

УДК 616.832-001-089.843:611.018.5:599.323

## КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ СТРУКТУРЫ В УСЛОВИЯХ ГЕННО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ

*Г.Ф. Шаймарданова, Я.О. Мухамедшина, И.И. Салафутдинов,  
А.А. Ризванов, Ю.А. Чельшиев*

### Аннотация

На модели дозированной контузионной травмы спинного мозга крысы на уровне Т8 проведено сравнение эффективности немедленного однократного введения в область повреждения моноклеарных клеток крови пуповины человека, трансфицированных плазмидой рBud-VEGF-FGF2, и прямой инъекции данной плазмиды. Цель исследования: в условиях генно-клеточной терапии при травме спинного мозга выявить корреляции между морфологическими показателями в области повреждения, а также оценить количество PDGF $\beta$ R<sup>+</sup>-клеток в условиях локальной доставки генов нейротрофических и ангиогенных факторов *veg*f и *fgf*2 на клеточных носителях и при прямой генной терапии. Установлена отрицательная линейная зависимость между количеством миелиновых волокон и суммарной площадью патологических полостей при трансплантации клеток крови пуповины, трансфицированных плазмидой рBud-VEGF-FGF2. В опытах с прямой инъекцией плазмиды такая корреляция отсутствует, но количество PDGF $\beta$ R<sup>+</sup>-клеток увеличивается на 24% по сравнению с группой животных, получавших трансгены на клеточных носителях. Установлены слабые корреляции между количеством миелиновых волокон и площадью сохраненного белого вещества на расстоянии 5 мм и их отсутствие на расстоянии 3 мм от эпицентра травмы как при прямой генной, так и при клеточно-опосредованной терапии. Прямая генная терапия, в отличие от доставки генов на клеточных носителях, более эффективно препятствует образованию патологических полостей.

**Ключевые слова:** спинной мозг, регенерация, клетки крови пуповины, VEGF, FGF2.

### Введение

Для преодоления последствий травмы спинного мозга необходима локальная доставка генов нейротрофических факторов, поддерживающих выживание нейронов, рост аксонов и восстановление нервных связей. Одним из перспективных направлений в терапии травмы спинного мозга является применение факторов ангиогенеза для восстановления кровотока в зоне повреждения [1]. Особый интерес вызывают нейротрофические и одновременно ангиогенные факторы – сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) и фактор роста фибробластов, основной FGF2 (Fibroblast Growth Factor 2 (basic)). Введение в область травмы спинного мозга рекомбинантного VEGF при помощи аденовирусного вектора сдерживает апоптоз нейронов и снижает выраженность отека в области повреждения [2]. Для VEGF показано поддерживающее влияние на регенерацию аксонов кортикоспинального

тракта [3]. FGF2 также стимулирует выживание мотонейронов [4, 5]. По мнению Фахми и др. [6], при травме спинного мозга FGF-2 вовлекается в процессы контроля клеточной пролиферации и/или дифференцировки астроцитов. В отношении этого фактора особенно актуальной представляется разработка методов локальной доставки в область травматического повреждения спинного мозга [7].

При травме спинного мозга отдельная доставка VEGF и FGF2 или их генов в область повреждения снижает проявления нейродегенерации (см. обзор [8]). Основываясь на этих данных, можно ожидать усиление их действия при совместном применении. В область травмы спинного мозга одновременную доставку обоих факторов (но не их генов) осуществили Де Лапорт и др. [9] при помощи биоразтворимых полимерных микрочастиц. Ранее нами на модели дозированной контузионной травмы спинного мозга крысы на уровне T8 по ряду морфологических и функциональных критериев показано позитивное влияние доставки в область повреждения плазмидного вектора pBud-VEGF-FGF2 с комбинацией клонированных генов человека *vegf* и *fgf2* как с применением клеточных носителей из крови пуповины человека, так и в условиях прямой генной терапии, предполагающей непосредственное введение плазмиды в спинной мозг [10, 11]. При этом были зарегистрированы сдвиги по многим морфологическим и функциональным показателям, но причинно-следственная связь между ними установлена не была.

Цели исследования – выявить возможные корреляции между морфологическими показателями спинного мозга; оценить количество PDGF $\beta$ R<sup>+</sup>-клеток в условиях локальной доставки генов *vegf* и *fgf2* на клеточных носителях или при прямой генной терапии.

