

Экспериментальное обоснование ретрактивного механизма формирования диастаза пересеченных нервов и дополнение к методам его лечения

О.С. СОТНИКОВ¹, Ю.А. ШУЛЕВ², Н.Ю. ФОМИНА¹, С.С. СЕРГЕЕВА¹, А.А. ЛАКТИОНОВА¹

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, наб. Макарова, д. 6, Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация¹

Вторая городская многопрофильная больница, Учебный пер., д. 5, Санкт-Петербург, 194354, Российская Федерация²

Актуальность Механизмы формирования и лечения промежутка между культями пересеченного нерва остаются одним из актуальных и малоизученных факторов образования гиперколлагенового рубца нерва и невромы.

Цель исследования Исследование возможности ретракции нервных волокон при формировании промежутка между культями пересеченного нерва и попытка ее ингибирования.

Материалы и методы Исследованы признаки ретракции нервных волокон на ампутированных конечностях человека с помощью импрегнции фиксированных препаратов по Бильшовскому-Грос. Для экспериментального изучения закономерностей сокращения миелиновых и безмиелиновых нервных волокон при их перерезке использованы модели живых препаратов позвоночных и беспозвоночных животных. С помощью фазово-контрастной компьютерной видеомикроскопии исследована возможность участия сокращения нервных волокон в увеличении промежутка между культями пересеченного нерва и показана возможность медикаментозного ингибирования этой ретракции с помощью блокаторов цитоплазматической подвижности. Электрофизиологические методы применены для изучения влияния этих веществ на нейромембраны и возможности применения испытанных блокаторов в опытах лечения целых животных.

Результаты и их обсуждение На фиксированных гистологических препаратах нервов поврежденных и ампутированных конечностей человека обнаружены признаки сократительной активности нервных волокон. В экспериментах на живых изолированных волокнах впервые продемонстрирована динамика бидирекциональной ретракции миелиновых нервных волокон, допускающая их участие в расширении диастаза пересеченных нервов. На безмиелиновых аксонах с сохраненными телами нейронов изучено действие блокаторов сократительной активности цитоплазмы: нимодипина, цитохалазина, флелбистатина и колхицина. Доказано участие в ретракции аксонов основных белковых полимеров цитоскелета аксоплазмы и возможность применения этих блокаторов для ингибирования посттравматической ретракции нервных волокон. Электрофизиологические опыты показали низкую токсичность этих препаратов и возможность их применения для лечения травматического диастаза нервов в опытах на целых животных.

Заключение Показана способность к ретракции у миелиновых нервных волокон человека и других позвоночных после пересечения нервов. На основании экспериментов на живых одиночных нейронах с сохраненными отростками сформулирована гипотеза об участии активного сокращения аксонов в механизме формирования диастаза. Проанализирована способность ряда основных блокаторов подвижности цитоплазмы: цитохалазина В, флелбистатина, колхицина и нимодипина останавливать травматическую ретракцию нейритов. Показано отсутствие патологических влияний испытанных ингибиторов на электрофизиологические свойства нейромембраны, что допускает их использование для лечения диастаза при пересечении нервов у целых экспериментальных животных.

Ключевые слова Диастаз нерва, сокращение нервных волокон, механизм ретракции аксоплазмы, ингибиторы сокращения аксонов

Experimental Substantiation of the Retraction Mechanism of Diastase Formation of the Nerve Transection and Addition to Methods Its Treatment

O.S. SOTNIKOV¹, I.U.A. SHULEV², N.I.U. FOMINA¹, S.S. SERGEEVA¹, A.A. LAKTIONOVA¹

Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Nab, Saint-Petersburg, 199034, Russian Federation¹

Head of the Neurosurgical Division №1 of Second City General Hospital, 5 Uchebnii Str., Saint-Petersburg, 194354, Russian Federation²

Relevance Mechanisms of formation and treatment of the interval space between stumps of sectioned nerve remain one of actual and poorly studied factors of formation of hypercollagen scar of nerve and nevroma.

The purpose of the study The goal of the work is study of possibility of retraction of nerve fibers in formation of interval between stumps of sectioned nerve and an attempt at its inhibition.

Materials and methods Signs of retraction of nerve fibers on human amputated extremities are studied with aid of silver

© О.С. Сотников, Ю.А. Шулев, Н.Ю. Фомина, С.С. Сергеева, А.А. Лактионова. Экспериментальное обоснование ретрактивного механизма формирования диастаза пересеченных нервов и дополнение к методам его лечения. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2015; 8: 1: 58-68. DOI: 10.18499/2070-478X-2015-8-1-58-68

impregnation of fixed preparations by Bielschowsky-Gros. For experimental study of regularities of contraction of myelinated and myelinles nerve fibers at their section there are used models of living preparations of vertebrate and invertebrate animals. With aid of phase-contrast computerized videomicroscopy, a possibility of participation of contraction of nerve fibers in an increase of space between stumps of sectioned nerve is studied. A possibility of medicament inhibition of this retraction with aid of blockers of cytoplasmic mobility is shown. Electrophysiological methods are used for study of effect of these substances on neuromembranes and a possibility of use of the tested blockers is checked in experiments of treatment of the whole animals.

Results and their discussion On fixed histological preparations of nerves of damaged and amputated human extremities there are detected signs of contractile activities of nerve fibers. In experiments on isolated living fibers for the first time demonstrated is dynamics of the bidirectional retraction of myelinated nerve fibers, which accepts their participation in enlargement of diastasis of cross-sectioned nerves. On myelinles axons with preserved neuronal bodies there is studied action of blockers of contractile activity of the cytoplasm: nimodipine, cytochalasin, blebbistatin, and colchicine. There is proved participation in retraction of axons of the main protein polymers of the axoplasmic cytoskeleton and a possibility of use of these blockers for inhibition of posttraumatic retraction of nerve fibers. Electrophysiological experiments have shown a low toxicity of these agents and a possibility of their use for treatment of the traumatic diastasis of nerves in experiments on the whole animals.

Conclusion 1. There is shown the capability for retraction in myelin nerve fibers of human and other vertebrates after transaction of nerves. 2. Based on experiments on living single neurons with preserved processes, a hypothesis is formulated about participation of active contraction of axons in mechanism of formation of diastasis. 3. There is analyzed the ability of several main blockers of the axoplasm motility: cytochalasin B, blebbistatin, colchicine, and nimodipine to stop traumatic retraction of neurites. 4. The absence is shown of pathological influences of the studied inhibitors on electrophysiological properties of the neuromembrane, which admits their use for treatment of diastasis at transaction of nerves in the whole experimental animals.

Key words Nerve diastase, nervous fibres retraction, mechanism axoplasm retraction, axon retraction inhibitors

Как известно, эффект структурного и физиологического восстановления пересеченного нерва зависит от нескольких принципиальных процессов. Прежде всего, как отмечает большинство авторов, это регенераторная способность проксимальных отрезков волокон, которая в значительной мере зависит от метаболической активности тел соответствующих нейронов и состояния anterogradного аксонального транспорта нервных проводников. Важнейшим условием достаточной регенерации является также состояние соединительнотканного коллагенового рубца в области разрыва нерва, который в большой степени зависит от величины промежутка между проксимальным и дистальным отрезками нерва (диастаза). Существенна также скорость резорбции продуктов распада миелина разрушенных сегментов оболочки. Все эти составляющие учитываются при лечении поврежденных нервов¹.

Большое внимание уделяется использованию различных нейротрофических факторов [4, 9]. Кроме фактора роста нервов исследованы мозговой нейрит-стимулирующий белок, растворимый нейрит-стимулирующий фактор, ресничный нейротрофический фактор, факторы роста эпителия и гепатоцитов. Появился принципиально новый метод активации регенерации с помощью генной экспрессии белков при электропорации нейронов спинальных ганглиев [10].

