

© Группа авторов, 2005

Гистоморфометрические характеристики популяций ганглионарных нейронов в отдаленный период после нейротомии и восстановительной операции у собак

В.И. Шевцов, Н.А. Щудло, И.В. Борисова, М.М. Щудло, Р.В. Панфилов, Т.Н. Варсегова

The histomorphometric characteristics of ganglionic neuron populations in the long-term period after canine neurotomy and restorative surgery

V.I. Shevtsov, N.A. Chtchoudlo, I.V. Borisova, M.M. Chtchoudlo, R.V. Panfilov, T.N. Varsegova

Федеральное государственное учреждение науки
«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" имени академика Г.А. Илизарова
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Курган
(директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

У двух взрослых беспородных собак выполнено пересечение седалищного нерва на уровне средней трети бедра и первичная микрохирургическая нейрорафия. Через 12 месяцев после операции методами световой микроскопии и компьютерной морфометрии изучены нейроны их ганглиев L5, L6, L7 в сопоставлении с аналогичными данными по четырем неоперированным собакам. В результате исследований отработана методика типирования А и В-нейронов в криостатных срезах, уточнены светооптические качественные характеристики А1 и А2-подтипов, определены размерные диапазоны типов ганглионарных нейронов и получены данные о соотношении А и В-типов в поясничных ганглиях интактных собак. У оперированных животных в популяции А-нейронов средние диаметры ядра и ядрышка меньше интактных на 4 % и на 2 % соответственно, однако на 19 % (статистически достоверно) уменьшена средняя площадь перикарионов. В популяции В достоверно, но незначительно (на 10 %) уменьшена средняя площадь перикарионов, а средние диаметры ядра и ядрышка уменьшены на 8 % ($p < 0,05$). Сравнение численных долей А и В-нейронов, частоты реактивных изменений и морфометрических характеристик с соответствующими параметрами ганглиев интактных собак свидетельствует, что через 12 месяцев после повреждения и первичной восстановительной операции снижение структурно-функциональной активности более выражено в популяции А-клеток. Наряду с увеличением частоты премортальных изменений нейронов популяции А это приводит к выводу, что в отдаленные сроки после операции гибель В-нейронов замедляется и доминирует потеря А-нейронов. Результаты, полученные на небольшом числе животных, носят предварительный характер, но заставляют коренным образом пересмотреть подходы к нейротропной терапии у пациентов с травмами периферических нервов.

Ключевые слова: чувствительные ганглии, А и В-нейроны, аксотомия, регенерация нерва.

Neurotomy of the sciatic nerve at the level of the femoral middle third and primary microsurgical neurorrhaphy were performed in 2 adult mongrel dogs. The neurons of their ganglia L5, L6, L7 were studied 12 months after surgery in comparison with the similar data of 4 non-operated dogs using the methods of light microscopy and computer morphometry. The study resulted in perfecting the technique of neurons A and B typing in cryostat sections, verifying the light-and-optical qualitative characteristics of A1 and A2 subtypes, determining the size ranges of the types of ganglionic neurons and obtaining the data about the ratio of A and B types in the spinal ganglia of intact dogs. As for the animals operated on, in their population of A-neurons the mean diameters of nucleus and nucleolus were 4% and 2% less (respectively) than those of intact animals, however, the mean area of perikaryons was 19% less (statistically reliably). In B population the mean area of perikaryons was reliably but slightly (10%) less and the mean diameters of nucleus and nucleolus were 8% less ($p < 0,05$). The comparison of numerical proportions of A and B neurons, frequency of reactive changes and morphometric characteristics with the appropriate parameters of intact dog ganglia demonstrated that 12 months after damage and primary restorative surgery the decrease of structural-and-functional activity was more marked in the population of A-cells. Together with the increase of the frequency of the premortal changes in population A neurons this contributes to come to the conclusion that in the long-term periods after surgery the destruction of B-neurons slows down and A-neuron loss dominates. Though the results obtained in a small number of animals are preliminary, they make to reconsider radically the approaches to neurotropic therapy in patients with injuries of peripheral nerves.

Keywords: sensitive ganglia, A and B neurons, axotomy, nerve regeneration.