### Материалы и методы

Эксперименты проведены на 52 белых крысах, самках и самцах весом 200–250 г. Использовали нелинейных крыс. Животных получали в Центральной научно-исследовательской лаборатории Казанского государственного медицинского университета. Животных содержали в стандартных условиях, со свободным доступом к воде и корму в соответствии с этическими правилами в Казанском государственном медицинском университете (протокол № 5 бюро Локального этического комитета от 20 ноября 2012 г.). Крыс наркотизировали путем внутривентрикулярной инъекции хлоралгидрата (Sigma, США) (80 мг/мл, 0.4 мл на 100 г). Дозированную контузионную травму спинного мозга воспроизводили после ламинэктомии на уровне T8. Забор крови пуповины человека и выделение моноклеарной фракции клеток осуществляли описанным ранее методом [12]. Плазида pBud-VEGF-FGF2 разработана нами ранее [13]. Выделенные клетки трансфицировали путем электропорации [12] плазмидой pBud-VEGF-FGF2 для введения животным первой опытной группы. Трансфицированные клетки вводили сразу после нанесения травмы [10]. Животным первой контрольной группы в аналогичных условиях вводили те же клетки, трансфицированные плазмидой pEGFP-N2 (Clontech, США) с геном зеленого флуоресцентного белка. В опытах с прямой генной терапией животным второй опытной группы в ту же область инъецировали плазмиду pBud-VEGF-FGF2, а второй контрольной группы – то же количество плазмиды pEGFP-N2.

Через 30 сут после нанесения травмы животных наркотизировали и транскрипционно перфузировали 4%-ным раствором параформальдегида (4 °С). Фрагмент спинного мозга забирали вместе с позвонками [10]. На поперечных срезах спинного мозга определяли количество миелиновых волокон и суммарную площадь патологических полостей в 4 фиксированных зонах морфометрии: 1 – вентромедиальная часть переднего канатика, прилежащая к срединной щели, правая сторона; 2 – то же, левая сторона; 3 – латеральная часть бокового канатика в пределах фронтальной плоскости, проходящей через центральный канал, правая сторона; 4 – то же, левая сторона; а также измеряли площадь сохраненного белого вещества, площадь участка повреждения [10, 11]. Для оценки линейной корреляции между значениями применили корреляционный анализ Пирсона и статистический пакет в составе программы Origin Pro 7.0.

На криостатных поперечных срезах спинного мозга на расстоянии 1.5 см от эпицентра травмы непрямым иммунопероксидазным методом выявляли периваскулярные клетки с антителами против бета-рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFβR) (Sigma, разведение 1 : 150). Количество PDGFβR<sup>+</sup>-клеток подсчитывали на оцифрованных изображениях в зонах морфометрии. Просмотр препаратов и оцифровку изображений проводили на микроскопе Axio Imager A1 (Carl Zeiss, Германия). На аналогичных срезах проводили иммунофлуоресцентное окрашивание. Для идентификации антигена срезы инкубировали с первичными антителами против бета-рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFβR) (Sigma, разведение 1 : 150) в течение суток при 4 °С, промывали в фосфатно-солевом буфере, а затем инкубировали вторичными антителами, конъюгированными с флуоресцентными красителями anti-mouse Alexa 555 (Invitrogen, 1 : 150) в течение 2 ч при комнатной температуре. Для визуализации ядер клеток срезы дополнительно окрашивали в течение 10 мин при комнатной температуре раствором 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI, 10 мкг/мл в фосфатном буфере, Sigma). Окрашенные срезы заключали в среду, поддерживающую флуоресценцию, и изучали при помощи конфокального сканирующего микроскопа LSM 510-Meta (Carl Zeiss).

### Результаты

В экспериментах с прямой инъекцией плазмиды нами показана лучшая сохранность серого и белого вещества (рис. 1). При сравнении общей площади повреждения в опытных группах при прямой инъекции плазмиды этот показатель на расстоянии 5 мм от эпицентра травмы в среднем в 2 раза, а на расстоянии 3 мм в 1.5 раза меньше, чем при генно-клеточной терапии.

