располагаются, главным образом, в аксонах нервных клеток, их выявление с помощью антител применяется при исследованиях иннервации различных органов [37, 38] и нарушении иннервации при различных патологических процессах [39]. Иммуногистохимическое выявление белков NF-M и NF-H широко применяют для изучения регенерации поврежденных ПН. Это связано с тем, что именно в длинных периферических нервных волокнах содержится наибольшее количество белков нейрофиламентов. Так, с использованием этого метода было проведено исследование регенерации бедренного нерва крысы после перерезки и соединения дистального и проксимального концов нерва фрагментом бедренной вены [40]. Морфометрический анализ числа аксонов, содержащих белки нейрофиламентов, показал улучшение роста нервных волокон при использовании такого соединения. Авторы связывают это улучшение с тем, что некоторые клеточные элементы стенки вены (например, перициты) могут взаимодействовать с регенерирующими аксонами нерва реципиента и, возможно, выделять трофические факторы, способствующие росту аксонов.

В другом исследовании изучали регенерацию малоберцового нерва собаки после перерезки и применения 80-миллиметрового кондуита, заполненного ламинином [41]. Установлено, что через 12 мес иммунореактивность к NF-H в регенерирующем сегменте нерва была достаточно высокой. Использование коллагена и ламинина в составе кондуита объясняется тем, что эти белки являются основными белками экстрацеллюлярного матрикса ПН. Оценку степени регенерации нерва в области кондуита осуществляли путем измерения доли нервной ткани

в нервном стволе (то есть площади, занятой NF-иммунопозитивными аксонами на поперечном срезе нерва). Используя иммуногистохимическую реакцию на NF и морфометрический анализ аксонов на поперечных срезах, W. Sun и соавт. показали, что введение ламинина и фактора роста нервов в область передавливания седалищного нерва крысы способствует регенерации нервных проводников [14].

Иммуногистохимическое выявление белков NF применяют в модельных экспериментах, направленных на разработку клеточных технологий, способствующих регенерации нервов. В некоторых исследованиях было показано, что стимулировать рост поврежденных нервных волокон может клеточная терапия. Мультипотентные СК, выделенные из дермы кожи животных и человека, в зависимости от условий культивирования могут дифференцироваться в β III-тубулин- и NF-M-иммунопозитивные нейроны или S100- и GFAP-иммунопозитивные глиоциты [42]. Показано, что их применение может улучшать регенерацию поврежденного нерва у крысы [43]. СК вводили в разные виды кондуитов, соединяющих сегменты перерезанного нерва: синтетический и коллагеновый. Проводилась оценка регенерации нерва как физиологическими методами, так и с помощью иммуногистохимического анализа NF-M-позитивных регенерирующих аксонов. Обнаружено преимущество коллагенового соединения с СК. Морфометрический анализ NF-иммунопозитивных регенерирующих волокон показал, что их росту может способствовать терапия генетически модифицированными шванновскими клетками или нейральными стволовыми клетками со сверхэкспрессией трофического фактора GDNF (нейротрофический фактор, полученный из глиоцитов), а также клетками, полученными из эмбриональных и индуцированных СК [44, 45]. X. Nie и соавт. [46], применив NF-иммуногистохимию, провели сравнительное исследование регенерации седалищного нерва крысы после разных повреждений: простой перерезки, перерезки с последующим соединением концов кондуитом из биodeградируемых материалов, а также с использованием кондуитов и СК, полученных из эктоmезенхимы, и трансплантацией сегмента аутологичного нерва. Ауто-трансплантация отрезка нерва служит «золотым стандартом» для изучения регенерации нервов с использованием различных конструкций, поскольку часто применяется в клинической практике. Установлено, что наличие клеток в кондуитах действительно способствует регенерации нерва, однако его восстановление не достигает уровня «золотого стандарта». При применении других клеток — ме-

зехимальных стволовых клеток (МСК) жировой ткани — результат оказался таким же [47]. Т. В. Лопатина и соавт. для стимуляции регенерации передавленного малоберцового нерва у мышей также применяли МСК жировой ткани [48]. Рост аксонов изучали с помощью антител к NF-200. Установлено, что терапия СК стимулирует восстановление нерва благодаря выделению ими BDNF (нейротрофического фактора головного мозга). Многие исследователи для морфометрического анализа регенерирующих аксонов поврежденного нерва в таких экспериментах используют давно разработанные и проверенные временем методы подсчета числа аксонов и измерение толщины миелиновой оболочки на полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим [44, 45, 49–51]. Одним из этапов изготовления таких препаратов является фиксация материала в осмиевой кислоте. Это позволяет выявлять даже самые тонкие миелинизированные аксоны. Несмотря на достоинства этого метода, параллельно, как правило, используют выявление аксонов иммуногистохимическими методами, поскольку только они позволяют изучать взаимоотношения пересаженных СК с регенерирующими аксонами реципиента. Так, С. Radtke и соавт. [52] выделяли глиальные обкладочные клеточные элементы обонятельных структур трансгенных крыс, клетки которых экспрессируют зеленый флуоресцирующий белок (GFP), и вводили их в поврежденный нерв. Регенерирующие волокна реципиента выявляли с помощью антител к белкам нейрофиламентов. Установлено, что введенные в нерв GFP-содержащие глиальные обкладочные клетки обонятельных структур способны проявлять свойства шванновских клеток и миелинизировать NF-иммунопозитивные аксоны реципиента.

Периферин. В 1983 г. французские исследователи выделили белок, который получил название «периферин» [53]. Он был представлен как потенциальный маркер нейрональной дифференцировки клеток ПНС. Периферин относится к белкам промежуточных филаментов и имеет молекулярную массу 57 кДа. Показано, что он обладает способностью самосборки и может кооперироваться с белками NF, формируя сеть промежуточных филаментов в нервных клетках [54]. Он экспрессируется преимущественно в тех чувствительных, двигательных и симпатических нейронах, аксоны которых располагаются на периферии [55]. Периферин характерен и для развивающихся нервных клеток. Вопрос о функциях, выполняемых периферином в клетках, до сих пор остается дискуссионным. Для выяснения роли этого белка применяются разные экспериментальные подходы: культура клеток [56], нокаутные

линий мышей [57], трансгенные животные с гиперэкспрессией периферина [54]. Для исследований *in vitro* применяется клеточная линия PC12, полученная из феохромоцитомы крыс. При культивировании в среде с фактором роста нервов (NGF) эти клетки дифференцируются в клетки с фенотипом, подобным симпатическим нейронам. Исследования на такой модели показали, что одна из функций периферина — поддержание структуры и формы клетки. У трансгенных животных с гиперэкспрессией периферина в нейронах наблюдаются изменения, сходные с выявленными при нейродегенеративных заболеваниях: накопление в цитоплазме агрегатов из белков промежуточных филаментов. Еще одна функция периферина связана со стабилизацией диаметра аксона и обеспечением нормальной скорости проведения нервного импульса [58]. Показано, что в то время как белки NF преимущественно экспрессируются в миелиновых нервных волокнах, периферин содержится в немиелинизированных аксонах [59]. S. Chadan и соавт. [60] изучали аксональный транспорт периферина в двигательных аксонах интактного и регенерирующего седалищного нерва у крыс и установили, что периферин, наряду с тубулином и актином, участвует в процессе элонгации нервных волокон в поврежденных нервных стволах. Иммуногистохимический метод выявления периферина широко используется для изучения иннервации различных органов [61, 62]. По данным Е. И. Чумасова и соавт. [38], в поджелудочной железе крыс с помощью иммуногистохимической реакции на периферин удается выявлять нервные стволы, пучки и сплетения аксонов, а также микроганглии. С помощью этого метода, наряду с другими иммуногистохимическими реакциями, изучали регенерацию передавленного малоберцового нерва мышей при влиянии МСК жировой ткани [48].

Ферментные маркеры. Большинство ПН имеют в своем составе двигательные, чувствительные и вегетативные нервные волокна. Как известно, двигательные волокна являются холинергическими, а симпатические — катехоламинергическими. Маркерами, с помощью которых выявляются эти волокна, могут служить ферменты, участвующие в синтезе нейромедиаторов, например холинэстераза, тирозингидроксилаза и др.