По данным последних лет [5], только в Европе несколько сотен тысяч человек в год получают повреждения периферических нервов. Несмотря на высокий уровень хирургической техники восстановительных операций в европейских странах, результативность их нередко раз-

очаровывает врачей и пациентов. Многие авторы считают, что основной причиной неудовлетворительного восстановления чувствительности является посттравматический апоптоз первичных афферентных нейронов. По мнению M.J. Groves et al. [4], после периферической ак-

сотомии количество чувствительных нейронов в спинномозговых узлах уменьшается не более, чем на 20 %; другие авторы [12] приводят существенно отличающиеся данные: через 32 недели после повреждения седалищного нерва крысы погибает около 37 % чувствительных нейронов. Независимо от уровня периферической аксотомии гибель ганглионарных нейронов В-типа начинается раньше и протекает значительно интенсивнее [12, 13]. Сведения о морфофункциональных характеристиках выживших нейронов весьма противоречивы. По мнению M.R. Raffe [11], с 10-го по 20-й день после повреждения нерва регенерационная гипертрофия

биосинтетического аппарата приводит к увеличению размеров нейронов. По данным T. Tapdip et al. [12], нейроны обоих типов уменьшаются в размерах, но только на отдельных сроках наблюдения это изменение статистически значимо.

Сказанное определяет актуальность изучения морфофункциональных характеристик выживших нейронов у разных видов животных в отдалённый период регенерации после периферической аксотомии и восстановительной операции. С этой целью нами выполнено пилотное исследование на шести взрослых беспородных собаках в возрасте от 1 до 3 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

У двух собак под внутривенным барбитуровым наркозом выполнено пересечение седалищного нерва на уровне средней трети бедра и первичная микрохирургическая эпинеуральная нейрорафия. Материал для морфологического исследования (спинальные ганглии L5-L7 оперированной и контралатеральной стороны) взят через 12 месяцев после операции. В качестве контроля исследованы ганглии четырёх неоперированных собак. Животных выводили из опыта передозировкой барбитуратов, в процессе ламинэктомии применялась префиксация *in situ*, а после иссечения материала – погружная фиксация охлажденной смесью 2 % растворов глутарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением 0,1 % пикриновой кислоты. На следующие сутки после эвтаназии ганглии препарировали микрохирургическими инструментами фирмы Aescular под бинокулярным стереомикроскопом и острым лезвием вырезали кусочки для криотомирования. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали толуидиновым синим по методикам Романовского-Гимза, Живаго и Эйнарсона, небольшую

часть материала от интактных животных импрегнировали серебром и докрашивали гематоксилином. Препараты изучали и фотографировали, используя большие исследовательские микроскопы фирмы «Opton» (ФРГ). Для оцифровки изображений и количественного исследования использовали аппаратно-программный комплекс «ДиаМорф» (Москва). С каждого ганглия исследовали от 6 до 12 ортотропных срезов. Морфометрировали изображения всех ядрышкодержащих профилей нейронов с хорошо выраженным контуром кариолеммы (инструментальное увеличение 500×). Статистические гипотезы проверяли применением точного критерия Фишера в дольном выражении с использованием преобразования Стирлинга для подсчёта искомой вероятности, двухвыборочного t-теста, предоставляемого программой Microsoft Excel 97, непараметрического W-теста Вилкоксона для независимых выборок с помощью NP-модуля программного обеспечения анализа и обработки данных AtteStat.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В процессе микроскопии полученного материала установлено, что наиболее элективное выявление телец Ниссля и структур ядра в криостатных срезах чувствительных нейронов удаётся при окраске толуидиновым синим. Обращая внимание на характер базофильного окрашивания нейроплазмы у интактных и оперированных собак (рис. 1), удаётся уверенно выделить клетки типа А – в соответствии с критериями, известными из литературы [7, 8, 12, 13]; прочие клетки с более интенсивной, пылевидной или гомогенной базофилией мы отнесли к типу В.

