

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии

Материалы Всероссийской конференции
молодых специалистов

5-6 октября 2017 года

Рязань, 2017

УДК 611+616-091] (071)
ББК 28.706+52.5
A437

Редактор: ***Р.В. Деев***, к.м.н.

A437 Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии: материалы Всероссийской конференции молодых специалистов / под ред. Р.В. Деева; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: ООП УИТ-ТиОП, 2017. – 234 с.

ISBN 978-5-8423-0174-4

Сборник научных трудов составлен по материалам Всероссийской конференции молодых специалистов «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии»

УДК 611+616-091] (071)
ББК 28.706+52.5

Содержание

Р.В. Деев, Н.М. Крупнов. Патоморфология в Рязанском крае	12
Часть 1. Фундаментальная морфология: гистология, эмбриология, нормальная анатомия	19
М.А. Афанасьев. Модернизация современных методов преподавания гистологии в свете современных требований	19
А.И. Билялов, М.С. Абызова, А.А. Титова, М.О. Мавликеев, И.Я. Бозо, Р.В. Деев. Возможности применения генной терапии плазмидой рCMV-VEGF165 при заживлении полнослойного дефекта кожи у крыс после аутодермопластики	21
Д.О. Буев, А.М. Емелин, Е.В. Жарова, Р.В. Деев. Fusion-феномен в миогистогенезе: сущность явления и возможности практического применения	23
В.Е. Варенцов, Т.А. Румянцева. Возрастная экспрессия маркёра пролиферации Ki-67 в обонятельной луковице белой крысы	24
В.В. Иванова, И.В. Мильто. Влияние тотальной сиалоаденэктомии на ультраструктуру интерстициальных эндокриноцитов крыс	26
О.В. Крапивникова, Ю.И. Ухов, Н.Е. Трухина. Преемственность в преподавании морфологических дисциплин: биология, гистология, патология	28
Г.С. Лазутина, С.В. Шаршкова. Причинно-следственные факторы уплощения сводов стопы в возрастном аспекте	30
А.В. Москаленко, Д.А. Пожилов, Т.А. Румянцева. Морфометрические показатели астроцитов и плотность зрелых нейронов в обонятельных луковицах крыс разного возраста	33
А.С. Мухаметзянова, И.С. Рагинов, Ю.Г. Штырлин. Морфологическая оценка посттравматической регенерации кожи крысы под влиянием полипептидного гидрогеля	35
Н.В. Овчинникова, Н.А. Пронин, А.И. Введенский. Стимуляция репаративных процессов миокарда при лазерной акупунктуре кардиальных зон Захарьина-Геда	36
И.Л. Плакса, М.С. Абызова, М.О. Мавликеев, И.Я. Бозо, К.А. Шукис, А.С. Кулешова, Р.В. Деев. Ранние стадии репаративного остеогистогенеза при травматическом повреждении костей	39
Л.Н. Плаксина, Л.В. Логунова, О.Е. Гаврикова. Клеточная реакция при посттравматической регенерации кожи в условиях низкоинтенсивного лазерного излучения	41
О.С. Плеханова, Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук. Роль мультидоменной структуры урокиназы в регуляции ремоделирования кровеносных сосудов	43
Н.А. Пронин, П.В. Тараканов, И.Ю. Судакова. Особенности формирования и топографии экстраорганных артериальных анастомозов в области перешейки поджелудочной железы	44
Д.И. Проскунов, В.Г. Гололобов. Патогистологические аспекты в работах академика Н.Г. Хлопина (к 120-летию со дня рождения)	46
С.Э. Русакова, И.А. Одинцова, О.Е. Миргородская. Роль женщин в становлении научной гистологической школы Военно-медицинской академии	49
С.В. Сазонов, К.В. Конышев. Оцифрованные гистологические препараты при изучении гистологии в медицинском вузе	51

Д.А. Старчик, С.А. Круговихин, Т.А. Овчаренко. Использование пластинированных препаратов для преподавания патологической анатомии	53
И.П. Степанова, А.С. Каргина, С.П. Степанов, М.В. Боженкова, И.М. Куприкова, И.В. Тудор, М.В. Разгильдяева. Преподавание гистологии, эмбриологии, цитологии с использованием интернета.....	54
Д.И. Сучков, А.В. Павлов, А.А. Виноградов. Морфологические особенности гетеротопического остеогенеза при применении устройства для подготовки пломбировочной массы костных дефектов	56
А.В. Федосеев, А.С. Инютин, И.Ю. Виноградов, И.И. Виноградов, С.Н. Лебедев. Морфофизические особенности белой линии живота, как основы выбора способа её ушивания после лапаротомии	58
И.С. Цветков, Д.Ш. Джалилова, В.А. Мхитаров, К.С. Капитанова. Иммуноморфологические изменения органов иммунной системы при супрафизиологической концентрации тестостерона у мышей C57BL/6	60
И.В. Черных, Е.Н. Якушева, И.Ю. Виноградов, А.В. Щулькин. Экспрессия белка-транспортера гликопротеина-Р в коре лобной доли крыс при гипоксии разных типов..	62
М.Л. Чуркова, С.В. Костюкевич. Серотонин-иммунореактивные клетки эпителия слизистой оболочки кишки крыс при введении мелатонина и доксиламина сукцината	64
В.Г. Шестакова, В.В. Банин, Д.В. Баженов, Р.В. Деев. Морфологическое и доплерографическое изучение кровоснабжения регенерата кожи в условиях стимулированного ангиогенеза	66
А.В. Щулькин, И.В. Черных, Е.Н. Якушева, И.Ю. Виноградов. Регуляция экспрессии белка-транспортера гликопротеина-Р половыми гормонами.....	68
Часть 2. Клеточная биология и регенеративная медицина	70
И.Я. Бозо, В.С. Комлев, А.Ю. Дробышев, К.В. Ермаков, Р.В. Деев. Особенности репаративного остеогенеза под действием ген-активированных остеопластических материалов в ортотопических экспериментальных моделях	70
Д.О. Гудз, М.О. Мавликеев, Р.Ф. Масгутов, Г.А. Масгутова, И.Л. Плакса, А.А. Ризванов, Р.В. Деев. Влияние плазмидной конструкции, несущей ген <i>vegfl65</i> , на состояние скелетной мышечной ткани в модели травмы периферического нерва.....	71
П.С. Еремин, Р.В. Деев, И.И. Еремин. Оценка эффективности применения проангиогенного генного индуктора <i>pl-vegfl65</i> на процесс заживления тяжелых местных лучевых поражений.....	73
А.В. Комаров, Р.В. Деев, И.Я. Бозо, В.В. Хоминец, Д.А. Шакун. Концепция использования ген-активированного остеопластического материала при двухэтапной технике индуцирующей мембраны для восстановления целостности протяженных дефектов длинных трубчатых костей	75
Е.А. Кизилова, А.Г. Мензоров. Анализ добавочных опухолей, возникающих при проверке плюрипотентности разных линий ЭСК и ИПСК <i>in vivo</i>	76
Л.С. Литвинова, В.В. Шуплецова, К.А. Юрова, О.Г. Хазиахматова, М.Ю. Хлусова, Ю.П. Шаркеев, Е.Г. Комарова, М.Б. Седельникова, В.В. Малащенко, Е.С. Мелашенко, Е.О. Шунькин, И.А. Хлусов. Изменение фенотипа ММСК при культивировании с рельефным кальций-фосфатным покрытием	78
Д.А. Максаев, Д.Э. Сураев, А.А. Крылов, Н.Д. Мжаванадзе, Р.Е. Калинин, Р.В. Деев. Генная терапия в комплексном лечении пациентов с синдромом диабетической стопы (клинико-экспериментальное исследование).....	81

Н.А. Наволокин, Д.А. Мудрак, Н.В. Полуконова, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова. Влияние экстракта аврана лекарственного (<i>Gratiola officinalis</i> L.) на пролиферативную активность и запуск апоптоза в клетках перевиваемой саркомы 45 лабораторных крыс	85
Г.Д. Сагарадзе, А.Ю. Ефименко, В.И. Кирпатовский, Д.А. Охоботов, П.И. Макаревич, О.А. Макаревич, П.П. Нимирицкий, Н.А. Басалова, Е.О. Осидак, С.П. Домогатский, Ж.А. Акопян, А.А. Камалов, В.А. Ткачук. Разработка комбинированного препарата на основе секретируемых продуктов мезенхимальных стволовых/стромальных клеток человека для восстановления сперматогенеза.....	87
Э.К. Сидорович, А.Г. Полешко, З.Б. Квачева, Н.И. Мезен. Влияние лекарственных препаратов на астроциты мозга крысы в условиях гипоксии <i>in vitro</i>	89
Д.Н. Татарская, Т.И. Станиславович, Т.И. Кузьмина. Морфология кумулюса и функциональный статус донорских ооцитов <i>Bos Taurus</i> при пролонгировании культивировании	91
М.Р. Халиуллин, М.Н. Журавлева, Р.Ф. Масгутов, А.А. Ризванов, Р.В. Деев. Ген-активированные костные графты и их влияние на репаративный остеогистогенез	93
И.В. Холоденко, А.А. Цебоева, Р.В. Холоденко, В.В. Бурунова, М.П. Васильев, К.Н. Ярыгин. Терапевтический потенциал МСК плаценты человека при лечении травматической болезни спинного мозга.....	95
М.Г. Хотин, О.И. Александрова, Ю.И. Хорольская, А.П. Трашков, Н.А. Михайлова. Действие лекарственного препарата «Унифузол» на основные функциональные свойства эндотелиоцитов	96
О.Н. Чернова, М.О. Мавликеев, И.А. Яковлев, А.А. Титова, В.В. Соловьева, И.Г. Старостина, А.К. Зейналова, М.С. Калигин, А.А. Ризванов, А.П. Киясов, Р.В. Деев. Влияние рекомбинантного аденовируса Ad5-Dysf на скелетную мышечную ткань у дисферлин-дефицитных мышей Bla/J.....	98
Е.Ю. Шаповалова, М.Н. Морозова, Ю.Г. Барановский, Т.А. Бойко, А.Г. Барановский. Особенности заживления модельной раны у мышей на 12-е сутки после трансплантации ауто- и гетерофибробластов и дермального эквивалента	99
Часть 3. Экспериментальная патоморфология	102
Ю. Гао. Сравнительная характеристика морфологических изменений ободочной кишки при остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6	102
Д.Ш. Джалилова, А.М. Косырева, Е.А. Пономаренко. Различия реакции органов иммунной системы, печени и легких у крыс Вистар с разной устойчивостью к гипоксии при системном воспалительном ответе, индуцированном липополисахаридом	104
Д.Ш. Джалилова, М.А. Полякова, И.С. Цветков, Н.А. Золотова, М.Е. Диатроптов, В.А. Мхитаров. Морфологические и иммунологические особенности острого язвенного колита у мышей C57Bl/6 с разной устойчивостью к гипоксии	106
А.Н. Захватов, Т.В. Тарасова, И.А. Захаркин. Гистоморфометрические изменения в суставе при формировании экспериментального посттравматического остеоартроза....	108
Н.А. Золотова, С.О. Кирюхин, Д.Н. Хочанский. Ультраструктурные изменения эпителиального барьера ободочной кишки при экспериментальном остром и хроническом колите.....	110

А.В. Колесников. Клинико-морфологическая характеристика химически индуцированной экспериментальной катаракты	112
И.А. Лугин, Б.В. Троценко. Роль тканевых базофилов в процессах структурных изменений в предстательной железе белых крыс при гипокинетическом стрессе	114
Ж.Р. Омарова, В.В. Филатов, В.В. Измаилов, К.В. Буньков, К.А. Акопян. Экспериментально-морфологический анализ изменений в миокарде при гиперандрогенемии	116
А.В. Смирнов, Д.С. Медников. Уровень экспрессии Beclin 1 в гиппокампе крыс при дисциркуляторной энцефалопатии, вызванной длительным воздействием отрицательных продольных перегрузок	118
И.Ю. Мирошниченко. Экспериментальное изучение морфологических признаков диабетической энцефалопатии	120
Н.М. Тодосенко, К.А. Юрова, О.Г. Хазиахматова, Л.С. Литвинова. Эффекты синтетических глюкокортикоидов на процессы созревания и дифференцировки CD4 ⁺ CD45RO ⁺ Т-клеток при ревматоидном артрите	123
А.В. Федосеев, А.С. Инютин, А.Д. Жаныгулов, С.Ю. Муравьев, И.Ю. Виноградов, И.И. Виноградов, Е.В. Стрекалов. Выбор способа ушивания белой линии живота.....	125
С.В. Харченко. Изменения морфогенеза ветвления как фактора нарушения развития легких зародышей крыс при внутриутробном влиянии эналаприла и нифедипина	127
Н.В. Швед, И.Л. Плакса, М.О. Мавликеев, А.А. Титова. Патоморфологические изменения миокарда животных в модели хронической почечной недостаточности при применении малобелковой диеты	129
М.Р. Экова, А.В. Смирнов, Н.В. Григорьева, И.Н. Тюренков. Особенности экспрессии маркера аутофагии beclin-1 в дорсальном отделе гиппокампа крыс при комбинированном стрессе.....	131
У.П. Эргашева. Изучение морфологических изменений печени крыс при введении циклофосфана.....	133
Часть 4. Клиническая патоморфология	135
Д.О. Аллина. Новые иммуногистохимические маркеры для диагностики новообразований предстательной железы.....	135
А.А. Аристархова, С.В. Бирюков, В.Г. Аристархов, В.Н. Ермаков, Т.Р. Сергеева. Собственные наблюдения метастазирования рака почки в надпочечники.....	137
С.А. Блинова, Ф.М. Хамидова. Гиперплазия эндокринных клеток в легких у больных раком этого органа	139
О.В. Большакова. Ультраструктура аденогипофиза при интоксикации свинцом и коррекции изменений α-токоферолом	140
О.В. Выборнова, М.В. Шомова, И.Ю. Виноградов. Значение топоизомеразы IIa в плане прогноза результатов лечения у больных раком молочной железы	142
А.М. Горинова, М.В. Мнихович, К.Ю. Мидибер, С.В. Шугай, К.В. Буньков, И.В. Васин, С.В. Снегур, Ю.Г. Павлова, К.А. Акопян, О.А. Лучинина. Кость как объект метастазирования злокачественных опухолей	144
Д.Ю. Гуров, А.В. Смирнов, Б.Ю. Гумилевский, Р.П. Самусев. Морфологические аспекты клеточной гибели в атипичной лейомиоме тела матки	146
А.Г. Заманов, В.Н. Ермаков, Р.В. Деев. Симптоматические язвы желудка и двенадцатиперстной кишки: патоморфологический анализ 320 случаев	148

Л.Б. Канахина, А.А. Абрамов, И.И. Гусейнов, Д.К. Чебанов, П.П. Огурцов. Вариабельность тотальных и экзосомальных микроРНК в плазме у пациентов с меланомой	150
С.В. Кузнецов, А.А. Кузнецова, Д.В. Котков. Методика депарафинизации гистологических блоков для выделения ДНК из операционно-биопсийного и секционного биологического материала	152
С.В. Кузнецов, А.А. Кузнецова, Д.В. Котков. Порядок проведения судебно-гистологических исследований по операционно-биопсийному и секционному материалу собственными экспертными силами Главного следственного управления Следственного комитета Российской Федерации по городу Санкт-Петербургу	153
В.А. Кушнарев, Е.С. Артемьева, А.Г. Кудайбергенова. Сравнительный анализ индекса пролиферативной активности Ki67 цифровым и визуальным методом в инвазивных карциномах молочной железы	155
В.В. Лучинин, С.В. Анистратов, М.В. Мнихович, Л.М. Соломатина, А.В. Шилов, И.В. Васин, С.В. Снегур, К.А. Акопян, О.А. Лучинина. Экстрагенитальный эндометриоз: морфологическая диагностика	156
Н.С. Мелешкин. Некоторые морфологические особенности почки при индуцированной иммуносупрессии	159
К.Ю. Мидибер, М.В. Мнихович, В.Л. Загребин, Д.А. Соколов, А.Г. Эрзиева. Ангиогенез в карциноме молочной железы неспецифического типа	160
М.В. Мнихович, А.Г. Эрзиева, А.А. Горина, В.Л. Загребин, К.Ю. Мидибер. Роль белка p66shca в канцерогенезе	163
О.Б. Низовибатько, Е.С. Брыксина. Частота расщепления твердого и мягкого неба (по данным города Тамбова)	165
А.С. Одинцов, Д.Р. Слуцкая. Морфология нейронов коры больших полушарий головного мозга при эпилепсии	167
Е.А. Оленев, В.А. Головнёв, Н.В. Выговский, С.В. Соколов, В.Н. Павлик. Морфологическая картина поджелудочной железы при летальных исходах с деструктивными формами острого панкреатита	169
Ж.Р. Омарова, М.В. Мнихович, С.В. Анистратов, В.В. Лучинин, А.В. Шилов, И.В. Васин, С.В. Снегур. Саркома Капоши: морфологическая и иммуногистохимическая диагностика	171
Ж.Р. Омарова, О.Ю. Евсюков, В.В. Измайлов, А.А. Зыкин, К.В. Буньков, Д.А. Соколов, О.А. Лучинина. Морфология удвоения тонкой кишки у детей	173
Ю.Г. Павлова, С.В. Снегур, И.В. Васин, К.В. Буньков. Межклеточные и стромально-сосудистые взаимодействия в первичном опухолевом узле и в метастазах в лимфоузлы при колоректальном раке	176
Е.В. Проценко, Л.П. Перетятко. Дифференциальная диагностика наследственной, постгеморрагической и поствоспалительной гидроцефалии у новорожденных 22-40 недель гестации	178
В.А. Пчелкина, Е.А. Котенкова, Л.В. Федулова. Патогенез атеросклероза in vivo: гистологические аспекты	180
С.В. Сазонов, С.Л. Леонтьев. Система референсной диагностики рака молочной железы в Уральском федеральном округе	182

О.П. Сарыева, А.П. Вахромеев, Л.П. Перетятко. Патоморфология последов женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.....	184
О.С. Сидорук, Н.П. Можейко. Морфологическая оценка состояния печени у прижизненных доноров.....	186
Ф.А. Сипин, К.С. Севостьянова, М.Л. Филипенко, М.А. Сметанина. Изменение уровня экспрессии ряда генов, участвующих в метаболических процессах, при варикозной трансформации стенки вены	187
П.И. Слесарев, Д.В. Дианов, Р.В. Аристархов, Д.А. Пузин, С.О. Артюхин, Н.Р. Халяпина, В.Г. Аристархов, Р.В. Деев. Изменение профиля заболеваемости аденомами щитовидной железы в Рязанской области	189
М.А. Сметанина, Ф.А. Сипин, И.В. Золотухин, М.Л. Филипенко. Экспрессия гена <i>CX3CR1</i> при варикозной трансформации стенки вены.....	190
С.В. Снегур, И.В. Васин, Ю.Г. Павлова, В.В. Лучинин, С.В. Анистратов. Морфологическая оценка прогностических показателей при раке толстой кишки	192
К.П. Соловьева, М.В. Мнихович, К.Ю. Мидибер, А.Г. Эрзиева, К.А. Акопян. Экспрессия е-кадхерина и β -катенина в карциномах молочной железы неспецифического типа	194
С.Е. Соловьёва, Е.М. Пальцева, М.М. Морозова. Сопоставление морфологических и иммуногистохимических данных при вирусном поражении и остром отторжении трансплантата почки.....	196
Д.Э. Сураев, И.И. Виноградов, Р.В. Деев. Особенности строения сосудов рака молочной железы.....	198
У.Н. Туманова, А.И. Щеголев. Иммуногистохимическая характеристика васкуляризации ткани очаговой узловой гиперплазии печени в зависимости от размера узлов	199
Н.В. Фатеева, Л.П. Перетятко, Р.А. Кузнецов. Морфологические отличия структур компактного слоя гравидарного эндометрия при хронического эндометрита в ранние сроки беременности.....	201
А.В. Федотов, Н.М. Крупнов. Динамика морфологических изменений эпителиосперматогенного слоя мужских половых желез при черепно-мозговой травме.....	203
А.П. Швальб. Морфологические структуры дополнительных механизмов гемодинамики.....	205
А.В. Шестакова, А.В. Шестаков. Клинико-морфологическая характеристика структур сердца и селезенки при инфекционном эндокардите	207
А.В. Шилов, М.В. Мнихович, Р.Е. Калинин, И.А.Сучков. Реактивность эндотелия: экспериментальное исследование с N-нитро-L-аргинин метиловым эфиром.....	209
М.А. Селезнева, М.В. Мнихович, С.В. Анистратов, В.В. Лучинин, А.В. Шилов, И.В. Васин, С.В. Снегур, Ю.Г. Павлова, К.В. Буньков. Гетерогенность рака молочной железы: предпосылки к прогнозу	211
Г.А. Юнси, С.А. Василенко, И. Юнси. Монографическое описание вспышки туберкулеза крупного рогатого скота в Красногвардейском районе Республики Крым	214

Часть 5. Case reports	216
А.А. Бонацкая, И.И. Виноградов. Периваскулярная эпителиоидноклеточная опухоль (РЕСома) брюшинного пространства	216
Д.Е. Кузьмичев, И.М. Вильцев, С.В. Чирков. К вопросу морфологической диагностики некоторых заболеваний эндокринных желез	217
А.С. Кулешова, Ю.Г. Павлова, И.И. Виноградов, И.В. Васин. Случай ранней метастатической меланомы	219
М.О. Мавликеев, А.А. Титова, А.Т. Чебокакова, И.Л. Плакса, Н.Ф. Гизатуллина, А.П. Киясов, Р.В. Деев. Случай синдрома Кароли: клиничко-лабораторные особенности и патогистологический анализ	221
М.В. Мнихович, К.Ю. Мидибер, С.В. Шугай, К.В. Буньков, И.В. Васин, С.В. Снегур, Ю.Г. Павлова, К.А. Акопян. Краниальные метастазы рака молочной железы.....	223
И.Л. Плакса ² , М.В. Пешков, Е.М. Харланова, В.М. Кравцова, Р.В. Деев. Патогистологическая характеристика костного мозга пациентов со злокачественным остеопетрозом	225
И.Л. Плакса, С.С. Савин, Е.М. Харланова, В.М. Кравцова. Системный мастоцитоз: клиничко-морфологический анализ пяти случаев пациентов с редким заболеванием ...	227
А.А. Романова, В.И. Рыбкина. Злокачественное новообразование тонкого отдела кишечника (случай из практики)	230
К.А. Шукис, И.И. Виноградов, Е.В. Страхов, Р.В. Деев. Необходимость применения иммуногистохимического метода для диагностики новообразований на примере клинического случая опухоли щитовидной железы	232

Уважаемые гости, дорогие участники конференции!

Один из крупнейших вузов, Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, готовится отметить свой 75-летний юбилей.

В 1950 году в честь празднования 100-летия выдающегося академика Ивана Петровича Павлова вуз был переведен на Рязанскую землю, переименован в Рязанский медицинский институт и, унаследовав все лучшее от основанного в 1943 году Третьего московского медицинского института Наркомздрава РСФСР, начал работать, имея в составе один лечебный факультет. Сегодня РязГМУ – это многонациональный университет, который готовит более 7000 будущих специалистов разного профиля по девяти направлениям подготовки.

Сложно переоценить значение фундаментальной подготовки обучающихся, поэтому уделяется самое пристальное внимание развитию естественно-физиологического и морфологического направлений в Alma mater, где изначально сложилась весьма самобытная морфологическая школа.

Ее особенность в том, что специалисты фундаментального направления – гистологи, экспериментаторы и клинические морфологи развивались совместно, триедино. Всемирную известность и заслуженное признание получили такие сотрудники университета как профессор Вячеслав Константинович Белецкий – основатель научной морфологической школы в Рязани; Ювеналий Васильевич Постнов, Юрий Иванович Ухов, Петр Андреевич Чумаченко, Виталий Георгиевич Папков.

Мы рады приветствовать начало работы конференции «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии», которая собрала в Рязани ведущих специалистов, чтобы обсудить самые современные достижения науки, имеющие перспективную возможность в ближайшее время быть транслированными в диагностический процесс и клиническую практику.

Ни для кого не секрет, что медицина XXI века уже названа биомедициной; это означает, что в наш учебный процесс в оперативном порядке должны быть внесены передовые данные биомедицинских исследований, а студенты обучены пониманию и даже применению современных биомедицинских лечебно-диагностических средств. Для нас это не декларация, а план работы, реализуемый профессорско-преподавательским составом Университета. Развитие новых направлений – молекулярной и клеточной биологии, биофармацевтической и других областей, востребованных современной клинической практикой, стимулирует выход педагогического процесса на новый уровень. Так, в 2017 году в рамках ЦНИЛ создана лаборатория клеточного культивирования, собраны научно-педагогические группы для практически важных гистологических и генетических исследований из числа клиницистов и исследователей морфологов и биохимиков; важно, что значительная доля работы в этих коллективах выполняется студентами.

Мы приветствуем деловые научные контакты между сотрудниками и студентами Университета и клиническими и научно-исследовательскими учреждениями и лабораториями Рязани и страны в целом. Уверен, что проводимая конференция позволит усилить имеющиеся связи, приобрести новые научные кооперации.

*Ректор ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
профессор Р.Е. Калинин*

Р.В. Деев^{1,2}, Н.М. Крупнов³

Патоморфология в Рязанском крае

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (1)*

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (2)

ГБУ РО «Бюро судебно-медицинской экспертизы», Рязань, Россия (3)

R.V. Deev, N.M. Krupnov

Pathomorphology in Ryazan Region

Развитие морфологических дисциплин в Рязанской области было неразрывно связано с нуждами практического здравоохранения – патологоанатомической службой и службой судебно-медицинской экспертизы.

Судя по архивным документам, судебно-медицинская экспертиза с исследованием тел погибших и микроскопированием их тканей производилась в Рязанской губернии уже во второй половине XIX века. Так, указывается, что в 1868 году в регионе было произведено 220 исследований трупов [1]. Не смотря на востребованность этого вида исследований, обеспеченность службы оставляла желать лучшего, даже не смотря на принятые в 1919 году решения об организации подотдела медицинской экспертизы при Губернском отделе здравоохранения со штатом 12 уездных медицинских экспертов и заведующим. Первые десятилетие становления новой системы здравоохранения сопровождалось известными сложностями. Современник свидетельствует: «Осмотры и вскрытия трупов в г. Рязани производятся в двух местах: уездные трупы в деревянной, пристроенной покойницкой уездной больницы (в течение года около 100 трупов) и в покойницкой губбольницы; здесь производятся исследования трупов по г. Рязани (свыше 100 в год).

...Совершенно неудовлетворительно в уездах состояние покойницких, в городах – не многим лучше. Суд.-мед. эксперт Сасовского уезда д-р К. сообщает, что в половине ноября прошлого года отстроена новая мертвецкая с удобствами, небывалыми для Сасова... Но Сасов – это лишь первая ласточка, в других местах ничего нет.

...Трудно вскрывать врачу на открытом воздухе, при сильном морозе! В избу его не пускают, в баню – весьма редко, с большим нажимом. Крестьянин боится трупа, боится осквернения бани: «ну, иди, если нельзя иначе. А я баню все равно после сожгу или разберу»! [2].

Организация полноценной патологоанатомической службы Рязанской области связана с именем Заслуженного врача РСФСР Петра Захаровича Котлярчука, который приехал в Рязань из Москвы. По сути, до этого момента в городе не существовало ни структурированной службы, ни организованных патологоанатомических отделений. Большая организационная работа привела к появлению патологоанатомических отделений в больницах города и облас-

ти, формированию организационно-методического центра морфологических исследований – городской прозектуры [3].

Перенос в город медицинского института коренным образом изменил ситуацию с подготовкой высококвалифицированных кадров не только для системы здравоохранения Рязанской области, но и для патологоанатомической и судебно-медицинской служб.

Как известно кафедра патологической анатомии вместе с другими подразделениями мединститута была переведена в Рязань из Москвы к 1950 году. Следует отметить, что руководитель кафедры медицинского института Наркомздрава РСФСР – крупнейший врач и ученый профессор В.Т. Талалаев умер в 1947 году и, разумеется, не участвовал в организации педагогического процесса в новых стенах (кафедра располагалась в 7 корпусе больницы им. Н.А. Семашко [4]). Для этого был приглашен фронтовой патологоанатом и судебно-медицинский эксперт профессор Борис Петрович Угрюмов.



*Первый заведующий кафедрой патологической анатомии
Рязанского медицинского института – профессор Б.П. Угрюмов*

Борис Петрович закончил Императорскую Военно-медицинскую академию в 1914 году. Участвовал в Первой мировой войне, а с 1918 года служил в Красной армии, воевал на полях Гражданской войны. С 1941 года доцент кафедры патологической анатомии Военно-морской медицинской академии. В годы войны руководил отделениями в госпиталях на Черноморском и Балтийском флотах. Был уволен из Вооруженных сил в 1946 году, после чего продолжал профессиональную деятельность в Риге и позднее – с 1950 года, в Рязани. Автор более 30 печатных работ по общим вопросам патологической анатомии и судебной медицины.



*Основоположник рязанской школы патоморфологии –
профессор В.К. Белецкий*

После непродолжительного периода руководства кафедрой доцентом А.В. Сосуновым, в 1954 году научно-педагогический процесс возглавил харизматичный ученый с мировым именем, ученик профессора В.Т. Талалаева – Вячеслав Константинович Белецкий. За более чем 20-летний период работы в Рязанском медицинском институте (из них руководил кафедрой с 1954 по 1971 гг.) ему удалось создать самобытную рязанскую школу морфологов. Как указывает профессор Ю.И. Ухов (сам – ученик В.К. Белецкого): «Круг научных интересов Белецкого очень широк. Он изучает нервную систему и патологию психических заболеваний, инфекционную патологию и патологию военной травмы, проблемы онкологии, в частности – нейроонкологию. Большое внимание В.К. Белецким было уделено изучению структур нормальной нервной системы, их эмбриогенезу и изменениям при различных нервно-психических заболеваниях» [5]. Свои исследования профессор нередко публиковал в международной научной периодике, в частности в знаменитом Вирховском архиве. Его научные работы, посвященные «мезенхиме» ЦНС – мезоглии (ретикулярная строма в сочетании с клетками гистиоцитарного ряда) и, по его мнению – олигодендроцитами, стали классическими и составляют важную историческую веху нейроморфологии.

Развивая исследования В.Т. Талалаева, Вячеслав Константинович проводит систематическое изучение патологической патоморфогенеза ревматизма с привлечением сотрудников кафедры Института и фактически на много лет делает это актуальное для здравоохранения направление ведущим в кафедральных научных исследованиях. «Разносторонняя творческая деятельность профессора В.К. Белецкого была связана с его широкой эрудицией. Передача этих знаний молодому поколению отразилась в результатах его педагогической деятельности. Им воспитано большое число научных работников,

под его руководством выполнено и защищено 47 кандидатских и 9 докторских диссертаций. Его контакты с учениками не ограничивались только занятиями, он старался привить им любовь к искусству, природе, ко всему, что входит в понятие жизнь» [5].

Память о выдающемся ученом - профессоре В.К. Белецком увековечена мемориальной доской на стене одного из корпусов Клинической больницы им. Н.А. Семашко. Важно отметить, что в 2016 году Ученый совет РязГМУ принял решение для поддержки молодых исследователей-морфологов основать именную профессорскую стипендию (одну из трех в Университете) и присвоить ей имя Вячеслава Константиновича; в соответствии с Положением об этой выплате ежемесячно ее получает наиболее успевающий в учебе и морфологических исследованиях студент.

Позднее кафедрой руководили Заслуженный деятель науки Ю.И. Ухов, Ю.Л. Сутулов, В.А. Васин.

Нельзя не упомянуть о еще одном выдающемся выпускнике Рязанского медицинского института и кафедральной аспирантуры (тема диссертации «Материалы к гистопатологии кожи при ревматизме», 1959) – Ювеналии Васильевиче Постнове (1929-2010), который также был учеником В.К. Белецкого и около 5 лет работал на кафедре. В дальнейшем он трудился в Москве и оттачивал знания и навыки, полученные в Рязани в Канаде, в лаборатории Ганса Селье. Исследования мембранного транспорта, ренин-ангиотензиновой системы привели его к обоснованию мембраногенной теории патоморфогенеза гипертонического болезни. Длительное время (1969-1989 гг.) Ювеналий Васильевич был руководителем патологоанатомической службы «кремлевской медицины». Им опубликованы более 300 работ в отечественных и зарубежных журналах, а также монография "Первичная гипертензия как патология клеточных мембран" (1987). В соавторстве с С.Н. Орловым он сделал открытие в области медицины — "Явление распространенного нарушения транспорта катионов в плазматической мембране клеток при первичной артериальной гипертензии" (внесено в реестр открытий СССР под № 280 от 23 сентября 1983 г.). Он являлся Заслуженным деятелем науки и членом-корреспондентом РАМН; входит в число 100 наиболее цитируемых ученых нашей страны. Ю. В. Постнову присуждены премии Международного (Гейдельберг, 1986) и Европейского (Милан, 1995) научных обществ по артериальной гипертензии, премия им. Н. С. Короткова (Научное общество по изучению артериальной гипертонии, М. 1999).

Важной вехой стало присоединение в 1988 году кафедры судебной медицины в качестве отдельного курса (с 2013 года курсом руководит профессор И.Б. Бойко). Не смотря на организационно-штатные преобразования, курс преподается непосредственно в бюро судебно-медицинской экспертизы и пользуется постоянной действенной поддержкой и врачей-экспертов, и руководства Бюро (с 2008 года начальник – к.м.н. Н.М. Крупнов), что чрезвычайно важно для качества преподавания и понимания студентами специфики этого раздела медицины.

Длительный период жизни коллектива связан с деятельностью профессора Петра Андреевича Чумаченко, который заведовал подразделением с 1981 по 2013 гг. В это время основными научными направлениями кафедры стали исследования патоморфологии эндокринной системы и маммогенеза. Перу Петра Андреевича принадлежат свыше 230 научных работ, среди них – 7 монографий: Молочная железа и эндокринный гомеостаз (1987), Молочная железа: морфометрический анализ (1991), Молочная и щитовидная железы (морфофункциональные отношения) (1997), Молочная железа и яичник (морфофункциональные отношения) (1998), Молочная железа и надпочечник (морфофункциональные отношения) (2001), Молочная железа и гипофиз (морфофункциональные отношения) (2005), Молочная железа и эндокринный комплекс (морфофункциональные отношения) (2007).

В период с 2013 по 2016 гг. кафедру возглавлял опытейший морфолог, учитель нескольких тысяч выпускников Рязанского медицинского института, ученик профессора В.К. Белецкого – Виталий Георгиевич Папков.

В 1966 г. В.Г. Папков поступил в заочную аспирантуру на кафедре патологической анатомии РМИ; в 1969 году он защитил кандидатскую диссертацию на тему «Морфологические изменения тимуса при ревматизме». Своим интересом к специальности патологоанатома В.Г. Папков был обязан Вячеславу Константиновичу Белецкому. Интересные клинические разборы, проводимые Учителем, увлеченное совместное микроскопирование возбудило в молодом враче желание посвятить себя морфологии. Как показал весь дальнейший профессиональный путь Виталия Георгиевича, В.К. Белецкий не ошибся, называя его: «удачным избранником «по первому взгляду».



Профессор В.Г. Папков, руководил кафедрой патологической анатомии с курсом судебной медицины РязГМУ в период 2013-2016 гг.

Педагогическую и научную работу В.Г. Папков совмещал с административными функциями – трудился заместителем декана лечебного факультета, а затем – заведующим отделом аспирантуры и ординатуры. Несмотря на большую загруженность, Виталий Георгиевич так сумел выстроить свою работу, что постепенно накопил научный материал для представления в качестве докторской диссертации. Окончание диссертационного исследования совпало переходом в качестве преподавателя на курс судебной медицины (1992-2015). Докторская диссертация была успешно защищена в 1993 году; тема: «Функциональная морфология эндокринной системы при различных заболеваниях с хронической недостаточностью кровообращения».

Виталий Георгиевич являлся автором и соавтором более 150 научных и учебно-методических работ. Основное направление его научных исследований – это проблемы морфологических изменений гипоталамуса, гипофиза и надпочечников при различных видах насильственной и ненасильственной смерти. Исследования в этой области реализовались в работах его учеников – под руководством В.Г. Папкова защищены 4 кандидатские диссертации [6]. Кафедра ежегодно выпускает в практическое здравоохранение обученных специалистов – врачей патологоанатомов и судебно-медицинских экспертов, пополняя таким образом пул специалистов Рязанской области, что делается в тесном взаимодействии с патологоанатомической службой и службой судебно-медицинской экспертизы региона.

С декабря 2016 года на должность заведующего кафедрой Ученый совет Университета выбрал по конкурсу к.м.н. Деева Романа Вадимовича.

Современный этап развития кафедры связан с преобразованиями в системе преподавания фундаментальных и клинических дисциплин. За более чем трехсотлетнюю историю развития клинической морфологии человечество прошло путь от создания первого микроскопа, до внедрения в диагностическую практику молекулярно-генетических методов исследования, причем реализуются эти методы, в том числе и на традиционном для морфологов материале биопсий, гистологических препаратах. Новые вызовы современного развития медицины требуют от коллектива кафедры разработки новых подходов как в преподавании дисциплины и практической деятельности, так и в профессиональной ориентации молодежи. Сохраняя практическую ориентацию преподавания, становой хребет патологической анатомии – классические знания о макро- и микроскопическом исследовании тел умерших, структурных изменениях тканей и органов при различных заболеваниях, все большее значение приобретают аспекты прижизненной биопсийной диагностики. Интересным вызовом стало присоединение к кафедре курса «генетика», что в перспективе позволит вывести на новый уровень возможности патоморфологической работы.

Современные научные направления исследований на кафедре находятся в стадии формирования, однако уже сегодня можно говорить о том, что основными из них становятся изучение ангиогенеза при различных патологических состояниях, в том числе и при онкогенезе; молекулярные и клеточные основы развития заболеваний при врожденных (генетических) и приобретенных патологических процессах в органах опорно-двигательного аппарата; он-

когенетика. Развитие научного процесса стимулирует выход педагогического процесса на новый уровень, в связи с чем большое внимание уделяется коллаборации с клиническими и исследовательскими подразделениями Университета (в рамках ЦНИЛ создана лаборатория клеточного культивирования, приобретен генетический анализатор, создается современная гистологическая лаборатория), а также ведущими клиническими и научно-исследовательскими учреждениями и лабораториями Рязани и страны в целом.

Литература:

1. 75 лет Бюро судебно-медицинской экспертизы Рязанской области. – Рязань: ООО Эмпирикон, 2013.
2. Лейбович Я. О рязанском губернском совещании по судебно-медицинской экспертизе и постановке экспертизы в Рязанской губернии / Я. Лейбович // Вопросы здравоохранения. – 1928. – №10. – С. 60-65.
3. Крупнов Н.М., Турбина Г.В., Ермаков В.Н. У истоков патологоанатомической службы // В кн.: 75 лет на службе здоровью (История патологической анатомии Рязанской области) / под ред. Н.М. Крупнова. – УЗО Рязанской области. – 2004. – С. 8-20.
4. Чумаченко П.А. Кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины // В кн.: 75 лет на службе здоровью (История патологической анатомии Рязанской области) / под ред. Н.М. Крупнова. – УЗО Рязанской области. – 2004. – С. 31-36.
5. Ухов Ю.И. 50 лет научной школы В.К. Белецкого на рязанской земле // В кн.: 75 лет на службе здоровью (История патологической анатомии Рязанской области) / под ред. Н.М. Крупнова. – УЗО Рязанской области. – 2004. – С. 23-31.
6. Виталий Георгиевич Папков – более полувека служению медицине // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2017. – Т. 25, №2. – С. 332-335.

Часть 1

Фундаментальная морфология: гистология, эмбриология, нормальная анатомия

М.А. Афанасьев

Модернизация современных методов преподавания гистологии в свете современных требований

*ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия
(afanasyev.ma@1msmu.ru)*

М.А. Afanasyev

Modernization of current methods of teaching histology in terms of modern requirements

Изучение учебного курса будущими врачами (по специальностям: «лечебное дело», «медико-профилактическое дело», «педиатрия», «стоматология») в медицинских вузах и на медицинских факультетах университетов нашей страны традиционно начинается с освоения фундаментальных дисциплин. В соответствии с современными ФГОС высшего образования по разным направлениям подготовки (уровень специалитета), наряду с изучением гуманитарного, социального экономического, математического циклов, студенты-медики на младших курсах изучают ряд дисциплин естественнонаучного цикла. К числу последних принадлежит «гистология, цитология и эмбриология». Гистология закладывает основы научного структурно-функционального подхода в анализе жизнедеятельности практически здорового человеческого организма. При изучении гистологии с позиции компетентностного подхода в обучении студент должен, во-первых, закрепить навыки микроскопии препаратов, полученные на кафедре биологии, а самое главное – уметь распознавать (идентифицировать) микропрепараты, описывать морфологические структуры их. К сожалению, опыт преподавания на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии Первого МГМУ имени И. М. Сеченова показал, что требуемый уровень освоения гистологии невелик, что обусловлено, в первую очередь, необходимостью изучения большого количества учебного материала и неумением обобщать и систематизировать его. Последнее обстоятельство оказывается крайне важным для последующей интеграции полученных знаний, умений и навыков студентов на старших курсах при освоении смежных дисциплин (в частности, патологической анатомии). В этой связи, на кафедре, помимо самостоятельной работы с гистологическими микропрепаратами на учебных занятиях и, при необходимости, во внеаудиторное время в лаборато-

риях (учебных комнатах), с успехом внедряются современные мультимедийные технологии. В частности, благодаря содействию администрации вуза, все лаборатории оснащены цифровыми микроскопами - микровизорами, соединёнными с широкоформатными ЖК-мониторами, что позволяет повышать эффективность изучения микропрепаратов. Совместное исследование преподавателя со студентами полученного с гистологического препарата изображения, с одной стороны, позволяет педагогу наглядно объяснять на тематических занятиях учебный материал, с другой – даёт возможность последнему осуществлять объективный контроль усвоенного (увиденного) материала на контрольных занятиях - диагностикумах. Именно объективизация изображений с микропрепаратов позволяет результативно осваивать гистологию. После такого «коллективного» разбора учебных микропрепаратов у студентов появляется возможность для самостоятельной микроскопии. С целью более эффективного запоминания гистологических препаратов учащимся предлагается зарисовать их изображения в учебных альбомах с соответствующими подрисовочными подписями. Помимо этого, в Университете с 2011 года существует виртуальное образовательное пространство - Единый образовательный портал (ЕОП), с помощью которого для подготовки к каждому тематическому занятию студенты могут выполнять обучающие тестовые задания. Здесь же размещаются варианты домашних заданий, теоретические вопросы, контрольные задачи и список микропрепаратов для подготовки к промежуточной аттестации по гистологии, а также другая полезная информация (в частности, возможные темы рефератов, список литературы для углублённого изучения гистологии). ЕОП непрерывно развивается, в т.ч., благодаря активной работе саморазвивающегося профессорско-преподавательского состава кафедры. В связи с увеличением из года в год численности студентов-медиков, в Университете при фиксированном штатном педагогическом составе возникает необходимость в привлечении элементов дистанционной формы обучения будущих специалистов в области здравоохранения. При наличии программно-технической поддержки в обозримой перспективе будет создан и загружен на соответствующие страницы ЕОПа электронная версия гистологического атласа с возможностью последующей интеграции в иллюстративный материал тестовых заданий для проверки умений диагностики препаратов по гистологии. Уже сейчас, возможности ЕОПа используются в качестве одного из этапов промежуточной аттестации (централизованное тестирование по гистологии). Контрольные тесты т.н. «закрытого» типа при этом генерируются из общего банка тестовых заданий (обновляется ежегодно), подготовленного сотрудниками кафедры. Успешное выполнение тематических тестовых заданий при подготовке к каждому лабораторно-практическому занятию позволяет выпускникам кафедры без особых затруднений выполнять задания централизованного тестирования. Кроме того, разработка подобных заданий на смежных кафедрах соответствующего профиля обеспечивает преемственность преподавания морфологических дисциплин в Университете. Таким образом, разумное сочетание традиционного подхода в обучении с современными образовательными технологиями (получившими

название в кругу специалистов как «виртуальная гистология») позволяют с высокой эффективностью использовать интеллектуальный потенциал учащихся в высшей медицинской школе.

Литература:

1. Афанасьев М. А. Использование компьютерных технологий в педагогическом процессе на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии // *Alma mater* (Вестник высшей школы). – 2017. – №3. – С. 57-60.
2. Смирнов А.В., Гуров Д.Ю. Новые образовательные подходы преподавания дисциплин морфологического профиля в вузе // *Волгоградский научно-медицинский журнал*. – 2012. – №1. – С. 99-100.

А.И. Билялов¹, М.С. Абызова^{1,2}, А.А. Титова¹,
М.О. Мавликеев¹, И.Я. Бозо³, Р.В. Деев^{3,4}

Возможности применения генной терапии плазмидой pCMV-VEGF165 при заживлении полнослойного дефекта кожи у крыс после аутодермопластики

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия (1)
Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия (2)
Институт Стволовых Клеток Человека, Москва, Россия (3)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Рязань, Россия (4)
(BilyalovAir@yandex.ru)

A.I. Bilyalov¹, M.S. Abyzova^{1,2}, A.A. Titova¹,
M.O. Mavlikeev¹, I.Y. Bozo³, R.V. Deev^{3,4}

Possibilities of using gene therapy with plasmid pCMV-VEGF165 in the healing of a full-thickness skin defect in rats after autodermoplasty

Актуальность. Помимо травм, дефекты кожи являются частыми проявлениями таких распространенных заболеваний, как сахарный диабет и варикозная болезнь вен нижних конечностей. Так, по данным Минздрава за 2015 г., в России у 220 тыс. человек имелись диабетические язвы, у 186 тыс. человек – трофические язвы, с ожогами было госпитализировано 150 тыс. человек [1]. В общемировом масштабе, по статистике ВОЗ за 2014 г., 21,1 млн. больных сахарным диабетом страдали от язвенных поражений кожи [2]. Совокупное число пациентов с повреждениями кожи в России составляет около 500 тыс. человек в год. Одним из методов хирургического лечения данной патологии является аутодермопластика [3, 4].

Цель исследования состояла в оценке влияния генной терапии плазмидой pCMV-VEGF165 на заживление дефекта кожи после аутодермопластики у крыс.

Материал и методы. Под эфирным наркозом на предварительно выбритом участке межлопаточной области у крыс (самцы линии Wistar, вес 250-300г, n=16) выполняли отсепаровку полнослойного кожного лоскута размерами 2×2 см, который реплантировали и фиксировали по периметру узловыми швами (викрил 4/0).

Животным экспериментальной группы внутрикожно вводили 1 мл раствора, содержащего 0,3 мг сверхскрученной плазмиды pCMV-VEGF165, по периферии дефекта кожи в восемь точек (по 125 мкл на одну точку) сразу после проведения операции. Животным контрольной группы (n=8) производили инъекцию 1 мл 0,9% раствора NaCl.

Оценку результатов и забор материала (аутоотрансплантата и части интактной кожи) производили на 3, 6, 9, 12, 18 суток. Приживление кожного лоскута оценивали макроскопически и с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Парафиновые срезы кожного лоскута окрашивали гематоксилином и эозином и иммуногистохимически (α ГМА), производили морфометрический анализ размеров кожного дефекта и количества сосудов в поле зрения. Статистический анализ результатов проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни в программе STATISTICA 8.0. с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты. В одном случае из восьми в экспериментальной группе наблюдалось полное приживление аутоотрансплантата, в контроле во всех случаях наблюдалась гибель пересаженного кожного лоскута.

В экспериментальной группе макроскопически полная гибель лоскута отмечается на 6 сут., на 3 дня позже, чем в контроле.

По данным ЛДФ было выявлено, что процессы ангиогенеза наиболее интенсивно происходят под лоскутом, преимущественно в краевых зонах, однако межгрупповые различия показателя объемного кровотока в центральных участках не были статистически значимы. Так, сразу после операции объемный кровоток под лоскутом в экспериментальной группе был снижен до $70,53 \pm 9,5$ % (за 100% принято кровообращение в неповрежденном участке кожи); через 3 сут. составлял $38,0\% \pm 5,9$; через 6 сут. - $59\% \pm 5,9\%$; на 9 сут. - $56,9 \pm 5,9\%$; на 12 сут. - $59,9\% \pm 4,5\%$, на 18 сут. $88\% \pm 3,5\%$.

Гистологический анализ показал, что в экспериментальной группе в отличие от контроля кожная мышца сохранялась жизнеспособной. При этом в одном случае из восьми наблюдалось полное приживление кожного лоскута, эпидермис и дерма имели строение, сходное с интактной кожей.

Морфометрически установлено, что размеры раневого дефекта в экспериментальной группе на 12 сут. составляли $5,52 \pm 4,80$ мм, в контроле - $12,45 \pm 0,82$ мм ($p = 0,03$), а на 18 сут. $2,53 \pm 2,94$ мм, в контроле - $4,23 \pm 3,5$ мм ($p > 0,05$).

В экспериментальной группе количество сосудов грануляционной ткани в центре к 18 сут. было статистически значимо больше по сравнению с контрольной группой и составляло: под лоскутом $26 \pm 2,9$, тогда как в контроле 20 ± 8 , по периферии - $27 \pm 3,4$ и $12,1 \pm 3,9$, соответственно, в кожной мышце - $21,2 \pm 3,9$ и $12,4 \pm 3,6$ ($p < 0,05$), соответственно.

Выводы. Был получен положительный результат приживления кожного лоскута в одном из восьми случаев. Генная терапия плазмидой pCMV-VEGF165 стимулирует реэпитализацию кожного дефекта и образование сосу-

дов под аутоотрансплантантом. Однако требуются дополнительные исследования для детализации и корректировки механизмов воздействия плазмиды при лечении кожных дефектов.

Финансирование. Проект финансируется грантом РФФИ (14-45-00018). Плазида предоставлена ПАО «ИСКЧ».

Литература:

1. Alexandrov G. A., Polikarpov A., Golubev N. The incidence of russian adult population in 2015 // Stat. Vestnik. Minzdrav. – 2015. – P. 27-29.
2. World Health Organization [CHE]. Global report on diabetes. – Geneva: WHO, 2016.
3. Game F.L., Attinger C. Effectiveness of interventions to enhance healing of chronic ulcers of the foot in diabetes: a systematic review // Diab. Metab. Res&Rev. – 2016. – №32. – P. 154-158.
4. Alexiadou K.A., Doupis J. Management of diabetic foot ulcers // Diab. Ther. – 2012. – №3. – P. 1-15.

Д.О. Буев, А.М. Емелин, Е.В. Жарова, Р.В. Деев

Fusion-феномен в миогистогенезе: сущность явления и возможности практического применения

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

D.O. Buev, A.M. Emelin, E.V. Zharova, R.V. Deev

Fusion-phenomenon in myogistogenesis: essence and possibilities of practical application

Феномен слияния клеток (fusion-феномен) является одним из важнейших этапов в гистогенезе различных структур – скелетных мышечных волокон, образовании синцитиотрофобласта, симпластов моноцитарного происхождения и др. Однако, до настоящего времени этот процесс остается недостаточно изученным. Кроме того, он наблюдается и в экспериментальных моделях *in vivo*; описано слияние некоторых видов клеток с клетками реципиента после трансплантации.

В настоящий момент в медицинской практике нет эффективных методов этиотропного и патогенетического лечения наследственных миопатий. К перспективным развивающимся методам лечения относятся технологии, позволяющие выполнить коррекцию миодистрофического фенотипа ткани путем доставки необходимых генов в пораженные мышечные волокна – генная терапия и редактирование генома. К возможным способам доставки относится группа генно-клеточных методов, при реализации которых кодирующие нуклеиновые кислоты попадают в ядро «клетки реципиента» после слияния с клеткой-вектором. Имеются указания на успешные эксперименты с использо-

ванием различных видов живых клеток [1]. В рассматриваемом контексте клетки-векторы должны обладать способностью образовывать новые мышечные волокна, либо обладать способностью слияния с уже существующими мышечными волокнами. Возможным кандидатом на роль такого вектора являются: CD133⁺ гемопоэтические стволовые клетки, для которых показана возможность слияния с элементами различных дифференцированных (мезенхимальными мультипотентными стромальными клетками, клетками с индуцированной плюрипотентностью и миобластами) [1].

Установлено, что несколько групп химических веществ могут выступать в качестве индукторов клеточного слияния в экспериментах *in vitro*, например: полиэтиленгликоль, лизолецитин, моноолеат глицерина, форсколин: [2, 3], также показана способность форсколина положительно влиять на прирост мышечной массы [4].

Таким образом, отработка режимов индукции fusion-феномена *in vitro* с различными видами клеток позволит найти наиболее оптимальный подход для посттрансплантационной терапии в случае необходимости эффективной доставки геннотерапевтических агентов в скелетную мышечную ткань.

Литература:

1. Деев Р.В., Мавликеев М.О., Бозо И.Я. и др. Генно-клеточная терапия наследственных заболеваний мышечной системы: современное состояние вопроса // Гены и клетки. – 2014. – IX(4). – С. 6-33.
2. Nakornchai S., Falconer A.R., Fisher D. et al. Effects of retinol, fatty acids and glycerol monooleate on the fusion of chick embryo myoblasts *in vitro* // Biochimica et Biophysica acta. – 1981. – 643(1). – P. 152-160.
3. Robinson J.M., Ackerman W.E 4th, Behrendt N.J., Vandre D.D. While Dysferlin and Myoferlin Are Coexpressed in the Human Placenta, Only Dysferlin Expression Is Responsive to Trophoblast Fusion in Model Systems // Biol. Reprod. – 2009. – 81(1). – P. 33-39.
4. Godard M.P., Johnson B.A., Richmond S.R. Body composition and hormonal adaptations associated with forskolin consumption in overweight and obese men // Obes. Res. – 2005. – 13(8). – P. 1335-1343.

В.Е. Варенцов, Т.А. Румянцева

Возрастная экспрессия маркера пролиферации Ki-67 в обонятельной луковице белой крысы

*ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет»
Минздрава России, кафедра анатомии человека г. Ярославль, Россия*

V.E. Varentsov, T.A. Rumyanceva

Age expression of Ki-67 in the olfactory bulb in rats

Актуальность. К зонам мозга животных, в которых на протяжении всей жизни сохраняется нейрогенез, относят субвентрикулярную зону латеральных

желудочков (SVZ) и субгранулярную зону гиппокампа (SGZ). Новообразованные нейроны из SVZ и SGZ мигрируют в ростральном направлении, миграция носит тангенциальный характер на всем протяжении рострального миграционного потока (РМП). Лишь достигнув середины обонятельной луковицы (ОЛ), цепочки новорожденных нейронов распадаются, и клетки начинают радиальную миграцию. Так они достигают наружных клеточных слоёв ОЛ, где происходит их окончательная дифференцировка. Мигрирующие нейробласты расходятся в радиальном направлении во все слои ОЛ, формируя множественные синаптические контакты, интегрируясь в синаптическую сеть.

Наличие селективных маркёров для выявления мигрирующих, пролиферирующих и дифференцирующихся нейробластов необходимо для изучения тонкостей нейрогенеза как процесса, течение которого контролируется разнообразными факторами.

Одним из маркеров пролиферации является Ki-67, антиген Ki-67 присутствует во всех активных фазах клеточного цикла (G_1 , S, G_2 и M), но отсутствует в покоящихся клетках (G_0), является ядерным белком, связанным с транскрипцией р-РНК в ядрышках клетки. Уникальный паттерн экспрессии позволяет использовать Ki-67 в качестве маркера нейрогенеза на стадии пролиферации клеток.

Цель. Установить возрастные особенности распределения Ki-67 в различных слоях ОЛ крыс.

Материал и методы. Исследование проведено на 15 крысах самцах линии Wistar разного возраста: плоды (20 сутки внутриутробного развития), 1, 3, 7, 14, 21 и 60 сутки жизни. Объект исследования обонятельные луковицы. Ki-67 выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител (ab16667, UK, 1:100) и вторичных антител (ab97051, UK, 1:1000) с пероксидазной меткой на парафиновых парасагиттальных срезах ОЛ. На каждом срезе определяли плотность нейронов в слоях ОЛ (шт./мм²), по 100 клеток в каждом случае. Анализ и обработку полученных изображений проводили с помощью программы ImageJ и Microsoft Excel 2010. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента, уровень значимости различий $p < 0,05$.

Результаты. Позитивные клетки распределялись в трёх слоях ОЛ: в гломерулярном, гранулярном и субэпендимальном. По плотности распределения хроматина в ядре позитивных клеток можно выделить 2 субпопуляции: с ядрами с гетерохроматином и ядра с эухроматином.

В гломерулярном слое ОЛ позитивность к Ki-67 выявляется в ядрах нейронов. Иммунопозитивные клетки диффузно распределены на фоне негативных. У плодов определяются множественные, бобовидной формы ядра перигломерулярных клеток, содержащие в основном эухроматин (относительная плотность $1935,0 \pm 119,50$ шт./мм²). Часть позитивных ядер имеют фестончатую форму. У односуточных крысят плотность Ki-67+ достоверно снижается ($1616,6 \pm 92,74$ шт./мм²). Эта тенденция сохраняется и в последующие сроки наблюдения: на 3 сутки плотность $1266,0 \pm 71,75$ шт./мм², на 7 сутки $923,6 \pm 46,41$ шт./мм². К 1 месяцу на протяжении слоя выявляются только единичные позитивные ядра.

У плодов в гранулярном слое Ki-67+ клетки встречаются с относительной плотностью $1443,5 \pm 54,88$ шт./мм², позитивными являются крупные ядра клеток округлой формы. У односуточных крысят плотность позитивных нейронов снижается в 3 раза ($512,8 \pm 28,31$ шт./мм²) ($p < 0,01$). У 7-суточных плотность иммунореактивных клеток продолжает снижаться, падая до $246,4 \pm 17,09$ шт./мм², ядра приобретают округлую форму, хроматин конденсирован. В последующие сроки позитивные ядра встречаются редко.

РМП переходит в центральную часть ОЛ – субэпендимальный слой, который в эмбриональном и раннем постнатальном периодах имеет полость. В субэпендимальном слое плодов определяется максимальная активность Ki-67 ($3152,5 \pm 132,98$ шт./мм²). Позитивные ядра мелкие, содержат как гетеро-, так и эухроматин. В постнатальном периоде плотность Ki-67+ ядер закономерно снижается до $1251,221 \pm 47,13$ шт./мм² к 1 суткам и $962,3 \pm 39,85$ шт./мм² к 3 суткам ($p < 0,05$). К 21 суткам относительная плотность составляет $235,87 \pm 32,12$ шт./мм², что в 13 раз ниже, чем в плодном периоде ($p < 0,01$). Ядра находятся в разных фазах жизненного цикла клетки.

Выводы. В результате исследования установлено, что активность пролиферации клеток в ОЛ зависит от возраста: максимальная экспрессия Ki-67 наблюдается в плодном периоде, постепенно снижается на протяжении первой постнатальной недели жизни, стабилизируясь на минимальных показателях уже на 14 сутки. Те клетки, которые переходят в G₁ период, содержат в ядре конденсированный гетерохроматин, а те клетки, которые находятся в периодах интерфазы или митоза, содержат эухроматин и метятся Ki-67 более интенсивно.

Плотность Ki-67+ ядер в субэпендимальном слое в плодном и неонатальном периоде многократно превосходит плотность в других слоях, что связано с особенностями его развития как аналога субвентрикулярной зоны.

В.В. Иванова¹, И.В. Мильто^{1,2}

**Влияние тотальной сиалоаденэктомии
на ультраструктуру интерстициальных эндокриноцитов крыс**

ФГБОУ СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия (1)

ФГАОУ ВО НИ ТПУ, Томск, Россия (2)

(ivvera92@rambler.ru)

V.V. Ivanova, I.V. Milto

**The influence of total sialoadenectomy
on interstitial endocrine cells ultrastructure**

Показано, что большие слюнные железы (БСЖ) вырабатывают в слюну и кровь ряд биологически активных веществ, действие которых на внутренние органы не до конца изучено [1]. Удаление поднижнечелюстных желез половозрелым мышам приводит к уменьшению количества сперматоцитов, сперматид и

сперматозоидов в извитых семенных канальцах [2]. В предшествующих исследованиях нами показано, что в ранние сроки (2-4 нед.) после эктомии БСЖ в семенниках крыс определяются погибшие сперматоциты, многоядерные сперматиды. Морфофункциональное состояние интерстициальных эндокриноцитов после удаления БСЖ охарактеризовано недостаточно. Вследствие чего, целью исследования явилось изучение влияния тотальной сиалоаденэктомии на ультраструктуру интерстициальных эндокриноцитов крыс.

Материал и методы. Исследование проводилось на половозрелых (60 дней, 120 ± 10 г) белых беспородных крысах-самцах, которые были разделены на группы: 1-ая – 40 интактных (ИН), 2-ая – 40 ложнооперированных (ЛО) и 3-я – 40 сиалоаденэктомированных (СЭ) животных. Крысам СЭ группы проводили тотальную сиалоаденэктомию – удаление околоушных, поднижнечелюстных и подъязычных желез, животным ЛО группы – ложную операцию. Крыс выводили из эксперимента асфиксией углекислым газом через 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 и 12 недель после операции. Фрагменты семенников крыс фиксировали в 4% параформальдегиде (Serva, Германия) 24 ч при 4°C, затем в 1% OsO_4 (SPI, США) 3 ч при 4°C. Обезвоживали в этиловом спирте и заливали в смесь эпоксидных смол (Epon 812:Araldite 502:DDSA). Ультратонкие срезы (80 нм) контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, после чего исследовали на электронном микроскопе JEM-1400 (JEOL, Япония). С помощью программы ImageJ 1.48 измеряли площадь ядер и цитоплазмы (мкм^2) интерстициальных эндокриноцитов семенников. Статистическую обработку морфометрических показателей осуществляли с помощью критериев Шапиро-Уилка, Манна-Уитни и Уилкоксона (SPSS 17.0).