Корреляционный анализ показал наличие отрицательной линейной зависимости между количеством миелиновых волокон и суммарной площадью патологических полостей в первой опытной группе с трансплантацией клеток, трансфицированных плазмидой pBud-VEGF-FGF2. Наибольший коэффициент корреляции вычислен в срезах на расстоянии 3 мм от эпицентра травмы в каудальном направлении для зоны 1 и в ростральном направлении для зоны 4 ( $r = -0.94$ ;  $p = 0.005$  и  $r = -0.97$ ;  $p = 0.001$ ) (рис. 2, а, б). Для этих зон достоверно установлена обратно пропорциональная зависимость между количеством миелиновых волокон и площадью патологических полостей. В экспериментах с прямой

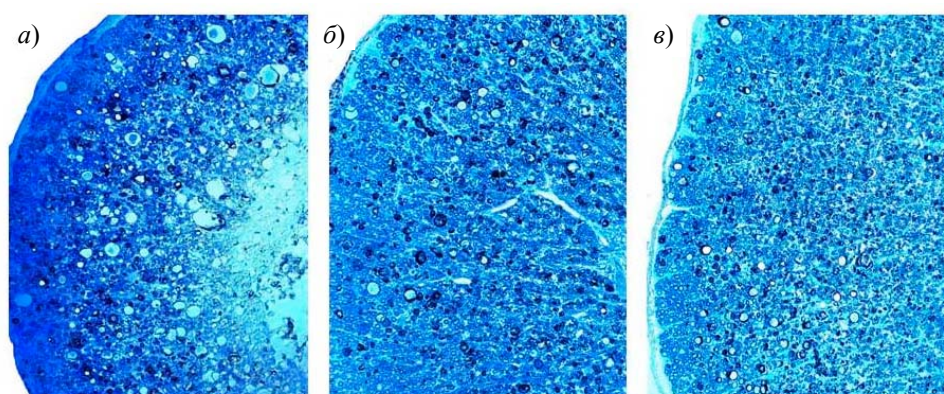


Рис. 1. Полутолки поперечные срезы спинного мозга крысы в области повреждения, 30 сут после травмы: *a* – при трансплантации клеток крови пуповины человека, трансфицированных плазмидой pEGFP-N2; *b* – при трансплантации тех же клеток, трансфицированных плазмидой pBud-VEGF-FGF2; *v* – при прямой инъекции плазмиды pBud-VEGF-FGF2. Толуидиновый синий. Ув. 40х

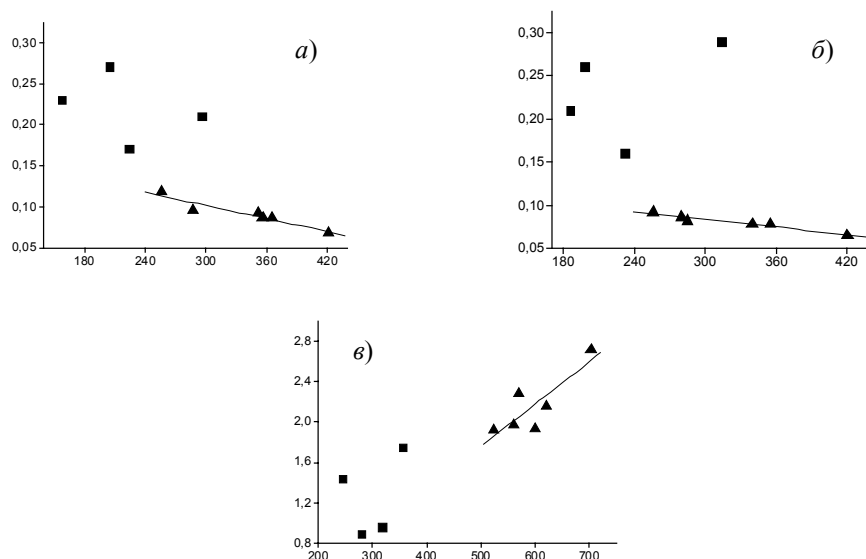


Рис. 2. Распределение значений количества миелиновых волокон (по оси абсцисс) и суммарной площади патологических полостей в белом веществе в  $\text{мм}^2$  (по оси ординат): *a* – в зоне 4 на расстоянии 3 мм в ростральном направлении; *b* – в зоне 1 на расстоянии 3 мм в каудальном направлении от эпицентра травмы; *v* – распределение значений количества миелиновых волокон (по оси абсцисс) и площади сохраненного белого вещества в  $\text{мм}^2$  (по оси ординат) в зоне 3 на расстоянии 5 мм в ростральном направлении. Квадраты – при трансплантации клеток крови пуповины человека, трансфицированных плазмидой pEGFP-N2; треугольники – при трансплантации тех же клеток, трансфицированных плазмидой pBud-VEGF-FGF2