У двух интактных животных типы А и В имели чёткое разграничение по размерным характеристикам (например, в ганглии L7 к типу А можно было отнести абсолютно все нейроны

более 46 мкм, а в ганглии L5 – более 50 мкм в диаметре). У двух других интактных и у обеих оперированных собак от 3 до 5 % нейронов подвергаются перекалибровке. Как правило, в таких нейронах можно отметить признаки реактивных или компенсаторно-приспособительных изменений: например, некоторые нейроны типа В попадают в размерный диапазон А-клеток при увеличении площади перикариона (внутриклеточной гипертрофии) либо отдельные нейроны типа А с ангулярными контурами и признаками конденсации цитоплазмы оказываются в размерном диапазоне В. В интактном материале среди нейронов типа А обнаруживались клетки с относительно равномерным расположением базофильных телец по площади среза клетки (рис. 2, А) либо с преимущественно перинукле-

арным расположением и практически полным отсутствием их по периферии цитона (рис. 2, Б). При импрегнации серебром выявлялись соответствующие им разновидности с равномерным распределением металлофилии (рис. 2, В) и усилением металлофилии по периферии цитона (рис. 2, Г).

У животных опытной группы в ганглиях оперированной стороны практически не встречались нейроны с отсутствием базофилии по периферии клетки.

У интактных собак доли А и В-клеток в ганглии L6 также практически равны, однако в ганглии L7 и особенно L5 выше доля В-клеток (табл. 1). Относительное содержание А и В-клеток в контралатеральных ганглиях оперированных животных мало отличается от интактных. На оперированной стороне в ганглиях L5 и L7 снижена доля В-клеток, а в ганглии L6 – доля А-клеток.

Применение точного критерия Фишера для определения статистической значимости отличий параметров интактных и оперированных

собак даёт $p > 0,05$ для ганглиев L5 и L6 и $p \approx 0$ для ганглия L7. То есть, только для ганглия L7 статистически высокозначимо отличие относительного содержания А и В-клеток. С большой долей вероятности это можно связать с тем, что у собак именно ганглии L7 содержат нейроны, относящиеся исключительно к пулу седалищного нерва. В L5 и L6 присутствуют нейроны ещё и бедренного нерва, который в данных опытах не был повреждён и оперирован.

Сопоставим морфометрические характеристики А и В-клеток седьмого поясничного ганглия у интактных и оперированных собак (табл. 2). В популяции А средние диаметры ядра и ядрышка меньше интактных всего на 4 % и на 2 % соответственно – статистически незначимо, однако на 19 % (статистически достоверно) уменьшена средняя площадь перикарионов. В популяции В хотя и достоверно, но весьма незначительно (на 10 %) уменьшена средняя площадь перикарионов, а средние диаметры ядра и ядрышка уменьшены на 8 % ($p < 0,05$).