Результаты и обсуждение. Интерстициальные эндокриноциты крыс всех групп имеют перитубулярную или периваскулярную локализацию. На протяжении эксперимента интерстициальные эндокриноциты крыс ИН и ЛО групп представляют собой клетки округлой или отростчатой формы, с овальным ядром, содержащим умеренное количество гетерохроматина. В цитоплазме определяются митохондрии с тубулярными кристами и многочисленные везикулы агранулярного эндоплазматического ретикулума (ЭПР). Выявляются области взаимодействия мембран митохондрий и элементов ЭПР. Площадь ядер и цитоплазмы интерстициальных эндокриноцитов крыс ИН и ЛО групп не изменяются в ходе эксперимента.

На 1-2 неделе эксперимента в семенниках крыс СЭ группы преобладают интерстициальные эндокриноциты отростчатой формы, с овальным ядром, зачастую с нарушенной целостностью плазматической мембраны. Наблюдается умеренное расширение перинуклеарного пространства и везикул агранулярного ЭПР, сниженное количество митохондрий, их матрикс обладает высокой электронной плотностью. В цитоплазме определяются единичные липидные включения. Редки области прилегания мембран агранулярного ЭПР к наружной мембране митохондрий. К 3 неделе эксперимента количество клеток с разрушенной плазмолеммой снижается. После сиалоаденэктомии (2-4 нед.) площадь ядер и цитоплазмы интерстициальных эндокриноцитов снижена по сравнению с этим показателем у крыс ИН и ЛО групп.

Расширение элементов агранулярного ЭПР, повышение электронной плотности матрикса митохондрий, отсутствие участков взаимодействия мембран митохондрий и ЭПР, накопление липидных включений и уменьшение площади цитоплазмы являются признаками нарушения секреторной активности интерстициальных эндокриноцитов [3] в результате удаления БСЖ. Биологически активные вещества БСЖ, такие как эпидермальный фактор роста, могут оказывать как непосредственное, так и опосредованное действие на интерстициальные эндокриноциты [4]. Наблюдаемые структурные и морфометрические изменения полностью нивелируются к 6 неделе эксперимента, вероятно, за счет компенсаторной активации синтеза факторов БСЖ другими источниками в организме крыс.

Таким образом, проведение половозрелым крысам тотальной сиалоаденэктомии вызывает ультраструктурные изменения интерстициальных эндокриноцитов в ранние (2-4 нед.) сроки после операции.

Литература:

1. Mathison R. Submandibular salivary gland endocrine secretions and systemic pathophysiological responses // *The Open Inflammation J.* – 2009. – (2). – P. 9-21.
2. Tsutsumi O., Kurachi H., Oka T. A physiological role of epidermal growth factor in male reproductive function // *Science.* – 1998. – 233(4767). – P. 975-977.
3. Шевлюк Н.Н., Сравнительная морфофункциональная характеристика клеток Лейдига семенников млекопитающих (светооптические, ультраструктурные и иммуноцитохимические аспекты) // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* – 2008. – 4(20). – С. 17-19.
4. Boyer R., Escola R., Bluet-Pajot M.T., Arancibi S. Ablation of submandibular salivary glands in rats provokes a decrease in plasma luteinizing hormone levels correlated with morphological changes in Leydig cells // *Arch. Oral Biol.* – 1990. – 35(8). – P. 661-666.

О.В. Крапивникова, Ю.И. Ухов, Н.Е. Трухина

Преемственность в преподавании морфологических дисциплин: биология, гистология, патология

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

O.V. Krapivnikova, N.E. Trukchina, U.I. Ukchov

Continuity in a teaching of morphological disciplines: biology, histology, pathology

Изменение подходов в процессах диагностики и лечения заболеваний диктует необходимость пересмотра и коррекции учебных программ высшего медицинского образования. Если несколько лет назад программы включали

развернутый перечень знаний, умений и навыков, которые должен продемонстрировать будущий специалист, то в федеральных государственных образовательных стандартах III поколения постулируется понятие компетенции – обобщенной категории, подразумевающей комплексную и всестороннюю готовность будущих врачей к выбранной профессии. При этом любая компетенция не может быть сформирована средствами одной дисциплины, а требует междисциплинарности в своем развитии, что остро ставит вопрос преемственности в преподавании любого раздела медицины. Стержнем любой медицинской специализации являются морфологические знания, без которых невозможна качественная диагностика, а лечение болезни без знания структуры становится бессмысленным. Таким образом, актуальность взаимодействия специалистов разного профиля в развитии компетентности студентов не вызывает сомнения: преемственность в преподавании является одной из основополагающих основ дидактики высшей школы.

Нами проанализирован и развит опыт работы кафедр гистологии и биологии в практической реализации принципа преемственности в непрерывном морфологическом образовании. Биология является теоретической базой медицины, поэтому все разделы изучения биологии должны быть сгруппированы вокруг единого стержня – связи структуры и функции. Кроме того, в последние годы в связи с влиянием технического прогресса на среду обитания человека появилась еще одна проблема – разграничение нормы и патологии осложняется, так как изменчивость в более агрессивной среде интенсифицируется; применяемые в медицине аппаратные методы диагностики и лечения, новые клеточные лекарственные препараты сами по себе являются мутагенным фактором. Эти факты делают необходимость непрерывного морфологического образования более острой.

Все разделы биологии в последние годы претерпели коррекцию в связи с развиваемой на кафедре концепцией морфологизации обучения студентов. В разделе Цитологии изучение структур клетки дополнено новыми методами исследования в цитологии. Медицина поднимается на уровень разработки новых клеточных лекарств, а биология – на мембранную волну, причины заболеваний все более и более привязываются к аномалиям тонкого клеточного строения, что нашло отражение в постановке ситуационных задач в процессе обучения. Раздел эмбриологии является непосредственной предтечей эмбриологии человека, изучаемых в курсе гистологии, а учение о критических периодах развития – непосредственная база профилактики нарушений развития. Трудно переоценить значение эволюционного учения для развития медицины: подавляющее большинство пороков развития имеет филогенетические корни, без знания структуры систем органов предков невозможно глубокое понимание истоков патологии человека. Раздел эволюции органов в последнее время значительно обогащен фактическими данными.

Раздел генетики имеет непосредственную связь с различными отраслями патологии в связи с множественностью поражений при наследственных синдромах. Лекционный курс значительно дополнен аспектами патологии; темы классификации мутаций и изменчивости в целом имеет помимо образо-

вательного огромное воспитательное значение в частности, для понимания основ профилактики. В разделах генетики многие вопросы потрясают воображение сложностью и математической слаженностью процессов регуляции; у студентов должно возникнуть понимание того, как легко нарушить такое равновесие, что развивает трепетное отношение к категории живого.

Раздел паразитологии углубляет представление о влиянии чужеродного начала на функции человека, что имеет большое значение для понимания генеза заболеваний и необходимости комплексного подхода к лечению.

Таким образом, межпредметные связи и междисциплинарный подход в процессе обучения являются необходимым условием формирования клинического мышления будущего врача. Считаем также необходимым разработать и дать соответствующие предложения о внесении морфологии в разряд обязательного раздела программ повышения квалификации врачей.

Литература:

1. Крапивникова О.В., Трухина Н.Е. Адаптация иностранных студентов к русскоязычной среде на основе изучения основ естественных наук. Проблемы и перспективы НИР курсантов, слушателей и студентов. – Рязань, 2017. – С. 1-5.
2. Жуков Г.Н., Матросов П.Г., Каплан С.Л. Основы общей и профессиональной педагогики. – М.: Гардарики, 2005.
3. Крапивникова О.В., Трухина Н.Е. Морфологические дисциплины в обучении иностранных студентов. Реализация политики экспорта образовательных услуг на современном образовательном пространстве: сб. мат. Всеросс. конф. Междунар. участием. 8-9 декабря 2016. – Рязань, 2016. – С. 142-148.
4. Попков А.В., Коржуев А.В. Дидактика высшей школы: учеб. пособие для студ. высш. учеб. завед. – М.: Изд-й центр «Академия», 2004.

Г.С. Лазутина, С.В. Шаршкова

Причинно-следственные факторы уплощения сводов стопы в возрастном аспекте

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

G.S. Lazutina, S.V. Sharshkova

Causal factors flattening of the arches of the foot in the age aspect

Стопа, как наиболее нагружаемая часть опорно-двигательного аппарата, развивается и изменяет свою форму на протяжении всей жизни человека. Сложность анатомического строения стопы человека в сочетании с разнообразием её функций, делает этот сегмент нижней конечности уникальным, и вместе с тем, трудно доступным для изучения [1]. Главной эволюционно-конструктивной особенностью стопы человека является наличие сводов. Функциональная их несостоятельность и деформация являются пусковым

моментом повреждений всего опорно-двигательного аппарата. Наиболее часто встречающаяся патология, характеризующаяся уплощением продольного и поперечного сводов стопы в сочетании с поворотом вокруг продольной оси, а также ее отведением приводит к плоскостопию [2].

В большинстве случаев эта деформация стопы является приобретенной, так как врожденная плоская стопа образуется вследствие нарушения нормального анатомо-физиологического развития плода и встречается редко [3].

Плоская стопа – термин, используемый для обозначения состояний, при которых продольная часть свода низкая или отсутствует. Многие авторы обоснованно считают свод стопы единым образованием и не выделяют продольный и поперечный своды [4].

Приобретенное плоскостопие, в зависимости от причинного фактора, разделяют на: статическое, рахитическое, паралитическое и травматическое. Рахитическое плоскостопие развивается обычно на почве рахита, при котором кости становятся мягкими, податливыми и легко деформируются под действием нагрузки. Травматическое плоскостопие является результатом неправильно сросшихся переломов лодыжек, костей предплюсны и плюсны, повреждения мышечно-связочного аппарата, особенно задней большеберцовой мышцы. Паралитическое плоскостопие — результат паралича мышц нижних конечностей и чаще всего — следствие вялых (или периферических) параличей мышц стопы и голени, вызванных полиомиелитом. Статическое плоскостопие — наиболее распространенный вид, причина образования которого прослеживается в нарушении упругих элементов стопы, переутомлении мышц, и, следовательно, в нарушении мышечного тонуса и сократительной способности мышц. При этом кости стопы, образующие свод, смещаются относительно друг друга, и стопа теряет упругость, в результате свод стопы не возвращается в свое нормальное положение, а рессорность стопы исчезает [5]. Уплотнение сводов стопы приводит к быстрой утомляемости в ногах, болезненности при надавливании на стопы и середину подошвы. Походка таких людей теряет эластичность, плавность и часто сопровождается болевыми ощущениями в суставах нижней конечности. Большинство авторов обращают внимание на то, что с развитием плоскостопия, помимо болей в нижних конечностях, нарушения кровообращения в них, судорог в ряде случаев развивается нарушение осанки. Известно, что плоскостопие (особенно одностороннее) нередко является первичным моментом в образовании боковых искривлений позвоночника. А сколиозы, нарушают осанку, искривляют позвоночник и грудную клетку, что часто ведет к неправильному функционированию органов грудной и даже брюшной полости, так как ограничивают подвижность легочных краев и диафрагмы, в результате чего нарушается функция сердца, органов дыхания, пищеварения. Кроме того, при уплощении стопы постепенно исчезает рессорная, амортизационная роль свода, в результате чего внутренние органы, спинной и головной мозг человека становятся мало защищенными от сотрясений, получаемых обычно в повседневной жизни при ходьбе, беге, прыжках. В связи с этим могут снизиться функции внут-

ренных органов печени, желудка, почек, кишечника, сердца, не имеющих непосредственного отношения к опорно-двигательному аппарату [5].

Опускание среднего отдела стопы вызывает растяжение связочного аппарата проксимальных суставов и мышц вокруг плюсневых костей и их веерообразное расхождение. Вследствие длительного давления на мягкие ткани уменьшается слой подкожно-жировой клетчатки, это значительно снижает амортизационные свойства мягких тканей и способствует образованию болезненных гиперкератозов «натоптышей», которые также значительно ограничивают опорную функцию стопы. Гиперкератозы являются одним из первых клинических признаков распластанности переднего отдела стопы [6].

Опущение поперечного свода стопы, а именно опущение головок II - III - IV плюсневых костей, приводит к подвывихам (вывихам) в соответствующих плюснефаланговых суставах, вследствие чего развивается молоткообразная деформация пальцев [6]. Следствием поперечного плоскостопия в большинстве случаев, является вальгусное отклонение I пальца. При прогрессировании вальгусной деформации, наступает репозиция первой плюсневой кости в более медиальном направлении и последующая боковая репозиция сесамовидных костей, что приводит к эрозии межсесамовидного гребня [7]. Вальгусное отклонение I пальца также имеет тенденцию к «вытеснению» II, а затем и III пальца из своего физиологического положения, особенно при ношении обуви с тесным носком. Вследствие этого II - III пальцы оказываются приподнятыми над плоскостью поверхности, происходит разгибательная установка в плюснефаланговых суставах. Это в свою очередь ведет к ретракции сухожилий сгибателей и к формированию сгибательно-разгибательной молоткообразной деформации пальцев [7]. В данном случае деформация может сопровождаться вальгусной или варусной установкой пальцев (отведением или приведением в плюснефаланговых суставах).

В разработке фундаментальной проблемы анатомии и физиологии двигательных систем большое внимание уделяется исследованиям анатомо-функционального состояния стопы человека в возрастном аспекте, определяющего критерии нормы, а также прогноз вероятных патологических изменений.

Литература:

1. Перепелкин А.И. Мандриков В.Б., Краюшкин А.И., Анатомия и функция стопы человека при изменяющейся нагрузке // Palmarium Academic Publishing (Saarbrücken). – №249.
2. Пономарева И.П., Дьякова Е.М., Сотников К.А. и др. Анатомо-физиологические особенности стопы и причины развития ее возрастных изменений // Fundamental research. – 2014. – №7.
3. Яременко Д.А., Ефименко Д.А., Ефимов Р.В. Рентгенологическое исследование в оценке анатомо-функционального состояния стопы // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2004. – №1. – С. 16-20.
4. Корж Н.А., Яременко Д.А. Структурно-функциональные особенности стопы как органа опоры и передвижения // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2003. – №3. – С. 36-41.

5. Сергиенко К.Н. Контроль пространственных характеристик стопы человека/Биомеханика стопы человека: материалы 1 Междунар. научн.-практ. конф., Гродно. 18-19 июня 2008. ГНУ НИЦПР НАНБ / отв. ред. А.И.Свириденок. – Гродно: ГрГУ, 2008. – С. 72-74.
6. Циркунова Н.А. О диагностике и лечению статической деформации стоп // Ортопедия, травматология и протезирование. – 1974. – №5. – С. 30-32.
7. Rankin E.A., Baker G.I. Rigid flatfoot in the young adult // Clin. Orthop. – 1974. – 104 (2). – С. 244-248.

А.В. Москаленко, Д.А. Пожилов, Т.А. Румянцева

Морфометрические показатели астроцитов и плотность зрелых нейронов в обонятельных луковицах крыс разного возраста

*ФГБОУ ВО Ярославский государственный медицинский университет,
Ярославль, Россия
(dmitry.oldman@yandex.ru)*

A.V. Moskalenko, D.A. Pozhilov, T.A. Rumiantseva

Morphometric characteristics of astrocytes and density of mature neurons in the different aged rats' olfactory bulbs

Актуальность. Нейрогенез в обонятельной луковице продолжается на протяжении всей жизни, что делает обонятельную луковицу подходящим объектом для изучения компенсаторно-приспособительных реакций нейронов и глии и обуславливает необходимость получения нормативных возрастных показателей.

Цель. Установить нормативные морфометрические показатели астроцитов и плотность распределения зрелых нейронов в различных слоях обонятельной луковицы у крыс первого полугодия жизни по распределению маркеров GFAP и NeuN.

Материалы и методы. Работа выполнена на двенадцати крысах линии Wistar возрастом 30, 60, 90 и 180 суток. Обонятельные луковицы крыс фиксировались в забуференном формалине, заливались в парафиновые блоки. На срезах 7 мкм проводились иммуногистохимические реакции с антителами к GFAP (ab16997) и к NeuN (ab104225), оценивались относительная плотность распределения астроцитов (на мм²) и площадь распределения их отростков, плотность распределения и доля NeuN+ нейронов. Оба маркера выявляются в зрелых астроцитах и нейронах. Срезы докрашивали гематоксилином Майера. Данные проанализированы методами описательной статистики.

Результаты и их обсуждение. В целом на протяжении от 30 до 180 суток жизни крысы толщина обонятельной луковицы увеличивается на 12%, в основном за счёт гломерулярного и наружного плексиформного слоя.

Плотность астроцитов максимальна в гломерулярном и митральном слоях. В гломерулярном слое с 30 по 60 сутки плотность астроцитов снижается на 30% с $270 \pm 20,3$ до $181 \pm 27,7$, затем возрастает к 180 суткам до $375 \pm 32,3$. В наружном плексиформном слое плотность снижается с 30 до 60 суток с $295 \pm 35,3$ до $201 \pm 43,9$, затем к 90 суткам возвращается к исходным значениям. В митральном слое плотность астроцитов снижается к 60 суткам с $451 \pm 11,8$ до $232 \pm 26,1$, затем плавно возрастает к 180 суткам до $628 \pm 30,2$. В гранулярном слое плотность астроцитов снижается с $224 \pm 21,3$ до $134 \pm 36,9$, остаётся на таком уровне с 60 по 90 сутки, и к 180 суткам плавно возрастает до $174 \pm 16,6$.

Средняя площадь тел астроцитов на протяжении наблюдения остаётся практически постоянной, а площадь распределения отростков в гломерулярном слое возрастает с 30 до 90 суток в 2 раза, и пик увеличения приходится на 90 сутки (медианная площадь - 544,8). В наружном плексиформном слое наблюдается увеличение площади на 36% на 60 сутки до 513,4, а на 180 сутки снижается на 16%. В митральном слое площадь распределения отростков увеличивается с 30 до 60 суток на 90% с 286,4 до 546,1, затем снижается до уровня показателя 30-суточных животных (329,2). В гранулярном слое с 30 по 180 сутки происходит плавное уменьшение площади распределения отростков, примерно в два раза до 339,7.

В целом, площадь распределения отростков астроцитов изменяется противоположно изменениям плотности распределения самих клеток. Плотность распределения астроцитов и площадь распределения отростков зависят от слоя обонятельной луковицы, но динамика площади распределения отростков достаточно однотипна: увеличение в сроки от 30 до 60 суток, а затем на 90-180 сутки снижение.

Плотность нейронов и доля зрелых клеток изменяются в слоях независимо друг от друга. В гломерулярном слое с 30 по 90 сутки плотность Neun+ нейронов значительно повышается с $4134 \pm 427,1$ до $7635 \pm 420,2$ и остаётся на этом уровне до конца наблюдения. Процент зрелых нейронов с 30 по 180 сутки равномерно снижается с 70% до 36%.

В наружном плексиформном слое плотность нейронов от 30 к 90 суткам возрастает в 2,5 раза с $1005 \pm 87,7$ до $2467 \pm 229,2$, затем наблюдается её спад до $1549 \pm 130,0$ на 180 сутки. Доля Neun+ нейронов достоверно не изменяется, находясь в пределах от 24 до 40%.

В митральном слое с 30 по 60 сутки плотность нейронов повышается с $5889 \pm 331,4$ до $11292 \pm 1553,7$ и сохраняется на достигнутых значениях до 180 суток. На 30 сутки зрелые нейроны составляют 75% от общего количества, а на 60 и 90 сутки – 53% и 56% соответственно, к 180 суткам показатель повышается до 79%.

В гранулярном слое плотность Neun+ нейронов на 30 сутки $4820 \pm 457,8$, постепенно возрастает, достигая к 180 суткам $10883 \pm 875,7$, процент зрелых нейронов снижается с 94% на 30 сутки до 68% на 90, на 180 сутки вновь поднимается до 94%.

Установлено, что доля зрелых (Neun+) нейронов во всех слоях луковицы изменяется в целом параллельно: от высоких значений у 30 суточных, к

снижению у 60 и 90 суточных с последующим подъемом на 180 сутки жизни. Следует отметить, что плотность астроцитов увеличивается параллельно общей плотности нейронов.

Вывод. Плотность распределения астроцитов и нейронов, соотношение зрелых и незрелых нейронов в обонятельной луковице крысы имеет топографические и возрастные особенности, что необходимо учитывать при оценке результатов экспериментов.

А.С. Мухаметзянова, И.С. Рагинов, Ю.Г. Штырлин

Морфологическая оценка посттравматической регенерации кожи крысы под влиянием полипептидного гидрогеля

*ФГАОУ ВО "Казанский (Приволжский) федеральный университет",
Научно-образовательный центр фармацевтики Казань, Россия
(alsoums@gmail.com)*

A.S. Muhametzianova, I.S. Raginov, U.G. Shtyrilin

Morphological evaluation of posttraumatic regeneration of rat skin under the influence of a polypeptide hydrogel

Актуальность. По данным ВОЗ, ожоги кожи занимают третье место по частоте среди других травм. Ежегодно от ожогов умирает около 60 тыс. человек. Биорезорбируемые полимерные искусственные внеклеточные матриксы (ИВМ) получили большую популярность в тканевой инженерии благодаря свойству обеспечивать временную и пространственную среду для клеточного и тканевого роста. Основная стратегия применения ИВМ состоит в том, чтобы имитировать природный внеклеточный матрикс и обеспечить адгезию клеток, их пролиферацию и дифференцировку.

Цель работы. Оценить влияние новой лекарственной формы, полученной из высокомолекулярных фрагментов коллагена на регенерацию эпидермиса.

Материалы и методы. Исследование проведено на белых крысах-самках Wistar средней массой 180-200 г. Содержание животных и постановка экспериментов проводилась в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Под изофлурановым наркозом у всех животных с поверхности спины удаляли волосяной покров. Термический ожог кожи осуществляли путем приложения устройства с температурой поверхности 250°C, площадью контактной поверхности 1 см², в течение 15 секунд, животные получали ожоги III степени. В дальнейшем животных поделили на группы:

1. контрольная группа – (термический ожог без лечения).
2. I опытная группа – термический ожог + нанесение раз в два дня ИВМ.

ИВМ получали путем инкубации высокомолекулярных (>100 кДа) фрагментов коллагена (Опытно-промышленный нефтемаслозавод г. Санкт-Петербург) в культуральной среде альфа-ДМЕМ при 40°C. В качестве сшивающего агента использовали глутаровый альдегид, концентрацию которого была подобрана таким образом, чтобы обеспечить температуру плавления 42°C. ИВМ перед нанесением предварительно нагревали до 42°C. После нанесения ИВМ образовывал плотную пленку, плотно закрывающую область ожога. Динамику процесса заживления оценивали путем фотографирования ран с помощью цифровой камеры. У половины животных из каждой группы через 14 суток выделяли область ожога и фиксировали в 10% формалине. В дальнейшем из этого материала изготавливали парафиновые срезы через центральную часть области повреждения, которые окрашивали гематоксилином и эозином. У оставшихся животных фиксировали время полного заживления ожога.

Результаты. Во всех группах животных на 1-е сутки эксперимента ожоговые раны имели четкие границы и хорошо сформированный раневой струп. При изучении фотографий, на 7-е сутки эксперимента в опытной группе средняя площадь раны уменьшилась на 20%, в то время как в контрольной группе площадь раны уменьшилась на 16%. На 17-е сутки эксперимента в опытной группе животных произошло полное заживление ожоговых ран, в контрольной группе заживление ран произошло на 26-е сутки. Морфологическое исследование также выявило более раннюю эпителизацию зоны повреждения.

Н.В. Овчинникова, Н.А. Пронин, А.И. Введенский

Стимуляция репаративных процессов миокарда при лазерной акупунктуре кардиальных зон Захарьина-Геда

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

N.V. Ovchinnikova, N.A. Pronin, A.I. Vvedenskiy

The stimulation of reparative processes in myocardium in laser acupuncture of the cardiac zones of Zakharyin-Ged

Актуальность. Кардиоваскулярная патология уже не одно десятилетие занимает одно из ведущих мест при регистрации смертности во всем мире, Россия не исключение. Применение лазерной акупунктуры для ускорения репаративных процессов в сердечной мышце применяется в мировой и отечественной кардиологии, однако требует морфологического экспериментального обоснования. В своей работе мы попытались ускорить процессы заживления раны сердечной стенки, а именно миокарда и формирование нежного соединительнотканного рубца на ее месте.

Цель исследования. Изучение особенностей течения восстановительных процессов в миокарде после его повреждения под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения.

Материал и методы. Исследования проводились на двух группах на 50 взрослых беспородных белых крыс, весом 100-120 граммов. Опытная группа включала 30 животных, а контрольная – 20. Методика эксперимента – после торакотомии в 4 межреберья слева и перикардиотомии на левый желудочек в области верхушки сердца наносилась непроникающая линейная рана длиной 2 мм и глубиной 1 мм. Рана ушивалась одним шелковым швом на атравматической игле. Рана грудной стенки ушивалась узловыми швам послойно наглухо. Опытным животным проводилось лазерное облучение области сердца и левой лопаточной области гелий-неоновым лазером чрескожно в течение трех минут на каждую точку. Курс состоял из 15 сеансов. Контрольные животные не облучались. В дальнейшем животные выводились из опыта путем кровопускания на 5, 10, 15, 30 и 45 сутки после операции.

Результаты и их обсуждение. Изучение морфологического материала дало следующие результаты. На гистологических срезах стенки левого желудочка в окружающем рану миокарде в опытной группе животных отмечалось увеличение диаметра вен, истончение их стенок, гиперемия; полнокровие артериол и венул. Исследуя в опытной группе животных гистологическую картину формирования соединительнотканного рубца в области раны, мы отметили усиление процессов воспаления и лизиса поврежденных мышечных волокон [1]. Последний полностью заканчивается к 10 суткам после операции, что на пять суток раньше, чем в контрольной группе животных. К этому сроку заканчивается процесс грануляции раны и отмечается появление миобластов, располагающихся цепочками в области раны. Примерно к 30 суткам эти клетки разрушаются и замещаются соединительной тканью, содержащей мало клеток и большое количество коллагеновых волокон. Формирование рубца к этому сроку практически заканчивается, что на 13-15 суток раньше, чем в контроле. В то же время было установлено постепенное повышение количества функционирующих капилляров на единицу площади в области повреждения, приобретающее статистическую достоверность с 10 суток после операции в опытной группе животных – плотность капилляров на 1 мм^2 миокарда у животных опытной группы - 509 ± 23 . Данный факт свидетельствует о росте коэффициента удельной васкуляризации кардиомиоцитов – этот показатель, по сравнению с контролем, увеличился на 27,8% - $2,41 \pm 0,01$ в опыте и $1,74 \pm 0,06$ в контроле. При этом радиус капиллярной диффузии уменьшился на 7,5% по сравнению с контролем – с $10,7 \pm 0,13$ до $9,9 \pm 0,04$ у опытных и контрольных животных соответственно. У животных контрольной группы мы заметили, что деструкция мышечных волокон захватывает более обширные участки миокарда, в которых исчерченность миофибрилл отсутствует, при этом выявляется фрагментация мышечных волокон. Сосудистая сеть сердечной мышцы увеличивается за счет расширения капиллярной сети, при этом количество капилляров не изменяется – диаметр капилляров $8,8 \pm 0,03$ в контрольной группе и $6,9 \pm 0,04$ в опытной. Плотность капиллярной сети у кон-

трольных животных к 10-м суткам составила 390 ± 11 на 1 мм^2 площади ткани миокарда. К 45 суткам после операции мы отметили созревание рубцовой ткани, развитие в ней коллагеновых волокон и альвеолярных структур, бедных клеточными элементами.

Выводы.

1. В результате проведения курса лазерной акупунктуры произошло ускорения процессов воспаления, разрушения и дифференцировки тканей в очаге повреждения за счет увеличения количества функционирующих капилляров – раскрытия нефункционирующих (плазматических капилляров) с общим увеличением их суммарной метаболически активной поверхности в результате значительного перераспределения крови на уровне микроциркуляторного русла.

2. Плотность капиллярной сети у опытных животных увеличивалась на 23,4% по сравнению с контрольными животными.

3. К концу лазерной акупунктуры, к 15 суткам после операции, структура кардиомиоцитов не претерпевает существенных изменений, по сравнению с контролем: состояние продольной и поперечной исчерченности миофибрилл, характер и расположение вставочных дисков в окружающем рану миокарде, объем и форма ядер соответствуют контрольным наблюдениям – 1356 ± 21 в опыте и $1314 \pm m$ в контроле на 1 мм^2 .

Литература:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990.
2. Ананиченко В.Г., Алисова О.Ю., Сергеев В.А. Лазеротерапия при инфаркте миокарда // Мед. Помощь. – 1993. – №6. – С. 6-9.
3. Байдюк Е.В., Сакута Г.А., Кислякова Л.П. и др. Структурно-функциональные характеристики сердца и параметры газообмена у крыс после экспериментального инфаркта миокарда // Цитология. – 2014. – 56(10). – С. 735-740.
4. Сисакян С.А., Матевосян Р.Ш. Система капилляров крыс при окклюзии венечной артерии // Арх. анат. гистол. и эмбриол. – 1989. – №8. – С. 15.

И.Л. Плакса^{1,2}, М.С Абызова³, М.О. Мавликеев⁴, И.Я. Бозо¹,
К.А. Шукис⁵, А.С. Кулешова⁵, Р.В. Деев^{2,5}

Ранние стадии репаративного остеогистогенеза при травматическом повреждении костей

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (1)

*ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 ДЗМ»,
Москва, Россия (2)*

*ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет»,
Казань, Россия (3)*

*ФГАОУ ВО «Казанский федеральный университет», Казань, Россия (4)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (5)
(abyzovamary@mail.ru)*

I.L. Plaksa, M.S. Abyzova, M.O. Mavlikeev, I.Y. Bozo, K.A. Shukis,
A.S. Kuleshova, R.V. Deev

Early stages of reparative osteohistogenesis in traumatic bone injuries

Введение. Несмотря на широкое внедрение в клиническую практику современных методов хирургического лечения переломов, нарушение консолидации различной степени выраженности встречается у 5% - 48% пациентов в зависимости от локализации и особенностей перелома. Это определяет необходимость фундаментальных исследований процессов репаративной регенерации костной ткани с целью оценки молекулярных и клеточных эффекторов, которые могли бы быть использованы для разработки таргетных препаратов, направленных на коррекцию этого состояния.

Цель. Изучить межклеточные молекулярные взаимодействия, на ранних стадиях репаративного остеогистогенеза.

Материалы и методы. Объектом изучения являлись параоссальные гематомы пациентов с переломами длинных трубчатых костей, которые были получены в ходе реконструктивного хирургического лечения на 1; 3–8; 10 и 12 сутки после травмы. Образцы гематом фиксировали в 10% забуференном формалине, декальцинировали и заливали в парафиновые блоки. Гистологические препараты толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Маллори. Для изучения межклеточных молекулярных взаимодействий применялось ИГХ исследование с антителами к VEGF, VEGFR2 (KDR/Flk-1), VEGFR3 (Flt-4), α -SMA, подоплатину, CD31, CD163, PCNA.

Результаты и обсуждения. Одним из наиболее ранних событий остеорепарации являлась миграция в область повреждения гетерогенной популяции макрофагов, число которых к 4 суткам значительно увеличивается с 0.6 ± 0.1 до 5.2 ± 2.1 . При этом в 91% из них определяется цитоплазматическая реакция с антителами к VEGF различной степени выраженности, что отража-

ет активную цитокин-синтетическую функцию клеток. Формирование в гематоме локального пула клеток-продуцентов VEGF предшествует появлению среди тканевого детрита первых тонкостенных сосудов со средним диаметром 11.7 ± 3.5 мкм, число которых составляет 4.4 ± 0.6 в поле зрения при $\times 400$. Высокий ИП клеточных элементов эндотелиального дифферона, составляющий 77.5%, в совокупности с мембранной экспрессией Flk-1 у 93% клеток, отражает тесные молекулярные взаимодействия между эндотелиоцитами и цитокин-продуцирующими макрофагами, крайние из которых, по-видимому, являются в этот период основными регуляторами ангиогенеза.

К 7 суткам плотность сосудов в гематоме увеличивается в два с половиной раза и достигает максимального показателя 11.4 ± 0.9 в поле зрения при $\times 400$, что сопровождается умеренным увеличением ИП эндотелиоцитов до 88.5%, и сохранением высокой плотности рецепторного поля VEGF - антитела к Flk-1 и Flt-4 относительно равномерно маркируют соответственно 86% и 74% клеток. В мембране эндотелиоцитов единичных тонкостенных сосудов отмечается умеренно интенсивная и равномерная экспрессия подопланина, что отражает процесс лимфангиогенеза, как компонента репаративной регенерации костной ткани

Активный процесс ангиогенеза идёт параллельно со стремительным увеличением площади соединительной ткани, доля которой к 6 суткам составляет 63,81%, а к 10 суткам практически вся площадь препарата представлена соединительной тканью разной степени зрелости. На протяжении всего раннего периода остеорепарации отмечается постепенное нарастание внутридифферонной гетерогенности клеток фибробластического ряда, что сопровождается высоким ИП, который находится в диапазоне 63-74%. Мембранная экспрессия у 89% клеток Flk-1 отражает важную роль VEGF-VEGFR регуляторной оси в формировании регенеративного эндотелиально-фибробластического гистиона.

К 12 суткам отмечается достоверное снижение общего числа сосудов с 11.4 ± 0.9 до 4.5 ± 0.5 , что в совокупности с уменьшением митотической активности эндотелиоцитов до 57.4% и Flk-1-позитивных клеток на 15.2% отражает снижение активности ангиогенеза к моменту формирования структур ретикулофиброзной костной ткани. Внутри и по периметру структур залегают преимущественно овальные клетки с широким ободком цитоплазмы – остеобласты, ИП которых составляет 30.5%. Наличие экспрессии рецепторов Flk-1 и Flt-4 более чем у 90% клеток остеобластического дифферона свидетельствует о цитокиновой регуляции процессов гистогенеза костной ткани.

Вывод. На ранних стадиях репаративного остеогенеза регуляторная ось VEGF-VEGFR играет важную роль в координации межклеточных молекулярных взаимодействий, что обеспечивает последовательную смену клеточно-тканевых дифферонов в параоссальной гематоме.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ мол_а № 16-34-00440.

Л.Н. Плаксина, Л.В. Логунова, О.Е. Гаврикова

**Клеточная реакция при посттравматической регенерации кожи
в условиях низкоинтенсивного лазерного излучения**

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

L.N. Plaksina, L.V. Logunov, O.E. Gavrikova

**The cellular response in post-traumatic regeneration of the skin
in conditions of low-intensity laser radiation**

В работе представлены экспериментальные данные влияния низкоинтенсивного гелий-неонового лазера на течение регенеративных процессов в коже при резаных ранах.

Изучение сроков заживления поврежденных мягких тканей под влиянием лазерного луча, а также исследование качественных характеристик регенеративных процессов при них, представляют большую актуальность, особенно на открытых участках кожи, когда кроме функционального результата приходится учитывать и косметические аспекты.

Целью исследования явилось изучение структурно-клеточных показателей грануляционной ткани, процесса и скорости образования рубца и его функциональных характеристик.

Исследование выполнялось на 80 беспородных белых крысах. Рана наносилась животным контрольной и опытной групп на правой боковой поверхности тела. Предварительно на этом месте выбривался волосяной покров. Раны наносились под эфирным наркозом в стерильных условиях. С помощью остроконечных ножниц удалялся лоскут кожи с подкожной клетчаткой. Для упрощения техники операции и обеспечения стандартности, перед опытом изготавлили трафарет в форме квадрата с размерами каждой из сторон 2,0 см ($S=40 \text{ мм}^2$). Трафарет смачивали йодом и прикладывали к протертой спиртом коже. Заживление происходило открытым методом, т.е. без наложения повязки.

На резаную рану опытных животных, начиная со следующих суток, ежедневно воздействовали лучами гелий-неонового лазера в течение 3 минут. В качестве источника лазерной энергии использовалась лазерная установка ЛГ-75, с длиной волны-632,8 нм и плотности потока мощности на выходе световода 13 мВт/см^2 . Течение раневого процесса оценивали по местным проявлениям (внешний вид раны, характер грануляций, состояние окружающих тканей, выраженность воспалительных явлений и отека). Ежедневно измеряли площадь открытой раневой поверхности по методике Б.Д. Морозова. Изменяющиеся контуры ран вырисовывались на целлофановой пленке путем наложения ее на поверхность раны, затем этот контур переносили на миллиметровую бумагу и измерялась его площадь. Скорость эпителизации и ско-

рость контракции ран исследовали по методу R.Catty. Общая окраска срезов производилась гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван Гизону.

Результаты и их обсуждение. Прежде чем описывать гистологические изменения, необходимо отметить различия в общем состоянии животных опытной и контрольной групп. Отличия обнаруживаются уже при макроскопическом изучении хода регенерации ран. При изучении контракции ран кожи животных нами установлено, что за счет последнего происходит уменьшение раневой поверхности на 55-57% по отношению к площади первоначального раневого дефекта [1]. В опытной группе сокращение раны за счет контракции является определяющим на пятые сутки, когда возрастают процессы гранулирования и эпителизации. Величина относительного заживления к этому сроку составляет 75%, что в два раза выше, чем в контроле.

Гистологические препараты опытной группы животных демонстрируют раннее обнаружение в соединительной ткани кожи перинекротической области клеток макрофагального, гранулоцитарного, фибробластического дифферонов и тучных клеток. Среди клеток основного фибробластического дифферона на третьи сутки обнаруживаются гибнущие, молодые, дифференцированные формы, а также миофибробласты. В перинекротической области выявляются макрофаги различной степени зрелости фагоцитарного, секреторного и смешанного типов. Макрофагальная внутридифферонная гетероморфия связана с процессами фагоцитоза некротизированных клеток и межклеточного вещества и секрецией биологически активных веществ для обеспечения различных межклеточных контактов [2], число которых через трое суток значительно увеличивается.

Таким образом, морфологические изменения клеток соединительной ткани определяют как полноценное становление соединительнотканного каркаса, в первую очередь фибробластов, так и барьерно-защитную и регуляторную функцию таких клеток как макрофаги, нейтрофилы и тучные клетки.

Указанные изменения свидетельствуют об активизации специфических функций клеток при лазерном облучении, наблюдающейся в более ранние (почти в два раза) сроки по сравнению с контролем.

Литература:

1. Монахов В.Б., Осипов Е.В. Влияние лазерного излучения на кожу экспериментальных животных // Вестник Дерматологии и венерологии. – 1999. – №1. – С. 19-21.
2. Meissner F.M., Hepting W., Dauga G. et al. Laser stimulation within the scope of combinat therapy in the pain centr Stuttgart // Schmerz. – 1995. – 4(2). – P. 65-69.
3. Proc. Int.Congress: Laser in medicin and biology. – Blogna, Italy, 1995.

**Роль мультидоменной структуры урокиназы
в регуляции ремоделирования кровеносных сосудов**

*Факультет Фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия (1)*

*Российский кардиологический научно-производственный комплекс
Минздрава РФ, Москва, Россия (2)
(plekhanova@mail.ru)*

Активатор плазминогена урокиназного типа (урокиназа), является многофункциональным белком, играющим особую роль в стенке кровеносных сосудов. Урокиназа является сериновой протеазой, которая обладает свойствами цитокина и способна запускать протеолитические и сигнальные каскады. Благодаря наличию в ее структуре нескольких доменов она регулирует миграцию, адгезию и пролиферацию клеток как благодаря протеолитическим, так и не зависимым от протеолиза механизмам. Протеолитические механизмы обеспечиваются локальным образованием плазмина, а также собственной протеолитической активностью урокиназы, и включают в себя обеспечение движения лидирующего края мигрирующей клетки, а также высвобождение и активацию матриксных белков, внутриклеточную сигнализацию. Непротеолитические механизмы также активируют внутриклеточную сигнализацию и перестройку цитоскелета.

С использованием синтезированных нами рекомбинантных форм урокиназы и антител, нейтрализующих ее протеолитическую активность, на экспериментальных животных моделях мы показали, что для стимуляции миграции *in vivo* и обеспечения констриктивного ремоделирования артерий протеолитические механизмы являются ведущими. Поскольку было установлено значение протеолитической активности урокиназы для ее эффектов на ремоделирование стенки поврежденной артерии, было важно оценить влияние второго активатора плазминогена на процессы перестройки поврежденной стенки артерии. Нанесение на артерию тканевого активатора плазминогена вызывало иной эффект – положительное ремоделирование поврежденной артерии. Для определения механизмов, определяющих различия в эффектах двух активаторов плазминогена при ремоделировании артерий, были оценены изменения в экспрессии генов в стенке артерии после локального нанесения урокиназного и тканевого активаторов плазминогена на разных этапах после экспериментального баллонирования сонной артерии крысы с помощью метода микрочипов (транскрипционных матриц).

Урокиназа в отличие от тканевого активатора плазминогена стимулировала экспрессию большой группы про-воспалительных генов, что может быть важным для процессов ремоделирования стенки артерии, в том числе регуляции миграции и пролиферации клеток. Также было обнаружено значительное повышение экспрессии гена урокиназы, что позволяет предполагать наличие

триггерного механизма действия урокиназы в поврежденной стенке артерии. Урокиназа вызывала достоверные изменения в экспрессии группы генов, участвующих в регуляции оксидативного стресса в клетках артериальной стенки, возникающего в ответ на повреждение.

Под влиянием тканевого активатора плазминогена менялась экспрессия других групп генов, в частности, генов, регулирующих функционирование нервной ткани и группы генов, участвующих в регуляции тонуса сосудов, эти изменения могут иметь значение для обнаруженного нами положительного ремоделирования под действием тканевого активатора плазминогена на ранних сроках после баллонного повреждения.

Полученные результаты доказывают, что урокиназа и тканевой активатор плазминогена воздействуют на экспрессию разных генов и активируют разные сигнальные пути, что и определяет различия в их эффектах на ремоделирование сосудистой стенки.

Поскольку урокиназа является одним из ключевых регуляторов негативного ремоделирования сосудистой стенки, это делает контроль ее эффектов перспективным подходом к терапии заболеваний, сопровождающихся констриктивным ремоделированием, в частности, рестенозов и окклюзий шунтов после процедур реваскуляризации. Для этого может быть эффективна нейтрализация ее протеазной активности, а также использование рекомбинантных форм урокиназы и ее отдельных доменов, блокирующих эффекты эндогенной урокиназы.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №14-24-00086) с использованием оборудования, приобретенного за счёт средств Программы развития МГУ им. М.В. Ломоносова.

Н.А. Пронин, П.В. Тараканов, И.Ю. Судакова

Особенности формирования и топографии экстраорганных артериальных анастомозов в области перешейка поджелудочной железы

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия
(Pashtet62z@mail.ru)*

N.A. Pronin, P.V. Tarakanov, I.Y. Sudakova

**Anatomical peculiarities of extra-organic arterial anastomosis
in the field of the pancreas isthmus**

Несмотря на большой объем работ, посвященных анатомии сосудов поджелудочной железы, информации об экстраорганном артериальном русле перешейка железы встречается скудно. Изучение данного вопроса имеет не только академический интерес, но и практическое значение, так как перешеек

ПЖ является местом ее пересечения при различных оперативных вмешательствах. Таким образом учет особенностей топографии артериального русла перешейка железы позволит улучшить качество ее обработки при оперативных вмешательствах в данной области.

Цель: изучить особенности формирования и топографии основных экстраорганных артериальных анастомозов в области перешейка поджелудочной железы.

Материалы и методы: исследовано 20 органокомплексов верхнего этажа брюшной полости. В исследовании использовался метод инъекции сосудов наливочной массой с дальнейшей их препаровкой и покраской.

Результаты: в области перешейка поджелудочной железы выявлены артериальные анастомозы, являющиеся ветвями двух основных артерий: дорсальной панкреатической артерии (ДПА) и гастродуоденальной артерии (ГДА). Дорсальная панкреатическая артерия в 80% являлась первой панкреатической ветвью селезеночной артерии. В 10% случаев верхней брыжеечной артерии (ВБА). В 10% выявлено отхождение общей печеночной артерии (ОПА) от ВБА, с отхождением ДПА от ОПА. Во всех наблюдениях у нижнего края тела железы ДПА делилась на две ветви: левая ветвь представлена нижней панкреатической артерией (НПА), которая в 90% случаев сливалась с большой панкреатической артерией (БПА), в 10% БПА отсутствовала, и кровоснабжение части тела и хвоста ПЖ происходило изолированно из НПА. Правая ветвь представлена предпанкреатической артерией (ППА) которая имела постоянную топографию, но различные варианты анастомозов с бассейном ГДА.

Гастродуоденальная артерия всегда отходила от ОПА. В 75% случаев конечная часть ГДА делилась на желудочно-сальниковую и переднюю верхнюю панкреатодуоденальную артерию, однако в 25% ГДА имела рассыпной тип деления с обильным кровоснабжением перешейка поджелудочной железы, а так же с сетью анастомозов с задней верхней панкреатодуоденальной артерией, предпанкреатической артерией и дорсальной панкреатической артерией по передней поверхности перешейка и тела железы.

В 25% случаев выявлены дополнительные анастомозы по передней поверхности объединяющие ДПА с бассейном ГДА в 20% случаев или ДПА с бассейном задней верхней панкреатодуоденальной артерии в 5% случаев

В 5% ГДА отдавала крупную ветвь на расстоянии 0,8 см от устья, которая переходила с передней на заднюю поверхность тела поджелудочной железы, анастомозируя с нижней панкреатодуоденальной артерией. Данная крупная анастомотическая ветвь обнаружена при отхождении ДПА от верхней брыжеечной.

Выводы: экстраорганные артериальные анастомозы в области перешейка поджелудочной железы представлены различными ветвями дорсальной панкреатической и гастродуоденальной артерии, основной из которых является предпанкреатическая артерия топография которой характеризуется относительным постоянством несмотря на варианты отхождения дорсальной панкреатической артерии, что может быть использовано для ее выделения и пе-

ревязки. Существуют непостоянные дополнительные анастомозы по передней поверхности перешейка ПЖ. При отсутствии большой панкреатической артерии пересечение железы в области перешейка без сохранения дорсальной панкреатической артерии может повлечь за собой некроз оставшейся части тела и хвоста поджелудочной железы.

Литература:

1. Кашперский Р.В., Малышев С.Ю., Макаренко А.В., Рогаль М.Л. Способ поперечного пересечения поджелудочной железы. Патент РФ.
2. Beger H.G., Krautzberger W., Gogler H. Resection of the head of the pancreas (cephalic pancreatectomy) with conservation of the duodenum in chronic pancreatitis, tumours of the head of the pancreas and compression of the common bile duct // Chirurgie. – 1981. – №107. – P. 597-606.
3. Патютко Ю.И., Котельников А.Г. Хирургия органов билиопанкреатодуоденальной зоны: руководство для врачей. – М.: Медицина, 2007.
4. Копчак В.М., Копчак К.В., Симонов О.М. и др. Возможности изучения до операции сосудистой анатомии в хирургии периампулярной зоны // Клінічна хірургія. – 2012. – №1. – С. 5-9.
5. Song S.Y., Chung J.W., Kwon J.W. et al. Collateral pathways in patients with celiac axis stenosis: angiographic-spiral CT correlation 1 // Radiographics. – 2002. – 22(4). – P. 881-93.

Д.И. Проскунов, В.Г. Гололобов

Патогистологические аспекты в работах академика Н.Г. Хлопина (к 120-летию со дня рождения)

*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия
(Den-1996.p@bk.ru)*

D.I. Proskunov, V.G. Gololobov

Pathohistological aspects in works of Academician N.G. Chlopin (to the 120th anniversary)

Академик АМН СССР Николай Григорьевич Хлопин (родился 28 июля 1897 г.) являлся начальником кафедры гистологии и эмбриологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова с 1936 по 1955 гг., профессором, генерал-майором медицинской службы. Он - ученый с мировым именем, выдающийся гистолог нашего времени, один из основоположников эволюционной гистологии, автор теории дивергентной эволюции тканей.

Наиважнейшее из его ключевых теоретических положений: для характеристики тканей необходимо знать не только их развитие и строение в норме, но и совокупность реактивных изменений при экспериментальных и патологических условиях [2]. Основными методами, которые он использовал в

исследованиях, являлись: культивирование тканевых структур вне организма; изучение процессов регенерации при заживлении ран; изучение тканей при патологических процессах.

Существенными для цитологии являются исследования Хлопина, посвященные морфофизиологии и механизму прижизненного окрашивания. Были проведены эксперименты с окрашиванием культивируемых *in vitro* клеток, отдельных органов и целых организмов. Совокупность новообразованных гранул, связывающих краситель с последующей их элиминацией, ученый назвал криномой [2]. Прослежены допустимые цитофизиологические параллели между криномой, паранекрозом и апоптозом. Интерес исследователей к расшифровке механизмов клеточной гибели связан с применением знаний о ней в медицине при лечении онкологических, аутоиммунных, нейродегенеративных и других заболеваний.

Н.Г. Хлопин считал, что ткани в организме, эксперименте и при патологии устойчиво сохраняют приобретенную ими в ходе развития тканевую специфику. Метаплазия обусловлена проявлением исторического генотипа ткани. Данное положение имеет важнейшее медицинское значение, включая клиническую диагностику патологических состояний. Он доказательно расценивал, что межтканевые трансформации, трансдифференцировки не происходят во встречающихся в природе обстоятельствах, прозорливо указывал на то, что причинный анализ явлений дифференцировки - одна из увлекательных и очень сложных задач будущего [3].



*Академик АМН СССР Н.Г. Хлопин за работой
(фото предоставлено профессором В.Г. Гололобовым)*

Будущее – это наше время. В последнее десятилетие определенные усилия клеточных биотехнологов были направлены на запросы регенеративной медицины. Им удалось с использованием ретровирусных векторов репрограммировать соматические клетки в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки с дальнейшей направленной дифференцировкой в клетки

различных типов [4]. Перспектива - адресная клеточная терапия пациентов, страдающих различными тяжелыми заболеваниями [1, 5]. Н.Г. Хлопин отчетливо представлял значение теоретических положений гистологии для врачебной практики и военно-медицинской науки.

Значительным вкладом в практическую и теоретическую онкологию являются работы академика Н.Г. Хлопина по экспериментально-морфологическому анализу опухолевых тканей. Его богатый опыт в изучении этих тканей *in vitro* обобщен в пяти главах руководства по онкологии [3]. Трактровка патогистологических свойств опухолей полностью основана на филогенетических положениях о гистологической динамике опухолевых тканей при культивировании вне организма. Он блестяще продемонстрировал значение этого метода для выяснения происхождения многих опухолей, их тканевой природы, а также обоснования их клинической диагностики, что в целом влияет на выбор тактики лечения пациентов. Филогенетическая система тканей, гистологическая детерминация, теория дивергентной эволюции тканей и другие теоретические воззрения Н.Г. Хлопина вместе с подтверждающим их безупречным фактическим материалом в наиболее развернутом виде изложены в его классической монографии «Общебиологические и экспериментальные основы гистологии», удостоенной Сталинской премией (1947) [2]. В Ленинградском онкологическом институте он организовал и заведовал лабораторией экспериментальной морфологии, наладил большую работу по сравнительному и экспериментальному изучению нормальных и опухолевых тканей сосудистой стенки, цитологическому анализу кроветворных органов в норме и при лейкозах и др.

Вывод. Оставленное Н.Г. Хлопиным огромное научное наследие шло впереди своего времени, восхищает многогранностью и идейным богатством. Оно несомненно влилось в золотой фонд мировой гистологии и еще долгое время будет влиять на направление гистологических, эволюционно-морфологических и медицинских исследований. Его труды продолжают осознаваться в широкой среде врачей и естествоиспытателей, философски осмысленные выводы его работ освещают дорогу молодым исследователям.

Литература:

1. Новосадова Е.В., Гривенников И.А. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: от получения до применения в биохимических и биомедицинских исследованиях // Успехи биологической химии. – 2014. – №54. – С. 3-38.
2. Хлопин Н.Г. Общебиологические и экспериментальные основы гистологии. – Л.: Изд-во АН СССР. 1946.
3. Хлопин Н.Г. Злокачественные опухоли / под ред. акад. АН СССР и АМН СССР Н.Н. Петрова. – Л.: Медгиз, 1947. – 1 (II). – С. 39-108.
4. Шнайдер Т.А., Фишман В.С., Лисковых М.А. и др. Репрограммирование соматических клеток. Проблемы и решения // Цитология. – 2014. – 56(12). – С. 869-880.
5. You H.J., Han S.K. Cell therapy for wound healing // J. Korean Med. Sci. – 2014. – №29. – P. 311-319.

С.Э. Русакова, И.А. Одинцова, О.Е. Миргородская

**Роль женщин в становлении научной гистологической школы
Военно-медицинской академии**

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

S.E. Rusakova, I. A. Odintsova, O.E. Mirgorodskaya

**Role of women in formation of scientific histologic school
Military medical academy**

В мае 2018 г. исполняется 150 лет со дня основания кафедры гистологии с курсом эмбриологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Становление научной гистологической школы Военно-медицинской академии приходится на период руководства кафедрой профессором А.А. Максимовым (1903-1922). Молодой энергичный профессор на свои средства создаёт великолепно оборудованную гистологическую лабораторию, в которой начинает исследования в различных направлениях: проводится изучение гистогенеза и взаимоотношений клеток крови и соединительной ткани при образовании рубцовой ткани, асептическом и гнойном воспалении, гистогенеза кроветворных тканей и кроветворения у млекопитающих, амфибий и рыб. В 1903 г. в штате кафедры кроме профессора А.А. Максимова были прозектор Н.П. Тишуткин и приват-доцент В.Я. Рубашкин. Многочисленные внештатные ассистенты, врачи и диссертанты вели свои исследования в русле научных интересов А.А. Максимова. Большинство этих работ вылилось в докторские диссертации. В силу определённых правовых и социальных условий того времени докторантами были, в основном, мужчины: Р.И. Сливинский, И.И. Эбергардт, Н.П. Солуха, Н.М. Самсонов, Чашин С.С. и др. Впервые под руководством А.А. Максимова начинают свои гистологические исследования и женщины. Высококвалифицированным лаборантом-гистологом была его преданная помощница старшая сестра Клавдия Александровна. Примерно с 1906 г. над материалами своей диссертации в его лаборатории работает первая женщина гистолог – Вера Михайловна Данчакова. Выпускница медицинского факультета Лозанского университета, она под руководством А.А. Максимова завершает свой научный труд, клинический материал для которого был получен ею во время работы в патологоанатомической лаборатории больницы г. Екатеринославля (ныне Днепропетровск, Украина). В мае 1907 г. после блестящей защиты диссертации на тему «К вопросу о нейрофибрилярном аппарате нервных клеток и его изменениях при бешенстве» она получает степень доктора медицины и становится первой женщиной-гистологом, защитившей диссертацию в стенах Военно-медицинской академии. В своей работе, в одном из положений, выносимых на защиту, она предположила, что «...организм обладает, в лице лимфоцитов, молодой зародышевой тканью, способной при известных условиях проходить во взрослом организме присущие ей циклы развития». Следует отметить, что это произошло

за два года до знаменитого программного доклада «Лимфоцит как общая стволовая клетка различных элементов крови в эмбриональном развитии и постфетальной жизни млекопитающих», сделанном 1 июня 1909 г. профессором А.А. Максимовым на чрезвычайном заседании Берлинского гематологического общества. Следует отметить, что в этом докладе А.А. Максимов упоминает вторую свою докторантку – Елену Ивановну Бабкину. Занимаясь в гистологической лаборатории Максимова вопросами реактивности тканей кроветворных органов с 1906 г., она в 1910 г. получает степень доктора медицины, за экспериментальное диссертационное исследование «Изменение ткани кроветворных органов при асептическом их воспалении». В.М. Данчакова продолжит исследования гистогенеза крови и кроветворных органов в других лабораториях в Москве и в Нью-Йорке. Её работы идейно будут связаны с работами А.А. Максимова.

После Великой Октябрьской социалистической революции положение женщин значительно изменилось. В 1921 г. первым штатным прозектором у профессора А.А. Максимова стала Софья Павловна Алфеева. Обстоятельные исследования, выполненные ею в 1922 году и опубликованные лишь в 1924 и 1926 гг., посвящены эмбриональному гистогенезу соединительной ткани у млекопитающих и образованию волокнистого межклеточного вещества. За эти работы, доложенные и защищенные на заседании ученого совета Академии в 1922 г., С.П. Алфеева была удостоена научной характеристики ученого специалиста по гистологии, соответствовавшей упраздненной в то время степени доктора медицины. После эмиграции А.А. Максимова в 1922 г., Софья Павловна работала на кафедре под руководством профессора А.А. Заварзина до 1936 г. В период руководства кафедрой профессором Н.Г. Хлопиным сравнительным и экспериментальным анализом мезотелия занималась преподаватель С.Н. Насонова (1937, 1940, 1942), врач-гистолог Н.А. Колесникова изучала тканевую природу и морфологию мезотелия (1940) и эндотелия (1945, 1946, 1947, 1949), а в годы Великой Отечественной войны была мобилизована на фронт.

Заметно увеличилось количество женщин-преподавателей с переводом кафедры гистологии в статус гражданской, что произошло при профессоре С.И. Щелкунове. Многочисленные соискатели, аспиранты внесли свой научный вклад в развитие сравнительного и экспериментального методов исследований. Долгие годы будут преданно служить делу подготовки военных врачей заслуженные работники высшей школы РФ Галина Яковлевна Графова и Юлиана Константиновна Хилова. Первой женщиной – заведующей кафедрой в 2011 г. стала ученица профессоров А.А. Клишова и Р.К. Данилова – Ирина Алексеевна Одинцова. Под руководством профессора И.А. Одинцовой коллектив бережно продолжает хранить и развивать многолетние традиции научной гистологической школы Военно-медицинской академии и преподавания гистологии, эмбриологии и цитологии.

Литература:

1. Данилов Р.К., Графова Г.Я., Гололобов В.Г. и др. Исторический очерк кафедры гистологии Военно-медицинской академии (к 200-летию со дня основания). – СПб.: ВМедА, 1993. – 125 с.

С.В. Сазонов, К.В. Коньшев

Оцифрованные гистологические препараты при изучении гистологии в медицинском вузе

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия (1)

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,

Екатеринбург, Россия (2)

(Prof-SSazonov@yandex.ru)

S.V. Sazonov, K.V. Konyshev

Digitized histological specimens in the study of histology in a medical school

Актуальность работы связана с увеличением роли практических навыков и умений в изучении дисциплины, увеличение доли самостоятельной работы студентов по дисциплине, необходимостью развития интерактивных форм обучения, обеспечения преемственности в преподавании морфологических дисциплин [1, 2]. В настоящее время сформулировано понимание необходимости разработки и внедрения в процесс обучения на морфологической кафедре принципиально нового подхода к приобретению практических навыков студентами, реализации их теоретических знаний в практику через новые, доступные им информационные технологии [3]. В новом ФГОС 3+ большое внимание уделяется формированию именно практических навыков и умений студентов. Важным дополнением к традиционной световой микроскопии на лабораторном занятии, при подготовке студента к практическим навыкам, может выступать внедрение в образовательный процесс сканированных (оцифрованных) гистологических препаратов, формирующих т.н. виртуальную галерею [4, 5].

Цель исследования предоставление студентам новых, более широких возможностей для самостоятельного изучения гистологических препаратов. Изучение может осуществляться как традиционным способом с использованием светового микроскопа непосредственно на кафедре, так и с использованием сканированного (оцифрованного) гистологического препарата, позволяющего проводить его изучение дистанционно, с использованием доступных для студента электронных компьютерных средств.

Материал и методы. Возможность получения оцифрованных гистологических препаратов появилась в связи с созданием многофункционального комплекса для телепатологии «Микросканометр», разработанного совместно ООО «СИТ – Системы Интеллектуальной Телемедицины», ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий и кафедрой гистологии УГМУ в 2016 г. в рамках развития в Российской Федерации технологий импортозамещения. Собственная разработка комплекта системы моторизации и программного обеспечения комплекса позволяет успешно сканировать любые гистологические препараты, сохранять их в виде цифровых слайдов, накапливать и хра-

нить в едином электронном хранилище (сервере). В соответствии с Рабочей программой дисциплины отсканировано 52 гистологических препарата, являющихся основой 5 учебных модулей при приобретении умений и отработке студентами практических навыков на кафедре. При этом, эти же реальные препараты, остаются доступными для студентов в оригинальной форме, имеется возможность изучать их с помощью разработанных ранее и размещенных на сайте кафедры электронных мультимедийных образовательных ресурсов.