Холинергические нервные проводники ранее выявляли с помощью гистохимических методов. Восстановление моторных и сенсорных волокон после повреждения изучали на срезах, изготовленных на криостате или замораживающем микротоме, путем выявления холинэстеразы или карбоангидразы для моторных и сенсорных аксонов соответственно [63,

64]. Однако результаты исследований, выполненных на замороженных срезах, недостаточно точны, поскольку методика не позволяет анализировать нервные проводники в сопоставлении со структурой окружающих тканей. Кроме того, гистохимические методы менее чувствительны и не позволяют выявлять тончайшие регенерирующие нервные волокна. В связи с этим в последние годы чаще применяют иммуногистохимическое выявление холинергических волокон при помощи антител к холинацетилтрансферазе. Этот метод позволяет проводить количественный анализ регенерации седалищного нерва на парафиновых срезах [65]. J. Castro и соавт. [66] тем же методом выделяли популяцию холинергических волокон в составе седалищного нерва крысы после перерезки на модели с использованием мультиперфорированного электрода, имплантированного в силиконовую трубку, соединяющую проксимальный и дистальный концы перерезанного седалищного нерва крысы.

Тирозингидроксилаза (ТГ) представляет собой один из ферментов, участвующих в синтезе катехоламинов. Катехоламины служат медиаторами некоторых нейронов ЦНС [67, 68] и нейронов симпатической нервной системы, иннервирующей внутренние органы [31]. Реакция на ТГ эффективно используется для определения морфологии и структурных изменений симпатических нейронов и постганглионарных нервных волокон [37]. В работах, посвященных регенерации нервных проводников, реакция на ТГ позволяет выявлять симпатические нервные волокна в структуре нерва. Так, в исследованиях, посвященных изучению влияния трансплантированных СК на восстановление ПН, оценку вегетативного компонента нерва, осуществляли с помощью антител к тирозингидроксилазе [48]. Иммуногистохимическое исследование показало, что в случае применения СК, полученных из жировой ткани, рост вегетативных ТГ-позитивных волокон нерва осуществляется интенсивнее. Это, по-видимому, связано с усилением в области повреждения нерва ангиогенеза. Иннервация кровеносных сосудов в нерве, как и в любом другом органе, осуществляется именно ТГ-позитивными нервными волокнами. Можно предположить, что отмеченное улучшение регенерации нерва после клеточной терапии связано с улучшением васкуляризации поврежденного нерва. Как известно, для восстановления нервных проводников кровоснабжение играет одну из ключевых ролей [69].

Бета-тубулин III. Бета-тубулин относится к семейству клеточных белков тубулинов [70], которые входят в состав цитоплазматических микротрубочек

(МТ). МТ — это нитчатые неветвящиеся структуры, толщиной 25 нм, которые вместе с белками промежуточных филаментов формируют внутриклеточный скелет. При полимеризации молекулы тубулина образуют 13 продольных протофиламентов, которые скручиваются в полую трубку. МТ — полярные структуры: их концы отличаются по своим характеристикам сборки и разборки и обозначаются плюсом и минусом. Цитоплазматический тубулин представляет собой молекулу с молекулярной массой 110 000 Да, является гетеродимером и состоит из двух субъединиц: α - и β -тубулина [71]. В настоящее время наряду с α - и β -тубулинами описаны еще несколько форм: γ , δ , ϵ , ζ , η [70, 72]. Каждый из белков кодируется несколькими генами и имеет ряд особенностей. В клетках эукариот тубулин, будучи структурным белком МТ, выполняет такие функции, как поддержание формы клеток, поддержание морфологии и распределения аппарата Гольджи, участие в образовании митотического веретена, а также ресничек и жгутиков [73]. Бета-тубулин III считается тканеспецифическим белком, представленным только в нервных клетках. Бета-тубулин III — структурный белок нейротрубочек, и одним из его функциональных назначений в нейронах является осуществление аксонального транспорта. Бета-тубулин III широко используется как нейрональный маркер в исследованиях, посвященных развитию нервных структур в онтогенезе [74]. Считается, что бета-тубулин III начинает синтезироваться в нервных клетках на определенной стадии дифференцировки и служит маркером молодых нейронов. Применение этого маркера позволяет проводить сравнительное исследование развития нейрональных элементов различных отделов мозга млекопитающих в норме [73]. Иммуногистохимическое выявление бета-тубулина III используется при изучении нервных клеток в условиях *in vitro* [75]. Его также можно использовать в исследованиях, посвященных дифференцировке нейральных стволовых/прогениторных клеток в условиях *in vitro* и *in vivo* [76]. Бета-тубулин III описан в клетках как центральной, так и периферической нервной системы. Показано, что по мере взросления организма в нейронах спинномозговых ганглиев его содержание увеличивается [77].

Давно установлено, что наибольшая концентрация бета-тубулина III наблюдается в отростках нейронов, а не в перикарионах. Отмечено высокое содержание бета-тубулина в периферических нервных проводниках. Иммуногистохимическое выявление этих белков в аксонах ПН позволяет изучать их регенерацию на разных моделях, например, на моделях

с применением скаффолдов — специальных носителей культивируемых клеток. В настоящее время активно подбираются биоматериалы, которые можно использовать для создания скаффолдов. Сначала эксперименты по тестированию таких конструкций проводятся в условиях *in vitro* [78]. С помощью иммуногистохимического выявления бета-тубулина III установлено, что использование в скаффолдах биологически активных веществ (например, ламинина) способствует росту нервных проводников. В экспериментах *in vivo* также продемонстрирована положительная роль эндогенных биологически активных веществ при регенерации поврежденных аксонов. T. W. Chung и соавт. [79] для улучшения регенерации периферического нерва использовали скаффолды, содержащие NGF и/или лекарственный препарат тирофибан. Степень регенерации аксонов оценивали на поперечных срезах через кондуит, соединяющий концы перерезанного нерва с помощью иммуногистохимического выявления бета-тубулина III. Установлено, что кондуит, имеющий в своем составе только NGF без тирофибана, содержал меньшее количество бета-тубулин III-положительных аксонов, чем кондуит с лекарственным веществом [79]. Метод иммуногистохимического выявления бета-тубулина III применялся для демонстрации улучшения регенерации различных нервов крыс при использовании в качестве клеточной терапии введение генетически модифицированных нейральных стволовых/прогениторных клеток [44] или стволовых клеток волосяных фолликулов [80, 81]. Оказалось, что после трансплантации стволовых клеток волосяных фолликулов в поврежденный нерв бестимусных мышей эти клетки способны дифференцироваться в шванновские клетки и способствовать регенерации нерва. Для оценки регенерации нерва реципиента использовали моноклональные антитела к бета-тубулину III. Иллюстрации к работе четко демонстрируют наличие бета-тубулин III-положительных нервных волокон в кондуитах, содержащих СК, и отсутствие таких волокон в кондуитах, не содержащих СК, через 8 нед после операции.

Выявление специфических белков, связанных с аксональным ростом. Рост аксонов осуществляется при участии нескольких специфических нейрональных белков. В качестве маркеров для иммуногистохимического выявления регенерирующих аксонов чаще других в экспериментальных исследованиях используются протеин-ген продукт 9,5 (PGP 9.5) и белок GAP-43.

PGP 9.5, или убиквитин-С-терминальная гидролаза L1, — белок, выделенный из мозга человека более тридцати лет назад [82]. Он содержится преимуще-

ственно в цитоплазме нейронов и нейроэндокринных клетках и используется в качестве их маркера [83]. Функциональное значение PGP 9.5 для периферической нервной системы остается неясным. Тем не менее этот маркер широко применяется для исследования иннервации различных органов. Например, PGP 9.5 использовался в качестве маркера проводящей системы сердца [84]. M. Anlauf и соавт. [85] применяли его при исследовании иннервации органов желудочно-кишечного тракта человека. С помощью PGP 9.5 удалось выявить сеть тонких нервных волокон, окружающих кишечные крипты, и получить ее трехмерное изображение. С применением PGP 9.5-иммуногистохимических реакций приводилось изучение иннервации проксимальных и дистальных отделов пищевода у детей с атрезией пищевода. Выявлено снижение PGP 9.5-содержащих структур в проксимальном отделе пищевода, что свидетельствует о недостаточной иннервации этой части органа [86]. Иммуногистохимическая реакция на PGP 9.5 широко используется при изучении восстановления иннервации трансплантируемых органов крыс [87]. M. Gingras и соавт. [88] изучали иннервацию трансплантата, представляющего собой тканеинженерную конструкцию, применяемую при ожогах кожи, состоящую из коллагена, хитозана, фибробластов и кератиноцитов человека. Такой трансплантат пересаживали мышам бестимусной линии и оценивали его иннервацию с помощью маркеров NF-M и PGP 9.5. E. Martinez-Martinez и соавт. [89] при изучении изменения иннервации эпидермиса крыс после повреждения седалищного нерва выявили тончайшие нервные окончания в толще эпидермиса. I. Pintelon и соавт. [90], применив PGP 9.5-иммуногистохимию, изучали сенсорную иннервацию висцеральной плевры крыс; выявленные терминалы классифицированы как висцеральные рецепторы плевры, проявляющие свойства механорецепторов и ноцицепторов. Иммуногистохимическое выявление PGP 9.5 применяется для изучения становления нервных структур в эмбриогенезе [91]. L. Lossi и соавт. [92], применяя двойное мечение: PGP 9.5 и маркеры пролиферации, установили, что PGP 9.5 экспрессируется только в постмитотических нейронах. Иммуногистохимическое выявление PGP 9.5 использовалось для изучения становления иннервации некоторых органов в эмбриогенезе: легких [93], кожи [94], предстательной железы [95], задних конечностей крысы [61]. W. Lin и соавт. [96], выясняя роль PGP 9.5 в нейроглиальных взаимоотношениях, применили электронно-микроскопическую иммуногистохимию. Изучена локализация PGP 9.5 в миелиновых волокнах седалищного нерва крысы в норме

