
ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ФИБРОБЛАСТАХ ЭНДОНЕВРИЯ

© 2025 г. Е. С. Петрова¹ *, Е. А. Колос¹

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: iempes@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.04.2025 г.

После доработки 02.05.2025 г.

Принята к публикации 03.05.2025 г.

Целью настоящего обзора явилось обобщение современных представлений о фибробластах эндонеурия периферических нервных проводников и их роли в репаративной регенерации нерва. Наряду со шванновскими клетками и макрофагами фибробласты являются основными по функциональной значимости клетками эндонеурия. В литературе имеется мало сведений об особенностях фибробластов и их роли в регенерации поврежденных нервных проводников. В обзоре представлены данные последних лет о морфофункциональных особенностях фибробластов эндонеурия, их происхождении в онтогенезе и их функциях. Дана характеристика иммуногистохимических маркеров, используемых для их идентификации. Подчеркивается необходимость исследования взаимодействий фибробластов с другими клетками нерва для выяснения их роли в регенерации нервных проводников после повреждения.

Ключевые слова: нерв, эндоневрий, фибробласты, регенерация, иммуногистохимия

DOI: 10.31857/S0869813925070012, **EDN:** MVGLDI

ВВЕДЕНИЕ

Механическое повреждение периферических нервных проводников вследствие травм, ушибов и переломов встречается достаточно часто [1–3], хроническая компрессия нервных стволов может наступать также при развитии новообразований. Известно, что по сравнению с нервными проводниками ЦНС периферические нервы обладают более высокими восстановительными потенциями благодаря наличию в них особых глиоцитов периферической нервной системы – шванновских клеток (нейролеммоцитов) (Schwann cells, SCs) [4–8]. На эффективность восстановления поврежденных нервных волокон оказывают влияние взаимодействия SCs с различными структурными элементами нерва: клетками периневральной и эпиневральной оболочек, структурами эндонеурия, белками внеклеточного матрикса. Для выяснения роли различных клеток в восстановлении периферических нервных проводников необходимо проведение углубленных исследований как внутриклеточных механизмов, так и межклеточных коммуникаций, лежащих в основе дегенеративных и репаративных процессов, развивающихся после повреждения [9].

К клеточным элементам эндонеурия интактного нерва наряду с SCs относятся резидентные макрофаги, клетки стенок кровеносных микрососудов (эндотелиоциты, перидциты, гладкомышечные клетки), тучные клетки, фибробласты и др. Шванновские

клетки, впервые описанные немецким исследователем Шванном (1810–1882) в конце XIX века, активно изучаются в течение последних двух десятилетий, о чем свидетельствуют данные многочисленных обзоров [10–16]. Особое внимание исследователи-нейробиологи уделяют изучению периневрия [17–19] и такой важной популяции клеток эндоневрия, как резидентные макрофаги [20–22]. Наименее изученными клетками нерва являются эндоневральные фибробласты. Несмотря на то что они были описаны почти сто лет назад, их происхождение, биологическая роль, участие в развитии патологических процессов по-прежнему неясны [23]. Целью настоящего обзора явилось обобщение имеющихся в современной литературе представлений о фибробластах эндоневрия периферических нервных проводников, их взаимодействиях со шванновскими клетками и их роли в репаративной регенерации нерва.

Фибробласты в нерве

При описании нервного ствола выделяют три отдела: эпиневрий, периневрий и эндоневрий [1, 24, 25] (рис. 1). В отечественной литературе их часто называют оболочками. Фибробласты в периферических нервных проводниках составляют значительную долю всех клеточных элементов, располагаясь во всех оболочках [26, 27]. Показано, что доля фибробластов в разных типах нервов различна и зависит от размеров и плотности распределения нервных пучков [26].

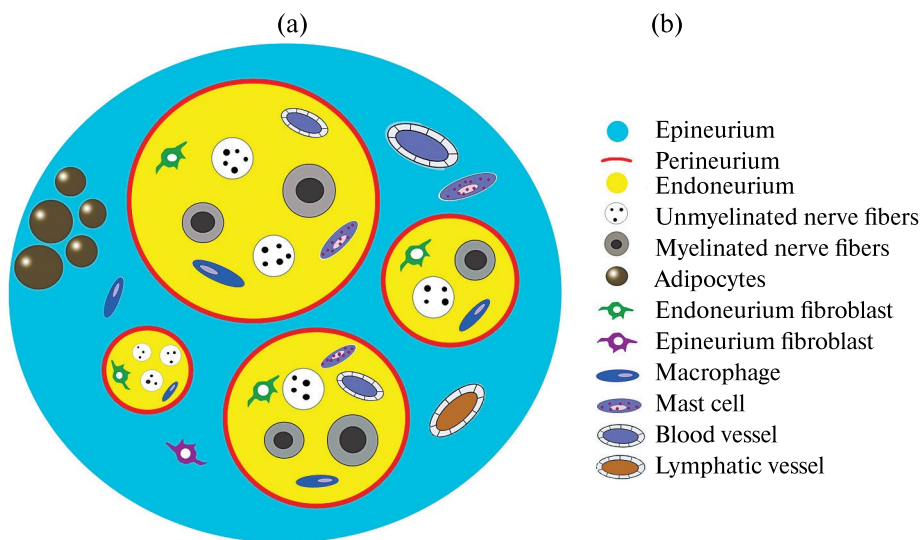


Рис. 1. Схема поперечного среза седалищного нерва крысы.

Для каждого нервного ствола (НС) характерны периневральная и эпиневральная оболочки. НС могут содержать в своем составе несколько нервных пучков. Каждый нервный пучок покрыт периневрием. Эпиневрий представляет собой соединительную ткань, которая окружает нерв снаружи. Если нерв состоит из нескольких НС, различают внутренний и внешний (покрывающий комплекс всех НС) эпиневрий. В состав эпиневральной оболочки входят кровеносные и лимфатические сосуды, коллагеновые и эластические волокна, макрофаги, фибробласты, тучные клетки, адипоциты [1, 19, 24]. Известно, что фибробласты являются его основным клеточным компонентом. Они продуцируют коллагеновые волокна, образующие основу эпинеурия.

Следует отметить, что фибробласты эпинеуральной оболочки являются соединительнотканными клетками, сходными с фибробластами других тканей и органов.

Периневрйй окружает пучки нервных волокон и состоит из специализированных клеток. Именно эти клетки участвуют в формировании гемато-неврального барьера [19, 20]. Перинеуральные клетки соединяются между собой плотными и щелевыми контактами. Слои перинеуральных клеток разделены коллагеновыми фибриллами (коллаген IV типа) [1, 17]. В составе перинеурйя также имеются фибробласты, структурно отличающиеся от перинеуральных клеток отсутствием базальной мембраны. Обеспечивая синтез коллагеновых волокон, фибробласты пери- и эпинеурйя определяют защитную и механическую функции этих оболочек.

В современных исследованиях в интактных нервах описывают несколько популяций фибробластов. Некоторые авторы выделяют две разновидности фибробластов, располагающихся в эпинеурйи (экспрессируют транскрипционные факторы: *Dpt*, *Pcolce2*, *Lybc1*), и две разновидности – в эндонеурйи (*Osr2*, *Sox9*, *Ccl9*) [28]. Другие ученые с помощью секвенирования мРНК обнаружили четыре популяции фибробластов, которые были разделены на эпинеуральные (*PDGFRA* и *PCOLCE2*), перинеуральные (*Itgb4*, *Slc2a1*) и эндонеуральные (*Ccbe1*, *Adams3*) [27]. Считается, что после травмы могут появляться новые подтипы фибробластов [29].

Chen с соавт., используя метод секвенирования РНК отдельных клеток, показал, что как в неповрежденных, так и в поврежденных нервах все клеточные элементы можно функционально классифицировать на четыре категории: SCs, EFs, иммунные клетки (выявлены скопления макрофагов, тучных клеток, естественных клеток-киллеров, Т- и В-лимфоцитов, нейтрофилов) и клетки, связанные с кровеносными сосудами (эндотелиоциты, гладкомышечные клетки сосудов и перициты) [29]. Также в работе подчеркивается, что фибробласты нерва можно подразделить на эпинеуральные, перинеуральные и эндонеуральные. Генетический анализ показал, что EFs наряду с SCs являются двумя наиболее важными типами клеток, способствующими регенерации нервов. Определив ряд маркерных генов для EFs (*Sox9*, *Osr2*, *Pdgfra*, *Cd34*, *Abca9*, *Cdkn2a*, *Cdkn2b* и *Plxdc1*), авторы указали на возможность их использования в будущем для определения типов клеток в неповрежденных и поврежденных периферических нервах.

Настоящий обзор касается главным образом фибробластов эндонеурйя, функция которого состоит в обеспечении благоприятного микроокружения для нервных волокон и их регенерации.

В современных работах эндонеуральные фибробласты (endoneurial fibroblasts (EFs)) [30] нередко называют эндонеуральными фибробластоподобными клетками (endoneurial fibroblast-like cells (EFLCs)) из-за их недостаточной изученности [23, 31]. О том, что в состав периферических нервных проводников входят фибробласты, известно из классических работ исследователей прошлого века [32, 33]. Однако до сих пор вопросы о биологической роли этих клеток и о выполняемых ими функциях носят дискуссионный характер. Это касается и вопроса о происхождении EFs в онтогенезе.

Происхождение фибробластов эндонеурйя в онтогенезе

Известно, что фибробласты – наиболее распространенные клетки соединительной ткани разных органов млекопитающих и человека, основная функция которых заключается в синтезе белков внеклеточного матрикса и коллагена [34]. Что касается эндонеурйя периферических нервных проводников, то в пионерских работах, выполненных в начале прошлого века, его структурные компоненты рассматривались как соединительнотканые производные [33, 35]. По данным Joseph с соавт. [36], фибробласты эндонеурйя представляют собой особую популяцию клеток, источник их происхождения – клетки нервного гребня (neural crest stem cells, NCSCs). Нервный гребень

является эмбриональным зачатком, мультипотентные клетки которого дают начало многим типам клеточных элементов [37–39].