Помимо регенераторной способности пересеченных нервов в лечении этой патологии важное место принадлежит усилиям по преодолению расхождения культей пересеченного нерва и образующегося здесь соединительнотканного рубца. Предполагалось, что появление дефекта нерва связано с эффектом эластич-

ности оболочек нерва. Использовано большое количество оригинальных методов по профилактике и ликвидации диастаза. Прежде всего, были осуществлены попытки вплотную сблизить культы нерва с помощью традиционного шва эпинеуральной оболочки или микрохирургических способов сшивания периневрия нервных пучков [13, 6]. Для этого в настоящее время используются саморассасывающийся шовный материал и биосовместимые нановолокна [6]. Альтернативой нервного шва является биологический клей, который оказался более эффективным, чем традиционные швы при соединении культей [7, 5]. Принимаются и попытки борьбы с разрастанием коллагена в области нервных швов и невромы [19, 16]. Попытки предотвратить появление диастаза путем сшивания культей не "конец в конец", а "бок в бок" не имели значительного эффекта в увеличении и ускорении регенерации.

Из проведенного обзора современной литературы становится ясным, что, несмотря на множество уже опробованных методов и приемов лечения, предотвратить появление постоперационного диастаза и зависящих от него коллагенового рубца и невромы полностью пока не удастся. Видимо, в лечении этой патологии необходимы новые приемы, основанные на иных свойствах нервных волокон. В частности, уже давно показано, что аксоны, как и любые другие отростки живых клеток, способны к сокращению [11]. Таким свойством обладают и аксоны после их травмы. Это означает, что при перерезке нерва в формировании диастаза может принимать участие и процесс ретракции нервных волокон. При этом ни швы, ни различные клеи прочно, вплотную соединяющие нервы, не могут предотвратить развитие диастаза, что практически неизбежно и происходит. Не исключено, что помимо дегенерации перерезанных интернодальных сегментов, механизм образования диастаза включает в себя и процесс ретракции волокон. Возможно диастаз возникает не в результате пассивного механического, эластического

¹ Огромное количество работ, посвященных способам лечения пересеченных нервов, невозможно процитировать в пределах одной статьи, поэтому нам придется упомянуть только небольшое число работ, выполненных сравнительно недавно.

укорочения аксонов, а как эффект их сократительной активности. При этом соединительная ткань оболочек нерва всегда должна оказываться снаружи, дистальнее и проксимальнее аксонов, что определяет расположение фиброзного рубца.

Регенерация нервов, как известно, начинается не сразу после разрыва нерва, а спустя некоторое время. Этот латентный период необходим для развертывания комплекса подготовительных клеточных и молекулярных механизмов, предшествующих началу регенерации [9]. Он может длиться днями и оказывается достаточным для разрастания рубцовой ткани. К сожалению, способы борьбы за сокращение времени латентного периода регенерации в литературе, очевидно, отсутствуют. По-видимому, необходимы специальные методы, предотвращающие ретракцию и расхождения культей перерезанного нерва. Мы полагаем, что, учитывая сказанное, необходимо проверить возможность ингибирования ретракции пересеченных нервных волокон в эксперименте. В этом состоит актуальность нашей работы и цель настоящей статьи.

Экспериментально-теоретические и молекулярно-биологические исследования ретракции белков аксоплазмы в литературе широко представлены. Показано, что деятельность актина блокируется цитохалазином, активность миозина – блеббистатином, тубулина – колхицином, а блокатором кальциевых каналов L-типа является нимодипин. Поэтому, было решено с их помощью, выявить молекулярный механизм сокращения аксонов и попытаться его остановить, чтобы предотвратить или уменьшить расширение диастаза.

Материалы и методы

Показатели сокращения прерванных нервных волокон на фиксированных препаратах нервов человека. Материал получен в специализированном нейрохирургическом госпитале доктором медицинских наук Ю.А. Шулевым после ампутации конечности на 3-4 день после минно-взрывной травмы. Фрагменты *n. tibialis* (n=9) фиксировали в 12% нейтральном формалине в течение нескольких месяцев. Срезы готовились на замораживающем микротоме и импрегнировались по Бильшовскому-Грос в стационарной научной лаборатории. Вначале были исследованы признаки ретракции нервных волокон периферических отделов *n. tibialis*. В качестве контроля использованы волокна, расположенные дистальнее раны на 10-20 см. Волокна исследовались на срезах толщиной 30-40 мкм, импрегнированных азотнокислым серебром по нейростологической методике Бильшовского-Грос. Срезы заключались в канадский бальзам. Использован отечественный микроскоп МБИ-12 (ЛОМО).

Исследование сокращения живых миелиновых волокон в эксперименте. Для доказательства сокращения живых перерезанных миелиновых волокон и исследования этого процесса использованы седалищные нервы (n=82) лягушки *Rana temporaria*. Нерв лягушки

расщеплялся препаровальными иглами в растворе Рингера. Его помещали в импровизированную микрокамеру. Волокна сверху укреплялись стекловатой, покрывались покровным стеклом и исследовались в проточном растворе Рингера. Проток среды осуществлялся с помощью небольших отрезков фильтровальной бумаги. Сокращение волокон регистрировалось с помощью цейтраферной видеосъемки через каждые 10-15 мин.

Исследование закономерностей сокращения безмиелиновых волокон с сохраненными телами нейронов. Так как эксперименты на живых аксонах, соединенных с телами их нейронов у позвоночных невозможны, в связи с отсутствием таких моделей мы решили провести часть работы на препаратах полноценных аксонов с сохраненными телами нейронов на безмиелиновых волокнах беспозвоночных (рис. 1). Эксперименты с перерезками нервных волокон беспозвоночных многократно апробированы в описанной литературе. Кроме того, на таких препаратах легче исследовать ингибирование ретракции. Для этого использованы нейроны пресноводных моллюсков *Planorbis corneus vulgaris* (n=208). Одиночные клетки выделяли из окологлоточных ганглиев путем их обработки 0,4% раствором проназы в течение 40 мин. Предварительно было доказано, что такие препараты являются жизнеспособными. В культуре ткани в течение двух суток они регенерируют новые отростки и образуют нервные сплетения [17]. Электронно-микроскопические данные свидетельствуют о нормальной интактной их структуре.

Изучение молекулярно-биологической ретракции аксоплазмы. Мы полагали, что, так как двигательная активность аксонов реализуется путем ретроградного аксонального тока с помощью основных цитоскелетных белков, участвующих в его движении: тубулина, в форме микротрубочек, актина, в виде микрофиламентов, миозина, а также ионов кальция, их блокирование следовало проанализировать с помощью цитохалазина В (0,2 мМ), блеббистатина (50 мкМ), колхицина (0,5 мМ) и блокатора кальциевых каналов L-типа – нимодипина (1,4·10⁻⁴ М). Для деполимеризации белков цитоскелета цитохалазин В и блеббистатин (Sigma, США) в начале растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО, 1 мг/мл). Опыты с блеббистатином и нимодипином проводили в камерах при полной темноте, чтобы исключить их инактивацию при освещении. В этих двух случаях после трехчасового выдерживания препаратов в растворах ингибиторов определяли процентное отношение клеток с несократившимися, блокированными отростками. Во всех остальных случаях сокращение нервных отростков регистрировали в форме видеофильма. Все изолированные препараты исследовались в растворе Рингера с помощью фазово-контрастной компьютерной микровидеоустановки. Поведение нейронов регистрировалось видеокамерой DCM300 ("Shangarao TeleView

Optical Instruments Co, LTD", Китай), присоединенной к кинотубусу инвертированного микроскопа Биомед-ЗИ ФК (Россия). Изображение, полученное на компьютере, обрабатывалось в программе Adobe Photo Shop CS3 Extended (версия 10.0). На каждом кадре проставлялось реальное время опыта. При создании фильмов применялись программы: Adobe After Effects 7.0. Ink и Windows Movie Maker. Изменяющиеся параметры препаратов измеряли с помощью программы Image J.