и при патологии. В современных исследованиях, посвященных изучению улучшения регенерации нервных проводников с помощью кондуитов, также используется иммуногистохимическое выявление PGP 9.5. Так, D. F. Kalbermatten и соавт. [97] сравнивали регенерацию нервных волокон седалищного нерва грызунов, регенерирующих через кондуиты из фибрина и из биodeградируемого материала полигидроксипропирата. Применение аксонального маркера PGP 9.5 позволило установить, что кондуит из фибрина через 1 мес после операции содержал в два раза большее число регенерирующих волокон. Di Summa и соавт. [98] оценивали влияние на регенерацию седалищного нерва крыс экзогенных шванновских клеток, а также МСК жировой ткани и костного мозга. Регенерирующие волокна, прорастающие из проксимального конца нерва в дистальный через фибриновый кондуит, выявляли с помощью реакции на PGP 9.5. Следует отметить, что это одна из немногих работ [27], где влияние СК на рост аксонов нерва реципиента изучали не на поперечных, а на продольных срезах нерва. Сравнительное исследование длины PGP 9.5-иммунопозитивных аксонов внутри кондуитов с разными клетками убедительно доказало, что введение в кондуит шванновских клеток значительно лучше стимулирует рост аксонов, чем МСК жировой ткани и костного мозга. Для исследования полноты восстановления периферических нервов после повреждения иммуногистохимическую реакцию на PGP 9.5 нередко сочетают с реакцией на GAP-43.

GAP-43 — мембраносвязанный фосфопротеин, содержащийся в растущих аксонах и являющийся главным компонентом конусов роста [99]. Подобно другим аксональным белкам, он синтезируется в перикарионах и транспортируется в аксоны. Иммуногистохимически GAP-43 выявляется в развивающихся нейронах интенсивнее, чем в нейронах взрослого организма. Кроме того, его экспрессия увеличивается в нервных клетках при регенерации. Например, через 2 нед после повреждения седалищного нерва его синтез увеличивается в сенсорных нейронах ганглиев поясничного отдела [100]. Показано, что увеличение экспрессии GAP-43 при повреждении нерва коррелирует с увеличением синтеза тубулинов [99]. При исследовании иннервации различных органов маркер GAP-43 нередко сочетают с PGP 9.5, что позволяет получить более полную картину восстановления нервных проводников и конусов роста. Чтобы выявить вегетативные волокна, применяется двойное маркирование: используются маркеры конусов роста (GAP-43 и PGP 9.5) и маркеры специфических медиаторов, свойственных данным волокнам [101]. Исследования, прово-

димые этими методами на биопсийном материале, позволяют оценить значение иннервации органов в норме и при патологии [102, 103]. Интересные исследования проводятся на биопсийном материале, полученном от больных диабетом 2-го типа [102]. С помощью иммуногистохимических реакций на GAP-43 и PGP 9.5 изучено нарушение иннервации кожи. Описанные маркеры могут использоваться в диагностике начинающегося сахарного диабета по состоянию нервных волокон в коже. Для изучения регенерации периферических нервов некоторые исследователи также применяют комплекс маркеров. D. McDonald и соавт. [104] для изучения ранних этапов регенерации нерва через силиконовый футляр также использовали комплекс маркеров: PGP 9.5, GAP-43 и бета тубулин III. Установлено, что регенерация аксонов и их рост через кондуит начинаются только после того, как в кондуит вырастет соединительная ткань, сформируются кровеносные сосуды, будут представлены шванновские клетки. I. H. Whitworth и соавт. [105] исследовали влияние NGF на регенерацию перерезанного седалищного нерва крыс в норме и при диабете. Дистальный и проксимальный концы перерезанного нерва нормальных крыс и крыс с диабетом соединяли кондуитом из фибронектина. Кондуит предварительно пропитывали NGF. Используя иммуногистохимические реакции на GAP-43 и кальцитонин-ген-связанный пептид, авторы установили, что рост аксонов при влиянии NGF значительно активизируется как при нормальной регенерации, так и при диабете.

Использование маркеров леммоцитов и миелиновых оболочек. Многие исследователи при изучении регенерации нервов после повреждения применяют не только маркеры осевых цилиндров, но и маркеры глиальных клеток ПНС — шванновских клеток (леммоцитов, нейролеммоцитов). Известно, что шванновские клетки из-за близких взаимоотношений с аксонами играют важную роль в их регенерации. После повреждения нерва шванновские клетки в его дистальном конце образуют бунгнеровские ленты, структуры, состоящие из цепочек леммоцитов и определяющие пути, по которым происходит регенерация аксонов [30–32]. Кроме того, они формируют микроокружение, благоприятствующее росту аксонов [15]. Некоторые исследователи называют его своеобразным скаффолдом. Путем экспрессии молекул адгезии на поверхности мембран и выделения ростовых факторов и цитокинов такой «скаффолд» способствует росту нервных волокон [106]. Шванновские клетки образуют миелиновые оболочки периферических нервных проводников. Наиболее часто для иммуногистохимиче-

ского выявления шванновских клеток и миелиновых оболочек используются соответственно такие маркеры, как S-100 и основной белок миеллина.

Белок S-100. Белок S-100 — кальций-связывающий белок, получивший свое название благодаря растворимости в насыщенном растворе сульфата аммония. Он был открыт при изучении фракций глиальных белков мозга в 1965 г. [107]. Позже было установлено, что S-100 — это семейство из 25 белков с молекулярной массой около 10,5 кДа. Их характеристики и свойства описаны в многочисленных обзорах [108–110]. Показано, что при различных повреждениях ЦНС (при травме, опухолях, ишемии, болезни Альцгеймера и др.) S-100 появляется в спинномозговой жидкости и в сыворотке крови [111–113]. Его определение в этих средах служит диагностическим методом при мозговых повреждениях. Выявлено, что S-100 способен секретироваться клетками и проявлять свойства цитокина. Установлено, что для клеток нервной системы свойственны, главным образом, две формы: S-100 ($\alpha\beta$) и S-100 ($\beta\beta$) (гомо- и гетеродимеры) [114]. Последняя форма характерна как для астроцитов, так и для шванновских клеток. Поскольку шванновские клетки, располагаясь вблизи растущих аксонов, сопровождают их по всей длине, они и могут служить маркером их роста. Так, di Summa и соавт. [98] использовали иммуногистохимическое выявление S-100-содержащих шванновских клеток в экспериментах с перерезкой седалищного нерва крыс и применением фибринового кондуита. На продольных срезах через кондуит, соединяющий проксимальный и дистальный концы перерезанного нерва, на одних срезах были выявлены RGP 9.5-позитивные нервные волокна, а на других (соседних с ними) — S-100-содержащие шванновские клетки. По длине аксонов, прорастающих через кондуит, судили о степени регенерации нерва. Примененный метод выявления шванновских клеток также позволил косвенно оценить, на какую длину выростали регенерирующие аксоны нерва. В исследованиях, посвященных разработке клеточной терапии поврежденных нервов, некоторые авторы использовали иммуногистохимическую реакцию на белок S-100 для определения дифференцировки пересаженных в нерв или кондуит СК. Многие исследователи считают, что выявления в пересаженных клетках белка S-100 достаточно для утверждения, что СК через некоторое время после пересадки в нерв дифференцируются в шванновские клетки [46, 51, 115]. В отдельных работах это продемонстрировано достаточно убедительно с помощью применения электронно-микроскопической иммуногистохимии. Так, M. A. Dombrowski и соавт. [116]

пересаживали в нерв глиальные клетки обонятельных структур от животных, клетки которых экспрессируют GFP. Применяв ультраструктурный иммуногистохимический анализ, они показали, что после пересадки в нерв эти клетки могут проявлять свойства шванновских клеток и миелинизировать регенерирующие аксоны реципиента.