инъекцией плазмиды pBud-VEGF-FGF2 (вторая опытная группа) такая корреляция не выявлена.

У животных первой опытной группы с трансплантацией клеток, трансфицированных плазмидой pBud-VEGF-FGF2, зарегистрирован достаточно высокий

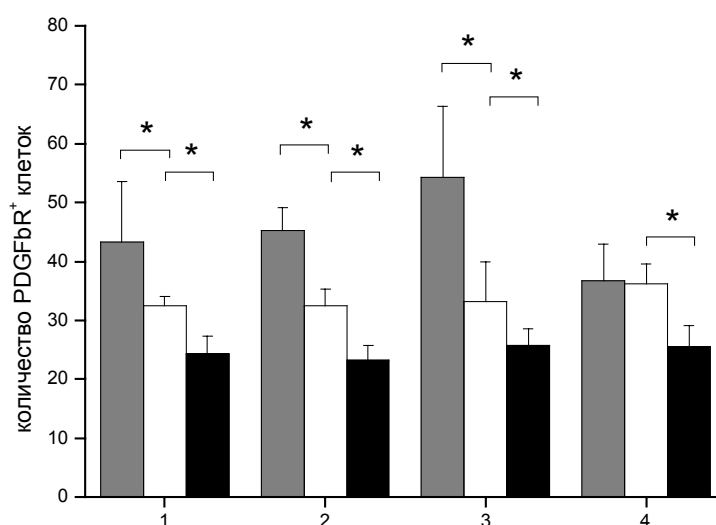


Рис. 3. Количество PDGFβR-иммунопозитивных клеток в белом веществе спинного мозга крысы (по оси ординат) на расстоянии 1.5 см от эпицентра травмы на 30-е сутки эксперимента. Серые столбики – при прямом введении плазмиды pBud-VEGF-FGF2, светлые столбики – при трансплантации клеток крови пуповины человека, трансфицированных плазмидой pBud-VEGF-FGF2, темные столбики – при трансплантации клеток крови пуповины человека, трансфицированных плазмидой pEGFP-N2. По оси абсцисс – зоны морфометрии. \* –  $P < 0.05$

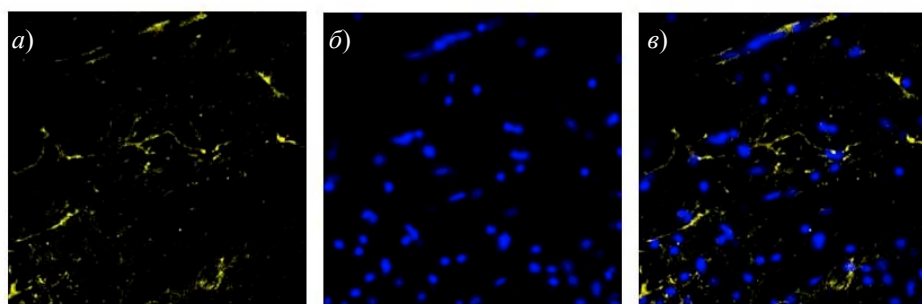


Рис. 4. Экспрессия β-рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFβR) в вентральных рогах спинного мозга на расстоянии 1.5 см в каудальном направлении от эпицентра травмы в группе животных с прямой инъекцией плазмиды pBud-VEGF-FGF2: *a* – PDGFβR-иммунопозитивные периваскулярные клетки; *б* – их ядра, окрашенные DAPI; *в* – наложение изображений *a* и *б*. Конфокальная микроскопия. Ув. 400х.