Методика электрофизиологического исследования состояния нейромембраны. Для электрофизиологического исследования состояния нейромембраны при воздействии ингибиторов сократительной активности использована микроэлектродная техника с отведением биопотенциалов от одиночных нейронов

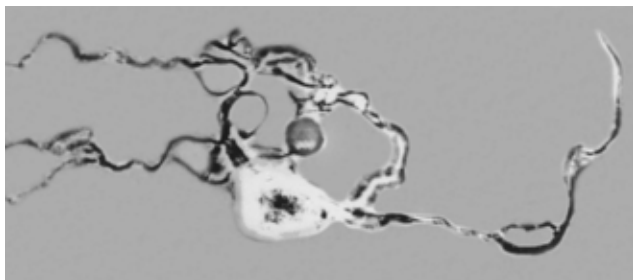


Рис. 1. Препарат живого изолированного нейрона моллюска с сохраненными нервными отростками, предназначенный для исследования их ретракции. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10. / **Fig. 1.** The preparation of a living isolated mollusk neuron with preserved nerve processes designed to study their retraction. Phase contrast. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

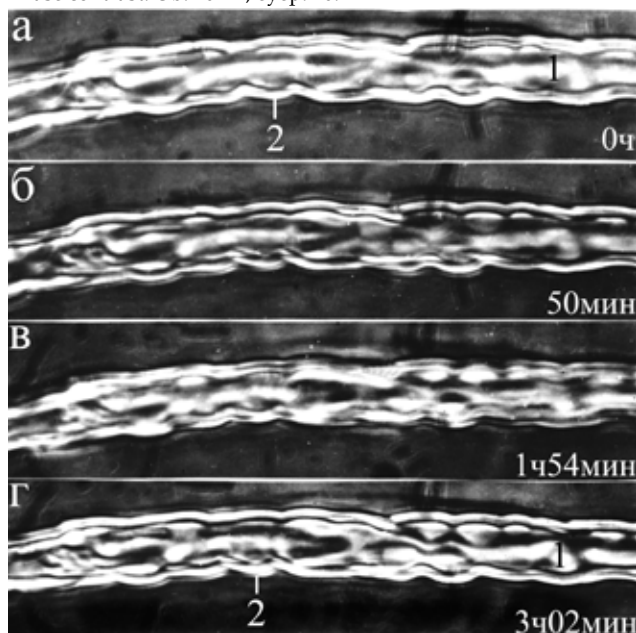


Рис. 3. Сохранение структуры живого миелинового нервного волокна при его переживании в растворе Рингера в течение трех часов.

а-г - цейтраферная съемка одного и того же волокна через разные промежутки времени от начала опыта; 1 - осевой цилиндр; 2 - миелиновая оболочка. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10. / **Fig. 3.** Preservation of living myelinated nerve fibers structure when it is experiencing in Ringer's solution for three hours. а-d - lapse recording of the same fiber at different time intervals from the beginning of the experiment; 1 - axial cylinder; 2 - the myelin sheath. Phase contrast. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

Ретциуса из второго ганглия брюшного мозга медицинской пиявки. Для этого извлекали часть брюшной нервной цепочки, состоящую из 10 ганглиев, и помещали их в пластиковую камеру. У второго ганглия вскрывали соединительнотканную оболочку и высвобождали гигантский нейрон Ретциуса. Экстраклеточный отводящий золотой микроэлектрод подводился к нейрону под контролем микроскопа МБС-10 (Россия). Второй ганглий в растворе Рингера прикреплялся ко дну специальной камеры. Остальная часть цепочки помещалась в соседнюю камеру с биполярным раздражающим электродом. Раздражение коннективов между вторым и третьим ганглиями позволяло регистрировать вызванную синаптическую активность нейрона и соответственно судить о физиологическом состоянии нейромембраны при воздействии использованных нами блокаторов. При таком способе размещения препарата и электродов применяемые агенты влияют исключительно на мембрану отростка и тела нейрона, не затрагивая синапсы. В контроле и экспериментах определяли частоту фоновой импульсной активности препарата, амплитуду, латентный период и порог возбуждения.

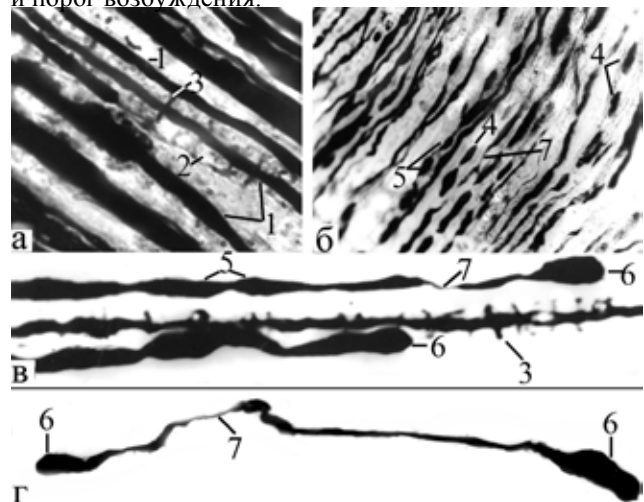


Рис. 2. Показатели активного сокращения пересеченных нервных волокон, их ранней структурной реакции и полной дегенерации на фиксированных препаратах нерва человека при минно-взрывной травме.

а - контрольный препарат неповрежденного участка нерва; б - состояние нервных волокон в области травмы; в - колбы ретракции пересеченных волокон; г - колбы ретракции на противоположных концах прерванного волокна соответствующие двунаправленности ретракции аксонов; 1 - нормальный аксон; 2 - миелиновая оболочка; 3 - конус Гольджи; 4 - дегенерирующие волокна; 5 - начальная реактивная перестройка волокон; 6 - колбы ретракции; 7 - аксиальный тяж. Методика Бильшовского-Гросс. Об.40, ок. 10. / **Fig. 2.** Indicators of active contraction of intersected nerve fibers and their early structural reaction and complete degeneration on fixed preparations of human nerve at past mine blast injury. а - the control preparation undamaged part of the nerve; б - condition of the nerve fibers in the area of injury; в - retraction bulb of crossed fibers; д - the retraction bulbs at opposite ends of the interrupted fiber which corresponding bidirectional retraction of axons; 1 - normal axon; 2 - myelin sheath; 3 - Golgi cone; 4 - degenerating fibers; 5 - initial restructuring reactive fibers; 6 - retraction bulbs; 7 - axial cord. Methodology of Bilshovski-Gross. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

Результаты и их обсуждение

На контрольных препаратах ампутированных нервов человека обнаружены интенсивно импрегнированные осевые цилиндры без каких-либо деформаций, вздутий, признаков повреждения, сокращения и дегенерации. На некоторых из них выявлялись слабоокрашенные контуры миелиновых оболочек с конусами Гольджи в области насечек Шмидта-Лантермана (рис. 2 а). Вблизи разрыва нерва на препаратах миелиновых волокон выявлялись в большом количестве изолированные эллипсоидные фрагменты дегенерирующих волокон (рис. 2 б) и варикозные деформации аксонов, которые известны как признаки их неспецифической реактивной перестройки. Между выраженными варикозностями располагаются участки тонких плотных аксиальных тяжей, которые сохраняются при почти полной демиелинизации и разрушаются в последнюю очередь. Кроме того, на пересеченных концах волокон были обнаружены характерные вздутия, концевые колбы (рис. 2 в). Они ранее были известны как "колбы регенерации", "кугель феномены" и т.д., и в большом количестве встречаются в невромах во время регенерации нерва. На фиксированных препаратах обнаружены и фрагменты поврежденных волокон, у которых такие колбы имеются на обоих пересеченных концах (рис. 2 г). Представление о концевых колбах как конусах роста на двух концах изолированного фрагмента волокна невозможно, тем более, что в культурах жи-