Основной белок миеллина. Основной белок миеллина (ОБМ) представляет собой основной белковый компонент миелиновых оболочек нервных проводников [117]. В ЦНС миелиновые оболочки формируются в результате спирального обвития вокруг аксонов отростков олигодендроцитов, в ПНС миелин формируют шванновские клетки (леммоциты). Изучение структуры миелиновых оболочек с помощью рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии показало, что он состоит из липидного бислоя и связанных с ним белков [118]. В нервной системе млекопитающих миелин выполняет несколько функций: трофическую, опорную, защитную, а также участвует в передаче по аксонам нервного импульса, обеспечивая их изоляцию. Известно, что по миелинизированным волокнам импульс проводится приблизительно в 5–10 раз быстрее, чем по немиелинизированным. ОБМ находится в комплексе с липидами и имеет молекулярную массу около 30 000 Да. Описано несколько изоформ ОБМ с разной молекулярной массой [119]. В настоящее время установлена аминокислотная последовательность многих изоформ ОБМ животных и человека и отмечается их гомологичность [120]. Нельзя не отметить, что ОБМ играет важную клинко-диагностическую роль. Анализ ОБМ в составе спинномозговой жидкости у больных рассеянным склерозом и некоторыми другими демиелинизирующими заболеваниями является основой для диагностики этих заболеваний и служит критерием активности патологического процесса [120]. Впервые иммуногистохимическое выявление ОБМ на гистологических срезах выполнили в 80–90-е годы прошлого века. Описана локализация ОБМ в нервной системе разных животных во взрослом состоянии и в онтогенезе [121]. Исследованы разные глиальные элементы ЦНС и ПНС в условиях *in vitro* и показано, что только миелинообразующие клетки (олигодендроциты и леммоциты) синтезируют ОБМ, но не астроциты. В экспериментальных исследованиях иммуногистохимическое выявление ОБМ нередко используется для оценки степени регенерации поврежденного нерва при изучении влияния различных биологически активных веществ на регенерацию аксонов [79, 122]. T. W. Chung и соавт. [79] оценивали регенерацию нерва через кондуит по количеству (по площади)

ОБМ. Увеличение количества ОБМ в кондуитах, содержащих лекарственное вещество, свидетельствует, по мнению авторов, о том, что оно благоприятно воздействует на регенерацию нерва путем стимуляции пролиферации шванновских клеток и секреции ими ОБМ. К. Okada и соавт. [122] продемонстрировали стимулирующее влияние метилколбаламина (витамина В₁₂) на регенерацию нервных волокон перерезанного седалищного нерва крыс. W. Liu и соавт. [123] проводили гистологический анализ регенерации седалищного нерва крыс после введения в конduit, соединяющий концы перерезанного нерва, клеток спинномозговых ганглиев или шванновских клеток. Установлено, что экспрессия ОБМ была значительно меньше в кондуитах, не содержащих пересеженных клеток. Следует отметить, что в большинстве научных исследований изучение процесса ремиелинизации регенерирующих нервных волокон после повреждения осуществляется вместе с изучением целостности самих аксонов. Для этого иммуногистохимическое выявление ОБМ применяется в комплексе с определением таких нейральных маркеров, как белки нейрофиламентов [122], MAP2 [123], бета-тубулин III [79] и PCP-9.5 [124].

Методы ретроградного мечения мотонейронов спинного мозга и нейронов спинномозговых ганглиев, применяемые для оценки целостности нервных стволов. Еще один способ оценки целостности периферических нервных проводников — изучение жизнеспособности двигательных нейронов соответствующих отделов спинного мозга и сенсорных нейронов спинномозговых ганглиев. Известно, что аксотомия приводит к ретроградной нейродегенерации. Часть нейронов с обратимыми изменениями способна к восстановлению своей структуры и росту аксонов. Учет числа жизнеспособных нейронов позволяет оценить возможность восстановления нервных проводников на периферии.

Исследования спинномозговых узлов крысы после травмирования седалищного нерва показали, что повреждение нерва вызывает гибель части псевдониполярных нейронов в поясничных ганглиях по механизму апоптоза, и эта гибель зависит от их принадлежности к конкретной субпопуляции, а также от метода повреждения (перерезки, наложения лигатуры, сшивания, передавливания) [9, 125–128]. Установлено, что более устойчивыми к аксотомии являются крупные нейроны (А-клетки) с миелинизированными отростками. В зависимости от степени поражения нерва ретроградные изменения в нейронах развиваются по-разному. Показано, что реактивные изменения в мотонейронах через несколько месяцев после передавливания нерва исчезают,

в случае же перерезки нерва такие изменения сохраняются в течение года. Одной из причин ретроградных изменений в нейронах после аксотомии считается недостаток трофических факторов, которые вырабатываются тканями-мишенями, и путем ретроградного транспорта поступают в перикарион клетки [15, 129, 130]. Источником таких факторов также являются шванновские клетки поврежденного нерва [15, 129, 130]. Ретроградный аксональный транспорт использовался для разработки методов ретроградного мечения нейронов после аксотомии.

Одним из первых методов ретроградного мечения нейронов стало использование пероксидазы хрена (ПХ). Этот метод широко применяется для идентификации нейронов и их отростков и для изучения межнейронных связей в ЦНС [131, 132]. Однако исследования, выполненные на ПНС, имеют противоречивые результаты. Так, в работе J. M. Reugonnard и L. Charon [133] с помощью ПХ выявлены нейроны в ганглиях L4-L6, аксоны которых формируют икроножный нерв, однако количественный анализ изменения числа этих нейронов после аксотомии не выявил существенных изменений. Другие исследователи [79] при изучении регенерации ПН через конduit, наполненный либо NGF, либо лекарственным препаратом, применяли ПХ для ретроградного мечения нейронов дорсального рога спинного мозга. Показано, что число меченных пероксидазой хрена нейронов выше у крыс, в конduit которых добавляли лекарственное средство. В современных исследованиях, посвященных регенерации периферических нервных проводников, чаще применяются такие флюоресцентные красители, как карбоцианины, синий прочный, Fluoro-Gold, Mini-Ruby и др. Так, используя метод ретроградного транспорта флюоресцентного красителя Mini-Ruby, Л. Б. Тимофеева и соавт. [134] изучали динамику количества чувствительных и моторных нейронов, участвующих в регенерации седалищного нерва крысы после его перерезки. Авторы подчеркивают, что для оценки эффективности регенерации седалищного нерва необходим анализ моторных нейронов спинного мозга и чувствительных нейронов спинномозговых ганглиев одного или двух сегментарных уровней. Изучены общее количество и соотношение размерных групп популяций чувствительных и моторных нейронов, аксоны которых способны преодолеть место повреждения. Метод позволил выявить популяции чувствительных и моторных нейронов, популяции переживающих, регенерирующих и резервных нейронов, участвующих в формировании седалищного нерва в норме и после перерезки. Установлено, что потенциальные возможности к регенерации аксонов у двигательных нейронов выше, чем

у чувствительных. F. J. R. Richmond и соавт. [135] и N. Zele и соавт. [136] провели сравнительное исследование различных ретроградных красителей (ПХ, синий прочный, Fluorogold, Fluororuby, Fluoro-emerald, флюоресцентные микросферы из латекса, карбоцианин DiI) для мечения нейронов спинного мозга после перерезки периферического нерва и введения маркеров в нерв или соответствующую мышцу. Выявлены особенности каждого красителя и предпочтительные способы их введения. Наиболее часто используются Fluorogold [137, 138], Fluororuby [139] и синий прочный [98, 140, 141]. В исследованиях, посвященных разработке клеточных технологий с применением СК, также используются флюоресцентные красители. L. Cui и соавт. [115] повреждали седалищный нерв крысы путем удаления сегмента (1 см) с сохранением эпинеуральной оболочки. Последняя служила своеобразным натуральным кондуитом для регенерирующего нерва. Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) помещали в место повреждения. Fluoro-Gold вводили дистальнее места повреждения и через 7 сут изучали ретроградно-меченые нейроны в спинном мозге (T₁₂₋₁₃) и спинномозговом ганглии (L₄₋₆). Выявлено увеличение количества окрашенных нейронов в случае применения ЭСК по сравнению с активным контролем (введением питательной среды). Следует отметить, что при этом регенерация не достигала уровня восстановления нерва, в который не вводили ни среду, ни клетки. Схожие результаты получены S. Walsh и соавт. [142], которые применили синий прочный. Используя модель хронической денервации после перерезки большеберцового нерва крыс, они в соединяющий концы нерва кондуит вводили СК — клетки-предшественники, полученные из дермы кожи мышей. Ранее было установлено, что эти

клетки способны вырабатывать нейтрофилы: FGN, BDNF, NF3, способствующие росту периферических аксонов. Количественный анализ меченых ретроградным красителем синим прочным мотонейронов свидетельствовал об улучшении регенерации нерва в группе животных с применением СК по сравнению с группой, служащей активным контролем (введение культуральной среды).