Ранее выполненные электронно-микроскопические исследования срезов седалищного нерва с применением Bluо-Gal (галагенированный индолил- β -галактозид) [36] показали, что эндоневральные фибробласты имеют следующие отличительные особенности: у них нет связи с аксонами и с миелином, отсутствует базальная мембрана и имеются длинные угловатые отростки. Отсутствие базальной пластинки вокруг эндоневральных фибробластов отличает эти клетки от SCs, периневральных клеток и перицитов. При использовании современных методов отслеживания клеточных поколений показано, что, несмотря на описанные структурные отличия, и SCs, и EFs происходят из одного источника – NCSCs [36], а предшественники шванновских клеток (Dhh+CSP) в нерве в онтогенезе способны дифференцироваться и в SCs, и в фибробласты [26, 36]. В последующих исследованиях было сделано предположение, что направление дифференцировки мигрирующих из нервного гребня в нерв предшественников определяется близостью их расположения к аксону. Близкорасположенные – дифференцируются в SCs, другие – в фибробласты [26, 40]. Доля EFs при патологических условиях (нейропатиях) может увеличиваться [31].

Таким образом, в настоящее время показано, что EFs являются производными клеток нервного гребня, у SCs и фибробластов эндоневрия имеется общий предшественник [15, 41]. Сигналы, которые определяют его дифференцировку в фибробласты или незрелые SCs, до конца не ясны. Предположительно они могут включать в себя локальные факторы окружающей среды (включая аксональные), а также коактивацию и/или репрессию транскрипционных программ [15, 41, 42]. Следует отметить, что в эндоневрии периферических нервных проводников может присутствовать несколько субпопуляций фибробластов и фибробластоподобных клеток [43, 44], и их онтогенетическое происхождение может быть различным.

Структурные особенности фибробластов эндоневрия

EFs составляют значительную часть эндоневральных клеток. Они локализуются под периневрием, располагаясь вдоль периневральных клеток, диффузно рассеяны между нервными волокнами и часто встречаются вблизи капилляров [23, 31]. Предположительно они образуют в эндоневрии своеобразную сеть.

Fs имеют звездчатую или веретеновидную форму с небольшим объемом цитоплазмы, с ядром овальной формы, содержащим главным образом эухроматин и небольшое количество гетерохроматина [1]. Веретеновидные клетки на поперечных срезах имеют треугольную или четырехугольную форму. Электронно-микроскопические исследования [23] показали, что EFs обладают длинными цитоплазматическими отростками, которые простираются вдоль нервного ствола. В цитоплазме фибробластов описаны митохондрии, аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум, тонкие внутриклеточные филаменты, клеточная мембрана с инвагинациями, лизосом в EFs интактного нерва мало. Как отмечалось ранее, отсутствие сплошной базальной мембраны вокруг EFs отличает их от SCs, клеток периневрия и перицитов. У некоторых клеток есть реснички, в ряде клеток определяются окаймленные ямки [1].

В настоящее время в литературе высказываются предположения о том, что эндоневральные фибробласты могут являться телоцитами [44]. Действительно, телоциты в нерве порой называют эндоневральными стромальными клетками, эндоневральными фибробластоподобными клетками, эндоневральными дендритными клетками, CD34⁺ эндоневриальными клетками, эндоневриальными мезенхимными клетками и др. [45]. Название “телоциты” применяется с 2010 г. [46–49]. Исследования, выполненные с применением методов культивирования *in vitro*, световой и флуоресцентной микроскопии, просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии, позволили

идентифицировать характерную структурную особенность телоцитов: наличие длинных тонких отростков-телопод, образующих своеобразную сеть в строме органа. Ранее эти клетки называли подобными интерстициальным клеткам Кахаля, поскольку они казались похожими на интерстициальные клетки Кахаля (ICC) желудочно-кишечного тракта. Есть мнение, что телоциты являются мультипотентными предшественниками.

Для настоящего обзора важно подчеркнуть разницу между телоцитами и фибробластами. Телоциты, в отличие от EFs, являются соединительнотканными клетками. Их функции недостаточно изучены. Предположительно они выполняют механическую функцию, участвуют в межклеточной передаче сигналов, в миграции предшественников во время органогенеза, в регенерации тканей и органов [44].

В отличие от EFs, ядро телоцитов, как правило, гетерохроматично. Они имеют небольшой объем цитоплазмы, разнообразную форму, которая зависит от количества телоподий. Количество телоподий может достигать пяти, их длина может доходить до сотен мкм, диаметр – от 0.1 до 0.24 мкм, им свойственны ветвление и образование трехмерных сетей с гетеро- и гомоклеточными соединениями [44, 45]. Учитывая тот факт, что EFs нерва являются предположительно гетерогенной популяцией, некоторые авторы предлагают называть фибробласты с наличием длинных отростков телоцитоподобными клетками [44].

Цитохимическая характеристика фибробластов эндоневрия

Для большинства клеток эндоневрия селективные ИГХ-маркеры хорошо известны. Так, для визуализации SCs применяют антитела к белку S100 β [8], для периневральных клеток – антитела к белку плотных контактов клаудину-1 и к белку-переносчику глюкозы GLUT1 [17], для макрофагов – белок CD68 или кальций-связывающий белок Iba-1 [50, 51]. Все эти маркеры не экспрессируются в фибробластах, что было подтверждено электронно-микроскопически с использованием иммуногистохимии [23].

Считается, что одним из маркеров фибробластов является белок CD105 (эндоглин) [52, 53]. Эндоглин – трансмембранный белок, составная часть рецептора к трансформирующему ростовому фактору бета (transforming growth factor beta, TGF-beta), являющемуся стимулятором ангиогенеза. Авторы отмечают, что CD105 не селективен для фибробластов: он характерен также и для гладкомышечных клеток, и для мезенхимных стволовых клеток (МСК) [52]. Аналогичные данные продемонстрированы в работе Lupatov с соавт. [53], в которой был проведен сравнительный анализ экспрессии поверхностных маркеров на фибробластах и фибробластоподобных клетках, выделенных из различных тканей человека.

Для идентификации фибробластов эндоневрия применялись иммуногистохимические реакции на такие белки, как CD34 и NG2 [31]. Следует отметить, что только при электронно-микроскопическом исследовании эти данные оказываются убедительными. Иммуноэлектронная микроскопия показала присутствие положительной реакции на CD34 на уровне плазматической мембраны EFs интактного нерва человека. Однако в дополнение к фибробластам CD34-положительными являются тучные клетки и эндотелиоциты. Белок NG2 также не является селективным маркером для EFs. Наряду с ними NG2 экспрессируют клетки периневрия. Показано, что половина EFs в интактных нервах экспрессирует рецепторы тромбоцитарного фактора роста (platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFR- β)). Некоторые фибробласты эндоневрия могут экспрессировать белок промежуточных филаментов нестин (однако уровень экспрессии ниже, чем у SCs). При патологии нерва у крыс наблюдается увеличение нестин-положительных EFs [31]. При нарушениях гомеостаза нервного проводника EFs экспрессируют также белок тенасцин-С [31, 54, 55] и секретируют ряд цитокинов и нейротрофических факторов [56].

При иммуногистохимическом исследовании белка щелевых контактов коннексина 43 (Cx43) в структурах периферической нервной системы, в частности в седалищном нерве крысы, выяснилось, что в ранние сроки после травмы в эндоневрии выявляется множество клеток, экспрессирующих Cx43 [57]. По своим структурным особенностям (форме ядер, наличию цитоплазматических отростков) и локализации (располагаются в толще эндоневрия, образуя своеобразную сеть) они могут быть фибробластами или их предшественниками.

Имеющиеся в литературе сведения о маркерах, используемых исследователями для идентификации фибробластов, обобщены в табл. 1.

Таблица 1. Маркеры, используемые для идентификации фибробластов

№ п/п	Название	Характеристика	Специфичность	Источник
1	CD105 (эндоглин)	Трансмембранный белок, составная часть рецептора к трансформирующему ростовому фактору бета, являющемуся стимулятором ангиогенеза	Фибробласты, гладкомышечные клетки, мезенхимные стволовые клетки	[52, 53]
2	CD34	Трансмембранный фосфогликопротеиновый белок, кодируемый геном <i>CD34</i> , гликопротеин клеточной поверхности, молекула межклеточной адгезии, играющая роль на ранних этапах кроветворения	Фибробласты эндоневрия интактного нерва, тучные клетки, телоциты, эндотелиальные клетки, гемопоэтические стволовые клетки	[31, 58, 59]
3	CD90	Гликозилфосфатидилинозит-заякоренный белок суперсемейства иммуноглобулинов, продукт гена <i>THY1</i> , стромальный маркер	Фибробласты в культуре клеток нерва, стволовые клетки	[60]
4	Нейронный/глиальный антиген 2 (Neural/glial antigen 2, или NG2)	Протеогликан интегральной мембраны клеток, участвует в клеточной адгезии, в межклеточной коммуникации и межклеточно-ЕСМ-коммуникации, в миграции и метастазировании, пролиферации и росте аксонов	Фибробласты эндоневрия нерва человека, клетки периневрия, клетки-предшественники олигодендроцитов, хондробласты, миобласты, кардиомиоциты, предшественники перичитов, клетки глиобластомы, меланомы и др. новообразования	[31, 61, 62]