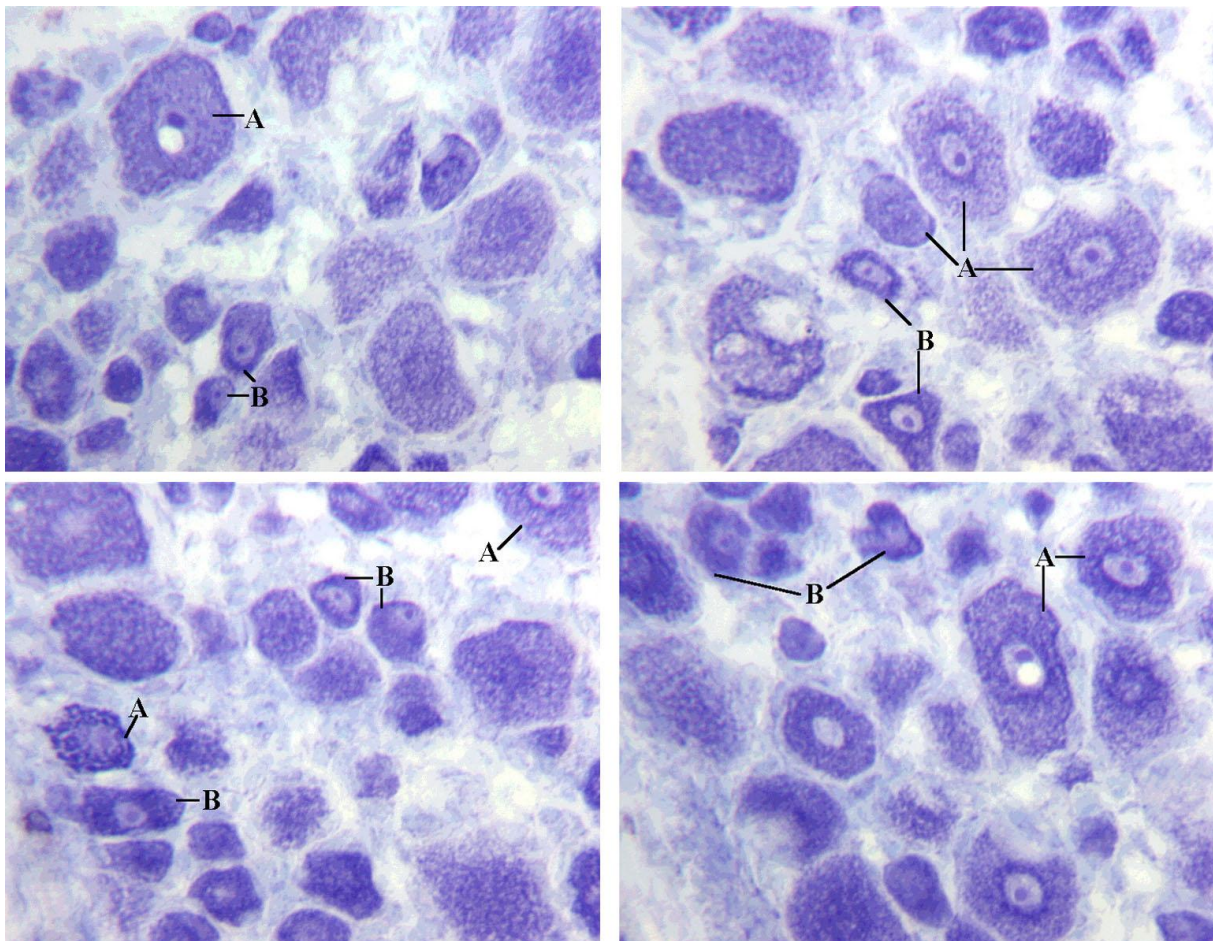


Рис. 1. Типирование нейронов в ганглии L6 оперированной стороны. 12 месяцев после нейротомии и микрохирургической нейрорафии седалищного нерва. Продольный криостатный срез. Окраска толуидиновым синим. А – нейроны типа А; В – нейроны типа В. Инструментальное увеличение 200х