Заключение. Морфологические подходы на протяжении десятилетий являются неотъемлемой частью методического потенциала научных работ, направленных на изучение механизмов восстановления и способов стимуляции регенераторных процессов в нервной системе. Современный этап развития нейроморфологии и восстановительной неврологии предъявляет новые, более высокие требования к селективности и достоверности используемых методик, которым в полной мере отвечают методы иммуногистохимии. В настоящее время для исследователей доступен широкий спектр молекулярных маркеров, функциональное значение которых далеко не всегда понятно. Сохраняют свое значение и классические морфологические приемы, среди которых необходимо упомянуть о методе анализа поперечных полутонких срезов нерва и ультраструктурном анализе регенерата. Представленные в статье материалы содержат необходимую информацию о сложных и эффективных методах молекулярного и клеточного анализа, применяемых при изучении механизмов восстановительных процессов, развивающихся в нервной системе после травмы. Широкое использование этих подходов должно способствовать повышению эффективности научных исследований, направленных на разработку новых медицинских технологий.

Литература

1. Waller A. New method for the study of the nervous system // Lond. J. Med.— 1852.— Vol. 4, № 43.— P. 609–625.
2. Ramon y Cahal, S. Degeneration and regeneration of the nervous system.— Vol. 1–2.— L.: Oxf. H. Milford, 1928.
3. Берснев В. П. Исходы микрохирургических операций при повреждении нервов // Ортопедия, травматология и протезирование.— 1987.— № 6.— С. 19–23.
4. Берснев В. П., Хамзаев Р. И., Борода Ю. И. Результаты эпинеурального шва седалищного нерва // Вестник хирургии им. И. И. Грекова.— 2009.— Т. 168, № 1.— С. 61–63.
5. Горшков Р. П., Нинель В. Г., Джумагишиев Д. К., Коришунова Г. А. Экспериментальное обоснование прямой длительной электростимуляции при нейротрансплантации периферических нервов // Бюллетень эксперим. биологии и медицины.— 2007.— Т. 143, № 4.— С. 470–472.
6. Григорович К. А. Хирургическое лечение повреждений нервов.— М.: Медицина, 1981.
7. Каверина В. В. Регенерация нервов при нейропластических операциях.— Л.: Медицина, 1975.
8. Evans C. R. Peripheral nerve injury: a review and approach to tissue engineered constructs // Anat. Rec.— 2001.— Vol. 263, № 4.— P. 396–404.
9. Одинак М. М., Живолупов С. А., Рашидов Н. А., Самарцев И. Н. Особенности развития дегенерационно-реиннервационного процесса при травматических невропатиях и плексопатиях // Вестник Российской Военно-медицинской академии.— 2007.— Т. 4, № 20.— С. 130–140.

10. Чельшев Ю. А., Хафизьянова Р. Х., Рагинов И. С., Вафин А. Ю. Стимуляция регенерации периферического нерва лекарственными средствами // Экспериментальная и клиническая фармакология.— 2000.— Т. 63, № 4.— С. 17–19.
11. Щудло Н. А., Сизова Т. В., Борисова И. В. и др. Экспериментальное обоснование применения адьювантной терапии церебролизином для оптимизации посттравматической регенерации периферического нерва // Гений ортопедии.— 2007.— № 3.— С. 35–39.
12. Boyd J. G., Gordon T. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor // Eur. J. Neurosci.— 2002.— Vol. 15, № 4.— P. 613–626.
13. Hollowell J. P., Villadiego A., Rich K. M. Sciatic nerve regeneration across gaps within silicone chambers: long-term effects of NGF and consideration of axonal branching // Exp. Neurol.— 1999.— Vol. 110, № 1.— P. 45–51.
14. Sun W., Sun C., Zhao H. et al. Improvement of sciatic nerve regeneration using laminin-binding human NGF- β // PLoS ONE.— 2009.— Vol. 4, № 7.— e180.
15. Terenghi G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors // J. Anat.— 1999.— Vol. 194, № 1.— P. 1–14.
16. Lundborg G., Celberman R. H., Longo F. M. et al. In vivo regeneration of cut nerves encased in silicone tubes: growth across a six-millimeter gap // J. Neuropathol. Exp. Neurol. 1982.— Vol. 41, № 4.— P. 412–422.
17. Чалисова Н. И., Чумасов Е. И. Регенерация периферических нервов в просвете имплантированных сосудов. Бюллетень эксперим. биологии и медицины.— 1983.— Т. 96, № 1.— С. 104–107.
18. Чумасов Е. И., Светикова К. М., Гусихина В. И. Разработка методов соединения поврежденных стволов с целью восстановления их целостности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.— 1986.— Т. 101, № 9.— С. 374–377.
19. Федяков А. Г., Древалъ О. Н., Севастьянов В. И. и др. Экспериментально-клиническое обоснование применения биодеградируемых имплантатов в хирургическом лечении поражений периферических нервов // Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко.— 2010.— № 3.— С. 15–20.
20. Чельшев Ю. А., Богов А. А. Экспериментальное обоснование применения кондуитов нерва // Неврологический вестник.— 2008.— Т. 15, № 4.— С. 101–109.
21. Bellamkonda R. V. Peripheral nerve regeneration: an opinion on channels, scaffolds and anisotropy // Biomaterials.— 2006.— Vol. 27, № 19.— P. 3515–3518.
22. Geuna S., Nicolino S., Raimondo S. et al. Nerve regeneration along bioengineered scaffolds // Microsurgery.— 2007.— Vol. 27, № 5.— P. 429–438.
23. Hood B., Levene H. B., Levi A. D. Transplantation of autologous Schwann cells for the repair of segmental peripheral nerve defects // Neurosurg Focus.— 2009.— Vol. 26, № 2.— P. 1–5.
24. Kingham P. G., Terenghi G. Bioengineered nerve regeneration and muscle reinnervation // J. Anat.— 2006.— Vol. 209, № 4.— P. 511–526.
25. Shi W., Yao J., Chen X. et al. The delayed repair of sciatic nerve defects with tissue-engineered nerve grafts in rats // Art. cells. Blood substitutes and biotechnology.— 2010.— Vol. 38, № 1.— P. 29–37.
26. Weber R. A., Breidenbach W. C., Brown R. E. et al. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans // Plast. Reconstr. Surg.— 2000.— Vol. 106, № 5.— P. 1036–1045.
27. Петрова Е. С. Применение стволовых клеток для стимуляции регенерации поврежденного нерва // Цитология.— 2012.— № 7.— С. 525–540.
28. Чельшев Ю. А. Регенерация в нервной системе // Руководство по гистологии / под ред. Р. К. Данилова.— СПб.: СпецЛит, 2011.— Т. 1.— С. 656–665.
29. Walsh S., Midha R. Use of stem cells to augment nerve injury repair // Neurosurgery.— 2009.— Vol. 65, № 4.— P. 80–86.
30. Дойников Б. С. Избранные труды по нейроморфологии и невропатологии.— М.: Медгиз, 1955.
31. Ноздрачев А. Д., Чумасов Е. И. Периферическая нервная система.— СПб.: Наука, 1999.
32. Обухов Д. К., Сотников О. С., Кругляков П. П. и др. Нервная система // Руководство по гистологии / под ред. Р. К. Данилова.— СПб.: СпецЛит, 2011.— Т. 1.— С. 491–674.
33. Сотников О. С. Функциональная морфология живого мягкотного нервного волокна.— Л: Наука, 1976.
34. Таюшев К. Г. Руководство по лабораторной нейрогистологической технике.— СПб.: Изд-во Российского научно-исслед. нейрохирургического ин-та им. А. Л. Поленова, 2005.
35. Hoffman P. N., Lasek R. J. The slow component of axonal transport. Identification of major structural polypeptides of the axon and their generality among mammalian neurons // J. Cell. Biol.— 1975.— Vol. 66, № 2.— P. 351–366.
36. Sawant L. A., Hasgekar N. N., Vyasarayani L. S. Developmental expression of neurofilament and glial filament proteins in rat cerebellum // Int. J. Dev. Biol.— 1994.— Vol. 38, № 3.— P. 429–437.
37. Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Иммуногистохимическое исследование иннервации сердца крысы // Морфология.— 2009.— Т. 135, № 2.— С. 33–37.
38. Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Распределение и структурная организация автономных нервных аппаратов в поджелудочной железе крысы // Морфология.— 2011.— Т. 139, № 3.— С. 51–58.

