

© Коллектив авторов, 2006
УДК 616.832-001.4-003.93:599.323.4

В. Н. Ярыгин, В. В. Банин, К. Н. Ярыгин и А. С. Брюховецкий

РЕГЕНЕРАЦИЯ СПИННОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ТОРАКАЛЬНОЙ СЕГМЕНТЭКТОМИИ: РОСТ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ НЕРВНЫХ ПРОВОДНИКОВ

Кафедра медицинской биологии (зав. — академик РАМН проф. В.Н.Ярыгин), отдел морфологии (зав. — чл.-кор. РАМН проф. В.В.Банин), отдел медицинских клеточных технологий (зав. — д-р мед. наук К.Н.Ярыгин) Российского государственного медицинского университета; клиника «Нейровита» (руков. — д-р мед. наук А.С.Брюховецкий), Москва

Результаты, изложенные в предыдущем сообщении (Морфология, 2005, т. 127, вып. 2), свидетельствуют о том, что консолидация спинного мозга (СМ) крыс после торакальной сегментэктомии происходит за счет формирования соединительнотканного рубца, причем быстрее в условиях, когда дефект заполнялся коллагеновым гелем. В настоящей статье на основе анализа полутонких срезов и ТЭМ показано, что регенерирующие нервные проводники пересекают соединительную ткань в составе структур, строение которых идентично строению периферических нервов. В зоне разреженного вещества СМ каудальнее места травмы миелинизация растущих аксонов осуществляется клетками глии, без формирования нервных стволиков. В канатиках белого вещества поясничных сегментов СМ на месте дегенерировавших миелиновых волокон отмечаются множество тонких регенерирующих проводников.

Ключевые слова: спинной мозг, сегментэктомия, нервные волокна, регенерация.

В предыдущем сообщении [1] были представлены результаты гистологического исследования спинного мозга (СМ) крыс после удаления 1–2 грудных сегментов. Основной акцент в этой статье был сделан на условиях и модуле восстановления анатомической целостности СМ. Было показано, что консолидация СМ протекает раньше и более успешно при заполнении операционного дефекта специальным нейrogелем («Сферогель-Э» на основе коллагена) или гелем, содержащим клетки, полученные из мозга эмбрионов крыс. В этих условиях соединительнотканый рубец, который связывает культы СМ, формируется уже в течение 2 нед послеоперационного периода, тогда как у контрольных животных в эти сроки полость дефекта СМ еще занята фибриновыми массами. Лишь небольшая часть всех животных, перенесших сегментэктомию, переживала период 8–11 нед, и только у трех крыс в экспериментальных сериях, которые можно обозначить как «гель» и «гель+клетки», наблюдалось частичное восстановление локомоции в задних конечностях. Восстановление функций после перенесенной тяжелой спинномозговой травмы может быть, по крайней мере, частично связано с регенерацией и ростом нисходящих нервных проводников, которые преодолевают дефект СМ и устанавливают новые связи с нижележащими сегментами.

Тот факт, что нейроны ЦНС способны к регенерации своих отростков, считается уже общепризнанным [2, 4]. Полагают, что в нормальных условиях у взрослого регенераторный потенциал этих нейронов, который так ярко проявляется в эмбриональном периоде, подавлен, чтобы сохранить установившиеся в процессе развития нейронные связи и функциональные пути «циркуляции» импульсов [9]. Это связано с супрессией соответствующих генов [14, 15] и синтезом некоторых ингибиторов регенерации, например таких как Nogo-A и белок, ассоциированный с миелином [6, 12, 13].

Регенерация и рост нисходящих аксонов были неоднократно подтверждены в экспериментальных условиях и у человека при травме СМ различной тяжести, включая его частичную или полную перерезку [4, 6, 8]. После контузии — наиболее частого вида спинномозговой травмы, часть волокон, формирующих белое вещество, сохраняются по периферии СМ [2, 7], что нередко обеспечивает заметное, хотя, конечно, и неполное, восстановление утраченных функций. Трудности, с которыми «сталкиваются» регенерирующие аксоны, связаны в основном с двумя обстоятельствами. Во-первых, это препятствия собственно росту или миграции проводников, поскольку растущим волокнам необходимо преодолевать глиальный рубец и обширные «пустые» пространства, которые образуются в веществе СМ в результате сирингомиелии. Понятно, что при полном пересечении СМ проводники должны преодолеть также и физический дефект между культами, и проблема консолидации спинномозгового ствола может оказаться очень важной для успеха регенерации. Во-вторых, для полноценного функционирования нервных проводников необходима их успешная миелинизация. Неполюценность миелинизации вновь образующихся аксонов может быть связана с дефектами глиального окружения и с высокими концентрациями факторов, подавляющих образование миелиновой оболочки в очаге посттравматического воспаления [15].

Лечебные вмешательства, весьма интенсивно используемые в настоящее время, направлены в основном на преодоление этих трудностей [2, 9, 11]. Для этой цели все чаще стали использоваться биоинженерные подходы, клеточные и генно-клеточные технологии. В частности, для создания среды, облегчающей рост аксонов, используются различные композиции на основе биологических или искусственных молекул, фрагменты нервной ткани (периферических нервов или ткани мозга в эксперименте), имплантаты глиальных или соединительнотканых клеток, стволо-

вые и прогениторные нервные клетки, трансгенно модифицированные клеточные линии и т. д.

Общей целью настоящего исследования было изучение регенерации СМ в условиях экспериментальной сегментэктомии. Настоящее сообщение посвящено описанию особенностей регенерации нервных проводников.

Материал и методы. Подробное описание всего экспериментального материала, техники проведения вмешательства, послеоперационного ведения животных и условий взятия ткани для морфологического исследования изложено в предыдущем сообщении [1]. В работе были использованы крысы трех экспериментальных групп. Животным группы контроля проводили сегментэктомию на уровне T_4 и дефект вещества СМ оставался ничем не заполненным. У животных 2-й группы операционный дефект СМ заполняли «Сферогелем» (группа «гель»), а у крыс 3-й экспериментальной группы в этом геле были диспергированы нервные клетки мозга эмбрионов крыс («гель+клетки»). Поскольку смертность животных, несмотря на тщательные условия их содержания в послеоперационном периоде, была высокой, в настоящем сообщении приводятся результаты исследования СМ 6 крыс (по 2 в каждой группе), срок жизни которых после операции превысил 2 мес. Очевидно, что в этом случае сравнение результатов может быть основано только на простом описании и исключает использование статистики. Напомним также, что из выживших животных 2 крысы в группе «гель+клетки» и одна в группе «гель» показывали к концу 2-го месяца отчетливые признаки восстановления произвольных движений, вполне поддающиеся балльной оценке по общепринятой шкале «BBB» [3].