Таблица 1. Продолжение

№№ п/п	Название	Характеристика	Специфичность	Источник
5	Тенасцин-С	Гликопротеин, у человека кодируется геном <i>TNC</i>	Фибробласты эндоневирия при патологии, радиальная глия ЦНС, развивающиеся астроциты и олигодендоциты, клетки нервного гребня, развивающиеся сухожилия, кости и хрящи	[54, 55, 63]
6	Нестин (neuroepithelial stem cell protein)	Белок промежуточных нейрофиламентов VI типа. Кодируется геном <i>NES</i>	Отдельные фибробласты эндоневирия, шванновские клетки при патологии, нейральные стволовые/прогениторные клетки	[31]
7	P4Hb	Бета-субъединица пролил-4-гидроксилазы, фермент, который у человека кодируется геном <i>P4Hb</i>	Фибробласты эндоневирия в культуре, клетки глиом	[31, 64]
8	HSP47	Белок теплового шока (HSP) 47 – гликопротеин, связывающий коллаген массой 47 кДа, локализованный в эндоплазматическом ретикулуме. Маркер коллаген-продуцирующих клеток	Фибробласты эндоневирия в области рубцовой ткани	[65]
9	FAP, белок активации фибробластов α	Интегральный мембранный белок типа II, принадлежащий к семейству мембраносвязанных сериновых протеаз, высокая представленность FAP характерна для процессов регенерации в тканях, фиброза и деградации внеклеточного матрикса фибробластами	Фибробласты опухолей, мезенхимные стволовые клетки	[66, 67]

Таблица 1. Окончание

№№ п/п	Название	Характеристика	Специфичность	Источник
10	Виментин	Виментин – белок промежуточных филаментов соединительных тканей и других тканей мезодермального происхождения	Микроглия, эндотелий, астроциты, фибробласты	[68, 69]
11	Пропил-1,4 гидроксилаза	Основной фермент фибробластов, участвующий в синтезе коллагена	Фибробласты, эндотелий, остеобласты и др.	[48, 70]
12	PDGFR	Рецептор для фактора роста тромбоцитов (PDGF), относится к рецепторам с тирозинкиназной активностью, известны два типа PDGFR: α -тип и β -тип, которые кодируются разными генами, являются белками, регулирующими пролиферацию, дифференцировку, рост клеток и развитие онкологических заболеваний	Фибробласты эндоневрия, нейральные стволовые/прогениторные клетки, нейроны, перicytes	[31, 45, 71]
13	Фибронектин	Гликопротеин внеклеточного матрикса	Фибробласты нерва, эндотелиоциты, миофибробласты, клетки карциномы	[72–75]

Анализ литературы показал, что проблема идентификации фибробластов на основе иммуногистохимического исследования возникла еще в 90-х годах прошлого века. Первые попытки выявлять фибробласты с помощью антител были в значительной степени безуспешными [76]. Это связывали со слабой антигенностью фибробластов и неспецифической природой используемых антигенов [76]. Из данных, представленных в табл. 1, очевидно, что иммуногистохимические маркеры, используемые для идентификации фибробластов в последние годы, также не являются четко селективными и подбираются авторами экспериментальным путем, в основе которого лежат структурные особенности SCs. Как правило, используются такие маркеры, которые нехарактерны другим клеткам эндоневрия (SCs, макрофагам, эндотелиоцитам и др.). Некоторые маркеры первоначально удалось обнаружить благодаря исследованиям, выполненным на культурах фибробластов эндоневрия.

Исследования эндоневральных фибробластов in vitro

Культивирование *in vitro* является удобной моделью для изучения клеток и тканей [77]. Наряду с исследованием репаративной регенерации тканей в эксперименте и/или выяснением их морфофункциональных изменений при патологии, культивирование позволяет изучать гистобластические потенции различных клеток [78]. Используя культуру клеток, полученных после диссоциации трипсином фрагментов седалищного

нерва новорожденных крыс, было показано, что значительную часть клеток нерва составляют фибробластоподобные клетки [79]. Позднее Joseph с соавт. [36] культивировали клетки, полученные из седалищных нервов эмбрионов крысы. Используя антитела к белку S100 β (ИГХ-маркеру SCs) и к β -gal (β -D-galactoside galactohydrolase – фермент, характерный для клеток нервного гребня), авторы предположили, что клетки в культуре, которые оказались S100 β / β -gal⁺, являются фибробластами. Доказательством послужило выяснение ультраструктурных особенностей этих клеток, которые соответствовали характеристикам фибробластов, описанным в настоящем обзоре ранее.

Используя модель культивирования клеток *in vitro*, было установлено, что маркером эндоневральных фибробластов может служить транскрипционный фактор Gli1 [80]. Факторы Gli являются эффекторами передачи сигналов Hh и участвуют в определении судьбы клеток в эмбриогенезе. Данные, полученные *in vitro*, были подтверждены на модели поврежденного лицевого нерва [80]. Установлено, что после повреждения лицевого нерва количество Gli1⁺ клеток увеличивается. Показано, что при транссекции транскрипты Gli1 локализуются совместно с фактором роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor (VEGF-A)) [80]. VEGF-A – сигнальный белок, вырабатываемый клетками для стимулирования васкулогенеза и ангиогенеза.

Следует отметить, что особенностью культур, полученных из тканей нерва, является присутствие в них и SCs, и EFs [31]. Фибробласты в условиях *in vitro* представляют собой уплощенные клетки многоугольной формы с цитоплазматическими отростками и большими круглыми ядрами. SCs в культуре – овальные и веретеновидные клетки с тенденцией к линейности и взаимосвязи друг с другом. Применяв иммуногистохимическую реакцию на белок S100 для идентификации SCs и анти-пролил-4-гидролазы-бета (P4Hb) для фибробластов, авторы установили, что 98% культивируемых клеток представляли собой EFs, а 2% – SCs. Затем клетки этих культур были помечены антителами против NG2, CD34, P4Hb, нестина, Thy1 и PDGFR- β . Было установлено, что все EFs оказались иммуноположительными для CD34 и NG2.

Учитывая, что культура SCs нередко содержит и EFs, она является удобной моделью для фундаментальных и трансляционных исследований взаимодействия этих клеток [64]. Было проведено специальное исследование по иммунологической и функциональной характеристике взрослых SCs и фибробластов человека, чтобы выявить их свойства и оптимизировать протокол сортировки магнитно-активируемых клеток. Анализ с использованием методов визуализации с помощью иммунофлуоресцентной микроскопии, проточной цитометрии и секвенирования РНК следующего поколения (RNA-seq) подтвердил, что молекулярный фенотип SCs и фибробластов подобен прогениторным и стволовым клеткам, а также позволил установить гетерогенность популяций фибробластов. Кроме того, были выявлены двунаправленные сети сигнализации от фибробластов к SCs, это подчеркивает независимый от SCs вклад фибробластов в регенерацию нервов.

Участие фибробластов в регенерации нервных проводников

Для осуществления регенерации периферического нервного проводника после механического повреждения необходимо, чтобы в его дистальном сегменте прошли процессы валлеровской дегенерации (WD). WD включает в себя деструкцию аксонов, отторжение SCs миелина, рекрутирование гематогенных макрофагов, которые участвуют в клиренсе миелина наряду со SCs и резидентными макрофагами, и другие молекулярные и клеточные процессы [24, 81–83]. После фрагментации аксона и распада миелиновой оболочки наступает активация SCs. Они проходят этап дедифференцировки, превращаясь в SCs репаративного типа, начинают пролиферировать и формировать пути для направленной регенерации регенерирующих аксонов, растущих на периферию из проксимального сегмента [81].

Главными участниками WD считаются SCs, роль фибробластов в этих процессах мало изучена. На модели перерезки нерва показано, что они (как и SCs, и макрофаги) участвуют в процессе клиренса миелина [9]. Удаление продуктов распада миелина имеет решающее значение для дальнейшего восстановления нервного волокна, поскольку миелин содержит молекулы, ингибирующие регенерацию аксонов (в частности миелин-ассоциированный гликопротеин (MAG)). Показано, что у мышей с медленно протекающей WD (линия WLDS-мыши) функциональное восстановление нерва после повреждения значительно задерживается по сравнению с мышами дикого типа [56].

Установлено, что EFs вырабатывают ряд молекул внеклеточного матрикса, необходимых для осуществления регенерации поврежденных аксонов, в частности белок тенасцин-С (TNC) [84], который способствует дедифференцировке SCs, а также модулирует рост и направленность нервных волокон. Показано, что в ответ на повреждение нерва экспрессия фибробластами TNC увеличивается в проксимальном сегменте нерва, что способствует миграции SCs. Влияние TNC на SCs достигается посредством прямого связывания TNC с экспрессируемым SCs $\beta 1$ интегрином [84].

Также было показано, что фибробласты экспрессируют и секретируют ряд цитокинов и трофических факторов, регулируя васкуляризацию регенерирующей ткани и способствуя миграции клеток в область моста, формирующегося между проксимальным и дистальным сегментами нерва после перерезки [34, 80, 85].

Общая схема событий, развивающихся в регенерирующем нерве с участием фибробластов, приведена в работе Qu с соавт. [9] и представлена на рис. 2 настоящего обзора.

Взаимодействия различных структурных элементов эндоневрия исследуют на экспериментальных моделях повреждения нервов, в том числе с использованием кондуитов, соединяющих проксимальный и дистальный сегменты нервного ствола. Такие работы позволили выяснить последовательность взаимодействий SCs и нервных волокон в ранние сроки WD. Было установлено, что в этих взаимодействиях SCs выполняют ведущую роль для аксонов, а не наоборот [86]. Фактор роста нейрегулин-1 (NRG1), экспрессируемый на поверхности аксонов, передает сигналы через рецепторы ErbB2 и ErbB3, локализующиеся на поверхности миелинообразующей глии [87]. Однако выработка нейрегулинов предшествует секреции SCs нейротрофических факторов роста [86]. В более поздних исследованиях отмечается, что для формирования мостов между проксимальным и дистальным сегментами поврежденного нерва важное значение имеют фибробласты эндоневрия [88]. Оказалось, что они первыми заселяют кондуит, регулируют миграцию SCs, стимулируют васкуляризацию формирующейся ткани и экспрессируют изоформу sNRG1 [88]. Считается, что, высвобождая sNRG1, фибробласты могут способствовать дедифференцировке SCs и образованию репаративного фенотипа SCs, способствуя тем самым регенерации периферических нервов.