Результаты. Сканированный гистологический препарат может использоваться преподавателем на практическом занятии. После разбора строения органа на сканированном гистологическом препарате разбираются основные принципы, подходы к дифференциальной диагностике с другими гистологическими препаратами, имеющими похожий план строения и являющиеся основой появления диагностических ошибок у студентов. При отработке практических навыков и умений по каждой дидактической единице как на практическом занятии, так и при самостоятельной работе в учебном классе кафедры каждый обучающийся получает рабочее место, оснащенное световым микроскопом и персональным компьютером. Каждый студент имеет доступ к электронным заданиям по дидактической единице, учебно-наглядным пособиям, к реальному и сканированному гистологическому препарату, на компьютерах класса они создают собственный электронный гистологический альбом. Индивидуализация рабочего места, в данном случае важна, т.к. развивает у студентов (будущих врачей) необходимую им в их дальнейшей работе ответственность при выполнении задания. Результатом самостоятельной работы студента на таком занятии должны стать заполненные страницы электронного гистологического альбома и сдача практических навыков путем непосредственной микроскопии реального гистологического препарата. Приобретенные практические навыки оцениваются в соответствии с требованиями БРС кафедры и после коррекции замечаний преподавателя сохраняются студентами на их личных цифровых носителях. Изучение сканированных гистологических препаратов может проводиться обучающимися как на территории кафедры гистологии, так и непосредственно на любом доступном ему браузере (компьютере или ином устройстве), в т.ч. мобильном, за счет использования возможностей технологии M-learning, когда студенты имеют доступ на сайт кафедры (на do.teleclinica) со своих карманных устройств. В любое удобное для себя время, используя их, обучающийся может самостоятельно находить основные структурные элементы органов и тканей, студенту обеспечивается возможность заранее иметь доступ к изучаемым препаратам, как на текущих, так и контрольных занятиях. Внедрение в учебный процесс сканированных препаратов повышает доступность студентам к образовательным технологиям, и, соответственно, создает предпосылки к повышению качества подготовки ими практических навыков и умений. Сканированные гистологические препараты могут использоваться как для подготовки к практическим занятиям, для самостоятельной работы, при подготовке к сдаче диагностик, курсового экзамена, так и при обучении на других морфологических кафедрах, являясь основой преемственности в преподавании морфологических дисциплин [6].

Литература:

1. ГОСТ Р 53620-2009 «Информационно-коммуникационные технологии в образовании. Электронные образовательные ресурсы». Общие положения.
2. Сазонов С.В., Береснева О.Ю., Шамшурина Е.О. Новые возможности инновационных технологий обучения студентов на кафедре гистологии // Морфология. – 2009. – Т. 136, №4. – С. 142.
3. Сазонов С.В., Шешенина А.В., Коротких А.Г. Использование мультимедийных технологий на практических занятиях в курсе обучения гистологии: сб. науч. тр.: «Вопросы морфологии XXI века». – СПб.: Изд-во ДЕАН, 2012. – Вып. 3. – С. 153-155.
4. Береснева О.Ю., Шешенина А.В., Сазонов С.В. Оценка студентами новых методических приемов проведения практических занятий на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии: материалы III межрегиональной конференции с межд. участием: Управление качеством высшего профессионального образования в условиях внедрения ФГОС. – Екатеринбург, 2013. С. 349-353.
5. Сазонов С.В. Создание мультимедийного электронного образовательного ресурса для обучения и закрепления навыков и умений студентов по гистологии // Морфология. – 2014. – 145(3). – С. 169.
6. Сазонов С.В. Использование электронных образовательных ресурсов в обучении студентов на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2016. – №2. С. 178-179.

Д.А. Старчик, С.А. Круговихин, Т.А. Овчаренко

Использование пластинированных препаратов для преподавания патологической анатомии

*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

D.A. Starchik, S.A. Krugovichin, T.A. Ovcharenko

Use of plained preparations for the teaching of pathological anatomy

Изучение патологической анатомии в медицинском вузе подразумевает использование традиционных макроскопических препаратов, содержащих токсичный и канцерогенный формалин, в связи с чем поиск новых методов изготовления демонстративных учебных образцов является актуальной задачей для кафедр патологической анатомии.

Для изготовления патологоанатомических препаратов использовались методы силиконовой и эпоксидной пластинации, состоящие из четырех последовательных стадий: 1) обезвоживание, 2) обезжиривание, 3) импрегнация полимеров и смол, 4) отверждение полимеров.

Установлено, что для демонстрации объема, формы, цвета, структуры поверхности и паренхимы пораженных органов целесообразнее использовать силиконовую технику пластинации. Данные о топографии патологических изменений внутри органов можно получить с помощью прозрачных срезов и распилов органов, пластинированных эпоксидной смолой и доступных для изучения в проходящем и отраженном свете как невооруженным глазом, так и под небольшим увеличением. Эта техника хорошо зарекомендовала себя и при проведении морфологических исследований.

Использование пластинированных препаратов в процессе преподавания патологической анатомии расширяет возможности демонстрации и исследования патологических изменений в тканях и органах.

И.П. Степанова, А.С. Каргина, С.П. Степанов, М.В. Боженкова,
И.М. Куприкова, И.В. Тудор, М.В. Разгильдяева

**Преподавание гистологии, эмбриологии, цитологии
с использованием интернета**

*ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Смоленск, Россия*

I.P. Stepanova, A.S. Kargina, S.P. Stepanov, M.V. Bogenkova,
I.M. Kuprikova, I.V. Tudor, M.V. Razgildaeva

**Using of the internet in the educational process at the histology,
cytology, embryology**

В современном мире Интернет является источником информации и средством общения. Всемирная сеть предоставляет в распоряжение пользователей большой выбор иностранных и российских образовательных сайтов.

Преподавание гистологии, эмбриологии и цитологии использованием интернета ведется на кафедре гистологии СГМУ.

На лекциях и практических занятиях ведется на кафедре гистологии СГМУ демонстрируются фильмы, презентации.

Студенты получают современную научную информацию, что способствует углублению понимания материала, используется в рамках НИРС и УИРС, поскольку это наиболее эффективный путь ознакомления. Во время обучения на кафедре гистологии студент участвует в исследовательской работе и выступает с реферативным сообщением по выбранной теме или докладом по результатам экспериментальной работы. В полной степени студенты овладевают навыками поиска, отбора и оценки информации систематизации, анализа и обработки. Учащиеся создают собственные электронные материалы. Как правило, это «атлас» фотографий и рисунков учебных и музейных микропрепаратов, записи лекций, которые выкладываются в интернете и используются широкой студенческой аудиторией.

Интернет дает возможность оценить полученные знания в форме тестового контроля и диагностики микропрепаратов на сайтах образовательных учреждений или в форме интернет-экзамена. Интернет предлагает электронные издания учебно-методических материалов по гистологии, позволяет обмениваться опытом по вопросам преподавания с помощью современных коммуникационных технологий в дистанционном режиме. Обобщение опыта использования информационных ресурсов интернет в преподавании на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии позволяет выделить ряд проблем.

Предполагается, что к началу обучения в ВУЗе студенты имеют опыт работы с основными сервисами (электронная почта, поисковые системы). Однако на практике оказывается, что навык работы в сети есть не у всех студентов. Многие студенты, особенно иногородние, не имеют возможности пользоваться Интернетом ни в академии, ни в общежитии. Новые образовательные стандарты предусматривают значительное увеличение объема часов для самостоятельной работы студентов. Для эффективной организации работы и выполнения заданий необходимо решить задачу обеспечения каждому студенту стабильного доступа в интернет.

На базе библиотеки СГМУ создан Интернет-класс, доступный в работе с материалами кафедры каждому студенту.

Учащимся 1-2 курсов сложно ориентироваться в огромном объеме информации. В данной ситуации преподаватель может предложить перечень электронных адресов по нужной тематике, объяснить особенности работы в различных поисковых системах, сильные и слабые стороны популярных и специализированных научных сайтов.

Студенты рассматривают Интернет как источник готовых докладов, рефератов и презентаций, не утруждая себя редактированием текстов. Преподавателю необходимо ориентировать студента на творческий, осознанный отбор необходимой информации. Информатизация обучения предъявляет новые требования к профессионализму преподавателя: он должен знать основы компьютерной грамотности, программное обеспечение, разрабатывать учебные и методические материалы, рассчитанные на использование Интернета. Таким образом, в ходе изучения гистологии, эмбриологии и цитологии создаются условия для формирования важной профессиональной компетенции врача - способности работать с информацией в глобальных компьютерных сетях, применять современные информационные технологии для решения профессиональных задач, получать и углублять свои знания.

Д.И. Сучков, А.В. Павлов, А.А. Виноградов

**Морфологические особенности гетеротопического остеогенеза
при применении устройства для подготовки пломбировочной массы
костных дефектов**

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

D.I. Suchkov, A.V. Pavlov, A.A. Vinogradov

**The heterotopic osteogenesis morphological features after the device for filling
mass preparation application**

Актуальность. Рутинной проблемой в настоящее время является восстановление костной ткани после оперативных вмешательств. Исход оперативного вмешательства зависит не только от выбранного костнозамещающего имплантата, но и так же от скорости и качества проведенной операции. Поэтому ведется поиск и разработка устройств, которые позволяют более качественно и быстро пломбировать костный дефект через минимальный оперативный доступ. В последние десятилетия стали появляться готовые решения, включающие имплантируемый материал и устройство для извлечения его в костную рану, например, Коллапан гель шприц (Интермедапатит, Россия), Easy-Graft Classic/Crystal шприц с гранулами, и ампула с органическим растворителем (SUNSTAR GUIDOR, Швейцария). Однако данные устройства не лишены недостатков, таких как высокая стоимость, требование проведения пробы на биосовместимость, сложность предварительной подготовки пломбировочной массы.

Цель исследования. Разработать и апробировать устройство для подготовки пломбировочной массы для закрытия костного дефекта и изучить морфологические особенности остеогенеза при использовании данного устройства.

Материал и методы. Для имплантации пломбировочной массы было предложено устройство (№ приоритета 2017110357 от 28.03.17), которое состояло из трубки цилиндра, имеющей на одном конце съемную крышку с коническим выступом с полужестким фильтром под иглу, а на другом конце – упор для пальцев. В полость предварительно помещали костнозамещающий имплантат, в данном случае гранулы коралла семейства *Acroporidae* размером от 98 мкм до 400 мкм, в объеме необходимым для закрытия дефекта. После стерилизации устройства на конический выступ устройства надевали иглу и у лабораторной крысы забирали венозную кровь с учетом количества препарата, который должен быть погружен в кровь. Далее инкубировали пломбировочную массу 12 часов при температуре 4⁰С и вводили в костный дефект.

В эксперимент были взяты 12 лабораторных крыс – половозрелые самцы стока Wistar, весом 280-300 г. Все животные были разделены на две груп-

пы – опытную (n=6) и контрольную (n=6). Забор крови производили из хвостовой вены. В стерильных условиях вивария под наркозом в проекции средней трети бедренной кости на предварительно выбритом участке с латеральной стороны был выполнен оперативный доступ. В кости формировали фрезевое отверстие диаметром 3 мм с полным обнажением костномозгового канала. В опытной группе с помощью разработанного устройства производили введение препарата в костный дефект. В контрольной группе в дефект помещалась крошка идентичного коралла, смешанного с кровью непосредственно перед имплантацией. После гемостаза рана ушивалась послойно наглухо. Животные выводились из эксперимента путем передозировки средств для наркоза на 15, 30 сутки. Условия содержания и рацион питания был идентичен во всех группах.

У всех животных, выведенных из эксперимента производили вычленение оперированной кости с дальнейшей фиксацией в 10% кислом растворе формальдегида в течение 14 суток для дальнейшего гистологического исследования. Образцы декальцинировали, заливали в парафин, срезы толщиной 10–15 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по способу Маллори.

Результаты. Все животные к концу первой недели восстановили функциональную активность оперированной конечности.

На 15 сутки из эксперимента выведено по 3 крысы из каждой группы. При гистологическом исследовании было выявлено следующее: в контрольной группе отмечалось, что некоторые пустоты от декальцинированных гранул коралла превосходили исходный размер (>500 мкм). Так же определялось наличие молодой хрящевой ткани и участки незрелой костной ткани, занимающей не более 20% от площади дефекта. Регистрировалась выраженная воспалительная инфильтрация полиморфноядерными лейкоцитами. Напротив, в опытной группе пустоты от растворенного коралла варьировали от 70 до 253 мкм. Незрелая костная ткань с хрящевой тканью занимали более 50% от площади дефекта. Воспалительная инфильтрация отчетливо не регистрировалась.

На 30-е сутки из эксперимента выведены все животные. В контрольной группе регистрировались большие зоны грубой соединительной ткани. Костный регенерат заполнял 40% от площади дефекта, пустоты от гранул коралла варьировали от 60 до 360 мкм. В опытной группе костный регенерат заполнил более 85% площади дефекта, пустоты коралла варьировали от 30 до 125 мкм.

Таким образом, разработанное устройство позволяет дозированно имплантировать костнозамещающую массу в костный дефект, тем самым равномерно полностью его заполняя. Применение устройства после инкубирования костнозамещающего материала с кровью исключает контроль на биосовместимость, а особенности состава и физических свойств коралла положительно влияют на остеоиндуктивный эффект. Наличие конструктивных особенностей устройства обеспечивают повышенную антимикробную защиту.

А.В. Федосеев¹, А.С. Инютин¹, И.Ю. Виноградов^{1,2},
И.И. Виноградов^{1,2}, С.Н. Лебедев¹

**Морфофизические особенности белой линии живота,
как основы выбора способа её ушивания после лапаротомии**

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (1)*

*ГБУ РО Областной клинический онкологический диспансер,
Рязань, Россия (2)*

A.V. Fedoseev, A.S. Inutin, I.Yu. Vinogradov, I.I. Vinogradov, S.N. Lebedev

**Morphophysical characteristics of the white line of the abdomen as the s basis
of selection of method of suturing after laparotomy**

В современной хирургии срединная лапаротомия является доступом выбора при абдоминальных операциях. При этом частота возникновения послеоперационных вентральных грыж (ПОВГ) после срединных лапаротомий достигает 7–24% случаев. Современные попытки профилактики ПОВГ не подтвердили свою эффективность. Одним из направлений профилактики развития ПОВГ является выбор техники ушивания белой линии живота после лапаротомии. Важным принципом является выполнение пластики без натяжения тканей с учётом равномерной нагрузки на шов, а несоблюдение этих правил ведет к прорезыванию швов, нарушая микроциркуляцию и трофику в тканях, и способствует возникновению ПОВГ и эвентраций.

Цель исследования: разработка способа ушивания апоневроза после срединной лапаротомии, препятствующего формированию эвентраций и ПОВГ с учётом морфологического строения и физических свойств белой линии живота.

Материалы и методы. Материалом для исследования явился апоневроз белой линии живота от 18 трупов обоего пола, умерших от патологии сердечно-сосудистой системы, в возрасте от 51 до 92 лет. Проведён эксперимент, заключающийся в определении прочности интактного апоневроза и рассечённого, после наложения на него отдельных узловых, непрерывных, непрерывных с расположением стежков в шахматном порядке, укрепляющих швов. Исследуемый материал подвергнули тензиометрическому исследованию на динамометре электронном АЦД/1Р-0,1/И-2. Затем было проведено гистологическое исследование апоневроза.

Результаты. Тензиометрическое исследование участков ушитого апоневроза человека показало, что наиболее прочным оказался непрерывный шов с расположением стежков в шахматном порядке (от 215,6 Н до 264,6 Н). Прочность одного укрепляющего шва составила от 76,4 Н до 98,1 Н. Далее была исследована длина каждого анатомического отдела белой линии живота с шагом в 5 см. В эпигастральной части прочность первого верхнего участка

была от 274,4 Н по 313,6 Н; второго участка от 250,4 Н до 286,6 Н; третьего участка от 287,4 Н до 300,6 Н. При гистологическом исследовании указанных участков, ход сухожильных пучков первого из них на 30% поперечный, в 70% продольный, расстояние между волокнами от 24,2 до 27,3 мкм. Во втором участке 50% поперечный ход, 20% косой, 30% продольный, расстояние между сухожильными волокнами от 26,2 до 29,3 мкм. В третьем участке сухожильные пучки имели поперечное направление в 40%, 50% в продольном, 10 % в косом, расстояние между волокнами от 25,1 до 26,8 мкм.

В мезогастральной части прочность первого верхнего участка была от 243,4 Н по 271,6 Н; второго участка от 275,4 Н до 298,6 Н. Гистологическое исследование показало, что направление сухожильных пучков в первом участке апоневроза на 70% поперечное, на 20% продольное и на 10% косое, расстояние между сухожильными волокнами от 28,2 до 30,3 мкм; во втором на 60% поперечное, на 35% продольное и на 5% косое, расстояние между сухожильными волокнами от 22,3 до 25,1 мкм.

В гипогастральной части прочность белой линии составила от 323,4 Н по 353,6 Н, то есть прочнее, чем в эпигастральной и мезогастральной областях. Ход сухожильных пучков на 50% поперечный, а на 50% косой, расстояние между сухожильными волокнами от 17,5 до 20,1 мкм.

Обсуждение. Таким образом, наиболее «слабыми» с точки зрения прочности и особенностей строения белой линии живота, является средняя область её эпигастральной части (на расстоянии в среднем 5-10 см от мечевидного отростка) и область в 5 см над пупком, что объясняет наибольшую частоту грыж в эпигастральной области и над пупком. Гистологически, в выявленных «слабых» участках, имело значение преобладание сухожильных пучков, идущих в поперечном направлении, а также наибольшие расстояния между ними. Проведённое экспериментальное исследование по швам позволило разработать наиболее рациональный способ ушивания апоневроза после лапаротомии. Сущность способа состоит в том, что после ушивания брюшины, производят ушивание апоневроза лапаротомной раны укрепляющими швами, расстояние между которыми составляет 5см, в том числе в «слабых» местах белой линии, а затем накладывается непрерывный шов с расположением стежков в шахматном порядке.

Выводы: непрерывный шов с расположением стежков на разных уровнях, наложенный на апоневроз человека, прочнее в среднем на 11% классического непрерывного шва и на 26% отдельного узлового шва. Наиболее «слабыми» местами апоневроза, с позиции его морфо - физических особенностей, является средний участок эпигастральной части и начальный мезогастральной, ввиду преобладания поперечного хода сухожильных пучков и наибольшего расстояния между ними. Укрепляющий шов, за счёт своих высоких прочностных характеристик, наложенный на «слабые» места белой линии, позволяет дополнительно усилить эти участки, предупредив несостоятельность непрерывного шва.

И.С. Цветков¹, Д.Ш. Джалилова¹, В.А. Мхитаров¹, К.С. Капитанова²

Иммуноморфологические изменения органов иммунной системы при супрафизиологической концентрации тестостерона у мышей C57BL/6

*ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, Россия (1)
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия(2)*

I.S. Tsvetkov, D.Sh. Dzhalilova, V.A. Mkhitarov, K.S. Kapitanova

Immunomorphology changes of immune system organs in male C57BL/6 mice with supraphysiological levels of testosterone

Введение: тестостерон оказывает супрессорное действие на клеточно-опосредованные и гуморальные реакции иммунитета, влияет на иммунный ответ и течение воспалительных процессов. Большинство работ, посвящённых исследованию эффектов тестостерона на иммунную систему, выполнены *in vitro*. В настоящее время важной проблемой является изучение особенностей воспалительных процессов, протекающих в условиях супрафизиологической концентрации андрогенов у мужчин, использующих фармакологические препараты тестостерона для контрацепции или достижения высоких результатов в спорте. Однако морфологические изменения органов иммунной системы при супрафизиологической концентрации тестостерона не изучены.

Цель: изучить морфологические и иммунологические изменения органов иммунной системы на фоне супрафизиологической концентрации тестостерона.

Методы: работа выполнена в осенне-зимний период на 50 половозрелых самцах мышей линии C57Bl/6 массой тела 17-23 г (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Для воспроизведения модели супрафизиологической концентрации тестостерона животным троекратно внутримышечно вводили фармакологический препарат смеси эфиров тестостерона. Методом иммуноферментного анализа (набор “Diagnostics Biochem Canada Inc”) определяли концентрацию общего тестостерона в сыворотке крови.

Для оценки субпопуляционного состава лимфоцитов из аксиллярных лимфатических узлов выделяли клетки с помощью гомогенизатора Поттера и методом проточной цитофлюориметрии на приборе Cytomics FC 500 (“Beckman Coulter”, США) оценивали содержание CD3-CD19+, CD3+CD4+, CD3+CD8+ клеток (антитела «eBioscience»).

Для морфологического исследования выделяли тимус, селезенку и аксиллярные лимфатические узлы. Оценивали морфологические и объемную плотность функциональных зон тимуса и селезенки методом точечного счета. Получали изображения гистологических срезов тимуса и селезенки, проводили их морфометрический анализ в программном пакете для обработки биомедицинских изображений ImageJ (NIH) 1.51h в варианте Fiji.

Для морфометрической оценки исследуемых структур применяли визуальный подсчет клеток и ручную сегментацию. Статистическую обработку проводили с помощью программы STATISTICA 8.0 с учетом характера распределения непараметрическими методами (U-критерий Манн-Уитни). Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

Результаты и их обсуждение. У мышей при супрафизиологической концентрации тестостерона площадь долек тимуса была уменьшена в 3-5 раз по сравнению с контролем. Отмечалось отсутствие четких границ между корковым и мозговым веществом, опустошение коркового и преобладание мозгового вещества, а также наблюдалась частичная инверсия слоёв. Субкапсулярная зона локально сохранялась. В мозговом веществе преобладали эпителиальные тимические клетки и определялись единичные лимфоциты, число которых было снижено по сравнению с контролем.

Лимфатические узлы мышей при супрафизиологической концентрации тестостерона имели нормальное строение, однородную структуру. При морфологической оценке не выявлено опустошения коркового вещества. В нём определялись преимущественно вторичные лимфоидные узелки с широкими светлыми центрами, представленными лимфобластами и небольшим количеством в лимфоцитов и макрофагов. Паракортикальная зона плотно заселена лимфоцитами. В мозговых тяжах определялись лимфоциты, макрофаги и единичные плазмциты. Краевые и мозговые синусы были очагово расширены, заполнены небольшим количеством лимфоцитов и макрофагов.

У мышей при супрафизиологической концентрации тестостерона в аксиллярных лимфатических узлах не выявлено статистически значимых различий по показателям относительного количества CD3+CD4+ Т-хелперов, CD3+CD8+ цитотоксических Т- CD3-CD19+ В-лимфоцитов.-лимфоцтов

В селезенке при супрафизиологической концентрации тестостерона была гиперплазирована белая пульпа, ее объемная по сравнению с контролем была увеличена в 2,5 раза.

Выводы: таким образом, при супрафизиологической концентрации тестостерона у самцов мышей C57Bl/6 выявлена выраженная инволюция тимуса с выраженным опустошением коркового и мозгового вещества и их инверсией, гиперплазия лимфоидных узелков в лимфатических узлах и белой пульпы селезенки.

Литература:

1. Olsen N. J., Kovacs W. J. Effects of Androgens on T and B-lymphocyte development // Immunologic Res. – 2001. – 23. – P. 281-288.
2. Kissick H.T., Sanda M.G., Dunn L.K et al. Immunology Androgens alter T-cell immunity by inhibiting T-helper 1 differentiation // PNAS USA. – 2014. – 111(27). – P. 9887-9892.
3. Spellberg B., Edwards J.E. Jr. Type 1/Type 2 immunity in infectious diseases // Clin. Infect. Dis. – 2001. – 32 (1). – P. 76-102.
4. Klein S.L., Roberts C.W. Sex hormones and immunity to infection. – Springer, 2010.
5. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990.

И.В. Черных, Е.Н. Якушева, И.Ю. Виноградов, А.В. Шулькин

Экспрессия белка-транспортера гликопротеина-Р в коре лобной доли крыс при гипоксии разных типов

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия
(alekseyshulkin@rambler.ru)*

I.V. Chernykh, E.N. Yakusheva, I.Yu. Vinogradov, A.V. Shchulkin

Transport-protein P-glycoprotein expression in the rats frontal cerebral cortex during different types of hypoxia

Гликопротеин-Р (Pgp) или ABCB1-белок – это энергозависимый белок-транспортер, участвующий в эффлюксе большого числа различных по химической структуре веществ. Считается, что, локализуясь в мембране эндотелиальных клеток гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), Pgp обеспечивает защиту головного мозга от ксенобиотиков и ряда биобиотиков, препятствуя их проникновению в ткань мозга [1].

Цель работы – оценить экспрессию Pgp в ГЭБ на фоне окклюзии общей сонной артерии и ее окклюзии-реперфузии, а также изучить ее зависимость от редокс-статуса ткани мозга.

Материалы и методы. Работа выполнена на 90 крысах-самцах Wistar, разделенных на 3 группы: интактные животные (n=6), крысы, которым окклюдировали общую сонную артерию в течение 30, 60, 90 мин, 4, 12 ч, 5 и 14 суток (n=42) и животные, которым моделировали 30-минутную ишемию мозга с реканализацией той же длительности (n=42).

Экспрессию Pgp определяли иммуногистохимически. Перед реакцией иммунного окрашивания выполняли демаскировку антигенов тканей посредством нагревания на водяной бане в 10 мМ цитратном буфере (pH 6,0), блокировали эндогенную пероксидазу 3% раствором пероксида водорода. Затем инкубировали срезы с первичными антителами к Pgp (Mdr-1 3H2833: sc-71557 «SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC», США) в разведении 1:50 по стандартной методике. Для иммунного окрашивания использовали полимерную систему детекции с пероксидазной меткой («ДАКО», Дания). Изображения анализировали с помощью программы ImageJ. Оценивали относительную площадь гематоэнцефалического барьера, экспрессирующего Pgp, которую рассчитывали автоматически как: площадь гематоэнцефалического барьера, экспрессирующего Pgp, (pix²) / общая площадь поля зрения (pix²).

В ткани мозга также определяли выраженность окислительного стресса по концентрации ТБК-реактивных продуктов, уровню безбелковых сульфгидрильных (SH) групп, активности глутатионпероксидазы (G-per) и глутатион-S-трансферазы (G-tr).

Распределение полученных результатов оценивали по критерию Шапиро-Уилка. При нормальном распределении данных использовали тест ANOVA, при распределении данных отличным от нормального – критерий Крускала-Уоллиса. Межгрупповые различия определяли по критерию Ньюмена-Кейсла.

Результаты. В ходе исследования установлено, что экспрессия Pgr уменьшалась через 12 ч окклюзии на 59,2%, а на 5 сутки увеличивалась на 65,9%. Ишемия-реперфузия приводила к снижению экспрессии Pgr через 4 и 12 ч после реперфузии на 61,3% и 74,8% соответственно. При ишемии концентрация ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП) возрастала через 1,5 ч на 27,5% и оставалась повышенной до 14-х суток. Уровень SH групп снижался через 60 мин на 29,2%, оставался сниженным до 12-го ч, затем от нормы не отличался. Активность G-tr на протяжении всего эксперимента от исходных значений не отличалась ($p>0,05$), тогда как активность G-per снижалась через 1,5 ч от момента окклюзии на 26,7% ($p<0,05$) по сравнению с показателями интактных животных, оставалась сниженной до 12-го ч и нормализовалась к 5-м суткам эксперимента ($p>0,05$). При проведении корреляционного анализа была выявлена зависимость между экспрессией Pgr и активностью G-per в ткани коры головного мозга на протяжении всего исследования $R_s=0,352$, $p=0,024$.

При окклюзии-реперфузии уровень ТБК-РП увеличивался через 30 мин после реперфузии на 84,9% и оставался достоверно повышенным до конца эксперимента. Концентрация SH-групп снижалась через 30 мин на 25,3%, нормализовалась к 12-му ч и вновь снижалась к 5 суткам наблюдения. Активность G-tr повышалась через 30 мин. после реперфузии на 64,0% ($p<0,05$), затем нормализовалась и на протяжении дальнейшего наблюдения достоверно от показателей интактных животных не отличалась ($p>0,05$). Активность G-per снижалась через 4 ч после реперфузии на 34,7% ($p<0,05$), а затем постепенно повышалась, достигая показателей нормы к 14-му дню эксперимента ($p>0,05$).

При проведении корреляционного анализа была выявлена зависимость между экспрессией Pgr и активностью G-per в ткани мозга на протяжении всего эксперимента $R_s=0,555$, $p=0,001$.

Выводы.

1. Односторонняя окклюзия общей сонной артерии приводит к развитию окислительного стресса в ткани лобной коры головного мозга, уменьшению экспрессии Pgr через 12 ч от момента окклюзии и к ее увеличению на 5-е сутки эксперимента.

2. Односторонняя окклюзия общей сонной артерии в течение 30 мин с последующей реперфузией сопровождается развитием выраженного окислительного стресса в ткани мозга и снижением экспрессии Pgr через 4 и 12 ч после реперфузии.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-44-620292 p_a.

Литература:

1. Якушева Е.Н., Черных И.В., Щулькин А.В., Попова Н.М. Гликопротеин-R: структура, физиологическая роль и молекулярные механизмы модуляции функциональной активности // Успехи физиол. наук. – 2014. – 45(4). – С. 89-98.

М.Л. Чуркова, С.В. Костюкевич

**Серотонин-иммунореактивные клетки эпителия слизистой оболочки
кишки крыс при введении мелатонина и доксиламина сукцината**

*ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия
(mchurkova@gmail.com)*

M.L. Churkova, S.V. Kostyukevich

**Serotonin-immunoreactive cells of the intestinal mucosa epithelium
at introduction of melatonin and doxylamine succinate**

Актуальность. Для корректировки сомнологических нарушений используют лекарственные препараты разного спектра действия. Показаны хорошие клинические эффекты использования терапевтических доз (т.д.) синтетического гормона мелатонина (МТ) [1] и доксиламина сукцината (ДС) [2]. Однако, на фоне их приема у части респондентов отмечаются интерстициальные реакции.

Цель исследования: оценить количественное содержание серотонин-иммунореактивных клеток эпителия слизистой оболочки (СО) кишки крыс при хроническом воздействии терапевтической дозы мелатонина и доксиламина сукцината.

Материал и методы. Исследование проводилось на взрослых крысах линии Wistar, которые были разделены на 2 серии опытов. В первой серии животным с помощью зонда внутрь желудка вводили ежедневно в течение месяца по 1 т.д. мелатонина, доза рассчитывалась из расчета 0.5 мг/кг. Во второй серии - по подобной схеме осуществляли введение 1 т.д. доксиламина сукцината (1 т.д. – 13 мг/кг). Каждой серии опыта соответствовала подгруппа контроля. После окончания эксперимента забирался материал двенадцатиперстной, ободочной и прямой кишки крыс. Для выявления серотонин-иммунореактивных клеток (СИР-клеток) поперечные срезы изучаемого отдела ЖКТ подвергали иммуногистохимической обработке (поликлональные антитела против серотонина). СИР-клетки подсчитывали с использованием окулярной морфометрической сетки и соотносили на 1 мм² поверхности среза эпителия слизистой оболочки кишки. Статистическую обработку осуществляли в пакете программ Statistica 10, (p<0,05).

Результаты и обсуждение. Серотонин-иммунопозитивные клетки были выявлены во всех экспериментальных группах. Они были локализованы преимущественно в нижней части крипт эпителия СО кишки и в основании ворсинок двенадцатиперстной кишки. Их размеры отличались вариабельностью, но были сопоставимы с контролем.

В первой серии опытов (введение МТ) в эпителии СО двенадцатиперстной (62,17±8,06 кл./мм²; контроль - 17±2,18) и ободочной кишки (62,17±8,06;

контроль - $16,7 \pm 4,9$) была отмечена достоверная гиперплазия СИР-клеток, тогда как количественное содержание в эпителии СО прямой кишки ($20,9 \pm 2,1$ кл/мм²) было сопоставимо с контролем ($25,3 \pm 2,7$).

При введении доксиламина сукцината наблюдалось достоверное увеличение изучаемых клеток во всех отделах кишки: двенадцатиперстная кишка - $25,0 \pm 1,9$ кл/мм² (контроль - $17 \pm 2,18$); ободочная кишка - $72,68 \pm 7,1$ (контроль - $16,7 \pm 4,9$); прямая кишка - $48,7 \pm 4,3$ (контроль - $25,3 \pm 2,7$).

Известно, что доксиламина сукцинат – блокатор Н1-гистаминовых рецепторов [2]. Гистамин и серотонин тесно связаны функционально, а серотонин является предшественником мелатонина. Возможно, при блокировке гистаминовых рецепторов для обеспечения гомеостаза кишки в условиях хронического воздействия ДС требуется повышение уровня серотонина в крови, как это наблюдается при хроническом гастрите у человека [3], что может обеспечиваться за счет развития гиперплазии серотонин-иммунореактивных клеток [4], наблюдаемой в данном исследовании.

При хроническом введении МТ в эпителии СО двенадцатиперстной и ободочной кишки также отмечается увеличение числа СИР-клеток, что свидетельствует о развитии компенсаторных механизмов в кишке. Подобные изменения в эпителии СО прямой кишки не были выявлены, что возможно связано с тем, что гормон достаточно быстро всасывается в кровь [1] и, видимо, непосредственно не воздействует на этот отдел ЖКТ.

Выводы: хроническое введение крысам терапевтической дозы доксиламина сукцината и мелатонина приводит к изменению количественного содержания серотонин-иммунореактивных клеток эпителия слизистой оболочки изучаемых отделов кишки в виде гиперплазии, за исключением прямой кишки, в которой введение МТ подобную реакцию не вызывает.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства Санкт-Петербурга для аспирантов (серия ПСП №16553).

Литература:

1. Мендель В.Э., Мендель О.И. Мелатонин: роль в организме и терапевтические возможности. Опыт применения препарата Мелаксен в российской медицинской практике // РМЖ, терапия. – 2010. – 18(6). – С. 336-341.
2. Hausser-Hauw C. B. Fleury, F. Scheck et al. Effect on sleep architecture and residual effect of a dose of 15 mg of Doxylamine in healthy volunteers // Sep. Hop. Paris. – 1995. – 71(23-24). – P. 742-750.
3. Викторов Ю.Н., Артемьева Е.Г. Уровни биогенных аминов слизистой оболочки желудка и показатели иммунитета у пациентов с хроническим гастритом // Медицинский альманах. – 2010. – №3. – С. 141-146.
4. Осадчук А.М., Осадчук М.А., Балашов А.В. и др. Роль диффузной эндокринной системы и клеточного обновления колоноцитов в формировании клинических вариантов синдрома раздраженного кишечника у лиц молодого возраста // Клиническая медицина. – 2008. – 86(3). – С. 33-37.

В.Г. Шестакова¹, В.В. Банин², Д.В. Баженков¹, Р.В. Деев³

Морфологическое и доплерографическое изучение кровоснабжения регенерата кожи в условиях стимулированного ангиогенеза

*ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет МЗ России,
Тверь, Россия (1)*

*ФГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический
университет им. А.И. Евдокимова МЗ России, Москва, Россия (2)*

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (3)*

V.G. Shestakova, V.V. Banin, D.V. Bazhenov, R.V. Deev

Morphological and dopplerographic study of blood supply of skin regenerator in the conditions of stimulated angiogenesis

Вопросы раневого патогенеза тесно связаны с расстройством микроциркуляции и дефицитом капиллярного кровотока в области повреждения [2]. Исходя из этого, представляется весьма актуальным исследование влияния стимулированного ангиогенеза на течение заживления обширных, полнослойных дефектов кожи, которое при спонтанной репарации всегда завершается формированием рубца, лишённого дериватов [1]. Классический способ микроскопической оценки состояния сосудистой составляющей регенерата целесообразно сопоставить с прижизненными неинвазивными методами, в частности с тканевой доплерографией.

Цель исследования - выявить зависимость между степенью развития микроциркуляторного русла в области раны и органоспецифичностью образованного регенерата.

Материал и методы. Исследования выполнены на 42 белых беспородных крысах, которым под эфирным наркозом на дорсальной поверхности тела наносили полнослойные кожные раны площадью 225 мм². Было сформировано 2 группы: контрольная (n=21) и подопытная (n=21). Крысам контрольной группы паравульнарно двукратно (на 2 и 7 сутки) вводили 0,1 мл физиологического раствора. Животным подопытной группы аналогичным способом вводили 0,1 мл раствора Неоваскулгена - сверхскрученную форму плазмиды, кодирующей эндотелиальный фактор роста сосудов. Доплерографическое исследование было проведено с помощью ультразвукового компьютеризированного комплекса «Минимакс–Доплер-К» с датчиками, работающими на частоте 25 МГц. Биопсию выполняли на 7, 14 и 21 сутки, изготавливали гистологические препараты, окрашивали гематоксилином и эозином и подсчитывали количество сосудов в 10 полях зрения микроскопа (при увеличении 600). Цифровой материал подвергли статистической обработке по общепринятой методике.

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ гистологических препаратов на 7 сутки показал значительное развитие грануляционной ткани в подопытной группе по сравнению с контролем, обусловленное ускоренным

формированием слоя вертикально ориентированных сосудов под влиянием стимулятора ангиогенеза. Количество сосудов превышает контрольные значения в среднем в 2,2 раза. К 14-ым суткам гистологическая картина в группах сравнения демонстрирует более плотную сосудистую сеть в новообразованной ткани у животных, получавших «Неоваскулген»; количество сосудов в 1,7 раза превышает таковое у контрольных крыс. Результаты гистологических исследований подтверждались данными, полученными при обработке доплерограмм на разных этапах заживления. Показатели средней систолической объемной скорости кровотока, т.е. количества крови, поступающей в исследуемый участок ткани в единицу времени при использовании ангиоактивного препарата значительно выше, чем в контроле. Средняя систолическая линейная скорость кровотока, которая зависит от общей суммарной площади поперечного сечения сосудов исследуемого участка ткани, напротив, в опытной группе ниже, чем в контроле, что свидетельствует о большей суммарной площади поперечного сечения новообразованных сосудов. Индекс пульсации Гослинга, отражающий упруго-эластические свойства артериол имеет тенденцию к снижению в процессе спонтанного заживления. Более высокие его показатели в опытной группе свидетельствует о значительном количестве еще незрелых сосудов и продолжении ангиогенеза. Индекс периферического сопротивления Пурсело, демонстрирующий состояние сопротивления кровотоку дистальнее места измерения, свидетельствуют о большем количестве микрососудов в зоне репарации, которые сохраняются и по завершении эпителизации дефекта. Показатели доплерографических исследований в полной мере соотносятся с микроскопической картиной и данными морфометрии [3, 4].

Выводы. Более плотная сеть микрососудов, формирующаяся под влияние «Неоваскулгена», обеспечивает дополнительный приток кислорода и биологически активных веществ, служит источником клеток фибробластического ряда, стимулирует рост эпителия и формообразование дериватов кожи. Данные доплерографии позволяют оценить течение всех этапов процесса заживления, в скрининговом режиме контролировать состояние микроциркуляторного русла в области регенерата, прогнозировать и корректировать процесс заживления.

Литература:

1. Алексеева Н.Т., Никитюк Д.Б., Ключкова С.В. Аналитическая морфология репаративной регенерации в коже под действием различных региональных факторов // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – 4(1). – С. 26-38.
2. Козлов В.И. Капилляроскопия в клинической практике: монография. – М.: Практическая медицина, 2015.
3. Шестакова В.Г., Банин В.В., Баженов Д.В. Особенности новообразования грануляционной ткани в полнослойной хирургической ране при стимуляции ангиогенеза «Неоваскулгеном» // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – 4(3). – С. 140.
4. Шестакова В.Г., Баженов Д.В., Банин В.В. Связь васкуляризации регенерата кожи с пролиферативной активностью его клеток // Морфология. – 2017. – 151(3). – С. 37-40.

А.В. Шулькин, И.В. Черных, Е.Н. Якушева, И.Ю. Виноградов

Регуляция экспрессии белка-транспортера гликопротеина-P половыми гормонами

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия
(alekseyshulkin@rambler.ru)*

A.V. Shchulkin, I.V. Chernykh, E.N. Yakusheva, I.Yu. Vinogradov

Regulation of transport-protein P-glycoprotein expression by sex hormones

Гликопротеин-P (Pgp) – АТФ-зависимый мембранный эффлюксный белок-транспортер, способный выводить из клетки широкий спектр веществ различной химической природы, в том числе лекарственные средства [1]. Ранее нами было показано, что при овариоэктомии у кроликов породы Шиншилла наблюдается снижение функциональной активности Pgp, а введение экзогенных эстрадиола и прогестерона восстанавливает активность белка-транспортера. Однако оставалось неясным, за счет чего изменяется активность Pgp – за счет изменения экспрессии или активности белка-транспортера.

Поэтому **целью** настоящего исследования явилось изучить экспрессию Pgp при овариоэктомии и последующем введении половых гормонов.

Материалы и методы. Работа выполнена на 25 кроликах-самках породы Шиншилла, массой 3000 ± 300 г.

Животные были разделены на 5 групп: первая группа – интактные животные ($n=5$), которым выполняли ложную операцию (норма); вторая группа – кролики, которым осуществляли овариоэктомию и выводили из эксперимента на 42 сут исследования; третья группа – животные, которым выполняли овариоэктомию и с 14 сут после операции вводили эстрадиол в дозе 2 мг/кролик в течение 28 сут; четвертая группа – кролики, которым выполняли овариоэктомию и с 14 сут после операции вводили прогестерон в дозе 15 мг/кролик в течение 28 сут; пятая группа – кролики, которым выполняли овариоэктомию и с 14 сут после операции вводили эстрадиол в дозе 0,5 мг/кролик в течение 14 сут, а затем в течение 14 сут – комбинацию эстрадиола 0,5 мг/кролик и прогестерона 5 мг/кролик. В конце эксперимента животных эвтаназировали воздушной эмболией. Для исследования забирали образцы печени и кровь. Экспрессию Pgp в печени определяли иммуногистохимически с использованием первичных антител Mdr-1 3H2833: sc-71557 «SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC», США. Дополнительно иммуногистохимически оценивали экспрессию эстрогеновых (ER альфа и ER бета) и прогестероновых рецепторов (PR) «Leica», Германия. Полученные изображения анализировали с помощью программы ImageJ. Рассчитывали относительную площадь Pgp-позитивных мембран и количество ER и PR-позитивных ядер клеток. В сыворотке крови определяли концентрацию эстрадиола, прогесте-

рона и тестостерона радиоиммунным методом. Полученные результаты обрабатывали критерием Крускала-Уоллиса, межгрупповые различия определяли по критерию Манна-Уитни.

Результаты. На фоне овариоэктомии у животных отмечалось снижение уровня эстрадиола на 42 сут исследования на 29,7% ($p < 0,05$) и снижение концентрации прогестерона на 48,7% ($p < 0,05$) по сравнению с нормой. При введении эстрадиола в дозе 2 мг/кролик на 42 сут исследования концентрация эстрадиола превышала показатели нормы на 55,2% ($p = 0,075$), а уровень прогестерона был ее ниже на 40,6% ($p < 0,05$). У животных, получавших прогестерон в дозе 15 мг/кролик, концентрация эстрадиола достоверно не отличалась от показателей кроликов первой группы, а содержание прогестерона было выше ее в 8,3 раза ($p < 0,05$). У кроликов пятой группы (введение эстрадиола и прогестерона) концентрация эстрадиола статистически значимо не отличалась от показателей нормы, а уровень прогестерона превышал ее на 168,5% ($p < 0,05$).

На 42 сут овариоэктомии относительная площадь Rgr-позитивных мембран снизилась на 64,1% ($p < 0,05$). При введении эстрадиола, прогестерона, а также при введении комбинации эстрадиола и прогестерона на фоне овариоэктомии на 42 сут исследования относительная площадь Rgr-позитивных мембран статистически значимо не отличалась от показателей кроликов первой группы (нормы).

В образцах печени во все исследуемые сроки эксперимента не обнаруживалось ER и PR- позитивное окрашивание ядер клеток.

Выводы:

1. Овариоэктомия на 42 сут приводит к снижению относительной площади Rgr-позитивных мембран в печени.

2. Введение эстрадиола в дозе 2 мг/кролик, прогестерона в дозе 15 мг/кролик и комбинации эстрадиола 0,5 мг/кролик и прогестерона 5 мг/кролик на фоне овариоэктомии приводит к нормализации относительной площади Rgr-позитивных мембран в печени.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00320 а

Литература:

1. Якушева Е.Н., Черных И.В., Шулькин А.В., Попова Н.М. Гликопротеин-R: структура, физиологическая роль и молекулярные механизмы модуляции функциональной активности // Успехи физиол. наук. – 2014. – 45(4). – С. 89-98.

Часть 2

Клеточная биология и регенеративная медицина

И.Я. Бозо^{1,2}, В.С. Комлев³, А.Ю. Дробышев⁴, К.В. Ермаков⁵, Р.В. Деев^{1,5}

Особенности репаративного остеогенеза под действием ген-активированных остеопластических материалов в ортотопических экспериментальных моделях

ПАО «Институт Стволовых Клеток Человека», Москва, Россия (1)

Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна

ФМБА России, Москва, Россия (2)

*Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН,
Москва, Россия (3)*

*Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия (4)*

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (5)*

I.Ya. Bozo, V.S. Komlev, A.Yu. Drobishev, K.V. Ermakov, R.V. Deev

Features of reparative osteogenesis under the action of gene-activated osteoplastic materials in orthotopic experimental models

Костная пластика является важной составляющей оперативных вмешательств в хирургической стоматологии, челюстно-лицевой хирургии, травматологии и ортопедии. Наиболее сложным влиянием на репаративную регенерацию костной ткани обладают «активированные» материалы, содержащие в своем составе живые клетки, факторы роста, или генные конструкции, их кодирующие. При этом особенности репаративного остеогенеза под влиянием ген-активированных материалов наименее изучены.

С использованием плазмидной ДНК, несущей ген сосудистого эндотелиального фактора роста-А (VEGFA), и матриксов-носителей из коллагена с гидроксиапатитом, депротенинизированного костного матрикса, октакальциевого фосфата мы разработали несколько вариантов ген-активированных остеопластических материалов, как стандартизированных, так и персонализированных, т.е. изготовленных с использованием технологий трехмерной печати. Особенности репаративной регенерации костной ткани под влиянием разработанных ген-активированных материалов исследовали на разных сроках до 6 мес. в четырех ортотопических моделях: полнослойные билатеральные дефекты (диаметром 10 мм) теменных костей и протяженные дефекты (30 мм) костей голени у кроликов; полнослойные дефекты 25×15×10 мм тела нижней челюсти в области угла с сохранением непрерывности и Т-образные дефекты, включающие центральный циркулярный и два краевых компонента

общей длиной 30 мм, большеберцовых костей у свиней. В качестве контроля имплантировали матриксы-носители без плазмидной ДНК.

С использованием рентгенологических и гистологических методов было показано, что репаративный остеогенез под действием всех вариантов ген-активированных материалов характеризовался следующими общими особенностями: 1) активизировался не только со стороны стенок костного дефекта, но и в его центральной части уже в ранние сроки наблюдения (с 15 сут.) за счет выраженного ангиогенеза, обусловленного действием плазмидной ДНК с геном *VEGFA*, входящей в состав разработанных материалов; 2) вновь образованная ретикулофиброзная костная ткань подвергалась более быстрому remodelированию в пластинчатую; 3) гистиоцитарная реакция была менее выражена в случае ген-активированных материалов; 4) в среднем на 1 месяц ранее, чем в контрольных группах, наблюдалось заселением межтрабекулярных пространств вновь образованного регенерата элементами костномозгового кроветворения; 5) завершение восстановительного процесса соответствовало полной гистотипической регенерации, тогда как в случае матрикс-носителей без плазмидной ДНК сохранялись участки дефектов, выполненных волокнистой соединительной тканью.

Д.О. Гудз¹, М.О. Мавликеев², Р.Ф. Масгутов^{2,3}, Г.А. Масгутова²,
И.Л. Плакса^{4,5}, А.А. Ризванов², Р.В. Деев^{4,6}

Влияние плазмидной конструкции, несущей ген *veg165*, на состояние скелетной мышечной ткани в модели травмы периферического нерва

*ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет
Минздрава России, Казань, Россия (1)*

*ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Казань, Россия (2)*

*ГАУЗ Республиканская клиническая больница МЗ Республики Татарстан,
Казань, Россия (3)*

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (4)

*ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 ДЗМ»,
Москва, Россия (5)*

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (6)
(gudz-95@mail.ru)*

D.O. Gudz, M.O. Mavlikeev, R.F. Masgutov, G.A. Masgutova,
I.L. Plaksa, A.A. Rizvanov, R.V. Deev

The effect of plasmid carrying *veg165* gene on rat skeletal muscles in peripheral nerve injury model

Травматические повреждения периферических нервов являются серьезной медико-социальной проблемой. На долю этой патологии приходится 3-

10% от всех видов травм опорно-двигательного аппарата, причем в 60% случаев травматизация приводит к стойкой утрате трудоспособности. Исходом повреждения периферических нервов часто является атрофия мышечной ткани. В мышце, лишенной нейротрофического влияния, происходит потеря миофиламентов и массивный распад фибрилл. Кроме того, в результате денервации в мышцах развивается парабиотический процесс как результат отсутствия импульсов, поступающих в норме из центральной нервной системы. Целью настоящего исследования являлась оценка влияния плазмидных конструкций, содержащих ген сосудистого эндотелиального фактора роста (*vegfl65*), на состояние скелетной мышечной ткани крыс в модели перерыва седалищного нерва.

Исследование проведено на самцах крысы породы Вистар массой 250-300 г при двух вариантах травмы: перерезка седалищного нерва с последующим сшиванием (группа «перерезка-сшивание») и перерезка нерва в двух местах на расстоянии 0.5 см друг от друга с формированием свободного фрагмента, который затем вшивался в область дефекта с соблюдением конуса роста аксонов (группа «аутонервная вставка»). Животных внутри каждой группы делили на 2 подгруппы: животным первой подгруппы осуществляли введение плазмиды pCMV-VEGF165. Животным второй подгруппы вводили воду для инъекций (контрольная группа). Введение терапевтического гена осуществляли интраоперационно сразу после моделирования травматического повреждения. В группе «перерезка-сшивание» растворы вводили в проксимальный и дистальный отрезки нерва, отступая 1 мм от линии шва. В группе «аутонервная вставка» растворы вводили в 3 точки: в саму вставку и отступая 2,5 мм от линии шва. На 30 и 60 сутки после операции животных выводили из эксперимента, забирали икроножную мышцу на стороне операции, изготавливали парафиновые срезы, окрашивали их гематоксилином и эозином и проводили иммуногистохимическое окрашивание с антителами к белку нейрофиламентов, а также антителами к тяжелым цепям быстрого и медленного миозинов. Проводили оценку межгрупповых и внутригрупповых различий по 5 параметрам: 1) средняя площадь быстрых (ПБМВ) и 2) медленных (ПММВ) мышечных волокон; 3) соотношение числа быстрых мышечных волокон к общему числу всех мышечных волокон (ЧБМВ); 4) средняя площадь нервных волокон (СПНВ); 5) количество нервных волокон (КНВ). Статистическую обработку проводили в программе Statistica 8.0, достоверность оценивали с помощью простого непараметрического U критерия Манна-Уитни для сравнения двух независимых групп. Достоверными считались значения при $p < 0,05$.

При оценке межгрупповых различий в группе «перерезка-сшивание» в подгруппе с введением pCMV-VEGF165 по сравнению с подгруппой контроля статистически значимых отличий по исследуемым параметрам не выявлено. В группе «аутонервная вставка» в подгруппе с введением pCMV-VEGF165 на 30-е сутки по сравнению с подгруппой контроля обнаруживаются более низкие значения ПБМВ ($770,4 \pm 236,5$ мкм² и $878,1 \pm 379,6$ мкм², $p < 0.05$), ПММВ ($780,2 \pm 235,6$ мкм² и $1068,1 \pm 490,0$ мкм², $p < 0.05$) и более вы-

сокие значения СПНВ ($785,2 \pm 175,2$ мкм² и $494,4 \pm 227,6$ мкм², $p < 0.05$); на 60-е сутки отмечаются более высокие значения ПБМВ ($1266,7 \pm 125,1$ мкм² и $943,4 \pm 73,5$ мкм², $p < 0.05$) и КНВ ($25,5 \pm 3,5$ и $17,4 \pm 5,2$, $p < 0.05$). Полученные данные свидетельствуют о начальном замедлении, а затем усилении к 60 суткам гипертрофии мышечных волокон после постденервационной атрофии при введении плазмидных конструкций, содержащих ген сосудистого эндотелиального фактора роста. Что касается нервных волокон, то как на 30, так и на 60 сутки процесс их регенерации выражен сильнее по сравнению с контрольными образцами предположительно за счет усиления роста и спрутинга нерва. При оценке внутригрупповых различий на 60 сутки по сравнению с 30 сутками во всех препаратах отмечается увеличение ПБМВ, ПММВ и уменьшение ЧБМВ, что отражает гипертрофию мышечных волокон и формирование сдвига в сторону уменьшения относительного числа быстрых мышечных волокон, это соответствует описанным ранее в литературе реиннервационным изменениям.

Таким образом, плазида pCMV-VEGF165 на модели аутонервной вставки к 60 суткам усиливает регенерационный процесс как мышечной, так и нервной тканей.

П.С. Еремин¹, Р.В. Деев^{2,3}, И.И. Еремин¹

Оценка эффективности применения проангиогенного генного индуктора pl-vegfl65 на процесс заживления тяжелых местных лучевых поражений

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия (1)

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Рязань, Россия (2)

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (3)
(ereminps@gmail.com)

P.S. Eremin, R.V. Deev, I.I. Eremin

Evaluation of the effectiveness of the use of the pro-angiogenic gene inductor pl-vegfl65 on the healing process of severe local radiation lesions

В настоящее время местные лучевые поражения (МЛП) кожного покрова и подлежащих тканей является наиболее часто встречающимся последствием контакта человека с источником ионизирующего излучения (ИИ) [1]. Основным методом терапии повреждений тяжелой и крайне тяжелой степени МЛП является хирургическое вмешательство, которое включает в себя некрэктомию и комплекс консервативных мероприятий. Как правило, данные методы являются малоэффективными и не позволяют добиться полного заживления у значительной части пациентов (описано до 79% неудач). Нарушения кровообращения в перемещаемых комплексах тканей – самые частые

осложнения хирургического лечения лучевых повреждений [2]. Такое положение дел обуславливает поиск новых средств лечения, в частности применения биотехнологических методов местного лечения данной патологии. Традиционно к ним относят использование рекомбинантных продуктов белковой и нуклеиновой природы – факторов роста, других цитокинов и генов, кодирующих их синтез (генный или геннотерапевтический препарат). Механизм действия генных препаратов связан с тем, что после поступления внутрь клетки, такие молекулы транзиторно продуцируют тот или иной фактор, тем самым обеспечивая дополнительный локальный уровень ростового фактора в непосредственной близости от целевых сосудов, что, в свою очередь, индуцирует локальный неоангиогенез.

Для проведения эксперимента по оценке влияния генного индуктора ангиогенеза («Неоваскулген») была использована экспериментальная модель незаживающих тяжелых МЛП. Облучение лабораторных крыс проводили на самозащищенной рентгеновской установке РАП100-10 производства ООО «Диагностика-М» (Россия) до достижения дозы на поверхности кожи 110 Гр (мощность дозы 17,5 Гр/мин.) [3]. Модель создана в ФГБУ ГНЦ «Медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России (лаб. академika РАН Б.Б. Мороза). Течение лучевого поражения кожи оценивали по клиническим изменениям участка облучения и с помощью планиметрических методов, позволяющих измерять площадь пораженного участка кожи в динамике, а также гистологическими методами.

Препарат генного индуктора ангиогенеза представляет собой высокоочищенную сверхскрученную форму плазмиды pCMV-VEGF165, кодирующей эндотелиальный фактор роста сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF). Доза местного введения была подобрана исходя из доклинических исследований препарата и составила 200 мкг на животное. Введение геннотерапевтического препарата производилось туннельным способом в области дна язвы в 5 точек на 14 и 28 сутки после облучения животного (фаза разгара МЛП).

Динамика развития лучевого поражения кожи крыс в опытной группе совпадала с контролем вплоть до 33 суток. Патологический процесс у крыс после облучения в дозе 110 Гр напоминал клиническую картину течения патологического процесса у человека в тяжелых случаях. Через 17-25 суток после облучения на коже у 60% крыс начинали образовываться язвы, представляющие собой слившиеся очаги серозно-геморрагического отделяемого, быстро ссыхающегося в тонкий коричневый струп. В последующем струп становился все грубее. На 29-36 сутки происходило окончательное формирование язвы, после чего начинается прогрессирование некротического процесса.

Начиная с 33 суток в опытной группе отмечалось стабильное уменьшение площади дефекта. К 48 суткам лишь у одной крысы сохранилась язва кратерообразной формы. К концу срока наблюдения (62 сутки после облучения) у всех крыс уменьшилась площадь поражения ($1,82 \pm 1,18 \text{ см}^2$) и развилась грануляционная ткань.

В контрольной группе течение патологического процесса приобрело хронический характер и к 62 суткам после облучения площадь дефекта соста-

вила $7,07 \pm 2,07 \text{ см}^2$ ($p \leq 0,05$). Таким образом, полученные данные свидетельствуют об эффективности геннотерапевтического препарата для терапии тяжелых МЛП.

Литература:

1. Соловьев В.Ю., Бушманов А.Ю., Барабанова А.В. и др. Анализ профессиональной принадлежности пострадавших в радиационных инцидентах на территории бывшего СССР // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2011. – №1. – С. 5-9.
2. McQuestion M. Evidence-based skin care management in radiation therapy // Semin. Oncol. Nurs. – 2006. – 22(3). – P. 163-173.
3. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Насонова Т.А. и др. Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – №4. – С. 121-123.

А.В. Комаров¹, Р.В. Деев^{2,3}, И.Я. Бозо², В.В. Хоминец¹, Д.А. Шакун¹

Концепция использования ген-активированного остеопластического материала при двухэтапной технике индуцирующей мембраны для восстановления целостности протяженных дефектов длинных трубчатых костей

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия (1)

Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия (2)

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (3)*

A.V. Komarov, R.V. Deev, V.V. Khominets, D.A. Schakun

The concept of using gene-activated osteoplastic material in a two-stage membrane-inducing technique to restore the integrity of extended defects of long tubular bones

В современной травматологии и ортопедии используются различные методы восстановления костей конечностей, которые, зачастую, основываются на применении остеопластических материалов. Рынок материалов для заполнения костных дефектов постоянно расширяется. В это же время, «золотым стандартом» костнопластических операций остается аутогенная костная ткань, использование которой, сопряжено с рядом ограничений, связанных с выполнением дополнительного операционного доступа для получения нужного объема костной ткани, что обуславливает увеличение продолжительности оперативного вмешательства, нанесение дополнительной травмы пациенту, увеличение риска осложнений, продолжительного болевого синдрома и т.д.

Также остро стоит проблема с недостаточным (отсутствующим) кровоснабжением зоны повреждения, что нередко приводит к возникновению ложных суставов, замедленного сращения, остеонекроза и других осложнений. Неоангиогенез, происходящий при регенерации костной ткани, не только обеспечивает метаболизм регенерационного остеогенеза, но и пополняет популяцию клеток, способных к дифференцировке в остеобласты. Соответственно, медикаментозное влияние на стимуляцию этого процесса может оказать благоприятный эффект на восстановление тканей в месте повреждения.

В связи с вышеуказанными предпосылками активно развиваются хирургические методики, в частности, двухэтапная техника Masquelet, применение которой подразумевает создание фиброзной мембраны вокруг зоны дефекта, что, как считается, предотвращает резорбцию вновь образующейся костной ткани, способствует реваскуляризации поврежденного сегмента. Кроме этого, разрабатываются новые остеопластические материалы, способные по эффективности к аутогенной костной ткани, а также создать условия для регенерации, ее стимулирования и скорейшего заживления перелома и (или) дефекта костного органа. Однако, как показывает опыт клинического применения данной методики ее результаты существенно отличаются в худшую сторону от декларируемых авторами.

Применение ген-активированного остеопластического материала, содержащего плазмидную ДНК с геном сосудистого эндотелиального фактора роста, при замещении протяженных дефектов длинных трубчатых костей может позволить улучшить кровоснабжение в зоне повреждения, повлиять на процесс восстановления костной раны и благоприятствовать ее заживлению. Сочетание этих двух методик – Masquelet и индукция регенерационного гистогенеза костной ткани в области протяженного дефекта может способствовать протеканию восстановления в короткие сроки и с надлежащим качеством.

Е.А. Кизилова^{1,2}, А.Г. Мензоров^{1,2}

**Анализ добавочных опухолей, возникающих при проверке
плюрипотентности разных линий ЭСК и ИПСК in vivo**

*ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии
и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»,
Новосибирск, Россия (1)*

*ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет», Новосибирск, Россия (2)
(pinus@bionet.nsc.ru)*

E.A. Kizilova, A.G. Menzorov

**Analysis of additional tumors detected in in vivo pluripotency tests
for different ESC and iPSC lines**

Введение. Тестирование в условиях *in vivo* является обязательным этапом проверки плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и

индуцированных плюрипотентных соматических клеток (ИПСК). У человека единственным возможным *in vivo* тестом является получение экспериментальных опухолей («тератомный тест»). У лабораторных грызунов дополнительно конструируются эмбриональные химеры («химерный тест»). Экспериментальная тератома – это тоже форма химеризма, т.к. аллогенный и ксеногенный биологический материал вводится в организм мыши, имеющей врожденный иммунодефицит. Согласно нашим многолетним наблюдениям, в тератомном тесте нередко *ex situ* появляются опухоли, непредусмотренные дизайном эксперимента. Спонтанные опухоли иногда возникают также и у химерных животных. Генезис добавочных опухолей в указанных экспериментальных системах до сих пор не изучен, хотя данный феномен весьма интересен и в теоретическом, и в прикладном аспектах.

Цель работы: анализ спонтанных опухолей первичных мышинных химер (1), и опухолей, возникших *ex situ* в тератомном тесте для разных ЭСК и ИПСК мыши, американской норки и человека (2).