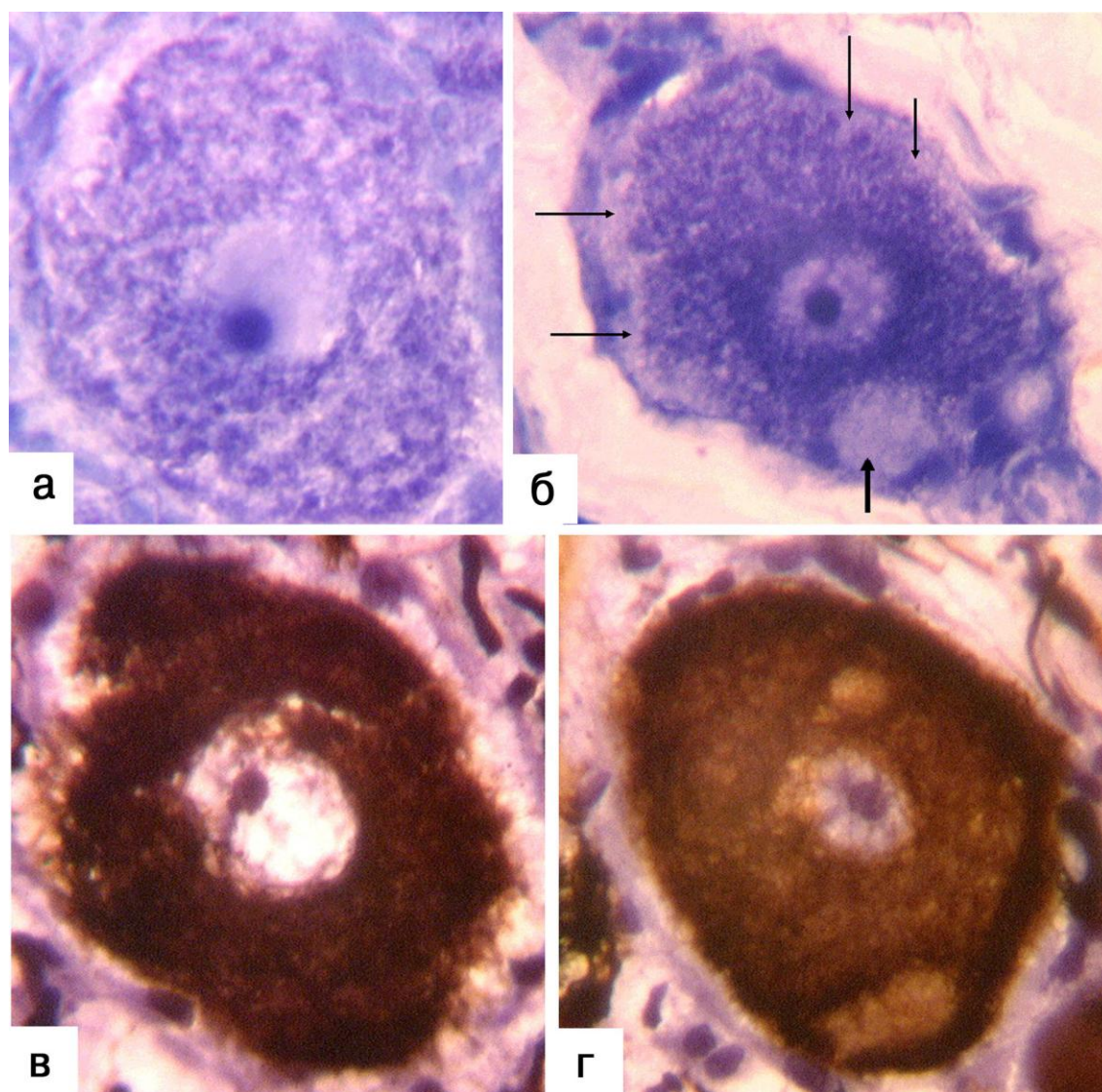


Рис. 2. Варианты распределения базофилии и металлофилии в ганглионарных А-клетках intactных собак. А – нейрон с равномерным распределением базофильных телец в цитоплазме и эксцентрично расположенным ядрышком. Б – базофилия выражена в основном перинуклеарно и отсутствует по периферии клетки (тонкие стрелки); "очаговый периферический хроматолиз" (толстая стрелка). В – нейрон с равномерным распределением металлофилии; Г – нейрон с усилением металлофилии по периферии цитона. Криостатные срезы, окраска толуидиновым синим (А, Б), импрегнация серебром с докраской гематоксилином (В, Г). Инструментальное увеличение 500х

Таблица 1
Относительное содержание нейронов А и В-типов в поясничных ганглиях с репрезентацией афферентов седалищного нерва у intactных и оперированных животных

Группа ганглиев	Ганглий					
	L5		L6		L7	
	А	В	А	В	А	В
Intactных животных	38,6%	61,4%	51,9%	48,1%	43,1%	56,9%
Оперированной стороны	42,2%	57,8%	46,6%	53,4%	60,2%	39,8%
Контралатеральные	34,5%	65,5%	51,2%	48,8%	-	-
Результат тетрахорического тестирования параметров intactных и оперированных собак	$p \approx 0,100259$		$p \approx 0,201897$		$p \approx 0$	

Таблица 2
Планиметрические характеристики нейронов ганглия L7 у оперированных и intactных животных