Молекулярные механизмы взаимодействия EFs и SCs осуществляются через секрецию различных соединений в межклеточное пространство и их связывание с рецепторами близлежащих клеток или с рецепторами той же клетки. Это взаимодействие может проходить по аутокринному механизму, когда регулирующее действие сигнального белка осуществляется на клетки, в которых он непосредственно синтезируется, или по паракринному механизму, при котором сигнальные молекулы, синтезирующиеся в других клетках, путем диффузии оказывают воздействие на соседние клетки [64].

Исследуя сигнальные пути, задействованные во взаимоотношениях четырех главных структурных компонентов эндоневрия (аксонов, SCs, макрофагов и фибробластов), Dun, Parkinson [85] отводят основные роли в организации нейрального мостика следующим сигнализациям: Netrin1/DCC, EphrinB2/EphB2 и Slit3/Robo1 (рис. 3).

Скорость восстановления поврежденного нервного проводника связана со временем окончания процессов WD [24, 56]. Время завершения WD зависит не только от макрофагов, но и от взаимодействия всех клеток нерва. Повреждение нервного проводника стимулирует выработку и секрецию различных регуляторных факторов, цитокинов

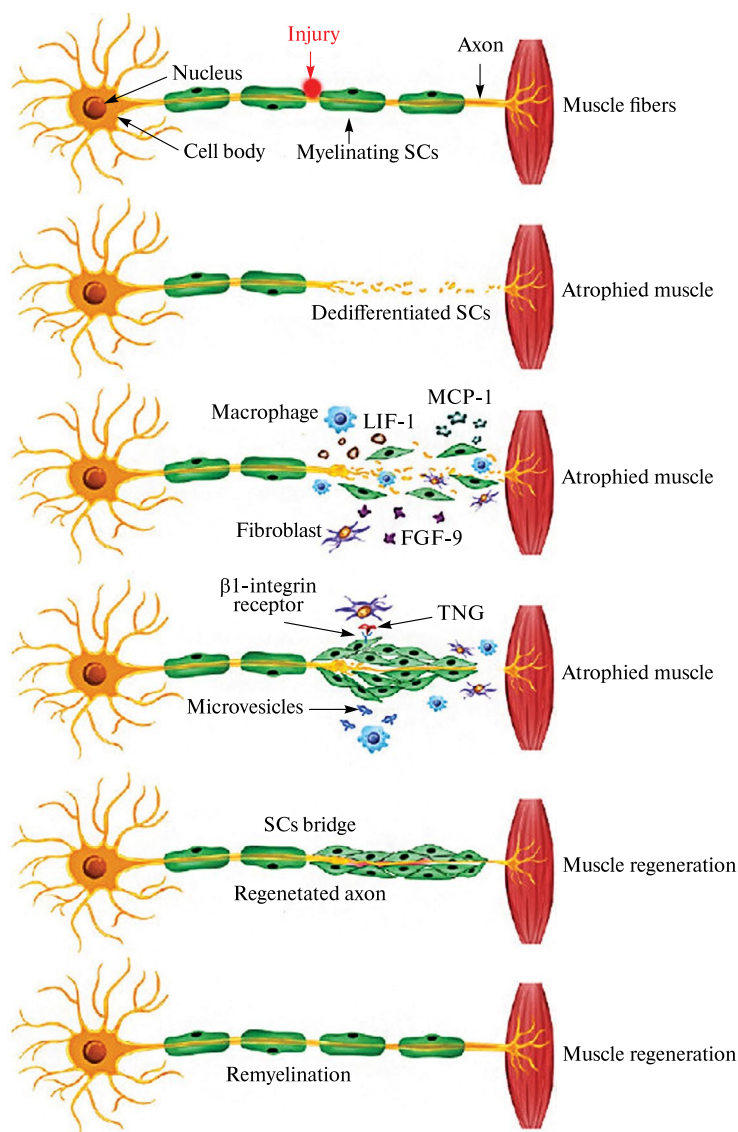


Рис. 2. Схема, показывающая общую последовательность событий восстановления нерва после повреждения с участием фибробластов, макрофагов и SCs.

(а) – Пример повреждения двигательного нерва, тело нервной клетки располагается в спинном мозге, аксон, окруженный миелинизирующими SCs, достигает мышцы, где он образует синапсы и инициирует свое действие. (б) – Повреждение нерва нарушает целостность аксона и вызывает валлеровскую дегенерацию. (с) – В ответ на травму очистка от детрита и восстановление инициируются активированными SCs, макрофагами и фибробластами. Паракринная сигнализация с участием MCP-1, LIF-1 и FGF-9, которые секретируются этими клетками, обеспечивает ответ на повреждение нерва. (д) – Влияние фибробластов на SCs частично опосредовано прямым связыванием TNC с экспрессируемым SCs $\beta 1$ -интегрином. Аналогичным образом микровезикулы, высвобождаемые активированными макрофагами, влияют на функцию SCs в процессе восстановления и зависят от воспалительного статуса макрофагов, привлеченных в место повреждения. (е) – Эти клеточные взаимодействия способствуют созданию SCs моста через место повреждения для поддержки регенерации аксонов и последующей миелинизации. (ф) – Восстановленный периферический нерв. FGF-9 – фактор роста фибробластов 9; LIF-1 – фактор ингибирования лейкемии-1; MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок-1; PNI – повреждение периферического нерва; SCs – шванновская клетка; TNC – тенасцин-С. Из статьи Qu с соавт. [9].

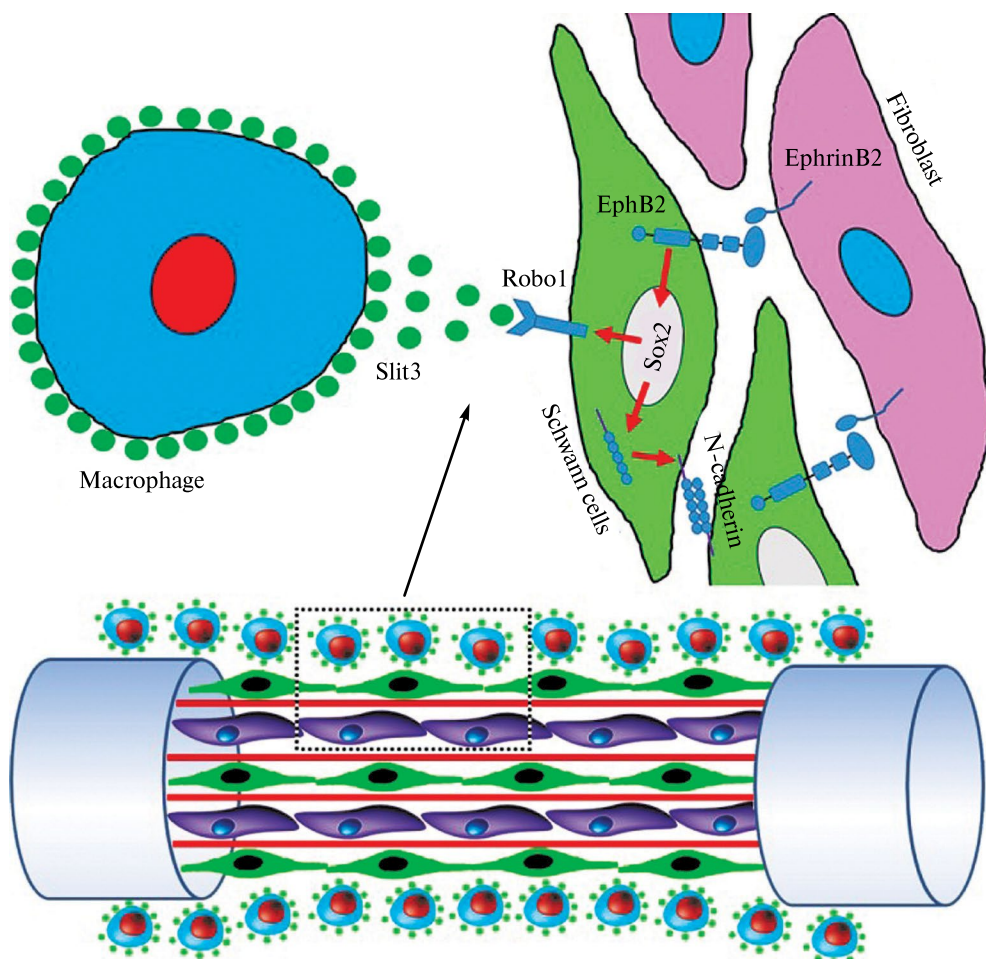


Рис. 3. Сигналы EphrinB2/EphB2, Slit3/Robo1 и Netrin1/DCC контролируют правильное формирование ткани нервного мостика и регенерацию аксона. После перерезки седалищного нерва нервный мостик формируется между проксимальным концом нерва (слева) и дистальным концом нерва (справа). Сигналы EphrinB2/EphB2 между мигрирующими шванновскими клетками (зеленые) и фибробластами (фиолетовые) контролируют SCs и формирование ими тяжей. Сигналы EphrinB2/EphB2 увеличивают экспрессию Sox2 в SCs, а Sox2 способствует транслокации N-кадгерина в мембрану SCs. Sox2 также регулирует экспрессию Robo1 в SCs. Макрофаги (синие) во внешнем слое нервного мостика секретируют Slit3, необходимый для взаимодействия с Robo1 на SCs и поддержания миграции шванновских клеток внутри нервного мостика. Шванновские клетки секретируют Netrin1, взаимодействующий с DCC на регенерирующих аксонах (красного цвета) с целью регуляции направления регенерирующих аксонов через нервный мостик. Dun, Parkinson [85].