Материал и методы. Исследованы 19 линий и субклонов ЭСК мыши и американской норки, интактные и маркированные GFP, а также 17 линий ИПСК американской норки и человека. Тератомный тест проведен на мышах SCID. Эмбриональные химеры получены инъекцией ЭСК мыши (129/Ola) в бластоцисты мыши (C57BL/6). Все опухоли иссечены на терминальных этапах их роста. Гистологический анализ выполнен после фиксации образцов в растворе Буэна и заключении в парафин. Окраска: гематоксилин-эозин и наборы Bio-Optica Milano S.P.A. (Italy): 04-021822, 04-011802, 04-060802, 04-200812, 04-001802, 04-030802, 04-190812 и 04-051802. Изображения получены на микроскопе «Axioscop2+», оснащённом CCD-камерой «AxioCam HRc» и программным пакетом «AxioVision». По гистологическим очеркам опухолей выполнены три многофакторных анализа ММШ, МГК и ДА (STATISTICA 6,0 и Past 1.8). Для визуализации GFP-маркера использована фиксация в 4% ФА (pH 7.6), заключение в Killik, криосекция и КЛМ на LSM 510 META (Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение. (1) Химерные плоды, новорожденные и ювенильные особи не имели спонтанных опухолей. У 18,4% (27 из 147) взрослых химер обнаружены спонтанные опухоли. У 19 химерных самок показаны различные формы железистого, мелкоклеточного, протокового и фиброзного рака молочной железы, в 3 случаях - с обширными метастазами в легких. У 8 химерных самцов опухоли локализованы в семенниках (семиномы и тератокарциномы). Все опухоли химер характеризуются быстрым ростом и обширными зонами некроза. (2) В тератомном тесте добавочные *ex situ* опухоли обнаружены у 50 особей SCID. В одновременных и параллельных экспериментах эффект наблюдался для 18 линий СК (2, 2, и 14 линий СК мыши, норки и человека, соответственно). Для 18 других линий СК (11, 6, и 1, соответственно) никаких *ex situ* опухолей не обнаружено. В двух контрольных группах (инъекции ростовой средой без клеточной суспензии, n=12, n=4) добавочных опухолей также не обнаружено. Среди опухолей *ex situ* (N=94) описаны солидные опухоли из грудной и брюшной полости, опухоли лимфоузлов и селезенки, аденомы семенных пузырьков, саркомы, карциномные ме-

тастазы в легких и печени, а также разнообразные метаплазии препуциальной, щитовидной и слюнных желез. Многофакторный анализ подтвердил существенные отличия опухолей *ex situ* от СК-происходящих экспериментальных опухолей по ряду морфологических и гистологических признаков (кроме двух тератом из грудной полости). В спонтанных опухолях химер и в добавочных *ex situ* опухолях, полученных при тератомном тесте для СК мыши, не обнаружены маркеры потомков тестируемых линий СК. Отрицательный результат получен и при визуализации GFP, и при проведении ПЦР с линейно-специфичными маркерами. Таким образом, исследованные опухоли происходят, по всей видимости, только из клеточного материала организма-холдера – мыши линии C57BL/6 в химерном тесте и мыши линии SCID в тератомном тесте. Существенное увеличение частоты появления спонтанных опухолей в химерном (1) и тератомном (2) тестах и линейно-специфический эффект как таковой позволяют предположить влияние аллогенного и ксеногенного клеточного материала на вероятность спонтанного туморогенеза, захватывающего ткани организма-холдера.

Работа была выполнена при финансовой поддержке бюджетного проекта № 0324-2016-0002. Авторы выражают благодарность ЦКП «Генофонды лабораторных животных», ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных», ЦКП МАБО и ЦКП «Коллекция плюрипотентных культур клеток человека и млекопитающих общепедагогического и биомедицинского направления» ФИЦ ИЦиГ СО РАН.

Л.С. Литвинова¹, В.В. Шуплецова¹, К.А. Юрова¹, О.Г. Хазиахматова¹,
М.Ю. Хлусова², Ю.П. Шаркеев^{3,4}, Е.Г. Комарова⁴, М.Б. Седельникова⁴,
В.В. Малащенко¹, Е.С. Мелашенко¹, Е.О. Шунькин¹, И.А. Хлусов^{3,1}

Изменение фенотипа ММСК при культивировании с рельефным кальций-фосфатным покрытием

*Балтийский федеральный университет имени И. Канта,
Калининград, Россия (1)*

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия (2)

Томский политехнический университет, Томск, Россия (3)

Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, Томск, Россия (4)

L.S. Litvinova¹, V.V. Shupletsova¹, K.A. Yurova¹, O.G. Khaziakhmatova¹,
N.M. Todosenko¹, M.Yu. Khlusova², Yu.P. Sharkeev^{3,4}, E.G. Komarova⁴,
M.B. Sedelnikova⁴, V.V. Malashchenko¹, I.A. Khlusov^{2,3}

Alteration of MMSC phenotype during cultivation on relief calcium-phosphate surface

Введение. Сокультивирование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) с имплантатами, несущими рельефное каль-

ций-фосфатное покрытие, позволяет исследовать поведение клеток в среде, симулирующей трехмерный экстрацеллюлярный матрикс костной ткани. Изменение профиля белков клеточной поверхности может быть показателем начала дифференцировки стволовых клеток, изменения их формы, функциональной и метаболической активности. Несмотря на большой опыт применения различных типов имплантатов с целью биоинженерии костной ткани, морфофункциональные изменения клеток, участвующих в остеорепаративных процессах, изучены недостаточно.

Цель исследования. Целью настоящей работы явилась оценка поверхностных маркеров ММСК жировой ткани (ЖТ) при краткосрочном контакте *in vitro* с рельефным кальций-фосфатным (КФ) покрытием.

Материал и методы. Трехмерные (3D) культуры клеток, имитировавшие участки репарации костной ткани, создавали с применением ММСК жировой ткани, полученными из липоаспирата человека [1], адгезированных на экспериментальных образцах ($10 \times 10 \times 1$ мм³) из коммерчески чистого титана, несущих рельефное микродуговое двустороннее КФ-покрытие с индексом шероховатости (Ra) от 2 до 5 мкм (Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск). Для детекции влияния КФ-покрытий на дифференцировку ММСК-ЖТ в остеобласты экспериментальные клетки, в количестве 5×10^4 кл./лун., адгезировали на образцах в 12-ти луночных планшетах, с добавлением 1,5 мл либо стандартной питательной среды на основе DMEM/F12 (1:1) (Gibco, USA), с содержанием 10 % FBS (Sigma-Aldrich, USA), 50 мг/л гентамицина (Invitrogen, UK), 280 мг/л L-глутамина (Sigma-Aldrich, USA), либо 1,5 мл готовой остеогенной среды StemPro® Differentiation Kit (Thermo Fisher Scientific, USA). В качестве контроля использовали 2D-культуры ММСК, культивировавшихся на пластике в средах, аналогичных экспериментальным. Планшеты инкубировали на протяжении 21 суток в CO₂ – инкубаторе при 37° С, 100% влажности и 5% углекислого газа. После эксперимента факт остеогенной дифференцировки подтверждался окраской ализариновым красным (Sigma-Aldrich, USA). Анализ поверхностных маркеров исследуемых ММСК-ЖТ проводили с использованием MSC Phenotyping Kit human (Miltenyi Biotec, USA), на проточном цитофлуориметре MACS Quant (Miltenyi Biotec, Germany).

Обсуждение результатов. Доля жизнеспособных клеток после 21-суточного культивирования составила в среднем 87% в экспериментальных 3D и 91% в контрольных 2D культурах. На 21 сутки в стандартной среде в условиях 2D культивирования около 99% клеток несли поверхностные маркеры, характерные для пула ММСК (CD73, CD90, CD105), сохраняя типовые мембранные детерминанты ММСК [2]. и практически не экспрессировали (0.33%) лейкоцитарные маркеры CD45, CD34, CD14 и CD20. Контакт фибробластоподобных клеток с КФ-покрытием значительно уменьшал фенотипические признаки ММСК-ЖТ в 3D-культуре, в большей степени, за счет снижения доли CD90+CD105+ клеток. При этом более чем в 2 раза возрастал выход кроветворных клеток, несущих CD45, CD34, CD14 CD20. Корреляционный анализ выявил сильную связь между уменьшением доли CD90+CD105+

ММСК-ЖТ ($r = -0,91$; $p = 0,00005$; $n = 12$) и увеличением процента [CD45,34,14,20]⁺ клеток ($r = 0,80$; $p = 0,002$; $n = 12$) с ростом индекса Ra шероховатости КФ-покрытий. Стимулирование остеодифференцировки ММСК-ЖТ образцами с КФ-покрытием подтверждалось выявлением при окрашивании ализариновым красным крупных участков минерализованного матрикса, синтезированного дифференцированными остеобластами.

Выводы. Мы предполагаем, что присутствие образцов с КФ-покрытием активирует *in vitro* дифференцировку части пула ММСК-ЖТ в остеобласты, что выражается в снижении экспрессии маркеров стромальных стволовых клеток и появлении участков минерализованного матрикса. Как следствие, появление так называемых “остеобластных ниш” [3] в культуре ММСК [4] может способствовать накоплению изначально присутствующих в первичной культуре ММСК-ЖТ гемопоэтических клеток через контроль механизмов их самоподдержания и дифференцировки [5].

Информация о финансировании. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ (№16-15- 10031, сравнительный анализ результатов культивирования клеток) и РФФИ (№15-03- 07659, изготовление и тестирование физико-химических свойств трехмерных матриксов для культивирования клеток).

Литература:

1. Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies // *Tissue Eng.* – 2001. – 7(2). – P. 211-228.
2. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy.* – 2006. – 8(4). – P. 315-317.
3. Zhang J., Niu C, Ye L. et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size // *Nature.* – 2003. – 425(6960). – P. 836-841.
4. Jing D., Fonseca A.V., Alakel N. et al. Hematopoietic stem cells in co-culture with mesenchymal stromal cells-modeling the niche compartments *in vitro* // *Haematologica.* – 2010. – 95(4). – P. 542-550.
5. Taichman R.S. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche // *Blood.* – 2005. – 105(7). – P. 2631-2639.

Д.А. Максаев¹, Д.Э. Сураев¹, А.А. Крылов¹, Н.Д. Мжаванадзе^{1,2},
Р.Е. Калинин¹, Р.В. Деев^{1,3}

**Генная терапия в комплексном лечении пациентов с синдромом
диабетической стопы (клинико-экспериментальное исследование)**

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (1)*

ПАО «Институт Стволовых Клеток Человека», Москва, Россия (2)

ГУЗ РО «Клинический кардиологический диспансер», Рязань, Россия (3)

D.A. Maksaev, D.E. Suraev, A.A. Krylov, N.D. Mzhavanadze,
R.E. Kalinin, R.V. Deev

**Gene therapy in complex treatment of patients with diabetic foot syndrome
(clinical and experimental study)**

Актуальность. В настоящее время заболеваемость сахарным диабетом (СД) приняла масштабы «неинфекционной эпидемии» [3, 4, 5, 8]. По данным федерального регистра СД в РФ на окончание 2016 г. состояло на диспансерном учете 4.35 млн. человек (3,0% населения) [2]. Пропорционально росту заболеваемости диабетом растет и число его хронических осложнений [9]. Известно, что для пациентов с синдромом диабетической стопы требуется комплексный подход к диагностике и терапии с включением в стандартные схемы лечения препаратов, индуцирующих ангиогенез [4, 6]. Его цель состоит в улучшении кровоснабжения ишемизированной мускулатуры и других тканей конечностей, путем индукции развития новых сосудов микроциркуляторного русла [5, 7].

Цель настоящего исследования состоит в том, чтобы оценить безопасность и признаки эффективности включения в состав комплексного лечения пациентов с синдромом диабетической стопы генной индукции ангиогенеза.

Материалы и методы. Проведенное исследование состоит из доклинической части, включающей эксперименты по индукции ангиогенеза и модельный эксперимент по заживлению повреждений мягких тканей у животных (крыс) на фоне гипергликемии и клинической части, выполненной на малых группах пациентов.

Экспериментальная часть. В эксперименте с хорион-аллантаисными мембранами (ХАМ) материалом исследования послужили оплодотворенные куриные яйца (n=10) 1 дня оплодотворения, которые инкубировали до 8 суток при 60% влажности и 37°C. Далее выполняли нанесение ангиогенного агента ХАМ, а после яйца инкубировали при прежних условиях 72 часа. По прошествии времени купол яйца удаляли, оценивали жизнеспособность (биение сердца, движения эмбриона, ток крови в сосудах). Материал ХАМ фиксировали для целей гистологического и электронномикроскопического исследования согласно рутинным протоколам.

Эксперимент с животными был выполнен на крысах-самцах линии Wistar (n=12) 300-350 г, которым была применена стрептозадиновая модель индукции гибели бета - клеток островков Лангерганса. На 21 день от начала моделирования крысам наносилась кожная рана размером 8×8 мм в межлопаточной области. Животным в экспериментальной группе в края раны внутрикожно вводили раствор 60 мкг (подгруппа 1) или 200 мкг (подгруппа 2) плазмиды pCMV-VEGF165 в 200 мкл воды для инъекций. Контрольным животным вводилось 200 мкл воды для инъекций. Через 10 дней был произведен забой. Парафиновые срезы окрашивались гематоксилином и эозином, проводились иммуногистохимические реакции.

Клиническая часть исследования проводилось с участием пациентов (контрольная группа (n = 10) и группа лечения (n = 15)) с атеросклеротической хронической ишемией нижних конечностей с фоновым сахарным диабетом стадией II-III в соответствии с классификацией А.В. Покровского – Фонтейна (2004), получавших следующую консервативную терапию: антиагреганты, статины, гипогликемические и антигипертензивные препараты.

Исследуемый препарат (pCMV-VEGF165) представляет собой оригинальную конструкцию гена, содержащую суперспирализованную плазмидную ДНК (1,2 мг), кодирующую VEGF165 в качестве активного вещества [1]. Пациенты получали 2 внутримышечных инъекции pCMV-VEGF165 в икроножные мышцы в дозе 1,2 мг. Продолжительность наблюдения составила 6 месяцев, с проведением плановых обследований через 14, 90 и 180 дней после введения первой дозы pCMV-VEGF165.

Оценка безопасности осуществлялась на протяжении всех 6 месяцев путем регистрации нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений.

В качестве первичного критерия эффективности была использована площадь язвенного дефекта (см²), вторичных – тканевое напряжение кислорода, лодыжечно-плечевой индекс. Для оценки влияния ангиогенной терапии на выраженность диабетической нейропатии в динамике были использованы стандартные шкалы нейропатического симптоматического счёта (НСС), нейропатического дисфункционального счёта (НДС), а также Мичиганский опросник для скрининга нейропатии. Стадия язвенного дефекта определялась по классификации Вагнера; Выполнялась оценка количества летальных исходов и ампутаций за весь период наблюдения (первичные критерии эффективности).

Результаты экспериментов с хорион-аллантоисными мембранами. При внешнем осмотре вскрытых куриных яиц отмечено, что в экспериментальной группе развитие сосудов в ряде случаев проходило более интенсивно, что подтверждалось морфометрически – количество ветвлений (вплоть до третьего порядка) превосходило этот показатель в контроле, имелись различия и в диаметре новообразованных сосудов.

При анализе полутонких срезов ХАМ контрольной группы различаются эндотелиальные клетки (ЭК) уплощенной формы и плотно прилегающие к базальной мембране (БМ). Ядро занимает большую часть цитоплазмы ЭК. БМ – тонкая, непрерывная. При изучении полутонких срезов опытной группы были выявлены следующие особенности строения сосудистой стенки.

При морфометрическом анализе полутонких срезов оценивались следующие параметры: диаметр ядра ЭК контрольной группы составляет $3,4 \pm 0,13$ мкм, опытной – $3,13 \pm 0,08$ мкм; ширина ЭК контрольной группы – $7,03 \pm 0,27$ мкм, опытной группы – $7,42 \pm 0,26$ мкм; высота ЭК контрольной группы – $3,71 \pm 0,25$ мкм, опытной группы – $3,69 \pm 0,09$ мкм. Изменения в строении сосудистой стенки ХАМ опытной группы являются результатом воздействия экзогенного гена *VEGF165*.

При электронной микроскопии ХАМ контрольной группы было установлено, что строение стенки сосудов ХАМ имеет ряд общих свойств и соответствует норме. ЭК имеют уплощенную форму. Ядро заполняет большую часть цитоплазмы. На апикальной поверхности ЭК располагаются выступы плазмолеммы в просвет сосуда. Межклеточные контакты представлены щелевыми контактами. ЭК приподняты над БМ. БМ – тонкая, непрерывная. При электронной микроскопии ХАМ опытной группы, были выявлены значимые изменения. ЭК уплощенной формы, с многочисленными отростками, выступающими в просвет сосуда. Ядра занимают меньшую часть цитоплазмы. Различима зона расширенных щелевых контактов между ЭК. Выявляются дефекты в БМ, через которые происходит миграция ЭК. Мигрировавшие в мезодерму ЭК приобретают уплощенную форму. При морфометрическом анализе электроннограмм оценивались параметры: площадь ядра, площадь цитоплазмы и их соотношение (ядерно-цитоплазматическое соотношение, ЯЦС). ЯЦС контрольной группы в 2,6 раза превышает ЯЦС опытной группы и соответственно равняется $2,03 \pm 0,36$ в контрольной группе и в опытной группе – $0,77 \pm 0,14$.

Результаты экспериментов с животными. В экспериментальных группах, как правило, наблюдалась эпителизация раны по сравнению с контрольной группой. Под восстановленным многослойным плоским эпителием (эпидермис) сохраняется реорганизующаяся соединительная ткань, все еще несущая признаки грануляционной ткани. Придатки кожи на этом участке не восстановлены. В контроле эпителий не восстановлен, дно дефекта представлено инфильтрированной грануляционной тканью.

Количество сосудов в грануляционной ткани животных из экспериментальной группы достоверно выше, чем в грануляционной ткани животных из контрольной группы. У животных из экспериментальных групп отмечается тенденция к повышению количества нервов в прилегающей интактной ткани.

Результаты клинической части исследования. Первичные критерии эффективности. В группе стандартной консервативной терапии (контроль) из 10 наблюдаемых больных ампутации были выполнены у 7 человек (70%).

Из всей контрольной группы, 2 человека (20%) продолжают проходить регулярные курсы консервативной терапии и имеют сохраненные нижние конечности. После окончания действия протокола в данной группе зарегистрирован 1 летальный исход (10%).

В группе больных, которым проводилась комбинированная консервативная и генная терапия (клиническая) за 180 дней наблюдения в 2 случаях (13%) подверглись ампутации. Летальных исходов в данной группе пациен-

тов зарегистрировано не было. Сохранные нижние конечности имеют 11 пациентов (73%). Двое вышли из исследования.

Поскольку данные по характеристике кровообращения на фоне СД обладают ограниченной информативностью, то они изучались только в клинической группе для выявления динамики признаков, характеризующих кровообращения в конечности (вторичные критерии эффективности).

НСС и НДС, а также результаты обработки данных после Мичиганского опросника показали более существенный регресс симптоматики у пациентов клинической группы.

Обсуждение. Результаты настоящего исследования показали, что терапевтический ангиогенез может быть применён в составе комплексного лечения пациентов с СДС, в том числе при невозможности выполнения реваскуляризации и закрытия раневого дефекта при помощи стандартной терапии. По-видимому, за счёт индукции ангиогенеза этот компонент терапии воздействует как на ишемический, так и нейропатический компонент заболевания, что позволяет рассматривать его как средство патогенетической терапии, которое обладает многокомпонентным эффектом в отношении данной нозологии и нуждается в дальнейшем исследовании и проведении полномасштабных рандомизированных плацебо-контролируемых клинических исследований.

Выводы:

1. При воздействии экзогенного гена *VEGF165* в модели индукции ангиогенеза в хорион-аллантаисной мембране происходят изменение ультраструктуры эндотелиальных клеток (увеличение числа отростков на апикальной и базальной поверхностях клетки, уменьшение ЯЦС), разволокнение БМ, что совокупно является ультраструктурными признаками усиления метаболической и, возможно, миграционной активности эндотелия.

2. Введение плазмиды *pCMV-VEGF165* в область кожной раны у крыс с химически-индуцированным сахарным диабетом ускоряет заживление тканей посредством индукции ангиогенеза.

3. Лечение пациентов с СДС, развившимся в сочетании с атеросклеротическим поражением сосудов нижних конечностей (макроангиопатия) демонстрирует признаки эффективности: при анализе первичных критериев эффективности в группе опыта по сравнению с контрольной группой отмечается меньшее количество ампутаций и смертельных исходов; при анализе динамики вторичных критериев эффективности в клинической группе положительную динамику тканевого насыщения кислородом (признак улучшения микрогемодинамики).

Литература:

1. Гавриленко А.В., Воронов Д.А. Генные технологии стимуляции ангиогенеза как инновационное направление в ангиологии и сосудистой хирургии // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – №2. – С. 1-7.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майорова А.Ю. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М., 2013.

3. Деев Р.В., Плакса И.Л., Матвеев С.А. Генная терапия диабетической нейропатии // Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2015. – №1. – С. 129-135.
4. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С. и др. Эффективность препарата для терапевтического ангиогенеза в комплексном лечении пациентов с сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей // Казанский медицинский журнал. – 2016. – №5. – С. 674-680.
5. Мараев В.В. Лазерное излучение в комплексном лечении больных с синдромом диабетической стопы в амбулаторных условиях: автореф. ... дис. канд. мед. наук. – М., 2007. – 24 с.
6. Клинические рекомендации по диагностике и лечению синдрома диабетической стопы. – М., 2015.
7. Швальб П.Г., Гавриленко А.В., Калинин Р.Е. и др. Эффективность и безопасность применения препарата неоваскулген в комплексной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (IIВ-III фаза клинических испытаний) // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – 3(6). – С. 76-83.
8. Diabetes and Vascular Disease. Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I. Mark A. Creager, Thomas F. Lüscher, prepared with the assistance of, Francesco Cosentino and Joshua A. Beckman // Circulation. – 2003. – №108. – P. 1527-1532.
9. Salgado R., Benoy I., Bogers J. et al. Platelets and vascular endothelial growth factor (VEGF): a morphological and functional study // Angiogenesis. – 2001. – (4). – P. 37-43.

Н.А. Наволокин, Д.А. Мудрак, Н.В. Полуконова, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова

**Влияние экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.)
на пролиферативную активность и запуск апоптоза в клетках
перевиваемой саркомы 45 лабораторных крыс**

*ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России,
Саратов, Россия
(navolokin1@rambler.ru)*

N.A. Navolokin, D.A. Mudrak, N.V. Polukonova,
A.B. Bucharskaya, G.N. Maslyakova

**The effect of the drug Avrane extract (*Gratiola officinalis* L.)
on the proliferative activity and the initiation of apoptosis in the cells
of the transplanted sarcoma in 45 laboratory rats**

Актуальность. На сегодняшний день не создано ни одного противоопухолевого препарата, который был бы безопасен в рекомендуемых дозах и не имел бы ограничений для использования. Особое внимание уделяется соз-

данию лекарственных средств растительного происхождения с минимальными побочными эффектами [1].

Цель: в экспериментах *in vivo* исследовать на примере перевитой саркомы 45 влияние флавоноидсодержащего экстракта аврана лекарственного на маркер пролиферации Ki67 и маркер апоптоза p53.

Материалы и методы. Использованы водные раствор экстракта аврана лекарственного, полученного нами авторским способом [2], экстракта обладает широким спектром биологической активности [3, 4].

В эксперименте было использовано 30 самцов белых крыс линии Вистар, массой 150 ± 50 г, которым перевели подкожно в области лопатки по 0,5 мл 25% опухолевой взвеси саркомы 45. Первая и вторая группы – опытные, крысы получали экстракт аврана либо перорально, либо внутримышечно в дозе 110 мг/кг. Третью группу - сравнения, составили животные с перевиваемой саркомой, но без воздействия. В опытных группах через 72 ч после перевивки вводили ежедневно экстракт в течение двух недель, после чего всех животных выводили из эксперимента и производили забор образцов ткани опухоли.

Применяли стандартные морфологические методы, окраску по Браше, иммуногистохимические маркеры Ki67 и p53.

Использован статистический критерий Крамера-Уэлча (T).

Результаты. Как при внутримышечном, так и пероральном введении экстракта аврана лекарственного отмечали статистически значимое замедление темпов роста перевиваемой саркомы по сравнению с группой животных с опухолью, но без воздействия во все дни измерений. На момент окончания эксперимента объем опухоли в группе с внутримышечным введением экстракта ($5,3 \pm 1,94$ см³) был на 71,6 % меньше ($T > 1,96$), а при пероральном введении экстракта ($5,6 \pm 0,3$ см³) на 69% меньше, чем в группе сравнения без воздействия ($18,01 \pm 3,39$ см³).

Опухоль в группе животных без воздействия экстракта была в основном, сохранена, имеется периферическая капсула с полнокровными сосудами представлена вытянутыми клетками разных размеров и формы, Ядра гиперхромные, округлые, веретенообразные, ядрышко чаще – одно; митозы до 3 в поле зрения.

При обоих способах введения экстракта отмечали выраженный патоморфоз опухоли (3 степени): обширные зоны некроза, выраженная степень дистрофии в живых клетках, участки фиброза и дезорганизации соединительной ткани.

При окраске метиловым зеленым - пиронином по Браше отмечали высокий уровень РНК в ядрах клеток саркомы 45 группы сравнения явное снижение экспрессии ядерной РНК в клетках опухоли, как в группе перорального, так и внутримышечного путей введения экстракта.

При иммуногистохимическом исследовании саркомы 45 при обоих путях введения экстракта аврана лекарственного маркер пролиферации Ki67 давал очень слабую экспрессию индекс пролиферации при внутримышечном пути введения равен 0,01 и при пероральном пути - 0,09, хотя в группе сравнения без воздействия индекс пролиферации составил – 0,56.

При окраске на маркер апоптоза p53 выявили отсутствие экспрессии в группе сравнения без воздействия, при введении экстракта аврана отмечали, появление умеренной, как цитоплазматической, так и ядерной экспрессии маркера апоптоза p53.

Заключение. Таким образом, отмечается выраженный патоморфоз саркомы 45 под влиянием экстракта аврана и наиболее эффективен при внутримышечном введении, за счет снижения пролиферативной активности и активации апоптоза.

Литература:

1. Наволокин Н.А., Полуконова Н.В., Маслякова Г.Н. и соавт. Противоопухолевая активность растительных экстрактов, содержащих биофлавоноиды // Росс. Биот. журнал. – 2013. – 12(2). – С. 59-9а.
2. Polukonova N.V., Kurchatova M.N., Navolokin N.A. et al. A new extraction method of bioflavanoids from poisonous plant (*Gratiola Officinalis* L.) // Russian Open Med. J. – 2014. – 3(3). – P. 304.
3. Полуконова Н.В., Наволокин Н.А., Райкова С.В. и соавт. Противовоспалительная, жаропонижающая и антимикробная активность флаваноидсодержащего экстракта аврана лекарственного (*Gratiola Officinalis* L.) // Экспер. и клин. фармак. – 2015. – 78(1). – С. 34-38.
4. Наволокин Н.А., Полуконова А.В., Бибикина О.А., и соавт. Цитоморфологические изменения в культуре клеток почки эмбриона свиньи при воздействии экстракта аврана лекарственного (*Gratiola Officinalis* L.) // Фундам. Исслед. – 2014. – 10-7. С. 1369-1374.
5. Наволокин Н.А., Скворцова В.В., Полуконова Н.В., и соавт. Противотуберкулезная активность экстракта аврана лекарственного (*Gratiola Officinalis* L.) in vitro // Экспер. и клин. фармак. – 2015. – 78(4). – С. 10-13.

Г.Д. Сагарадзе^{1,2}, А.Ю. Ефименко¹, В.И. Кирпатовский^{1,3}, Д.А. Охоботов^{1,2},
П.И. Макаревич¹, О.А. Макаревич¹, П.П. Нимирицкий^{1,2}, Н.А. Басалова²,
Е.О. Осидак⁴, С.П. Домогатский^{4,5}, Ж.А. Акопян^{1,2}, А.А. Камалов^{1,2}, В.А. Ткачук^{1,2}

Разработка комбинированного препарата на основе секретируемых продуктов мезенхимальных стволовых/стромальных клеток человека для восстановления сперматогенеза

Институт регенеративной медицины, медицинский научно-образовательный центр, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия (1)

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия (2)

НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия (3)

ООО «ИМТЕК», Москва, Россия (4)

ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии МЗ РФ, Москва, Россия (5)

G.D. Sagaradze, A.Yu. Efimenko, V.I. Kirpatovsky, D.A. Ohobotov,
P.I. Makarevich, O.A. Makarevich, P.P. Nimiritsky, N.A. Basalova,
E.O. Osidak, S.P. Domogatsky, Zh.A. Akopyan, A.A. Kamalov, V.A. Tkachuk

Development of combined biomaterial based on human mesenchymal stem/stromal cell secreted products for spermatogenesis recovery

Мужское бесплодие, связанное с нарушением сперматогенеза – серьезная социальная и медицинская проблема. Ввиду того, что хирургические и фармакологические методы лечения мужского бесплодия во многих случаях малоэффективны и часто имеют тяжелые побочные эффекты, разработка инновационных, более эффективных и безопасных методов восстановления сперматогенеза, крайне актуальна. Существуют подходы, в том числе апробированные клинически, к восстановлению мужской фертильности с использованием стволовых и прогениторных клеток. Среди них можно выделить мультипотентные мезенхимные стволовые/стромальные клетки (МСК), которые играют ключевую роль в регуляции процессов репарации и регенерации в организме, в том числе за счет продукции широкого спектра биоактивных факторов, стимулирующих нейrogenез и ангиогенез в тканях, активирующих эндогенные тканеспецифичные стволовые клетки и модулирующих иммунные реакции. В частности, МСК секретируют молекулы, поддерживающие выживаемость и функцию сперматогонимальных стволовых клеток, а также вспомогательных клеток, таких как клетки Сертоли и клетки Лейдига. Следовательно, новые терапевтические подходы с использованием продуктов секреции МСК для лечения мужской инфертильности могут быть эффективными. Целью нашей работы являлась разработка комбинированного препарата на основе продуктов секреции МСК человека и коллагена для стимуляции сперматогенеза.

В качестве модели нарушения сперматогенеза мы выбрали модель экспериментального крипторхизма у крыс. Мы выявили, что биоматериал, содержащий концентрат секретированных МСК жировой ткани человека (ЖТ) биоактивных факторов, в комбинации с коллагеновым гелем, способствовал восстановлению нарушенного сперматогенеза у крыс в данной модели. Введение материала под белочную оболочку яичка приводило к уменьшению выраженности гипотрофии крипторхизированных яичек, оказывало выраженное стимулирующее действие на сперматогенез, включая повышение общего количества сперматозоидов и их подвижной фракции. С помощью гистологического анализа были выявлены нормализация процессов сперматогенной дифференцировки и снижение количества склерозированных/атрофических семенных канальцев, а также восстановление клеток Сертоли и Лейдига при введении комбинированного биоматериала, по сравнению с животными, не подвергавшимся терапии. Важно отметить, что введение биоматериала, содержащего концентрат секретированных МСК продуктов, оказало выраженное воздействие на восстановление сперматогенеза, сравнимое с результатами введения самих МСК ЖТ под белочную оболочку яичка. Таким образом, использование комбинированного препарата на основе продуктов секреции

МСК ЖТ и коллагена является эффективным для стимуляции сперматогенеза и может быть более предпочтительно в перспективе, чем клеточная терапия с применением МСК, с учетом клинических рисков и этических ограничений.

Э.К. Сидорович¹, А.Г. Полешко², З.Б. Квачева², Н.И. Мезен³

**Влияние лекарственных препаратов на астроциты мозга крысы
в условиях гипоксии *in vitro***

ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии», Минск, Беларусь (1)
ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь (2)
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Беларусь (3)

E.K. Sidorovich, A.G. Poleshko, Z.B. Kvacheva, N.I. Mezen

Influence of drugs on astrocytes of rat brain under hypoxic conditions *in vitro*

Лечение пациентов в реабилитационном периоде после ишемии мозга ориентировано на защиту нейронов с использованием антигипоксических лекарственных препаратов, таких как антагонисты глутамата, антиоксиданты, блокаторы кальциевых каналов, хелаторы кальция и др. [1-2]. Реализация данного подхода требует тщательного подбора комбинации препаратов и определения схемы лечения. Экспериментальные данные свидетельствуют о ведущей роли в восстановлении тканей мозга в постишемическом периоде клеток глии, в т.ч. астроцитов, которые более устойчивы к повреждающему действию недостатка O₂ [3]. В работе представлена модель стрессового воздействия (2% гипоксия) на астроциты *in vitro*, имеющего место при ишемических повреждениях мозга *in vivo*, также изучен нейропротективный эффект таких лекарственных препаратов как гроприносин и симвастин.

Цель - оценить протективный эффект гроприносина и симвастина на культуру астроцитов мозга крысы в условиях гипоксии (2% O₂).

Материалы и методы. Приготовленные культуры астроцитов мозга крысы культивировали в среде DMEM/F-12 с 10% содержанием фетальной бычьей сыворотки (ФБС) в стандартных условиях (5% CO₂, 95% атмосферного воздуха) до 3 пассажа, далее клетки переводили в среду с 2% содержанием ФБС, часть клеток помещали в гипоксический CO₂-инкубатор (5% CO₂, 2% O₂, 93% N₂) и культивировали 24 ч без и в присутствии гроприносина (80 мкг/мл) и симвастина (0,1 нг/мл). Оценку жизнеспособности клеток проводили по интенсивности флуоресценции в них пропидий йодида и флуоресцеин диацетата методом проточной цитофлуориметрии. Содержание H₂O₂ оценивали с помощью зонда CM-H₂DCF-DA по интенсивности флуоресцен-

ции его окисленных продуктов. Исследование экспрессии гена белка *hif1α* проводили с использованием ПЦР в реальном времени.

Результаты. Выявлено, что при гипоксии независимо от присутствия препаратов в среде культивирования жизнеспособность астроцитов падает на 4-5%. При внесении гроприносина и симвастина в среду роста астроцитов как в стандартных условиях культивирования, так и при 2% O₂ не наблюдается статистически значимого изменения количества жизнеспособных, апоптотических и некротических клеток. Т.к. в условиях стресса в клетке значительно интенсифицируются окислительные процессы с образованием активных форм кислорода, способных оказывать повреждающее действие на клеточные структуры, актуальным было оценить внутриклеточное содержание H₂O₂. Оказалось, что условия 2% гипоксии вызывают повышение концентрации H₂O₂ в клетках, в среднем, в 2 раза (p<0.05), по сравнению со стандартными условиями культивирования. При этом в случае одновременного внесения препаратов в среду роста клеток при различных кислородных режимах культивирования в астроцитах наблюдается снижение в 1,4 раза (p<0.05) содержания H₂O₂, по сравнению с культивированием клеток без них и действием гроприносина и симвастина по отдельности. Это может свидетельствовать о том, что как 2% гипоксия, так и низкое содержание ФБС (2%) в среде культивирования, являются стрессовыми факторами для клеток, а гроприносин и симвастатин в случае их сочетанного действия оказывают протективный эффект на клетки мозга крысы, по-видимому, в результате в стимуляции компенсаторных механизмов. Подтверждением этому является и повышение экспрессии гена α-субъединицы белка HIF1 в клетках, культивированных с препаратами, как в стандартных условиях, так и при гипоксии, т.к. по уровню экспрессии *hif1α* можно судить о стабилизации данного транскрипционного фактора в функционально активный комплекс, что в свою очередь приводит к запуску различных адаптивных реакций в клетках [4]. При этом сочетанное действие препаратов на астроциты, культивированные в условиях гипоксии, вызывает в них максимальную экспрессию *hif1α*, по сравнению с другими исследуемыми точками.

Выводы. Совместное использование гроприносина и симвастина по отношению к астроцитам, подвергшимся гипоксическому воздействию, демонстрирует протективное действие изучаемых препаратов на клетки, что проявляется в повышении устойчивости к негативному влиянию низких концентраций O₂, свойственных для многих нейродегенеративных заболеваний. Данные о механизмах действия гроприносина и симвастина на астроциты мозга крысы *in vitro* в условиях гипоксии найдут применение при разработке новых подходов в терапии последствий ишемии мозга.

Литература:

1. Tasker R.C., Duncan E.D. Focal cerebral ischemia and neurovascular protection: a bench-to-bedside update // Curr. Opin. Pediatr. – 2015. – 27(6). – P. 694-699.
2. Gutiérrez-Vargas J.A., Cespedes-Rubio A., Cardona-Gómez G.P. Perspective of synaptic protection after post-infarction treatment with statins // J. Transl. Med. – 2015. – №13. – P. 118.

3. Chavez J.C., Hurko O., Barone F.C., Feuerstein G.Z. Pharmacologic interventions for stroke: looking beyond the thrombolysis time window into the penumbra with biomarkers, not a stopwatch // *Stroke*. – 2009. – 40(10). – P. 558-563.
4. Berchner-Pfannschmidt U., Frede S., Wotzlaw C., Fandrey J. Imaging of the hypoxia-inducible factor pathway: insights into oxygen sensing // *Eur. Respir. J.* – 2008. – 32(1). – P. 210-217.

Д.Н. Татарская¹, Т.И. Станиславович², Т.И. Кузьмина²

Морфология кумулюса и функциональный статус донорских ооцитов *Bos Taurus* при пролонгировании культивирования

*Международный Центр Репродуктивной Медицины,
Санкт-Петербург, Россия (1)*

*Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения
сельскохозяйственных животных. Санкт-Петербург, Пушкин, Россия (2)
(lllfor@mail.ru)*

D.N. Tatarskaya, T.I. Stanislavovich, T.I. Kuzmina

Cumulus morphology and functional status of *Bos Taurus* donor's oocytes at rolongation of cultivation

Актуальность. Трансляционная технология экстракорпорального созревания и оплодотворения донорских ооцитов - неотъемлемый атрибут клеточных репродуктивных технологий (клонирование, трансгенез, получение эмбрионов *in vitro*, создание линий эмбриональных стволовых клеток) в биомедицине, животноводстве, ветеринарии. Одна из проблем, затрудняющих интенсификацию внедрения вышеуказанных технологий в практику, - отсутствие эффективного метода оценки функционального статуса донорского ооцита. Созревание ооцита *in vivo* - результат сложных межклеточных взаимодействий гаметы и соматических клеток фолликула, в первую очередь, клеток кумулюса (КК), являющихся продуцентами факторов, обеспечивающих нормальное развитие растущего ооцита. Известно, что компетентность к созреванию *in vitro* ооцитов, завершивших фазу роста *in vivo*, их оплодотворяемость и выход эмбрионов на стадии бластоцисты значительно выше, чем ооцитов, находящихся на стадии роста при их извлечении из яичников [1].

Цель исследования. Мониторинг морфофункционального состояния КК с учетом деструктивных процессов хроматина (пикноз, апоптоз) и функционального статуса донорских ооцитов (растущие - ВСВ⁻ или завершившие фазу роста - ВСВ⁺) при пролонгированном культивировании.

Материал и методы. В исследовании использовали ооциты, окруженные многослойным не менее чем 5-6 слоев КК, с гомогенной ооплазмой, равномерной по ширине зоной пеллюцида, выделенные из фолликулов ($\varnothing = 3-6$

мм) посмертальных яичников коров. После извлечения ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) их подвергали ВСВ-тесту для чего помещали в 26 μ М ВСВ (В-5388), растворенном в фосфатно-солевом буфере с 0,4% бычьим сывороточным альбумином (А-7888) на 90 минут при температуре 38,5°C в атмосфере 5% CO₂, 90% влажности. Ранжирование ооцитов после инкубации с ВСВ проводили в соответствии с окраской ооплазмы - ооплазма ВСВ⁺ ооцитов оставалась окрашенной, а ВСВ⁻ - теряла окраску. ОКК культивировали совместно с 10⁶ клеток/мл гранулезы в течение 24 и 30 часов в ТС-199 с 10% фетальной бычьей сыворотки, 50 нг/мл бычьего пролактина [1]. Статус хроматина (уровень митозов, пикнозов и апоптозов) оценивали методом Тарковского, а уровень апоптозов - методом TUNEL [2]. В экспериментах использовали реагенты фирмы Sigma-Aldrich (США).

Результаты и обсуждение. Оценены морфологические показатели КК 178 ооцитов. До культивирования в КК ВСВ⁺ и ВСВ⁻ ооцитов, не было обнаружено достоверных различий в уровне пикнозов (3%) и апоптозов (6% и 5%, соответственно), однако, доля клеток с ядрами в состоянии митоза в КК ВСВ⁻ ооцитов в два раза превысила таковую в КК ВСВ⁺ ооцитов (6% против 3%, $P < 0,05$, χ^2 test). Межклеточные коммуникации и экспансия КК имеют большое значение в процессе ареста ооцита в профазе, возобновлении мейоза и его завершении. Степень экспансии (разрыхления) КК при созревании ооцита - показатель успешного культивирования. В наших исследованиях показано, что через 24 часа культивирования 93% ВСВ⁺ ооцитов были окружены КК с высокой степенью экспансии, в контроле и группе ВСВ⁻ ооцитов этот показатель составил соответственно 78% и 52% ($P < 0,01$, χ^2 test). Пролонгирование культивирования ооцитов, тестированных, как растущие на момент извлечения из фолликулов, до 30 часов выявило достоверное повышение доли клеток с высокой степенью экспансии кумулюса с 52% до 87% ($P < 0,01$, χ^2 test). Обнаружены достоверные различия в уровне пикнотических и апоптотических КК, окружавших ВСВ⁺ или ВСВ⁻ ооциты после 30 часов культивирования. Доля КК ВСВ⁺ ооцитов с пикнотическими ядрами превысила таковую, у ВСВ⁻ (8% против 4%, $P < 0,05$, χ^2 test). Уровень апоптоза в КК ВСВ⁺ ооцитов достиг 19 %, а в КК ВСВ⁻ ооцитов - 11% ($P < 0,01$, χ^2 test).

Выводы. С использованием модели экстракорпорального созревания ооцитов проведена оценка морфологии кумулюса (степень экспансии) и хроматина (пикноз, митоз, апоптоз) растущих и завершивших фазу роста ооцитов коров до и после культивирования (24 и 30 часов). При увеличении времени культивирования количество ВСВ⁻ ооцитов, окруженных КК с высокой степенью экспансии, значительно возрастало, при этом уровень деструктивных процессов в хроматине ВСВ⁻ ооцитов был менее выражен по сравнению с КК ВСВ⁺ ооцитов. Основываясь на результатах наших исследований, логично предположить, что наличие большого количества нормально функционирующих КК, окружающих ооциты, не завершившие фазу роста *in vivo*, обеспечивает при создании адекватной модели экстракорпорального созревания завершение формирования яйцеклетки *in vitro*.

Литература:

1. Heleil B., Kuzmina T., Torner H., Alm H. Effect of prolactin on Developmental Competence of Bovine Oocytes Selected by Brilliant Cresyl Blue Staining // J. Reproduction and Infertility. – 2010. – 1(1). – P. 1-7.
2. Кузьмина Т.И., Денисенко В.Ю., Шокин О.В. и др. Методы оценки функционального состояния донорских ооцитов, соматических клеток фолликулов и эмбрионов сельскохозяйственных животных: метод. рекомендации. – М., 2005.

М.Р. Халиуллин¹, М.Н. Журавлева¹, Р.Ф. Масгутов^{1,2}, А.А. Ризванов¹, Р.В. Деев^{1,3}

Ген-активированные костные графты и их влияние на репаративный остеогистогенез

*ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»,
Казань, Россия (1)*

*ГАОУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗ РТ, Казань, Россия (2)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (3)
(urkrass2@gmail.com)*

M.R. Khaliullin, M.N. Zhuravleva, R.F. Masgutov, A.A. Rizvanov, R.V. Deev

Gene-activated bone grafts and their effect on reparative osteohistogenesis

Одна из наиболее распространенных проблем в травматологии – замедленная консолидация костной ткани в месте перелома. Предтечами такого состояния чаще всего бывают сахарный диабет, хронический алкоголизм, нарушения в обмене веществ.

Весомый вклад в процесс регенерации костной ткани вносят два фактора роста – VEGF165A (сосудистый эндотелиальный фактор роста) и BMP2 (костный морфогенетический белок 2). VEGF165A – мощный проангиогенный фактор. BMP2 стимулирует остеогенную дифференцировку клеток-предшественников. Было показано, что VEGF165A и BMP2 обладают выраженным синергизмом в отношении регенерации костной ткани.

Нами была разработана рекомбинантная генетическая конструкция pBudKan-coVEGF165-coBMP2 на основе модифицированного двухкассетного плазмидного вектора pBudCE4.1 (Invitrogen), коэкспрессирующая кодон-оптимизированные гены *bmp2* и *vegfl65a*. Для оценки влияния конструкции на остео- и ангиогенез *in vitro* осуществляли наработку рекомбинантных белков VEGF165 и BMP2 осуществляли в культурах СНО после их трансфекции Turbofect (Invitrogen).

Число узлов ветвления капиллярноподобных структур мезенхимальных стволовых клеток под воздействием супернатантов с клеток СНО,

трансфицированных pBud-Kan-coVEGF165-coBMP2 (супернатант VB), составило $65,5 \pm 9,25$, против $19,75 \pm 8,3$ в контроле (супернатант с клеток CHO, трансфицированных pEGFP-N2 (супернатант GFP). Таким образом, pBud-Kan-coVEGF165-coBMP2 способствует ангиогенезу *in vitro*.

Для количественной оценки накопления кальция в клетках остеобластов крысы, культивированных в среде, кондиционированной VEGF 5.51 ± 0.01 нг/мл и BMP2 6.13 ± 0.02 нг/мл, клетки окрашивали раствором ализаринового красного. Накопление кальция в культурах остеобластов, культивированных на среде с добавлением супернатанта VB (оптическая плотность $0,14 \pm 0,008$ нм) происходило существенно лучше, чем в контроле (оптическая плотность $0,11 \pm 0,01$), что говорит об их дифференцировке в остециты.

Мы создали ген-активированный костный графт (ГАКГ) на основе описанной выше плазмидной ДНК pBud-Kan-VEGF165-BMP2 и синтетических материалов Колапол КП-3 (КП-3), содержащего коллаген и гранулы гидроксиапатита, либо октакальциевого фосфата (ОКФ) (все НПО «Полистом»).

В область искусственно сформированного дефекта средней трети диафиза бедренной кости крысам имплантировали графт Колапол КП-3 или ОКФ, либо ген-активированные графты Колапол КП-3 или ОКФ в объемах, достаточных для заполнения костного диастаза 30 мм^3 (масса ГАКГ КП-3 5 ± 1 мг, содержание плДНК 38 ± 8 мкг, масса ГАКГ ОКФ $51,5 \pm 0.8$ мг, содержание плДНК $160 \pm 2,5$ мкг) либо дефект оставляли пустым. Для фиксации костных отломков проводили накостный остеосинтез с фиксацией металлической пластиной. Животных выводили из эксперимента через 30 и 60 суток после операции и проводили рентгенологическое и гистологическое исследование с окрашиванием гематоксилином-эозином и по Вейгерту—Ван Гизону.

Рентгенологическое и гистологическое исследование области перелома во всех группах не выявило нарушений процесса заживления кости. Через 30 суток после имплантации костная мозоль состояла преимущественно из рыхлой неоформленной соединительной ткани и хрящевой ткани. После имплантации ГАКГ КП-3 на 30-е сутки суммарный объем хрящевой и костной ткани в составе костной мозоли превосходит таковой по сравнению с последствиями имплантации нативного КП-3 – $45 \pm 4,2\%$ по сравнению с $13,6 \pm 4,9\%$. На 60-е сутки возрастает содержание костной ткани в составе костной мозоли во всех группах без достоверной разницы между ГАКГ и нативными материалами. Васкуляризация области дефекта через 30 суток после имплантации ГАКГ КП-3 в 2,66 раза выше по сравнению с пустым дефектом, а на 60-е сутки – в 4,19 раза. Имплантация ОКФ и ГАКГ ОКФ не оказала стимулирующего влияния на ангио- и остеогистогенез в области дефекта у использованной модели.

Таким образом, разработанная конструкция pBud-Kan-coVEGF165-coBMP2 стимулирует ангио- и остеогенез *in vitro*, а ГАКГ на основе данной конструкции и Колапола КП-3 способствует репаративному остеогистогенезу и васкуляризации в модели дефекта средней трети диафиза бедренной кости крысы.

И.В. Холоденко^{1,2}, А.А. Цебоева³, Р.В. Холоденко⁴, В.В. Бурунова^{1,2},
М.П. Васильев², К.Н. Ярыгин¹

**Терапевтический потенциал МСК плаценты человека
при лечении травматической болезни спинного мозга**

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия (1)*

ООО «НПК Стемма», Москва, Россия (2)

*Северо-Осетинская государственная медицинская академия,
Владикавказ, Россия (3)*

*ФГБУН Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия (4)*

I.V. Kholodenko, A.A. Ceboeva, R.V. Kholodenko,
V.V. Burunova, M.P. Vasilyev, K.N. Yarygin

**The therapeutic potential of the human placental MSCs
for the treatment of spinal cord injury**

Травматическая болезнь спинного мозга (ТБСМ) является тяжелейшим видом травм, приводящая к высокой смертности, нетрудоспособности и тяжелой инвалидизации пациентов. Существующие на сегодняшний день протоколы нейрохирургической коррекции и медикаментозной терапии ТБСМ не способны обеспечить полное восстановление структуры и функции спинного мозга, и направлены лишь на предотвращение гибели нейронов, окружающих очаг поражения. В связи с этим на протяжении последнего десятилетия ведутся интенсивные исследования в области клеточной терапии травмы спинного мозга. Среди различных типов стволовых клеток наибольшую популярность для лечения ТБСМ имеют мезенхимальные стволовые клетки костного мозга, которые проявили эффективный терапевтический потенциал в клинических исследованиях, проведенных на пациентах с ТБСМ. Не менее перспективными в данном контексте могут также быть мезенхимальные клетки, полученные из других источников.

Цель исследования состояла в изучении влияния трансплантированных человеческих плацентарных мезенхимальных стволовых клеток на восстановительные процессы при моделировании спинальной травмы.

Материал и методы. Мезенхимальные стволовые клетки были получены ферментативным путем из плаценты человека после нормальных родов. Для моделирования спинальной травмы были использованы взрослые (2-3 месяца) самки мышей линии C57Bl/6. Опытным животным (n=21) в область травмы непосредственно после ушиба вводили меченые флуоресцентными микрочастицами МСК плаценты человека (1 млн в 0,1 мл физиологического раствора). Контрольной группе (n=23) в область травмы аналогичным образом вводили 0,1 мл физиологического раствора. Локомоторную активность

животных оценивали непосредственно после операции, а также через 1, 3, 7, 14, 19, 21, 25 и 30 суток. Для оценки использовали шкалу BMS (Basso Mouse Scale). Гистохимический и иммуногистохимический анализы тканей спинного мозга проводили через 30 дней после травмы.

Результаты. Сразу после операции и в течение 1-2 дней наблюдались отчетливые признаки спинального шока. Общая двигательная активность животных восстанавливалась в течение первых 4-5 дней после операции. У 33% опытных животных по сравнению с 13% контрольных животных к третьей неделе восстанавливалась чувствительность задних конечностей на болевое раздражение. К 7 сут после операции и трансплантации МСК происходило достоверное увеличение объема движения в задних конечностях животных опытной группы. Средний балл по шкале BMS составил $1,69 \pm 0,26$, в то время как в контрольной группе средний балл $0,80 \pm 0,31$ ($p < 0,05$). По окончании срока наблюдения (на 30 сутки) средний балл опытной группы составил $4,33 \pm 0,41$, тогда как контрольной группы - $1,33 \pm 0,67$. Гистологический анализ срезов спинного мозга показал, что у животных контрольной группы в зоне травмы и вокруг нее формировался соединительнотканый рубец, через который на протяжении 30 суток не наблюдалось прорастания аксонов. У животных опытной группы через 30 суток после операции в зоне травмы наблюдался активный рост и миелинизация нервных проводников. Иммуногистохимический анализ показал, что введенные человеческие клетки мигрировали в ткани спинного мозга мыши. Большие скопления клеток наблюдались в месте введения и на дорсальной стороне спинного мозга, на границе с окружающей тканью. Кроме того, меченые человеческие клетки распространялись в тканях спинного мозга в ростральном и каудальном направлениях от места повреждения. Незначительная часть трансплантированных клеток мигрировала вглубь ткани спинного мозга и расселялась в радиусе нескольких миллиметров от травмы. Через 30 дней после трансплантации эти клетки начинали экспрессировать маркер нейрональной дифференцировки NeuN. Также оказалось, что через 30 дней после интраспинального введения человеческих клеток травмированным животным, большие скопления метки обнаруживались в гиппокампе, в области зубчатой извилины.

М.Г. Хотин¹, О.И. Александрова¹, Ю.И. Хорольская¹,
А.П. Трашков², Н.А. Михайлова¹

**Действие лекарственного препарата «Унифузол»
на основные функциональные свойства эндотелиоцитов**

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия (1)
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия (2)
(h_mg@mail.ru)

Effects of the «Unifuzol» on the main functional properties of endotheliocytes

Использование *in vitro* тест-моделей при проведении доклинических исследований становится все более актуальным. Предпосылками для этого является расширение арсенала методов и приборных возможностей для анализа физиологического состояния клетки в культуре; ужесточение норм использования лабораторных животных; необходимость параллельного тестирования больших массивов потенциальных лекарственных препаратов. Представлены результаты исследования влияния лекарственного препарата унифузол (производитель – ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Россия) на функциональные свойства эндотелиоцитов человека в культуре. В работе исследовано влияние препарата на клеточную морфологию в двумерной и трехмерной системах культивирования, их пролиферативную активность, миграцию и тубулообразование. Эти клеточные процессы свидетельствуют о физиологическом состоянии клеток и могут быть использованы для оценки их функционального состояния. Исследование выполнено в соответствии с требованиями законодательства в отношении доклинических исследований лекарственных препаратов и стандарта GLP (good laboratory practice).

Материалы и методы. Влияние препарата исследовано с использованием клеточных линий эндотелиоцитов человека - ECV 304, HUVEC, GSE56 (HUVECs иммортализованная).

Метаболическая активность и пролиферация клеток оценивалась методом МТТ-теста. Влияние препарата на клеточную миграцию анализировали с использованием экспериментальной модели раны. Динамические характеристики этих процессов оценивали в реальном времени, используя клеточный анализатор xCELLigence (ACEA Biosciences, США), применение которого является наиболее информативным для таких исследований. Качественным показателем функционального состояния эндотелиоцитов в культуре, позволяющем оценить ангиогенную активность препарата, является спонтанное образование тубул – капилляроподобных структур. Исследовано действие препарата на модели эндотелиальной дисфункции *in vitro*.

Клетки культивировали в стандартных условиях. Препарат добавляли в культуральную среду в концентрациях 10, 50, 100 и 200 мкл препарата на 1 мл культуральной среды. Для оценки действия препарата в контрольные пробы добавляли эквивалентные объемы фосфатно-солевого буфера.

Результаты. Установлено, что лекарственный препарат унифузол обладает выраженным эндотелиопротекторным эффектом при развитии эндотелиальной дисфункции, обусловленной разбавлением культуральной среды, изменением её ионного состава. Действие препарата проявлялся в коррекции миграционной активности, жизнеспособности при патологических условиях и корректирующем действии на клеточную морфологию на модели эндотелиальной дисфункции. При этом в нормальных условиях препарат не оказывал

влияния на морфологию и пролиферацию эндотелиоцитов в культуре и не влиял на тубулообразование клетками линий HUVEC и ECV-304.

Полученные результаты позволяют сделать выводы о наличии эндотелиопротекторного действия препарата унифузол при патологии и отсутствии влияния на функциональную активность эндотелиоцитов в норме. Токсическое воздействие препарата на эндотелиальные клетки отсутствует.

О.Н. Чернова¹, М.О. Мавликеев¹, И.А. Яковлев^{1,2}, А.А. Титова¹,
В.В. Соловьева¹, И.Г. Старостина¹, А.К. Зейналова¹, М.С. Калигин¹,
А.А. Ризванов¹, А.П. Киясов¹, Р.В. Деев^{2,3}

Влияние рекомбинантного аденовируса Ad5-Dysf на скелетную мышечную ткань у дисферлин-дефицитных мышей Bla/J

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия (1)

Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия (2)

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Рязань, Россия (3)

O.N.Chernova, M.O. Mavlikeev, I.A. Yakovlev, A.A. Titova,
V.V. Solovyeva, I.G. Starostina, A. K. Zeynalova, M.S. Kaligin,
A.A. Rizvanov, A.P. Kiyasov, R.V. Deev

Skeletal muscles regeneration after Ad5-Dysf transduction in Bla/J mice

Введение. Известно, что большое количество белков сарколеммы ответственны за репарацию мышечных волокон. Одним из таких белков является дисферлин, кодируемых геном *DYSF*. При мутации в этом гене регенеративная способность мышечных волокон снижается, что приводит к атрофии и некрозу мышц. У человека мутации в *DYSF* сопровождаются слабостью и атрофией скелетных мышц преимущественно таза и нижних конечностей, что послужило объединению их в группу поясно-конечностных мышечных дистрофий 2В, также именуемых дисферлинопатиями. Для изучения данной группы наследственных заболеваний существует 110 линий мышей, несущих мутацию в *DYSF*, одной из которых является Bla/J.

Цель данного исследования – оценка влияния рекомбинантного аденовируса Ad5-Dysf на состояние скелетных мышц в условиях сниженной экспрессии *DYSF*, что является неотъемлемым этапом в разработке и тестировании генных препаратов.

Материалы и методы. 15-месячной мышью линии Bla/J ретроорбитально было введено 100 мкл $6,5 \times 10^8$ БОЕ рекомбинантного аденовируса Ad5-Dysf с последующим забором мышц голени на 30 сутки после трансдукции. Затем парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори, проводили иммуногистохимический анализ с антителами к α -SMA, Ki67 и myogenin. В качестве контроля выступала мышь Bla/J того же возраста.

Результаты. Средняя площадь поперечного сечения мышечных волокон (МВ) в мышце экспериментальной группы была выше ($747,5 \pm 408,6 \mu\text{m}^2$ и $515,3 \pm 300,8 \mu\text{m}^2$ у контроля, $p=0,000002$), что отражает вызванную трансдукцией гипертрофию МВ. Доля миогенин-позитивных ядер была больше после введения аденовирусной конструкции ($28,3 \pm 6,5\%$ и $15,8 \pm 5,7$, $p=0,000031$), а Ki-67-позитивных ядер, наоборот, меньше ($20,0 \pm 5,2\%$ и $27,5 \pm 6,7\%$, $p=0,013$), что позволяет сделать вывод о большей степени дифференцировки и более завершённом рабдомиогенезе после инъекции Ad5-DYSF. Процент некротизированных мышечных волокон в экспериментальной группе был несколько выше ($14,4 \pm 4,0\%$ и $11,6 \pm 2,9\%$, $p=0,04$), так же, как и доля центральоядерных МВ ($21,2 \pm 7,0\%$ vs $18,9 \pm 5,6\%$, n.s.). Отношение Ki-67-позитивных ядер в интерстиции выше после трансдукции Ad5-Dysf ($35,1 \pm 17,2\%$ и $8,57 \pm 18,3\%$, $p=0,0001$) в то время как содержание соединительной ткани было ниже ($18,1 \pm 4,9\%$ и $25,7 \pm 7,1\%$, $p=0,04$), что свидетельствует о меньшем замещении соединительной тканью мышцы у экспериментального животного. Отношение числа сосудов к числу МВ в обеих группах было примерно равным ($0,23 \pm 0,03$ и $0,23 \pm 0,06$ у контроля).

Вывод. Предварительные результаты показывают, что введение Ad5-Dysf усиливает активность рабдомиогенеза *in vivo* и может быть использовано в качестве потенциальной генной терапии дисферлинопатии. Для более достоверных данных планируется продолжение эксперимента с введением в него большего числа линейных животных.

Литература:

1. Anderson L.V., Davison K., Moss J.A. et al. Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development // Hum. Mol. Genet. – 1999. – 8(5). – P. 855-861.
2. Hornsey M.A., Laval S.H., Barresi R. et al. Muscular dystrophy in dysferlin-deficient mouse models // Neuromuscular Disorders. – 2013. – 23(5). – P. 377-387.
3. Vainzof M., Ayub-Guerrieri D., Onofre P.C. et al. Animal Models for Genetic Neuromuscular Diseases // J. Mol. Neurosci. – 2008. – №34. – P. 241-248.
4. International Mouse Strain Resource (IMSR)
<http://www.findmice.org/summary?gaccid=MGI:1349385#myDataTable=results%3D25%26startIndex%3D25%26sort%3Dscore%26dir%3D>

Е.Ю. Шаповалова, М.Н. Морозова, Ю.Г. Барановский,
Т.А. Бойко, А.Г. Барановский

Особенности заживления модельной раны у мышей на 12-е сутки после трансплантации ауто- и гетерофибробластов и дермального эквивалента

ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», Симферополь, Крым, Россия

Features of model wound healing in mice on the 12th day after transplantation of auto- and hetero-fibroblasts and dermal equivalent

Сведения о клеточном составе регенерационного гистиона в период образования грануляционной ткани на фоне стимуляции регенерационного потенциала длительно незаживающих дефектов кожных покровов с помощью актуальных тканевых технологий бедны и отрывочны [1, 2].