уровень положительной корреляции между количеством миелиновых волокон и площадью сохраненного белого вещества. Наибольшее значение коэффициента корреляции  $r = 0.83$  ( $p = 0.037$ ) вычислено для зоны 3 на расстоянии 5 мм от эпицентра травмы в ростральном направлении (рис. 2, *в*). При анализе этих показателей в зонах 1 и 2 значения коэффициента корреляции составили соответственно 0.77 ( $p = 0.070$ ) и 0.62 ( $p = 0.183$ ), что указывает на наличие средней силы корреляционной связи между количеством миелиновых волокон и суммарной площадью патологических полостей. На расстоянии 3 мм от эпицентра травмы корреляция между количеством миелиновых волокон и площадью

сохраненного белого вещества в обеих опытных группах, то есть в условиях как трансплантации клеток, трансфицированных плазмидой pBud-VEGF-FGF2, так и с прямой инъекцией плазмиды, не установлена.

В контрольных группах корреляция между изучаемыми морфологическими показателями не выявлена.

К 30-м суткам эксперимента в наружных зонах белого вещества на расстоянии 1.5 см от эпицентра травмы зарегистрировано превышение показателя количества периваскулярных клеток, экспрессирующих PDGF $\beta$ R, в опыте с прямой доставкой терапевтических генов в среднем на 24% по отношению к группе с трансплантацией трансфицированных клеток (рис. 3, 4). Этот эффект, возможно, обусловлен действием VEGF, продукция которого оказывается более активной в случае прямой генной терапии.

### Обсуждение

Характерным признаком контузионной травмы спинного мозга является появление многочисленных полостей, которые могут сливаться, приводя к выраженным дефектам ткани. Причины и механизмы возникновения этих полостей остаются неясными. Среди причин образования полостей в ходе вторичной дегенерации рассматривают ишемию, геморрагии, активацию гидролитических ферментов, гидродинамические изменения в ткани, инфильтрацию макрофагами, воспалительные реакции, нарушение структуры астроцитов, их пролиферацию и миграцию [14]. Представляется маловероятным, что патологические полости возникают вследствие гибели только олигодендроцитов, демиелинизации и полной деструкции миелиновых волокон, фактически образующих основную массу ткани белого вещества. Вне зависимости от причины и последовательности событий при возникновении полостей эти патологические структуры потенциально снижают объем тканевого матрикса, в котором возможна регенерация миелиновых волокон. Об этом свидетельствует установленная нами отрицательная корреляция между количеством миелиновых волокон и суммарной площадью полостей.

В экспериментах с прямым введением плазмиды с терапевтическими генами отсутствие корреляции между количеством миелиновых волокон и суммарной площадью патологических полостей, а также количеством миелиновых волокон и общей площадью сохраненной ткани мы объясняем тем, что патологические полости занимают активно пролиферирующие клетки макроглии в результате их успешной трансфекции плазмидой с терапевтическими генами.

Таким образом, от способа доставки генов одновременно нейротрофических и ангиогенных факторов зависят морфологические показатели области повреждения. Прямая генная терапия в нашем исследовании более эффективно поддерживает сохранность ткани и препятствует образованию патологических полостей.

Работа выполнена при поддержке государственного контракта ФЦП Министерства образования и науки Российской Федерации № 16.512.11.2101, гранта ОПТЭК 2012 г., гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 12-04-31092-мол\_a.