В настоящем сообщении приведены результаты исследования полутонких и тонких срезов СМ. СМ крыс, перенесших операцию, фиксировали *in situ*, без предварительного выделения или перфузии, иммерсией фрагмента позвоночного столба в 2,5 % глутаровом альдегиде на фосфатном буфере. Фрагмент позвоночника извлекали под общей анестезией животного раствором кетамина. Понятно, что в процессе выполнения этой манипуляции крыса погибала. Такой метод фиксации нервной ткани не является оптимальным, однако требования максимальной сохранности фрагментов пересеченного СМ и тяжелое состояние экспериментальных животных обусловили его выбор. После 1–1,5 нед предварительной фиксации вскрывали спинномозговой канал и СМ, извлеченный вместе с оболочками, фиксировали в свежей порции глутарового альдегида еще в течение 1–2 сут. Фрагменты СМ, содержащие зону рубца и поясничные сегменты, обрабатывали по протоколу, принятому в лаборатории, и заливали в аралдит. Продольные и поперечные полутонкие срезы СМ окрашивали 1% метиленовым синим с последующим заключением срезов в смолу. Срезы, предназначенные для электронно-микроскопического анализа (ТЭМ), готовили прицельно из предварительно выбранных участков, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и исследовали в микроскопах HU-12A (Hitachi) и Leo 912 (Carl Zeiss). Так же, как и при гистологическом исследовании, при изучении полутонких срезов использовали фотореконструкцию фрагментов ткани.

Результаты исследования. Как видно из обзорной реконструкции продольного сечения СМ, представленной на рис. 1, а, каудальное соединительнотканного рубца, связывающего пересеченные фрагменты, отмечается относительно «пустое» протяженное пространство, практически лишенное вещества мозга. В этом участке встречаются кровеносные сосуды и тонкие тяжи светлых клеток, кото-

рые в каудальном направлении переходят в вещество мозга. В общем можно выделить 5 зон, более детальная характеристика которых дает представление о характере регенерации проводников.

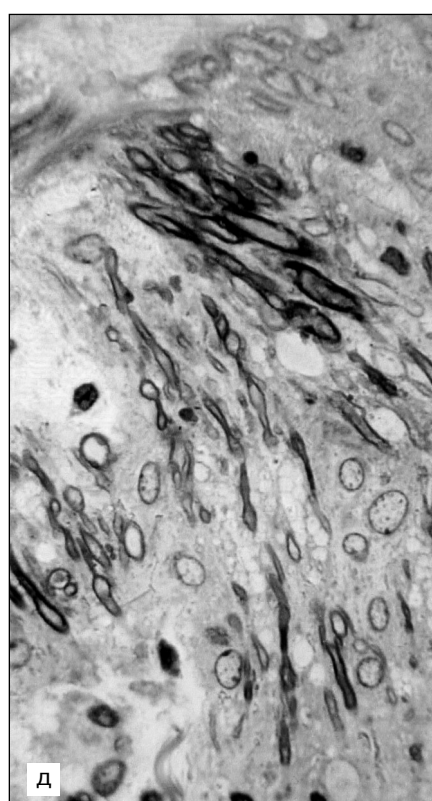
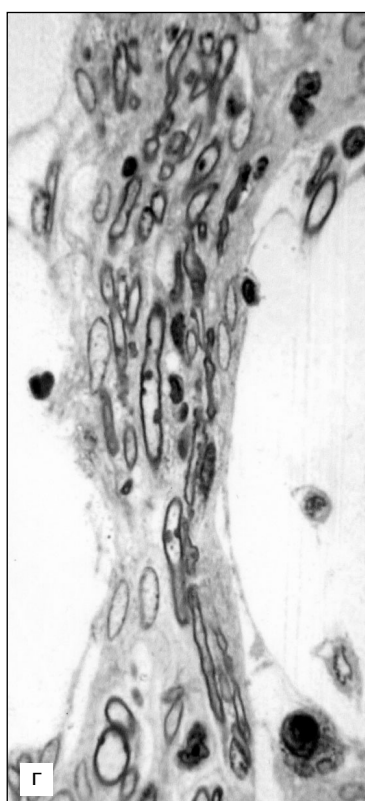
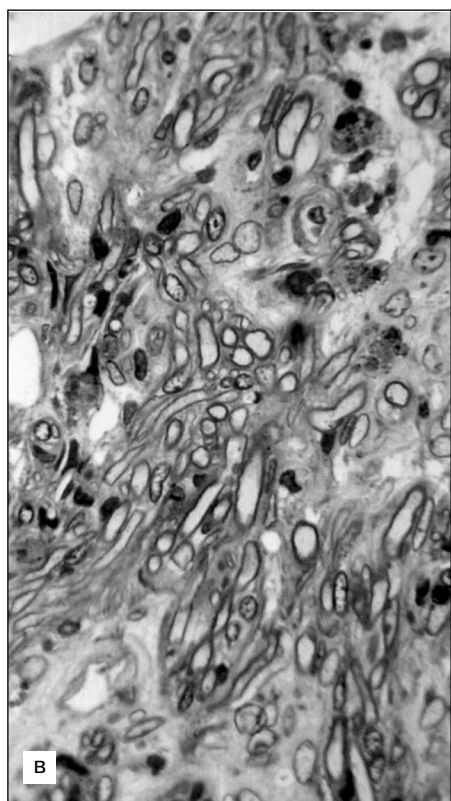
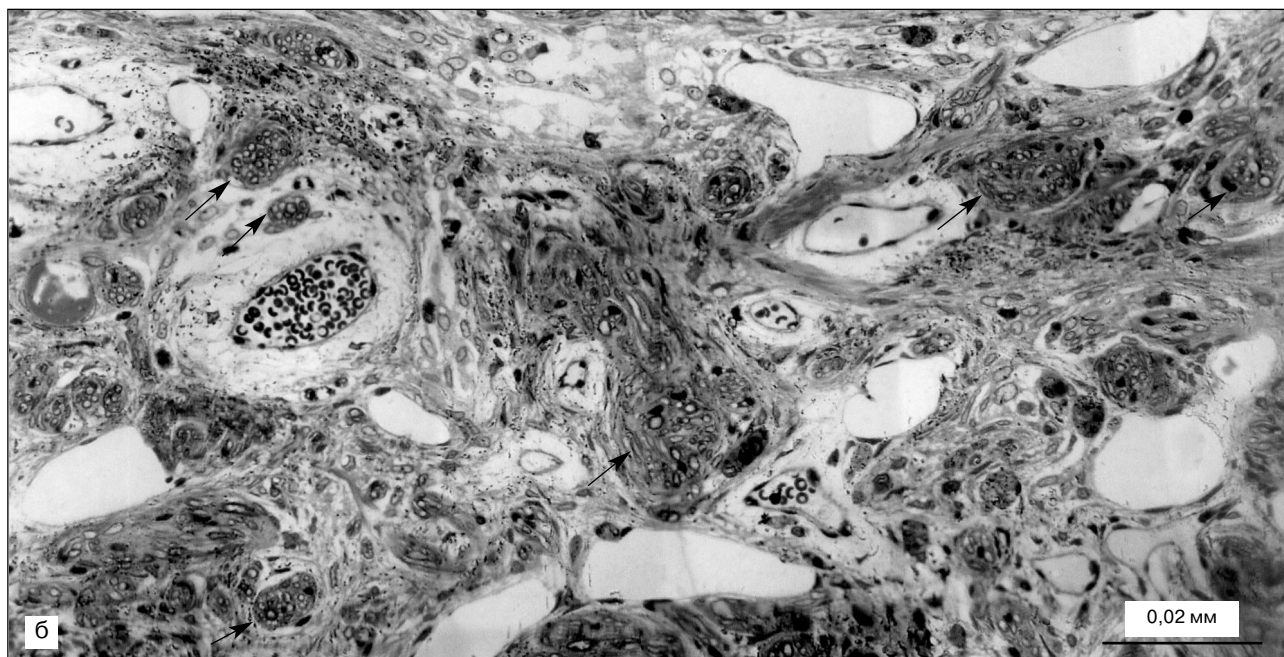
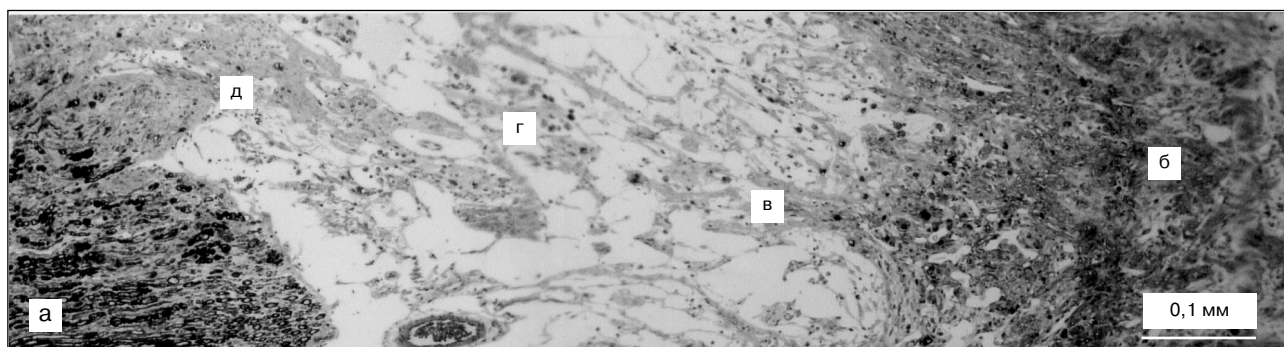
Первая зона — зона собственно рубца, представлена соединительной тканью, в которой расположены многочисленные кровеносные сосуды и группы тонких миелиновых нервных волокон (МНВ). Они особенно многочисленны у животных 2-й и 3-й экспериментальной группы (см. рис. 1, б). На представленной реконструкции видно, что МНВ группируются в подобие тонких нервных стволиков с отчетливыми циркулярными границами. Направление этих стволиков неопределенно и следует общему направлению коллагеновых пучков соединительной ткани.