Цель исследования – провести анализ регенерационного гистиона в биоптатах грануляционной ткани в модельной ишемизированной ране на 12-е сутки после введения ауто- и гетерофибробластов, а также после трансплантации дермального эквивалента с гетерофибробластами.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 28 половозрелых мышцах линии C57/B1. Животные были разделены на контрольную и три экспериментальные группы. Во всех группах операцию по моделированию кожной ишемизированной раны в лопаточной области производили одинаково [3]. Из иссеченной кожи выделяли фибробласты и культивировали в среде DMEM F12 (Lonza). В первой экспериментальной группе в дно раны и вокруг нее вводили 0,4 мл взвеси гетерофибробластов с 1,33 млн клеток, во второй – аутофибробласты. В третьей группе в рану трансплантировали дермальный эквивалент с гетерофибробластами [4]. На 12-й день после операции у мышей всех групп иссекали образовавшийся рубец. Биоптат окрашивали гематоксилином и эозином, по Вейгерту-Ван-Гизону. Присутствие макрофагов определяли иммуногистохимическим методом, где первичными антителами были CD68 Gene Tex Inc (США) в разведении 1:100. Присутствие тучных клеток определяли стандартным набором фирмы «Биовитрум». Функциональную активность оценивали по индексу дегрануляции как отношение количества дегранулировавших клеток к общему их числу в процентах. Сравнения средней величины индексов макрофагов и тучных клеток и индекса их функциональной активности проводили в процентах по отношению к контрольной группе.

Результаты и обсуждение. У мышей второй экспериментальной группы на фоне введения взвеси аутофибробластов отпадение силиконового кольца вокруг раны зафиксировано раньше, чем в контроле и первой и второй экспериментальных группах, на $11,00 \pm 0,01$ день после операции. Течение регенераторного гистогенеза произошло наиболее благоприятно. С поверхности эпидермиса струп полностью отделился. Толщина эпидермиса на 51,42% больше, чем в контрольной группе. Грануляционная ткань характеризуется усилением процессов ангиогенеза и коллагенообразования. Площадь, занятая коллагеновыми волокнами увеличилась на 27,13% и составила $40,76 \pm 0,24$ мкм, а сосудов – на 39,88% и составила $1,73 \pm 0,01$ мкм. Лейкоцитарная инфильтрация отсутствует. Индекс макрофагов снизился почти наполовину по сравнению с контролем (43,35%). Тучные клетки резко повысили выделение гранул (22,52%), но уменьшились количественно (24,82%), что является ярким подтверждением стихания воспаления, завершения воспалительной фазы

раневого процесса и усиления коллагенообразования [5]. Клеточные элементы фибробластического ряда представлены крупными вытянутыми слегка отростчатыми функционально активными клетками. Эластические волокна отсутствуют во всех участках дермы.

Таким образом, на 12-й день регенерационного гистогенеза эпидермис достигает наибольшей толщины после введения аутофибробластов и был наиболее дифференцирован после трансплантации дермального эквивалента с гетерофибробластами. Ангиогенез также наиболее активен после введения аутофибробластов. Продукция коллагеновых волокон клетками фибробластического ряда, а также присутствие клеток воспаления: макрофагов и тучных клеток свидетельствует о наиболее благоприятном воздействии на регенерационный гистион трансплантации в рану аутофибробластов. Вместе с тем, воздействие дермального эквивалента с гетерофибробластами также весьма значительное и отличается от воздействия аутофибробластов всего на несколько процентов: площадь коллагеновых волокон – на 2%, индекс макрофагов – на 5%, индекс тучных клеток – на 5%, индекс дегрануляции тучных клеток – на 4%, что делает такие различия недостоверными.

Работа поддержана проектом «Сеть академической мобильности «РНИЭМ»» ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» и выполнена с использованием инфраструктуры ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» и ФГБУН «Институт цитологии РАН».

Литература:

1. Винник Ю.С., Салмина А.Б., Дробушевская А.И. Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении длительно не заживающих ран // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – IV(2). – С. 392-397.
2. Данилов Р.К. Раневой процесс: гистогенетические основы. – СПб.: ВМедА, 2008.
3. Барановский Ю.Г., Ильченко Ф.Н., Шаповалова Е.Ю. Способ моделирования трофической язвы у лабораторных мышей в опытной модели // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2016. – 1(2). – С. 259-261.
4. Андреев Д.Ю., Абрамова Н.В., Блинова М.И., Пинаев Г.П. Эффективность кожной пластики и дермального эквивалента в лечении обширных язв голени смешанного генеза // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2013. – 172(1). – С. 104-107.
5. Алексеева Н.Т., Ключкова С.В., Никитюк Д.Б. Морфологическая характеристика тучных клеток при регенерации кожи // Оренбургский медицинский вестник. – 2016. – IV(15). – С. 13-16.

Ю. Гао

Сравнительная характеристика морфологических изменений ободочной кишки при остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6

*МГУ им. М. В. Ломоносова, ФГБНУ «НИИ морфологии человека»,
Москва, Россия*

Y. Gao

Comparative characteristics of morphological changes in the colon in acute ulcerative colitis in female and male C57Bl / 6 mice

По данным статистических исследований язвенный колит чаще выявляется у женщин, но заболевание протекает тяжелее у мужчин [1, 2]. На клиническом материале изучение половых различий морфологических изменений стенки толстой кишки при колите затруднено в связи с малым объемом биопсийного материала и формированием репрезентативных групп наблюдения.

Целью работы было сравнительное изучение выраженности воспалительных изменений в ободочной кишке при остром язвенном колите у самок и самцов мышей C57Bl/6.

Работа выполнена на 60 половозрелых мышах линии C57Bl/6, полученных из питомника «Столбовая». Острый язвенный колит моделировали по I. Okayasu et al. (1990) [3]. В течение 5 дней самкам (n=15) и самцам (n=15) питьевую воду заменяли на 1% водный раствор декстрансульфата натрия. Контрольные группы мышей обоего пола (n=15) получали питьевую воду. На 7-ые сутки животных всех групп выводили из эксперимента. Оценивали динамику клинических проявлений острого колита, массу тела, длину ободочной кишки. В макропрепаратах подсчитывали число лимфоидных узелков в стенке ободочной кишки, фиксированной в 2% уксусной кислоте. Площадь язв и гиперемии определяли также на макропрепаратах ободочной кишки. Проводили морфологическое исследование ободочной кишки: оценивали объемную плотность бокаловидных клеток и клеточных элементов в собственной пластинке слизистой оболочки, подсчитывали относительную длину язв без реэпителизации и с реэпителизацией. Для выявления в бокаловидных клетках нейтральных гликопротеинов и высокосульфатированных муцинов проводили ШИК-реакцию («БиоВитрум», Россия) и окрашивали препараты альциановым синим pH 1.0 по Моури (Гистолайн, ООО «Элемент», Россия). Для оценки содержания в них основных и кислых муцинов, на микроскопе AxioPlan 2 imaging (Carl Zeiss, Германия) с объективом x20 при одинаковых условиях освещения полу-

чали снимки гистологических препаратов дистального отдела ободочной кишки. При съемке выбирали участки слизистой оболочки с продольно ориентированными криптами, при колите – без язв и эрозий, но с выраженными морфологическими признаками воспаления. Измерения проводили в программе PhotoM1.21 (freeware, Разработчик А. Черниговский, 2000-2001) [4]. Статистическую обработку показателей проводили с учетом характера распределения непараметрическими методами (U-критерий Манна-Уитни).

Клинические проявления колита (диарея) и кровь в фекалиях у самцов появились раньше, чем у самок, и они были более выраженными. На 7-ые сутки эксперимента по сравнению с контрольными группами у самок и самцов с острым колитом масса тела снижалась, а у самцов отмечалось уменьшение показателя длины ободочной кишки. Количество лимфоидных узелков в разных отделах стенки ободочной кишки у самок при остром колите статистически значимо увеличивалось, а у самцов, напротив, уменьшалось.

Распространённость язв и очагов гиперемии в слизистой оболочке ободочной кишки у самок с острым колитом была в 2,2 раза меньше чем у самцов. По сравнению с самцами у самок в дистальном отделе ободочной кишки показатели язв без реэпителизации были в 2,5 раза ниже, а язв с реэпителизацией в 7,7 раза выше. В медиальном и дистальном отделах ободочной кишки у самок распространённость язв без реэпителизации была больше чем в проксимальном. В дистальном отделе ободочной кишки у животных обоего пола язвенно-воспалительные изменения были максимально выражены, поэтому оценку выраженности воспалительных изменений и цитофизиологических показателей бокаловидных клеток проводили в дистальном отделе ободочной кишки.

При остром колите объёмная доля воспалительного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки в дистальном отделе ободочной кишки возрастала и у самок, и у самцов. Показатель доли бокаловидных клеток у самок статистически значимо не изменялся, а у самцов снижался в 2,9 раза. По сравнению с контролем при остром колите содержание нейтральных гликопротеинов в бокаловидных клетках снижалось как у самок, так и самцов, а высокосульфатированных гликопротеинов – у самцов уменьшалось.

Таким образом, клинические и морфологические проявления острого язвенного колита более выражены у самцов по сравнению с самками. В отличие от самок, у самцов при остром язвенном колите выражены нарушения эпителиального барьера, характеризующиеся снижением объёмной доли бокаловидных клеток и содержания в них высокосульфатированных муцинов.

Литература:

1. Адлер Г. Болезнь Крона и язвенный колит. – М.: ГЭОТАР-Мед, 2001.
2. Kim J.J., Shajib M.S., Manocha M.M., Khan W.I. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD // J. Vis. Exp. – 2012. – №1. – P. 60.
3. Okayasu I., Hatakeyama S., Yamada M., Ohkusa T., Inagaki Y., Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice // Gastroenterology. – 1990. – 98(3). – P. 694-702.
4. Программа PhotoM 1.21 (freeware) / разраб. А. Черниговский. 2000-2001. http://t_lambda.chat.ru.

Д.Ш. Джалилова, А.М. Косырева, Е.А. Пономаренко

Различия реакции органов иммунной системы, печени и легких у крыс Вистар с разной устойчивостью к гипоксии при системном воспалительном ответе, индуцированном липополисахаридом

ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, Россия

D.Sh. Dzhalilova, A.M. Kosyрева, E.A. Ponomarenko

Differences in the response of immune system organs, liver and lungs in Wistar rats with different resistance to hypoxia in the systemic inflammatory response, induced by lipopolysaccharide

Актуальность. Известно, что существуют межвидовые, внутривидовые и индивидуальные различия устойчивости организма к гипоксии. Ранее была выявлена взаимосвязь гипоксии и воспаления: показано, что при системном воспалительном ответе (СВО) экспрессия ключевого фактора, регулирующего продукцию провоспалительных цитокинов – NF-κB, тесно связана с активацией транскрипционного фактора, регулирующего ответ на гипоксию – HIF-1, уровень экспрессии которого варьирует у особей с высокой и низкой устойчивостью к гипоксии [1]. При лечении больных с синдромом СВО и сепсисом, как правило, не учитывается индивидуальная устойчивость к гипоксии, что во многом снижает эффективность терапевтических мероприятий.

Цель исследования. Оценка морфологических и иммунологических изменений при СВО, индуцированном введением липополисахарида, у самцов крыс Вистар с разной устойчивостью к гипоксии.

Материал и методы. Исследования проведены на половозрелых самцах крыс Вистар (n=40), массой тела 220-270 гр. (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Для определения устойчивости к гипоксии животных помещали в барокамеру на «высоту» 11 500 м, подъем осуществляли со скоростью 80 м/с [2]. К высокоустойчивым к гипоксии животным относили крыс, время жизни (время до принятия бокового положения) которых «на высоте» составляло более 3 мин (n=16), к низкоустойчивым – менее 30 сек. Через 2 недели после определения устойчивости к гипоксии животным опытных групп внутрибрюшинно вводили липополисахарид *E. coli* O26:B6 (Sigma) в дозе 1,5 мг/кг, вызывающей развитие СВО [3]. Проводили морфологическое и морфометрическое исследование органов иммунной системы, печени и легких. С помощью проточной цитофлуориметрии определяли относительное и абсолютное количество CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, CD45⁺, CD314⁺-лимфоцитов в периферической крови. Для оценки статистической значимости результатов использовали методы непараметрической и дисперсионной статистики (Манна-Уитни, Конновера, ANOVA). Различия считали статистически значимыми при p<0.05.

Результаты и их обсуждение. Обнаружены различия в выраженности индуцированного ЛПС воспалительного процесса в легких и печени, морфологических изменений в органах иммунной системы у самцов крыс Вистар с разной устойчивостью к гипоксии. Как у низкоустойчивых к гипоксии, так и у высокоустойчивых крыс, в легких выявлен интраальвеолярный отек и выраженная инфильтрация нейтрофилами межальвеолярных перегородок. У низкоустойчивых к гипоксии животных воспалительная инфильтрация была более выражена (21,3 (19,5-25,4)) по сравнению с высокоустойчивыми (12,2 (10,8-17,5)). В ранние сроки развития СВО дистрофические изменения гепатоцитов были более распространенными и выраженными у низкоустойчивых к гипоксии животных (45,3% дистрофии) по сравнению с высокоустойчивыми (32,9%), в печени у низкоустойчивых крыс выявлялись очаговые некрозы. При морфологическом и морфометрическом исследовании органов иммунной системы на 1-е сутки после введения ЛПС в тимусе как низко-, так и высокоустойчивых к гипоксии самцов выявлена акцидентальная инволюция I-II стадий. Индекс отношения объемной доли коркового вещества тимуса к мозговому у высокоустойчивых крыс достоверно снижался, в то время как у низкоустойчивых не изменялся. На 1-е сутки после введения ЛПС при гистологическом исследовании селезенки наблюдалось достоверное увеличение объемной плотности светлых центров лимфоидных узелков как у низкоустойчивых, так и у высокоустойчивых к гипоксии крыс. У высокоустойчивых животных через сутки после введения ЛПС статистически значимо возрастал показатель объемной плотности лимфоидных узелков (18,0 (13,0-21,0%)). До введения ЛПС по сравнению с низкоустойчивыми к гипоксии животными, у высокоустойчивых были достоверно выше показатели иммунорегуляторного индекса, абсолютное число Т-хелперов и В-лимфоцитов. Относительное количество цитотоксических Т-лимфоцитов у высокоустойчивых крыс, напротив, было меньше, чем у низкоустойчивых. Через сутки после введения ЛПС различий субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови не выявлено.

Выводы. Таким образом, через сутки после введения ЛПС воспалительные изменения в легких и распространенность дистрофических и некротических процессов в печени более выражены у низкоустойчивых к гипоксии животных. По сравнению с высокоустойчивыми животными, у низкоустойчивых в норме ниже содержание в периферической крови Т-хелперов и В-лимфоцитов, но выше цитотоксических Т-лимфоцитов.

Литература:

1. Hirota K. Involvement of hypoxia-inducible factors in the dysregulation of oxygen homeostasis in sepsis // Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. – 2015. – 15(1). – Р. 29-40.
2. Грек О.Р., Ефремов А.В., Шарапов В.И. Гипобарическая гипоксия и метаболизм ксенобиотиков. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.
3. Писарев В.Б., Богомолова Н.В., Новочадов В.В. Бактериальный эндотоксикоз: взгляд патолога. – Волгоград, 2008.

Д.Ш. Джалилова¹, М.А. Полякова², И.С. Цветков¹, Н.А. Золотова¹,
М.Е. Диатроптов¹, В.А. Мхитаров¹

Морфологические и иммунологические особенности острого язвенного колита у мышей C57Bl/6 с разной устойчивостью к гипоксии

ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, Россия (1)
Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия (2)

D.Sh. Dzhaliilova, M.A. Poliakova, I.S. Tsvetkov, N.A. Zolotova,
M.E. Diatroptov, V.A. Mkhitarov

Morphological and immunological aspects of acute ulcerative colitis in C57Bl/6 mice with different resistance to hypoxia

Актуальность. Известно, что существует взаимосвязь гипоксии и воспаления: экспрессия ключевого фактора, регулирующего продукцию провоспалительных цитокинов – NF-κB, связана с активацией транскрипционного фактора, регулирующего ответ на гипоксию – HIF-1, уровень экспрессии которого варьирует у особей с высокой и низкой устойчивостью к гипоксии [1]. Показано, что гипобарическое гипоксическое воздействие при пребывании в горах на высоте более двух тысяч метров может провоцировать развитие воспалительных заболеваний кишечника [2]. Однако в литературе отсутствуют сведения об особенностях течения воспалительных заболеваний кишечника у особей с низкой и высокой устойчивостью к гипоксии.

Цель исследования. Изучение морфологических и иммунологических особенностей острого язвенного колита у половозрелых самцов мышей C57BL/6 с разной устойчивостью к гипоксии.

Материал и методы. Исследования проведены на половозрелых самцах мышей C57Bl/6 (n=50), массой тела 18 ± 2 г. (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Для определения устойчивости к гипоксии мышей помещали в барокамеру в условия, соответствующие критической «высоте» 9800-10000 м над уровнем моря [3]. Подъем осуществляли со скоростью около 80 м/с. На основе времени потери позы животных разделяли на три группы по устойчивости к гипоксии: низкоустойчивые особи (≤ 3 мин.), среднеустойчивые (3-9 мин.) и высокоустойчивые (≥ 9 мин.) [3]. Язвенный колит моделировали заменой питьевой воды на 2,5% водный раствор ДСН в течение 5 суток [4]. Животные были выведены из эксперимента на 7-е сутки от начала потребления ДСН. Проводили морфологическое и морфометрическое исследование ободочной кишки. На макропрепаратах ободочной кишки оценивали относительную площадь язв и очагов гиперемии. С помощью проточной цитофлуориметрии в периферической крови определяли субпопуляционный состав лимфоцитов. Проводили статистическую обработку полученных результатов с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение. По данным полуколичественной оценки клинические проявления колита были более выражены у мышей с низкой устойчивостью к гипоксии. В слизистой оболочке ободочной кишки распространённость язв и очагов гиперемии у мышей с низкой устойчивостью к гипоксии была в 3,9 раз выше, чем у животных с высокой устойчивостью. При микроскопическом исследовании дистального отдела ободочной кишки у 5 из 11 мышей с высокой устойчивостью к гипоксии выявлен тяжёлый острый фибринозно-язвенный колит, а у остальных – язвенно-катаральный. У мышей с низкой устойчивостью к гипоксии у 4 из 10 животных колит был фибринозно-язвенный, а у 6 – язвенно-катаральный.

У мышей контрольных групп с низкой и высокой устойчивостью к гипоксии выявлены различия субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови: у низкоустойчивых к гипоксии животных относительное количество CD3-CD19+ В-лимфоцитов (39,1 (35,3-43,0%)) и CD4+CD25+Foxp3+ регуляторных Т-лимфоцитов (9,0 (7,5-15,4%)) было статистически значимо выше, чем у высокоустойчивых мышей (27,2 (26,2-29,6%) и 1,2 (1,1-3,1%), соответственно). При остром язвенном колите различий субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у мышей сравниваемых групп не наблюдалось, но по сравнению с контролем у мышей с низкой устойчивостью к гипоксии содержание CD4+CD25+Foxp3+ регуляторных Т-лимфоцитов снижалось, а у мышей с высокой устойчивостью к гипоксии – повышалось.

Выводы. Таким образом, у мышей с низкой устойчивостью к гипоксии острый язвенный колит более тяжёлый: клинические проявления колита более выражены, распространённость язвенного процесса выше. В отличие от высокоустойчивых, у низкоустойчивых к гипоксии животных ниже содержание в периферической крови Т-регуляторных лимфоцитов, оказывающих иммуносупрессорное действие.

Литература:

1. Hirota K. Involvement of hypoxia-inducible factors in the dysregulation of oxygen homeostasis in sepsis // *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. – 2015. – 15(1). – P. 29-40.
2. Vavricka, S., Ruiz P.A., Scharl S. et al. Protocol for a prospective, controlled, observational study to evaluate the influence of hypoxia on healthy volunteers and patients with inflammatory bowel disease: the Altitude IBD Study // *BMJ open*. – 2017. – 7(1). – e013477.
3. Ведунова М.В., Т.А. Сахарнова, Е.В. Митрошина, Т.В. Шишкина, Т.А. Астраханова, И.В. Мухина. Антигипоксические и нейропротективные свойства нейротрофических факторов BDNF и GDNF при гипоксии in vitro и in vivo // *СТМ*. – 2014. – 6(4). – С. 38-47.
4. Okayasu I., Hatakeyama S., Yamada M., et al. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice // *Gastroenterology*. – 1990. – 98(3). – P. 694-702.

А.Н. Захватов, Т.В. Тарасова, И.А. Захаркин

Гистоморфометрические изменения в суставе при формировании экспериментального посттравматического остеоартроза

ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва», Саранск, Россия

A.N. Zakhvatov, T.V. Tarasova, I.A. Zakharkin

Histomorphometric changes in the joint in experimental posttraumatic osteoarthritis

Актуальность. Неизбежным исходом травматических повреждений суставов является развитие посттравматического артрита [1]. На этом фоне в синовиальной оболочке и субхондральной кости происходит развитие микроциркуляторных расстройств, что в свою очередь активизирует свободные радикалы процессы и провоспалительные цитокины, которые приводят к деструкции клеточных элементов хрящевой ткани, внеклеточного матрикса, а также дегенеративному перерождению синовиальной оболочки [3].

Цель исследования. Изучить гистоморфометрические особенности сустава при экспериментальном посттравматическом остеоартрозе.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 42 белых нелинейных крысах, содержащихся в стандартных условиях вивария с соблюдением правил обращения с животными. Животные были разделены на 2 серии. Первую серию составили интактные крысы в количестве 12. В контрольной серии (30 животных) под ингаляционным наркозом моделировали повреждение коленного сустава механическим путём в модификации Г. М. Дубровина [2]. Гистологическим методом изучали морфологию суставного хряща, синовиальной оболочки и субхондрального слоя костной ткани. Серийные срезы окрашивали гематоксилином и эозином и тиозиновым красителем. Исследование производилось с использованием светового микроскопа «HUMASCOPE ADVANCED LED», Германия. Морфометрическое исследование проводилось с помощью программного комплекса ImageJ for Windows. Животных выводили из опыта на 28 сутки наблюдения. Статистическая обработка результатов исследований проведена с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты. На 28 сутки у животных контрольной серии определялась стойкая сгибательная контрактура в поврежденном суставе. При микроскопическом исследовании травматический дефект был представлен разрастающейся соединительной тканью, выходящей за его пределы, с формированием большого количества фиброзных сращений с окружающими структурными элементами. Соединительная ткань плотно прилегала к разрушенному хрящу, заполняя пространство в субхондральной кости между разрушенными костными трабекулами. В перифокальной области выявлено нарушение зональной структуры хрящевой ткани, определялись деструктивные процессы в виде глубоких узур, достигающих до середины глубокой зоны. В поверхностной

зоне наблюдалось истончение и отслоение поверхностной бесклеточной пластинки с развитием разволокнения и фибриллярности коллагеновых волокон, появлением глубоких вертикальных узур. Большая часть хондроцитов определялись с пикнотичными ядрами. В отдельных участках хряща при выраженных деструктивных изменениях отмечалось запустевание поверхностной зоны. В промежуточной зоне отмечалось исчезновение колонковых структур. Большинство хондроцитов определялись с признаками дегенеративных изменений различной степени выраженности. Изогенные группы отмечены единично, определялись пустые клеточные лакуны. Матрикс промежуточной зоны был слабо эозинофильным, волокнистым. Наблюдалась неравномерное окрашивание базофильной линии, с нарушением ее целостности и проникновением костномозгового паннуса с субхондральной зоны в хрящ.

Морфометрические измерения выявили увеличение общей толщины хряща до $248,14 \pm 3,91$ мкм, что на 37,0% ($p < 0,001$) больше, чем в серии интактных животных. Наблюдалось значительное снижение численной плотности хондроцитов до $172,48 \pm 4,51$ что на 21,1% ($p < 0,001$) было ниже нормы. Окраска тиазиновым красителем выявила очаги метахромазии всех зон хряща в виде неравномерного окрашивания разной степени выраженности.

Морфологическое исследование синовиальной оболочки выявило признаки хронического посттравматического синовита, проявляющегося утолщением капсулы и синовиальной оболочки. Толщина покровного слоя синовиальной оболочки составляла $49,36 \pm 0,82$ ($p < 0,001$), что в 2,7 раза превышало показатель интактной серии животных, при этом в очагах гиперплазии преобладали макрофагальные синовиоциты, которые располагались в 3-4 слоя. В субсиновиальном коллагеново-эластическом слое отмечалось склерозирование стенок сосудов, фиброз стромы синовиальных складок, воспалительная клеточная инфильтрация, указывая о дегенеративном перерождении.

Обсуждение и заключение. Таким образом, экспериментальное травматическое повреждение коленного сустава уже к 28 суткам без медикаментозной коррекции приводит к развитию необратимых дегенеративно-деструктивных изменений суставных поверхностей, формированию стойкой контрактуры и необратимой утрате локомоторной функции конечности. Выявлялось формирование глубоких узур, гибель и деструкция части хондроцитов с уменьшением их численной плотности, склерозирование синовиальной оболочки, неравномерное окрашивание межклеточного матрикса и образование очагов метахромазии, свидетельствующих о разрушении гликозаминогликанов, сопровождающееся развитием отека и как следствие увеличением толщины хряща. Морфологические изменения соответствовали 3-4 степени остеоартроза, согласно гистологической классификации Международного общества изучения остеоартроза OARSI [4].

Литература:

1. Бадочкин В.В. Значение воспаления в развитии и течении остеоартроза // Consilium medicum. – 2009. – 11(IX). – С. 91-94.
2. Дубровин Г.М. Блинков Ю.А., Нетяга С.В., Нетяга А.А. Обоснование применения миелопида для профилактики посттравматического остеоартроза //

- Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2005. – №2. – С. 60-63.
3. Куликов В.Ю. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани // Медицина и образование в Сибири. – 2009. – №4. – С. 5-4.
4. Pritzker K.P.H.S., Gay S.A. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging // Osteoarthritis and cartilage. – 2006. – №14. – P. 13-16.

Н.А. Золотова^{1,2}, С.О. Кирюхин^{1,2}, Д.Н. Хочанский¹

Ультраструктурные изменения эпителиального барьера ободочной кишки при экспериментальном остром и хроническом колите

*ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, Россия (1)
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия (2)*

N.A. Zolotova, S.O. Kiryukhin, D.N. Khochansky

Ultrastructural changes in the epithelial barrier of the colon during experimental acute and chronic colitis

Введение: Язвенный колит (ЯК) – распространенное хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание толстой кишки. Его этиология неясна, в связи с чем существующие методы лечения недостаточно эффективны. Важную роль в развитии ЯК играет нарушение эпителиального барьера толстой кишки, что приводит к транслокации кишечной микрофлоры во внутреннюю среду организма и развитию воспалительного процесса [1]. Исследования на клиническом материале затруднены, в связи с чем разработан ряд экспериментальных моделей. Наиболее широко используемой, легко выполнимой и высоко воспроизводимой моделью, адекватной ЯК человека, является колит, индуцированный декстрансульфатом натрия (ДСН) [3]. На данной модели ведется активное изучение механизмов развития ЯК, однако ультраструктурные изменения эпителиального барьера ободочной кишки в литературе не описаны.

Цель: изучить ультраструктурные изменения эпителиального барьера ободочной кишки у мышей при остром и хроническом колите, индуцированном декстрансульфатом натрия.

Материалы и методы. Исследование выполнено на половозрелых самцах мышей линии C57BL/6 (питомника «Столбовая»). Животных содержали при температуре 18-25°C и естественном освещении, свободном доступе к воде и комбикорму. Колит индуцировали заменой питьевой воды на 5 суток 1%-м водным раствором ДСН (Dextran sulfate sodium salt, Mr ~40,000, AppliChem, Германия). Мышей выводили из эксперимента путем цервикальной дислокации под эфирным наркозом на 7 (острый колит; n=11) и 28-е (хронический колит; n=10) сутки. Мыши контрольной группы (n=13) на протяжении всего эксперимента получали питьевую воду. Для гистологического

исследования дистальный отдел ободочной кишки фиксировали в жидкости Буэна, заключали в гистомикс, изготавливали срезы толщиной 5-8 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Для выявления фиброза проводили окраску трихромом по Массону. Фрагмент ободочной кишки фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом с постфиксацией 1% OsO₄ для изучения морфологии клеток; еще один фрагмент использовали для выявления гликокаликса с помощью модифицированного контрастирования рутениевым красным по Монису и Замбрано. Фиксированные образцы дегидратировали и заливали в смесь смол эпон-аралдит, изготавливали ультратонкие срезы, контрастировали в растворе Рейнольдса, исследовали с помощью просвечивающего электронного микроскопа TEM Libra120 (Carl Zeiss, Германия).

Результаты и их обсуждение. На 7-ые сутки эксперимента при морфологическом исследовании стенки ободочной кишки выявлялись обширные острые язвы, выраженная воспалительная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы преимущественно из нейтрофилов и лимфоцитов, единичные крипт-абсцессы. На 28 сутки наблюдалась деформация крипт, расширение их просветов и заполнение слизью, гиперплазия бокаловидных клеток, небольшое число эпителизирующихся язв, выраженная воспалительная инфильтрация преимущественно базального отдела собственной пластинки слизистой оболочки лимфоцитами, плазмócитами и единичными нейтрофилами, очаговый фиброз всех оболочек ободочной кишки. Выявленные на 7 и 28 сут. эксперимента морфологические изменения ободочной кишки соответствуют описанным в литературе при остром и хроническом ДСН-колите у мышей [5]. При ультраструктурном исследовании ободочной кишки мышей с острым колитом выявлено значительное увеличение числа бактерий, контактирующих с эпителиальными клетками, истончение гликокаликса, укорочение и деформация микроворсинок, увеличение числа мелких светлых вакуолей и митохондрий в цитоплазме всех эпителиальных клеток, снижение количества муциновых вакуолей в бескаемчатых колоноцитах. Увеличение числа бактерий в непосредственной близости от поверхности эпителиальных клеток указывает на нарушение барьерной функции слоя слизи. По данным литературы через 12 часов после замены питьевой воды на 3% раствор ДСН в толстой кишке у мышей внутренний слой слизи становится проницаемым для бактерий, а через 24 часа он практически исчезает [4]. У человека при ЯК число бактерий в непосредственной близости от эпителиальных клеток возрастает [6]. При обострении ЯК наблюдается повреждение эпителиальных клеток: опустошение бокаловидных клеток, снижение числа или исчезновение микроворсинок, разрушение плотных контактов, вакуолизация и лизис цитоплазмы, пикнотические ядра, повреждения ЭПР, митохондрий, комплекса Гольджи [2]. При хроническом колите длина и структура микроворсинок и толщина гликокаликса нормализуются, снижается число бактерий в непосредственной близости от эпителиальных клеток. По сравнению с контрольной группой и мышами с острым колитом, увеличивается число муциновых вакуолей в бескаемчатых колоноцитах. При ремиссии ЯК у человека толщина эпителиальной выстилки меньше, чем

в норме, микроворсинки деформированы, увеличены межклеточные пространства и встречаются поврежденные органеллы [2].

Выводы. При экспериментальном остром колите, индуцированном 1% раствором ДСН, ультраструктурные нарушения эпителиального барьера ободочной кишки выражены: повышается проницаемость слоя слизи для бактерий, истончается гликокаликс, наблюдается повреждение микроворсинок и изменение числа вакуолей и митохондрий в эпителиальных клетках. При хроническом колите изменения не выражены и наблюдается тенденция к нормализации.

Литература:

1. Ткачев А.В., Мкртчян Л.С., Никитина К.Е., Волынская Е.И. Воспалительные заболевания кишечника: на перекрестке проблем // Практическая медицина. – 2012. – 3(58). – С. 17-22.
2. Fratila O., Ilias T., Maghiar T.T. et al. Ultrastructural aspects of the colonic epithelium in ulcerative colitis // Studia Universitatis “Vasile Goldiş”, Seria Ştiinţele Vieţii (Life Sciences Series). – 2008. – №18. – P. 215-218.
3. Gadaleta R.M., Garcia-Irigoyen O., Moschetta A. Exploration of Inflammatory Bowel Disease in Mice: Chemically Induced Murine Models of Inflammatory Bowel Disease (IBD) // Curr. Protoc. Mouse Biol. – 2017. – 7(1). – P. 13-28.
4. Johansson M.E., Gustafsson J.K., Sjöberg K.E. et al. Bacteria penetrate the inner mucus layer before inflammation in the dextran sulfate colitis model // PLoS One. – 2010. – 5(8). – e12238.
5. Melgar S., Karlsson A., Michaelsson E. Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: correlation between symptoms and inflammation // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2005. – 288(6). – P. 1328-1338.
6. Swidsinski A., Weber J., Loening-Baucke V. et al. Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease // J. Clin. Microbiol. – 2005. – 43(7). – P. 3380-3389.

А.В. Колесников

Клинико-морфологическая характеристика химически индуцированной экспериментальной катаракты

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

ГБУ РО «Клиническая больница им. Н.А. Семашко», Рязань, Россия

A.V. Kolesnikov

Clinical and morphological characteristics of chemically induced experimental cataract

Актуальность. Внедрение новых лекарственных препаратов требует разработки адекватных экспериментальных моделей. В офтальмологии наиболее распространенным заболеванием, приводящим к снижению зрения, яв-

ляется катаракта [1,2], тогда как вопрос её консервативного лечения остается открытым. [1,3]. В связи с указанным, актуальность поиска новых антикатарактальных препаратов не вызывает сомнений, что определяет необходимость их экспериментальных исследований.

Наиболее признанной теорией патогенеза катаракты является свободнорадикальная [4], в связи с чем целью нашего исследования стало клинкоморфологическое изучение экспериментальной модели катаракты на основе активизации в хрусталике процессов перекисного окисления липидов.

Материалы и методы. Работа выполнена на 17 кроликах (34 глаза). Катарактогенез индуцировали путём однократной интравитреальной инъекции раствора диквата дибромида (ДД), представляющего собой пестицид, вызывающий образование в тканях свободных радикалов (Рац. предл. № 1209 от 03.10.2006 г. Рязань). Продолжительность эксперимента составила 56 суток. Оценка изменений ткани хрусталика проводили методами проходящего света, биомикроскопии и гистологически на 7, 14, 28, 42, 56 сутки опыта (на каждый срок 3 кролика – 6 глаз; 2 кролика служили контролем). Животных выводили из опыта методом воздушной эмболии под тиопенталовым наркозом. Срезы хрусталика окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты. На 7-е сутки во всех случаях сформировались начальные помутнения в кортикальных отделах хрусталика. Методами фокального освещения и биомикроскопии отмечено появление мелких субкапсулярных и кортикальных вакуолей, единичных точечных помутнений в задних и передних корковых слоях. В проходящем свете на фоне розового рефлекса были видны единичные точечные затемнения. Гистологически на 7 сутки опыта в хрусталике наблюдалось набухание волокон кортекса.

С 7-х до 14-х суток количество мелких вакуолей в коре несколько увеличилось, появились симптомы диссоциации коры хрусталика. Размеры и количество белковых агрегатов практически не изменились. В проходящем свете были зафиксированы единичные точечные помутнения. Гистологическое исследование показало нарастание гидропического набухания и разъединения волокон кортекса хрусталика, появление неравномерно окрашенных участков.

С 14-х до 28-х суток во всех случаях зафиксировано слияние вакуолей, увеличение размеров и числа белковых агрегатов. Площадь зон диссоциации коры увеличилась. Было отмечено формирование водяных щелей, причем к 28-м суткам их содержимое начало мутнеть. Появились участки разрушения волокон в местах выраженной диссоциации. В проходящем свете отмечено появление облаковидных и линейных помутнений низкой интенсивности. На микроскопическом уровне на 28 сутки отмечалось увеличение степени диссоциации волокон коры хрусталика с их частичной деструкцией и появление интенсивно окрашенных эозинофильных образований в кортексе.

В интервале от 28-х до 42-х суток зафиксировано значительное разрушение волокон и упорядоченной структуры кортекса хрусталика. Количество белковых агрегатов практически не изменилось. Содержимое водяных щелей помутнело, их границы стали трудно различимы. Зоны разрушения волокон коры хрусталика заняли всю площадь диссоциации. В проходящем свете

площадь затемнений и их интенсивность значительно увеличилась. В 2 случаях катаракта оставалась без динамики. Гистологически на 42-сутки опыта было выявлено значительное нарушение структуры кортекса, увеличение степени деструктивного распада волокон хрусталика.

С 42-х до 56 суток нарастала дезорганизации и разрушение волокон кортекса, интенсивность помутнения коры существенно увеличились. Число вакуолей уменьшилось, а размеры их увеличились за счет слияния соседних. Водяные щели как морфологический элемент исчезли, на их месте сформировались участки помутнения коры. В 2 глазах динамики катарактальных изменений хрусталика отмечено не было. При гистологическом исследовании на 56 суток эксперимента наблюдалось разрушение ткани коры хрусталика с формированием крупных округлых и щелевидных пустот.

Таким образом, однократное введение в стекловидное тело глаза раствора дибромата приводит к формированию прогрессирующей свободно-радикальной корковой катаракты. Представленная модель экспериментальной катаракты является адекватной для изучения эффективности антикатарактальных препаратов, прежде всего, обладающих антиоксидантной активностью, в качестве нового направления консервативной терапии катаракты.

Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ № МК-4993.2012.7

Литература:

1. Веселовская З.Ф., Блюменталь М., Боброва И.Ф. и др. Катаракта. – Киев: Книга плюс, 2002.
2. Мальцев Э. В. Хрусталик. – М.: Медицина, 1988.
3. Мальцев Э.В., Багиров Н.А., Ясир Аль Шариф. Перспективы развития медикаментозного лечения катаракт // Офтальмол. журн. – 2002. – №2. – С. 46-49.
4. Бабижаев М.А., Деев А.И. Свободнорадикальное окисление липидов и тиоловых групп при катарактогенезе // Биофизика. – 1986. – 31(1). – С. 109-114.

И.А. Лугин, Б.В. Троценко

Роль тканевых базофилов в процессах структурных изменений в предстательной железе белых крыс при гипокинетическом стрессе

*ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»,
Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Крым, Россия
(iglugin@hotmail.com)*

I.A. Lugin, B.V. Trotzenko

Role of mast cells in prostate gland of white rats during the structural changes processes in hypokinetic stress

Широкое распространение хронического неспецифического простатита (30–40% пациентов в возрасте 20–40 лет) [1], вызванное стрессовыми усло-

виями существования и малоподвижным образом жизни современного человека, выдвигает на первый план – исследование одной из экспериментальных моделей хронического простатита у белых крыс, которая формируется под воздействием гипокинетического стресса [2].

Цель работы состояла в изучении роли тканевых базофилов в структурных изменениях в фиброзно-мышечной строме предстательной железы белых крыс при гипокинетическом стрессе.

Материал и методы. Объектом исследования стала предстательная железа 144 крыс разных возрастных групп (75, 135, 210 и 420 суток постнатального развития), которые подвергались воздействию гипокинетического стресса разной продолжительности (от 9 до 14 суток) путем помещения животных экспериментальной группы в специальные плексигласовые клетки на 22 часа в сутки на протяжении 9 и 14 дней. Контрольные группы для каждого возраста крыс находились в стандартных условиях вивария. Предстательная железа крыс изучалась морфологическими, ультрамикроскопическими и морфометрическими методами. Для выявления тучных клеток использовали метиленовый-синий. Статистический анализ результатов проводили с помощью общепринятых методов вариационной статистики, с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Установлено, что ключевую роль в процессах морфологических изменений в предстательной железе крыс под воздействием экспериментального гипокинетического стресса играют дисциркуляторные нарушения в сосудах микроциркуляторного русла простаты, что имеет разную степень выраженности в четырех долях железы, в зависимости, от длительности стрессового фактора. На девятые сутки стресса процессы дисциркуляции представлены стазом форменных элементов в гемокапиллярах у животных всех экспериментальных групп, а на четырнадцатые сутки стресса у зрелых и старых крыс обнаруживались плазморрагии и геморрагии, которые сопровождалась лейкоцитарной инфильтрацией фиброзно-мышечной стромы в периферических зонах в пределах подкапсулярного сосудистого сплетения предстательной железы. Однако гемодинамические нарушения были менее выражены в центральных зонах простатических долек где преобладали компенсаторно-восстановительные процессы, сопровождавшиеся фиброзом стромы железы.

Тканевые базофилы фиброзно-мышечной стромы предстательной железы отличались по количеству, морфологическим типам клеточных популяций в зависимости от сроков экспериментального стресса и регионального расположения в зонах и долях железы. При этом количество тканевых базофилов возрастало от $0,24 \pm 0,08$ ($p < 0,01$) на единицу площади простаты на 9 сутки эксперимента до $0,30 \pm 0,11$ ($p < 0,05$) на 14 сутки у молодых половозрелых крыс. Сходным образом у зрелых крыс так же наблюдалось возрастание числа тканевых базофилов от $0,32 \pm 0,10$ ($p < 0,001$) на 9 сутки до $0,36 \pm 0,09$ ($p < 0,001$) на 14 сутки эксперимента. У крыс возрастом 210 суток количество тучных клеток возрастало от $0,38 \pm 0,11$ до $0,43 \pm 0,11$ ($p < 0,01$) соответственно с 9 до 14 суток эксперимента. У старых крыс показатели ко-

личества тучных клеток на 9 сутки эксперимента составляли от $0,37 \pm 0,09$ ($p < 0,001$) до $0,46 \pm 0,01$ ($p < 0,001$). Важно, что во всех группах четко определялось наличие трёх популяций тканевых базофилов по расположению: а) тучные клетки, расположенные в непосредственной близости от капилляров, б) тучные клетки располагающиеся рядом с эпителиоцитами функциональных простатических единиц, в) тучные клетки соединительной ткани стромы контактирующие с фибробластами и волокнистым тканевым компонентом. Средние размеры тканевых базофилов в простате крыс изменялись от $58,6 \pm 1,5$ мкм² до $62,4 \pm 3,4$ мкм², что зависело от их функциональной активности. В процентном отношении количество зрелых, частично дегранулированных и полностью дегранулированных клеток в популяциях изменялось с 41:36:23 у контрольных групп до 20:45:33 у экспериментальных групп.

Вывод. Длительный гипокинетический стресс у белых крыс вызывает дисциркуляторные нарушения в микроциркуляторном русле предстательной железы, процесс развития которых опосредуется активностью тканевых базофилов, которые не только регулируют региональный гомеостаз, но и способствуют хроническим воспалительным процессам в периферических зонах и развитию компенсаторно-адаптивного фиброза в центральных зонах простатических долек железы.

Литература:

1. Арнольди Э.К. Хронический простатит. – Ростов н/Д.: Феникс, 1999.
2. Ананьев В.А. Патоморфологический анализ и патогенетические особенности хронического простатита при вибрационной болезни. – Новосибирск, 2008.

Ж.Р. Омарова¹, В.В. Филатов¹, В.В. Измайлов², К.В. Буньков³, К.А. Акопян¹

Экспериментально-морфологический анализ изменений в миокарде при гиперандрогенемии

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (1)

ЦВКГ им. Н.Н. Бурденко, Москва, Россия (2)

ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Смоленск, Россия (3)

J.R. Omarova, V.V. Filatov, V.V. Izmailov, K.V. Bun'kov, K.A. Hakobyan

Experimental-morphological analysis of changes in the myocardium in hyperandrogenemics

Внезапная сердечная смерть является актуальной проблемой в современной клинической медицине. Наиболее частыми причинами смерти у спортсменов до 35 лет являются гипертрофическая кардиомиопатия, дисплазия правого желудочка, врожденные аномалии отхождения коронарных арте-

рий, миокардит, синдромы преждевременного возбуждения желудочков. Немаловажную роль в развитии внезапной сердечной смертности у спортсменов играет гиперандрогенемия, что диктует необходимость комплексного изучения реакций кардиомиоцитов и органов целостного организма при гиперандрогенемии.

Цель исследования заключается в морфологическом анализе реакций миокарда, в том числе митохондриального аппарата предсердных сократительных кардиомиоцитов крыс в условиях гиперандрогенемии.

Работа проведена на белых крысах линии Вистар. Гиперандрогенемия воспроизводилась внутримышечным введением препарата «омнадрен» (5 мг/кг на инъекцию, 2 раза в неделю). В эксперименте использовали 2 группы животных: опытную и контрольную. Морфологическое исследование включало светооптическое и ультраструктурное изучение миокарда правого и левого предсердий, правого и левого ушек сердца, а также межпредсердной перегородки. Экспериментальная гиперандрогенемия вызвала деструкцию мышечных «волокон». Выявляются контрактурные повреждения кардиомиоцитов, в ряде клеток имеет место ослабление анизотропии дисков А или исчезновение анизотропных структур в отдельных кардиомиоцитах. Часть клеток демонстрируют отсутствие миофибрилл. В клетках с контрактурными изменениями часто встречаются сморщенные ядра со смещением к периферии. Объемная плотность кардиомиоцитов экспериментальной группы животных уменьшилась по сравнению с интактными на 27%, капилляров – на 17%, зато на 32% возросло содержание межклеточного вещества. Имели место явления периваскулярного отека, стаза эритроцитов в капиллярах. Морфологически изучали состояние митохондриального аппарата, сократительных кардиомиоцитов сердца после эвтаназии животные в составе миокарда правого и левого отдела сердца, а также межжелудочковой перегородки. Проводили количественную оценку плотности упаковки митохондрий, численной плотности митохондрий, площади поверхности внешней митохондриальной мембраны, плотности митохондриальных крист, количества крист митохондрии, площади поверхности внутренней митохондриальной мембраны, степени ориентации крист, коэффициента сферичности митохондрий, объема митохондрии, количественного соотношения типов митохондрий. В условиях моделирования гиперандрогенемии у крыс развивается очаговая деструкция митохондрий с инициацией апоптоза сердечных миоцитов в зоне ишемии, а также редукция высокоэнергетических митохондрий в составе кардиомиоцитов во всех участках предсердий за счет повышения их функционального напряжения, истощения и декомпенсации. Структура миофибрилл сократительных кардиомиоцитов так же подвергалась значительным изменениям. Эти изменения проявлялись преимущественно в вакуолярном и литическом типах гипоксических повреждений. Поперечная исчерченность миофибрилл была нарушена, что создавало картину разволокненности. В продольном сечении сократительных кардиомиоцитов значительное число таких поврежденных миофибрилл образовывало миофибриллоподобную массу. Эти нарушения имели различную степень выраженности от минимальных до значительных

по глубине и тяжести. Наиболее чувствительными к действию повреждающего фактора были участки левого желудочка. Нарушения, регистрируемые в проводящих кардиомиоцитах, были аналогичными изменениям сократительных клеток сердца. Нарушения митохондрий и миофибрилл в них происходило в основном по смешанному вакуолярнолитическому типу. Миофибриллы имели разволокненный вид, митохондрии были различными по размерам. В саркоплазме выявлялись липидные включения. В сократительных кардиомиоцитах отмечено появление зон пересокращений миофибриллярного аппарата в виде так называемых «ригорных». Ишемизированные, но мало измененные клетки сердца, часто именуются как «колеблющиеся», так как находятся в состоянии электрической нестабильности. Основным ультраструктурным проявлением этого является феномен контрактуры миофибрилл, зарегистрированный при проведении электронномикроскопического исследования у экспериментальных животных, что является безусловным подтверждением не только гипоксического, но и ишемического характера повреждения клеток. Последнее является патогномоничным признаком нарушения проницаемости сарколеммы и перемещения ионов Ca^{2+} из межклеточного пространства внутрь кардиомиоцита, что указывает на развитие ионного дисбаланса.

Таким образом, экспериментальная гиперандрогенемия проявляет характерную морфо- функциональную перестройку паренхимы и стромы сердца с неоднозначным индексом их соотношения. Вышеизложенное диктует проведение оценки структурной и функциональной перестройки миокарда в плане адаптивно-компенсаторных возможностей и коррекция их.

А.В. Смирнов^{1,2}, Д.С. Медников¹

**Уровень экспрессии Beclin 1 в гиппокампе крыс
при дисциркуляторной энцефалопатии, вызванной длительным
воздействием отрицательных продольных перегрузок**

*ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет
Минздрава РФ, кафедра патологической анатомии, Волгоград, Россия (1)
ГБУ Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия (2)
(Mednikov1988@gmail.com)*

A.V. Smirnov, D.S. Mednikov

**Beclin 1 expression level in a hippocampus of rats
in the discirculatory encephalopathy caused by long-lived- Gz overloads**

Актуальность. Одним из регулируемых процессов, направленных на поддержание клеточного гомеостаза и обеспечивающих выживаемость при повреждающих воздействиях, является аутофагия. Beclin-1 – представитель суперсемейства белков Bcl-2, относящийся к подсемейству BH3-proteins, выполняющий множество функций, в том числе перекрестное регулирование

аутофагии и апоптоза [1, 2]. Известно о важной роли Beclin-1 в формировании и созревании аутофагосом [3], а ряд исследователей описывает развитие нейродегенеративных процессов в гиппокампе и мозжечке у линии мышей с усиленным нокаутом Beclin-1 [4].

Цель исследования – анализ структурных изменений гиппокампа крыс с учетом экспрессии Beclin 1 при длительном воздействии отрицательных продольных перегрузок.

Материалы и методы. Исследование проведено на 12-месячных крысах (ФГПУ Питомник лабораторных животных «Рапполово», $n=10$) – 1 группа, группу контроля ($n=10$) составили крысы аналогичного возраста – 2 группа. Дисциркуляторные нарушения моделировались на бодрствующих крысах путем гравитационной перегрузки силой 9 G в каудо-краниальном направлении в течение 5 минут дважды в день с интервалом 12 часов на протяжении 28 дней. Энцефалопатия у животных диагностировалась с помощью стандартных психофармакологических тестов. Полученные образцы головного мозга фиксировали в 10-% забуференном формалине, изготавливали парафиновые блоки, получали серийные срезы 5-7 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином, тионином по методу Ниссля. Морфометрические параметры оценивали подсчетом удельного количества (УК) поврежденных нейронов. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием поликлональных антител к Beclin 1, визуализировали с помощью диаминобензидина. Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Excel и Statistica 6.0. Данные представляли в виде медианы с указанием интерквартильного интервала [Q1;Q3], где Q1 – 25 перцентиль, Q3 – 75 перцентиль. Различия между группами оценивали по критерию Манна-Уитни и считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты. При гистологическом исследовании гиппокампа крыс 1 группы обнаружены: резкое полнокровие сосудов, эритроцитарные стазы, очаговый диапедез. Выявлены изменения стенки сосудов микроциркуляторного русла в виде плазматического пропитывания и фибриноидных некрозов. Обнаружен выраженный перичеселлюлярный и периваскулярный отек и формирование изменений по типу спонгиоза. В зоне СА1 пирамидного слоя гиппокампа животных 1 группы УК поврежденных нейронов составил 74,6% [69,3;81,5], что на 59,7% больше по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$). В зоне СА2 показатель УК составил в 1 группе 74,8% [55,0;84,81], что на 68% больше по сравнению с контролем ($p<0,05$). В зоне СА3 УК поврежденных нейронов увеличился по сравнению с контролем на 63,3% ($p<0,05$), составив, таким образом, для 1 группы 76,8% [72,5;79,9]. В зоне СА4 пирамидного слоя УК поврежденных нейронов составил 71% [58,83;81,17], что на 66,6% больше по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$). При иммуногистохимическом исследовании пирамидного слоя гиппокампа крыс 1 группы выявлено увеличение удельной площади (УП) иммунопозитивного материала (ИПМ) в зонах СА1 и СА2. В зоне СА1 показатель УП ИПМ увеличился на 1,02% по сравнению с контролем ($p<0,05$). В зоне СА2 показатель УП ИПМ увеличился на 0,64% ($p<0,05$). Иммуногистохимическое исследование зон СА3 и СА4 досто-

верных отличий от группы контроля не выявило, при этом в зоне СА3 обнаружена тенденция к усилению экспрессии ($0,05 < p < 0,06$).

Выводы. Таким образом, совокупность микроциркуляторных расстройств, увеличение числа гиперхромных и сморщенных нейронов пирамидного слоя гиппокампа свидетельствует о выраженном клеточном повреждении с дальнейшей возможной гибелью нейронов. Усиление экспрессии Beclin 1 в зонах СА1 и СА2 свидетельствует об активации как процессов аутофагии, направленных на выживаемость клеток в условиях гипоксии, так и на механизмы клеточной гибели путем участия Beclin 1 в регуляции апоптоза и аутофагической гибели.

Литература:

1. Jin Y., Lin Y., Feng J. et al. Moderate hypothermia significantly decreases hippocampal cell death involving autophagy pathway after moderate traumatic brain injury // J. Neurotrauma. – 2015. – №32. – P. 1090-1100.
2. Kang R., Zeh HJ., Lotze MT., Tang D. The Beclin-1 network regulates autophagy and apoptosis // Cell Death and Dif. – 2011. – №18. – P. 571-580.
3. Sun T, Li X, Zhang P. et al. Acetylation of Beclin 1 inhibits autophagosome maturation and promotes tumour growth // Nat. Commun. – 2015. – №6. – P. 7215.
4. O'Brien C.E., Bonanno L., Zhang H. et al. Beclin 1 regulates neuronal transforming growth factor- β signaling by mediating recycling of the type I receptor ALK5 // Mol. Neurodegeneration. – 2015. – №10. – P. 69.

И.Ю. Мирошниченко

Экспериментальное изучение морфологических признаков диабетической энцефалопатии

*Южно-Уральский государственный медицинский университет,
Челябинск, Россия*

I.Yu. Miroshnichenko

Experimental study of morphological symptoms of diabetic encephalopathy

Актуальность. Длительное течение сахарного диабета (СД) связано с закономерным развитием поздних неврологических осложнений этого заболевания. Главным образом, это касается диабетической энцефалопатии (ДЭ), начальные стадии которой проявляются легким или умеренным когнитивным дефицитом и субклиническими аффективными расстройствами. Вместе с тем, прогрессирование ДЭ связано с нарастающим снижением качества жизни и высоким риском развития деменции. Не взирая на известную многофакторность патогенеза ДЭ, исходной причиной формирования данного синдрома является хроническая гипергликемия. Этот же фактор играет решающую роль в эскалации проявлений ДЭ при многолетнем течении СД. Недостаточно изученной остается начальная динамика морфологических и поведенческих

признаков ДЭ. В связи с этим **целью данного исследования** явилось изучение клеточного состава кортикальных и диэнцефальных структур мозга на начальных этапах аллоксанового диабета у крыс в сопоставлении с расстройствами мотивированного поведения, условнорефлекторного обучения и выраженностью гипергликемии у больных животных.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 70 крысах. СД моделировали путем внутривентрикулярного введения аллоксана тригидрата дозе 200 мг/кг. Крысы контрольной группы получали эквивалентное количество 0,9% раствора NaCl. Изучаемые параметры регистрировали через 96 часов после введения аллоксана после индукции СД, а именно исследование поведения животных в «открытом поле» по показателям локомоции, исследовательско-ориентировочной активности, груминга и дефекации, считающейся вегетативным эквивалентом тревоги у крыс. Примененный подход позволяет получить интегральную характеристику аффективного статуса грызунов, активность которых в «открытом поле» формируется как равнодействующая двух противоположных тенденций - страха незнакомого пространства и мотивации к его исследованию. По завершении тестирования крыс в «открытом поле» оценивали их способность к выработке условного рефлекса активного избегания (УРАИ). О качестве формирования УРАИ судили по кратности снижения латентного периода избегания через 24 часа после обучающей попытки. Затем животных наркотизировали, декапитировали, получали кровь и извлекали головной мозг для последующего гистологического изучения. Выраженность расстройств углеводного обмена оценивали по показателям гликемии натощак. Образцы головного мозга выдерживали в 10% растворе нейтрального формалина не менее двух недель и разделяли на отделы по методу Glovinsky and Iversen. Учитывая особую уязвимость ростральных и диэнцефальных структур мозга при СД, для гистологического анализа отбирали участки первичной соматосенсорной коры (слои I-III и IV-VI поля Par 1), гиппокамп (поле СА 1) и гипоталамус (паравентрикулярное ядро). Гистологические срезы окрашивали по методу Ниссля для выявления нейронов, по методике Снесарева для выявления астроцитов и по технологии Мийагавы в модификации Александровой для выявления олигодендроцитов и микроглиоцитов, для выявления липофусцина применяли окраску по Шморлю. Морфометрический анализ гистологических препаратов проводился на микроскопе Leica DMRXA с помощью компьютерной программы ImageScope (Германия) в 10 полях зрения. Количество клеток всех изученных популяций рассчитывали на 1 мм² среза. В процессе морфометрического анализа нейронов дополнительно учитывали процентную долю площади клеток, занимаемую тигроидной зернистостью, а также определяли процентное содержание клеток, содержащих липофусцин. При изучении структур гиппокампа помимо подсчета общего количества нейронов, проводилась регистрация их морфологически зрелых форм (пирамидных и корзинчатых клеток) с последующим исчислением их процентного и абсолютного содержания.

Статистический анализ выполнен с использованием пакета прикладных компьютерных программ SPSS-17.0.

Результаты и их обсуждения. В результате проведенного исследования было установлено, что через 96 часов после введения аллоксана у крыс развивалось более чем 3-кратное нарастание гликемии. Данный факт отражает формирование IV (заключительной) фазы гликемического ответа на инъекцию диабетогенной дозы аллоксана, вызывающего некротическую деструкцию β -эндокриноцитов и абсолютный дефицит инсулина в пределах 12-48 часов после введения. Развитие гипергликемии через 4 суток после индукции СД сопровождалось неравномерным снижением содержания нейронов и глиоцитов в изученных структурах головного мозга крыс. Через 96 после введения аллоксана убыль нейронов отмечалась только в палеокортексе. Это касалось поля СА1 гиппокампа, где было зарегистрировано уменьшение процентного содержания пирамидных и корзинчатых нейронов на фоне одновременного нарастания доли липофусцинсодержащих нейроцитов, иллюстрирующих роль оксидативного стресса (ОС) в поражении «древней коры» при СД. Данный факт укладывается в рамки представлений, относящих нейроны поля СА1 к числу первоочередных мишеней ОС вообще, и СД-ассоциированного ОС в частности. Содержание глиальных клеток снижалось преимущественно в неокортексе (поле Раг 1 соматосенсорной коры.). Была отмечена наиболее выраженная убыль олигодендроцитов, число которых оказалось сниженным как в поверхностных (I – III), так и в глубоких (IV – VI) слоях соматосенсорной коры крыс с аллоксановым диабетом. Количество астроцитов и микроглиоцитов снижалось только в поверхностных слоях неокортекса. Содержание нейронов и глиоцитов в паравентрикулярном ядре (ПВЯ) гипоталамуса крыс с аллоксановым диабетом не изменилось в сравнении с интактными животными.

Морфологические изменения кортикальных отделов головного мозга крыс с аллоксановым диабетом сопровождались значительными нарушениям поведения и условнорефлекторного обучения. Было зафиксировано, что через 96 часов после введения аллоксана у животных существенно (на 57-64%) снижалась двигательная и исследовательско-ориентировочная активность в «открытом поле» с одновременным уменьшением груминга и качества формирования УРАИ (в 1,8 раза в обоих случаях). Кроме того, у больных крыс наблюдалось небольшое (на 8%), но статистически значимое нарастание показателя анксиогенной дефекации. Проведенный корреляционный анализ продемонстрировал обратную зависимость между анксиогенной дефекацией и числом олигодендроцитов I – III слоев неокортекса ($r_s = -0,744$; $p = 0,002$), а также между процентным содержанием корзинчатых нейронов поля СА1 и всеми видами активности в «открытом поле» ($r_s = -0,494 - -0,733$; $p = 0,044 - 0,001$). Не исключено, что снижение аффективного напряжения и поведенческой активности больных животных способствует увеличению устойчивости головного мозга к гипоксии и за счет этого препятствует повреждению терминально дифференцированных клеток нейроэктодермального происхождения. Справедливость этого предположения иллюстрируется экспериментальными данными о росте устойчивости животных к острой гипоксической гипоксии в раннем периоде аллоксанового диабета (Волчегорский И.А. и соавт., 1998). Вполне возможно, что аллоксан-индуцированное воспалительное по-

поражение поджелудочной железы и печени вызывает системный воспалительный ответ (СВО), сопровождающийся чрезмерной мобилизацией флогогенного потенциала микроглиоцитов и астроцитов с последующей гибелью этих клеток. Важно подчеркнуть существенное отягощение СВО у животных за счет выраженных метаболических расстройств, обусловленных недостаточностью инсулина. Об этом свидетельствует гибель 25% животных (12 из 48 крыс) в острый период экспериментального диабета (с 72 до 96 часа после введения аллоксана). Развивающийся на таком фоне ОС вызывает диффузное поражение олигодендроглии, нарушает функциональное состояние нейронов и подавляет нейрогенез в гиппокампе. Негативные последствия активации глии в остром периоде аллоксанового диабета иллюстрируются отрицательной зависимостью качества формирования УРАИ от числа астроцитов в I – III слоях поля Par 1 соматосенсорной коры ($r_s = -0,466$; $P = 0,025$). Полученные данные хорошо согласуются с представлениями о роли ОС и глиальной дисфункции в патогенезе диабетических нейропатий.

Выводы. Установленные изменения клеточного состава кортикальных структур головного мозга, сопровождающиеся нарушениями поведения и условнорефлекторного обучения на фоне выраженной гипергликемии вполне укладываются в рамки представлений о морфологических признаках ДЭ.

Н.М. Тодосенко, К.А. Юрова, О.Г. Хазиахматова, Л.С. Литвинова

Эффекты синтетических глюкокортикоидов на процессы созревания и дифференцировки $CD4^+CD45RO^+$ Т-клеток при ревматоидном артрите

Балтийский федеральный университет имени И. Канта, Калининград, Россия

N.M. Todosenko, K.A. Yurova, O.G. Khaziahmatova, L.S. Litvinova

Effects of synthetic glucocorticoids on the maturation and differentiation of $CD4^+CD45RO^+$ T cells in rheumatoid arthritis

Ведение. Ревматоидный артрит (РА) – мультисистемное аутоиммунное заболевание [1], основными участниками которого являются аутореактивные, терминально-дифференцированные $CD4^+$ Т-лимфоциты [2, 3], рециркулирующие через синовиальную оболочку суставов и характеризующиеся высоким провоспалительным потенциалом, а также «поломками» в репликативном механизме [1, 3]. Глюкокортикоидная (ГК) терапия широко применяется для снижения воспалительной реакции организма при РА [4]. Однако данные об эффектах ГК, направленных на модуляцию процессов клеточного гомеостаза Т-лимфоцитов, в норме и при РА, носят весьма ограниченный характер.