## Литература

1. *Graumann U., Ritz M.F., Hausmann O.* Necessity for re-vascularization after spinal cord injury and the search for potential therapeutic options // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2011. – V. 8, No 4. – P. 334–341.
2. *Qiang H., Zhang C., Shi Z., Ling M.* Neuroprotective effects of recombinant adeno-associated virus expressing vascular endothelial growth factor on rat traumatic spinal cord injury and its mechanism // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* – 2012. – V. 26, No 6. – P. 724–730. (на кит. яз.)
3. *Facchiano F., Fernandez E., Mancarella S., Maira G., Miscusi M., D’Arcangelo D., Cimino-Reale G., Falchetti M.L., Capogrossi M.C., Pallini R.* Promotion of regeneration of corticospinal tract axons in rats with recombinant vascular endothelial growth factor alone and combined with adenovirus coding for this factor // *J. Neurosurg.* – 2002. – V. 97, No 1. – P. 161–168.
4. *Grumbles R.M., Sesodia S., Wood P.M., Thomas C.K.* Neurotrophic factors improve motoneuron survival and function of muscle reinnervated by embryonic neurons // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* – 2009. – V. 68, No 7. – P. 736–746.
5. *Jordan P.M., Ojeda L.D., Thonhoff J.R., Gao J., Boehning D., Yu Y., Wu P.* Generation of spinal motor neurons from human fetal brain-derived neural stem cells: role of basic fibroblast growth factor // *J. Neurosci. Res.* – 2009. – V. 87, No 2. – P. 318–332.
6. *Fahmy G.H., Moftah M.Z.* FGF-2 in astroglial cells during vertebrate spinal cord recovery // *Front. Cell. Neurosci.* – 2010. – V. 4. – P. 129.
7. *Kang C.E., Tator C.H., Shoichet M.S.* Poly(ethylene glycol) modification enhances penetration of fibroblast growth factor 2 to injured spinal cord tissue from an intrathecal delivery system // *J. Control. Release.* – 2010. – V. 144, No 1. – P. 25–31.
8. *Чельшиев Ю.А., Мухамедишина Я.О., Шаймарданова Г.Ф., Николаев С.И.* Прямая доставка терапевтических генов для стимулирования посттравматической нейрогенерации // *Невролог. вестн.* – 2012. – Т. 64, Вып. 1. – С. 75–83.
9. *De Laporte L., des Rieux A., Tuinstra H.M., Zelivyanskaya M.L., De Clerck N.M., Postnov A.A., Pr at V., Shea L.D.* Vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor 2 delivery from spinal cord bridges to enhance angiogenesis following injury // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2011. – V. 98, No 3. – P. 372–382.
10. *Шаймарданова Г.Ф., Мухамедишина Я.О., Архипова С.С. Салафутдинов И.И., Ризванов А.А., Чельшиев Ю.А.* Посттравматические изменения спинного мозга крысы при трансплантации моноклеарных клеток крови пуповины человека, модифицированных генами *vegf* и *fgf2* // *Морфология.* – 2011. – Т. 140, № 6. – С. 36–42.
11. *Шаймарданова Г.Ф., Мухамедишина Я.О., Ризванов А.А. Салафутдинов И.И., Чельшиев Ю.А.* Эффект трансплантации в область травматического повреждения спинного мозга крысы моноклеарных клеток крови пуповины человека, экспрессирующих рекомбинантные гены VEGF и FGF2 // *Морфология.* – 2012. – Т. 142, № 4. – С. 31–36.
12. *Rizvanov A.A., Kiyasov A.P., Gaziziov I.M., Yilmaz T.S., Kaligin M.S., Andreeva D.I., Shafgullina A.K., Guseva D.S., Kiselev S.L., Matin K., Palot s A., Islamov R.R.* Human umbilical cord blood cells transfected with VEGF and L(1)CAM do not differentiate into neurons but transform into vascular endothelial cells and secrete neuro-trophic factors to support neuro-genesis – a novel approach in stem cell therapy // *Neurochem. Int.* – 2008. – V. 53, No 6–8. – P. 389–394.

13. Салафутдинов И.И., Шафигуллина А.К., Ялвач М.Э., Кудряшова Н.В., Лагарькова М.А., Шутова М.В., Киясов А.П., Исламов Р.Р., Ризванов А.А. Эффект одновременной экспрессии различных изоформ фактора роста эндотелия сосудов VEGF и основного фактора роста фибробластов FGF2 на пролиферацию эндотелиальных клеток пупочной вены человека HUVEC // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Т. 5, № 2. – С. 62–67.
14. Fitch M.T., Doller C., Combs C.K., Landreth G.E., Silver J. Cellular and molecular mechanisms of glial scarring and progressive cavitation: in vivo and in vitro analysis of inflammation-induced secondary injury after CNS trauma // J. Neurosci. – 1999. – V. 19, No 19. – P. 8182–8198.

Поступила в редакцию  
22.10.12

---

**Шаймарданова Гульнара Фердинантовна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярных основ патогенеза, Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань, Россия.