39. *Нагорнев В. А., Чумасов Е. И., Коржевский Д. Э. и др.* Современные подходы к изучению нервных аппаратов артерий при атеросклерозе и сахарном диабете // *Мед. академ. журн.*— 2010.— Т. 10, № 3.— С. 19–27.
40. *Lavasani M., Gehrman S., Gharabeh B. et al.* Venous graft-derived cells participate in peripheral nerve regeneration // *PLoS ONE.*— 2011.— Vol. 6, № 9.— e-24801.
41. *Matsumoto K., Ohnishi K., Kiyotani T. et al.* Peripheral nerve regeneration across an 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid (PGA)-collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves // *Brain Res.*— 2000.— Vol. 868, № 2.— P. 315–328.
42. *Toma J. G., McKenzie I. A., Bagli D., Miller F.* Isolation and characterization of multipotent skin-derived precursors from human skin // *Stem Cells.*— 2005.— Vol. 23, № 6.— P. 727–737.
43. *Marchesi C., Pluderer M., Colleoni F. et al.* Skin-derived stem cells transplanted into resorbable guides provide functional nerve regeneration after sciatic nerve resection // *Glia.*— 2007.— Vol. 55, № 4.— P. 425–438.
44. *Shi Y., Zhou L., Tian J., Wang Y.* Transplantation of neural stem cells overexpressing glia-derived neurotrophic factor promotes facial nerve regeneration // *Acta Otolaryngol.*— 2009.— Vol. 129, № 8.— P. 906–914.
45. *Wang A., Tang Z., Park I-H. et al.* Induced pluripotent stem cells for neural tissue engineering // *Biomaterials.*— 2011.— Vol. 32, № 22.— P. 5023–5032.
46. *Nie X., Zhang Y. J., Tian W. D. et al.* Improvement of peripheral nerve regeneration by a tissue-engineered nerve filled with ectomesenchymal stem cells // *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.*— 2007.— Vol. 36, № 1.— P. 32–38.
47. *Shen C. C., Yang Y. C., Liu B. S.* Peripheral nerve repair of transplanted undifferentiated adipose tissue-derived stem cells in a biodegradable reinforced nerve conduit // *J. Biomed. Mater. Res. A.*— 2012.— Vol. 100, № 1.— P. 48–63.
48. *Lopatina T., Kalinina N., Karagayur M. 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.— Vol. 6, № 3.— e17899.
49. *Fu C. Y., Dai L. G., Chiu I. M. et al.* Sciatic nerve regeneration by microporous nerve conduits seeded with glial cell line-derived neurotrophic factor or brain-derived neurotrophic factor gene transfected neural stem cells // *Artif. Organs.*— 2011.— Vol. 35, № 4.— P. 363–372.
50. *Heine W., Conant K., Griffin J. W., Hoke A.* Transplanted neural stem cells promote axonal regeneration through chronically denervated peripheral nerves // *Exp. Neurol.*— 2004.— Vol. 189, № 2.— P. 231–240.
51. *Murakami T., Fujimoto Y., Yasunaga Y. et al.* Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair // *Brain Res.*— 2003.— Vol. 974, № 1–2.— P. 17–24.
52. *Radtke C., Aizer A. A., Agulian S. K. et al.* Transplantation of olfactory ensheathing cells enhances peripheral nerve regeneration after microsurgical nerve repair // *Brain Res.*— 2009.— Vol. 1254.— P. 10–17.
53. *Portier M. M., de Nechaud B., Gros F.* Peripherin, a new member of the intermediate filament protein family // *Dev. Neurosci.*— 1983–1984.— Vol. 6, № 6.— P. 335–344.
54. *Beaulieu J. M., Nguyen M. D., Julien J. P.* Late onset of motor neurons in mice overexpressing wildtype peripherin // *J. Cell Biol.*— 1999.— Vol. 147, № 3.— P. 531–544.
55. *Barclay M., Julien J. P., Ryan A. F., Housley G. D.* Type III intermediate filament peripherin inhibits neuriteogenesis in type spiral ganglion neurons in vitro // *Neurosci Lett.*— 2010.— Vol. 478, № 2.— P. 51–55.
56. *Helfand B. T., Mendez M. G., Pugh J. et al.* A role for intermediate filaments in determining and maintaining the shape of nerve cells // *Mol. Biol. Cell.*— 2003.— Vol. 14, № 12.— P. 5069–5081.
57. *Lariviere R. C., Nguyen M. D., Ribeiro-da-Silva A., Julien J. P.* Reduced number of unmyelinated sensory axons in peripherin null mice // *J. Neurochem.*— 2002.— Vol. 81, № 3.— P. 525–532.
58. *Portier M. M., Escurat M., Landon F. et al.* Peripherin and neurofilaments: expression and role during neural development // *C. R. Acad. Sci. III.*— 1993.— Vol. 316, № 9.— P. 1124–1140.
59. *Fornaro M., Lee J. M., Raimondo S. et al.* Neuronal intermediate filament expression in rat dorsal root ganglia sensory neurons: an in vivo and in vitro study // *Neuroscience.*— 2008.— Vol. 153, № 4.— P. 1153–1163.
60. *Chadan S., Le Gall J. Y., Di Giamberardino L., Filliatreau G.* Axonal transport of type III intermediate filament protein peripherin in intact and regenerating motor axons of the rat sciatic nerve // *J. Neurosci.*— 1994.— Vol. 39, № 2.— P. 127–139.
61. *Jackman A., Fitzgerald M. J.* Development of peripheral hindlimb and central spinal cord innervation by subpopulations of dorsal root ganglion cells in the embryonic rat // *Comp Neurol.*— 2000.— Vol. 418, № 3.— P. 281–298.
62. *Mathiau P., Escurat M., Aubineau P.* Immunohistochemical evidence for the absence of central neuron projection to pial blood vessels and dura mater // *Neurosci.*— 1993.— Vol. 52, № 3.— P. 667–676.
63. *Kawasaki Y., Yoshimura K., Harii K., Park S.* Identification of myelinated motor and sensory axons in a regenerating mixed nerve // *J. Hand. Surg. Am.*— 2000.— Vol. 25, № 1.— P. 104–111.
64. *Macias M. Y., Lehman C. T., Sanger J. R., Riley D. A.* Myelinated sensory and alpha motor axon regeneration in peripheral nerve neuromas // *Muscle Nerve.*— 1998.— Vol. 21, № 12.— P. 1748–1758.