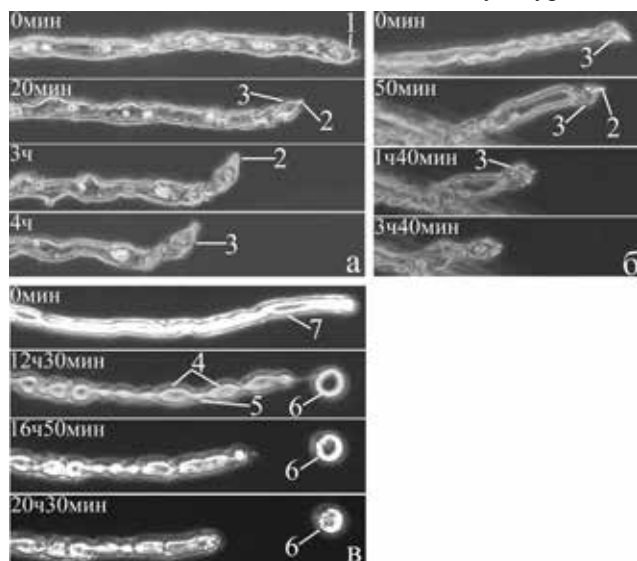


Рис. 4. Ретракция живого миелинового нервного волокна после его перерезки.

а - запаивание перерезанного конца; б - формирование колбы ретракции; в - самоампутация колбы ретракции; 1 - запаянный миелином конец перерезанного волокна; 2 - аксиальный тяж; 3 - формирующаяся колба ретракции; 4 - варикозности аксона; 5 - аксиальный тяж между варикозностями; 6 - ампутированная колба ретракции; 7 - исходное состояние волокна. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10. / Fig. 4. Retraction of living myelinated nerve fibers after transection. а - cork up of the cut end; б - forming of retraction bulb; в - autoamputation of retraction bulb; 1 - cork up end of the myelin fibers; 2 - axial cord; 3 - forms the retraction bulb; 4 - varicose axon; 5 - axial cord between varicosity; 6 - amputated retraction bulb; 7 - the original state of the fiber. Phase contrast. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

вых нейронов конусы роста хорошо изучены. Поэтому мы предположили, что отмеченный феномен объясняется ретракцией волокон концевой фрагмента прерванного нерва.

Однако возможность сокращения живых миелиновых нервных волокон еще не описана, хотя такие волокна составляют большинство в периферических нервах и проводящих путях мозга. Возможность ре-

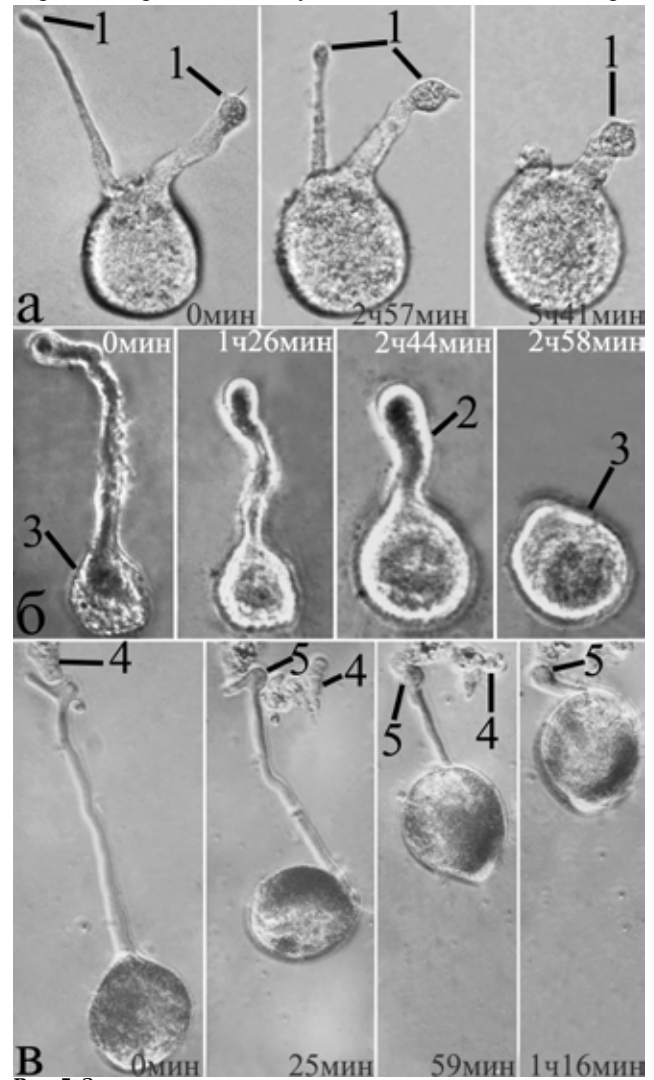


Рис. 5. Закономерности ретракции отростков живых аксонов.

а - динамика сокращения отростков с образованием колб ретракции; б - изменение диаметра отростка и тела нейрона при уменьшении длины аксона; в - изменение направления ретракции при перемене точки адгезии с тела на конец волокна; 1 - выраженные колбы ретракции; 2 - утолщение аксона при его сокращении; 3 - увеличение объема тела нейрона при втягивании в него отростка; 4 - посторонние фрагменты ткани, обеспечивающие адгезию конца волокна при его ретракции. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10. / Fig. 5. Laws of retraction processes of living axons. а - the dynamics of retraction processes with formation of retraction bulbs; б - change in the diameter of the processes and cell bodies with a decrease in the length of the axon; в - change of direction of retraction with a change point of adhesion from the body to the end of the fiber; 1 - pronounced retraction bulbs; 2 - thickening of the axon at its retraction; 3 - increase in the cell body at it invagination in process; 4 - extraneous tissue fragments, providing adhesion the fiber end during its retraction. Phase contrast. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

тракции проводников была исследована нами на одиночных живых миелиновых волокнах седалищного нерва лягушки. Такие изолированные препараты переживают без изменения в растворе Рингера в течение

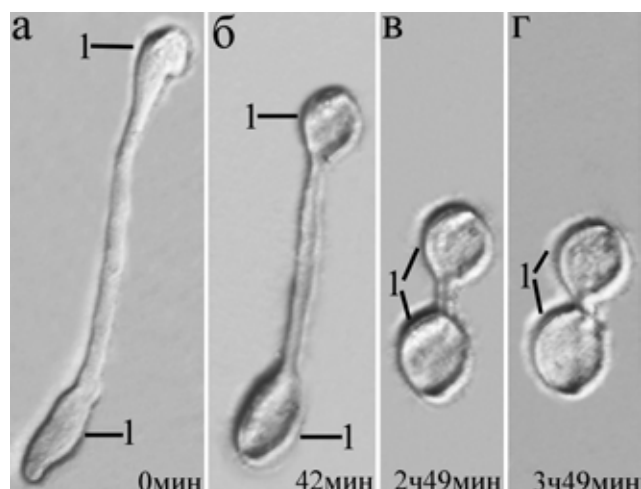


Рис. 6. Бидирекциональное сокращение аксоплазмы изолированного фрагмента живого нервного волокна.