Цель исследования. Оценить в системе *in vitro* влияние синтетических глюкокортикоидов (дексаметазона, Декс и метилпреднизолонa, МП) на клеточно-молекулярные реакции Т-клеток, ассоциированные с процессами их созревания и дифференцировки в норме и при РА.

Материалы и методы. В исследование были включены 20 условно здоровых доноров и 50 больных РА. Культуры $CD3^+CD45RO^+$ Т-клеток получали из мононуклеаров методом иммуномагнитной сепарации с использованием технологии MACS® (MidiMACS Separator, LS Columns, MiltenyiBiotec, Германия) и моноклональных антител к CD14 и CD45RO с парамагнитными частицами (MicroBeads human, Miltenyi Biotec, Германия). $CD3^+CD45RO^+$ -клетки (10^6 кл./мл) культивировали в 48-луночной планшете в бессывороточной среде Искова (Sigma, США), в присутствии синтетического ГК (МП или Декс) (Orion Pharma, Россия) в разных концентрациях или без него (контроль) с добавлением антибиотитиновых частиц, конъюгированных с антителами к CD2, CD3, CD28 (T-Cell Activation/Expansion Kit human, Miltenyi Biotec, Германия) (далее Ас/Ехр) при 37 °С во влажной атмосфере, 5% CO_2 , 48 ч. Варианты культивирования: 1) среда без добавок (контроль); 2) среда, содержащая Ас/Ехр (0.5×10^6 MACSiBead™ частиц); 3) среда, содержащая Ас/Ехр и Декс (2; 8; 16; 32; 64 мг) / МП (10.6; 21.3; 42.6; 85.3; 170.7 мг). Уровень IFN-у в супернатантах культур оценивали методом иммуноферментного анализа, используя наборы реактивов («Вектор-Бест», Россия) на приборе Microplate Reader 680 (Bio-Rad, США). Число клеток, несущих поверхностные маркеры (CD45RO, CD3, CD4, CD28), оценивали методом проточной цитометрии на приборе MACSQuant (Miltenyi Biotec, Германия). Для определения уровней относительной экспрессии гена *hTERT* проводили мультиплексный ПЦР анализ, согласно ранее представленному протоколу [5].

Обсуждение результатов. Инкубация $CD3^+CD45RO^+$ Т-клеток с Ас/Ехр способствовала росту содержания IFN-у в супернатантах культур, тогда как число $CD4^+CD28^+$ Т-лимфоцитов и уровень экспрессии гена *hTERT* в Т-клетках значительно снижались в обеих группах. Добавление ГК приводило к одностороннему, дозозависимому уменьшению числа $CD4^+CD28^+$ клеток в TCR-активированных культурах контрольной группы (Декс: $r^2=0,798$, $p<0.05$; МП: $r^2=0,745$, $p<0.05$) и у больных РА (Декс: $r^2=0,596$, $p<0.05$; МП: $r^2=0,727$, $p<0.05$). ГК значительно подавляли секрецию провоспалительного фактора IFN-у TCR-активированными культурами $CD3^+CD45RO^+$ Т-клеток, полученными у здоровых доноров и больных РА (по сравнению с пробами только с Ас/Ехр). Эффекты ГК на Т-клетки больных РА носили дозозависимый характер (Декс: $r^2=0,468$, $p<0.05$), (МП: $r^2=0,829$, $p<0.05$). ГК дозозависимым образом также снижали уровень экспрессии мРНК гена *hTERT* в TCR-активированных Т-клетках (у здоровых доноров: МП $r^2=0,856$, $p<0.05$; у больных РА: Декс $r^2=0,897$, $p<0.05$; МП $r^2=0,849$, $p<0.05$). Обнаруженные нами корреляционные связи между количеством $CD4^+CD28^+$ Т-клеток и содержанием IFN-у в супернатантах клеточных культур (Декс, все исследуемые дозы: $r=0,914$, $p<0.05$; МП: 10.6-42.6 мг: $r=0,914$, $p<0.05$) у пациентов с РА свидетельствуют о высокой секреторной активности этой популяции клеток. Тогда как негативные ассоциации между содержанием $CD4^+CD28^+$ Т-клеток и уровнем экспрессии гена *hTERT* (Декс, все исследуемые дозы: $r=-0,820$, $p<0.05$; МП: 21.3-170.7 мг: $r=0,667$, $p<0.05$) в Т-лимфоцитах больных РА демонстрируют признаки их репликативного истощения.

Выводы. Мы предполагаем, что ГК способны стимулировать процесс созревания $CD4^+CD45RO^+$ Т-клеток, ассоциированный с потерей экспрессии поверхностной молекулы коактивации CD28, снижением уровня экспрессии гена *hTERT*, косвенно отражающего репликативный потенциал клеток и приобретением этими клетками цитотоксических свойств (продукция провоспалительных медиаторов, гранзимовые и перфориновые гранулы [3]). Вероятно, популяция $CD3^+CD4^+CD28^-$ Т-клеток является ключевым участником в патогенезе РА, ускоренно приобретающая свой негативный потенциал на фоне ГК терапии, способствуя прогрессии заболевания, в частности, за счет мощного выброса провоспалительных факторов.

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности («дорожной карты») и субсидии «Организация проведения научных исследований 20.4986.2017/6.7» Балтийского федерального университета им. Иммануила Канта.

Литература:

1. Luterek-Puszyńska K., Malinowski D., Paradowska-Gorycka A. et al. CD28, CTLA-4 and CCL5 gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis // Clin Rheumatol. – 2017. – 36(5). – P. 1129-1135.
2. Thewissen M., Linsen L., Somers V. et al. Premature immunosenescence in rheumatoid arthritis and multiple sclerosis patients // Ann. N.-Y. Acad. Sci. – 2005. – 1051. – P. 255-262.
3. Spreafico R., Rossetti M., Whitaker J.W. et al. Epipolymorphisms associated with the clinical outcome of autoimmune arthritis affect CD4+ T cell activation pathways // PNAS USA. – 2016. – 113(48). – P. 13845-13850.
4. Baschant U., Tuckermann J. The role of the glucocorticoid receptor in inflammation and immunity // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2010. – 120(2-3). – P. 69-75.
5. Gutsol A.A., Sokhonevich N.A., Yurova K.A. et al. Dose-dependent effects of dexamethasone on functional activity of T-lymphocytes different grade of differentiation // Mol. Biol. (Mosk). – 2015. – 49(1). – P. 149-157.

А.В. Федосеев¹, А.С. Инютин¹, А.Д. Жаныгулов¹, С.Ю. Муравьев¹,
И.Ю. Виноградов^{1,2}, И.И. Виноградов^{1,2}, Е.В. Стрекалов¹

Выбор способа ушивания белой линии живота

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (1)*

ГБУ РО Областной клинический онкологический диспансер, Рязань, Россия (2)

A.V. Fedoseev, A.S. Inutin, A.D. Zhanygulov, S.U. Muraviev,
I.Yu. Vinogradov, I.I. Vinogradov, E.V. Strekalov

Selection of the method of suturing the linea alba

Послеоперационные вентральные грыжи (ПОВГ) образуются с частотой 7–24% случаев после операций, выполняемых через срединный лапаро-

томный доступ. По нашим данным ПОГВ образуются в течение первого года у 17% больных. Необходимым направлением профилактики развития ПОВГ является использование надёжной техники ушивания тканей передней брюшной стенки после лапаротомии.

Среди классических требований выделяют необходимость прочного соединения краев дефекта брюшной стенки с минимальными натяжением и травматизацией прямых мышц живота и окружающей подкожной жировой клетчатки. Но, наличие интраабдоминальной гипертензии в послеоперационном периоде, в особенности после экстренных операций, диктует то, что швы должны противостоять подобной нагрузке, а также напряжению мышц передней брюшной стенки на протяжении всего периода раневого процесса, вплоть до окончания реорганизации рубца.

Цель исследования: экспериментально оценить характеристики различных способов ушивания белой линии живота.

Материалы и методы. Исследование проведено на 36 половозрелых белых крысах. Лабораторным животным проводилась лапаротомия, после чего апоневроз ушивался отдельным, непрерывным швом и непрерывным швом с расположением стежков на разных уровнях. На 7, 14, 60 суток тензиометрически исследовались участки ткани вместе со швами, с последующим гистологическим исследованием. Оценивалась площадь клеточного инфильтрата, площадь очагов некроза, площадь новообразованных сосудов, активность ангиогенеза, степень зрелости грануляционной ткани.

Результаты и обсуждение. Проведённое тензиометрическое исследование регенератов ушитого апоневроза крыс показало, что на 7 суток прочность отдельного узлового шва составила от 2,7 Н до 5,8 Н, непрерывного шва от 4,2 Н до 8,3 Н, непрерывного шва с расположением стежков на разных уровнях от 5,4 Н до 9,1 Н. К 14 суткам наблюдалось увеличение прочности всех исследуемых швов. Показатель прочности отдельного узлового шва был от 11,7 Н до 16,6 Н, в случае непрерывного шва от 13,7 Н до 20,5 Н, непрерывного с расположением стежков на разных уровнях от 19,1 Н до 24,5 Н. На 60 суток прочность отдельного узлового шва была от 31,3 Н до 50,2 Н, в случае обвивного шва от 44,1 Н до 68,6, непрерывного шва с расположением стежков на разных уровнях от 45,2 Н до 67,3 Н.

Таким образом, наименьшая прочность была у отдельного узлового шва во все сроки наблюдения. Непрерывный шов с расположением стежков на разных уровнях превосходил по прочности классический непрерывный шов при их анализе на 7 и 14 суток на 16% и 19% соответственно. К 60 суткам прочностные характеристики непрерывного и непрерывного шва с расположением стежков на разных уровнях были практически одинаковыми.

При оценке эластичности швов, последняя находилась в обратной зависимости от прочности, то есть с увеличением прочности эластичность уменьшалась. При этом наибольшая эластичность была в случае отдельного шва, а наименьшая при растяжении непрерывного шва с расположением стежков на разных уровнях.

При гистологическом исследовании на 7 и 14 сутки площадь клеточного инфильтрата достоверно была больше в случае отдельного шва.

В группах с непрерывными швами в случае расположения стежков на разных уровнях инфильтрация была меньше, чем при обычном непрерывном шве. Очаги некроза отсутствовали в группах с непрерывным швом и присутствовали небольшой площадью или отсутствовали в случае с отдельным швом. Неоангиогенез с большей площадью новообразованных сосудов преобладал в группе с непрерывным швом.

Степень развития грануляционной ткани на 7 сутки была выше при непрерывном шве с расположением стежков на разных уровнях, а наименьшая степень в случае отдельного шва. На 14 сутки достоверных различий этого критерия в группах отмечено не было. На 60 сутки во всех группах сформировался зрелый соединительнотканый рубец, с отсутствием очагов некрозов, инфильтрации, хотя присутствовал факт наличия олеогранулёмы в случае с отдельным швом.

Выводы: непрерывный шов, по сравнению с отдельным, не вызывает чрезмерного сдавления тканей в местах проколов апоневроза, равномерно распределяя нагрузку по всей длине шва, что проявляется в меньшей инфильтрации тканей, более выраженным неоангиогенезом и формированием зрелой грануляционной ткани. Рубцовая ткань, образованная после ушивания апоневроза отдельными узловыми швами, уступает непрерывным способам ушивания по прочности от 20% до 27%, отличается более высокой эластичностью, что является одним из факторов, способствующих образованию послеоперационных вентральных грыж. Непрерывный шов с расположением стежков на разных уровнях, в отличие от классического непрерывного ушивания способствует более равномерному распределению нагрузки на края апоневроза, снижая риск его разволокнения, тем самым повышая его прочность до 67,3Н и снижая эластичность до 61,2%. Непрерывный шов с расположением стежков на разных уровнях, наложенный на апоневроз человека, прочнее на 8,5% классического непрерывного шва и на 20,6% отдельного узлового шва.

С.В. Харченко

**Изменения морфогенеза ветвления как фактора нарушения
развития легких зародышей крыс при внутриутробном влиянии
эналаприла и нифедипина**

*Медицинская академия имени С.И. Георгиевского
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»,
Симферополь, Крым, Россия*

S.V. Kharchenko

Changes of the branching morphogenesis as a factor of rats lung developmental disorders under intrauterine influence of enalapril and nifedipine

Формирование древоподобных структур через разветвление эпителиальных трубочек в течение эмбриогенеза известно как морфогенез ветвления, яв-

ляющийся фундаментальным для развития легких процессом и приводящий к последовательному появлению воздухоносных путей и респираторного отдела [1, 2]. Отечественная и зарубежная литература подробно освещает вопросы созревания бронхиального дерева и гестационных норм респираторного тракта и подтверждает, что важнейшим проявлением гипоплазии легких является редукция числа генераций бронхов, что в значительной мере влияет на жизнеспособность новорожденных [3, 4]. Уже определены и изучены различные причины, приводящие к аномалиям развития легких, но влияние фармакологических средств, в том числе гипотензивных, остается малоизвестным.

Целью нашего исследования явилось выявление и анализ морфологических особенностей органогенеза легких эмбрионов и плодов крыс, развитие которых протекало в условиях влияния эналаприла и нифедипина, вводимого беременным самкам.

Материал и методы. Изучены легкие эмбрионов и плодов самок белых беспородных крыс, полученных в трех сериях эксперимента в возрасте с 12-х по 22-е сутки нормальной беременности и при беременности с применением терапевтических доз эналаприла и нифедипина. Полученный материал был фиксирован в 10% формалине, из него были изготовлены серийные парафиновые срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение. Морфология легких зародышей крыс, развивавшихся под влиянием и эналаприла и нифедипина в период с 12 по 16 сутки эмбриогенеза, соответствует норме. Первые изменения в легких появляются на 17-е сутки пренатального онтогенеза крысы. Влияние эналаприла проявляется в отсутствии закладок бронхов 6-го порядка ветвления и недоразвитии бронхов 5-го порядка, при увеличенной ширине просветов имеющихся генераций. Морфологически воздействие нифедипина приводит к более выраженной редукции числа ветвей бронхиального дерева, так как в этом возрасте отсутствуют бронхи 4-го порядка ветвления. Описанные изменения сопровождаются нарушением упорядоченного расположения мезенхимных клеток, лежащих вдали от бронхов и прерывистостью слоев периэпителиальной мезенхимы.

К 19-ти суточному возрасту в легких плодов крыс, которые развивались под влиянием эналаприла появляются все характерные для этого периода генерации бронхов, но при этом рост их в ширину замедлен и отстает от такового в контроле. Нифедипин в те же сроки пренатального онтогенеза также вызывает появление всех присущих этому возрасту бронхов, но еще более меньших в диаметре в сравнении с нормой.

К окончанию периода внутриутробного развития (22 суткам) в легких плодов обеих экспериментальных групп обнаружено недостаточное развитие респираторного отдела легких при полном соответствии контролю строения бронхиального дерева. Диаметр бронхов к данному возрасту достигает размеров ветвей бронхиального дерева в легких контрольной группы, но появляются альвеолярные мешочки меньших, чем в контроле, размеров. Прослойки интерстициальной ткани заметно редуцируются по сравнению с более ранним сроком развития, но выглядят толще, из-за чего капилляры, проходящих внутри перегородок, неплотно прилегают к эпителию респираторного отдела

легких. Следует отметить, что тенденция к более заметному нарушению развития легких нифедипином и более слабому эналаприлом сохраняется и на данном этапе развития.

Выводы:

1. Органогенез легких эмбрионов и плодов крыс нарушается влиянием эналаприла и нифедипина, вводимого беременным самкам.
2. Обнаруженные изменения проявляются в замедлении формирования бронхиального дерева и респираторного отдела, что является подтверждением нарушений процессов ветвления эпителия.
3. Морфологические изменения в легких эмбрионов и плодов крыс, вызванные воздействием эналаприла и нифедипина аналогичны и отличаются лишь по степени выраженности.

Литература:

1. Hogan B.L.M., Grindley J., Bellusci S. et al. Branching Morphogenesis of the Lung: New Models for a Classical Problem // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. – 1997. – №62. – P. 249-256.
2. Wellington V. Cardoso, Jining L. Regulation of early lung morphogenesis: questions, facts and controversies // Dev. – 2006. – №133. – P. 1611-1624.
3. Андреева Т.В. Обследование конечного респираторного тракта для определения соответствия легких сроку гестации в перинатальном периоде. Норма // Архив патологии. – 1994. – №2. – С. 69-63.
4. Hume R., Conner C., Gilmor M. Lung maturation. Proceedings of the Nutrition // Society. – 1996. – №55. – P. 529-542.

Н.В. Швед¹, И.Л. Плакса^{1,2}, М.О. Мавликеев³, А.А. Титова³

Патоморфологические изменения миокарда животных в модели хронической почечной недостаточности при применении малобелковой диеты

*ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 ДЗМ»,
Москва, Россия (1)*

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (2)

*ФГАОУ ВО «Казанский федеральный университет», Казань, Россия (3)
(nika2485@yandex.ru)*

N.V. Shved., I.L. Plaksa, M.O. Mavlikeev, A.A. Titova

The pathological changes of the myocardium in the experimental model of chronic renal failure with low protein diet

Введение. Большая частота встречаемости сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с хронической почечной недостаточностью (ХПН), чем в среднем в популяции, обусловлена развитием у данной категории больных ренокардиального синдрома, при котором первичное повреждение почек со-

проводятся структурными изменениям тканей сердца. Одним из компонентов коррекции этого состояния является применение малобелковой диеты (МБД), которая обладает кардиопротективным эффектом. Однако механизм действия этой терапии изучен недостаточно, что требует проведения дополнительных исследований.

Цель. Оценить влияние малобелковой диеты на структуру миокарда животных с экспериментальной моделью ХПН.

Материалы и методы. Эксперимент был выполнен на крысах линии Вистар в модели ХПН, которая осуществлялась путём 5/6 нефрэктомии (НЭ) согласно стандартной методике. Животные были распределены на три группы: №1 – получали после операции стандартную диету (n=14); №2 – получали после операции МБД, которая включала 1,5 г белка в сутки (n=12); №3 – животные группы контроля, которым выполнялась имитация операции без нефрэктомии (n=10). На сроках 2 и 4 месяца после операции оценивалась концентрация креатинина, мочевины в сыворотке крови, а также показатель АД, после чего часть животных выводили из эксперимента для проведения морфологического исследования сердца. Гистологические срезы миокарда левого желудочка (ЛЖ) окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону. Выполнялась оценка следующих морфометрических параметров: диаметр и площадь ядра кардиомиоцита (КМЦ), количество двух- трёхъядерных КМЦ, площадь соединительной ткани.

Результаты и обсуждения. У всех животных группы №1 после операции отмечалось достоверное увеличение показателей креатинина и мочевины, что сопровождалось значительным ростом АД, среднее значение которого к 2 и 4 месяцу составило $154,5 \pm 13,1$ мм рт ст и $158,7 \pm 11,2$ мм рт ст соответственно, что было на $35 \pm 2,4$ мм рт ст и $37 \pm 3,2$ мм рт ст выше, чем у животных группы контроля ($p=0,013$; $p=0,005$). Быстрое увеличение постнагрузки вследствие артериальной гипертензии обусловило компенсаторное утолщение стенки ЛЖ на 241 ± 36 мкм ($p=0,014$) и 297 ± 41 мкм ($p=0,001$) на сроках 2 и 4 месяца соответственно при сравнении с ложнооперированными животными. На светооптическом уровне это выражалось как умеренным увеличением толщины КМЦ к 4 месяцу до $14,1 \pm 3,1$ мкм, при $12,3 \pm 2,9$ в группе контроля, так и диффузным увеличением площади соединительной ткани на 59%, что отражало фиброз стромы миокарда. Большая площадь ядер КМЦ при ХПН на обоих сроках наблюдения в совокупности с достоверным увеличением количества двух- и трёхъядерных КМЦ отражало нарастание полиплоидии клеток миокарда посредством эндомитоза, что, по-видимому, было обусловлено необходимостью компенсаторного увеличения экспрессии компонентов сократительного аппарата в условиях резкого увеличения постнагрузки. Это сопровождалось развитием признаков дистрофии КМЦ, таких как зернистость цитоплазмы, участков миоцитоллиза, а также фрагментации отдельных клеток. Вместе с изменениями паренхимы, к 4 месяцу отмечалось достоверное увеличение толщины стенки артериол миокарда с $17,6 \pm 5,1$ до $26,4 \pm 17,6$ мкм ($p=0,012$), что в совокупности с увеличением площади соединительной ткани в периваскулярном пространстве, обусловило сужение внутреннего диаметра на 29%.

Применение МБД в группе №2 обеспечило менее выраженное нарастание показателей креатинина и мочевины, чем у животных группы №1. Это сопровождалось сохранением показателя АД на сроке 2 месяца в пределах нормы, лишь с последующим его увеличением к 4 месяцу до $152 \pm 11,2$ мм рт ст, что, по-видимому, предотвратило резкое увеличение постнагрузки и, как следствие, не привело к утолщению стенки ЛЖ. На светооптическом уровне это выражалось сохранением нормальных морфометрических показателей КМЦ, что отражало отсутствие развития компенсаторной гипертрофии на обоих сроках. Отсутствие достоверных различий в количестве многоядерных КМЦ и площади ядра по сравнению с группой контроля отражало сохранение плоидности клеточных элементов паренхимы. Дистрофические изменения КМЦ были значительно менее выражены, чем у животных, получавших после нефрэктомии стандартную диету, и определялись лишь в отдельных клетках. Также применение МБД позволило предотвратить развитие фиброза стромы – площадь соединительной ткани на сроке 4 месяца была лишь на 12% больше, чем у животных группы контроля. Несмотря на увеличение толщины сосудистой стенки артериол до $29,9 \pm 7$ мкм к 4 месяцу, средний диаметр просвета достоверно не отличался от показателя в группе контроля, что может быть связано с со значительно менее выраженным периваскулярным фиброзом.

Вывод. В настоящей работе показано, что применение МБД в экспериментальной модели ХПН позволяет достоверно снизить выраженность структурных изменений миокарда, что, по-видимому, связано с коррекцией биохимических нарушений и предотвращением развития АГ.

М.Р. Экова¹, А.В. Смирнов^{1,2}, Н.В. Григорьева¹, И.Н. Тюренков¹

Особенности экспрессии маркера аутофагии beclin-1 в дорсальном отделе гиппокампа крыс при комбинированном стрессе

*ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет
Минздрава РФ, Волгоград, Россия (1)*

*ГБУ Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия (2)
(maria.ekova@mail.ru)*

M.R. Ekova, A.V. Smirnov, N.V. Grigorieva, I.N. Tyurenkov

Features of the expression of the marker of autophagy beclin-1 in the dorsal hippocampus of rats under combined stress

Актуальность. Стресс является одним из факторов риска различных нейropsychологических состояний, таких как депрессия, тревожные расстройства и деменция. Изменения в когнитивных процессах, связанных со стрессом, таких как обучение и память, а также поведенческие нарушения зависят от нейропластических механизмов в гиппокампе [1, 2]. Реализация процессов

аутофагии в гиппокампе играет важную роль при стрессе, поскольку стрессовые воздействия могут вызывать аутофагический ответ, который повышает порог индукции апоптоза, тем самым способствуя гибели нейронов [3].

Цель исследования - выявить особенности экспрессии beclin-1 в дорсальном отделе гиппокампа у 12-месячных крыс при воздействии комбинированного стресса.

Материал и методы. Данная работа носила экспериментальный характер и была выполнена на 20 нелинейных белых крысах-самцах в возрасте 12 месяцев. Первую группу составили контрольные крысы ($n=10$), вторую группу – стрессированные крысы ($n=10$). Животные подвергались комбинированному воздействию нескольких стрессорных факторов (громкий звук, вибрация, пульсирующий свет). Эвтаназию проводили гильотинным методом. Головной мозг фиксации в нейтральном забуференном 10 % формалине. Изготавливали парафиновые срезы толщиной 4 мкм. Экспрессию beclin-1 определяли иммуногистохимическим методом. В качестве первичных антител использовали антитела к beclin-1 (GeneTex, Inc; 1:100). Оценку изменений уровня экспрессии beclin-1 в CA1 и CA3 гиппокампа проводили путём определения относительной площади beclin-1 иммунореактивного материала (ИРМ) и интенсивности окрашивания в баллах от 0 до 3. Статистическую обработку проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни и представляли полученные данные в виде медианы и интерквартильного интервала.

Результаты и их обсуждение. У стрессированных крыс в возрасте 12 месяцев в пирамидном слое CA1 и CA3 дорсального отдела гиппокампа как и у контрольной группы животных преобладала слабо выраженная экспрессия beclin-1 ИРМ (1 балл) в перикарионах нейронов, однако, у отдельных животных в цитоплазме извитых сморщенных нейронов и нейронов неизменённой формы наблюдалась умеренно выраженная экспрессия beclin-1 ИРМ. Отмечалось достоверное увеличение относительной площади beclin-1 ИРМ в CA1 дорсального отдела гиппокампа на 3,6 % ($p<0,05$) по сравнению с контрольной группой животных, которое составило у стрессированных животных 8,6 (6,8-11,9) %. В CA3 достоверных различий не наблюдалось.

Обнаруженное нами у стрессированных животных увеличение относительной площади beclin-1 ИРМ в CA1 дорсального отдела гиппокампа, может свидетельствовать об активации процессов аутофагии. Процесс аутофагии индуцируется физиологическими стрессорами, такими как лишение фактора роста и голодание. Базовый уровень аутофагической активности может быть нейропротективным путем удаления нежелательных или аномальных белков в нейронах. С другой стороны, длительная аутофагия может привести к гибели клеток [4]. Необходимо отметить, что ранее у стрессированных животных нами было обнаружено увеличением удельного количества сморщенных нейронов с гиперхроматозом цитоплазмы в пирамидном слое CA1 и CA3, что свидетельствует о признаках необратимого повреждения нейронов [5].

Выводы. Таким образом, у крыс в возрасте 12 месяцев, подвергнутых воздействию комбинированного стресса, в CA1 дорсального отдела гиппокампа выявлено увеличение относительной площади beclin-1 ИРМ.

Литература:

1. Shin L. M., Liberzon I. The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders // Neuropsychopharmacology. – 2010. – №35. – P. 169-191.
2. Parashar A., Mehta V., Udayabanu M. Rutin alleviates chronic unpredictable stress-induced behavioral alterations and hippocampal damage in mice // Neurosci. Lett. – 2017. – №656. – P. 65-71.
3. Liu B., Tang J., Zhang J. et al. Autophagy activation aggravates neuronal injury in the hippocampus of vascular dementia rats // Neural. Regen. Res. – 2014. – 9(13). – P. 1288-1296.
4. Yu S. W., Baek S. H., Brennan R. T. et al. Autophagic death of adult hippocampal neural stem cells following insulin withdrawal // Stem Cells. – 2008. – 26(10). – P. 2602-2610.
5. Жаботинский Ю.М. Нормальная и патологическая морфология нейрона. – Л.: Медицина, 1965.

У.П. Эргашева

Изучение морфологических изменений печени крыс при введении циклофосфана

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет
им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия*

U.P. Ergasheva

The study of morphological changes in the liver of rats with the administration of cyclophosphane

Цель работы состояла в оценке морфологических изменений печени животных при иммуносупрессии, индуцированной введением циклофосфана.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 23 нелинейных белых крысах-самцах со средним весом 335 ± 19 г. Группа животных получила цитостатический препарат циклофосфан в дозе 100 мг/кг внутривентрально 4-кратно через 24 часа. Животных выводили из опыта в соответствии с правилами проведения экспериментов с лабораторными животными с последующим забором органов для морфологических исследований. Исследовали серийные гистологические срезы печени, окрашенные гематоксилином и эозином [1].

Результаты. При микроскопическом исследовании препаратов печени крыс были обнаружены следующие изменения. У всех крыс отмечалось расширение синусоидных капилляров. У 81% животных выявлено повышенное кровенаполнение органа и застой лизированной крови в центральных венах и синусоидных капиллярах. В 75 % случаев происходит активация клеток Купфера (клеток макрофагального ряда). Гипо- и гиперхромные ядра наблюдаются в гепатоцитах 13% крыс, а 2-ядерные - в 38% случаев. Вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов была обнаружена у 50% животных (дистрофия). У 50 % крыс имели место полиморфизм и полихроматия гепатоцитов.

Таким образом, при индуцированной иммуносупрессии наблюдается и повреждение гепатоцитов, и их компенсаторная гипертрофия, нарушение внутридольковой циркуляции, стаз крови в некоторых крупных сосудах и активация клеток макрофагального ряда [2-6].

Литература:

1. Ахматова Н.К., Ахметова М.И., Белов Г.В. др. Морфологические основы патологии. – Новосибирск, 2015.
2. Малыкина А.Е., Тройнич Я.Н., Лебединская О.В., Годовалов А.П. Действие циклофосфана на фагоцитарную активность мононуклеарных клеток периферической крови здоровых доноров // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – №1. – 74а.
3. Микуляк Н.И. Клинико-патогенетические особенности синдрома печеночно-клеточной недостаточности при цитостатической болезни // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2009. – 11(1). – С. 25-31.
4. Микуляк Н.И., Микуляк А.И., Гольдхаур С.А. Цитостатическая болезнь и перекисное окисление липидов // Вестник Российского университета дружбы народов // Медицина. – 2009. – №4. – С. 15-19.
5. Лебединская Е.А., Лебединская О.В., Годовалов А.П., Прокудин В.С. Иммуноморфологические особенности тимуса крыс на фоне введения цитостатика в эксперименте // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2016. – 12(1). – С. 12-14.
6. Лебединская Е.А., Лосева Л.Ф., Лебединская О.В., Годовалов А.П., Ахматова Н.К., Киселевский М.В. Влияние циклофосфана на уровень противовоспалительных цитокинов у мышей // Цитокины и воспаление. – 2010. – 9(4). – С. 94-95.

Д.О. Аллина

**Новые иммуногистохимические маркеры для диагностики
новообразований предстательной железы**

*ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного
профессионального образования», Москва, Россия
(allina_dasha@mail.ru)*

D.O. Allina

New immunohistochemical markers for the diagnosis of prostate neoplasms

Актуальность. Рак предстательной железы занимает второе место в структуре онкологической заболеваемости среди мужчин и пятое место в структуре онкологической смертности. Тем не менее, существует ряд диагностических трудностей, наибольшую из которых представляет дифференциальный диагноз предракового процесса – простатической интраэпителиальной неоплазии высокой степени (ВПИН) с доброкачественными и злокачественными состояниями, способными её имитировать. Рекомендованная в настоящее время панель для дифференциальной диагностики ВПИН, доброкачественных состояний и рака включает в себя три маркера – АМАСР, р63 и 34betaE12. Доброкачественные состояния характеризуются отсутствием экспрессии АМАСР и сохранением экспрессии маркеров базальных клеток (р63 и 34betaE12), ВПИН – наличием экспрессии АМАСР при сохранении маркеров базальных клеток, а аденокарцинома, в свою очередь, экспрессией АМАСР при отсутствии экспрессии маркеров базальных клеток. Однако, ведущими специалистами было показано, что около 18% аденокарцином предстательной железы характеризуются отсутствием экспрессии АМАСР, а при ряде доброкачественных состояний может наблюдаться отсутствие экспрессии маркеров базальных клеток. Такая неоднозначность используемых маркеров требует поиска дополнительных значимых маркеров для дифференциальной диагностики новообразований простаты.

Цель исследования. Цель настоящего исследования - оценка диагностической значимости экспрессии FASN, APOD, ERG в неоплазиях предстательной железы.

Материал и методы. Для исследования отобран операционный материал 99 больных раком предстательной железы, которым была выполнена радикальная простатэктомия за период с 2011 по 2012 г. Средний возраст пациентов составил 62 года (от 41 года до 76 лет). В качестве первичных антител использовались моноклональные кроличьи антитела в готовом разведении к

белку ERG, клон EP111 Flex (Dako, Дания), к белку AMACR, клон 13H4 Flex (Dako, Дания), моноклональные мышинные антитела к цитокератинам высокого молекулярного веса, клон 34betaE12 Flex (Dako, Дания), концентрированные моноклональные кроличьи антитела к APOD (Abcam, ab108191 в разведении 1:250), белку FASN (Abcam, ab22759 в разведении 1:500). В качестве системы визуализации применяли EnVision Flex (Dako, Дания). Результаты реакции экспрессии AMACR, 34betaE12 и ERG оценивали качественно. Интенсивность реакции APOD и FASN оценивалась полуколичественно как «отсутствие экспрессии», экспрессия «слабой интенсивности», «умеренной интенсивности» и «выраженная».

Результаты. Экспрессия ERG была отмечена в 46% аденокарцином и 26% в ПИН, во всех структурах – в ядерном локусе. В доброкачественных структурах экспрессии ERG не было выявлено ни в одном из случаев. Экспрессия APOD (вне зависимости от интенсивности) была отмечена в 76% случаев, и в раке, и в вПИН, в 4% – только в раке и в 7% – только в вПИН. В морфологически нормальной ткани предстательной железы лишь в 2 случаях наблюдалась умеренная экспрессия, при этом в данных структурах отсутствовала экспрессия AMACR, а при реакции с 34betaE12 отмечалась прерывистость слоя базальных клеток (данные структуры были расценены как AMACR-негативные очаги вПИН). Экспрессия FASN была отмечена в аденокарциноме и вПИН во всех исследованных образцах в мембранно-цитоплазматическом локусе (умеренной интенсивности или выраженная), при этом зависимости интенсивности окрашивания от степени дифференцировки опухоли не наблюдалось. В 3% случаев в аденокарциноме и вПИН была выявлена выраженная экспрессия FASN при отсутствии или слабой экспрессии AMACR. В 4% образцов была выявлена слабая экспрессия FASN в ПИН низкой степени и очагах железистой гиперплазии, в остальных случаях в доброкачественных поражениях и нормальных структурах экспрессия FASN отсутствовала, либо отмечалась на уровне фоновой. Высокая частота экспрессии APOD и FASN в вПИН и раке, а также отсутствие их экспрессии в подавляющем большинстве морфологически нормальных желез согласуется с данными транскриптомного анализа Ashida S. et al. (2004).

Выводы. Относительно низкая частота ERG-положительной вПИН свидетельствует в пользу ограниченной роли данного маркера в дифференциальном диагнозе между вПИН и имитирующими ее доброкачественными процессами. Высокая частота экспрессии APOD и FASN в вПИН и раке, а также отсутствие их экспрессии в подавляющем большинстве морфологически нормальных желез позволяет использовать данные белки в качестве дополнительных маркеров в дифференциальной диагностике новообразований предстательной железы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №15-04-03629 а, под руководством Г.А. Франка.

А.А. Аристархова, С.В. Бирюков, В.Г. Аристархов,
В.Н. Ермаков, Т.Р. Сергеева

Собственные наблюдения метастазирования рака почки в надпочечники

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

ГБУ РО «Городская клиническая больница №11», Рязань, Россия

A.A. Aristarkhova, S.V. Biryukov, V.G. Aristarkhov,
V.N. Ermakov, T.R. Sergeeva

Own observations of metastasis of kidney cancer in the adrenal glands

Актуальность. Метастазирование рака почки в надпочечники — актуальная проблема в настоящее время, во многом определяющаяся возросшей частотой выявления новообразований надпочечников, в том числе метастатических. В 19% случаев рака почки метастазы обнаруживаются в надпочечниках. Самой распространенной формой, по литературным и нашим данным, является светлоклеточный рак почки (СРП), который развивается из эпителия проксимальных канальцев и составляет 70 — 90% всех ее злокачественных новообразований. После рака легких и молочных желез СРП занимает 3-е место по частоте метастазирования в надпочечники.

Цель исследования. Улучшение результатов ранней диагностики и повышение эффективности лечения метастатического поражения надпочечников при раке почки.

Материалы и методы. В исследовании представлен материал по диагностике, лечению и наблюдению 25 больных с метастатическим поражением надпочечников при СРП, находившихся в отделении эндокринной хирургии, урологических отделениях ГБУ РО «Городская клиническая больница №11» г. Рязани. Собирался анамнез, жалобы; проводилось объективное обследование, ультразвуковое, рентгенологическое исследование, по необходимости КТ, МРТ. Золотым стандартом в диагностике поражения надпочечников на сегодняшний день является КТ, чувствительность метода составляет около 92%. Не утрачивает своего диагностического значения УЗИ — доступное, информативное исследование.

Все пациенты были разделены на группы в зависимости от стадии опухолевого процесса, гистологической разновидности рака почки, локализации и размера первичного очага.

Результаты и их обсуждение. За период с 2002 — 2016 гг. в ГКБ №11 выявлено 25 больных раком почки с метастазами в надпочечники. Средний возраст больных в этой группе составил 60 лет (от 42 до 76 лет), мужчины — 64%. У 15 (60%) пациентов диагностирован рак левой почки, у 9 (36%) - рак правой почки, в одном случае (4%) - рак обеих почек. Во всех случаях размер опухоли почки более 5 см диаметре. Локализация опухоли в верхнем полюсе почки наблюдалась в 63,6%. Поражение левого надпочечника выявлено у 15

больных (60%), правого у 8 (32%), обоих надпочечников — у 2 больных (8%). Частота поражения ипсилатерального надпочечника при локализации рака в левой почке объясняется особенностями венозного оттока от левого надпочечника и составляет 62,5 до 100%. При локализации опухоли в верхнем полюсе почки возникает возможность прямой инвазии в надпочечник, что рассматривается как плохой прогностический признак. В наших случаях такая локализация наблюдалась у 16 больных, что составляет 64% от общего числа пациентов с метастатическим поражением надпочечников при раке почки. Макроскопически метастатический очаг поражения надпочечника, по литературным и нашим данным, выглядит следующим образом: узел инкапсулированный, охряно-желтого цвета, чаще более 3 см в диаметре, характерны кровоизлияния.

У большинства больных характерных клинических проявлений опухолевого поражения надпочечников не было. У 4 пациентов в анамнезе нефрэктомия по поводу СРП (4, 6, 7 и 18 лет назад).

Метастазы СРП весьма устойчивы к химио- и лучевой терапии, иммунотерапии. Перечисленные виды лечения в некоторых случаях дают симптоматическое улучшение, не влияя на общую продолжительность жизни. Таким образом хирургический подход остается единственным эффективным методом лечения метастатических опухолей надпочечников. Хирургическое лечение проведено 23 больным (92%), гистологически подтвержден светлоклеточный рак; в 2 случаях в связи с распространенным метастатическим процессом от оперативного лечения было решено отказаться.

Заключение. Учитывая, что метастазирование СРП происходит и после 5 лет (по нашим и литературным данным), считаем нужным вести наблюдение этих больных и после 5-летнего срока. Проводить им не только УЗИ-исследование, но и обязательно РКТ, ЯМРТ, так как разрешающая способность последних методов очень высока.

При выполнении РКТ надпочечников необходимо измерять плотность образования с целью проведения дифференциальной диагностики.

Мы считаем, что при СРП, расположенном в верхнем полюсе который интимно соприкасается с надпочечником на этой стороне, нужно выполнять адреналэктомию, особенно если размер опухоли превышает 5 см.

При злокачественных опухолях левой почки любого размера и локализации, учитывая особенности венозного кровоснабжения почки и надпочечника, необходимо выполнять адреналэктомию слева.

Литература:

1. Баронин А.А. Первичные и метастатические опухоли надпочечников: дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2003.
2. Калинин А.П., Колосков В.В. Метастатические опухоли надпочечников: пособие для врачей. — М.: МОНИКИ, 2012. — 35 с.
3. Клименков А.А. К вопросу о хирургическом лечении опухолей надпочечников // Вопр. онкол. — 1998. — 44(5). — С. 541-546.
4. Петров С.Б., Новиков Р.В. Основные принципы операций по поводу рака почки // Практическая онкология. — 2005. — 6(3). — С. 156-161.

С.А. Блинова, Ф.М. Хамидова

Гиперплазия эндокринных клеток в легких у больных раком этого органа

*Самаркандский государственный медицинский институт,
Самарканд, Узбекистан*

S.A. Blinova, F.M. Khamidova

Hyperplasia of endocrine cells in the lungs in patients with cancer of this organ

Диффузной идиопатической гиперплазии нейроэндокринных клеток легких посвящено много работ. Её развитие связывают с наличием карциноидных опухолей, карциноидных «опухолек» (tumorlets) [1].

Цель: выявить дополнительные возможные факторы гиперплазии апудоцитов в легких у онкологических больных.

Материал и методы. Исследовали непораженные опухолевым процессом участки легкого или его долей, удаленных по поводу рака (19 больных обоего пола) в возрасте 45-73 года. Микроскопически у них установлены плоскоклеточный рак разной степени дифференцировки – 12 случаев, аденокарцинома – 5, бронхиолоальвеолярный рак – 1, злокачественный карциноид – 1. Размеры опухоли варьировали от 0,5×0,5×0,5 до 12×12×12 см. У 7 больных обнаружены метастазы в лимфатических узлах легкого. Для выявления специфичности изменений эндокринного аппарата легких изучено его состояние у 10 онкологических больных, которые умерли вследствие опухолей желудочно-кишечного тракта и кроветворной системы в возрасте 31-69 лет. Операционный и секционный материал фиксировали путем погружения кусочков в жидкость Буэна. После промывки и обезвоживания заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашены гематоксилином и эозином, а также импрегнированы азотнокислым серебром по методу Гримелиуса для выявления аргирофильных эндокринных клеток.

Результаты. Раку легких постоянно сопутствуют хронический бронхит и пневмония. Выраженная гиперплазия апудоцитов в окружающей опухоль легочной ткани и одиночные клетки постоянно определяются при наличии метастазов в лимфатические узлы корня легкого или при больших размерах опухоли. Большое число апудоцитов обнаружено у 4 из 12 больных плоскоклеточным раком и у 1 из 5 больных аденокарциномой. В этой группе наблюдений наряду с одиночными апудоцитами отмечены значительные скопления их. Клетки обычно имеют круглую или овальную форму. Они занимают иногда значительную часть бронха. Число апудоцитов достигает 50-100 и более на поперечном срезе одного бронха. Скопления круглых аргирофильных апудоцитов определяются в некоторых случаях на протяжении более 300 мкм вдоль бронха. Гиперплазия апудоцитов обнаруживается в основном в эпителии субсегментарных и междольковых бронхов. Обычно апудоциты располагаются в базальной части эпителиальной выстилки бронха и не достигают просвета дыхательных путей. Одиночные апудоциты обнаружены в 6 случаях

плоскоклеточного рака и в 3 случаях аденокарциномы. Они встречаются в эпителии субсегментарных, междольковых, реже внутридольковых бронхов или в стенке альвеолярных ходов. В некоторых случаях на поперечном срезе бронха видны 3-4 аргирофильных апудоцита. В 3 случаях (2 – плоскоклеточный рак и 1 – аденокарцинома) апудоциты применяемыми методами не были выявлены. В легких онкологических больных с внелегочной локализацией опухоли апудоциты определяются очень редко.

Известно, что апудоциты среди клеток эмбрионального эпителия формирующейся трахеобронхиальной системы первыми созревают и начинают функционировать, вырабатывая разнообразные биологически активные вещества, в т.ч. пептидной природы. Вблизи мест локализации легочных эндокриноцитов отмечено увеличение числа пролиферирующих клеток эпителия и мезенхимы [2]. Кроме того, легочные нейроэндокринные клетки могут иметь ключевое значение для ниш стволовых клеток легких [3]. Таким образом, усиление опухолевого процесса, характеризующееся большими размерами опухоли и наличием метастазов, сопровождается, как правило, выраженной гиперплазией легочных апудоцитов.

Литература:

1. Marchevsky A.M., Wirtschafter E., Walts A.E. The spectrum of changes in adults with multifocal pulmonary neuroendocrine proliferations: what is the minimum set of pathologic criteria to diagnose DIPNECH? // Hum. Pathol. – 2015. – 46(2). – P. 176-181.
2. King K.A., Torday J.S., Sunday M.E. Bombesin and [Leu8]phyllostin promote fetal mouse lung branching morphogenesis via a receptor-mediated mechanism // PNAS USA. – 1995. – №92. – P. 4357-4361.
3. Linnoila R.I. Functional facets of the pulmonary neuroendocrine system // Laboratory Investigation. – 2006. – №86. – P. 425-444.

О.В. Большакова

Ультраструктура аденогипофиза при интоксикации свинцом и коррекции изменений α -токоферолом

*ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»,
Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, Симферополь, Россия*

O.V. Bolshakova

Ultrastructure of adenohypophysis under lead intoxication and correction of changes with α -tocopherol

Актуальность. Охрана здоровья населения в настоящее время является одной из наиболее актуальных проблем. Антропогенное загрязнение окружающей среды солями тяжёлых металлов, среди которых приоритетное место занимают соединения свинца, продолжает прогрессивно нарастать. Эффекты

общетоксического воздействия свинца на организм выделены как техногенные заболевания и формируют нозологическую группу микроэлементозов [1, 2]. Антиоксиданты, подавляя избыточную перексидацию в тканях, влияют на сохранение структуры мембран и способствуют нормализации метаболизма, что обосновывает их использование в профилактике и терапии заболеваний, связанных с хроническим действием ксенобиотиков [3, 4].

Цель исследования: установить характер и степень защитного влияния на гипофиз α -токоферола в условиях хронической свинцовой интоксикации.

Материал и методы. Исследования проведены на мышах линии BALB/с. Экспериментальная группа наряду с введением водного раствора ацетата свинца получала перорально α -токоферол в дозе 3 мг/кг массы тела в течение 60 суток. Ультратонкие срезы контрастировали по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе ПЭМ-125. Морфометрические исследования проводили с использованием программы «Видеотест-Морфология».

Результаты и их обсуждение. При интоксикации свинцом и коррекции изменений α -токоферолом наблюдается лучшая сохранность структуры передней доли гипофиза по сравнению с интоксикацией без применения препарата. Вокруг сосудов формируется прослойка соединительной ткани, которая образована циркулярно ориентированными скоплениями волокон неравномерной толщины. Вблизи эндотелиоцитов увеличивается количество фибробластов. В перикапиллярном пространстве эндокриноциты формируют многочисленные ветвящиеся выросты. В области межклеточных контактов аденоцитов выявляются расширенные межклеточные пространства. Число десмосом между соседними аденоцитами уменьшается.

Соматотропоциты имеют хорошо сохраненную ультраструктуру, в них развиты все компоненты белок-синтезирующего аппарата клетки. Значительная площадь, занимаемая ядрышками, характерное прилегание ядрышек к кариолемме, хорошее развитие гранулярной эндоплазматической сети, а также большое содержание полисом в гиалоплазме определяют повышение гормонсодержащих гранул в цитоплазме соматотропоцитов.

В этот период наиболее выраженное защитное влияние α -токоферол оказывает на гонадотропоциты. Площадь митохондрий возрастает в 3,07 раза по сравнению с действием свинца и в 1,75 раз по сравнению с контролем. Степень вакуолизации цитоплазмы снижается в 10,8 раза. С одной стороны, это может свидетельствовать о выраженном протекторном эффекте токоферола, а с другой стороны, видимо, отражает замедленную утилизацию гормона из гонадотропоцитов в результате формирования толстых прослоек соединительной ткани. Морфологические признаки подразделения гонадотропоцитов на темные и светлые клетки, которые по особенностям морфологии отражают различную степень функциональной и биосинтетической активности клеток, очень хорошо выражены. Увеличение числа гонадотропоцитов и преобладание светлых клеток свидетельствует о возрастной активации аденоцитов этого типа.

Выводы. Применение α -токоферола при хронической свинцовой интоксикации оказывает умеренный корригирующий эффект. В аденоцитах гипофиза увеличивается количество гормонсодержащих гранул и снижается ва-

куолизация цитоплазмы. Наиболее выраженное защитное действие препарат оказывает на ультраструктуру гонадотропоцитов. Вокруг сосудов начинает формироваться утолщенная прослойка соединительной ткани, а между аденоцитами образуются расширенные пространства с образованием значительного числа микроворсинок на их свободной поверхности.

Литература:

1. Henretig F. Lead poisoning prevention, not chelation (commentary) // Clin. Toxicol. – 2001. – 39(7). – P. 659-660.
2. Kashirina N.K., Rogozina O.V. Ultrastructural changes of adenohypophysis somatotrophs with the age // Modern scientific research. – 2006. – №13. – P. 102-104.
3. Moore M. R. Haematological effects of lead // Sci. Total. Environ. – 2008. – 71(3). – P. 419-431.
4. Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress // Curr. Med. Chem. – 2005. – 12(10). – P. 116-120.

О.В. Выборнова, М.В. Шомова, И.Ю. Виноградов

Значение топоизомеразы IIa в плане прогноза результатов лечения у больных раком молочной железы

ГБУ РО «Областной клинический онкологический диспансер», Рязань, Россия

O.V. Vybornova, M.V. Shomova, I.Yu. Vinogradov

The importance of topoisomerase IIa in the prognostic results of treatment in patients with breast cancer

Ген топоизомеразы II локализуется на хромосоме 17q12, близко к гену HER2. Есть данные о том, что *in vitro* гиперэкспрессия топоизомеразы коррелирует с повышенной чувствительностью к антрациклинам. Корреляция экспрессии топоизомеразы с известными прогностическими и предсказывающими факторами, позволила предположить, что этот фактор также может иметь самостоятельное значение в прогнозе заболевания у больных раком молочной железы. Однако все приведенные исследования пока не дают убедительных оснований для использования определения топоизомеразы в клинической практике.

Целью нашего исследования является изучение корреляции топоизомеразы IIa с другими биологическими параметрами опухоли и непосредственными результатами лечения в виде терапевтического патоморфоза опухоли.

Материал и методы. Материалом нашего исследования стали истории болезни 26 пациенток Her2 позитивным раком молочной железы, получавшим комплексное лечение в ГБУ РО ОКОД с 2011 по 2013 гг. У 20 (76,9%) больных был диагностирован местно-распространенный рак молочной железы, в 6 случаях опухоли были операбельными. Всем пациенткам до начала лечения была выполнена трепан-биопсия опухоли. В полученных образцах были изучены уровни рецепторов стероидных гормонов, Her-2 статус, индекс

пролиферативной активности опухоли (Ki-67), а также экспрессия топоизомеразы IIα. На предоперационном этапе все пациентки получили 2-6 курсов неоадьювантной химиотерапии по схеме FAC или AC. В 5 случаях была также проведена предоперационная лучевая терапия. После завершения предоперационного лечения была выполнена операция в объеме радикальной мастэктомии или радикальной резекции молочной железы. В послеоперационном периоде больные получали адьювантную химиотерапию до 6 курсов, по показаниям - лучевую терапию и гормонотерапию (при наличии позитивного рецепторного статуса опухоли). Уровень лекарственного патоморфоза в опухоли изучался по методике Лавниковой Г.А, 1976.

Результаты. Экспрессия топоизомеразы IIα (TOP2α) была выявлена у 13 больных, у 13 пациенток экспрессии выявлено не было. Мы изучили биологические характеристики опухолей в обеих группах больных. Так в группе TOP2α позитивных больных рецептор-позитивный статус опухоли отмечен у 7 человек 53 % случаев, при отсутствии экспрессии топоизомеразы IIα количество рецептор-позитивных опухолей - 46 %. Мы также изучили зависимость пролиферативной активности опухоли по среднему уровню индекса пролиферации Ki 67 от уровня экспрессии топоизомеразы IIα. Группа TOP2α позитивных больных не отличалась по уровню пролиферативной активности (19%) от группы пациенток с отсутствием экспрессии данного гена (23%). Однако следует отметить, что данный показатель определен не у всех пациенток.

Обсуждение. Основным показателем эффективности проводимой неоадьювантной химиотерапии является степень лекарственного патоморфоза в опухоли. В группе больных с экспрессией TOP IIα лечебный патоморфоз 3 и 4 степени был отмечен у 10 человек (76,9%), при этом патоморфоз 4 степени отмечен у 1 пациентки (7,6 %). При отсутствии экспрессии данного гена 3 степень лечебного патоморфоза отмечена только в 3 случаях (23 %). Таким образом, наши предварительные результаты указывают на то, что лечебный патоморфоз 3-4 степени более часто встречается в группе Her 2 позитивных больных с экспрессией топоизомеразы IIα при использовании схем химиотерапии с включением антрациклинов. Это указывает на то, что топоизомераза IIα может быть одним из маркеров для выбора оптимальной схемы неоадьювантной химиотерапии при раке молочной железы. Также, полученные результаты указывают на необходимость введения методики FISH в рутинную практику для более точного определения тактики лечения и прогноза результатов лечения у больных раком молочной железы.

А.М. Горинова^{2,1}, М.В. Мнихович^{1,2}, К.Ю. Мидибер¹, С.В. Шугай³, К.В. Буньков⁴,
И.В. Васин⁵, С.В. Снегур⁵, Ю.Г. Павлова⁵, К.А. Акопян², О.А. Лучинина⁶

Кость как объект метастазирования злокачественных опухолей

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (1)*

*ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (2)*

*ФГАУ «Национальный научно-практический центр нейрохирургии
им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ, Москва, Россия (3)*

ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Смоленск, Россия (4)

ГБУ РО «Областная Клиническая Больница», Рязань, Россия (5)

Клинический Госпиталь «Лапино», Россия (6)

A.M. Gorinova, M.V. Mnikhovich, K.Yu. Midiber, S.V. Shugai, K.V. Bunkov,
I.V. Vasin, S.V. Snegur, Yu.G. Pavlova, K.A. Hakobyan, O.A. Luchinina

Bone as object of metastasis of malignant tumors

Метастазы злокачественных опухолей в кости представляют собой тяжелое проявление далеко зашедшего онкологического процесса. Метастатические опухоли костей встречаются в поздней стадии онкологического заболевания, и 20-100% больных к моменту выявления костных метастазов уже имеют диссеминированный процесс. Современные возможности комбинированного лечения диктуют требования к пониманию эпидемиологии, этиологии, патогенеза и морфологии метастазов в кости. Наиболее частыми опухолями, метастазирующими в кости, являются рак молочной железы (49%), рак легких (14%), рак предстательной железы (12%), злокачественная лимфома (5%), другие опухоли (20%).

Костная ткань обладает уникальной способностью постоянно регенерировать под влиянием системных и локальных гормонов, факторов роста, цитокинов. Скелет человека находится в динамическом состоянии, так как координирующее действие остеокластов и остеобластов на трабекулярной поверхности приводит к постоянному чередованию процессов резорбции и костеобразования. При нормальных процессах перестройки костной ткани в результате действия остеокластов на гидроксиапатит костного матрикса, а также за счет продукции протеолитических ферментов и ионов водорода происходит резорбция кости, образование лакун в местах действия этих клеток. Последующее костеобразование происходит под влиянием остеобластов, которые синтезируют белки костного матрикса (коллаген I типа, остеокальцин, остонектин) и которые ответственны за секрецию факторов роста и минерализацию формирующейся костной ткани.

Метастазирование опухолевой клетки в кости приводит к активному образованию местных паракринных факторов, стимулирующих активность

остеокластов: простагландин Е, ряда цитокинов, таких как TGF- α , β , эпидермальный фактор роста (EGF), фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкинов (IL-1, IL-6), прокатепсина D и др. Клетки иммунной системы могут также синтезировать факторы активизирующие остеокласты: лимфотоксин, IL-1, IL-6, интерферон-гамма (IFN-g), колониестимулирующие факторы, в частности GM-CSF. Помимо местных факторов, активность остеокластов может стимулироваться системными воздействиями, а именно, паратгормонподобным белком. При исследованиях в эксперименте установлено, что опухолевые клетки, экспрессирующие PTHrP, отличаются как высокой частотой метастазирования в кости, так и предрасполагают к возникновению гиперкальциемии.

Нами, за период с 2009 по 2016 гг. было исследование 245 случаев больных со злокачественными опухолями с метастатическим поражением костей скелета. Преимущественно поражались трубчатые кости, плоские кости, кости черепа, позвонков и ребер. Материал исследовался при биопсийной диагностике, а также при проведении аутопсий в ЛПУ г. Москвы, Рязани, Воронежа.

Большинство метастатических опухолей костей вызывают только литическое поражение – в отличие от рака предстательной железы и рака легкого, которые могут вызвать как литическое, так и остеобластическое поражение. Литические изменения лучше определяются на компьютерно-томографических (КТ) изображениях в костном режиме. КТ с 3D реконструкцией позволяет выявить детали мягких тканей и костей с высокой точностью мелких структур вплоть до отверстий черепных нервов и отверстий для питающих сосудов. КТ-ангиография применяется для исследования сосудистых структур и их соотношения с объемными образованиями. КТ-перфузия позволяет дифференцировать злокачественные и доброкачественные опухоли, а также оценить радикальность хирургического вмешательства. КТ-сканирование в костном режиме применяется для выявления как литических, так и остеобластических поражений. Тем не менее, КТ четко не показывает границы и степень инвазии при костных метастазах, размеры и характер мягкотканного компонента опухоли, не обеспечивает достаточного пространственного разрешения. Магнитно-резонансная томография (МРТ) с внутривенным контрастированием является высокоинформативным методом для изучения мягкотканых структур. МР-данные при метастатических опухолях варьируют от низко- до изоинтенсивных сигналов в T1-взвешенных изображениях и от высоко- до изоинтенсивных сигналов в T2-взвешенных изображениях. После внутривенного введения гадолиния контрастирование метастазов усиливается в разной степени: при многих поражениях отмечается почти гомогенное накопление в опухоли, в некоторых случаях контрастное вещество кольцевидно накапливается только по краю опухоли. Клетки рака метастазируют преимущественно в костный мозг, к структурным изменениям которой очень чувствительна МРТ. В норме жировая ткань в костном мозге распределена равномерно, при метастатическом поражении нарушается равномерность распределения жировой клетчатки, появляются фокусы, интенсивно накапливающие контрастное вещество. Поэтому МРТ в T1- и T2-взвешенных

последствиях до и после внутривенного введения гадолиния является лучшим способом определения метастазов.

Важнейшими методами диагностики, во многом определяющими тактику лечения, являются иммуногистохимическое исследование и генетический анализ. Морфологический и иммуногистохимический методы диагностики особенно ценны тем, что 12% случаев метастазы в кости являются первыми признаками онкологического заболевания и в 20% случаев при онкологическом процессе в костях выявляется первичная опухоль. На первом этапе при проведении иммуногистохимического исследования определяется гистогенез опухоли – первичная (например, остеосаркома, хондробластома) или метастатическая – карцинома, меланома, саркома, лимфома. Для этого используется всего пять маркеров – антитела: панцитокератин (карцинома), белок S-100 (меланома), виментин (саркома), общий лейкоцитарный антиген (лимфома). Намного чаще остальных в костях обнаруживаются метастазы эпителиальных опухолей – раков. В случае подтверждения диагноза «метастаз рака» необходимо определить первичную локализацию процесса. Диагностика в этом случае основана на экспрессии комбинации высоко- и низкомолекулярных цитокератинов (цитокератины 7 и 20) в различных органах и тканях. Определив, к какой группе относится опухоль, на третьем этапе используют «уточняющие» органоспецифичные антитела (TTF-1 – для щитовидной железы и легкого, GCDFP-15 – для молочной железы, Muc2 и 5ac – для разных органов желудочно-кишечного тракта, PSA – для предстательной железы и т.д.).

Д.Ю. Гуров¹, А.В. Смирнов^{1,2}, Б.Ю. Гумилевский¹, Р.П. Самусев¹

Морфологические аспекты клеточной гибели в атипичной лейомиоме тела матки

*Волгоградский государственный медицинский университет,
Волгоград, Россия (1)*

*Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия (2)
(volgmu-path-anat@yandex.ru)*

D.Yu. Gurov¹, A.V. Smirnov^{1,2}, B.Yu. Gumilevsky¹, R.P. Samusev¹

Morphological aspects of cell death in atypical leiomyoma of uterine corpus

Атипичная (причудливая) лейомиома (8893/0) представляет собой необычную доброкачественную опухоль из гладкой мышечной ткани, которая содержит одно- (реже много-) ядерные причудливые клетки, которые распределены диффузно. Встречаются ядра с крупными ядрышками и ядра с явлениями кариорексиса, которые могут имитировать атипичные митозы (Croce S. et al., 2014). Согласно описанию ВОЗ, атипичная лейомиома (плеоморфная, причудливая или симпластическая лейомиома) обычно не имеет участков

коагуляционного некроза опухолевых клеток, а митотический индекс не превышает 10 фигур митозов на 10 полей зрения при большом увеличении (Kaugusuz E.I. et al., 2015). Даже выраженная цитологическая атипия является серьезным, но не достаточным критерием для установления клинически злокачественной опухоли гладкой мускулатуры матки (Wei J.J., 2016). Атипичные клетки имеют увеличенный гиперхромные ядра. В цитоплазме могут встречаться «псевдоядерные» включения часто. Распределение атипичных клеток может быть диффузным, или фокальным. Несмотря на вышесказанное, по данным S. Crose в 36% атипичных лейомиом тела матки, исследованных после гистерэктомии и миомэктомии, были обнаружены участки некрозов и во всех случаях клетки с явлениями кариорексиса. Кроме того, в 10% случаев отмечены признаки кистозной дегенерации, однако сообщения о механизмах гибели опухолевых клеток в сочетании с процессами кальцификации в атипичных лейомиомах тела матки, дополненные характеристикой иммунофенотипа, практически отсутствуют в литературе.

Цель работы: изучить клинико-морфологические характеристики атипичной (причудливой) лейомиомы в аспекте клеточной гибели, охарактеризовать экспрессию биомаркера Ki-67, рецепторов прогестерона и эстрогенов.