Во второй зоне, соответствующей области перехода соединительной ткани рубца в нижележащую «пустую» зону, многочисленные МНВ постепенно вытесняют элементы соединительной ткани (см. рис. 1, в), которая исчезает на границе с третьей, «пустой», зоной. Эта граница имеет весьма прихотливые очертания, особенно на препаратах СМ животных 2-й («гель») и 3-й («гель+клетки») группы. Клеточные тяжи, которые пересекают «пустую» зону, почти повсеместно сопровождаются МНВ (см. рис. 1, г), не группирующимися в пучки.

В четвертой зоне, в области перехода клеточных тяжей в вещество мозга МНВ вновь группируются, образуя небольшие пучки без видимых границ (см. рис. 1, д). Хотелось бы подчеркнуть, что это описание относится к центральным участкам СМ, т. е. к зоне серого вещества. На этом уровне уже вполне отчетливо выделяется по периферии и белое вещество, которое на продольном сечении СМ, близком к оси (спинномозговому каналу), представлено боковыми канатиками. Таким образом, на всем протяжении интересующего нас участка СМ от зоны операционной травмы (зона рубца) до относительно сохранного вещества СМ у животных 2-й и 3-й экспериментальной группы повсеместно встречаются многочисленные МНВ небольшого диаметра, что может свидетельствовать о регенерации аксонов нисходящих трактов. О распределении нервных проводников в пятой зоне, которая соответствует нижележащим, люмбальным сегментам СМ, будет сказано ниже.

Общая картина повреждения СМ у крыс 1-й, контрольной группы в целом такая же, однако можно отметить существенные различия в числе и распределении аксонов. Например, в зоне рубца и на его границе грубая соединительная ткань доминирует, сосудов сравнительно немного, а «нервные стволики» немногочисленны. В тяжах светлых клеток, пересекающих «пустую» зону, встречаются обычно 2–3 МНВ, а нередко и единичные проводники. В проксимальных участках вещества СМ можно видеть МНВ различного диаметра, в том числе и относительно крупные. Однако толщина миелиновой оболочки, как правило, невелика, проводники расположены рыхло, и даже на полутонких срезах можно видеть, что многие из них повреждены.

Результаты прицельной ТЭМ свидетельствуют о том, что в тех участках, где соединительная ткань доминирует или достаточно отчетливо выражена (зона