Группа	Средний диаметр нейрона		Средний диаметр ядра		Средний диаметр ядрышка		Средняя площадь перикариона	
	А	В	А	В	А	В	А	В
Опер	61,6±1,3	30,9±1,1	23,6±0,5	15,1±0,4	6,2±0,1	4,4±0,1	2634±120	608±52
Intакт	67,7±2,2	33,3±0,07	24,6±0,6	16,5±0,3	6,3±0,1	4,8±0,1	3253±232	677±31
Опер/интакт × 100%	91 %	93 %	96 %	92 %	98 %	92 %	81 %	90 %
Интервал р-значения	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Данные таблицы 3 позволяют видеть, что популяция В-клеток по частоте качественных изменений мало отличается от интактной: наиболее значительно отличие по признаку "частота ангулярных контуров цитона", но даже оно оказывается статистически недостоверным (по результатам точного теста Фишера $p \approx 0,135335$). Однако повышение, хотя и статистически недостоверное, частоты эктопии ядер и статистически значимое увеличение частоты эксцентричных ядрышек в А-нейронах оперированных животных вероятно следует трактовать как реактивное изменение.

При микроскопии А-нейронов с эктопированными ядрами создаётся впечатление увеличения размеров цитона, декомпозиции базофильных телец в его центре. Эктопированные ядра, как правило, менее конденсированы по сравнению с центрально расположенными, а

ядрышко в них часто увеличено. Совокупность перечисленных признаков укладывается в хорошо известную картину центрального хроматолиза.

Локальная декомпозиция базофильных телец ("очаговый периферический хроматолиз"), встречалась чаще в нейронах ганглия L7 интактных собак, чем оперированных, причём чаще в А-, нежели в В-клетках. Следует обратить внимание на то, что в популяции А-нейронов оперированных животных по сравнению с интактными на 5 % ($p \approx 0,033373$) увеличена доля клеток с ангулярными контурами. В срезе такие клетки имеют форму треугольников, ромбов, реже шестиугольников; создаётся впечатление конденсации их цитоплазмы, некоторые из них имеют резко базофильное конденсированное ядро. Других характерных морфологических признаков апоптоза [10] встретить не удалось.

Таблица 3

Частота структурных особенностей и реактивных изменений в разных типах нейронов спинального ганглия L7 у интактных и оперированных собак

Признак	Неоперированные собаки		Опыт	
	А	В	А	В
Эктопия ядра	0,9 %	2,7 %	1,7 %	1,7 %
Эктопия ядрышка	5,4 %	14,4 %	16,1 %	16,9 %
Центральный хроматолиз	0	0	1,7 %	0
"Очаговый периферический хроматолиз"	10,8 %	0,9 %	3,4 %	0
Ангулярные контуры цитона	0,9 %	5,4 %	5,9 %	8,5 %
Вакуолизация ядра	0	0	2,0 %	0,8 %
Вакуолизация цитоплазмы	1,8 %	0,9 %	0,8 %	1,7 %
Цитоплазматические включения (липофусцин)	2,7 %	0	2,5 %	0
Изменения формы ядра	0	0,9 %	0	0,8 %

ОБСУЖДЕНИЕ

Функционально нейроны спинальных ганглиев гетерогенны, поскольку трансформируют афферентные сигналы разных рецепторных модальностей: тактильной, температурной, ноцицептивной и проприоцептивной [8]. В начале прошлого века делались попытки морфологической типизации нейронов по тинкториальным свойствам. По мнению А.Р. Lieberman [7], большинство этих классификаций являются "эзотерическими", а М.В. Войно-Ясенецкий и Ю.М. Жаботинский [1] подчёркивали, что способность нейронов к окрашиванию в значительной мере определяется факторами артефициального характера и посмертными изменениями. Однако приведённое у А.А. Заварзина и С.И. Щелкунова [2] подразделение ганглионарных нейронов на светлые и тёмные было подтверждено в исследованиях J.-H. Scharf (1958) и К.Н. Andres (1961), назвавших их типами А и В [цит. по 7, стр. 219]. Эта классификация получила широкое признание [8, 12, 13], поскольку было установлено, что нейроны А и В различаются не только тинкториальными свойствами и размерными характеристиками, но также деталями ультраструктуры, строением отростков, биохими-

ческими свойствами.