а-г - динамика процесса; 1 - сближающиеся колбы ретракции. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10. / **Fig. 6.** Bidirectional retraction axoplasm of isolated fragment of the living nerve fiber. a-d - the dynamics of the process; 1 - nearing retraction bulbs. Phase contrast. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

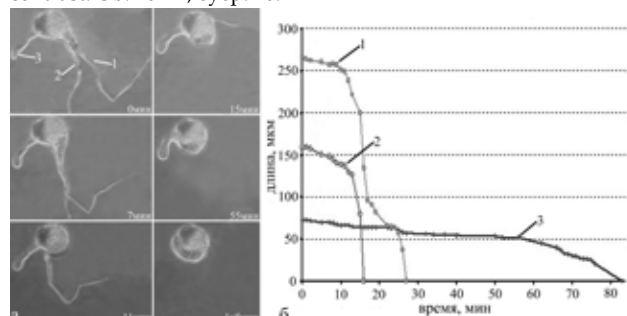


Рис. 7. Различная скорость ретракции разных отростков одного и того же нейрона.

а - динамика процесса; б - график изменения скорости сокращения разных отростков одного и того же нейрона; 1-3 - обозначения разных отростков и их скоростей ретракции. Фазовый контраст (а). Об. 40 Ph, ок. 10. / **Fig. 7.** Different speed of retraction different processes of the same neuron. a - dynamics of the process; b - a plot of the rate of contraction of the different processes of the same neuron;

1-3 - mean the different processes and their rates of retraction. Phase contrast. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

2-4 часов и могут быть использованы в экспериментах (рис. 3). При перерезке миелиновых волокон действительно было обнаружено их сокращение (рис. 4). Ретракция выявлялась на обоих концах фрагментов, как это было отмечено и на фиксированных нервах человека при их травме (рис. 2 г). Скорость сокращения значительно колебалась у разных препаратов 0,007 – 2,7 мкм/мин. Возможно, это связано с различной величиной расстояния от места перерезки до следующего неповрежденного перехвата Ранвье или от степени повреждения исследуемого волокна. На конце отрезков происходит "запечатывание" области разрыва путем слияния миелина (рис. 4 а) и формирование колб ретракции (рис. 4 а, б). Из перерезанного сокращающегося конца обычно выступает более медленно сокращающийся плотный аксиальный тяж, который выпячивается из колбы ретракции (рис. 4 б). Это та же малоизвестная центральная структура осевого цилиндра, которая выявляется между варикозностями на фиксированных препаратах нервов (рис. 2 б, в). На основании наблюдений за сокращением миелиновых волокон можно было предположить, что ре-

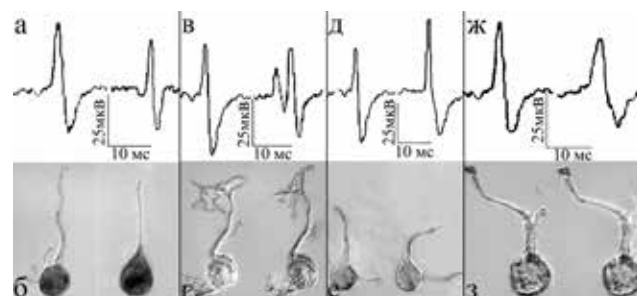


Рис. 8. Изменения спайков нейронов (вверху) и эффект блокирования сокращения отростков (внизу) до (слева) и после (справа) действия ингибиторов ретракции.

а, б - действие нимодипина; в, г - действие цитохалазина В; д, е - действие блеббистатина; ж, з - действие колхицина; б, е - разные клетки до и после воздействия в темноте; г, з - один и тот же нейрон до и после воздействия. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10. / **Fig. 8.** Changes of the spikes of neurons (top) and the blocking effect of retraction processes (bottom) before (left) and after (right) influence of retraction inhibitors. a, b - the action of nimodipine; c, d - the action of cytochalasin B; e, f - the action of blebbistatin; g, h - the action of colchicine; i, j - different cells before and after exposure in the dark; k, l - the same neuron before and after exposure. Phase contrast. Ob. 40 Ph, eyep. 10.

Таблица 1

Изменение электрофизиологических параметров нейромембраны при действии блокаторов аксональной подвижности

Показатели параметров нейромембраны	Нимодипин до и после	Цитохалазин В до и после	Блеббистатин до и после	Колхицин до и после
Амплитуда спонтанного спайка (мкВ)	47,5±2,8 34,0±4,5	46,8±0,84 51,8±2,17	43,5±1,08 68,0±3,1	46,9±0,8 37,4±1,3
Частота спонтанной импульсной активности (имп/с)	0,20±0,05 0,12±0,03	0,30±0,05 0,56±0,14	0,24±0,04 0,18±0,04*	0,2±0,04 0,75±0,12
Порог на синаптическое раздражение (мВ)	69,3±2,06 89,0±2,36	56,0±3,8 83,0±4,3	70,4±4,9 95,3±6,4	54,3±6,2 42,1±5,2*
Латентный период ответа (мс)	18,2±1,2 20,1±0,6	24,2±0,7 37,6±1,9	22,1±0,7 45,9±2,9	25,0±0,7 37,0±1,7

* – недостоверные величины

тракция перерезанных аксонов участвует в образовании промежутка между культями нерва. Причем этот промежуток должен увеличиваться вдвойне в связи с бидирекциональным сокращением отрезков. Видимо поэтому, нервный шов, соединяющий эпиневррий или периневррий культей при операции, в принципе не может вплотную совместить нервы, так как расходятся

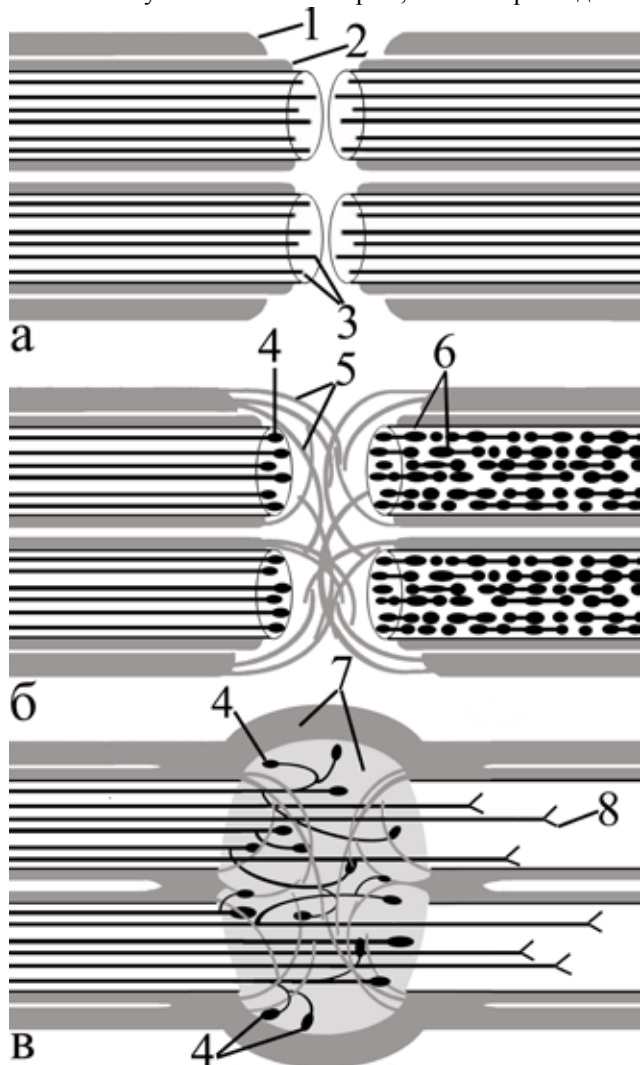


Рис. 9. Схематизированное изображение постоперационных структурных процессов в области диастаза нерва.