и хемокинов всеми клетками эндоневрия. Так, SCs начинают экспрессировать мРНК воспалительных цитокинов TNFα и IL-1α, а также сами белки TNFα и IL-1α. Эти цитокины в течение нескольких часов после травмы индуцируют соседние фибробласты к выработке IL-6, GM-CSF и LIF. После этого TNFα, IL-1α, IL-1β и IL-6 индуцируют выработку шванновскими клетками, фибробластами и эндотелиоцитами хемокинов MCP-1/CCL2 и MIP1-α/CCL3, которые способствуют миграции в эндоневрий моноцитов из кровеносных сосудов. Последние побуждают близлежащие фибробласты экспрессировать IL-6 и GM-CSF, секреция которых обнаруживается уже через 2–5 ч после травмы.

Кроме того, показано, что в первые двое суток после повреждения фибробласты секретируют противовоспалительные цитокины, в частности аполипопротеин-Е [89], участвующий в поляризации макрофагов в сторону фенотипа M2. Известно, что макрофаги обладают большой пластичностью и при участии в воспалительных и репаративных процессах способны как подавлять, так и стимулировать воспалительные реакции [90]. Несмотря на то что в настоящее время разделение макрофагов на два функциональных типа – M1 (провоспалительный) и M2 (противовоспалительный) – считается несколько условным (так как обнаружены и описаны их промежуточные формы) [90], для объяснения механизмов регуляции сложных дегенеративных и репаративных процессов в поврежденных нервах эта классификация широко используется [82, 91].

Важно отметить, что фибробласты эндонеурия, наряду со SCs, способны синтезировать нейротрофические факторы, способствующие выживанию нейронов после повреждения, росту аксонов, образованию синапсов [56, 92].

Функции фибробластов эндонеурия

Фибробласты в биологии тканей занимают важное место и выполняют множество функций [34, 93]. Они производят структурные (например, коллагены и фибронектин) и неструктурные (например, тромбоспондины и остеоопонтин) молекулы экстрацеллюлярного матрикса, поддерживают и модифицируют соединительнотканную строму посредством производства протеиназ; взаимодействуют с клетками кровеносных сосудов; экспрессируют множество рецепторов клеточной поверхности, которые позволяют им реагировать на биологически активные факторы, высвобождаемые другими клетками; секретируют смесь факторов роста, цитокинов и хемокинов, обеспечивая клеточные коммуникации в органах и тканях [34, 93]. Известна роль фибробластов в развитии фиброза [34, 76], однако для EFs эта роль незначительна [1].

Функции EFs более разнообразны, чем фибробластов в других органах, но остаются менее изученными. Долгое время считалось, что EFs являются лишь поддерживающими клетками периферического нерва [23], в последние годы их значимость и предположительная роль в регенерации нервных проводников активно изучается. Большой функциональный потенциал фибробластов эндонеурия можно объяснить их особым происхождением. Кроме того, предполагается, что эндоневральные фибробласты являются гетерогенной популяцией, и функции субпопуляций не изучены. В табл. 2 представлен ряд функций EFs.

Малоизученной функцией EFs является их участие в возникновении фиброза. Фиброз нервных проводников в разной степени развивается после их повреждения. Известно, что до 33% всех повреждений периферических нервных проводников демонстрируют неполное восстановление нерва, частичную потерю двигательной и/или сенсорной функции, хроническую боль, атрофию мышц и могут приводить к инвалидности [3]. Имеется множество причин, препятствующих полному восстановлению нервного проводника. К ним относят как частичную гибель нервных клеток спинного мозга и чувствительного ганглия [96–98], так и формирование в месте повреждения нервного ствола невромы [24] или образование рубцовой ткани [3, 97]. Развитие фиброза описано при различных патологиях нервов: проказе [99], радиационно-индуцированной нейропатии [100], опухолях [101]. Распространенной проблемой является также обширное образование рубцовой ткани после механического повреждения или хирургического вмешательства [3]. При травматических воздействиях развитие фиброза и формирование рубца зависят от степени повреждения нерва, которая определяется по классификации, предложенной Seddon в середине прошлого века [102]. Она основана на степени повреждения структуры нерва: (1) нейрпраксия, или повреждение нерва вследствие сжатия, без структурного повреждения нерва, (2) аксонотмезис, или

Таблица 2. Функции эндоневральных фибробластов

№№ п/п	Функция	Механизм осуществления функции	Авторы
1	Поддержка гомеостаза	Синтез белков внеклеточного матрикса, в частности коллагена I типа и ламинина (изоформы B1, B2, M и S)	[26]
2	Клиренс миелина после повреждения нервного проводника	Фагоцитоз продуктов распада миелина в месте повреждения и дистальном сегменте нерва	[9]
3	Участие в регенерации. Воздействие на другие клетки	Направляют миграцию SCs и макрофагов после повреждения	[15]
4	Содействие миелинизации аксонов	Секретируют коллаген I типа для содействия миелинизации SCs	[94]
5	Участие в морфогенезе	Предположительно из фибробластов могут формироваться периневральные клетки	[31, 96]
6	Участие в регенерации, влияние на васкулогенез	Экспрессия VEGF-A увеличивается в эндоневральных фибробластах после стимуляции пути Hh	[80]
7	Участие в регенерации аксонов, влияние на дедифференцировку и миграцию SCs	Выработка регуляторных факторов (sNRG1 и др.)	[88]
8	Участие в валлеровской дегенерации, рекрутирование гематогенных макрофагов	Секреция цитокинов (IL-6 и GM-CSF) и хемокинов	[56]
9	Участие в процессе миелинизации	Синтез аполипопротеина-E (ApoE) – белка, участвующего в метаболизме липидов в организме. ApoE осуществляет доставку холестерина к месту миелинизации, необходим для поддержания миелиновой и нейрональной мембран в периферической нервной системе. Способствует поляризации макрофагов	[89]
10	Стимуляция регенерации аксонов	Выработка теназинов	[9]
11	Осуществление нейропротективного влияния на нейроны	Путем выработки NGF оказывает воздействие на нейроны по ретроградному механизму	[56]

потеря непрерывности нервных аксонов, и (3) нейротомезис, или полная перерезка или разрыв всего нерва. Эта классификация позднее была уточнена Sunderland в 1951 г., который ввел пять типов повреждения, основанных на возрастающей тяжести повреждения структуры нерва [103]. Уровень внутреннего и внешнего рубцевания нервов (интра- и экстраневральный фиброз) зависит от степени повреждения. Молекулярные механизмы их формирования изучены недостаточно [3].

В настоящее время в экспериментальных работах активно разрабатываются способы ингибирования формирования рубцов [96, 97]. В таких исследованиях степень формирования рубца оценивают по следующим показателям: по толщине эпинеурia, по площади, занимаемой коллагеном, по количеству фибробластов, по экспрессии коллагена и по соотношению коллагена типа I / типа III. В большинстве исследований речь идет о фибробластах эпинеурia [97] или перинеурia [104]. Есть мнение, что важную роль в процессах рубцевания, связанных с образованием богатых коллагеном отложений, играют фибробласты проксимального сегмента поврежденного нерва [65]. При этом EFs не выделяют из общей популяции фибробластов, их роль остается неясной. Это может быть связано с тем, что причиной образования рубцовой ткани после травмы нерва считается пролиферация фибробластов главным образом эпиневральной оболочки. Второй причиной может быть тот факт, что после миграции фибробластов эпинеурia в эндоневрий вследствие травмы отличить различные популяции фибробластов в силу отсутствия специфических маркеров затруднительно. Есть мнение, что роль EFs в развитии фиброза незначительна [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре представлены современные сведения о морфофункциональных особенностях, цитохарактеристике и функциях малоизученных клеток – фибробластов эндоневрия. Актуальность исследования этих клеток не вызывает сомнений и обусловлена недостатком знаний о молекулярных и клеточных механизмах дегенерации и регенерации периферических нервных проводников после повреждений (механической травмы и при нейропатиях). Обобщение данных современной литературы позволяет подчеркнуть, что важную роль в восстановлении нервов играют межклеточные взаимодействия между фибробластами и другими клетками эндоневрия: шванновскими клетками, макрофагами, тучными клетками, клетками микрососудов и другими структурами. Важно отметить, что именно фибробласты первыми заселяют кондуит, соединяющий проксимальный и дистальный сегменты поврежденного нерва, участвуют в формировании новой ткани (нейрального мостика) и способствуют ее васкуляризации и миграции в нее других клеток. На моделях *in vitro* и *in vivo* доказано, что между EFs и SCs после повреждения нерва устанавливаются тесные взаимодействия. Для выяснения молекулярных механизмов этих взаимодействий, конкретизации задействованных сигнальных путей и молекул необходимы дальнейшие исследования. Для осуществления таких исследований, а также для определения роли EFs в регенерации нервных проводников необходимо совершенствовать методы визуализации этих клеток. Помимо этого, необходима разработка новых экспериментальных моделей с использованием различных видов позвоночных животных, которые могут помочь в установлении последовательности событий в нерве после повреждения. Дальнейшие исследования EFs при патологии периферической нервной системы (при воспалительных, аутоиммунных и генетических заболеваниях нервов) также могут способствовать выяснению их потенций и определению их роли в регенерации нервных проводников. Выяснение молекулярных механизмов взаимодействия всех клеточных типов эндоневрия имеет решающее значение не только для понимания основных принципов регенерации тканей, но и для разработки новых способов эффективного восстановления