В нашем материале на светооптическом уровне наряду с типами А и В у интактных собак различимы разновидности А-нейронов: с равномерным распределением базо- и металлофильных структур; с ослаблением базофилии и усилением металлофилии по периферии цитона, что, по-видимому, обусловлено сосредоточением в этой зоне главным образом элементов цитоскелета. Данное предположение согласуется с выводами специального исследования О.С. Сотникова и др. [3]. Экстримы распределения базофилии в А-нейронах выявляются у других видов животных в окрашенных толудиновым синим полутонких срезах [7]. Они соответствуют ультраструктурным подтипам А1 и А2, которые, по данным J.M. Jacobs [цит. по 7], различаются ультраструктурно по представительству и распределению аппарата Гольджи, гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР), свободных рибосом, нейрофиламентов. По данным литературы, у мышевидных грызунов [7] численные доли А и В-типов ганглионарных нейронов приблизительно равны. В на-

шем материале у всех четырех интактных собак выявлены незначительные различия ганглиев L5, L6, L7 по этому параметру. Его отличия от интактного материала у двух оперированных собак однонаправленны, невелики и статистически значимы только для ганглия L7. В комплексе с данными планиметрических исследований и результатами полуколичественной оценки качественных изменений нейронов типа А и В они заставляют предположить, что, несмотря на некоторое преобладание утраты нейронов типа В, к 12 месяцам после операции этот тип нейронов обладает меньшими отличиями от интактной нормы, чем популяция А. Анализ причин изменений размерных характеристик ядер и ядрышек в В-нейронах требует дополнительных исследований на большем количестве животных. Следует также отметить, что через 12 месяцев после повреждения нерва и восстановительной операции представительство клеток, которые находятся в состоянии денервационной атрофии и необратимых реактивных изменений, более значительно в популяции А по сравнению с популяцией В. Отсутствие сопоставления с интактным материалом считается одним из главных источников неправильной интерпретации морфологических изменений нейронов [1], поэтому мы анализировали структурные особенности и реактивные изменения нейронов путём сопоставления частоты качественных признаков у оперированных и интактных собак. Это позволило дифференцированно оценить структурные особенности и реактивные изменения. О том, что тёмные нейроны с ангулярными контурами довольно-таки часто встречаются в нормальных интактных ганглиях разных видов животных, писали многие авторы [цит. по 7]. Высокая частота эктопии ядрышек в В-клетках

седьмого поясничного ганглия у неоперированных и оперированных собак, по-видимому, также должна интерпретироваться как их структурная особенность, а не патологическое изменение, поскольку, по данным литературы [7], в ганглиях грудного отдела мышевидных грызунов, кошек и зайцеобразных частота этого признака во всех нейронах варьирует от 50 до 100 %. В единичных работах в качестве реактивного изменения нейронов спинальных ганглиев рассматривается периферический хроматоллиз. Так, частота "глобулярных и сфероидальных" хроматолитических образований, которые ультраструктурно соответствуют расширениям цистерн ГЭР, аккумуляциям нейрофиламентов и липидным каплям, выше у животных, перенесших субперинеуральную инъекцию алюминий-содержащего раствора, по сравнению с интактными животными [6]. В нашем материале этот признак преобладал в популяции А у интактных собак и практически не встречался у оперированных. Вероятно, он отражает структурно-функциональную активность нормальных нейронов, их участие в самовосстановлении мембранных структур, цитоскелетных протеинов, органелл, синтезе и секреции нейротрансмиттеров. Это предположение хорошо подтверждается тем, что у нейронов с "периферическим хроматоллизом", как правило, отмечается звёздообразная конфигурация хроматина в ядре, что считается [1] признаком высокой функциональной активности ядрышка. Следовательно, снижение частоты рассматриваемого признака у оперированных животных можно трактовать как показатель сниженной структурно-функциональной активности нейронов, о чём также свидетельствует уже рассмотренное достоверное уменьшение средней площади перикариона.

ВЫВОДЫ

1. Изменения относительного содержания нейронов А и В типов в спинальных ганглиях L5-L7 у собак через 12 месяцев после нейротомии и восстановительной операции по сравнению с неоперированными животными указывают на то, что преобладание потери нейронов В-типа характерно лишь для определённого этапа регенерации.