65. Lago N., Ceballos D., Rodriguez F. J. et al. Long term assessment of axonal regeneration through polyimide regenerative electrodes to interface the peripheral nerve // *Biomaterials*.— 2005.— Vol. 26, № 14.— P. 2021–2031.
66. Castro J., Negro P., Avendano C. Fiber composition of the rat sciatic nerve and its modification during regeneration through a sieve electrode // *Brain Res*.— 2008.— Vol. 1190.— P. 65–77.
67. Григорьев И. П., Василенко М. С., Сухорукова Е. Г., Коржевский Д. Э. Применение различных антител к тирозингидроксилазе для изучения катехоламинергических систем головного мозга млекопитающих // *Морфология*.— 2010.— Т. 138, № 6.— С. 60–63.
68. Отеллин В. А., Арушанян Э. Б. Нигрострионигральная система.— М.: Медицина, 1989.
69. Берснев В. П., Яковенко И. В., Семенютин В. Б., Кокин Г. С. Хирургическое лечение поврежденных нервов с учетом их кровотока и данных интраоперационной диагностики.— Л.: Из-во Рос. Научно-иссл. нейрохирург. ин-та им. А. Л. Поленова, 1991.
70. Oakley B. R. An abundance of tubulins // *Trends in Cell Biology*.— 2000.— Vol. 10, № 12.— P. 537–542.
71. Luduena R. F., Shooter E. M., Wilson L. Structure of the tubulin dimmer // *J. Biol. Chem*.— 1977.— Vol. 252, № 20.— P. 7006–7014.
72. Dutcher S. K. The tubulin fraternity: alpha to eta // *Curr. Opin. Cell. Biol*.— 2001.— Vol. 13, № 1.— P. 49–54.
73. Katsetos C. D., Legido A., Perentes E., Mork S. J. Class III beta-tubulin isotype: a key cytoskeletal protein at the crossroads of developmental neurobiology and tumor neuropathology // *J. Child Neurol*.— 2003.— Vol. 8, № 12.— P. 851–866.
74. Svendsen C. N., Bhattacharyya A, Tai Y. T. Neurons from stem cells: preventing an identity crisis // *Nat. Rev. Neurosci*.— 2001.— Vol. 2, № 11.— P. 831–834.
75. Коржевский Д. Э., Карпенко М. Н., Кирик О. В. Белки, ассоциированные с микротрубочками, как показатели дифференцировки и функционального состояния нервных клеток // *Морфология*.— 2011.— Т. 139, № 1.— С. 13–21.
76. Zhang P. B., Li W. S., Gao M. et al. Culture and identification of neural stem cells from mouse embryos // *Zhongguo Dang. Dai. Er. Ke. Za. Zhi*.— 2011.— Vol. 13, № 3.— P. 244–247.
77. Коржевский Д. Э., Петрова Е. С., Кирик О. В. и др. Нейрональные маркеры, используемые при изучении дифференцировки стволовых клеток // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*.— 2010.— Т. 5, № 3.— С. 57–63.
78. Sabri F., Cole J. A., Scarbrough M. C., Leventis N. Investigation of polyurea-crosslinked silica aerogels as a neuronal scaffold: a pilot study // *PLoS One*.— 2012.— Vol. 7, № 3.— e33242.
79. Chung T. W., Yang M. C., Tseng C. C. et al. Promoting regeneration of peripheral nerves in-vivo using new PCL-NGF/Tirofiban nerve conduits // *Biomaterials*.— 2011.— Vol. 32, № 3.— P. 734–743.
80. Amoh Y., Kanoh M., Niiyama S. 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.— Vol. 107, № 5.— P. 1016–1020.
81. Amoh Y., Aki R., Hamada Y., Niiyama S. et al. Nestin-positive hair follicle pluripotent stem cells can promote regeneration of impinged peripheral nerve injury // *J. Dermatology*.— 2012.— Vol. 39, № 1.— P. 33–38.
82. Jackson P., Thompson R. J. The demonstration of new human brain-specific proteins by high-resolution two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis // *J. Neurol. Sci*.— 1981.— Vol. 49, № 3.— P. 429–438.
83. Wilkinson K. D., Lee K. M., Deshpande S. et al. The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase // *Science*.— 1989.— Vol. 246, № 4930.— P. 670–673.
84. Gulbenkian S., Wharton J., Polak J. M. The visualisation of cardiovascular innervation in the guinea pig using an antiserum to protein gene product 9.5 (PGP 9.5) // *J. Autonomic Nervous System*.— 1987.— Vol. 18, № 3.— P. 235–247.
85. Anlauf M., Schafer M. K., Eiden L., Weihe E. Chemical coding of the human gastrointestinal nervous system: cholinergic, VIPergic, and catecholaminergic phenotypes // *J. Comparative Neurology*.— 2003.— Vol. 459, № 1.— P. 90–111.
86. Pilmane M., Ozolina L., Abola Z. et al. Growth factors, their receptors, neuropeptide-containing innervation, and matrix metalloproteinases in the proximal and distal ends of the esophagus in children with esophageal atresia // *Medicina (Kaunas)*.— 2011.— Vol. 47, № 8.— P. 453–460.
87. Takahashi T., Kakita A., Sakamoto I. et al. Immunohistochemical and electron microscopic study of extrinsic hepatic reinnervation following orthotopic liver transplantation in rats // *Liver*.— 2001.— Vol. 21, № 5.— P. 300–308.
88. Gingras M., Paradis I., Berthod F. Nerve regeneration in a collagen-chitosan tissue-engineered skin transplanted on nude mice // *Biomaterials*.— 2003.— Vol. 24, № 9.— P. 1653–1661.
89. Martinez-Martinez E., Toscano-Marquez B., Gutierrez-Ospina G. Long-term effects of Neonatal capsaicin treatment on intraepidermal nerve fibers and keratinocyte proliferation in rat glabrous skin // *Anat. Rec*.— 2011.— Vol. 294, № 1.— P. 173–184.
90. Pintelon I., Brouns I., Proost I. et al. Sensory receptors in the visceral pleura: neurochemical coding and live staining in whole mounts // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*.— 2007.— Vol. 36, № 5.— P. 541–551.
91. Nakajima T., Murabayashi C., Ogawa K., Taniguchi K. Immunoreactivity of protein gene product 9.5 (PGP 9.5) in the developing hamster olfactory bulb // *Anat. Rec*.— 1998.— Vol. 250, № 2.— P. 238–244.
92. Lossi L., Ghidella S., Marroni P., Merighi A. The neurochemical maturation of the rabbit cerebellum // *J. Anat*.— 1995.— Vol. 187, № 3.— P. 709–722.