а - начальное механическое, пассивное уменьшение длины культей пересеченного нерва; б - увеличение ширины диастаза при бидирекциональном сокращении нервных волокон и внедрении в него фиброзной ткани; в - ретракция нервных волокон при их регенерации в области фиброзного рубца; 1- эпиневррий; 2 - периневррий; 3 - аксоны; 4 - колбы ретракции; 5 - волокна соединительной ткани; 6 - дегенерирующие нервные волокна; 7 - формирование фиброзного рубца и невромы в области диастаза; 8 - отдельные антероградно регенерирующие волокна. / **Fig. 9.** Schematized image of postoperative structural processes in nerve diastasis. a - the initial mechanical, passive reduction of the length of the stumps nerve transection; б - increase diastasis width during bidirectional retraction of nerve fibers and introducing it fibrous tissue; в - retraction of nerve fibers during regeneration in the fibrous scar; 1- epineurium; 2 - perineurium; 3 - axons; 4 - bulb retraction; 5 - fibrous tissue fibers; 6 - degenerating nerve fibers; 7 - the formation of fibrous scar and neuroma in diastasis; 8 - single anterograde regenerating fibers.

сокращающиеся волокна, а не оболочки нерва, которые соединены швами. Именно в промежуток, освободившийся от ретрагирующих нервных волокон, и устремляется фиброзная ткань во время постоперационного периода. Следует также отметить, что при пересечении волокна обязательно повреждается и дегенерирует последняя, у разреза шванновская клетка. Демиелинизация оболочки ограничена ближайшим перехватом Ранвье, то есть следующей шванновской клеткой.

Вдоль сокращающихся волокон встречаются варикозности (рис. 4 в), отмеченные и на волокнах поврежденных нервов человека (рис. 2 в). Однако этот феномен, хотя и связан с травмой нерва, по нашим данным, не имеет прямого отношения к сократительной активности волокон. Ретрагируют волокна и не имеющие варикозностей, скорость ретракции также, по-видимому, при этом не меняется. В ряде случаев нами отмечено явление самоампутации колб ретракции (рис. 4 в). Это явление наблюдается только на сокращающихся волокнах, и видимо, связано с адгезией к субстрату конца изолированного препарата, растягиваемого при его ретракции. Нельзя исключить наличие такого явления и у пересеченных волокон целых нервов.

Для анализа механизма ретракции нервных волокон наиболее адекватной и удобной оказалась разработанная нами морфологическая модель безмиелинового волокна моллюска с сохраненным телом нейрона. Прежде всего на этом препарате удастся наглядно продемонстрировать все закономерности сокращения, в том числе появление колб ретракции и аксиального тяжа (рис. 5 а, б), как и у миелиновых волокон лягушки и человека (рис. 2 в и 4 б). Поврежденные отростки, обычно сокращаясь, движутся по направлению к телу клетки как к большой сократимой массе нейроплазмы. Однако, если конец отростка оказывается закрепленным остатками ганглия (адгезированным), то начинает перемещаться тело клетки к концу отростка (рис. 5 в). Этим объясняется и противоположное направление сокращения культей перерезанного нерва. Если удастся организовать точку адгезии где-нибудь посредине длинного отростка, то оба конца препарата: и терминаль отростка, и сома нейрона, сокращаясь, перемещаются к этому месту, навстречу друг другу, подтверждая важную роль адгезии в сокращении волокна. Бидирекциональное сокращение отростка убедительно демонстрируется и на изолированном фрагменте нервного волокна (рис. 6 б). Его концы сближаются навстречу друг другу, увеличивая колбы ретракции вплоть до их слияния. Это доказывает, что аксоплазма отростков представляет собой не жидкость, а сократимую субстанцию, наподобие мышечного волокна, а знаменитый и непонятный ток аксоплазмы ни что иное, как ретракция аксона.

Несмотря на полученную травму при выделении нейронов, в исходном состоянии сокращаются отростки у 82,4% клеток. При этом диаметр аксонов увели-

чивается на 57%, и более, в зависимости от исходной длины. Аксоплазма из дистального конца перемещается в проксимальный (рис. 5 б) и постепенно втягивается внутрь тела клеток. Объем сомы при этом увеличивается на 52% и более (рис. 5 б). Скорость сокращения отростков сильно варьирует от 0,03 до 14 мкм/мин., причем это не зависит от исходной длины отростка приготовленного препарата. Скорость ретракции аксонов у дву- и трехотростчатых клеток резко отличалась друг от друга (рис. 7).

Так как сокращение нервных отростков может активно участвовать в образовании диастаза, возникает мысль о его ингибировании. Известно, что ретракция обусловлена активностью сократительных белков цитоскелета и участием в этом процессе ионов кальция. Поэтому нами было решено проанализировать молекулярные механизмы сокращения отростков и возможности их ингибирования. Применение блокатора кальциевых каналов L-типа нимодипина в течение трех часов предотвращало сокращение 72% волокон (рис. 8 б). Двигательная активность не возобновлялась в течение 5,5 часов наблюдения. С помощью цитохалазина В удается остановить сократительную функцию полимеров актина у 70% волокон при наблюдении препаратов до 13 часов (рис. 8 в, г). Влияние блеббистатина (блокатора сократительной активности миозина) проявилось в предотвращении ретракции также у 70% отростков (рис. 8 е). Сходство эффектов цитохалазина В и блеббистатина, видимо, объясняется их общим функционированием в составе актомиозина. Определение роли тубулина микротрубочек при использовании колхицина выявило полное блокирование аксональной ретракции (рис. 8 з) у 45% нейронов, а еще у 41% клеток произошло только частичное сокращение отростков. Тем не менее, эти опыты свидетельствуют о том, что тубулин также участвует в сокращении аксоплазмы, а колхицин, диссоциирующий микротрубочки, может быть использован для предотвращения роста диастаза в постоперационном периоде. Таким образом, нимодипин, цитохалазин, блеббистатин и колхицин могут быть опробованы в экспериментах на целых животных в качестве ингибиторов ретракции нервных волокон, препятствующих значительному

расширению щели между частями перерезанного нерва.

Чтобы проверить токсичность использованных нами препаратов и их возможное неблагоприятное воздействие на нейрональную мембрану, мы исследовали изменение ее электрофизиологических свойств под влиянием блокаторов подвижности цитоплазмы (Табл. 1).

Использование блокатора кальциевых каналов L-типа нимодипина при полной темноте в течение трех часов вызывало слабое достоверное уменьшение (на 28%) амплитуды спонтанного импульса (рис. 8 а) и частоты импульсной активности – на 40%. Порог синаптического раздражения и латентный период ответа на раздражающий стимул достоверно увеличивались на 29% и 10% соответственно. Видимо, нимодипин оказывает некоторое тормозное влияние на нейромембрану, но вполне может применяться в опытах по блокированию травматической ретракции.

В течение трех часов воздействия цитохалазина амплитуда одиночного импульса увеличивалась на 9,6%. Однако, систематически, вместе с одиночными, появлялись двойные спайки с низкими амплитудами (рис. 8 в). При этом суммарная величина амплитуды спайков оказалась примерно равной амплитуде одиночного импульса. Частота фоновой импульсной активности, порог на синаптическое раздражение и латентный период возрастали. Рост частоты импульсной активности (на 87%), видимо, объясняется появлением двойных спайков. Увеличение порога и латентного периода (на 26% и 52%, соответственно) не вызывало повреждающего воздействия на нейролемму, поскольку величина амплитуды одиночных спайков сохранялась. Это свидетельствует об отсутствии патологического влияния этого блокатора двигательной активности.