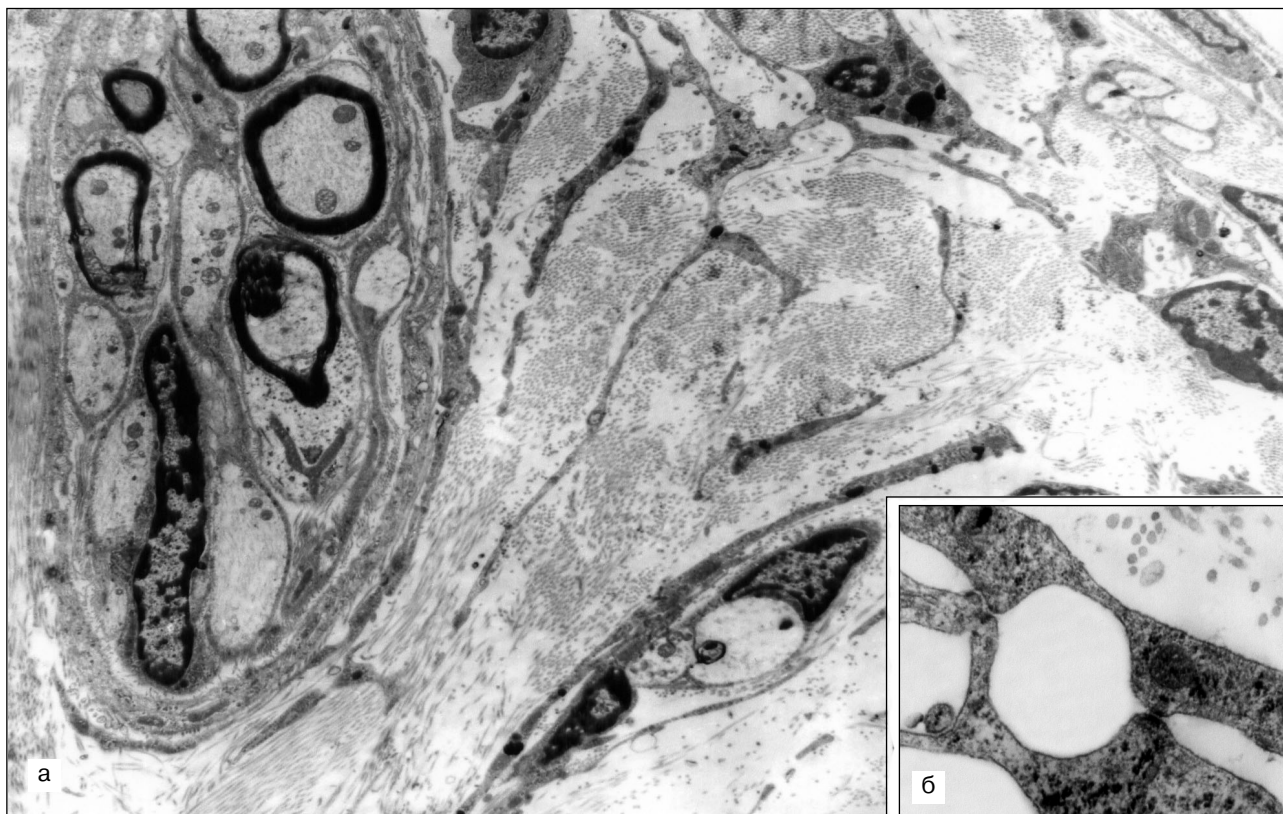


Рис. 2. Область рубца.

а — небольшой нервный ствол в соединительной ткани рубца; б — контакты между фибробластами. Ув.: а — 10 000; б — 15 000.

рубца и постепенный переход в «пустую» зону), нервные проводники группируются в структуры, которые имеют типичное строение небольшого периферического нерва (рис. 2, а). Миелиновые и безмиелиновые нервные волокна с окружающими их леммоцитами (шванновскими клетками) в свою очередь окружены 1–2 слоями периневральных клеток. В отличие от толстых коллагеновых фибрилл окружающей соединительной ткани, фибриллы эндоневрия тонкие, III типа. Периневральные клетки образуют плотные контакты. Нервные стволы, как правило, невелики и не содержат кровеносных сосудов. Последние нередко можно видеть в непосредственном окружении нервных стволиков. МНВ небольшого и среднего диаметра как правило, с тонкой миелиновой оболочкой. Сохранность аксонов и миелиновых оболочек в целом удовлетворительна, однако в некоторых нервных стволках можно встретить, по меньшей мере, 1–2 МНВ с поврежденными аксонами и дефектами миелиновой оболочки. Безмиелиновые проводники страдают чаще. Среди клеточных элементов окружающей соединительной ткани преобладают небольшие фибробласты с длинными отростками. Между отростками фибробластов или между их телами отмечаются локальные контакты, которые

можно отнести к простым адгезионным и, реже, щелевым соединениям (см. рис. 2, б). Форма фибробластов и их объединение в сетевидные конструкции свидетельствуют об их происхождении из оболочек СМ, в частности, из твердой оболочки мозга. Помимо фибробластов в соединительной ткани и в других зонах повреждения нередко встречались крупные макрофаги, цитоплазма которых перегружена продуктами распада миелиновых оболочек. Такие «мякотные шары» отчетливо видны и на полутонких срезах. Единичные нейтрофильные гранулоциты, плазматические клетки, поврежденный эндотелий кровеносных капилляров и обширные гидратированные пространства между клетками свидетельствуют о продолжающемся, хотя и вяло текущем воспалении.

Непосредственный переход соединительной ткани рубца в разреженное вещество СМ увидеть при электронно-микроскопическом исследовании не очень просто. Эта граница знаменуется исчезновением коллагеновых фибрилл и появлением нового типа клеток (рис. 3, а). На смену фибробластам приходят крупные отростчатые клетки со светлой цитоплазмой и активным ядром. Именно эти клетки формируют тяжи, пересекающие «пустое» пространство каудальнее рубца. Мы отнесли эти клетки к категории протоплазменных

Рис. 1. Миелиновые нервные волокна (МНВ) в зоне рубца и в веществе спинного мозга (СМ) через 9,5 нед после сегментэктомии (группа «гель+клетки»).

а — обзорная фотореконструкция продольного сечения СМ (буквами помечены зоны, иллюстрированные на фото б–д); б — пучки МНВ (стрелки) в соединительной ткани рубца, полости — расширенные микрососуды. Фотореконструкция; в — множество МНВ на границе с разреженным веществом СМ; г — нервные волокна в тяжах глиальных клеток, пересекающих «пустую» зону; д — МНВ в зоне вхождения в вещество СМ. Полутонкие срезы, окраска метиленовым синим. Ув.: в, г, д — 630.