93. Tollet J., Everett A. W., Sparrow M. P. Spatial and temporal distribution of nerves, ganglia, and smooth muscle during the early pseudoglandular stage of fetal mouse lung development // *Dev. Dyn.*— 2001.— Vol. 221, № 1.— P. 48–60.
94. Karanth S. S. Ontogeny of nerves and neuropeptides in skin of rat: an immunocytochemical study // *Exp. Dermatol.*— 1994.— Vol. 3, № 4.— P. 171–175.
95. Jen P. Y., Dixon J. S. Development of peptide-containing nerves in the human fetal prostate gland // *J. Anat.*— 1995.— Vol. 187, № 1.— P. 169–179.
96. Lin W. M., Hsieh S. T., Huang T. et al. Ultrastructural localization and regulation of protein gene product 9.5 // *NeuroReport.*— 1997.— Vol. 8, № 14.— P. 2999–3004.
97. Kalbermatten D. F., Pettersson J., Kingham P. J. et al. New fibrin conduit for peripheral nerve repair // *J. Reconstr Microsurg.*— 2009.— Vol. 25, № 1.— P. 27–33.
98. Di Summa P. G., Kingham P. J., Raffoul W. et al. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration // *J. Plast.Reconstr. Aesthet. Surg.*— 2010.— Vol. 63, № 9.— P. 1544–1552.
99. Hoffman P. N. Expression of GAP-43, a rapidly transported growth-associated protein, and class II beta tubulin, a slowly transported cytoskeletal protein, are coordinated in regenerating neurons // *J.Neurosci.*— 1989.— Vol. 9, № 3.— P. 893–897.
100. Basi G. S., Jacobson I., Virag J. et al. Primary structure and transcriptional regulation of GAP-43, a protein associated with neuronal growth // *Cell.*— 1987.— Vol. 49.— P. 785–791.
101. Cajda M., Litwin J. A., Tabarowski Z. et al. Development of rat tibia innervation: colocalization of autonomic nerve fiber markers with growth-associated protein 43 // *Cells Tissues Organs.*— 2010.— Vol. 191, № 6.— P. 489–499.
102. Bursova S., Dubovy P., Vlckova-Moravcova E. et al. Expression of growth-associated protein 43 in the skin nerve fibers of patients with type 2 diabetes mellitus // *J. Neurological Sci.*— 2012.— Vol. 315, № 1–2.— P. 60–63.
103. Schofield E. C., Clausen J. A., Burcher E., Moore K. H. GAP-43 immunoreactivity of subepithelial and detrusor muscle nerve fibres in patients with refractory idiopathic detrusor overactivity // *Neurourology and urodynamics.*— 2005.— Vol. 24, № 4.— P. 325–333.
104. McDonald D., Cheng C., Chen Y., Zochodne D. Early events of peripheral nerve regeneration // *Neuron Clia Biol.*— 2006.— Vol. 2, № 2.— P. 139–147.
105. Whitworth I. H., Terenghi G., Green C. J. et al. Targeted delivery of nerve growth factor via fibronectin conduits assists nerve regeneration in control and diabetic rats // *Eur. J. Neurosci.*— 1995.— Vol. 7, № 11.— P. 2220–2225.
106. Cheng C., Zochodne D. W. In vivo proliferation, migration and phenotypic changes of Schwann cells in the presence of myelinated fibers // *Neuroscience.*— 2002.— Vol. 115, № 1.— P. 321–329.
107. Moore B. W. A soluble protein characteristic of the nervous system // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1965.— Vol. 19, № 6.— P. 739–744.
108. Одинак М. М., Цыган Н. В., Иванов А. М. и др. Белок S100 β — биомаркер повреждения головного мозга // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.*— 2011.— Т. 1, № 33.— С. 210–214.
109. Полетаев А. Б., Шерстнев В. В. Белки группы. S100 β : обзор функциональных свойств // *Успехи совр. биол.*— 1987.— Т. 103, № 1.— С. 124–132.
110. Траплин А. В., Левада О. А. Белок S100 β : нейробиология, значение при неврологической и психиатрической патологии // *Международный неврологический журнал.*— 2009.— № 1.— С. 166–175.
111. Abraha H. D., Butterworth J., Bath P. M. W. et al. Serum S-100 protein, relationship to clinical outcome in acute stroke // *Ann. Clin. Biochem.*— 1997.— Vol. 34, № 5.— P. 546–550.
112. Elting J. W., De Jager A. E. J., Teelken A. W. et al. Comparison of serum S-100 protein levels following stroke and traumatic brain injury // *J. Neurol. Sci.*— 2000.— Vol. 181, № 1–2.— P. 104–110.
113. Peskind E. R., Griffin W. S., Akama K. T. et al. Cerebrospinal fluid S100 β is elevated in the earlier stages of Alzheimer's disease // *Neurochem. Int.*— 2001.— Vol. 39, № 5–6.— P. 409–413.
114. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type // *Biochimica et Biophysica Acta.*— 1999.— Vol. 1450, № 3.— P. 191–231.
115. Cui L., Jiang J., Wei L. et al. Transplantation of embryonic stem cells improves nerve repair and functional recovery after severe sciatic nerve axotomy in rats // *Stem cells.*— 2008.— Vol. 26, № 5.— P. 1356–1365.
116. Dombrowski M. A., Sasaki M., Lankford K. L. et al. Myelination and nodal formation of regenerated peripheral nerve fibers following transplantation of acutely prepared olfactory ensheathing cells // *Brain Res.*— 2006.— Vol. 1125, № 1.— P. 1–8.
117. Mendell J. R., Whitaker J. N. Immunocytochemical localization studies of myelin basic protein // *J. Cell Biol.*— 1978.— Vol. 76, № 2.— P. 502–511.
118. Riccio P., Fasano A., Borenshtein N. et al. Multilamellar packing of myelin modeled by lipid-bound MBP // *J. Neurosci Res.*— 2000.— Vol. 59, № 4.— P. 513–521.
119. Сухорукова Е. Г., Кирик О. В., Петрова Е. С. Глиальные маркеры // *Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / под ред. Д. Э. Коржевского.*— СПб.: СпецЛит, 2012.— С. 81–88.

120. Чехонин В. П., Гурина О. И., Дмитриева Т. Б. и др. Основной белок миелина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний // Биомедицинская химия.— 2000.— Т. 46, № 6.— С. 560–563.
121. Bodhireddy S. R., Lyman W. D., Rashbaum W. K., Weidenheim K. M. Immunohistochemical detection of myelin basic protein is a sensitive marker of myelination in second trimester human fetal spinal cord // J. Neuropathol Exp. Neurol.— 1994.— Vol. 53, № 2.— P. 144–149.
122. Okada K., Tanaka H., Tempurin K. et al. Methylcobalamin increases Erk1/2 and Akt activities through the methylation cycle and promotes nerve regeneration in a rat sciatic nerve injury model // Exp. Neurology.— 2010.— Vol. 222, № 2.— P. 191–203.
123. Liu W., Ren Y., Bossert A., Wang X. et al. Allografted neurons used to repair peripheral nerve injury do not elicit overt immunogenicity // PLoS One.— 2012.— Vol. 7, № 2.— e31675.
124. Garcia-Suarez O., Montano J. A., Esteban I. et al. Myelin basic protein-positive nerve fibres in human Meissner corpuscles // J. Anat.— 2009.— Vol. 214, № 6.— P. 888–893.
125. Архипова С. С., Рагинов И. С., Мухитов А. Р., Чельшев Ю. А. Клетки-сателлиты чувствительных нейронов после различных типов травм седалищного нерва крысы // Морфология.— 2009.— Т. 135, № 3.— С. 29–34.
126. Рагинов И. С., Чельшев Ю. А. Посттравматическое выживание чувствительных нейронов различных субпопуляций // Морфология.— 2003.— Т. 124, № 4.— С. 47–50.
127. Чельшев Ю. А., Рагинов И. С., Гусева Д. С., Масгутов Р. Ф. Выживание и фенотипическая характеристика аксотомированных нейронов спинальных ганглиев // Морфология.— 2004.— Т. 125, № 3.— С. 45–49.
128. Fawcett J. W., Keynes R. J. Peripheral nerve regeneration // Annu Rev. Neurosci.— 1990.— Vol. 13.— P. 43–60.
129. Чельшев Ю. А. Факторы поддержания регенерации периферических нервных проводников // Успехи физиологических наук.— 1995.— Т. 26, № 3.— С. 57–77.
130. Liuzzi F. J., Tedeschi B. Peripheral nerve regeneration // Neurosurg. Clin. N. Am.— 1991.— Vol. 2, № 1.— P. 31–42.
131. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения.— М.: Высшая школа, 1991.
132. Макаров Ф. Н. Исследование связей нервной системы с помощью аксонального транспорта пероксидазы хрена // Архив анат., гист. и эмбриол.— 1979.— Т. 77, № 9.— С. 108–115.
133. Peyronnard J. M., Charron L. Motor and sensory neurons of the rat sural nerve: a horseradish peroxidase study // Muscle Nerve.— 1982.— Vol. 5, № 8.— P. 654–660.
134. Тимофеева Л. Б., Благова Н. В., Величанская А. Г. и др. Морфология популяций чувствительных и моторных нейронов, формирующих седалищный нерв норме и при его перерезке у взрослых крыс // Современные технологии в медицине.— 2010.— № 3.— С. 18–23.
135. Richmond F. J. R., Gladdy R., Creasy J. L. et al. Efficacy of seven retrograde tracers, compared in multiple studies of feline motoneurons // J. Neurosci. Methods.— 1994.— Vol. 53, № 1.— P. 35–46.
136. Zele N., Skeletj J., Bajrovic F. F. Efficacy of fluorescent tracers in retrograde labeling of cutaneous afferent neurons in the rat // J. Neurosci. Methods.— 2010.— Vol. 191, № 20.— P. 208–214.
137. Ding T., Luo Z. J., Zheng Y. et al. Rapid repair and regeneration of damaged rabbit sciatic nerves by tissue-engineered scaffold made from nano-silver and collagen type I. // Injury.— 2010.— Vol. 41, № 5.— P. 522–527.
138. Yang Y., Ding F., Wu J. et al. Development and evaluation of silk fibrin-based nerve grafts used for peripheral nerve regeneration // Biomaterials.— 2007.— Vol. 28, № 36.— P. 5526–5535.
139. Sulaiman O. A., Gordon T. Effects of short- and long-term Schwann cell denervation on peripheral nerve regeneration, myelination, and size // Glia.— 2000.— Vol. 32, № 3.— P. 234–246.
140. Clavanzani P., Scapolo P. A., Callegari E. et al. Motoneuron organisation of the muscles of the spinal accessory complex of the sheep investigated with the fluorescent retrograde tracer technique // J. Anat.— 1994.— Vol. 184, № 2.— P. 381–385.
141. Novikov L., Novikova L., Kellerth J. O. Brain-derived neurotrophic factor promotes axonal regeneration and long-term survival of adult rat spinal motoneurons in vivo // Neurosci.— 1997.— Vol. 79, № 3.— P. 765–774.
142. Walsh S., Gordon T., Addas B. M. et al. Skin-derived precursor cells enhance peripheral nerve regeneration following chronic denervation // Exp. Neurology.— 2010.— Vol. 223, № 1.— P. 221–228.

Поступила в редакцию: 16.08.2012 г.
Контакт: Петрова Елена Сергеевна. ietmorphol@yandex.ru