При использовании блеббистатина в условии полной темноты амплитуда спонтанного импульса возрастала на 37% (рис. 8 д), частота фоновой импульсной активности недостоверно уменьшалась на 25%, а порог и латентный период стимула увеличивались достоверно на 35% и 52%, соответственно. Таким образом, блеббистатин оказывал некоторое тормозное, видимо гиперполяризующее, влияние на электрофизи-

Table 1

Changing the electrophysiological neuromembrane parameters under the action axonal mobility blockers

Values of neuromembrane parameters	Nimodipine before and after	Cytochalasin B before and after	Blebbistatin before and after	Colchicine before and after
The amplitude of spontaneous spike (mV)	47,5±2,8 34,0±4,5	46,8±0,84 51,8±2,17	43,5±1,08 68,0±3,1	46,9±0,8 37,4±1,3
The frequency of spontaneous impulse activity (counts/s)	0,20±0,05 0,12±0,03	0,30±0,05 0,56±0,14	0,24±0,04 0,18±0,04*	0,2±0,04 0,75±0,12
The threshold for synaptic irritation (mV)	69,3±2,06 89,0±2,36	56,0±3,8 83,0±4,3	70,4±4,9 95,3±6,4	54,3±6,2 42,1±5,2*
The latent period of response (Ms)	18,2±1,2 20,1±0,6	24,2±0,7 37,6±1,9	22,1±0,7 45,9±2,9	25,0±0,7 37,0±1,7

* - Invalid values

ологические свойства нейромембраны, которое нельзя расценивать, как патологическое.

Трехчасовое воздействие колхицина на нейромембрану вызывало достоверное снижение амплитуды спонтанного спайка на 20% (рис. 8 ж). Резко возросла частота спонтанной импульсной активности (на 73%). Порог не изменился, а латентный период вырос на 34%. Это свидетельствует о том, что колхицин оказывает возбуждающее, раздражающее действие на нейромембрану, однако эти изменения невелики и позволяют использовать этот блокатор в опытах по ингибированию формирования диастаза пересеченных нервов.

Результаты экспериментов, полученные на живых одиночных волокнах позвоночных и беспозвоночных животных, мы попытались обобщить и интерпретировать как предполагаемый процесс формирования диастаза, рубца и невромы пересеченного нерва в виде упрощенной схемы (рис. 9). Как известно, первоначально, одновременно с травмой происходит некоторое уменьшение длины культей нервных пучков, возникшее в результате механического действия эластичных свойств соединительной ткани оболочек нерва (рис. 9 а). Вслед за этим выявлена неотвратимость сокращения травмированных нейритов. Их ретракция происходит одновременно в противоположных направлениях в проксимальном и дистальном отрезках нервных волокон, увеличивая вдвойне зазор культей пересеченного нерва (рис. 9 б). Это означает, что нервы в принципе, никогда не могут быть прочно сшиты или склеены, так как при операции соединяются оболочки, а ретрагируют аксоны внутри них. Ретракцию не может предотвратить ни тубуляция, ни трансплантаты. Как показано в культуре нейронов регенерация волокон начинается только после ретракции значительного участка аксона [17]. Судя по опытам на живых волокнах, расстояние на которые ретрагируют отростки может быть значительным. Короткие безмиелиновые волокна могут полностью втягиваться в тело нейрона. Еще раз подтверждается достоверность теории о "бидирекциональном токе аксоплазмы", описанной Л. Любинска [12]. Этот феномен объясняет и двунаправленность ретракции культей пересеченных нервов. Непременным признаком ретракции служит появление на концах всех перерезанных аксонов обеих культей своеобразных аксоплазматических вздутий – колб ретракции. Вслед за S. Ramon y Cajal [14] многие гистологи и нейрохирурги именуют эти структуры колбами или конусами роста, так как они в большом количестве обязательно выявляются в местах регенерирующих нервов, особенно в области невром, на месте гипертрофированного коллагенового рубца (рис. 9 в). Однако на живых регенерирующих аксонах конусы роста выглядят совсем по-другому. Это широкие пластины с множеством подвижных тончайших филоподий, напоминающих шиповидные края кленовых листьев. Они хорошо наблюдаются при фазовом кон-

трасте на живых растущих аксонах. Колбы же ретракции появляются только в случае препятствий их росту. Это ретрагированные терминалы, бывшие конусы роста, то есть структуры с функцией противоположной регенерации. Как индикатор ретракции они могут выявляться на фиксированных нейрогистологических препаратах нервов ампутированных конечностей человека. В ранах нервные волокна могут быть пересечены дважды. Тогда они имеют по две колбы ретракции на обоих концах фрагментов, и, следовательно, не могут быть конусами роста и служить признаком регенерации волокон.

Таким образом, можно утверждать, что ретракция нервных волокон должна являться непременным симптомом травмированных нервов. Приведенные данные, по нашему мнению, объясняют многое из неудач в лечении пересечения периферического нерва. Механизм постоперационного диастаза видимо объясняется сократительной, миоподобной функцией нейроплазмы аксона, вызывающей его укорочение. При этом в заключении напрашивается мысль о необходимости ингибирования или блокады ретракции с целью предотвращения расширения зазора между культями при лечении такой патологии. Следует отметить, что торможение ретракции волокон спинного мозга уже было отмечено ранее в ряде экспериментальных исследований [1]. Проведенные нами эксперименты свидетельствуют о возможности нового подхода в постоперационном лечении пересечения нерва. Пытаясь бороться с посттравматическим рубцом в нервах и мозгу ранее были использованы многочисленные ингибиторы образования коллагена и трансплантация клеток [19, 16], однако роль ретракции волокон в расширении диастаза, по-видимому, остается неизученной.

Несмотря на то, что в принципе, ретракция безмиелиновых волокон в культуре ткани и *in vivo* у беспозвоночных показана неоднократно [18, 20], ретроградное сокращение живых волокон периферической нервной системы, имеющих сложно устроенную миелиновую оболочку, очевидно продемонстрировано впервые. Неисследованным оказался и молекулярный механизм ретракции травмированных аксонов. Использование нами ингибиторов двигательной активности основных белков цитоскелета аксоплазмы и блокатора кальциевых каналов L-типа, обеспечивающих ее ретракцию, выявило участие в формировании ретракции волокон диастаза поврежденных нервов тубулина нейротрубочек, актина микрофиламентов, миозина и кальция. Это позволило выбрать и опробовать такие блокаторы активности цитоскелета, которые уже использованы при лечении человека. При многих формах нервных заболеваний применяется нимодипин [3]. Цитохалазин использован при лечении посттравматического остеоартрита [15]. Блебистатин опробован для подавления чрезмерной сократительной активности миозина [2], а колхицин – при воспалительных

процессах и снижении плотности фиброзных пучков в области травмы [8].

С помощью микроэлектродных электрофизиологических исследований было показано, что все эти блокаторы, способные подавлять ретракцию аксонов, крайне незначительно влияют на нейромембрану: амплитуду спонтанного спайка, частоту фоновой активности, порог на синаптическое раздражение и латентный период ответа. Приведенные данные свидетельствуют о низкой токсичности использованных ингибиторов в указанных концентрациях при раннем и краткосрочном их применении. Следует отметить, что предлагаемый новый подход в лечении диастаза никак не исключает традиционные способы лечения данной патологии и не противоречит им. Мы полагаем, что приведенные результаты достаточны для перехода от исследований изолированных препаратов к экспериментам с перерезками и регенерацией нервов на целых животных.

Заключение

Проведенные эксперименты позволяют сделать ряд заключений. Во-первых, доказано, что нервные волокна после их пересечения проявляют миоподобную сократительную активность. Это свидетельствует о

наличии неисследованного ранее активного механизма, участвующего в формировании диастаза нервов.

Во-вторых, впервые обнаружена способность к ретракции миелиновых волокон нервов позвоночных. Доказано, что абсолютным признаком сокращения волокон на фиксированных препаратах являются колбы ретракции, обязательно развивающиеся на концах пересеченных нервов (включая нервы человека). Описано бидирекциональное сокращение аксонов, что свидетельствует о двойном расширении промежутка между культями перерезанного нерва.