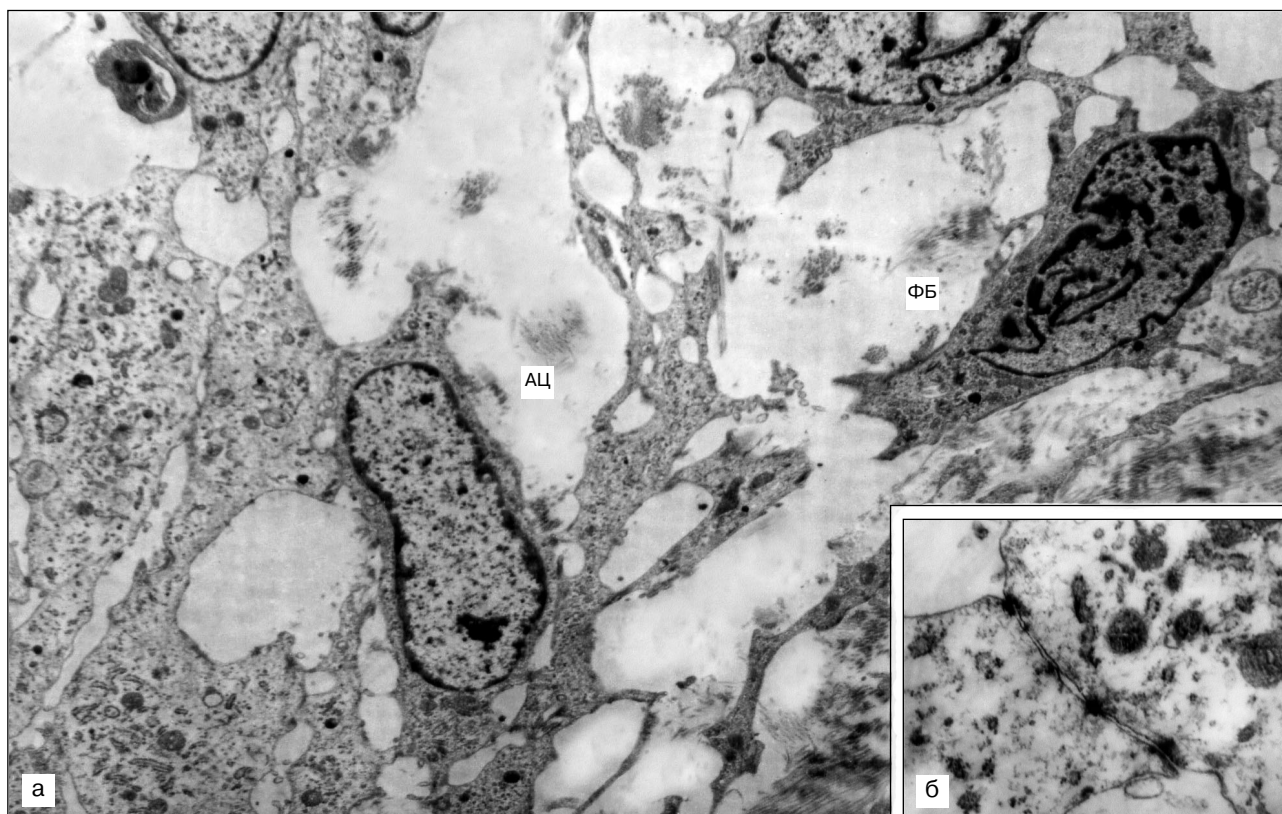


Рис. 3. Граница между соединительной тканью рубца и разреженным веществом спинного мозга.

а — ФБ — фибробласт; АЦ — астроцит; б — десмосомы между астроцитами. Ув.: а — 12 000; б — 15 000.

астроцитов, поскольку промежуточных филаментов в их цитоплазме немного, а многочисленные межклеточные контакты представлены небольшими типичными десмосомами (см. рис. 3, б).

Если в участках соединительной ткани организации нервных проводников в ассоциации по типу периферического нерва явление почти закономерное, то в зоне «пустого» пространства ситуация иная. Здесь МНВ уже не группируются в пучки, а безмиелиновых — мы вообще не наблюдали. В участках, близких к зоне рубца и еще, вероятно, содержащих немногочисленные компоненты соединительной ткани, можно было видеть отдельные МНВ, с хорошо сохранной и довольно толстой миелиновой оболочкой (рис. 4). Эти волокна окружены толстым ободком цитоплазмы клетки с отчетливой базальной мембраной. Такая картина характерна, скорее, для шванновских клеток, а не для клеток глии ЦНС, однако никаких компонентов эндоневрия и периневральных клеток в ближайшем окружении выявить не удалось. По мере удаления от зоны рубца в каудальном направлении среди глиальных клеток встречаются одиночные (но не единичные) МНВ с более тонкой миелиновой оболочкой (рис. 5). Они располагаются среди протяженных отростков глиальных клеток, которые на ограниченных участках очень тесно прилежат к внешним слоям миелина. Мы можем допустить, что эти отростки принадлежат олигодендроцитам и, следовательно, на протяжении одного аксона модус миелинизации может меняться с «периферического» на «центральный», т. е. характерный для волокон ЦНС. Определить точную принад-

лежность клеточных отростков на тонких (50–60 нм) срезах представлялось затруднительным, поскольку тело клетки могло быть расположено достаточно далеко от самого волокна.

При изучении полутонких срезов и ТЭМ зоны вещества мозга мы обратили внимание на группы клеток с эпителиоподобным строением. Эти клетки формировали некоторое подобие ацинусов (в сечении) или трубок с общей базальной пластинкой и центрально или эксцентрично расположенным щелевидным просветом (рис. 6, а). Значительный объем цитоплазмы клеток был занят промежуточными филаментами, а обращенная в просвет апикальная поверхность формировала микроворсинки и немногочисленные реснички (см. рис. 6, б). Основываясь на структуре клеток, типичной для реснитчатых эпителиоцитов, наличии общей базальной пластинки и просвета, мы расценили эти образования как эктопические разрастания спинномозгового канала. Для доказательства связи этих разрастаний с центральным каналом необходимы, очевидно, трехмерные реконструкции.

Состояние проводникового аппарата в нижележащих поясничных сегментах мы оценивали на поперечных срезах СМ (рис. 7, а). В задних канатиках можно видеть МНВ, преимущественно, небольшого и среднего диаметра и довольно обширные пустоты, лишенные проводников (см. рис. 7, б). В базальной зоне задних канатиков, где у крыс локализуется большая часть кортико-спинального тракта, проводники практически отсутствуют. Однако в сером веществе задних рогов, ближе к их основанию, распо-



Рис. 4. Миелиновое нервное волокно, окруженное цитоплазмой шванновской клетки.
Ув. 12 000.



Рис. 5. Нервное волокно с тонкой миелиновой оболочкой среди отростков глиальных клеток.
Ув. 12 000.