нервов. Представленные в настоящем обзоре данные демонстрируют, что не только SCs и/или макрофаги, но и фибробласты и вырабатываемые ими факторы могут стать основной мишенью для таргетной терапии поврежденного нерва.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Е. С. П. и Е. А. К. – идея работы, анализ литературы, написание текста.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Институт экспериментальной медицины”. Шифр темы: GFWG-2025-0003. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Статья носит обзорный характер и не содержит исследований с использованием животных и людей в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы информируют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Zochodne DW* (2008) *Neurobiology of peripheral nerve regeneration*. Cambridge, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, Sao Paulo: Cambridge Univer Press.
2. *Одинак ММ, Живолупов СА* (2009) Заболевания и травмы периферической нервной системы (обобщение клинического и экспериментального опыта): руководство для врачей. СПб. СпецЛит. [*Odinak MM, Zhivolupov SA* (2009) *Diseases and injuries of the peripheral nervous system (summary of clinical and experimental experience): a guide for doctors*. St. Petersburg: SpetsLit. (In Russ)].
3. *Wang ML, Rivlin M, Graham JG, Beredjiklian PK* (2019) Peripheral nerve injury, scarring, and recovery. *Connective Tissue Res* 60(1): 3–9.
<https://doi.org/10.1080/03008207.2018.1489381>
4. *Madduri S, Gander B* (2010) Schwann cell delivery of neurotrophic factors for peripheral nerve regeneration. *J Peripher Nerv Syst* 15(2): 93–103.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8027.2010.00257.x>
5. *Raginov IS, Chelyshev YA* (2001) Sensory neurons and Schwann cells during pharmacological stimulation of a regenerating nerve. *Neurosci Behav Physiol* 31(6): 629–633.
<https://doi.org/10.1023/a:1012329429655>
6. *Gomez-Sanchez JA, Carty L, Iruarrizaga-Lejarreta M, Palomo-Irigoyen M, Varela-Rey M, Griffith M, Hantke J, Macias-Camara N, Azkargorta M, Aurrekoetxea I, De Juan VG, Jefferies HB, Aspichueta P, Elortza F, Aransay AM, Martínez-Chantar ML, Baas F, Mato JM, Mirsky R, Woodhoo A, Jessen KR* (2015) Schwann cell autophagy, myelinophagy, initiates myelin clearance from injured nerves. *J Cell Biol* 210(1): 153–168.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201503019>
7. *Carr MJ, Johnston AP* (2017) Schwann cells as drivers of tissue repair and regeneration. *Curr Opin Neurobiol* 47: 52–57.
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.09.003.gomes>
8. *Petrova ES* (2019) Current views on Schwann cells: development, plasticity, functions. *J Evol Biochem Phys* 55: 433–447.
<https://doi.org/10.1134/S0022093019060012>

9. *Qu WR, Zhu Z, Liu J, Song DB, Tian H, Chen BP, Li R, Deng LX* (2021) Interaction between Schwann cells and other cells during repair of peripheral nerve injury. *Neural Regen Res* 16(1): 93–98.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.286956>
10. *Чельшишев ЮА, Сайткулов КИ* (2000) Развитие, фенотипическая характеристика и коммуникации шванновских клеток. *Успехи физиол наук* 31(3): 54–69. [*Chelyshev YuA, Saitkulov KI* (2000) Development, phenotypic characteristics and communication of Schwann cells. *Uspekhi fiziol nauk* 31(3): 54–69. (In Russ)].
11. *Mirsky R, Jessen KR, Brennan A, Parkinson D, Dong Z, Meier C, Parmantier E, Lawson D* (2002) Schwann cells as regulators of nerve development. *J Physiol Paris* 96(1-2): 17–24.
[https://doi.org/10.1016/s0928-4257\(01\)00076-6](https://doi.org/10.1016/s0928-4257(01)00076-6)
12. *Bhatheja K, Field J* (2006) Schwann cells: origins and role in axonal maintenance and regeneration. *Int J Biochem Cell Biol* 38: 1995–1999.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.05.007>
13. *Griffin JW, Thompson WJ* (2008) Biology and pathology of nonmyelinating Schwann cells. *Glia* 56(14): 1518–1531.
<https://doi.org/10.1002/glia.20778>
14. *Kastriti ME, Adameyko I* (2017) Specification, plasticity and evolutionary origin of peripheral glial cells. *Curr Opin Neurobiol* 47: 196–202.
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.11.004>
15. *Bosch-Queralt M, Fledrich R, Stassart RM* (2023) Schwann cell functions in peripheral nerve development and repair. *Neurobiol Dis* 176: 105952.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105952>
16. *Stassart RM, Gomez-Sanchez JA, Lloyd AC* (2014) Schwann cells as orchestrators of nerve repair: implications for tissue regeneration and pathologies. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 16(6): a041363.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041363>
17. *Pinã-Oviedo S, Ortiz-Hidalgo C* (2008) The normal and neoplastic perineurium. A review. *Adv Anat Pathol* 15: 147–164.
<https://doi.org/10.1097/PAP.0b013e31816f8519>
18. *Piña AR, Martínez MM, de Almeida OP* (2015) Glut-1, best immunohistochemical marker for perineurial cells. *Head Neck Pathol* 9(1): 104–106.
<https://doi.org/10.1007/s12105-014-0544-6>
19. *Petrova ES, Kolos EA* (2022) Current views on perineurial cells: unique origin, structure, functions. *J Evol Biochem Physiol* 58(1): 1–23.
<https://doi.org/10.1134/S002209302201001X>
20. *Mueller M, Wacker K, Ringelstein EB, Hickey WF, Imai Y, Kiefer R* (2001) Rapid response of identified resident endoneurial macrophages to nerve injury. *Am J Pathol* 159(6): 2187–2197.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63070-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63070-2)
21. *Griffin JW, George R, Ho T* (1993) Macrophage systems in peripheral nerves. A review. *J Neuropathol Exp Neurol* 52(6): 553–560.
<https://doi.org/10.1097/00005072-199311000-00001>
22. *Петрова ЕС, Колос ЕА* (2024) Изучение резидентных макрофагов эндоневирия седалищного нерва крысы. Матер VI Нац конгр регенерат мед СПб. Эко-Вектор. 764–765. [*Petrova ES, Kolos EA* (2024) Study of resident macrophages in the endoneurium of the rat sciatic nerve. Матер VI Нац Конгр Регенерат Мед СПб. Эко-Вектор. 764–765. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17816/morph.konf2024>
23. *Richard L, Topilko P, Magy L, Decouvelaere AV, Charnay P, Funalot B, Vallat JM* (2012) Endoneurial fibroblast-like cells. *J Neuropathol Exp Neurol* 71: 938–947.
<https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318270a941>
24. *Ноздрачев АД, Чумасов ЕИ* (1999) Периферическая нервная система. СПб. Наука. [*Nozdrachev AD, Chumasov EI* (1999) Peripheral nervous system. SPb. Nauka. (In Russ)].
25. *Kucenas S* (2015) Perineurial glia. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7(6): a020511.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020511>
26. *Ren Z, Tan Y, Zhao L* (2024) Cell heterogeneity and variability in peripheral nerve after injury. *Int J Mol Sci* 25: 3511.
<https://doi.org/10.3390/ijms25063511>

27. Yim AKY, Wang PL, Bermingham JR Jr, Hackett A, Strickland A, Miller TM, Ly C, Mitra RD, Milbrandt J (2022) Disentangling glial diversity in peripheral nerves at single-nuclei resolution. *Nat Neurosci* 25: 238–251.
<https://doi.org/10.1038/s41593-021-01005-1>
28. Carr MJ, Toma JS, Johnston APW, Steadman PE, Yuzwa SA, Mahmud N, Frankland PW, Kaplan DR, Miller FD (2019) Mesenchymal precursor cells in adult nerves contribute to mammalian tissue repair and regeneration. *Cell Stem Cell* 24: 240–256.e9.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.10.024>
29. Chen B, Banton MC, Singh L, Parkinson DB, Dun XP (2021) Single cell transcriptome data analysis defines the heterogeneity of peripheral nerve cells in homeostasis and regeneration. *Front Cell Neurosci* 15: 624826.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2021.624826>
30. Zotter B, Dagan O, Brady J, Baloui H, Samanta J, Salzer JL (2022) Gli1 regulates the postnatal acquisition of peripheral nerve architecture. *J Neurosci* 42(2): 183–201.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3096-20.2021>
31. Richard L, Védrenne N, Vallat JM, Funalot B (2014) Characterization of endoneurial fibroblast-like cells from human and rat peripheral nerves. *J Histochem Cytochem* 62(6): 424–435.
<https://doi.org/10.1369/0022155414530994>
32. Ramon y Cahal S (1928) Degeneration and regeneration of the nervous system. V 1–2. L. Oxf. H. Milford.
33. Nageotte J, Guyon L (1930) Reticulin. *Am J Pathol* 6(6): 631–654.5.
34. Sorrell JM, Caplan AI (2009) Fibroblasts—a diverse population at the center of it all. *Int Rev Cell Mol Biol* 276: 161–214.
[https://doi.org/10.1016/S1937-6448\(09\)76004-6](https://doi.org/10.1016/S1937-6448(09)76004-6)
35. Laidlaw GF (1930) Silver Staining of the Endoneurial Fibers of the Cerebrospinal Nerves. *Am J Pathol* 6(4): 435–444.3.
36. Joseph NM, Mukoyama YS, Mosher JT, Jaegle M, Crone SA, Dormand EL, Lee KF, Meijer D, Anderson DJ, Morrison SJ (2004) Neural crest stem cells undergo multilineage differentiation in developing peripheral nerves to generate endoneurial fibroblasts in addition to Schwann cells. *Development* 131: 5599–5612.
<https://doi.org/10.1242/dev.01429>
37. Le Lièvre CS, Le Douarin NM (1975) Mesenchymal derivatives of the neural crest: analysis of chimaeric quail and chick embryos. *J Embryol Exp Morphol* 34(1): 125–154.
38. Le Douarin NM, Dupin E (2018) The "beginnings" of the neural crest. *Dev Biol* 444(1): 3–13.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.07.019>
39. Пахомова НЮ, Строчкова ЕЛ, Корыткин АА, Кожевников ВВ, Гусев АФ, Зайдман АМ (2023) История изучения нервного гребня (обзор). *Сибирск научн мед журн* 43(1): 13–29. [Pakhomova NY, Strokova EL, Korytkin AA, Kozhevnikov VV, Gusev AF, Zaidman AM (2023) The History of the Study of the Neural Crest (Overview). *Sibirsk nauchn med zhurn* 43(1): 13–29. (In Russ)].
<https://doi.org/10.18699/SSMJ20230102>
40. Woodhoo A, Sommer L (2008) Development of the Schwann cell lineage: From the neural crest to the myelinated nerve. *Glia* 56: 1481–1490.
<https://doi.org/10.1002/glia.20723>
41. Furlan A, Adameyko I (2018) Schwann cell precursor: a neural crest cell in disguise? *Dev Biol* 444(1): 25–35.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.02.008>
42. Kastriti ME, Faure L, von Ahsen D, Boudierlique TG, Bostrom J, Solovieva T, Jackson C, Bronner M, Meijer D, Hadjab S, Lallemand F, Erickson A, Kaucka M, Dyachuk V, Perlmann T, Lahti L, Krivanek J, Brunet J, Fried K, Adameyko I (2022) Schwann cell precursors represent a neural crest-like state with biased multipotency. *EMBO J* 41(17): e108780.
<https://doi.org/10.15252/embj.2021108780>
43. Mirancea N (2016) Telocyte – a particular cell phenotype. Infrastructure, relationships and putative functions. *Rom J Morphol Embryol* 57(1): 7–21.
44. Mirancea N, Mirancea GV, Moroşanu AM (2022) Telocytes inside of the peripheral nervous system – a 3D endoneurial network and putative role in cell communication. *Rom J Morphol Embryol* 63(2): 335–347.
<https://doi.org/10.47162/RJME.63.2.05>