В-третьих, показано, что в механизме ретракции нервных волокон участвуют все основные полимеры белков цитоскелета аксоплазмы и ионы Са.

В-четвертых, исследованные в экспериментах нимодипин, цитохалазин, блеббистатин и колхицин способны ингибировать травматическую ретракцию нервных волокон и не являются патологическими для электрофизиологических свойств нервных волокон.

Сформулировано практически важное предположение о возможности применения испытанных ингибиторов на ранних стадиях ампутации нервов у экспериментальных животных для уменьшения или ликвидации диастаза культей с целью предотвращения операционного рубца, невромы и ускорения регенерации.

Список литературы

1. Ben-Yaakov K., Dagan S.Y., Segal-Ruder Y. et al. Axonal transcription factors signal retrogradely in lesioned peripheral nerve. *EMBO J.*, 2012; 31(6): 1350-1363.
2. Brown J.A., Wysolmerski R.B., Bridgman P.C. Dorsal root ganglion neurons react to semaphorin 3A application through a biphasic response that requires myosin II isoforms. *Mol. Biol. Cell*, 2009; 20(4): 1167-1179.
3. Choi S.K., Lee G.J., Choi S., et al. Neuroprotective effects by nimodipine treatment in the experimental global ischemic rat model: real time estimation of glutamate. *J. Korean. Neurosurg. Soc.*, 2011; 49(1): 61-67.
4. Dolbeare D., Houle J.D. Restriction of axonal retraction and promotion of axonal regeneration by chronically injured neurons after intraspinal treatment with glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). *J. Neurotrauma*, 2003; 20(11): 1251-1261.
5. Erfanian R., Firouzi M., Nabian M.H., et al. Comparison of a new single-donor human fibrin adhesive with suture for posterior tibial nerve repair in rat: biomechanical resistance and functional analysis. *Chin. J. Traumatol.*, 2014; 1: 17(3): 146-152.
6. Fraczek-Szczypta A. Carbon nanomaterials for nerve tissue stimulation and regeneration. *Mater. Sci. Eng.*, 2014; 1(34): 35-49.
7. Gencer Z.K., Özkiriş M., Saydam L. et al. The comparison of histological results of experimentally created facial nerve defects repaired by 2 different anastomosis techniques: classic suture technique or tissue adhesives for nerve anastomosis? *J. Craniofac. Surg.*, 2014; 25(2): 652-656.

References

1. Ben-Yaakov K., Dagan S.Y., Segal-Ruder Y. et al. Axonal transcription factors signal retrogradely in lesioned peripheral nerve. *EMBO J.*, 2012; 31(6): 1350-1363.
2. Brown J.A., Wysolmerski R.B., Bridgman P.C. Dorsal root ganglion neurons react to semaphorin 3A application through a biphasic response that requires myosin II isoforms. *Mol. Biol. Cell*, 2009; 20(4): 1167-1179.
3. Choi S.K., Lee G.J., Choi S., et al. Neuroprotective effects by nimodipine treatment in the experimental global ischemic rat model: real time estimation of glutamate. *J. Korean. Neurosurg. Soc.*, 2011; 49(1): 61-67.
4. Dolbeare D., Houle J.D. Restriction of axonal retraction and promotion of axonal regeneration by chronically injured neurons after intraspinal treatment with glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). *J. Neurotrauma*, 2003; 20(11): 1251-1261.
5. Erfanian R., Firouzi M., Nabian M.H., et al. Comparison of a new single-donor human fibrin adhesive with suture for posterior tibial nerve repair in rat: biomechanical resistance and functional analysis. *Chin. J. Traumatol.*, 2014; 1: 17(3): 146-152.
6. Fraczek-Szczypta A. Carbon nanomaterials for nerve tissue stimulation and regeneration. *Mater. Sci. Eng.*, 2014; 1(34): 35-49.
7. Gencer Z.K., Özkiriş M., Saydam L. et al. The comparison of histological results of experimentally created facial nerve defects repaired by 2 different anastomosis techniques: classic suture technique or tissue adhesives for nerve anastomosis? *J. Craniofac. Surg.*, 2014; 25(2): 652-656.

8. Hellal F., Hurtado A., Ruschel J. et al. Microtubule stabilization reduces scarring and causes axon regeneration after spinal cord injury. *Science*, 2011; 331(6019): 928-931.
9. Klimaschewski L., Hausott B., Angelov D.N. The pros and cons of growth factors and cytokines in peripheral axon regeneration. *Int. Rev. Neurobiol.*, 2013; 108: 137-171.
10. Lerch J.K., Martínez-Ondaro Y.R., Bixby J.L., Lemmon V.P. cJun promotes CNS axon growth. *Mol. Cell Neurosci.*, 2014; 59: 97-105.
11. Lowery L.A., Vactor D.V. The trip of the tip: understanding the growth cone machinery. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2009; 10(5): 332-343.
12. Lubinska L. Axoplasmic streaming in regenerating and in normal nerve fibres. *Prog. Brain Res.*, 1964; 13: 1-71.
13. Martins R.S., Teodoro W.R., Simplicio H. et al. Influence of suture on peripheral nerve regeneration and collagen production at the site of neurorrhaphy: an experimental study. *Neurosurgery*, 2011; 68(3): 765-772.
14. Ramon y Cajal S. *Degeneration and regeneration of the nervous system*. London: Acad. Press, 1928; 396.
15. Sauter E., Buckwalter J.A., McKinley T.O., Martin J.A. Cytoskeletal dissolution blocks oxidant release and cell death in injured cartilage. *J. Orthop. Res.*, 2012; 30(4): 593-598.
16. Shen D., Wang X., Gu X. Scar-modulating treatments for central nervous system injury. *Neurosci. Bull.*, 2014; 24.
17. Sotnikov O.S. Use of cell culture to prove syncytial connection and fusion of neurons. *Rijeka: Intech*, 2012; 83-114.
18. Suter D.M., Miller K.E. The emerging role of forces in axonal elongation. *Prog. Neurobiol.*, 2011; 94(2): 91-101.
19. Turgut M., Uysal A., Pehlivan M. et al. Assessment of effects of pinealectomy and exogenous melatonin administration on rat sciatic nerve suture repair: an electrophysiological, electron microscopic, and immunohistochemical study. *Acta Neurochir. (Wien)*, 2005; 147(1): 67-77.
20. Wylie S.R., Chantler P.D. Myosin IIA drives neurite retraction. *Mol. Biol. Cell*, 2003; 14(11): 4654-4666.

Поступила 12.11.2014

Информация об авторах

1. Сотников О.С. – д.б.н., з.д.н., проф., зав. лаб. функциональной морфологии и физиологии нейрона Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, ossotnikov@mail.ru
2. Шулев Ю.А. – д.м.н., проф., зав. нейрохирургическим отделением №1 Второй городской многопрофильной больницы, yuryshulev@yahoo.com, tninstitute@mc21.ru
3. Фомина Н.Ю. – к.б.н., м.н.с., Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
4. Сергеева С.С. – к.б.н., с.н.с., Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
5. Лактионова А.А. - к.б.н., н.с., Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

Information about the Authors

1. Sotnikov O. – ScD, Honored Scientist, Prof., Head of the laboratory of functional morphology and physiology of neuron Pavlov Institute of physiology RAS ossotnikov@mail.ru
2. Shulev Yu. - MD, Prof., Head of the Neurosurgical Division №1 of Second City General Hospital yuryshulev@yahoo.com, tninstitute@mc21.ru
3. Fomina N. – PhD, junior researcher, Pavlov Institute of physiology RAS
4. Sergeeva S. - PhD, senior researcher, Pavlov Institute of physiology RAS
5. Laktionova A. - PhD, researcher, Pavlov Institute of physiology RAS

Received 12.11.2014