E-mail: [gulnara\\_kzn@rambler.ru](mailto:gulnara_kzn@rambler.ru)

**Мухамедшина Яна Олеговна** – ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия.

E-mail: [yanakazmedhist1@rambler.ru](mailto:yanakazmedhist1@rambler.ru)

**Салафутдинов Ильнур Ильдусович** – кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры генетики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: [sal.ilnur@gmail.com](mailto:sal.ilnur@gmail.com)

**Ризванов Альберт Анатольевич** – доктор биологических наук, заведующий кафедрой генетики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: [rizvanov@gmail.com](mailto:rizvanov@gmail.com)

**Челышев Юрий Александрович** – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, Казанский государственный медицинский университет; профессор Института физики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: [chelyshev-kzn@yandex.ru](mailto:chelyshev-kzn@yandex.ru)

\* \* \*

## **CORRELATION BETWEEN STRUCTURE PARAMETERS AFTER CELL TRANSFECTION GENE THERAPY OF SPINAL CORD INJURY IN RATS**

*G.F. Shaimardanova, Ya.O. Mukhamedshina, I.I. Salafutdinov,  
A.A. Rizvanov, Yu.A. Chelyshev*

### **Abstract**

The efficiency of the immediate transplantation of the mononuclear human umbilical cord blood cells transfected by pBud-VEGF-FGF2 plasmid and that of the direct injection of the same plasmid into the damaged area were compared using the model of adult rat spinal cord contusion at the T8 level. The main objectives of the work were to reveal correlations between morphometry data in the damaged area and to estimate the number of PDGF $\beta$ R<sup>+</sup>-cells under the local gene delivery of neurotrophic and angiogenic *vegf* and *fgf2* factors by cell carriers or by direct gene therapy. A negative linear dependence was established between the number of myelin fibers and the total area of pathological cavities after umbilical cord blood cells transfected by pBud-VEGF-FGF2 plasmid were transplanted. No such correlation was observed in experiments with direct plasmid injection, but at the same time the number of



PDGF $\beta$ R<sup>+</sup>-cells was increased by 24% compared to the animals treated by transfected cells. It was revealed that a weak correlation persists between the number of myelin fibers and the area of saved white matter at a 5-mm distance from the epicenter of the trauma but does not at 3 mm, both after direct and cell-mediated gene therapy. Direct gene therapy more effectively prevents the formation of pathological cavities in contrast to gene delivery by cell carriers.