2. Сопоставление частоты реактивных изменений и морфометрических характеристик нейронов А и В-типов с интактным материалом свидетельствует, что через 12 месяцев после повреждения и первичной восстановительной операции снижение структурно-функциональной активности более выражено в популяции А-клеток. Наряду с увеличением частоты премортальных изменений нейронов популяции А это заставляет предположить, что в отдалённые сроки после операции гибель В-нейронов замедляется и до-

минирует потеря А-нейронов.

3. Полученные данные об изменениях выживших нейронов в отдалённые сроки после повреждения нерва и восстановительной операции формируют представление о необходимости разработки и применения более специфической и длительной, чем это принято в настоящее время, нейротропной терапии у пациентов с травмами периферических нервов.

4. Разработанный в данном исследовании алгоритм оценки гистоморфометрических характеристик популяций нейронов, сочетающий количественные и полуколичественные параметры, может быть эффективно использован для сравнительных исследований результативности различных экспериментально моделируемых хирургических и терапевтических стратегий в лечении травм нервных стволов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Войно-Ясенецкий, М. В. Источники ошибок при морфологических исследованиях / М. В. Войно-Ясенецкий, Ю. М. Жаботинский. - Л. : Медицина, 1970. - 319 с.
2. Заварзин, А. А. Руководство по гистологии / А. А. Заварзин, С. И. Щелкунов. - М. : Медгиз, 1954.- 700 с.
3. Морфометрия переживающих и импрегнированных солями тяжёлых металлов нервных волокон / О. С. Сотников [и др.] // Арх. анат. - 1978.- Т. 94, № 5.- С. 57-62.
4. Axotomy-induced apoptosis in adult rat primary sensory neurons / M. J. Groves [et al.] // J. Neurocytol. - 1997. - Vol. 26, No 9. - P. 615-624.
5. Systemic acetyl-L-carnitine eliminates sensory neuronal loss after peripheral axotomy : a new clinical approach in the management of peripheral nerve trauma / A. Hart [et al.] // Experimental Brain Research. - 2002. - Vol. 145, No 2. - P. 182-189.
6. Aluminum-induced model of motor neuron degeneration: subperineurial injection of aluminum in rabbits / T. Kihira [et al.] // Neurotoxicology, 1995.- V. 16, № 3.- P. 413-424.
7. Lieberman, A. R. Sensory ganglia / A. R. Lieberman // Peripheral Nerve / ed. D. N. S. Landon. - Halsted Press, 1976. - P. 189-277.
8. Lawson, S. N. Morphological and biochemical cell types of sensory neurons / S. N. Lawson // Sensory neurons : diversity, development and plasticity / ed. S. A. Scott. - New York : Oxford Univ. Press, 1992. - P. 27-59.
9. Neurogenesis in postnatal mouse dorsal root ganglia / M. P. Namaka [et al.] // Experimental Neurology. - 2001. -Vol. 172. - P. 60-69.
10. Oliveira, A. L. R. Apoptosis of sensory neurons and satellite cells after sciatic nerve transection in C57BL/6J mice / A. L. R. Oliveira // Braz. J. Med. Biol. Res. - 2001. - Vol. 34, No 3. - P. 375-380.
11. Raffe, M. R. Peripheral nerve injuries in the dog. Part II. / M. R. Raffe // Compendium on Continuing Education for the Small Animal Practitioner. - 1979. - Vol. 1. - P. 269-276.
12. Tandrup, T. Delayed loss of small dorsal root ganglion cells after transection of the rat sciatic nerve / T. Tandrup, C. J. Woolf, R. E. Coggeshall // J. Comp. Neurol. - 2000. - Vol. 422, No 2. - P. 172-180.
13. Vestergaard, S. Effect of permanent axotomy on number and volume of dorsal root ganglion cell bodies / S. Vestergaard, T. Tandrup, J. Jakobsen // J. Comp. Neurol. - 1997. - Vol. 388, No 2. - P. 307-312.

Рукопись поступила 20.08.04.