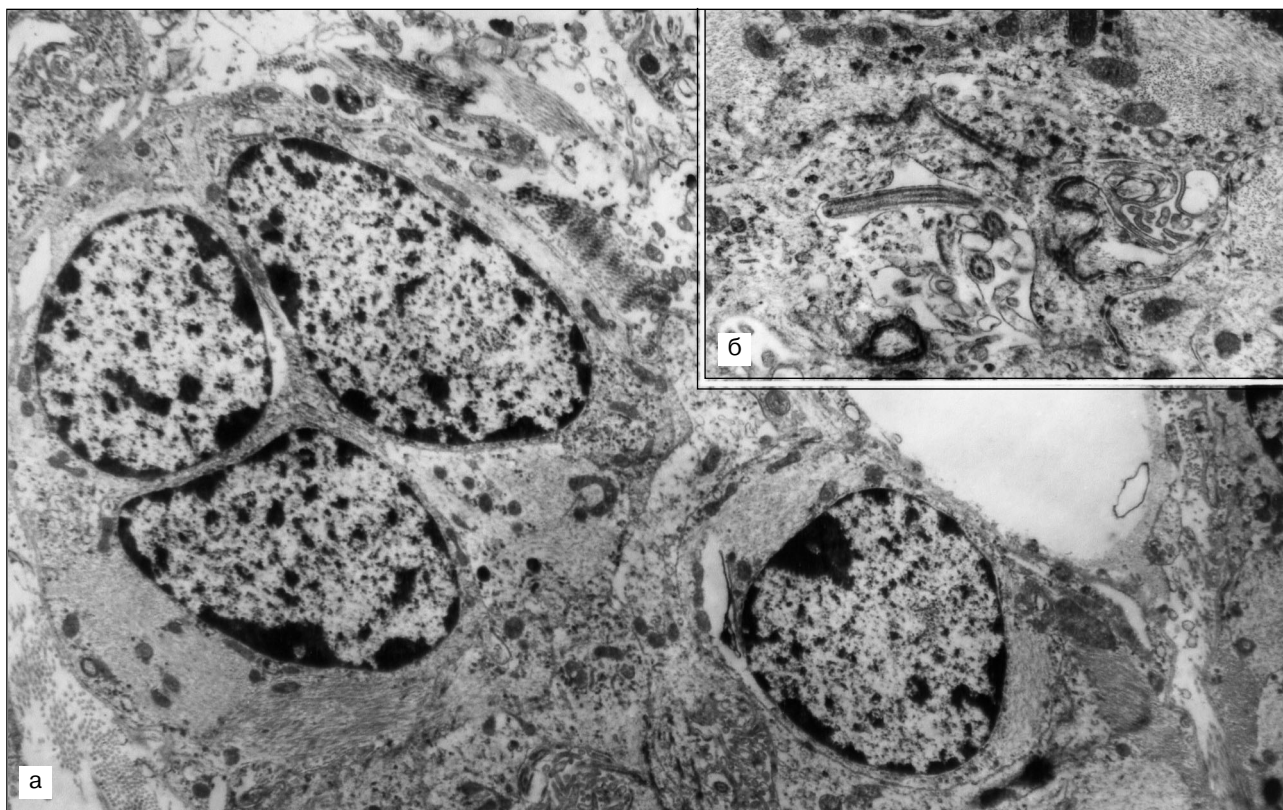
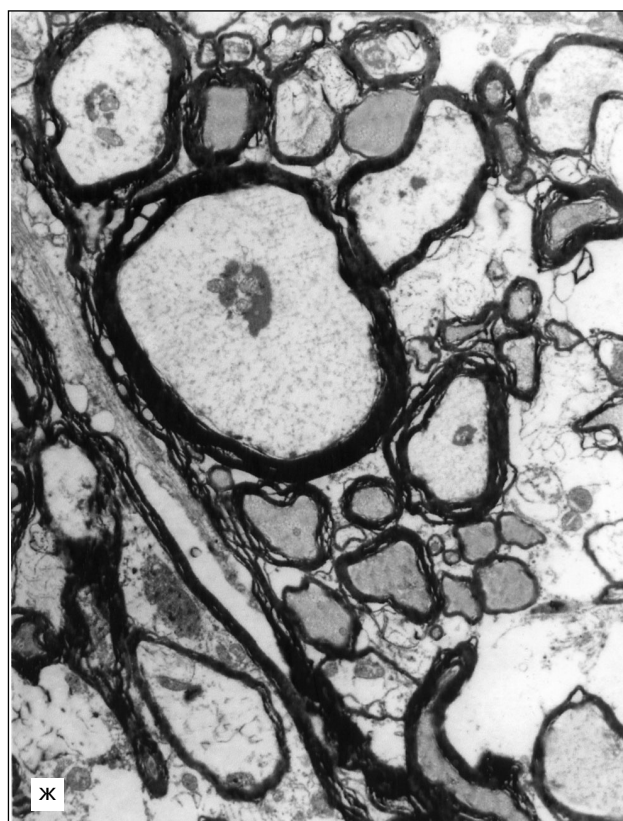
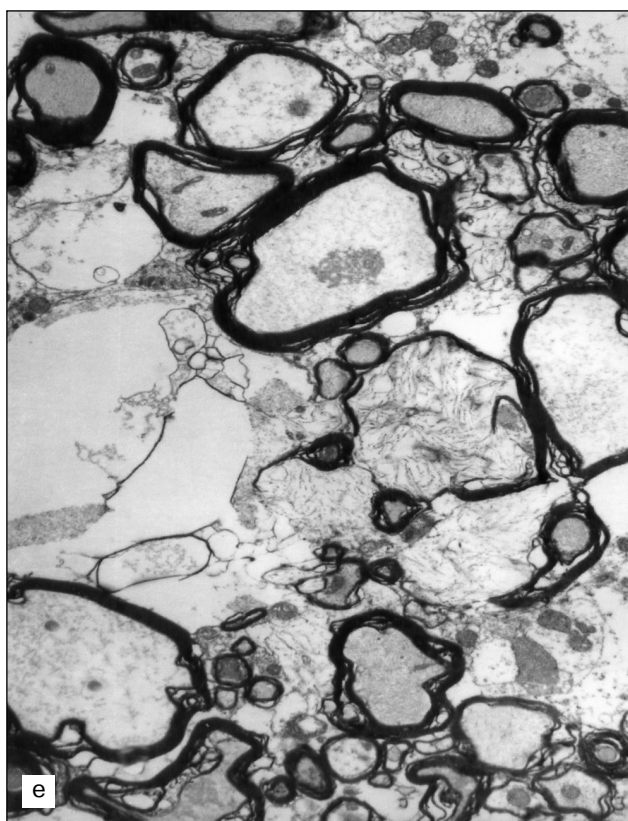
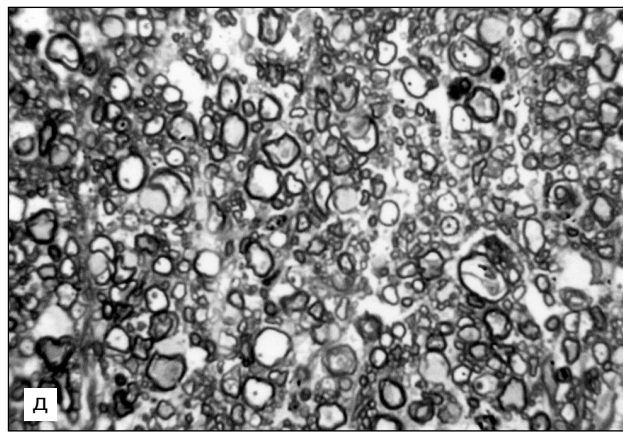
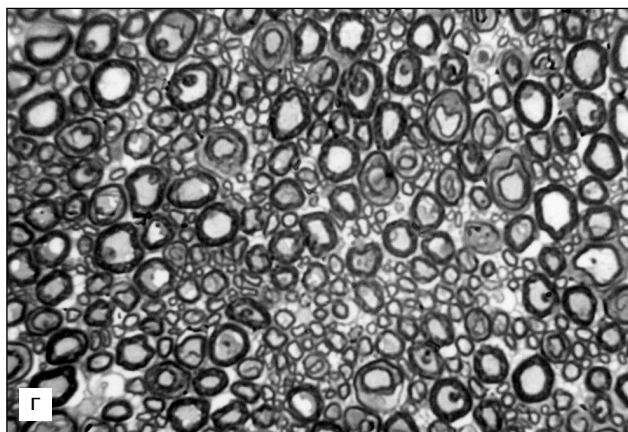
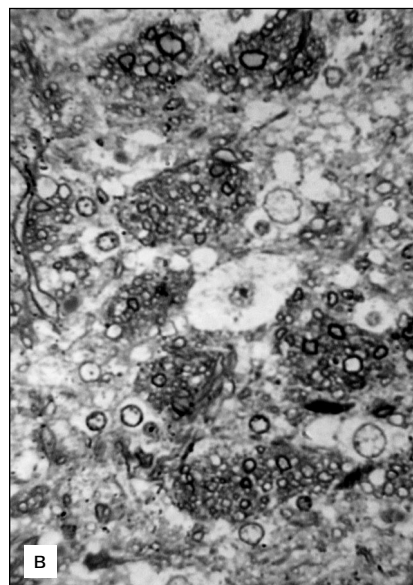
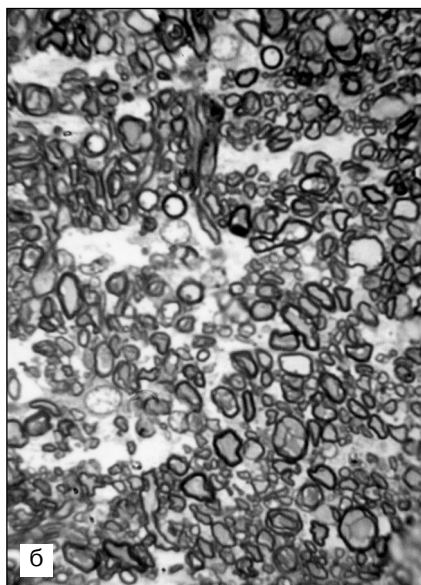
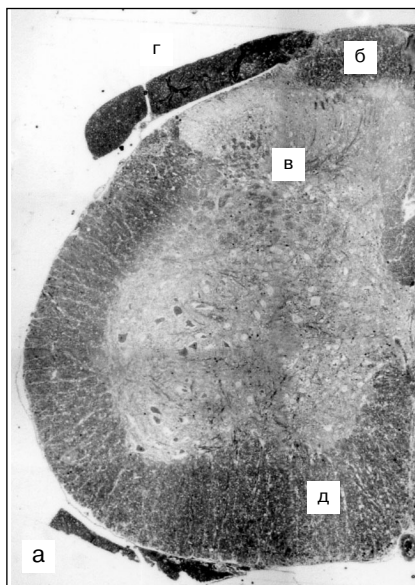