45. *Díaz-Flores L, Gutiérrez R, García MP, Gayoso S, Gutiérrez E, Díaz-Flores L Jr, Carrasco JL* (2020) Telocytes in the Normal and Pathological Peripheral Nervous System. *Int J Mol Sci* 21(12): 4320.
<https://doi.org/10.3390/ijms21124320>
46. *Popescu LM, Faussone-Pellegrini MS* (2010) Telocytes – a case of serendipity: the winding way from interstitial cells of Cajal (ICC), via Interstitial Cajal-Like Cells (ICLC) to telocytes. *J Cell Mol Med* 14(4): 729–740.
<https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01059.x>
47. *Faussone Pellegrini MS, Popescu LM* (2011) Telocytes. *Biomol Concepts* 2(6): 481–489.
<https://doi.org/10.1515/BMC.2011.039>
48. *Низяева НВ, Марей МВ, Сухих ГТ, Щёголев АИ* (2014) Интерстициальные пейсмейкерные клетки. *Вестн Рос акад мед наук* 69(7-8): 17–24. [*Nizyaeva NV, Marej MV, Sukhikh GT, Shchyogolev AI* (2014) Interstitial pacemaker cells. *Vestn Ross akad med nauk* 69(7-8): 17–24. (In Russ)].
<https://doi.org/10.15690/vramn.v69i7-8.1105>
49. *Одинцова ИА, Слуцкая ДР, Березовская ТИ* (2022) Телоциты: локализация, структура, функции и значение в патологии. *Гены и Клетки* 17(1): 6–12. [*Odincova IA, Sluckaya DR, Berezovskaya TI* (2022) Telocytes: localization, structure, functions and significance in pathology. *Geny i Kletki* 17(1): 6–12. (In Russ)].
<https://doi.org/10.23868/202205001>
50. *Chen T, Li Y, Ni W, Wei Y, Li J, Yu J, Zhang L, Gao J, Zhou J, Zhang W, Xu H, Hu J* (2020) Neural stem cell-conditioned medium inhibits inflammation in macrophages via Sirt-1 signaling pathway in vitro and promotes sciatic nerve injury recovery. *Stem Cells and Develop*
<https://doi.org/10.1089/scd.2020.0020>
51. *Petrova ES, Kolos EA* (2023) Immunohistochemical Study of Macrophages of Sciatic Rat Nerve after Damage and Subperineural Injection of Mesenchymal Stem Cells. *Russ Physiol J* 109(4): 466–476 (In Russ).
<https://doi.org/10.31857/S0869813923040076>
52. *Трусов ГА, Чапленко АА, Семенова ИС, Мельникова ЕВ, Олефир ЮВ* (2018) Применение проточной цитометрии для оценки качества биомедицинских клеточных продуктов. *БИО-препараты. Профилактика, диагностика, лечение* 18(1): 16–24. [*Trusov GA, Chaplenko AA, Semenova IS, Mel'nikova EV, Olefir YuV* (2018) Application of flow cytometry for quality assessment of biomedical cell products. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* 18(1): 16–24. (In Russ)].
<https://doi.org/10.30895/2221-996KH-2018-18-1-16-24>
53. *Lupatov AY, Vdovin AS, Vakhrushev IV, Poltavtseva RA, Yarygin KN* (2015) Comparative analysis of the expression of surface markers on fibroblasts and fibroblast-like cells isolated from different human tissues. *Bull Exp Biol Med* 158(4): 537–543.
<https://doi.org/10.1007/s10517-015-2803-2>
54. *Hill R* (2009). Extracellular matrix remodelling in human diabetic neuropathy. *J Anat* 214: 219–225.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.01026.x>
55. *Yamamoto M, Okui N, Tatebe M, Shinohara T, Hirata H* (2011) Regeneration of the perineurium after microsurgical resection examined with immunolabeling for tenascin-C and alpha smooth muscle actin. *J Anat* 218: 413–425.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2011.01341.x>
56. *Rotshenker S* (2011) Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury. *J Neuroinflamm* 8: 109.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-109>
57. *Колос ЕА* (2023) Коннексин-43 в клетках регенерирующего седалищного нерва крысы. *Морфология* 161(3): 71–78. [*Kolos EA* (2023) Connexin-43 in regenerating rat sciatic nerve cells. *Morfologiya* 161(3): 71–78. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17816/morph.629037>
58. *Civin CI, Almeida-Porada G, Lee MJ, Olweus J, Terstappen LW, Zanjani ED* (1996) Sustained, retransplantable, multilineage engraftment of highly purified adult human bone marrow stem cells in vivo. *Blood* 88(11): 4102–4109.
<https://doi.org/10.1182/blood.V88.11.4102.4102>

59. Smeland EB, Funderud S, Kvalheim G, Gaudernack G, Rasmussen AM, Rusten L, Wang MW, Tindle RW, Blomhoff HK, Egeland T (1992) Isolation and characterization of human hematopoietic progenitor cells: an effective method for positive selection of CD34+ cells. *Leukemia* 6(8): 845–852.
60. He Q, Yu F, Li Y, Sun J, Ding F (2020) Purification of fibroblasts and schwann cells from sensory and motor nerves in vitro. *J Vis Exp* 159: e60952.
<https://doi.org/10.3791/60952>
61. Levine JM, Nishiyama A (1996) The NG2 chondroitin sulfate proteoglycan: a multifunctional proteoglycan associated with immature cells. *Perspect Dev Neurobiol* 3(4): 245–259.
62. Levine JM (1994) Increased expression of the NG2 chondroitin-sulfate proteoglycan after brain injury. *J Neurosci* 14(8): 4716–4730.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-08-04716.1994>
63. Chiquet-Ehrismann R (2004) Tenascins. *Int J Biochem Cell Biol* 36(6): 986–990.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.12.002>
64. Peng K, Sant D, Andersen N, Silvera R, Camarena V, Piñero G, Graham R, Khan A, Xu XM, Wang G, Monje PV (2020) Magnetic separation of peripheral nerve-resident cells underscores key molecular features of human Schwann cells and fibroblasts: an immunochemical and transcriptomics approach. *Sci Rep* 10(1): 18433.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-74128-3>
65. Fertala J, Rivlin M, Wang ML, Beredjiklian PK, Steplewski A, Fertala A (2020) Collagen-rich deposit formation in the sciatic nerve after injury and surgical repair: A study of collagen-producing cells in a rabbit model. *Brain Behav* 10(10): e01802.
<https://doi.org/10.1002/brb3.1802>
66. Du H, Chen D, Zhou Y, Han Z, Che G (2014) Fibroblast phenotypes in different lung diseases. *J Cardiothorac Surg* 9: 147.
<https://doi.org/10.1186/s13019-014-0147-z>
67. Лунина НА, Сафина ДР, Кострова СВ (2023) Ассоциированные с опухолью фибробласты: гетерогенность и бимодальность в онкогенезе. *Мол биол* 57(5): 739–770. [Lunina NA, Safina DR, Kostrov SV (2023) Cancer-Associated Fibroblasts: Heterogeneity and Bimodality in Oncogenesis. *Mol Biol* 57(5): 739–770. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0026898423050105>
68. Kolarcik CL, Catt K, Rost E, Albrecht IN, Bourbeau D, Du Z, Kozai TD, Luo X, Weber DJ, Cui XT (2015) Evaluation of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/carbon nanotube neural electrode coatings for stimulation in the dorsal root ganglion. *J Neural Eng* 12(1): 016008.
<https://doi.org/10.1088/1741-2560/12/1/016008>
69. Kolarcik CL, Castro CA, Lesniak A, Demetris AJ, Fisher LE, Gaunt RA, Weber DJ, Cui XT (2020) Host tissue response to floating microelectrode arrays chronically implanted in the feline spinal nerve. *J Neural Eng* 17(4): 046012.
<https://doi.org/10.1088/1741-2552/ab94d7>
70. Nissi R, Autio-Harmainen H, Marttila P, Sormunen R, Kivirikko KI (2001) Prolyl 4-hydroxylase isoenzymes I and II have different expression patterns in several human tissues. *J Histochem Cytochem* 49(9): 1143–1153.
<https://doi.org/10.1177/002215540104900908>
71. Sato H, Ishii Y, Yamamoto S, Azuma E, Takahashi Y, Hamashima T, Umezawa A, Mori H, Kuroda S, Endo S, Sasahara M (2016) PDGFR- β plays a key role in the ectopic migration of neuroblasts in cerebral stroke. *Stem Cells* 34(3): 685–698.
<https://doi.org/10.1002/stem.2212>
72. Zhou C, Liu B, Huang Y, Zeng X, You H, Li J, Zhang Y (2017) The effect of four types of artificial nerve graft structures on the repair of 10-mm rat sciatic nerve gap. *J Biomed Mater Res A* 105(11): 3077–3085.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.36172>
73. Hamidi H, Ivaska J (2017) Vascular morphogenesis: an integrin and fibronectin highway. *Curr Biol* 27(4): R158–R161.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.12.036>
74. Zent J, Guo LW (2018) Signaling mechanisms of myofibroblastic activation: outside-in and inside-out. *Cell Physiol Biochem* 49(3): 848–868.
<https://doi.org/10.1159/000493217>