Материал и методы исследования. Нами изучен клинический случай атипичной (причудливой) лейомиомы у женщины 37 лет, находившейся на лечении в гинекологическом отделении НУЗ ОКБ на станции Волгоград 1 ОАО «РЖД» в 2017 г. После обследования больной проведено оперативное лечение. Материал после миомэктомии фиксирован в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 24 часов, после макроскопического исследования и вырезки материала, образцы ткани промывали и дегидратировали, на ротационном микротоме (HM 325, Thermo Scientific) изготавливали парафиновые срезы толщиной 4 мкм, которые были окрашены по стандартной методике гематоксилином и эозином, по Массону.

Для иммуногистохимического исследования парафиновые срезы толщиной 4 мкм депарафинизировали, регидратировали, демаскировку антигенов проводили на водяной бане при температуре 96-99°C. Срезы инкубировали с антителами против биомаркера Ki-67 (клон MIB-1, «Dako»), рецепторов прогестерона (клон PgR636, RTU, мышинные, «Dako») и эстрогенов ERα (клон 1D5, RTU, мышинные, «Dako»), визуализацию метки производили иммунопероксидазным методом с использованием полимерной системы Histofine (Япония). Морфологическое исследование проводилось с помощью светового микроскопа фирмы «Карл Цейс» AxioStar.

Результаты. Клинический диагноз согласно направлению на прижизненное патолого-анатомическое исследование: миома матки, симптом роста. На вырезке материал представлен узлом серовато-желтого цвета неравномерной каменистой плотности размерами 3,5×3×2 см, на разрезе сероватого цвета. При микроскопическом исследовании обнаружены фрагменты опухолевой ткани, имеющие строению зрелой гладкой мышечной ткани с кальцинозом, гиалинозом, выраженными дегенеративно-дистрофическими изменениями в опухолевых гладких миоцитах, среди которых отмечаются клетки в выраженным поли-

морфизмом и гиперхроматозом ядер. Фигуры митозов практически не определяются. В отдельных опухолевых гладких миоцитах обнаружены одновременно включения солей кальция и явления кариолизиса или кариорексиса без наличия в окружающей ткани воспалительной реакции или фагоцитирующих клеток, что позволяет нам утверждать о наблюдении варианта клеточной гибели, который не может быть отнесен ни к некрозу или апоптозу, которые описаны в атипичных (причудливых) лейомиомах. Поскольку, одновременно с признаками повреждения ядерного аппарата клетки в цитоплазме гибнущих клеток наблюдаются включения солей кальция, с большой долей вероятности можно предположить значение накопления внутриклеточного кальция в реализации данного механизма клеточной гибели. При проведении иммуногистохимического исследования обнаружено, что количество Ki-67-позитивных клеток составило 1%, что соответствует результатам рутинной гистологии и свидетельствует о низкой пролиферативной активности клеток опухоли. Уровень экспрессии рецепторов прогестерона составил 48%, эстрогенов 1%.

Послеоперационный период протекал без осложнений, больная была выписана из стационара на седьмой день.

Таким образом, представленный случай демонстрирует сочетание в атипичной лейомиоме признаков ядерного полиморфизма, низкой пролиферативной активности опухолевых клеток на фоне прогестерон-рецептор-положительного статуса опухоли и наличия в опухолевых клетках признаков, свидетельствующих о реализации механизмов запрограммированной клеточной гибели с внутриклеточным накоплением солей кальция.

А.Г. Заманов^{1,2}, В.Н. Ермаков^{1,2}, Р.В. Деев^{2,3}

**Симптоматические язвы желудка и двенадцатиперстной кишки:
патоморфологический анализ 320 случаев**

*ГУЗ РО «Городская клиническая больница «11», Рязань, Россия (1)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (2)*

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Рязань, Россия (3)

A.G. Zamanov, V.N. Ermakov, R.V. Deev

Symptomatic ulcers of the stomach and duodenum: analysis of 320 autopsy

Описано ежегодное увеличение количества людей во всем мире страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Симптоматические язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (гастродуоденальные симптоматические язвы, далее - СЯ) – это группа заболеваний, объединенная общим признаком - образованием язвенного дефекта слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки в ответ на воздействие ulcerогенных факторов.

Цель: провести клинико-морфологический и статистический анализ летальных случаев, при которых СЯ являлись основным заболеванием, осложнением или сопутствующим заболеванием.

Материал и методы: объектами исследования явились 320 летальных исходов и протоколов вскрытия взрослых больных за 10 лет (2006-2016 гг.) из патологоанатомических отделений стационаров Рязанской области. Не учитывались малоинформативные случаи, в которых не указывались размеры и точная локализация СЯ. Регистрировали основные причины, размеры и локализацию СЯ у соматических больных; производили распределение их по полу и возрасту; учитывали важнейшие фоновые заболевания и осложнения СЯ; статистическая обработка результатов проведена общепринятыми методами.

Результаты: Более 99% составляли СЯ развившиеся при заболеваниях внутренних органов. Острые язвы желудка были обнаружены в 44 случаях, 80% из них составили дисциркуляторные. Эрозии желудка были обнаружены в 94 случаях, 78% из которых – дисциркуляторные. В 21 случае выявлены острые язвы двенадцатиперстной кишки, образовавшиеся в результате нарушения кровообращения в 67%. Половина случаев эрозивного гастрита приходилась на хроническую почечную недостаточность. Все без исключения хронические язвы желудка были крупные – более 1 см в диаметре, тогда, как острые язвы в 76% случаев были менее 1 см.

Хронические язвы локализуются в привратнике (60%), в теле (20%) и по малой кривизне желудка (20%). Острые язвы, как и эрозии располагаются преимущественно в теле желудка (32 и 61% соответственно). Эрозивный гастрит поражает часто и антральный отдел желудка (21%). Острые язвы желудка встречаются одинаково часто у мужчин и женщин во всех возрастных группах, хронические язвы желудка достигают пика у мужчин в возрастной группе 70-80 лет, а у женщин – старше 80 лет. Важными фоновыми заболеваниями являются гипертоническая болезнь (60-90%), сахарный диабет (20-33%), ожирение одинаково встречаются при различных формах СЯ (8-26%).

Таблица №1

Локализация язвенного процесса в слизистой желудка

локализация	тело	привратник	ан-трум	кар-дия	м.кривизна	б.кривизна	беспорядочно
эрозии	61%	2%	2%	4%	3%	-	28%
э. гастрит	30%	1%	21%	3%	2%	1%	42%
о. язва	32%	20%	5%	5%	13%	-	25%
хр. язва	20%	60%	-	-	20%	-	-

Таблица №2

Осложнения по каждой из групп

осложнения	хр. язва жел	хр. язва 12 пк	о. язва жел	эрозии жел	эроз. гастрит	о. язва 12 пк
кровотечение	17%	33%	9%	13%	7%	38%
перфорация	20%	27%	5%	-	-	10%
пенетрация	10%	27%	-	-	-	-

Кровотечение, перфорация и пенетрация одинаково часто осложняют течение хронических язв двенадцатиперстной кишки (по 30%) и реже осложняют хронические язвы желудка. Перфорация острых язв двенадцатиперстной кишки развивается в два раза чаще, чем острых язв желудка, а кровотечение из них в 4 раза чаще желудочных.

Выводы. В соматических неспециализированных стационарах Рязани СЯ встречаются исключительно как осложнения заболеваний внутренних органов.

Подавляющее большинство СЯ являются дисциркуляторными, а важнейшие фоновые заболевания: гипертоническая болезнь, сахарный диабет, общее ожирение влияют на развитие сердечной недостаточности и незначительно на образование СЯ.

Смещение пика возникновения хронических СЯ у женщин по сравнению с мужчинами примерно на 10 лет обусловлено их большей продолжительностью жизни.

Наиболее прогностически неблагоприятными являются СЯ локализующиеся в двенадцатиперстной кишке.

Литература:

1. Крылов А.А, Земляной А.Г, Михайлович В.А, Иванов А.И. Неотложная гастроэнтерология: руководство для врачей. – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Питер Паблицинг, 1997.
2. Кумар В., Аббас А.К., Фаусто Н., Астер Дж.К. Основы патологии заболеваний по Роббинсу и Котрану: в 3-х т. / пер. с англ.; под ред. Е.А. Коган. – М.: Логосфера, 2014.

Л.Б. Канахина, А.А. Абрамов, И.И. Гусейнов, Д.К. Чебанов, П.П. Огурцов

Вариабельность тотальных и экзосомальных микроРНК в плазме у пациентов с меланомой

*ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия
(Glb.1994@mail.ru)*

L.B. Kanakhina, A.A. Abramov, I.I. Guseinov, D.K. Chebanov, P.P. Ogurtsov

Variability of total and exosomal microRNAs in the plasma of patients with melanoma

Введение. Меланома – это злокачественная опухоль меланоцитов – клеток, ответственных за выработку пигмента меланина, имеющих невральное происхождение. Интересную роль в патогенезе меланомы играют микроРНК, малые некодирующие молекулы РНК длиной 18-25 нуклеотидов, принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путём РНК-интерференции. Нарушение регулирования микроРНК связывают с развитием злокачественных свойств и метастазирования злокаче-

ственной меланомы. Исследование показывают, что при развитии рака, происходит снижение количества одних видов микроРНК, в то время как прогрессии рака способствует избыточная экспрессия других микроРНК [1].

В результате анализа данных литературы, были подобраны следующие 10 микроРНК: микроРНК let-7a [2], микроРНК-19a [3], микроРНК-106a [4], микроРНК let-7b, микроРНК-149, микроРНК-155, микроРНК-199a, микроРНК-214, микроРНК-221 и микроРНК-222 [5], специфичные для меланом.

Цель. Задачей нашего исследования было провести выделение тотальных и экзосомальных микроРНК из плазмы крови у онкологических больных, оценить уровень микроРНК, и сравнить их в группах пациентов с меланомой, с метастазами, пациентов с длительной ремиссией и здоровой группой.

Материалы и методы. В работу взяли 68 образцов крови, из которых 25 от пациентов с меланомой, 18 пациентов с метастазами и 15 пациентов с устойчивой ремиссией более 5 лет. 10 образцов были взяты у контрольной группы здоровых доноров. Кровь брали в объеме 1 мл в пробирку с ЭДТА, после чего проводили центрифугирование при 3 000 оборотах в течение 5 минут на центрифуге minispin. МикроРНК выделяли на наборе miRCURY RNA Isolation Kit - Biofluids, выделенную тотальную микроРНК сразу же подвергали обратной транскрипции на наборе Universal cDNA Synthesis Kit II. Полученный материал брали для проведения ПЦР в реальном времени на наборе ExiLent SYBR Green Master Mix Kit с праймерами на специфические микроРНК.

Результаты. В результате исследования, мы отобрали 4 микроРНК: микроРНК let-7a, микроРНК-106a, микроРНК-199a и микроРНК-221. По итогам эксперимента в сравниваемых группах были обнаружены следующие закономерности: пациенты без метастазов имели наименьшее количество копий микроРНК let-7a, микроРНК-106a, микроРНК-199a и микроРНК-221. Между тем у пациентов с ремиссией было выявлено максимальное количество этих же микроРНК. Что касается экзосомальных микроРНК, наше исследование показывает следующие результаты: чем дольше у пациента была меланома, тем большее количество микроРНК-199a и микроРНК-221 было обнаружено. Тем не менее, число экзосомальных микроРНК let-7a и микроРНК-106a у пациентов с меланомой и пациентов с ремиссией, как оказалось, намного меньше количества микроРНК-199a и микроРНК-221 в тех же категориях пациентов соответственно. Однако в контрольной группе (здоровые пациенты) количество копий микроРНК let-7a и микроРНК-106a в 4 и 7 раз больше, чем среднее значение у пациентов с меланомой.

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о различии уровней микроРНК let-7a, микроРНК let-7b, микроРНК-106a и микроРНК-199a в группах пациентов с меланомой по сравнению с группами пациентов с устойчивой ремиссией и здоровых доноров, что может быть использовано для оценки эффективности лечения и изучения патогенеза развития заболевания.

Литература:

1. Greenberg E., Hershkovitz L., Itzhaki O. et al. Regulation of cancer aggressive features in melanoma cells by microRNAs // PLoS One. – 2011. – №6. – e18936.

2. Müller D.W., Bosserhoff A.K. Integrin beta 3 expression is regulated by let-7a miRNA in malignant melanoma // *Oncogene*. – 2008. – №27. – P. 6698-6706.
3. Schultz J., Lorenz P., Gross G. et al. MicroRNA let-7b targets important cell cycle molecules in malignant melanoma cells and interferes with anchorage-independent growth // *Cell Res*. – 2008. – P. 549-557.
4. Detection of Exosomal miRNAs in the Plasma of Melanoma Patients // *J. Clin. Med*. – 2015. – 4(12). – P. 2012-2027.
5. Latchana N., Abrams Z.B., Howard J.H. et al. Plasma MicroRNA Levels Following Resection of Metastatic Melanoma // *Bioinform. Biol. Insights*. – 2017. – №11. – 1177932217694837. doi: 10.1177/1177932217694837.
6. Segura M.F., Greenwald H.S., Hanniford D. MicroRNA and cutaneous melanoma: from discovery to prognosis and therapy // *Carcinogenesis*. – 2012. – 33(10). – P. 1823-1832.

С.В. Кузнецов¹, А.А. Кузнецова², Д.В. Котков³

**Методика депарафинизации гистологических блоков
для выделения ДНК из операционно-биопсийного и секционного
биологического материала**

*Главное следственное управление Следственного комитета Российской
Федерации по городу Санкт-Петербургу; Санкт-Петербургский
государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия (1)
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия (2)
ФГКУ «1586 ВКГ» МО РФ, Подольск, Россия (3)*

S.V. Kuznetsov, A.A. Kuznetsova, D.V. Kotkov

**The method of dewaxing histological blocks for DNA extraction
from operative biopsy and sectioned biological material**

Актуальность. Исследование ДНК в системе криминалистического анализа представляет практическую ценность для решения таких важных задач как определение родства [1], идентификация личности [2], а также установление причастности лица к тому, или иному правонарушению [3].

Достаточно частым объектом исследования, представляемым на судебно-генетическую экспертизу, является гистологический материал лиц, полученный из лечебно-профилактических учреждений органов здравоохранения, в которых интересующее лицо проходило лечение и/или обследование. Данный материал доставляется на исследование из патоморфологических лабораторий, в которых хранится в закреплённом состоянии в парафине, в связи с чем для решения вышеуказанных задач требуется экстракция из парафина клеток, содержащих генетическую информацию. Учитывая изложенное, **целью исследования** послужила разработка методики наиболее эффективного выделения ДНК из гистологических блоков операционно-биопсийного и секционного биологического материала, закреплённого парафином.

Материалы и методы. Предлагаемая методика депарафинизации реализуется путем помещения куска парафинового блока с тканью в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл типа «Eppendorf». С учетом того, что температура плавления парафина находится в диапазоне 50-60°C, а ДНК, содержащаяся в клетках, денатурируется при температуре свыше 70-90°C, производится разделение парафиновой и водной фазы при температуре 60-65°C. Затем расплавленный парафин «выдавливается» стандартной корзинкой типа «Spin-basket» путем медленного помещения ее в пробирку. На последнем этапе производится остужение содержимого пробирки при комнатной температуре, после чего корзинку типа «Spin-basket» с застывшим в ней парафином удаляют, а полученный раствор с ДНК исследуется далее.

Закключение. Предлагаемая методика прошла неоднократную апробацию, проста и удобна в применении, обладает универсальностью для гистологических микропрепаратов различных тканей, что обеспечивает ее надежность.

Литература:

1. Кузнецов С.В. Об особенностях экспертизы биологического родства исследуемого лица с предполагаемыми сибсами. Актуальные проблемы судебной медицины и медицинского права: материалы межрегиональной науч.-практ. конф. с междунар. участием. – М.: НП ИЦ «ЮрИнфоЗдрав», 2013. – С. 175-177.
2. Кузнецов С.В. Алгоритм установления принадлежности смешанных следов крови при взрывной травме на ВМФ. Интеллектуальные разработки в интересах строительства и развития ВМФ // Труды НИИ ОСИС ВМФ ВУНЦ ВМФ «Военно-морская академия». – СПб.: Петродворец, 2016. – С. 311-314.
3. Пучков А.А., Лаврентьев В.П., Кузнецов С.В. Методика установления тождества объектов, содержащих ДНК одного лица, без применения вероятностно-статистической оценки // Вестник Академии Следственного комитета РФ. – 2016. – 2(8). – С. 125-128.

С.В. Кузнецов¹, А.А. Кузнецова², Д.В. Котков³

Порядок проведения судебно-гистологических исследований по операционно-биопсийному и секционному материалу собственными экспертными силами Главного следственного управления Следственного комитета Российской Федерации по городу Санкт-Петербургу

*Главное следственное управление Следственного комитета Российской Федерации по городу Санкт-Петербургу; Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия (1)
Военно-медицинская академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия (2)
ФГКУ «1586 ВКГ» МО РФ, Подольск, Россия (3)*

The procedure for carrying out is judicial-histologic research on operative biopsy and sectioned biological material, their evaluation by the Main investigation department of the Investigative committee of the Russian Federation in Saint-Petersburg

Актуальность. Производство судебно-гистологических экспертных исследований в структуре экспертно-криминалистического отдела управления криминалистики Главного следственного управления Следственного комитета Российской Федерации по городу Санкт-Петербургу (далее – ЭКО УК ГСУ СК РФ по г. СПб) имеет вспомогательный характер при выполнении собственными экспертными силами судебно-медицинских экспертиз и исследований «общекриминальной» направленности и по вопросам так называемых «врачебных» преступлений.

Цель исследования была обусловлена факторами, потребовавшими необходимость организации данного направления собственными экспертными силами:

- высокой долей дополнительных и повторных судебно-медицинских экспертиз, назначаемых в ЭКО УК ГСУ СК РФ по г. СПб (до 90%);
- дороговизной платных судебных экспертиз во внешних судебно-экспертных организациях;
- отсутствием мотивации внешних экспертных организаций в производстве судебно-гистологических экспертных исследований по отдельному постановлению (в отрыве от судебно-медицинской экспертизы, для которой требуется данное судебно-гистологическое заключение);
- наличием частичной возможности производства судебно-гистологических исследований собственными экспертными силами ЭКО УК ГСУ СК РФ по г. СПб (присутствие в штате ЭКО УК ГСУ СК РФ по г. СПб специалиста с одновременной подготовкой по судебно-медицинской экспертизе и патологической анатомии, наличие микроскопа «LEICA DM 2000 LED», при одновременном отсутствии микротомов, а также вспомогательного персонала для эксплуатации последнего).

Материалы и методы. Учитывая имеющиеся силы и средства, процесс назначения и производства судебно-гистологических экспертных исследований организован следующим образом:

1. Уяснение экспертной задачи во время коммуникации с судебно-следственным работником при назначении судебно-медицинской экспертизы [1].
2. В случае если для решения запрашиваемой задачи (либо для реализации экспертной инициативы согласно ч. 2. ст. 204 Уголовно-процессуального кодекса Российской Федерации от 18 декабря 2001 г. № 174-ФЗ [2]) необходимо проведение судебно-гистологического исследования, выяснение наличия у следователя готовых микропрепаратов (на стеклах) и возможности их предоставления.

3. Оказание содействия судебно-следственному работнику в оформлении «чистового» варианта постановления о назначении судебно-медицинской экспертизы с включением:

- вопросов «судебно-гистологической» группы (главным образом о давности образования повреждений и видах воздействия, приведших к их образованию);
- данных об экспертной комиссии с отдельным указанием сведений о судебно(-ых) гистологе(-ах);
- перечня соответствующих предоставляемых материалов (микропрепаратов).

4. Непосредственное производство судебно-гистологического экспертного исследования собственным специалистом либо в комиссии с внешним специалистом при наличии такой возможности на безвозмездной основе.

Заключение. Таким образом, при наличии операционно-биопсийного или секционного материала на уже готовых микропрепаратах имеется возможность назначения в ЭКО УК ГСУ СК РФ по г. СПб судебно-гистологических исследований и их выполнения по предлагаемой модели взаимодействия.

Литература:

1. Кузнецов С.В. Порядок организации и производства судебно-медицинских экспертиз оказания медицинской помощи // Медицинское право. – 2017. – №3. – С. 24-29.
2. Уголовно-процессуальный кодекс РФ № 174-ФЗ // Собрание законодательства РФ. – 2001. – 52 (ч. I). – Ст. 4921.

В.А. Кушнарев, Е.С. Артемьева, А.Г. Кудайбергенова

Сравнительный анализ индекса пролиферативной активности Ki67 цифровым и визуальным методом в инвазивных карциномах молочной железы

*ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,
Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия*

V.A. Kushnarev, E.S. Artemyeva, A.G. Kudaybergenova

Comparative analysis labeling index Ki67 in invasive breast cancer determined by image analysis software and visual assessment

Актуальность. Использование индекса Ki67 в ежедневной клинической практике патологоанатомического отделения связано с проблемой воспроизводимости количественной оценки индекса пролиферативной активности Ki67 (ИПА). В связи с развитием цифровых методов визуализации в морфологии предлагаются новые методы оценки ИПА с помощью цифрового анализа изображений (ЦАИ).

Материал и методы. Мы сравнили данные индекса пролиферативной активности Ki67 полученные при визуальной оценке и с помощью цифрового анализа изображений в 104 случаях карцином молочной железы G2-G3.

Результаты. Уровень согласия между визуальным и цифровым методом анализа достоверно не отличался ($p > 0,001$). Нами была выделена «серая зона» в пределах 10-35% ИПА, где значения индекса Ki67 показали слабую связь между анализируемыми группами (ICC 0,47). Значения индекса Ki67 ниже 10% и выше 35% показали достаточный уровень воспроизводимости в пределах одной лаборатории.

Вывод. Мы считаем, что цифровая сканированная форма гистологического препарата, которую можно оценить, используя автоматические программные модули анализа, является независимым и объективным методом оценки пролиферативной активности для валидирования индекса Ki67.

Литература:

1. Gnant M., Thomssen C., Harbeck N., Galle J. A Brief Summary of the Consensus Discussion // Breast Care. – 2015. – 10(2). – P. 124-130. doi:10.1159/000430488.
2. Cheang M.C., Chia S.K., Voduc D. et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer // J. Natl. Cancer Inst. – 2009. – №101. – P. 736-750.
3. Penault-Llorca F., Radošević-Robin N. Ki67 assessment in breast cancer: an update // Pathology. – 2017. – 49(2). – P. 166-171.
4. Vuong D., Simpson P., Green B. et al. Molecular classification of breast cancer // Virchows Archiv. – 2014. – 465(1). – P. 1-14.

В.В. Лучинин¹, С.В. Анистратов¹, М.В. Мнихович^{2,3}, Л.М. Соломатина⁴,
А.В. Шилов¹, И.В. Васин⁵, С.В. Снегур⁵, К.А. Акопян³, О.А. Лучинина⁶

Экстрагенитальный эндометриоз: морфологическая диагностика

Московская Международная Лаборатория Патоморфологии

«LABORATOIRES DE GENIE», Москва, Россия (1)

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,

Москва, Россия (2)

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (3)

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,

Рязань, Россия (4)

ГБУ РО «Областная Клиническая Больница», Рязань, Россия (5)

Клинический Госпиталь «Лапино», Россия (6)

Extragenital endometriosis: morphological diagnosis

В последние годы эндометриоз рассматривают как самостоятельную нозологическую единицу (эндометриоидную болезнь) – хроническое заболевание с различной локализацией эндометриоидных очагов (ЭО), отличающихся автономным и инвазивным ростом, изменением молекулярно-биологических свойств клеток как эктопического, так и эутопического эндометрия. Общими гистопатологическими характеристиками этих образований являются присутствие эндометриальных стромальных и эпителиальных клеток, персистирующие геморрагии внутри очага и признаки воспаления. Они могут возникать по отдельности или в комбинации, что коррелирует с повышением риска бесплодия или хронической тазовой боли. По данным разных авторов, частота эндометриоза колеблется от 5 до 70%, занимая 3-е место в структуре гинекологической заболеваемости после воспалительных заболеваний и миомы матки. В 92-94% случаев отмечается генитальный эндометриоз. Одной из наиболее редких и малоизученных локализаций является эндометриоз послеоперационного рубца (ЭПР), составляя от 0,42 до 4,0% по отношению ко всем эндометриозам.

Эндометриоз в послеоперационных рубцах может быть единственной локализацией заболевания у одних женщин и сочетаться с эндометриозом органов таза и брюшной полости у других. Последний вариант встречается значительно чаще после операций на органах малого таза. У подавляющего большинства пациенток эндометриоз развивается в результате имплантации кусочков эндометрия в края операционной раны во время акушерских и гинекологических операций, связанных с вскрытием полости матки. Чаще такая возможность возникает во время кесарева сечения, вылушивания фиброматозных узлов, операций по поводу кистозных форм эндометриоза яичников, вентрофиксации матки, операций по поводу перфорации матки. Гораздо реже это может иметь место после операций по поводу других локализаций интраперитонеального эндометриоза (в добавочном роге матки, маточных трубах, кишечнике, позадишеечной локализации и при аденомиозе матки), после операций по поводу внематочной беременности и заболеваний маточных труб (пиосальпинкс, гидросальпинкс). Эндометриоз в абдоминальных рубцах может возникать в результате разрастания эндометрия по маточно-брюшностеночным свищам после кесарева сечения, из культи матки и маточных труб, а также из очагов эндометриоза тазовых органов (чаще эндометриоидных кист яичников) и брюшной полости (эндометриоз кишечника). Поражение вагинальных рубцов, по видимому, чаще всего происходит в результате прорастания эндометрия из нижнего отдела или перешейка матки по рубцу в матке, а затем во влагалище. Эндометриоз в рубцах после эпизиотомии и перинеотомии нетрудно объяснить имплантацией эндометрия во время родов (особенно при наложении акушерских щипцов при ручном отделении последа, инструментальной или ручной

ревизии полости матки) или в раннем послеродовом периоде. Значительно реже эндометриоз в рубцах развивается после операций, не связанных с половыми органами. Так, известны наблюдения эндометриоза в рубцах после аппендэктомии, грыжесечения, холецистэктомии, резекции желудка и кишки наложения надлобкового свища и других операций.

Мы наблюдали развитие эндометриоза в рубце после удаления фиброаденомы молочной железы и у другой пациентки – после косметической операции на лице. Наиболее вероятным в подобных ситуациях представляется гематогенное или лимфогенное занесение элементов эндометрия в области послеоперационных рубцов. Отторжению кусочков эндометрия и попаданию их в ток лимфы и крови могут способствовать аборт, диагностическое выскабливание матки, гидротубация, роды и месячные. Кроме того, эндометриоз в рубцах после операций, не связанных с половыми органами, может явиться результатом занесения менструальной крови с частицами эндометрия руками хирурга, инструментами или марлевыми салфетками. Такой вариант возможен, когда операция производится во время и в первые дни после месячных и часть менструальной крови ретроградно по маточным трубам попадает на органы малого таза, прилежащие отделы кишечника и в маточно-прямокишечное углубление. Предоперационная диагностика ЭПР часто вызывает затруднения. Дифференциальная диагностика проводится между послеоперационными грыжами, лигатурными абцессами, гематомами. Нередко диагноз устанавливается уже интраоперационно и лишь на основании гистологического заключения.

Мы наблюдали 3 пациенток, в возрасте 23-41 год, которым по показаниям были произведены иссечение послеоперационного рубца, сформировавшихся после операций гинекологического профиля. У всех пациенток макропрепарат представлял собой мягкотканое образование от 2,0 до 4,5 см, мягко-эластической консистенции, на разрезе серо-розового цвета, с тонкой капсулой, с очаговыми кровоизлияниями под капсулой и с отложением коричневого пигмента, размерами 0,3-0,5 см.

Микроскопически представлены очаги с максимально развитым железистым компонентом местами с кистозной трансформацией, очаговым уплощением выстилающего железы эпителия. Очаги стромального компонента с наличием переплетающихся в разных направлениях миоидных клеток обширными полями цитогенной стромы, вплоть до формирования сосудов типа спиральных артерий эндометрия. При иммуногистохимическом исследовании с применением моноклональных антител к рецепторам эстрогенов (ER), прогестерона (PR), к цитокератинам 7 и 18 (СК7, СК18), в очагах эндометриоза выявлена экспрессия ER, цитокератинов 7 и 18 и не выраженная экспрессия PR. Морфологическая картина и иммунофенотип соответствует очаговому эндометриозу.

Своевременная предоперационная диагностика эндометриоза послеоперационного рубца зачастую вызывает затруднения. Большую роль для дифференциальной диагностики имеет УЗИ передней брюшной стенки, а также связь клинических симптомов с менструальным циклом. Современный подход к лечению пациенток, страдающих эндометриозом, заключается в сочетании хирургического метода с морфологической верификацией процесса и

гормонмодулирующей терапии. Именно данное сочетание позволяет достоверно предупредить развитие рецидивов заболевания. Приведенное наблюдение вследствие редкой локализации и определенных трудностей диагностики безусловно имеет научно-практический интерес.

Н.С. Мелешкин

Некоторые морфологические особенности почки при индуцированной иммуносупрессии

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет
им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия*

N.S. Meleshkin

Some kidney morphological features under induced immunosuppression

Цель работы – изучение морфологических изменений ткани почки при индуцированной иммуносупрессии.

Материал и методы. Для моделирования индуцированной иммуносупрессии 8 белым крысам самцам вводили циклофосфан в дозе 100 мг/кг массы тела, 4 раза с интервалом в 24 часа. Спустя 48 ч после последней инъекции крыс выводили из эксперимента. Структуру почки изучали на серийных парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином [1].

Результаты. Как правило, у крыс наблюдалась деформация клеток канальцев как коркового, так и мозгового вещества. Большая часть канальцев зачастую расширены, а меньшая – наоборот, в спавшемся состоянии. Наблюдается слущивание эпителия и гидропическая дистрофия клеток. Стоит отметить, что наибольшему изменению подвергаются проксимальные каналцы нефронов.

Мембрана внутреннего листка капсулы почечных телец утолщена и на ней имеются отложения. Такие изменения приводят к выраженному сжатию капилляров сосудистого клубочка настолько, что он едва различим на фоне остальной паренхимы. Мезангиальные клетки активно пролиферируют, зачастую гипертрофированы. Во многих сосудах коркового вещества наблюдается стаз крови (полнокровие), а клетки эндотелия, как правило, набухшие и деформированные.

У меньшей группы крыс изменения в почке выражены не так ярко. Повреждена преимущественно корковая часть паренхимы. В мозговом веществе изменения практически не выявляются. В некоторых случаях наблюдается расширение небольшого количества канальцев. Слущивание эпителия отмечается довольно редко. Капсулы почечных телец по большей части без изменений. Стаз сосудов в некоторых случаях замечен, однако клетки эндотелия практически не изменены.

Выявленные морфологические изменения почки при индуцированной иммуносупрессии указывают на развитие у большинства экспериментальных

животных подострого экстракапиллярного пролиферативного гломерулонефрита. Развитие патологического процесса происходит в полости почечных телец, в частности, имеется пролиферация клеток внутреннего листка капсулы и мезенхимальных клеток, а также отложения на поверхности клеток капсулы. Подострый гломерулонефрит обусловлен циркуляцией в крови иммунных комплексов, образовавшихся в результате введения циклофосфана, приводящего к разрушению некоторых клеток. Пролиферация мезангиальных клеток объясняется отложением под эндотелием и в мезангии иммунных комплексов. С другой стороны, изменения эпителия канальцев свидетельствуют о начальной стадии острой почечной недостаточности: эпителиальные клетки находятся в состоянии гидропической дистрофии, просвет канальцев неравномерно расширен, выражено полнокровие сосудов [2-5].

Таким образом, введение циклофосфана в исследуемых дозах приводит к значительным морфологическим изменениям в почке экспериментальных крыс, обусловленным как прямым действием препарата, так и иммунными процессами, развивающимися под его воздействием во всем организме [1-5].

Литература:

1. Ахматова Н.К., Ахметова М.И., Белов Г.В. др. Морфологические основы патологии. – Новосибирск, 2015. – С. 83-92.
2. Лебединская Е.А., Лебединская О.В., Годовалов А.П. и др. Морфологические характеристики индуцированной иммуносупрессии // Материалы Международной научной конференции «Новые задачи современной медицины». – 2012. – С. 63-67.
3. Лебединская О.В., Лебединская Е.А., Лосева Л.Ф. и др. Морфогистохимические изменения органов гемимунопоэза и периферической крови мышей на фоне индуцированной иммуносупрессии и её коррекции // Морфологические ведомости. – 2010. – №4. – С. 49-59.
4. Лебединская Е.А., Лосева Л.Ф., Лебединская О.В. и др. Коррекция изменений цитокинового профиля мышей с индуцированной иммуносупрессией // Цитокины и воспаление. – 2011. – 10(3). – С. 108-112.
5. Малыкина А.Е., Тройнич Я.Н., Лебединская О.В., Годовалов А.П. Действие циклофосфана на фагоцитарную активность мононуклеарных клеток периферической крови здоровых доноров // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – №1. – 74а.

К.Ю. Мидибер^{1,3}, М.В. Мнихович^{1,2}, В.Л. Загребин⁴,
Д.А. Соколов⁵, А.Г. Эрзиева⁶

Ангиогенез в карциноме молочной железы неспецифического типа

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (1)*

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (2)

ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 ДЗМ», Москва, Россия (3)
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Минздрава РФ, Волгоград, Россия (4)
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет
им. Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ, Воронеж, Россия (5)
ГБУЗ «Городская клиническая больница №20 ДЗМ», Москва, Россия (6)

K.Yu. Midiber, M.V. Mnichkovich, V.L. Zagrebin, D.A. Sokolov, A.G. Erziyeva

Angiogenesis in breast carcinoma of non-specific type

Цель: изучить морфологическую и провести ультраструктурную оценку ангиогенеза у женщин, больных инфильтративным протоковым раком молочной железы.

Выполнен анализ операционного и биопсийного материала от 127 больных протоковым РМЖ, находившихся на лечении в медицинских учреждениях г. Москвы в период с 2009 по 2015 гг. Возраст больных колебался от 40 до 80 лет. Средний возраст пациенток – 61 год. Материал изучался с помощью световой и электронной микроскопии, а также с применением иммуногистохимических методик с антителами против CD34-антигена и VEGF в соответствии с рекомендациями производителя антител; использовали набор реагентов "Dako reagents kit" (Dako, Дания).

В исследовании оценивались сосуды как внутри опухоли, так и в непосредственном окружении опухоли. В соответствии с этим сосуды, расположенные в ткани опухоли, определяли как интратуморальные. Сосуды, расположенные за пределами опухоли, но в пределах 2 мм от ее края, – как перитуморальные.

При РМЖ изменения интра- и перитуморальных сосудов носили одноклассовый характер: нарушение проницаемости сосуцистых стенок, плазматическим пропитыванием, иногда галинозом, некрозом и внутрискеночными кровоизлияниями. В сосудах среднего калибра при инвазивной карциноме молочной железы наблюдались отек, разволокнение, утолщение и гомогенизация сосуцистой стенки заканчивающиеся гиалинозом и склерозом. Отмечался так же фибриноидное набухание и фибриноидный некроз, очаговый или захватывающий всю стенку, сужение и иногда полная облитерация просвета. В зависимости от морфологических особенностей опухолевые сосуды разделились на 3 группы: 1. обычные капилляры (диаметром 5–40 мкм с обычной морфологией); Эндотелиальные клетки, выстилающие такие сосуды, имели плоские гиперхромные ядра. Их цитоплазма равномерно и интенсивно окрашивалась маркером CD34 и имела четкие контуры. Отмечалась выраженная экспрессия VEGF. Такие сосуды встречались как в перитуморальной, так и в интратуморальной строме. 2. дилатированные капилляры перитуморальной стромы - сосуды диаметром более 40 мкм имели правильную округлую или овальную форму. Ядра эндотелиальных клеток, выстилающих эти сосуды, часто были овальной формы с нежно сетчатой структурой хроматина.

Цитоплазма клеток довольно равномерно окрашивалась маркером CD34 и имела четкие контуры. Сосуды данного типа встречались преимущественно в перитуморальной строме, и их наличие часто было связано с характерной структурой соединительно-тканного матрикса, представленного незрелой соединительной тканью, богатой фибробластами. Атипичные дилатированные капилляры интратуморальной стромы, диаметром 40 мкм и более имели неправильную форму и выраженную атипию выстилающих эндотелиальных клеток. Наиболее часто эти сосуды встречались в интратуморальной строме. Их характерной особенностью было хаотичное расположение эндотелиальных клеток, нередко вертикально ориентированных к просвету сосуда. Цитоплазма выстилающих эндотелиальных клеток неравномерно окрашивалась маркером CD34, выраженная экспрессия VEGF и имела большое количество цитоплазматических отростков, вследствие чего контуры сосудов выглядели нечеткими. В просвете их часто определялись опухолевые эмболы и CD34⁺ клетки, не связанные со стенкой сосудов. Периваскулярная ткань при РМЖ напоминала соединительную, содержащую рыхлые коллагеновые волокна с фрагментами растущих сосудов, участками некроза и клетками, которые можно расценить как фибробласты и макрофаги. В эпителиальном компоненте инвазивных карцином эндотелиальный пласт имеет расположение по типу нагромождения друг на друга. Большое активное ядро и сочетание с развитым гранулярным эндоплазматическим ретикулулом, с немногочисленными свободными полисомами, характерные признаки для секретирующих клеток. Данные клетки в опухолевом материале нарабатывают компоненты экстрацеллюлярного матрикса. В исследованном материале интратуморальных сосудов при РМЖ, обращает на себя внимание отсутствие перицитов. Опухолевые клетки контактируют с эндотелиальными по средствам отростков последних, опухолевые клетки располагались близко к эндотелию, который был окружен электронноплотным материалом, отсутствует оформленная базальная пластинка, что четко указывает на наличие микрососудистой мимикрии в опухоли, в несовершенный ангиогенез, сопровождающийся появлением опухолевых гнезд без эндотелиальной выстилки, демонстрирует наличие ретракционных щелей. Таким образом, микроциркуляторному компоненту РМЖ свойственна гистофизиологическая неоднородность, которая проявляется в различных микрорегионах новообразования активацией ангиогенеза, относительной дифференцировкой сосудов и регрессией отдельных звеньев микроциркуляторного русла. Нами выявлены, наряду с обычными сосудами капиллярного типа с их структурной организацией, дилатированные капилляры перитуморальной стромы и атипичные дилатированные капилляры интратуморальной стромы. Ультраструктурные изменения четко указывают на наличие микрососудистой мимикрии в опухоли, в несовершенный ангиогенез, сопровождающийся появлением опухолевых гнезд без эндотелиальной выстилки, демонстрирует наличие ретракционных щелей. При ИГХ исследовании показана выраженная экспрессия CD34 и отрицательная экспрессия CD31 в опухолевых сосудах. Повышение плотности микрососудов и выраженная экспрессия VEGF.

Роль белка p66shca в канцерогенезе

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (1)*

*ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (2)*

ГБУЗ «Городская клиническая больница №20 ДЗМ», Москва, Россия (3)

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Минздрава РФ, Волгоград, Россия (4)*

M.V. Mnichovich, A.G. Erziyeva, A.A. Gorina, V.L. Zagrebin, K.Yu. Midiber

Role of p66shca protein in carcinogenesis

Белок p66shca – одна из трех изоформ, кодируемых геном SHC1. Две другие изоформы, p52shc и p46shc, служат адапторными белками, вовлеченными в передачу сигналов от различных рецепторных тирозинкиназ. В частности, в комплексе с адапторным белком Grb2 и фактором обмена нуклеотидов SOS они участвуют в активации малой GTPазы Ras и запуске MAPK-киназного каскада. В отличие от этих изоформ, p66shc, по-видимому, не активирует, но, напротив, тормозит MAPK, конкурируя с p52shc за связывание с Grb2. Помимо доменов, общих для всех продуктов гена SHC1 (PTB, CH1 и SH2), белок p66shc содержит уникальный N-концевой домен CH2, а также общий с p52shc домен CB, связывающий цитохром C. Эти домены не выполняют адапторных функций, но, как оказалось, необходимы для прооксидантного и апоптогенного действия p66shc.

Геномный нокаут p66shc приводит к увеличению на 30% продолжительности жизни мышей, большей устойчивости к окислительному стрессу, вызванному прооксидантом паракватом, и к защите от различных патологических состояний, связанных с повышенным образованием активных форм кислорода (АФК). На модели эмбриональных фибробластов мышей с нокаутом p66shc было установлено, что этот белок необходим для развития p53-зависимого апоптоза в ответ на обработку перекисью водорода.

Белок p66shc может стимулировать образование АФК и вне митохондрий. Возможно, p66shc способствует координации образования АФК в митохондриях и на плазматической мембране.

Имеются данные о том, что p66shc участвует в развитии окислительного стресса, вызванного диаллилтрисульфидом, компонентом чеснока, обладающим противоопухолевой активностью. P66shc способствует накоплению АФК за счет снижения экспрессии ферритина и повышения количества свободного железа в клетке. Прооксидантное действие p66shc может дополнительно определяться снижением антиоксидантной защиты клетки. Так, на культурах трансформированных клеток человека показано, что снижение

уровня p66shc приводит к усилению синтеза антиоксидантных ферментов и факторов, таких как глутатионпероксидаза (GPX1), Mn-зависимая супероксиддисмутаза (MnSOD) и фактор REF1. Однако в опытах на мышах *in vivo* и эмбриональных фибробластах мыши *in vitro* установлено, что p66shc не влияет на уровень антиоксидантных ферментов. Можно предположить, что в нормальных и трансформированных клетках p66shc-зависимые сигнальные пути могут различаться, либо существуют различия между клетками человека и мыши. В этой связи необходимо отметить еще одно видимое противоречие, а именно, способность p66shc защищать некоторые трансформированные клетки от апоптоза. На модели рака молочной железы показано, что подавление синтеза p66shc усиливает цитотоксическое действие гипоксии. Выяснилось, что повышенный при гипоксии уровень p66shc способствует синтезу белков Notch3 и карбоангидразы IX, что характерно для фенотипа устойчивости к гипоксии. Возможно, подобные механизмы объясняют положительную корреляцию между уровнем p66shc и неблагоприятным прогнозом при злокачественных опухолях толстой кишки. Известно, что белок p53, который определяет апоптогенные свойства p66shc, мутирован в 40–60% случаев рака толстой кишки. Вероятно, по этой причине в опухолях толстого кишечника не происходит негативной селекции клеток, продуцирующих p66shc.

Повышение уровня p66shc, а также Rac1 и eps8 часто обнаруживают и при раке пищевода. Имеются данные и о том, что p66shc ассоциирован с ускоренной пролиферацией и злокачественной трансформацией в модели эпителиальных клеток человека.

Экспрессия p66ShcA повышается в опухолях молочной железы с мезенхимальными признаками, включая люминальный подтип А, у которого обычно состояние более похоже на эпителиальное. При таких опухолях у пациентов более хороший исход.

Повышенные уровни p66ShcA индуцируют получение мезенхимальных признаков во всех опухолях молочной железы, они значительно повышены только в claudin-low и базальном подтипах опухолей. Это говорит о том, что p66ShcA увеличивает пластичность опухолей молочной железы, способствуя коэкспрессии люминальных и мезенхимальных генов. Удивительно, но в базальном подтипе p66ShcA может ограничить пластичность, направляя эти более пластичные опухоли к полному ЭМП и способствуя появлению claudin-low опухолей молочных желез.

Совокупность данных показывают, что p66ShcA может служить клиническим биомаркером пластичности рака молочной железы, посредством индукции ЭМП, независимо от молекулярного подтипа.

Установленные клеточные линии рака молочной железы сохраняют многие люминальные или базальные признаки, которые наблюдаются при первичных опухолях на молекулярном уровне, они не фиксируют присущую гетерогенность, которая находится в первичном клиническом материале. Таким образом, они являются полезным имитатором, но не дают точного представления о том, что происходит при первичных раках молочной железы.

Многочисленные исследования подчеркивают важную роль изоформы ShcA при раке молочной железы. Повышенная передача сигналов ShcA предсказывает поражение лимфатических узлов, высокую степень злокачественности и риск рецидивов у пациентов с раком молочной железы. Высокие уровни ShcA часто встречаются при HER2 + и базальных опухолях и ассоциируются с уменьшением выживаемости больных раком молочной железы.

О.Б. Низовибатько, Е.С. Брыксина

**Частота расщепления твердого и мягкого неба
(по данным города Тамбова)**

*Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина,
Тамбов, Россия*

O.B. Nisovibatko, E.S. Briksina

**The frequency of cleavage of the hard and soft palate
(according to the city of Tambov)**

За последние пару сотню лет человеческая цивилизация сделала самый большой шаг в своей истории. Для человека он несет в себе не только развитие технологий и науки в целом, но и большое количество скрытых опасностей.

За периоды второй половины XX – начала XXI века, произошло качественное и количественное увеличение неблагоприятных факторов, способных нанести вред, такому хрупкому и сложному процессу – как развитие человека, а именно эмбриогенезу, не только в критические его периоды, которые являются самыми податливыми к внешнему воздействию, но и на любой стадии данного процесса.

Говоря конкретно, большинство пороков развития лицевого скелета представляют собой незаращение эмбриональных щелей.

Новорожденные с аномалиями лицевого черепа обязаны проходить длительный и сложный курс реабилитации, который включает в себя:

- взятие на учет в специализированном учреждении;
- консультации специалистов (педиатра и ортодонта);
- ортодонтическое и педиатрическое лечение;
- восстановление и реконструктивные хирургические операции;
- обучение в дефектологических спецшколах и интернатах.

Реабилитация сложна как физически, так и морально не только для ребенка, но и для его родителей. Курс лечения начинается с самого рождения и заканчивается в подростковом возрасте.

Именно поэтому нам было необходимо изучить данную проблему с помощью сбора и анализа статистики встречаемости аномалий лицевого черепа у новорожденных города Тамбова, на основе которых будет производиться

сравнение, с целью разработки методики профилактики, для предупреждения и предотвращения их возникновения.

Цель исследования. Сбор статистических данных, полученных в больницах г. Тамбова для оценки частоты рождаемости детей с аномалиями развития лицевого черепа. С помощью полученных данных мы смогли бы сравнить частоту рождаемости детей с аномалиями, с общемировой статистикой и вывести закономерность, которая на практике отражает позитивные или негативные тенденции возникновения пороков развития у новорожденных г. Тамбова.

Материалы и методы исследования. В нашем исследовании использовались статистические и сравнительные методы для достижения поставленных целей.

В процессе сбора информации мы побывали в отделении патологии новорожденных ТОГБУЗ «Городская клиническая больница имени Архиепископа Луки г. Тамбова». В отделение в 2016 году поступило 582 новорожденных, у которых не наблюдалось никаких серьезных аномалий, и лишь только у одного ребенка было диагностировано расщепление мягкого и твердого неба.

В акушерском отделении ТОГБУЗ «Городская клиническая больница №3 г. Тамбова» нами была получена следующая информация: на 1780 новорожденных в 2016 году диагностировано 3 расщепления мягкого и твердого неба. Иные аномалии отсутствовали.

В дальнейшем мы будем отталкиваться именно от этих показателей, взятых с маршрутизации двух ЛПУ.

Результаты исследования. Зная, что общемировые нормы встречаемости расщепления мягкого и твердого неба – это 1,8-2 новорожденных на 1000, причем за последние 20 лет количество таких детей увеличилось в полтора раз, мы получили следующие данные:

$$\frac{\text{Число диагностированных аномалий}}{\text{Число пациентов}} \times 1000 = \text{Искомое значение частоты}$$

$$\frac{4}{2362} \times 1000 \approx 1.69$$

Частота встречаемости расщеплений мягкого и твердого неба в г. Тамбове по сравнению с общемировой статистикой находится в пределах нормы.

Следует отметить, что показатель склонен стремиться к верхнему пределу нормы, но так как в силу несовершенства законодательства, мы не смогли получить всеобъемлющей статистики по городу Тамбову, то не будем брать в расчет мелкие отклонения, которые, к сожалению, недопустимы в точных исследованиях.

Выводы:

1. В Тамбове наблюдается положительная тенденция возникновения аномалий лицевого черепа, чего стоит только отсутствие серьезных пороков развития и нахождение выявленных в пределах мировых норм.

2. Необходимость разработки мер профилактики данных заболеваний среди потенциальных матерей и беременных женщин,

3. Кроме профилактики важны и меры по устранению последствий проявления аномалий, такие как: привлечение психологов для работы с молодыми матерями, столкнувшимися с данной проблемой. Расширить квоты на проведение реконструктивных операций.

А.С. Одинцов¹, Д.Р. Слуцкая²

Морфология нейронов коры больших полушарий головного мозга при эпилепсии

*ГБУЗ «Санкт-Петербургский городской психоневрологический диспансер
(со стационаром) № 7», Санкт-Петербург, Россия (1)*

*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия (2)
(dina_hanieva@mail.ru)*

A.S. Odintsov, D.R. Slutskaia

Morphology of the neurons of the cerebral cortex in epilepsy

Эпилепсия относится к группе неврологических расстройств и ее этиология и патогенез активно изучаются многими исследователями [3-5]. Известно, что в патогенезе эпилепсии большую роль играют изменения функционального состояний нейронов в области эпилептического очага [2]. Кроме того, существуют и морфологические изменения тканевых элементов. Большинство исследований носят физиологический характер, морфологические изменения в настоящее время описаны недостаточно.

Височная эпилепсия является особой формой корковой эпилепсии и встречается наиболее часто [1].

Целью исследования было изучение патоморфологических изменений нейронов коры больших полушарий головного мозга при некоторых заболеваниях ЦНС.

Материал и методы. Для исследования брали образцы мозга человека, полученные при патологоанатомических вскрытиях трупов 8 мужчин и 10 женщин в возрасте 18-72 лет, имевших в анамнезе височную эпилепсию. Головной мозг фиксировали в 10% растворе формалина. Готовили гистологические срезы по стандартной методике и окрашивали их гематоксилином и эозином, крезильным фиолетовым по Нисслю.

Результаты. При изучении срезов головного мозга (височной коры) выявляются изменения нейронов II, III, IV слоев. Наиболее выраженные патоморфологические изменения наблюдались в III и IV слоях коры. В III слое (наружная пирамидная пластинка) наблюдается нарушение citoархитектоники, встречаются клетки с явлениями гиперхроматоза ядра и цитоплазмы. Появление гиперхромных клеток в коре височной доли и их очаговое располо-

жение свидетельствуют, очевидно, о локальной гипоксии. Изменения нейронов носят преимущественно очаговый характер. При изучении препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином у большинства нейронов плохо просматриваются ядра и интенсивно окрашивается цитоплазма. Вокруг тел нейронов во всех слоях коры просматриваются очаги оптического опустошения. Были обнаружены также явления нейронофагии (18%). А в IV слое (внутренней зернистой пластинке) встречаются нейроны с признаками кариорексиса и явлениями хроматолиза с образованием клеток-теней ($35,1 \pm 1,5$ %). Встречаются единичные нейроны палочковидной формы. В каждом наблюдении имелись нейроны с необратимыми изменениями (4-5% гибнущих клеток). Реакция дифферона глиоцитов была менее выражена в коре, нежели в белом веществе, где наблюдался глиоз.

Реактивные изменения коснулись и сосудов микроциркуляторного русла. Резко выражено кровенаполнение венул и капилляров. Эндотелиоциты внутренней оболочки стенки сосудов характеризуется набуханием ядер и отеком клеток.

Таким образом, при эпилепсии в височной коре имеют место реактивные изменения нейронов, имеющие очаговый характер. Дальнейшее изучение морфологических характеристик тканевых элементов структур головного мозга человека при неврологических и психиатрических заболеваниях является необходимым звеном клинических исследований. Данные о морфологических изменениях клеточно-дифферонного состава нервной ткани коры больших полушарий головного мозга могут служить одним из критериев уточнения патогенетических механизмов развития заболеваний.

Литература:

1. Боголепов Н.К. Клинические лекции по невропатологии. – М.: Медицина, 1971.
2. Гайкова О.Н., Новожилова А.П. Морфология эпилептической лейкоэнцефалопатии // Архив патологии. – 1998. – №2. – С. 42-47.
3. Мотавкин П.А., Дудина Ю.В. Морфологические и биохимические аспекты апоптоза при височной эпилепсии у человека и животных // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010. – №1. – С. 8-12.
4. Скиба Я.Б., Одинак М.М., Прокудин М.Ю. и др. Электроэнцефалографическая характеристика эпилептических приступов при различных формах височной эпилепсии // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2014. – 4(48). – С. 79-83.
5. Spencer S. Epilepsy: clinical observations and novel mechanisms // Lancet Neurol. – 2007.

Е.А. Оленев, В.А. Головнёв, Н.В. Выговский, С.В. Соколов, В.Н. Павлик

**Морфологическая картина поджелудочной железы
при летальных исходах с деструктивными формами острого панкреатита**

*ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Новосибирск, Россия
(kvy88@yandex.ru)*

E.A. Olenev, V.A. Golovnjov, N.V. Vygovskij, S.V. Sokolov, V.N. Pavlik

**The morphological picture of pancreas in fatal outcomes with destructive
forms of acute pancreatitis**

Актуальность. Острый панкреатит остаётся одной из самых актуальных и сложных проблем экстренной абдоминальной хирургии. В настоящее время неуклонно увеличивается частота возникновения острого панкреатита, который занимает 3 место (12%) после аппендицита (58%) и острого холецистита (20%) среди острых заболеваний органов брюшной полости [5]. Особую тревогу вызывает рост его тяжелых деструктивных форм, которые составляют в структуре острого панкреатита от 12-18% до 30-50% [2, 7]. При этом в структуре смертности от острой хирургической патологии органов брюшной полости острый панкреатит занимает ведущее место. Ещё остаются не до конца решенными многие вопросы патогенеза острого панкреатита, в том числе и его деструктивных форм [1]. Так, нет ещё полного понимания морфогенеза геморрагического и жирового панкреонекроза [3, 4, 6]. Поэтому, клинико-морфологические исследования острого панкреатита продолжают принимать более глубокий характер.

Цель исследования. Установить наиболее часто встречаемые морфологические формы в структуре летальности при деструктивных формах острого панкреатита.

Материал и методы. Материалами являлись данные историй болезни и протоколы патологоанатомических аутопсий 36 умерших от острого панкреатита пациентов в крупных многопрофильных стационарах г. Новосибирска за период 2016г. Из них женщин было – 19 человек, мужчин – 17 человек. Возраст умерших составил от 42 до 87 лет. Результаты оценивали с помощью статистического метода.

Результаты и обсуждение. Из всего числа умерших, давность заболевания составила 70,55 часов, причём наиболее часто развитие заболевания пациенты связывали с приёмом алкоголя (55,75%) и алиментарной погрешностью (32,75%). В 77,55% летальный исход наступил спустя 3-е суток, в 22,45% до 3 суток. При этом у всех была сопутствующая терапевтическая патология (сердечно-сосудистые заболевания – 67,5%, сахарный диабет – 14,25%). В структуре патологоанатомического диагноза основным заболеванием в 100% был панкреонекроз, при этом, основным его видом был жировой (50,25%), и геморрагический (38,75%), по распространенности в 48,55% то-

тальный. Среди осложнений основного заболевания, у всех умерших до 3 суток был панкреатогенный шок, у умерших после 3 суток наиболее частыми были парапанкреатит, флегмоны забрюшинного пространства и перитонит.

Выводы:

1. Средняя давность заболевания острым панкреатитом составила 70,55 часов, причём почти в половине случаев его развитие пациенты связывали с приёмом алкоголя.

2. У всех умерших пациентов имелась сопутствующая терапевтическая патология, что оказывало существенное влияние на летальность.

3. Летальность в первые 3 суток обусловлена панкреатогенным шоком, а после 3 суток госпитализации - развившимся перитонитом.

4. В структуре патологоанатомического диагноза преобладает жировой, тотальный панкреонекроз.

Литература:

1. Васильев А.В. Патоморфологический анализ органов панкреатодуоденальной зоны при панкреатите // 6-я Всероссийская научно-практическая конференция «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов». – Новосибирск, 2013. – С. 24-25.
2. Васильев А.В. Структурный анализ дуоденопанкреатического комплекса при остром и хроническом панкреатите: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2013.
3. Непомнящих Л.М., Лушников Е.Л., Асатрян А.А. и др. Роль поджелудочной железы в развитии аутоферментной агрессии // Сибирский научный вестник. – 2011. – XV. – С. 57-62.
4. Проценко С.И., Лушников Е.Л., Асатрян А.А. и др. Морфология органов панкреатодуоденальной зоны при остром экспериментальном панкреатите // Сибирский научный вестник. – 2011. – XV. – С. 77-81.
5. Сахно В.Д. Панкреонекроз. Диагностика и обоснование дифференцированного выбора методов лечения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2007.
6. Титова Г.П. Патологическая анатомия панкреонекроза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1989.
7. Bakarev M.A., Vasilyev A.V., Protsenko S.I. Pancreatic Fat Necrosis and Hemorrhagic Necrosis as Separate Morphological and Functional Entities // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – 154(6). – P. 805-809.

Ж.Р. Омарова¹, М.В. Мнихович^{2,1}, С.В. Анистратов³, В.В. Лучинин³,
А.В. Шилов³, И.В. Васин⁴, С.В. Снегур⁴

Саркома Капоши: морфологическая и иммуногистохимическая диагностика

*ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (1)*
*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (2)*

*Московская Международная Лаборатория Патоморфологии
«LABORATOIRES DE GENIE», Москва, Россия (3)*

ГБУ РО «Областная Клиническая Больница», Рязань, Россия (4)

Zh.R. Omarova, M.V. Mnikhovich, S.V. Anistratov, V.V. Luchinin, A.V. Shilov,
I.V. Vasin, S.V. Snegur

Sarcoma kaposhi: morphological and immunohistochemical diagnostics

Саркома Капоши (ангиосаркома Капоши, множественная идиопатическая геморрагическая саркома) – системное опухолевое многоочаговое заболевание сосудистого генеза с преимущественным поражением кожи, лимфатических узлов и внутренних органов, впервые описанная в 1872 году венгерским дерматологом Морицем Капоши. Саркома Капоши (СК) является новообразованием эндотелиальной природы. Веретенообразные клетки являются основным компонентом патологических элементов при данном заболевании. В то же время вопрос об их происхождении является неоднозначным. С одной стороны, веретенообразные клетки экспрессируют маркеры эндотелиальных клеток: CD34, CD36, фактор фон Виллебрандта. Однако позднее было выявлено, что они несут маркеры клеток эндотелия лимфатических сосудов, а также экспрессируют компоненты сигнальных систем, необходимых для лимфангиогенеза. Дифференциальная диагностика саркомы Капоши включает дерматофибром, гистиоцитоидную гемангиому, капошиформную гемангиоэндотелиому, высокодифференцированную ангиосаркому, микровенулярную гемангиому. В связи с необходимостью проведения дифференциальной диагностики с широким спектром онкологических и дерматологических заболеваний иммуногистохимическое исследование с целью идентификации сосудистых и стромальных маркеров может быть использовано в качестве доказательной базы для подтверждения диагноза саркомы Капоши. Новые данные о механизмах патогенеза СК и совершенствование патоморфологических методов диагностики позволили сделать вывод об эндотелиальной природе веретенообразных клеток. Об этом свидетельствует и иммунореактивность веретенообразных клеток к антигену CD34 – специфичному маркеру эндотелия, участвующему в активном ангиогенезе. Несмотря на то что веретенообразные клетки при СК секретируют макромолекулы, специфичные для базальных мембран кровеносных капилляров (фибронектин, ламинин, коллаген

типа IV), представлены веские доказательства их лимфатической эндотелиальной дифференцировки (отсутствие HLA-DR1a и кислой фосфатазы, высокая активность 5-нуклеотидазы). Таким образом, остается открытым вопрос о том, являются ли клетки при СК производным эндотелия кровеносных или лимфатических капилляров.

В исследование были включены 7 ВИЧ-негативных больных, среди них 3 женщины (51,32%) и 4 мужчин (48,68%). Возраст больных от 45 до 75 лет.

Клинико-лабораторные данные были получены в результате проспективного обследования пациентов и анализа амбулаторных историй болезни.

Причиной обращения за медицинской помощью в 6 (72,37%) случаях было обнаружение на коже, преимущественно нижних конечностей, опухолевого образования. У 1 (27,63%) пациента диагноз установлен при аутопсийном исследовании (первичное поражение печени). Биопсия кожи и гистологическое исследование были выполнены по месту жительства и больные направлялись в патоморфологическую лабораторию для уточнения морфологического диагноза с направлятельными диагнозами – гемангиома, ангиосаркома, дерматофиброма.

Материалом для выполнения иммуноморфологического исследования служили: биоптаты кожи и(или) новообразований, готовые парафиновые блоки с тканью кожи и(или) опухолевых образований. Морфологическое исследование гистологических препаратов для верификации варианта СК было выполнено в 76 случаях (100%) путем окрашивания парафиновых срезов толщиной 4-5 мкм гематоксилином и эозином по стандартной методике. Анализ литературных данных и полученные результаты данного исследования позволили нам выделить следующие клинико-морфологических варианты СК: пятнистые элементы (характеризуется: беспорядочным новообразованием сосудов и пролиферацией веретенообразных клеток, пролиферация неправильных кровеносных сосудов, выстланных тонкими эндотелиальными клетками и расположенных вдоль предсуществующих венул и придатков кожи, отсутствует), бляшки (переплетающиеся пучки клеток расположены между новообразованными сосудистыми каналами и щелями. Новообразование сосудов в веретенклеточных очагах СК представлено в основном каналами и щелями, которые выявляются между веретенообразными клетками, как на продольных, так и на поперечных срезах. Эти очаги могут быть ограничены псевдокапсулой), узловая форма (гистологическая картина определяется преобладанием компонентов соответственно пролиферирующих сосудов или веретенообразных клеток. Очаги СК располагаются преимущественно в средней и верхней трети дермы (с распространением в подкожную жировую клетчатку) и внутриорганный ангиоматозный вариант, при котором элемент опухоли представлен тонкостенными сосудистыми полостями, разделенные соединительнотканью прослойками, что имитирует кавернозную гемангиому и может привести к диагностическим ошибкам.