Рис. 6. Разрастания спинномозгового канала.
а — фрагмент спинномозгового канала; б — просвет спинномозгового канала, видны микроворсинки и реснички на апикальной поверхности клеток эпендимы. Ув.: а — 10 000; б — 18 000.



лагается группа пучков тонких МНВ (см. рис. 7, в), которые вряд ли являются продолжением задних корешков. В субпопуляции МНВ задних корешков значительную долю составляют волокна большого диаметра с толстой миелиновой оболочкой (см. рис. 7, г). В области передних канатиков (у крыс, содержащих аксоны некоторых нисходящих трактов — часть кортико-спинального, руброспинального и часть проприоспинального), ситуация несколько лучше, чем в задних канатиках (см. рис. 7, д). Обширных пустот нет, однако преобладают небольшие и средние волокна с тонкой миелиновой оболочкой. Электронные микрофотографии, отражающие состояние нервных проводников в задних (см. рис. 7, е) и передних (см. рис. 7, ж) канатиках, в общем подтверждают представления, полученные при изучении полутонких срезов. Сохранность МНВ задних канатиков, особенно волокон сравнительно большого диаметра, вряд ли можно считать удовлетворительной. Часть волокон повреждены явно необратимо, и на месте исчезнувших остаются пустоты с мембраноподобными дериватами. Аксоны небольших по диаметру волокон, как правило, страдают меньше, однако расслоение миелиновой оболочки отмечается повсеместно. В передних канатиках ситуация несколько лучше и повреждения затрагивают, преимущественно, миелиновую оболочку.

Обсуждение полученных данных. Возможность регенерации нервных проводников в СМ после его повреждения в настоящее время общепризнанна и, по-видимому, не нуждается в дальнейших доказательствах. Наши эксперименты показывают, однако, что этот регенераторный потенциал может быть реализован даже в таких «жестких» условиях, как экстирпация фрагмента СМ и, как следствие, образования достаточно большого дефекта между его концами. Полагают, что именно физические дефекты, которые возникают при пересечении СМ и вследствие потери части его вещества при контузии, могут быть одним из самых неблагоприятных факторов, препятствующих регенерации [2, 9]. Мы показали ранее [1], что консолидация пересеченных концов СМ после сегментэктомии обеспечивается за счет формирования соединительнотканного, а не глиального рубца, как это происходит при контузии мозга и сохранении целостности его оболочек. Введение в операционный дефект коллагенового геля (с клетками или без них) способствует более раннему формированию рубца и, следовательно, консолидации концов СМ. Источником соединительной ткани в условиях наших экспериментов были, по-видимому, компоненты оболочек мозга, в частности, твердой мозговой оболочки. Поскольку в сериях «гель» и «гель+клетки» рубец интенсивно прорастает нервными проводниками, можно полагать, что развитие соединительной ткани и регенерация проводников

происходят более или менее синхронно. Представляется важным подчеркнуть, что в условиях соединительнотканного окружения нервные проводники СМ растут в виде небольших, но типичных, периферических нервов. Этот модус регенерации диктуется, очевидно, локальными условиями, существующими в соединительной ткани. Возможно, что глиальный рубец создает менее благоприятные условия для роста нервных волокон, чем соединительная ткань. Имплантация в зону повреждения СМ фрагментов периферических нервов, шванновских клеток или пкровных клеток обонятельного тракта (разновидность шванновских клеток), которая обычно не сопровождается развитием глиоза, способствует регенерации аксонов центрального происхождения [5, 16]. Можно допустить, что формирование структур, подобных периферическому нерву, в определенной степени защищает регенерирующие проводники (наличие периневрального барьера) от провоспалительных влияний и действия факторов, ингибирующих миелинизацию. По мере исчезновения соединительной ткани, в относительно «пустой» зоне разреженного вещества СМ, регенерирующие проводники уже не группируются в нервные стволы, но следуют разрозненно, сопровождая глиальные клеточные тяжи. В этих условиях формирование миелиновой оболочки должно быть уже функцией клеток глии, в частности, олигодендроцитов. В отличие от нервных элементов, глиоциты в очаге повреждения и вне его не только сохраняются, но и пролиферируют. Возможно, что в более отдаленные сроки после травмы клетки глии оказывают определенный протекторный эффект на растущие нервные волокна. Интересно, что пролиферация затрагивает и такой высокоспециализированный тип клеток, как эпендима. Мы наблюдали эктопические разрастания компонентов спинномозгового канала далеко за пределами зоны, прилежащей к центральной оси мозга. Пролiferация эпендимы в зоне травмы СМ отмечалась некоторыми исследователями и ранее [4].

Интерес представляет вопрос о судьбе регенерирующих нервных проводников, которые врастают в вещество мозга дистальнее уровня повреждения. Наши результаты не позволяют судить о том, устанавливают ли регенерирующие нисходящие аксоны какие-либо связи с нейронами нислежащих сегментов СМ. Нужно заметить, что до сих пор отсутствуют прямые морфологические подтверждения, которые могли бы ответить на этот вопрос однозначно. Изучение поясничных отделов СМ крыс показывает, что проводниковый аппарат люмбальных сегментов страдает от последствий тяжелой травмы весьма ощутимо. Последствия дегенерации и повреждения МНВ заметны и в задних, и в передних канатиках, и не только в зонах локализации нисходящих трактов. Изменение спектра диаметров МНВ в сторону аксо-

Рис. 7. Миелиновые нервные волокна (МНВ) в поясничных сегментах спинного мозга (СМ) через 11 нед после торакальной сегментэктомии (группа «гель+клетки»).