75. *Mohammadizadeh F, Heydari S* (2020) Intracellular fibronectin expression in invasive breast carcinoma: is it related to significant clinicopathological prognostic factors? *Iran Red Crescent Med J* 22(4): e98676.
<https://doi.org/10.5812/ircmj.98676>
76. *Darby IA, Hewitson TD* (2007) Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis. *Int Rev Cytol* 257: 143–179.
[https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(07\)57004-X](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(07)57004-X)
77. *Хлопин НГ* (1946) Общебиологические и экспериментальные основы гистологии. М. Изд-во Акад наук СССР. [*Hlopin NG* (1946) General biological and experimental principles of histology. M. Izd-vo Akad nauk SSSR. (In Russ)].
78. *Михайлов ВП* (1972) Классификация тканей и явления метоплазии в свете принципа тканевой детерминации. *Архив анатом гистол эмбриол* 63(6): 12–33. [*Mihajlov VP* (1972) Classification of tissues and phenomena of metaplasia in terms of the principle of tissue determination. *Arhiv anatom gistol embriol* 63(6): 12–33. (In Russ)].
79. *Raff MC, Fields KL, Hakomori SI, Mirsky R, Pruss RM, Winter J* (1979) Cell-type-specific markers for distinguishing and studying neurons and the major classes of glial cells in culture. *Brain Res* 174(2): 283–308.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)90851-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90851-5)
80. *Faniku C, Kong W, He L, Zhang M, Lilly G, Pepper JP* (2021) Hedgehog signaling promotes endoneurial fibroblast migration and Vegf-A expression following facial nerve injury. *Brain Res* 1751: 147204.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147204>
81. *Tricaud N, Park HT* (2017) Wallerian demyelination: chronicle of a cellular cataclysm. *Cell Mol Life Sci* 74 (22): 4049–4057.
<https://doi.org/10.1007/s00018-017-2565-2>
82. *Zigmond RE, Echevarria FD* (2019) Macrophage biology in the peripheral nervous system after injury. *Prog Neurobiol* 173: 102–121.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.12.001>
83. *Kolter J, Kierdorf K, Henneke P* (2020) Origin and Differentiation of Nerve-Associated Macrophages. *J Immunol* 204(2): 271–279.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901077>
84. *Zhang Z, Yu B, Gu Y, Zhou S, Qian T, Wang Y, Ding G, Ding F, Gu X* (2016) Fibroblast-derived tenascin-C promotes Schwann cell migration through beta1-integrin dependent pathway during peripheral nerve regeneration. *Glia* 64(3): 374–385.
<https://doi.org/10.1002/glia.22934>
85. *Dun XP, Parkinson DB* (2020) Classic axon guidance molecules control correct nerve bridge tissue formation and precise axon regeneration. *Neural Regen Res* 15(1): 6–9.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.264441>
86. *McDonald D, Cheng C, Chen Y, Zochodne D* (2006) Early events of peripheral nerve regeneration. *Neuron Glia Biol* 2: 139–147.
<https://doi.org/10.1017/S1740925X05000347>
87. *Lemke G* (2006) Neuregulin-1 and myelination. *Sci STKE* 325: pe11.
<https://doi.org/10.1126/stke.3252006pe11>
88. *Fornasari BE, El Soury M, Nato G, Fucini A, Carta G, Ronchi G, Crosio A, Perroteau I, Geuna S, Raimondo S, Gambarotta G* (2020) Fibroblasts colonizing nerve conduits express high levels of soluble neuregulin1, a factor promoting Schwann cell dedifferentiation. *Cells* 9(6): 1366.
<https://doi.org/10.3390/cells9061366>
89. *Saada A, Dunaevsky-Hutt A, Aamar A, Reichert F, Rotshenker S* (1995) Fibroblasts that reside in mouse and frog injured peripheral nerves produce apolipoproteins. *J Neurochem* 64: 1996–2003.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.64051996.x>
90. *Ельчанинов АВ, Фатхудинов ТХ* (2023) Макрофаги. Москва. ГЭОТАР-Медиа. [*El'chaninov AV, Fatxudinov TX* (2023) Macrophages. Moskva. GE'OTAR-Media. (In Russ)].
<https://doi.org/10.33029/9704-7780-9-EAM-2023-1-208>
91. *Chen P, Piao X, Bonaldo P* (2015) Role of macrophages in Wallerian degeneration and axonal regeneration after peripheral nerve injury. *Acta Neuropathol* 130(5): 605–618.
<https://doi.org/10.1007/s00401-015-1482-4>

92. *Heumann R, Korsching S, Bandtlow C, Thoenen H* (1987) Changes of nerve growth factor synthesis in nonneuronal cells in response to sciatic nerve transection. *J Cell Biol* 104: 1623–1631. <https://doi.org/10.1083/jcb.104.6.1623>
93. *Зорина АИ, Бозо ИЯ, Зорин ВЛ, Черкасов ВР, Деев РВ* (2011) Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности клинического применения. *Клеточн трансплантол тканев инженер* 6(2): 15–26. [*Zorina AI, Bozo IYa, Zorin VL, Cherkasov VR, Deev RV* (2011) Dermal fibroblasts: features of cytogenesis, cytophysiology and possibilities of clinical application. *Kletochn transplantol tkanev inzhener* 6(2): 15–26. (In Russ)].
94. *Zhao Y, Liang Y, Xu Z, Liu J, Liu X, Ma J, Sun C, Yang Y* (2022) Exosomal miR-673-5p from fibroblasts promotes Schwann cell-mediated peripheral neuron myelination by targeting the TSC2/mTORC1/SREBP2 axis. *J Biol Chem* 298(3): 101718. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101718>
95. *Bunge MB, Wood PM, Tynan LB, Bates ML, Sanes JR* (1989) Perineurium originates from fibroblasts: demonstration in vitro with a retroviral marker. *Science* 243(4888): 229–231. <https://doi.org/10.1126/science.2492115>
96. *Hou H, Zhang L, Ye Z, Li J, Lian Z, Chen C, He R, Peng B, Xu Q, Zhang G, Gan W, Tang P* (2016) Chitooligosaccharide inhibits scar formation and enhances functional recovery in a mouse model of sciatic nerve injury. *Mol Neurobiol* 53(4): 2249–2257. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9196-0>
97. *Ngeow WC* (2010) Scar less: a review of methods of scar reduction at sites of peripheral nerve repair. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 109(3): 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.06.030>
98. *Порсева ВВ, Преображенский НД, Маслоков ПМ* (2023) Экспрессия парвальбумина в ГАД67-иммунореактивных нейронах промежуточной зоны грудного спинного мозга у мышей C57BL/6 в условиях сенсорной денервации. *Рос журн боли* 21(1): 13–18. [*Porseva VV, Preobrazhensky ND, Maslyukov PM* (2023) Expression of parvalbumin in GAD67-immunoreactive neurons of the intermediate zone of the thoracic spinal cord in C57BL/6 mice under conditions of sensory denervation. *Ross zhurn boli* 21(1): 13–18. (In Russ)]. <https://doi.org/10.17116/pain20232101113>
99. *Antunes SLG, Jardim MR, Vital RT, Pascarelli BMO, Nery JADC, Amadeu TP, Sales AM, da Costa EAF, Sarno EN* (2019) Fibrosis: a distinguishing feature in the pathology of neural leprosy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 114: e190056. <https://doi.org/10.1590/0074-02760190056>
100. *Pradat PF, Delanian S* (2013) Late radiation injury to peripheral nerves. *Handb Clin Neurol* 115: 743–758. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52902-2.00043-6>
101. *Bisceglia M, Vigilante E, Ben-Dor D* (2007) Neural lipofibromatous hamartoma: a report of two cases and review of the literature. *Adv Anat Pathol* 14(1): 46–52. <https://doi.org/10.1097/PAP.0b013e31802f04b7>
102. *Seddon HJ* (1942) Classification of Nerve Injuries. *Br Med J* 2(4260): 237–239. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.4260.237>
103. *Sunderland S* (1951) A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*. 74(4): 491–516. <https://doi.org/10.1093/brain/74.4.491>
104. *Aman M, Mayrhofer-Schmid M, Schwarz D, Bendszus M, Daeschler SC, Klemm T, Kneser U, Harhaus L, Boecker AH* (2023) Avoiding scar tissue formation of peripheral nerves with the help of an acellular collagen matrix. *PLoS One* 18(8): e0289677. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289677>

Modern Concepts of Endoneurial Fibroblasts

E. S. Petrova^{a,*}, E. A. Kolos^a

^aInstitute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

**e-mail: iempes@yandex.ru*

The purpose of this review was to summarize modern concepts of endoneurial fibroblasts of peripheral nerves and their role in reparative nerve regeneration. Along with Schwann cells and macrophages, fibroblasts are the main functionally significant cells of the endoneurium. There is little information in the literature on the characteristics of fibroblasts and their role in the regeneration of damaged nerves. Recent data on the morphofunctional features of endoneurial fibroblasts, their origin in ontogenesis and their functions are presented in the review. The characteristics of immunohistochemical markers used for their identification are presented. The necessity of studying the interactions of fibroblasts with other nerve cells is emphasized to clarify their role in nerve regeneration after injury.

Keywords: nerve, endoneurium, fibroblasts, regeneration, immunohistochemistry