**Keywords:** spinal cord, regeneration, umbilical cord blood cells, VEGF, FGF2.

#### References

1. Graumann U., Ritz M.F., Hausmann O. Necessity for re-vascularization after spinal cord injury and the search for potential therapeutic options. *Curr. Neurovasc. Res.*, 2011, vol. 8, no. 4, pp. 334–341.
2. Qiang H., Zhang C., Shi Z., Ling M. Neuroprotective effects of recombinant adeno-associated virus expressing vascular endothelial growth factor on rat traumatic spinal cord injury and its mechanism. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2012, vol. 26, no. 6, pp. 724–730. (In Chinese)
3. Facchiano F., Fernandez E., Mancarella S., Maira G., Miscusi M., D'Arcangelo D., Cimino-Reale G., Falchetti M.L., Capogrossi M.C., Pallini R. Promotion of regeneration of corticospinal tract axons in rats with recombinant vascular endothelial growth factor alone and combined with adenovirus coding for this factor. *J. Neurosurg.*, 2002, vol. 97, no. 1, pp. 161–168.
4. Grumbles R.M., Sesodia S., Wood P.M., Thomas C.K. Neurotrophic factors improve motoneuron survival and function of muscle reinnervated by embryonic neurons. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2009, vol. 68, no. 7, pp. 736–746.
5. Jordan P.M., Ojeda L.D., Thonhoff J.R., Gao J., Boehning D., Yu Y., Wu P. Generation of spinal motor neurons from human fetal brain-derived neural stem cells: role of basic fibroblast growth factor. *J. Neurosci. Res.*, 2009, vol. 87, no. 2, pp. 318–332.
6. Fahmy G.H., Mofteh M.Z. FGF-2 in astroglial cells during vertebrate spinal cord recovery. *Front. Cell. Neurosci.*, 2010, vol. 4, P. 129.
7. Kang C.E., Tator C.H., Shoichet M.S. Poly(ethylene glycol) modification enhances penetration of fibroblast growth factor 2 to injured spinal cord tissue from an intrathecal delivery system. *J. Control. Release*, 2010, vol. 144, no. 1, pp. 25–31.
8. Chelyshev Yu.A., Mukhamedshina Ya.O., Shaimardanova G.F., Nikolaev S.I. Direct delivery of therapeutic genes for stimulating post-traumatic neuroregeneration. *Nevrolog. vestn.*, 2012, vol. 64, no. 1, pp. 75–83. (In Russian)
9. De Laporte L., des Rieux A., Tuinstra H.M., Zelivyanskaya M.L., De Clerck N.M., Postnov A.A., Pr eat V., Shea L.D. Vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor 2 delivery from spinal cord bridges to enhance angiogenesis following injury. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2011, vol. 98, no. 3, pp. 372–382.
10. Shaimardanova G.F., Mukhamedshina Ya.O., Arkhipova S.S., Salafutdinov I.I., Rizvanov A.A., Chelyshev Yu.A. Post-traumatic changes in rat spinal cord after transplantation of mononuclear human umbilical cord blood cells modified by *vegf* and *fgf2* genes. *Morfologiya*, 2011, vol. 140, no. 6, pp. 36–42. (In Russian)
11. Shaimardanova G.F., Mukhamedshina Ya.O., Rizvanov A.A., Salafutdinov I.I., Chelyshev Yu.A. The effect of transplantation of mononuclear human umbilical cord blood cells expressing VEGF and FGF2 in the area of traumatic damage of rat cord. *Morfologiya*, 2012, vol. 142, no. 4, pp. 31–36. (In Russian)
12. Rizvanov A.A., Kiyasov A.P., Gaziziov I.M., Yilmaz T.S., Kaligin M.S., Andreeva D.I., Shafigullina A.K., Guseva D.S., Kiselev S.L., Matin K., Palot s A., Islamov R.R. Human umbilical cord blood cells transfected with VEGF and L(1)CAM do not differentiate into neurons but transform into vascular endothelial cells and secrete neuro-trophic factors to support neuro-genesis – a novel approach in stem cell therapy. *Neurochem. Int.*, 2008, vol. 53, no. 6–8, pp. 389–394.
13. Salafutdinov I.I., Shafigullina A.K., Yalvach M.E., Kudryashova N.V., Lagarkova M.A., Shutova M.V., Kiyasov A.P., Islamov R.R., Rizvanov A.A. The effect of simultaneous expression of different isoforms of vascular endothelial growth factor (VEGF) and the main fibroblast growth factor (FGF2) on the proliferation of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). *Kle-tochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*, 2010, vol. 5, no. 2, pp. 62–67. (In Russian)

14. Fitch M.T., Doller C., Combs C.K., Landreth G.E., Silver J. Cellular and molecular mechanisms of glial scarring and progressive cavitation: in vivo and in vitro analysis of inflammation-induced secondary injury after CNS trauma. *J. Neurosci.*, 1999, vol. 19, no. 19, pp. 8182–8198.

Received  
October 22, 2012

---

**Shaimardanova Gulnara Ferdinantovna** – PhD in Biology, Research Fellow, Laboratory of Molecular Foundations of Pathogenesis, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Research Center of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia.

E-mail: [gulnara\\_kzn@rambler.ru](mailto:gulnara_kzn@rambler.ru)

**Mukhamedshina Yana Olegovna** – Assistant Lecturer, Department of Histology, Cytology and Embryology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia.

E-mail: [yanakazmedhist1@rambler.ru](mailto:yanakazmedhist1@rambler.ru)

**Salafutdinov Ilnur Ildusovich** – PhD in Biology, Research Fellow, Department of Genetics, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [sal.ilnur@gmail.com](mailto:sal.ilnur@gmail.com)

**Rizvanov Albert Anatolevich** – Doctor of Biology, Head of the Department of Genetics, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [rizvanov@gmail.com](mailto:rizvanov@gmail.com)

**Chelyshev Yurii Aleksandrovich** – Doctor of Medicine, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Kazan State Medical University; Professor, Institute of Physics, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [chelyshev-kzn@yandex.ru](mailto:chelyshev-kzn@yandex.ru)