а — обзорная фотореконструкция правой половины СМ (буквами помечены зоны, иллюстрированные на фото б—д); б — тонкие миелиновые волокна в задних канатиках белого вещества; в — пучки регенерирующих МНВ в основании задних рогов серого вещества; г — МНВ заднего корешка; д — спектр МНВ в передних канатиках; е — деструкция МНВ и тонкие регенерирующие проводники в задних канатиках; ж — МНВ передних канатиков СМ. а—д — полутонкие срезы. Окраска метиленовым синим. е, ж — электронные микрофотографии. Ув.: а — 125; б—д — 630; е, ж — 10 000.

нов с относительно тонкой миелиновой оболочкой свидетельствует о том, что в канатиках белого вещества должно быть много регенерирующих или созревающих проводников. Более того, пучки тонких МНВ можно было отметить и в не типичных участках вещества СМ, в основании задних рогов. Можно полагать, таким образом, что множество регенерирующих нервных проводников спустя 2–2,5 мес после торакальной сегментэктомии достигают поясничных сегментов. Если принять во внимание, что 3 крысы экспериментальных серий демонстрировали отчетливую произвольную локомоцию в задних конечностях, установление связей между регенерирующими нисходящими проводниками и мотонейронами люмбальных сегментов кажется вполне вероятным событием. Насколько частыми и эффективными могут быть такие соединения, сказать трудно, поскольку немногочисленность материала, относящегося к отдаленным периодам после операции, не позволяет использовать какие-либо численные критерии.

Последний вопрос, на котором нам бы хотелось коротко остановиться, касается судьбы тех эмбриональных нервных клеток, которые вводили в область травмы в 3-й серии экспериментов. В ряде очень аккуратных экспериментов, в том числе и с клетками, полученными из эмбрионального мозга [10], было показано, что стволовые нервные клетки из этого источника при имплантации в зону травмы СМ взрослой крысы могут дифференцироваться, по меньшей мере, в трех направлениях — как астроциты, олигодендроциты и нейроны. Способны ли эти нейроны устанавливать новые связи с предсуществующими нервными клетками — пока остается неясным? Пытаясь верифицировать судьбу имплантированных клеток в настоящих экспериментах, мы нашли, что в течение ближайшей недели после травмы диспергированные в геле клетки экспрессируют нестин, кислый фибриллярный белок астроцитов и тубулин 3-го типа, характерный для нейронов. Однако в последующем такие клетки уже не определяются в зоне формирующегося рубца. Вряд ли дифференцирующиеся нейроны способны вносить какой-либо заметный вклад в спектр регенерирующих проводников. Мы полагаем, что эмбриональные нервные клетки, диспергированные в гелевом матриксе, оказывают скорее стимулирующее действие, способствуя формированию соединительнотканного рубца и, возможно, индуцируя более раннюю регенерацию прорастающих этот рубец аксонов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ярыгин В.Н., Банин В.В. и Ярыгин К.Н. Регенерация спинного мозга крыс после торакальной сегментэктомии: восстановление анатомической целостности спинного мозга. *Морфология*, 2005, т. 127, вып. 2, с. 39–43.
2. Basso D.M. Neuroanatomical substrates of functional recovery after experimental spinal cord injury: implications of basic science research for human spinal cord injury. *Phys. Ther.*, 2000, v. 80, p. 808–817.
3. Basso D.M., Beattie M.S. and Bresnahan J.C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J. Neurotrauma*, 1995, v. 12, p. 1–21.

4. Beattie M.S., Bresnahan J.C., Komon J. et al. Endogenous repair after spinal cord contusion injuries in the rat. *Exp. Neurol.*, 1997, v. 148, p. 453–463.
5. Bunge M.B. Bridging areas of injury in the spinal cord. *Neuroscientist*, 2001, v. 7, p. 325–339.
6. Chen M.S., Huber A.B., van der Haar M. et al. Nogo-A is myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1. *Nature*, 2000, v. 403, p. 434–438.
7. Cheng H., Yihai C. and Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function. *Science*, 1996, v. 273, p. 510–513.
8. Hill C.E., Beattie M.S. and Bresnahan J.C. Degeneration and sprouting of identified descending supraspinal axons after contusive spinal cord injury in the rat. *Exp. Neurol.*, 2001, v. 171, p. 153–169.
9. Hulsebosch C.E. Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. *Adv. Physiol. Edu.*, 2002, v. 26, p. 238–255.
10. McDonald J.W., Liu X.-Zh., Qu Y. et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nature Med.*, 1999, v. 5, p. 1410–1412.
11. McKerracher L. Spinal cord repair: strategies to promote axon regeneration. *Neurobiol. Dis.*, 2001, v. 8, p. 11–18.
12. McKerracher L., David S., Jackson J.L. et al. Identification of myelin-associated glycoprotein as a major myelin-derived inhibitor of neurite outgrowth. *Neuron*, 1994, v. 13, p. 805–811.
13. Mukhopadhyay G., Doherty P., Walsh F.S. et al. A novel role for the myelin-associated glycoprotein as an inhibitor of axonal regeneration. *Neuron*, 1994, v. 13, p. 812–819.
14. Plunet W., Kwon B.K. and Tetzlaff W. Promoting axonal regeneration in central nervous system by enhancing the cell body response to axotomy. *J. Neurosci. Res.*, 2002, v. 68, p. 1–6.
15. Stichel C.C. and Muller H.W. Experimental strategies to promote axonal regeneration after traumatic central nervous system injury. *Prog. Neurobiol.*, 1998, v. 56, p. 119–148.
16. Ying L., Yves S., Daqing L. et al. Transplanted olfactory ensheathing cells promote regeneration of cut adult rat optic nerve axons. *J. Neurosci.*, 2003, v. 23(21), p. 7783–7788.

Поступила в редакцию 13.10.2005 г.

SPINAL CORD REGENERATION IN RATS AFTER THORACIC SEGMENTECTOMY: GROWTH AND REGENERATION OF NERVE FIBERS

V.N. Yarygin, V.V. Banin and K.N. Yarygin

As it was described in a previous paper (*Morphology*, 2005, v.127, Iss. 2), spinal cord (SC) consolidation after thoracic segmentectomy in rats took place via connective tissue scar formation in the area of trauma, which was accelerated when SC defect was filled with by the collagen gel (Spherogel). In this paper, on the basis of semithin section analysis and transmission electron microscopic study, it was shown that regenerating nerve fibers crossed the connective tissue within the formations, which were structurally identical to peripheral nerves. In the zones of rarified SC substance, caudally to the site of trauma, myelination of growing axons was realized by glial cells without the formation of the nerve trunks. In the white matter, within the fasciculi of SC lumbar segments, multiple thin regenerating fibers were seen in the area of degenerated myelinated nerve fibers.

Key words: *spinal cord, segmentectomy, nerve fibers, regeneration.*

Department of Medical Biology, Department of Morphology, Department of Medical Cellular Technologies, Russian State Medical University; «Neurovita» Clinic, Moscow.