Наряду с вышеописанными признаками, встречаются и диффузные очаги, которым соответствуют пятнисто-инфильтративные элементы. Обычно между очагами СК и эпидермисом остается прослойка интактной дермы, в

которой видны расширенные лимфатические сосуды, что придает гистологическому препарату из пораженного участка вид «швейцарского сыра».

Всем пациентам было проведено иммуногистохимическое исследование при котором в области эндотелия сосудов выявляется мономорфная экспрессия CD34 на мембранах клеток при гетерогенной экспрессии фактора фон Виллебрандта и утрате экспрессии CD31; наблюдается фокальная интенсивная ядерно-цитоплазматическая экспрессия клетками, имеющими строение миофибробластов, и эндотелиоцитами HHV8. Ki-67 интенсивно экспрессируется ядрами клеток, имеющих строение миофибробластов.

В качестве дополнительной диагностической панели были следующие антитела: IgL(lambda), IgL(kappa), CD38, CD3, CD79a, CD30. Были получены результаты: интенсивная цитоплазматическая экспрессия IgL(lambda), IgL(kappa), CD38; мембранно-цитоплазматическая экспрессия CD3, CD30 и мембранная экспрессия CD79a.

Таким образом, патоморфологическая диагностика СК должна сочетать в себе классическое гистологическое исследование, учитывающее наличие хаотичности ангиогенеза, пролиферацию веретенообразных клеток с маркерными признаками эндотелия, иммуноклеточную моноклеарную инфильтрацию и иммуногистохимическое исследование к маркерам эндотелиальных клеток: CD34, CD36, CD31, фактору фон Виллебрандта, также оценку Ki-67

Применение дополнительной диагностической панели, включающей в себя антитела: IgL(lambda), IgL(kappa), CD38, CD3, CD79a, CD30, может быть использована в патоморфологической практике для дифференциальной диагностики саркомы Капоши.

Ж.Р. Омарова^{1,2}, О.Ю. Евсюков¹, В.В. Измайлов², А.А. Зыкин¹, К.В. Буньков³,
Д.А. Соколов⁴, О.А. Лучинина⁵

Морфология удвоения тонкой кишки у детей

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (1)

ЦВКГ им Н.Н. Бурденко, Москва, Россия (2)

ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Смоленск, Россия (3)

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ, Воронеж, Россия (4)

Клинический Госпиталь «Латино», Россия (5)

Zh.R. Omarova, O.Yu. Evsyukov, V.I. Izmailov, A.Y. Zykin,
K.V. Bunkov, D.A. Sokolov, O.A. Luchinina

Morphology of double dimming in children

Удвоение пищеварительной трубки – редкий порок развития, при котором ее часть представляет собой полостное образование, расположенное ря-

дом с сегментом дигестивного тракта, покрытое общей мышечной оболочкой и имеющее общее с ним кровоснабжение. Слизистая оболочка, выстилающая удвоение, может относиться к любому отделу пищеварительного тракта, но чаще имеет строение, соответствующее смежному сегменту. Так же встречаются изолированные кистозные удвоения, не связанные с пищеварительной трубкой. С течением жизни, в ткани удвоенного участка могут развиваться такие патологические процессы, как воспаление, изъязвление и малигнизация, что приводит к различным осложнениям.

Точная статистика встречаемости порока развития не известна. В современной литературе присутствуют описания единичных наблюдений, реже – обзоры с включением не более 50 случаев. Впервые данные по удвоениям пищеварительного тракта привёл E.L. Potter в 1961 году: 2 случая на 900 фетальных и неонатальных аутопсий (Pal K., 2015).

Удвоения тонкой кишки встречаются в 47% всех интраабдоминальных удвоений, из них, удвоения тощей кишки – 10%, подвздошной – 33%, илеоцекальной области – 4% (Macpherson R., 1993). Удвоения представляют собой округлые интрамуральные кистозные внутрибрыжеечные объемные образования (энтерокисты), которые реже имеют вид удлинённых толстостенных образований в виде “рога” или “двустволки”.

Обычно клинические симптомы появляются в раннем детском возрасте, реже у взрослых. Удвоения, располагающиеся на небольшом отдалении от связки Трейца, могут вызывать частичную кишечную непроходимость, имитирующую течение пилоростеноза.

Особенности структурных изменений тонкой кишки в случае ее удвоения в литературе практически не представлены.

Для изучения морфологии удвоения тонкой кишки были использованы препараты, полученные от 16 случаев оперативных вмешательств, в том числе в 12 случаях в объеме энуклеации кистозного удвоения тонкой кишки, в 4 случаях – резекции сегмента тонкой кишки с формированием энтероэнтероанастомоза.

Среди 16 представленных случаев удвоения тонкой кишки по классификации И.Н. Григович (1985) встречались: в 9 случаях – кистозный тип; в 1 случае – дивертикулообразный тип; в 4 – трубчатый тип; в 2 – сегментарно-интрамуральный тип.

По степени связи со стенкой и просветом несущей кишки (Pal K., 2015) имели место следующие типы удвоений: парентеральный кистозный тип – в 12 случаях; парентеральный трубчатый тип – в 4 случаях.

По типу кровоснабжения (Li L., 1998) имели место: параллельный тип удвоения (тип 1) – в 10 случаях, внутрибрыжеечный тип удвоения (тип 2) – в 6 случаях.

При микроскопическом исследовании препаратов поперечных срезов тощей кишки в группе с параллельным кистозным типом удвоения (тип 1 по классификации, предложенной Li L., 1998) выявлены изменения, характерные для хронического неспецифического продуктивного воспаления. Выявляются отек стромы ворсинок, неравномерное кровенаполнение сосудов с набухани-

ем эндотелиоцитов, адгезией и выходом в периваскулярные пространства лейкоцитов. Выявляется неравномерная лимфоидно-плазмоцитарная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы тощей кишки, с единичными макрофагами, множеством эозинофильных клеток и сегментоядерных лейкоцитов. Определяются явления интенсивной десквамации энтероцитов в просвет кишечника, неравномерно выраженные очаги атрофии ворсин с уплощением исчерченной каемки энтероцитов и очаговые булавовидные утолщения дистальных отделов ворсин.

При морфометрическом исследовании стенки тощей кишки из группы с кистозным типом удвоения выявлено уменьшение высоты каемчатых эпителиоцитов и ширины ворсин слизистой оболочки по сравнению с контрольной группой соответственно на 16,75 % ($P \leq 0,01$) и 11,37 % ($P \leq 0,01$) При этом количество бокаловидных клеток увеличено на 18,57 % ($P \leq 0,05$).

При микроскопическом исследовании препаратов поперечных срезов тощей кишки в группе с внутрибрыжеечным кистозным типом удвоения (тип 2) выявлены изменения: очаговая атрофия ворсин с уплощением исчерченной каемки энтероцитов, отек, рассеянная лимфоидная и макрофагальная инфильтрация собственной пластинки, отек подслизистой основы, полнокровие сосудов.

При морфометрическом исследовании стенки тощей кишки из группы с типом 2 удвоения выявлено уменьшение высоты каемчатых эпителиоцитов и ширины ворсин слизистой оболочки по сравнению с контрольной группой соответственно на 11,8 % ($P \leq 0,01$) и 9,7 % ($P \leq 0,01$) При этом количество бокаловидных клеток увеличено на 23,4 % ($P \leq 0,05$).

Обнаруженные структурные изменения стенки тонкой кишки в случае 1 и 2 типов удвоения отражают особенности процессов морфологического ремоделирования и адаптации к измененной гистоархитектонике и функциональной морфологии органа. Относительное увеличение объема бокаловидных клеток свидетельствует о перестройки эпителиального барьера в условиях измененных условий функциональной активности при наличии удвоения тонкой кишки. Детальное изучение структурных предпосылок ремоделирования стенки тонкой кишки представляет исключительный интерес как для понимания локальных особенностей адаптации/компенсации, так и предопределения хирургической лечебной тактики у наблюдаемых пациентов.

Межклеточные и стромально-сосудистые взаимодействия в первичном опухолевом узле и в метастазах в лимфоузлы при колоректальном раке

ГБУ РО «Областная Клиническая Больница», Рязань, Россия (1)

ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Смоленск, Россия (2)

Yu.G. Pavlova, S.V. Snegur, I.V. Vasin, K.V. Bun'kov

Intercellular and stromal-vascular interactions in the primary tumor knowledge and in metastases in lymphauzles in colorectal cancer

Колоретальный рак (КРР) сегодня без преувеличения можно обозначить как проблему мирового масштаба. Метастазы являются основным фактором,отягощающим прогноз колоректального рака. Поэтому, в настоящее время проводится активный поиск дополнительных маркеров, которые предсказывают высокий риск опухолевой прогрессии.

Целью работы является морфологическое, иммуноморфологическое, гистохимическое исследование рака прямой кишки для выяснения характера сосудисто-тканевых реакций на опухолевые клетки, механизмов формирования барьеров на пути инвазии и метастазирования, местного иммунитета, комплекса морфологических параметров степеней анаплазии и выявление клинико-морфологических корреляций как в первичном опухолевом узле, так и при метастазировании в регионарные лимфоузлы.

Материал исследовался от 30 больных раком прямой кишки, радикально оперированных по поводу рака прямой кишки в 2014-2016 гг в ОКБ г. Рязани. Исследовалась удаленная кишка с опухолью и регионарные лимфоузлы. Из 30 больных 15 составили мужчины и 15 – женщины. В возрасте 40 до 80 лет. Материал распределялся по характеру роста, макроскопическим и гистологическим формам рака прямой кишки.

Для определения гистологического типа и варианта строения опухоли, степени ее дифференцировки, глубины инвазии в кишечную стенку, наличия сосудистой инвазии изучали парафиновые срезы, окрашенные гематоксилином и эозином. Слизиобразование оценивали с помощью окраски альциановым синим по Крейбергу. Исследовали также наличие участков некроза, лимфоидной и воспалительной инфильтрации в опухоли.

При гистологическом исследовании материала у всех больных были диагностированы аденокарциномы, которые были представлены различными вариантами строения: железистым, папиллярным, трабекулярным и солидноальвеолярным. Из 30 больных раком прямой кишки у 13 пациентов наблюдали железистый вариант строения опухоли, у 10 - преобладали папиллярные структуры, у 4 - выявлен трабекулярный вариант строения аденокарциномы, у 3 - опухоль была представлена солидными или солидно-альвеолярными структурами.

Высоко дифференцированные аденокарциномы выявлены у 4 пациентов, умеренно дифференцированные - у 20 больных, низко-дифференцированные - у 6 пациентов. По форме роста, наибольшее количество опухолей имело эн-

дофитный рост. У женщин как метастазы в регионарные лимфоузлы, так и в отдаленные органы встречались намного чаще, чем у мужчин. В объемной плотности сосудов и в сосудисто-паренхиматозных соотношениях выявлена закономерность, согласно которой суммарный объем сосудов от нормы — повышается в умеренно дифференцированных опухолях, и уменьшается в низкодифференцированных аденокарциномах.

В раках умеренной и высокой степени дифференцировки коллагеновые волокна были пикринофильны в связи с деструкцией и дезорганизацией соединительной ткани. Метахроматическая реакция стромы свидетельствовала о мукоидизации на начальных этапах развития опухоли и накоплении гликозамингликанов. С дальнейшей прогрессией опухоли в метахромазия имела пятнистый характер, а в низкодифференцированных опухолях отсутствовала, что являлось следствием более глубокой деструкции межуточного вещества. В динамике опухолевой прогрессии отмечается снижение числа тучных клеток в строме. Наименьшее их количество было в низкодифференцированных опухолях, а наибольшие показатели тучноклеточных популяций были обнаружены в умеренно дифференцированных опухолях.

Так же обнаружено, что процентное содержание в опухоли плазмочитов заметно уменьшается, а лимфоцитов — увеличивается; наибольший показатель достигнут в низкодифференцированных опухолях.

В метастатически измененных лимфоузлах наблюдаются неспецифические изменения, характеризующиеся резким полнокровием сосудов, расширением их просвета, стенки сосудов с интерстициальным отеком, содержат большое количество гликозаминогликанов. Ретикулиновые волокна подвержены мультипликации и огрублению эластические мембраны сосудов артериального типа утолщены и фрагментированы. Реакция кровеносного МЦР выражена настолько, что иногда даже синусы подвергаются сосудистой трансформации и могут приобретать признаки кровеносных сосудов. Наряду с этим обнаруживается отложение масс внутрисосудистого фибрина, который окружает клеточные элементы лимфоузла и клетки опухоли. Внутрисосудистый фибрин способствует фиксации клеток опухоли к сосудистой стенке с последующим формированию метастатического узла. Так же показано, что метастатические клетки взаимодействуют, агрегируются и изолируются стромальными элементами, что является одним из факторов роста опухоли.

Таким образом, можно отметить, что в динамике роста и инвазии опухоли происходит деструкция соединительной ткани, которая в начальных стадиях носит поверхностный и обратимый характер. С нарастанием анаплазии углубляются процессы дезорганизации волокнистых структур и межуточного вещества соединительной ткани опухоли, принимая необратимый характер. Внутрисосудистый фибрин способствует метастазированию, опосредуя фиксацию клеток опухоли к сосудистой стенке и последующее формирование метастатического узла. Отложение внесосудистого фибрина, окружающего клеточные элементы и предохраняя их от цитотоксического воздействия иммунокомпетентных клеток и делая невозможным проявление иммунного ответа.

Е.В. Проценко, Л.П. Перетятко

**Дифференциальная диагностика наследственной,
постгеморрагической и поствоспалительной гидроцефалии
у новорожденных 22-40 недель гестации**

*ФГБУ ИвНИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова
Минздрава России, Иваново, Россия*

E.V. Protsenko, L.P. Peretyatko

**Differential diagnosis of hereditary, posthemorrhagic and post-inflammatory
hydrocephalus in newborns aged 22-40 weeks gestation**

Гестационные преобразования неокортекса, обусловленные избыточным накоплением жидкости в вентрикулярной системе головного мозга плодов, в доступной литературе не освещены. Практически нет сведений о патоморфологических различиях гидроцефалий (ГЦ) разной этиологии (Cinalli G., 2004; Johnston M.V., Kinsman S., 2004), которые могли бы быть использованы при разработке профилактических мероприятий в каждом конкретном случае: при наследственной, постгеморрагической и поствоспалительной ГЦ.

Цель работы состояла в изучении гирификации больших полушарий головного мозга и структурных особенностей неокортекса поля №6 (корковое представительство двигательного анализатора) мертворожденных и погибших живорожденных детей 22-40 недель гестации с внутренней гидроцефалией - наследственной, постгеморрагической и поствоспалительной - и установлении критериев дифференциальной диагностики указанной патологии.

Материал и методы. Гирификацию головного мозга изучали фотографическим методом по расположению борозд на конвекситальной, базальной и внутренней поверхностях полушарий большого мозга. Ткань неокортекса, иссеченную в передней трети прецентральной извилины, исследовали на гистологических срезах толщиной 4 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином и тионином по методу Ниссля. Функциональную активность кортикогенеза оценивали методом иммуногистохимической идентификации рилина в клетках молекулярного (I) слоя коры. Группу сравнения составил головной мозг новорожденных с визуально неизменной вентрикулярной системой (30). Головной мозг новорожденных с дилатацией боковых желудочков более 1,0 см, увеличением размеров головы и истончением мозговой паренхимы объединили в группу с гидроцефалией (33) - наследственной, или сопряженной с аномалиями развития сильвиева водопровода (10), постгеморрагической (12) и поствоспалительной (11). Материал в зависимости от гестационного возраста детей разделили на подгруппы: 22-27, 28-32, 33-37 и 38-40 недель. Средние значения толщины неокортекса в группах вычисляли с помощью программы «Statistica 6».

Результаты. У живо- и мертворожденных детей с наследственной гидроцефалией, сформировавшейся на фоне аномалий развития сильвиева водопровода, обнаружены нарушения формирования рельефа коры больших по-

лушарий: микрополигирия (55,6%) и асимметрия борозд первого порядка – 44,4%. Структурными особенностями двигательного анализатора являются атрофия неокортекса, отсутствие дифференцировки II–VI цитоархитектонических слоев, вертикальной ориентацией нейронов и нейрональных модулей, запоздалое - с 33-й недели гестации - появление малочисленных пирамидных клеток Беца, отсутствие экспрессии рилина в нейронах Кахаля–Ретциуса молекулярного (I) слоя. При постгеморрагической ГЦ гирификация поверхности больших полушарий и дифференцировка неокортекса поля №6 сопоставимы с аналогами группы сравнения. Моторную кору характеризуют соответствующие гестационному возрасту новорожденного стратификация слоев и уровень дифференцировки нейронов. В зонах кровоизлияний встречаются ишемические изменения нейронов и глии в виде набухания, некробиоза и некроза ядер с формированием клеток - «теней», локальных клеточных опустошений, а также участки глиоза. Экспрессия рилина в нейронах Кахаля–Ретциуса сопоставима с таковой группы сравнения. Для поствоспалительной ГЦ характерны задержка формирования отдельных постоянных борозд первого порядка – поясной, теменно-затылочной, височных нижней и верхней, центральной, обонятельных, возвратной, зрительных, постцентральной, лобных верхней и нижней и прецентральной - на сроки от 3 до 5 недель, ретардация дифференцировки коркового представительства двигательного анализатора в виде отсутствия подразделения молекулярного (I) слоя на подслои, уменьшения количества клеток в составе вертикальных колонок нейронов наружного зернистого (II) слоя до 2-4, отсроченная дифференцировка пирамидного (III) и внутреннего зернистого (IV) слоев до 33-й недели гестации, пониженная экспрессия рилина в клетках молекулярного слоя (I).

Заключение. Выявленные особенности неокортекса цитоархитектонического поля №6 могут быть использованы в патоморфологии в качестве критериев дифференциальной диагностики гидроцефалий различной этиологии - наследственной, или связанной с аномалиями развития сильвиева водопровода (микрополигирия и (или) асимметричное расположение борозд, отсутствие признаков дифференцировки двигательного неокортекса и экспрессии рилина в нейронах Кахаля–Ретциуса), постгеморрагической (соответствие гирификации, дифференцировки нейронов, гисто- и цитоархитектоники моторной коры гестационному возрасту новорожденных и физиологическая экспрессия рилина в нейронах Кахаля–Ретциуса) и поствоспалительной (ретардация гирификации коры, дифференцировки цитоархитектонических слоев и нейронов неокортекса в связи с прогрессивным понижением экспрессии рилина в нейронах Кахаля–Ретциуса).

В.А. Пчелкина, Е.А. Котенкова, Л.В. Федулова

Патогенез атеросклероза *in vivo*: гистологические аспекты

ФГБНУ «ВНИИМП им. В.М. Горбатова», Москва, Россия
(vivarium@vniimp.ru)

V.A. Pchelkina, E.A. Kotenkova, L.V. Fedulova

Pathogenesis of atherosclerosis *in vivo*: histological aspects

Атеросклероз представляет собой наиболее распространенное хроническое заболевание артерий эластического и мышечно-эластического типа, характеризующееся формированием одиночных и множественных очагов липидных, преимущественно холестериновых, отложений – атероматозных бляшек во внутренней оболочке артерий [1]. Методы экспериментального воспроизведения болезней человека на лабораторных животных являются одними из наиболее адекватных и надежных способов исследований, позволяющих максимально объективно и всесторонне изучить положительное или негативное воздействие различных веществ на патологические процессы. Стоит отметить, что надежным и лучшим может быть лишь такой способ экспериментального биомоделирования, который при достаточном постоянстве получаемых результатов, создает модель, наиболее близкую в патогенетическом отношении соответствующему заболеванию человека. Кроме того, для оценки исследуемых эффектов важно тщательно подбирать критические маркеры как на молекулярно-биологическом, так и на патолого-морфологическом уровне. Во ВНИИМП была разработана экспериментальная модель алиментарной гиперлипидемии и атеросклероза [2], в соответствии с которой у крыс путем обогащения рациона холестерином 0,5-2,0%, животным жиром 5,0-19,0% и введением *per os* витамина D2 в течение 115 сут формировались характерные изменения липидов сыворотки крови и факторов дисфункции эндотелия [3].

Цель исследования - изучение динамики формирования атеросклеротического повреждения стенки аорты у лабораторных крыс с моделью алиментарного атеросклероза гистологическим методом.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись аорты возрастных крыс стока *Wistar* (массой 380±20 г). Было сформировано 2 группы животных: группа 1 – интактные; группа 2 – опытные, подвергавшиеся моделированию гиперлипидемии и атеросклероза [2]. Отбор биологического материала проводили на 28-32, 88-92 и 113-116 сут. Образцы для гистологического исследования фиксировали в 10% нейтральном водном растворе формалина в течение 48 часов при 22±2°C, далее промывали, проводили обезвоживание в спиртах восходящей крепости и заключали в парафин по общепринятой методике. Изготовление срезов толщиной 8 мкм осуществляли на ротаторном микротоме MICROM HM 325 (Microm International GmbH, Германия). Срезы окрашивали: 1 – гематоксилином Эрлиха с докраской 1 %-м водно-спиртовым раствором эозина (BioVitrum) [4]; 2 – по von Kossa (Biovitrum) [5].

Образцы для исследования на наличие липидных инфильтратов готовили с использованием желатинового уплотнения по восходящей концентрации, приготавливали срезы толщиной 8 мкм на криостат-микротоме MICROM HM525 (Microm International GmbH, Германия). Срезы окрашивали Oil Red O (Sigma-Aldrich) с докраской ядер гематоксилином Эрлиха. Изучение гистологических препаратов осуществляли на световом микроскопе «AxioImaiger A1» (Carl Zeiss, Германия) с применением компьютерной системы анализа изображений «AxioVision 4.7.1.0».

Результаты. В результате проведенных гистологических исследований аорт опытных животных на 28-32 сут эксперимента была выявлена активация эндотелия и агрегация форменных элементов крови. Эндотелий, коллагеновые и эластические волокна подверглись деструкции.

На 88-92 сут наблюдали инфильтрацию липидов в интиму в виде капель, окрашенных в оранжевый цвет, склонных к слиянию, а также кристаллов холестерина; разрастание молодых соединительнотканых элементов интимы с последующим созреванием и формированием фиброзной бляшки, в которой появляются тонкостенные сосуды. Поверхность бляшки возвышалась над внутренней поверхностью самого сосуда, приводя к сужению просвета. На 113-116 сутки при окраске по von Kossa было выявлено отложение фосфатов кальция в стенке аорты. Важно отметить, что в одной аорте одновременно наблюдали жировые пятна и полосы, фиброзные бляшки и участки атерокальциноза, что говорит о волнообразном течении атеросклероза.

Выводы. При моделировании алиментарного атеросклероза *in vivo* в результате микроскопических исследований выявлены классические стадии атерогенеза, включающие долипидную стадию (30-е сут); стадию липоидоза и липосклероза (90-е сут) и стадию атерокальциноза (115-е сут).

Исследование выполнено за счет гранта
Российского научного фонда (проект №16-16-10073).

Литература:

1. Атеросклероз. Современные представления и принципы лечения. Рекомендации ВНОК. Научные ведомости Белгородского государственного университета // Медицина. Фармация. – 2009. – 12(67). – С. 84-96.
2. Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Котенкова Е.А., Федулова Л.В. Способ моделирования экспериментального атеросклероза // Патент на изобретение №2524127. 30.05.2014.
3. Чернуха И.М., Федулова Л.В., Котенкова Е.А. Влияние тканеспецифичных биомолекул на дисфункцию эндотелия при атеросклерозе // Все о мясе. – 2016. – №1. – С. 46-49.
4. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969.
5. Krutsay M. Methods for demonstration of some calcium compounds in histological sections // Acta Histochem. – 1963. – №15. – P. 189-191.

С.В. Сазонов^{1, 2}, С.Л. Леонтьев²

Система референсной диагностики рака молочной железы в Уральском федеральном округе

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия (1)

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,

Екатеринбург, Россия (2)

(Prof-SSazonov@yandex.ru)

S.V. Sazonov^{1, 2}, S.L. Leontiev²

The system of reference diagnosis of breast cancer in the Urals Federal

Система референсных исследований (пересмотра) рака молочной железы, созданная Российским обществом патологоанатомов (РОП) в 2006 г. обеспечивает внешний контроль качества проводимых исследований, дает возможность объективно оценить результаты работы разных лабораторий, определить причину выявленных несоответствий и дать рекомендации по их устранению. В рамках созданной системы осуществляется обучение персонала иммуногистохимических (ИГХ) и молекулярно-биологических лабораторий патолого-анатомических отделений учреждений, участвующих в системе стандартизации преаналитического и аналитического этапов проведения исследований и правильности интерпретации получаемых результатов.

Цель исследования проанализировать состояние молекулярно-биологической диагностики рака молочной железы (РМЖ) в учреждениях Уральского федерального округа при организации внешнего контроля качества проводимых исследований.

Материал и методы. В настоящее время в Российской Федерации ИГХ исследования РМЖ проводятся в 89 лабораториях, включая 6 референсных. В 2016 г. выполнено более 265 тыс. иммуногистохимических исследований, протестировано 43.322 пациенток с раком молочной железы, в том числе в 4.842 – в Уральском федеральном округе. Молекулярно-биологические исследования (методом ISH) с 2007 г. выполняются в референсной лаборатории УрФО. Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии HER2 neu и молекулярно-биологические исследования по выявлению наличия амплификации гена HER2 neu проводятся на автостейнере экспертного класса Ventana autostainer Benchmark GX (Universal Staining System, USA) с использованием реагентики INFORM HER2 Dual ISH DNA (Ventana, USA) в модификации SISH dual color. В конце каждого года проводится анализ результатов деятельности лабораторий, выявляются основные ошибки преаналитического и аналитического этапов, на его основе разрабатываются корректирующие мероприятия. В 2016 г. заведующие трех референсных лабораторий приняли участие в разработке и подготовке к изданию Клинических рекомендаций Российского общества онкомаммологов:

«Золотой стандарт» диагностики и лечения рака молочной железы», вошли в состав авторского коллектива, наряду с ведущими экспертами других специальностей [2]. В обеспечение функционирования референсных исследований проработаны юридические вопросы с обеспечением прав пациентов РМЖ, отработана процедура оформления информированного согласия на проведения референсных исследований [3]. Решены вопросы логистики и доставки материала пациенток в референсную лабораторию второго просмотра и Центральную референсную лабораторию [4]. С 2012 г. референсные лаборатории проходят сертификацию через Европейскую систему контроля качества – NordIQC (Nordic Immunohistochemical Quality Control) по основным методам исследования [5].

Результаты. Охват ИГХ исследованиями РМЖ в учреждениях УрФО составляет в среднем около 94% всех пациенток. Проведение ИГХ тестирования осуществляется крайне неравномерно в территориях колеблется от 84 до 100% от всех случаев. Средний процент протестированных на HER2 и расцененных как 2+ находится в пределах от 8,0 до 29,5% в разных лабораториях. Не меньшая разница отмечается и при анализе числа случаев с уровнем экспрессии 3+, где разброс средних результатов тестирования составляет от 10,2 до 34,5%. На референс из 13 лабораторий поступает около 7,0-10,0% от всех исследованных случаев РМЖ. Процент совпадения результатов ИГХ исследований лабораторий первого просмотра и референс- лаборатории колеблется от 72 до 100 от всех прошедших референс случаев. Лучшие результаты, как правило, показывают лаборатории с большими объемами ИГХ исследований и оснащенные автостейнерами. Среди подтвержденных в референсной лаборатории УрФО HER2 неопределенных случаев РМЖ молекулярно-генетическим методом ISH амплификация установлена в 24% случаев. При проведении референсных исследований в Центральной референсной лаборатории (руководитель – академик РАН Г.А. Франк) результаты исследований подтверждены в 96% случаев, что позволяет говорить об достаточной конкордантности (совпадения) работы Центральной и региональной референсной лаборатории УрФО.

Итоги работы референсных лабораторий, обсуждение новых подходов в диагностике РМЖ происходит на проводимых РОП ежегодных Форумах экспертов по диагностике и лечению рака молочной железы с привлечением иностранных и отечественных ведущих специалистов: как патологов, так и клиницистов и использованием интерактивных технологий обучения.

Литература:

1. Франк Г.А., Андреева Ю.Ю., Виноградов И.Ю. и др. 10 лет тестирования HER2-статуса рака молочной железы в России // Архив патологии. – 2012. – 74(5). – С. 3-6.
2. Семиглазов В.Ф., Палтуев Р.М., Манихас А.Г. и др. «Золотой стандарт» диагностики и лечения рака молочной железы. Клинические рекомендации РО-ОМ. – СПб.: Изд-й дом «АБВ-пресс», 2016.
3. Леонтьев С.Л., Сазонов С.В. Создание системы пересмотра иммуногистохимических исследований при диагностике рака молочной железы // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – 1(38). – С. 18-22.

4. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Опыт работы референс-лаборатории по HER2/neu тестированию карциномы молочной железы в Свердловской области // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. – 1(43). – С. 56-60.

5. Vyberg M., Torlakovic E., Seidal T. et al. Nordic immunohistochemical quality control // Croat. Med. J. – 2005. – №46. – P. 368-371.

О.П. Сарыева, А.П. Вахромеев, Л.П. Перетятко

Патоморфология последов женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани

*ФГБУ «ИвНИИ МиД им. В.Н. Городкова» МЗ России, Иваново, Россия
(ivniimid@ivnet.ru)*

O.P. Saryeva, A.P. Vakhromeev, L.P. Peretyatko

Pathomorphology of the placentas women with undifferentiated connective tissue dysplasia

Проблема недифференцированной дисплазии соединительной ткани (нДСТ) вызывает в последние годы повышенный интерес различных специалистов. Актуальность проблемы обусловлена широким диапазоном частоты встречаемости (от 26 до 80%) и разнообразием висцеральных проявлений. С акушерских позиций интерес к проблеме нДСТ связан с недостаточно изученными особенностями течения беременности, родов, исходами для новорожденных, с морфологическими – недостаточной и противоречивой информацией о структурных изменениях в последе. Настоящее исследование проведено с целью изучения морфологических особенностей последов женщин с нДСТ.

Материал и методы. Для патоморфологического исследования использовали материал 32 последов. Основную группу составили 22 последа от женщин с нДСТ, контрольную – 10 плацент, полученных от женщин, без проявлений нДСТ. Оценка структурных особенностей плацент включала макроскопическую характеристику, органомерию (масса и площадь материнской поверхности), обзорную гистологию и иммуногистохимическое исследование (определение экспрессии ММР-9 в плодных оболочках).

Результаты. При макроскопическом исследовании в основной группе, как и в контрольной, преобладали плаценты правильной, округлой или овальной формы (69,2% и 90% соответственно). При этом отмечено недостоверное увеличение частоты встречаемости плацент неправильно-вытянутой формы, с фестончатыми краями, с дополнительными дольками (30,8%, $p=0,1445$). Органометрические параметры плацент основной группы не имели достоверных отличий от контрольной, что, вероятно, связано с преобладанием нормотрофичных плацент (61,5%) и небольшим числом гипоплазированных последов

(15%). Более половины последов основной группы имели аномальное прикреплeние пуповины (53,8%), в том числе оболочечное (7,7%), являющееся неблагоприятным для развития плода. При этом наиболее физиологичный вариант прикреплeния пупочного канатика – центральный – не выявлен ни в одной плаценте данной группы. Большинство пуповин имели следующие патологические изменения: извитость (77%), варикозное расширение пупочной вены (61,5%), отек (23%), ложные узлы (9%). Количество плацент окруженных ободком или валиком в исследуемых группах статистически не отличалось, поскольку составило 60% в основной и 40% в контрольной группе ($p=0,1680$). В четверти плацент основной группы диагностирован магистральный тип кровоснабжения плодовой поверхности, который является физиологически неблагоприятным и характеризуется неравномерным распределением сосудов, отсутствием анастомозов между ними и гиповаскуляризацией краевых зон. Гистологически в плацентах женщин с нДСТ диагностированы такие нарушения созревания ворсинчатого хориона как вариант диссоциированного нарушения созревания (22,7%) и вариант промежуточных недифференцированных ворсин (9%). Последний вариант нарушения созревания не встречался в контрольной группе. В большинстве плацент основной группы (55%) отмечено смешанное, вирусно-бактериальное воспаление в базальной децидуальной оболочке. Частота встречаемости острых и хронических нарушений маточного и плацентарно-плодового кровообращения в исследуемых группах не имела статистически значимых отличий. Амниотический эпителий внеплацентарных оболочек уплощен, местами десквамирован. Компактный слой в световом микроскопе выглядел разволокненным, обедненным клетками. Гистологически отмечено чередование зон истончения компактного вещества и гиалиноза. Наблюдалась неравномерная толщина, а в ряде случаев гипоплазия цитотрофобластического и децидуального слоев (за счет уменьшения количества клеток). В цитотрофобластическом слое преобладали вакуолизированные формы клеток. В децидуальном слое отмечены мелкоочаговые периваскулярные кровоизлияния. Частота адаптивных и компенсаторных процессов в плацентах основной группы достоверно меньше таковой в группе контроля. Из адаптивных и компенсаторных процессов преобладали гиперплазия синцитиальных почек (54,5%; $p=0,01174$) и полнокровие капилляров терминальных и промежуточных ворсин (45,5%; $p=0,03410$). При сопоставлении патоморфологических изменений в плацентах со степенью выраженности процессов адаптации и компенсации в 80% случаев диагностирована субкомпенсированная форма хронической плацентарной недостаточности. При иммуногистохимическом исследовании уровень экспрессии ММР-9 в структурах внеплацентарных оболочек плацент женщин с нДСТ был достоверно выше, чем в группе контроля. Последнее, непосредственно связано с участием ММР-9 в прогрессирующей дезорганизации соединительной ткани при нДСТ.

Выводы. Таким образом, последы женщин с нДСТ отличаются многообразием изменений пупочного канатика, нарушениями созревания ворсинчатого хориона и структурными перестройками плодных оболочек. Последние сопровождаются увеличением экспрессии ММР-9 амниоцитами и клет-

ками цитотрофобласта во внеплацентарных оболочках, участвующих в дезорганизации компонентов соединительной ткани в последе при нДСТ.

О.С. Сидорук, Н.П. Можейко

Морфологическая оценка состояния печени у прижизненных доноров

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Россия

O.S. Sidoruk, N.P. Mozheiko

Morphological assessment of liver status in living donors

Актуальность. Ортотопическая трансплантация печени (ОТП) – это единственный радикальный метод лечения детей с врожденными заболеваниями, приводящими к возникновению цирроза печени в первые годы жизни. В нашем Центре чаще всего донорами фрагментов печени для таких больных становятся их ближайшие родственники, а значит, как правило, молодые люди, у которых не предполагается никаких патологий печени и желчевыводящих путей. При клиническом обследовании (биохимический и клинический анализ крови, ультразвуковое исследование) у предполагаемых доноров патологии выявлено не было. Однако при исследовании биопсии печени обнаруживались неспецифические патологические изменения различной степени выраженности.

Цель исследования. Разработать критерии для дополнительной оценки состояния печени родственных доноров.

Материалы и методы. Проведен анализ результатов гистологического исследования 378 биоптатов 323 прижизненных доноров печени (мужчин – 133: возраст 18-52 лет; женщины – 190: возраст 18-57 лет). Доноры были разделены на 3 группы с разницей в 10 лет. Группа доноров старше 50 лет включает в себя 3 человек, в связи с чем, было решено исключить ее, как единичные случаи. Оценивались такие критерии как: жировая дистрофия, белковая дистрофия, фиброз, полнокровие синусоидов, «песочные ядра», некроз гепатоцитов, воспалительная инфильтрация, внутриклеточных холестаз, полиморфизм гепатоцитов и активация клеток Купфера. Степень стеатоза оценивалась по 3-х бальной шкале: до 30% - легкая, 30 - 50% - умеренная, более 50% - тяжелая, так же по типу – макровезикулярный, средне- и микровезикулярный. Фиброз оценивался по шкале METAVIR, где F0 – отсутствие фиброза, F1 – фиброз без образования септ, F2 – фиброз с единичными септами, F3 – фиброз с множественными септами без цирроза, F4 - фиброз с множественными септами и циррозом. Использовались рутинные гистологические методы окраски гематоксилином и эозином, трихромом по Массону. Белковая дистрофия по степени выраженности была разделена на – зернистую дистрофию, гиалиново-капельную и гидропическую дистрофии.

Результаты. Наиболее часто встречающейся патологией является белковая дистрофия гепатоцитов, составляющая 90.7%, полнокровие синусоидов встречается в 49.5% случаев, а жировая дистрофия в 35%. Остальные патологические изменения составляют от 2.5 до 19%. С увеличением возраста прослеживается рост частоты и степени жировой дистрофии, воспалительной инфильтрации и незначительно - фиброза.

Так же замечено, что жировая и белковая дистрофии, фиброз и «песочные» ядра – чаще встречаются у мужчин, в то время как таким патологиям как некроз гепатоцитов, холестаз, полиморфизм ядер гепатоцитов и активация клеток Купфера наиболее подвержены женщины.

В работу вошли клинически здоровые потенциальные доноры, у 18.9% из которых при гистологическом исследовании были обнаружены изменения ткани печени, которые являются причиной отказа от донорства. В ряде случаев, после прохождения лечения при повторной биопсии показатели улучшились, что позволило выполнить последующую трансплантацию, однако встречались случаи, без положительной динамики состояния ткани печени и было решено отказаться от данного донора (в 3.4% случаев).

Закключение. Результаты нашего исследования показали, что даже у клинически здоровых потенциальных прижизненных доноров репродуктивного возраста встречаются в разной степени все оцениваемые критерии и в ряде случаев их выраженность является причиной отказа от донорства. Это подтверждает важность проведения диагностической биопсии у прижизненных родственных доноров печени с целью снижения риска развития послеоперационных осложнений у доноров и возникновения печеночной недостаточности у реципиента, вызванных донорской патологией.

Ф.А. Сипин^{1,2}, К.С. Севостьянова^{1,2}, М.Л. Филипенко^{1,2}, М.А. Сметанина^{1,2}

**Изменение уровня экспрессии ряда генов,
участвующих в метаболических процессах,
при варикозной трансформации стенки вены**

*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия (1)
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия (2)*

F.A. Sipin, K.S. Sevastianova, M.L. Filipenko, M.A. Smetanina

**Change in the expression level of many genes involved
in metabolic processes in varicose vein wall transformation**

Актуальность. Варикозная болезнь вен – социально значимое заболевание с симптомами, значительно снижающими работоспособность человека. Распространённость этого заболевания внушительна – до 32% среди женщин и 21% среди мужчин (в России варикозная болезнь вен (ВБВ) встречается

примерно у четверти населения). Существуют достаточно подробные морфологические описания варикозно измененных вен, однако, на современном этапе развития науки эти знания не обеспечивают понимания полной картины патоморфогенеза ВБВ. Были показаны общие тенденции ремоделирования венозной стенки: утолщение, разрастание и набухание клеток t.intima, гиперплазия гладкомышечных клеток (ГМК) и смена их фенотипа с сократительного на секреторный, развитие флебосклероза и асептического воспаления. Одним из направлений исследований по ВБВ является подробное изучение ее генетической составляющей. Было проведено несколько микрочиповых исследований, по результатам которых были выделены гены с изменённым уровнем экспрессии при ВБВ, продукты которых могут принимать участие в патогенезе заболевания. Для части этих генов изменение уровня их экспрессии было подтверждено независимым методом (ПЦР «в режиме реального времени»), в том числе в нашей лаборатории. Продукты обозначенных генов влияют на группу глобальных процессов, таких как клеточный метаболизм, апоптоз, активность структурных молекул, организация органелл, транспорт веществ, клеточное деление, основные метаболические процессы и др. В настоящее время существуют некоторые гипотезы о сигнальных путях, приводящих к развитию ВБВ. Однако эти схемы на данном этапе гипотетические и не до конца подтверждённые, кроме того в литературе постоянно появляются сообщения о новых генах, потенциально участвующих в патогенезе ВБВ.

Цель исследования. Целью данной работы является уточнение составной части схем, приводящих к ремоделированию стенки вены при варикозном расширении, с точки зрения выяснения роли генов, принимающих участие в основных метаболических процессах, в том числе в метаболизме АТФ.

Материалы и методы. Поиск интересующих статей по данной теме осуществлялся в базе биомедицинских данных PubMed. Для детального изучения принимались во внимание статьи с микрочиповыми или протеомными исследованиями с указанием списка генов с дифференциальным уровнем экспрессии в варикозных венах (по сравнению со здоровыми). Далее были выделены гены, участвующие в метаболизме, изменение уровня экспрессии которых было зафиксировано и в микрочиповом исследовании внутри нашей лаборатории ранее, и в опубликованных статьях.

Результаты и их обсуждение. Нами было выделено 4 гена, соответствующих поставленным условиям: регуляторная субъединица 12В белковой фосфатазы (*PPP1R12B*), калуменин (*CALU*), глюкозо-6-фосфат изомеразы (*GPI*), ген АТФ-связывающего кассетного транспортера (*ABCA1*).

PPP1R12B является белком из трёх субъединиц, выполняет функции миозиновой фосфатазы лёгкой цепи. Гидролиз фосфорилированных лёгких цепей миозина приводит к расслаблению гладкомышечных клеток (ГМК), что, возможно, может быть одним из факторов ремоделирования стенки вены с последующим её расширением и появлением венозного рефлюкса. Калуменин – белок, локализованный в эндоплазматическом ретикулуме, участвующий в фолдинге и сортировке белка. Также появляются сведения о связи сосудистой кальцификации с фенотипическим переходом сосудистых ГМК в

остеобластоподобные. GPI в цитоплазме функционирует как гликолитический фермент, однако во внеклеточном матриксе он может в том числе функционировать как фактор аутокринной моторики, так как он может секретироваться опухолью в качестве цитокина и ангиогенного фактора. ABCA1 является мембранным белком из семейства АТФ-связывающих кассетных транспортеров. Белок может работать как помпа для удаления холестерина, обладая активностью переноса липидов. Кроме того, он может участвовать в воспалительных процессах как противовоспалительный фактор, так как способен ингибировать сигналинг TLR4 (Toll like Receptor 4), по-видимому, за счёт изменения липидных микродоменов. Также ABCA1 способен связывать янус киназу 2 (JAK 2) и транскрипционный фактор STAT3, что ингибирует передачу сигнала в клетке, который используется макрофагами для увеличения экспрессии и секреции воспалительных цитокинов.

Выводы. Таким образом, нами были отмечены некоторые гены, роль которых в патогенезе ВРВ не была приведена ранее, однако было замечено изменение уровня их экспрессии. Данные могут быть использованы для последующих исследований с целью подтверждения изменения уровня экспрессии таких генов независимым методом и уточнения характера этого изменения в зависимости от стадии заболевания.

Работа поддержана РНФ 17-75-20223.

П.И. Слесарев^{1,2}, Д.В. Дианов^{1,3}, Р.В. Аристархов^{1,3}, Д.А. Пузин^{1,3},
С.О. Артюхин^{1,3}, Н.Р. Халяпина^{1,3}, В.Г. Аристархов^{1,3}, Р.В. Деев^{1,4}

Изменение профиля заболеваемости аденомами щитовидной железы в Рязанской области

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (1)*

ГБУ РО «Областной клинический кардиодиспансер», Рязань, Россия (2)

ГБУ РО ГКБ №11, Рязань, Россия (3)

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (4)

P.I. Slesarev, D.V. Dianov, R.V. Aristarchov, D.A. Pusin,
S.O. Artuchin, N.R. Chalapina, V.G. Aristarchov, R.V. Deev

Change in the incidence profile of thyroid adenomas in the Ryazan region

По различным данным до 40% населения России страдают от заболеваний щитовидной железы, при этом в отдельных регионах доля пациентов, нуждающихся в лечении, приближается к 95%.

Цель исследования: анализ динамики узловой патологии ЩЖ в Рязанской области за период с 1985 по 2015 гг.

Материалом для работы послужили ЩЖ, полученные от пациентов с узловой патологией ЩЖ.

Количество больных с аденомами до 1985 составляло – 44 человека, в 1994 – 201, в 2004 – 341, в 2014 – 451, а в 2015 – 427. Рак щитовидной железы (РЩЖ) в 1985 – 30 человек, в 1994 – 101, в 2004 – 56, в 2014 – 69, а в 2015 – 55. Кроме увеличения количества больных, отмечается увеличение числа пациентов с множественными аденомами. В 1985 г. количество больных с данной патологией составляло всего 2,3% от общего числа больных, оперированных по поводу аденом, в 1992 – уже 10,3%, а в 2004 – 32,4%, в 2014 – 36,6%, в 2015 – 38,3%. Количество рецидивов одиночных аденом за десять лет с момента операции составляет 4-5%, множественных – более 50%. Зарегистрировано менее 1% рецидивов злокачественных опухолей, что связано с проводимой онкологическим больным радикальной тиреоидэктомией и, при наличии метастазов, с комбинированной терапией радиоактивным йодом и лучевой терапией.

Вторым качественным изменением было увеличение количества одновременных сочетаний аденомы железы и рака ЩЖ. Так, в 1985 г. они составляли 5,1% от всех больных с узловой патологией, в 1992 – уже 10,5%, в 2006 – 37%, в 2014 – 42,9%, в 2015 – 46,6%.

Таким образом следует констатировать значительное количественное увеличение опухолевой патологии ЩЖ (более чем в 9 раз за последние 28 лет). Нельзя исключить, что, несмотря на относительно небольшой уровень загрязнения территории Рязанской области, одним из способствующих этому факторов являлась авария на Чернобыльской АЭС, произошедшая в 1986 году.

М.А. Сметанина^{1,2}, Ф.А. Сипин^{1,2}, И.В. Золотухин^{1,3}, М.Л. Филипенко^{1,2}

Экспрессия гена CX3CR1 при варикозной трансформации стенки вены

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия (1)*

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия (2)

*Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия (3)*

M.A. Smetanina, F.A. Sipin, I.V. Zolotuchin, M.L. Filipenko

Expression of the CX3CR1 gene in varicose vein wall transformation

Актуальность. Несмотря на высокую распространенность варикозной болезни вен (ВБВ), наши знания о молекулярных механизмах, лежащих в основе ее патогенеза, крайне ограничены. В этой связи, изучение взаимосвязи маркеров дисфункции эндотелия с ремоделированием сосудов (что характерно для ВБВ) остается актуально.

По данным проведенного нами ранее объединенного микрочипового анализа транскриптома и метилома парных образцов вен (здоровой и варикозной), среди функционально значимых генов в патогенезе ВБВ нам представляется ген фракталкинового рецептора – CX3CR1. Продукт этого гена

экспрессируется на цитотоксических эффекторных лимфоцитах, включая натуральные киллеры и цитотоксические Т-лимфоциты, содержащие высокие уровни внутриклеточного перфорины и гранзима В, а также на гладкомышечных клетках и макрофагах. Его лиганд – фракталкин CX3CL1 – является уникальным хемокином, который функционирует не только как хемоаттрактант, но и как молекула адгезии (например, для лейкоцитов, занимающих пристеночное положение внутри вены) и экспрессируется на эндотелиальных клетках, активированных провоспалительными цитокинами. Многие работы указывают на патофизиологическую роль фракталкина, который опосредует миграцию лейкоцитов и повреждение тканей, а именно – стенок сосудов через повреждение эндотелия.

Цель исследования является валидация дифференциальной экспрессии гена *CX3CR1* в варикозных венах для выяснения механизмов, приводящих к ремоделированию стенки вены при варикозном расширении.

Материалы и методы. Общую РНК выделяли с помощью реагента TRIzol из парных образцов вен (неварикозный и варикозный участки вены – послеоперационный материал от каждого из 10 пациентов с диагнозом С2-С4, согласно международной номенклатуре CEAP). Определение уровня мРНК осуществляли с помощью количественной ОТ-ПЦР в реальном времени. Статистический анализ выполняли с использованием программного обеспечения qBase+ (критерий Вилкоксона для парных образцов).

Результаты и их обсуждение. Нами было обнаружено повышение уровня мРНК гена *CX3CR1* (в 4,18 раз; $p < 0,01$; $\pm$ ДИ: 2,02-8,62) в варикозных венах по сравнению с неварикозными. Однако, необходимы дополнительные исследования на большей выборке пациентов различного диагноза.

Согласно современным научным данным, активируемый каскад молекулярных процессов, которые переходят от внутреннего слоя стенки вены к внешнему, способен стать причиной морфологических изменений в стенке вены. Фракталкин – лиганд рецептора CX3CR1, взаимодействуя с ним, усиливает миграцию лейкоцитов из кровотока в ткани, вызывая адгезию и, как следствие, миграцию лейкоцитов через эндотелиальный слой. Известно, что высокая концентрация глюкозы способствует экспрессии фракталкина эндотелиальными и гладкомышечными клетками в экспериментах *in vitro*, что способствует усилению адгезии клеток. В исследованиях на культурах гладкомышечных клеток также показано, что фракталкин обладает антиапоптотическими свойствами, влияет на пролиферацию гладкомышечных клеток и, в связи с чем, может иметь большое значение в развитии и прогрессировании патологии вен, при которой баланс пролиферации гладкомышечных клеток и процессы апоптоза играют важнейшую роль.

Выводы. Мы заключаем, что ген *CX3CR1* может участвовать в патологическом процессе ремоделирования стенки вены при ее варикозном расширении. Однако, дальнейшая оценка экспрессии этого гена в варикозных венах в зависимости от степени отягощенности заболевания необходима для более четкого понимания его роли патогенезе ВБВ.

Работа поддержана РНФ 17-75-20223.

**Морфологическая оценка прогностических показателей
при раке толстой кишки**

*ГБУ РО «Областная Клиническая Больница», Рязань, Россия (1)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (2)
Московская Международная Лаборатория Патоморфологии
«LABORATOIRES DE GENIE», Москва, Россия (3)*

S.V. Snegur, I.V. Vasin, Yu.G. Pavlova, V.V. Luchinin, S.V. Anistratov

Morphological estimation of prognostic indicators in tissue cancer

В исследование включено 56 больных РТК в возрасте от 44 по 79 лет. Количество больных мужского и женского пола составило 23 (46%) и 33 (54%), соответственно, средний возраст пациентов 62 года. Количество больных в IVb стадии количество пациентов мужского и женского пола было примерно равным (30 мужчин и 26 женщин), тогда как в группах пациентов с более ранними стадиями - преобладали женщины. У 14 пациентов РТК выявлены единичные и множественные регионарные метастазы в лимфатических узлах. У 9 пациентов были обнаружены метастазы в печени.

Качество мезоректумэктомии оценивалось при макроскопическом исследовании препарата. Для определения радикальности проведенного хирургического вмешательства исследовались края резекции кишки. Принципиально новым понятием является циркулярный край резекции. Этим краем является собственная фасция прямой кишки, ограничивающая мезоректальную клетчатку (при сохранении фасциального футляра), вся поверхность мезоректальной клетчатки (при повреждении фасции) или вся неперитонизированная циркулярная поверхность удаленного препарата при выполнении экстирпации прямой кишки с резекцией прилежащих органов при прорастании в них опухоли (влагалище, семенные пузырьки, крестец и пр.). Отсутствие опухоли в циркулярном крае резекции является важным показателем качества мезоректумэктомии и радикальности хирургического лечения. Именно поэтому, на наш взгляд, при современном хирургическом лечении РПК должно осуществляться морфологическое исследование удаленного препарата, отражающее непосредственные результаты проведенного оперативного вмешательства.

Исследование РПК, после хирургического лечения, проводится в несколько этапов. 1. Макроскопическое исследование качества тотальной мезоректумэктомии. Была использована методика исследования удаленных препаратов при хирургическом лечении РПК, включающая оценку качества тотальной мезоректумэктомии (ТМЕ) и циркулярного края резекции, особенностью которой, является сохранение целостности мезоректума и фасции кишки при фиксации препарата в формалине и последующее его исследование на серийных поперечных срезах, окрашенных чернилами. Качество ТМЕ

является независимым предиктором развития местного рецидива. После оценки качества мезоректумэктомии определяем основные параметры опухоли: локализацию, размеры, характер роста опухоли, вовлечение серозной оболочки, отношение опухоли к карману брюшины, расстояние от дистального края резекции и расстояние до аноректальной линии (при брюшно-промежностной экстирпации кишки), наличие перфорации опухоли. Циркулярный край окрашивали для четкого определения при последующем микроскопическом исследовании и, после вскрытия просвета кишки (исключая зону опухоли). 2 этапом являлось исследование циркулярного края резекции и определение параметров опухоли (pT). Циркулярный край резекции – хирургически мобилизованная неперитонизированная поверхность мезоректума. Циркулярный край резекции расценивают как положительный при расстоянии от опухоли или опухолевых депозитов до собственной фасции прямой кишки менее 1 мм. Минимальное расстояние от края опухоли на участке ее максимальной инвазии в мезоректальную клетчатку до латерального края резекции составляет хирургический клиренс. Его величина, наравне с наличием или отсутствием опухоли в циркулярном крае резекции, является важным прогностическим фактором местного рецидива, отдаленного метастазирования и продолжительности жизни. Циркулярный край резекции может быть вовлечен опухолью различными способами: прямое вовлечение опухолью, наличие опухолевых эмболов в кровеносных и лимфатических сосудах, метастатические лимфатические узлы, опухолевые депозиты. Третий этап – оценка лимфатических узлов (pN). Данному этапу отводится исключительная роль в определении прогноза и тактики последующего лечения. В соответствии с действующей международной классификацией TNM необходимо исследовать не менее 12 лимфоузлов для определения категории pN. Во избежание недооценки стадии заболевания должны быть исследованы все обнаруженные лимфоузлы. Лимфатические узлы диаметром менее 5 мм чаще поражаются опухолью, чем большие. Четвертый этап включает в себя микроскопическое исследование с формированием патоморфологического заключения, в котором должны быть четко отражены: гистологический тип и степень дифференцировки опухоли, максимальная степень экстрамурального и местного распространения, экстрамуральная венозная инвазия, края резекции (проксимальный, дистальный, латеральный (неперитонизированный)), влияние неоадьювантного лечения на опухоль, статус лимфатических узлов (число найденных, число пораженных, апикальный лимфоузел), фоновая патология толстой кишки.

В качестве обязательного исследования мы рекомендуем следующий набор антител: Ki-67, E-кадгерин, β -катенин, коллаген IV типа, цитокератины 19, 20 CDX2, виллин и цитокератин 7. Использование вышеописанных алгоритмов и методических подходов позволяет объективно оценить качество и радикальность проведенного хирургического лечения, а точное стадирование и обнаружение морфологических неблагоприятных прогностических факторов – высокую вероятность прогрессирования опухолевого процесса. Совокупность полученных результатов способствует индивидуальному прогнозированию и выбору тактики послеоперационного лечения у больных раком прямой кишки.

К.П. Соловьева^{2,1}, М.В. Мнихович^{1,2}, К.Ю. Мидибер^{1,3},
А.Г. Эрзиева⁴, К.А. Акопян²

Экспрессия е-кадгерина и β-катенина в карциномах молочной железы неспецифического типа

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (1)*

*ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (2)*

ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 ДЗМ» Москва, Россия (3)

ГБУЗ «Городская клиническая больница №20 ДЗМ» Москва, Россия (4)

K.P. Solovyeva, M.V. Mnichovich, K.Yu. Midiber,
A.G. Erziyeva, K.A. Hakobyan

Expression of e-cadherin and β-cathenin in breast carcinoma of non-specific type

Рак молочной железы (РМЖ) – одно из самых распространенных онкологических заболеваний у женщин. В последние годы большое внимание уделяется различным молекулярным и клеточным маркерам, характеризующим фундаментальные биологические свойства опухоли. Тем не менее, из-за большого числа потенциально значимых молекулярно-биологических факторов и из-за больших расхождений представленных в литературе данных об их прогностической ценности выбор определенного типа терапии, основанный на биологических характеристиках опухоли, остается затруднительным для врача. Молекулы клеточной адгезии могут способствовать инвазии опухоли и метастазированию. Пусковым механизмом прогрессирования опухоли может стать изменение межклеточных связей в её ткани, которое также играет важную роль на различных этапах метастатического каскада.

Эпителиальный компонент опухоли имеет сложный генез развития. Высокие адгезивные свойства, пролиферативная активность, нарушение со стороны ядерного аппарата опухолевых клеток с вовлечением тонких регуляторных механизмов контроля клеточного деления, нарушения процессов апоптоза, позволяют считать опухоли высокоагрессивными со склонностью к быстрому росту и рецидивированию. Инвазия опухоли протекает в три фазы и связана с генетическими перестройками, которые заключаются в дефектах генов, кодирующих гликопротеины клеточной адгезии. Клетки способны к перемещению только после дезинтеграции адгезионных контактов. Подобные процессы происходят при выселении злокачественных клеток из опухоли и их метастазировании, когда отдельные трансформированные клетки отделяются от опухоли, мигрируют и образуют метастазы. Метастазы и разрастания карцином желудка, эндометрия, яичника возникают вследствие нарушения адгезии опухолевых клеток, содержащих мутантный ген Е-кадгерина, и экспрессии его дефектного продукта. При опухолевой трансформации клеток

эпителиального происхождения разрушается стабильная межклеточная адгезия. Одним из следствий нарушений межклеточной адгезии является приобретение трансформированными клетками способности к инвазии. Во многих карциномах наблюдается эпигенетическое подавление экспрессии гена Е-кадхерина *CDH1*. Однако описаны некоторые опухоли эпителиального происхождения, в которых сохраняется экспрессия Е-кадхерина. Из этого можно сделать вывод, что межклеточная адгезия может нарушаться без подавления экспрессии Е-кадхерина.

Иммуногистохимический анализ особенностей экспрессии, распределения и взаимодействия белков Е-кадхерина, β -катенина и был проведен в первичных опухолях молочной железы. Диагноз рака молочной железы был доказан клинически, рентгенологически и морфологически у всех больных. В исследуемую группу вошли 32 ($n=32$) соответствующих случаев и их метастазах в лимфатических узлах ($n=4$) и печени ($n=8$).

Экспрессию Е-кадхерина, β -катенина на клетках рака молочной железы определяли при помощи иммуногистохимического метода с использованием специфических антител.

В результате исследования показано, что редукция и полное отсутствие экспрессии Е-кадхерина наблюдались значительно чаще у больных раком молочной железы с развившимися в разные сроки метастазами в печени (70%), чем у пациентов без метастазов (30%) ($p=0,014$). Увеличение цитоплазматической иммунореактивности и ядерная транслокация β -катенина обнаружены более чем в 80% РМЖ, сопровождающихся развитием метастазов. Эти изменения экспрессии Е-кадхерина и бета-катенина в опухолевых клетках могут рассматриваться как факторы неблагоприятного прогноза при раке молочной железы. Появление экспрессии β -катенина свидетельствует о запуске сигнальных путей, запускаемых aberrантной экспрессией эпителиальных кадгеринов, приводящих к увеличению подвижности и инвазии опухолевых клеток.

Перечисленные выше реакции на биологические маркеры могут быть учтены в клинической оценке, однако отсутствие стандартных подходов к учету реакций пока что ограничивает их использование, и этот вопрос решается в каждом конкретном случае индивидуально.

Литература:

1. Артамонова Е.В. Иммунологическая микрогетерогенность рака молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1992.
2. Артамонова Е.В., Кадагидзе З.Г., Лetyгин В.П. и др. Экспрессия рецептора трансферрина (CD 71) клетками рака молочной железы // Медицинская иммунология. – 2003. – №1-2. – С. 143-148.
3. Володько Н.А. Местные клеточные иммунные реакции при раке молочной железы (клинико-иммуноморфологическое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Киев, 1988.
4. Рак молочной железы / под ред. Н.Е. Кушлинского, С.М. Портного, К.П. Лактионова. – М.: Изд-во РАМН, 2005.
5. Ставровская А.А. Клеточные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // Биохимия. – 2000. – 65(1). – С. 112-126.

6. Parkin D., Pisani P., Ferley J. Global cancer statistics // CA Cancer J. Clin. – 1999. – №49. – P. 33-64.
7. Moller P., Mattfeldt T., Gross C. et al. Expression of HLAA, -B, -C, -DR, -DP, -DQ, and of HLA-D-associated invariant chain (Ii) in non-neoplastic mammary epithelium, fibroadenoma, adenoma, and carcinoma of the breast // Am. J. Pathol. – 1989. – 135(1). – С. 73-83.

С.Е. Соловьёва, Е.М. Пальцева, М.М. Морозова

Сопоставление морфологических и иммуногистохимических данных при вирусном поражении и остром отторжении трансплантата почки

ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», Москва, Россия

S.E. Solovyeva, E.M. Paltseva, M.M. Morozova

Comparison of morphological and immunohistochemical data in viral lesion and acute rejection of kidney transplant

Среди причин дисфункции и потери трансплантатов ведущую роль играют осложнения иммуносупрессии, такие как отторжение и развитие инфекций, в том числе вирусной этиологии. Данные процессы могут протекать одновременно, затрудняя дифференциальную диагностику, не подтвержденную иммуногистохимическим (ИГХ) исследованием.

Цель данного исследования – сопоставить морфологические и ИГХ данные при вирусном поражении и остром отторжении трансплантата почки.

Материалы и методы: исследование проведено на диагностическом материале 115 пункционных биопсий почечных трансплантатов, полученных от 97 пациентов (от 2 до 63 лет, медиана возраста 16 лет), проходивших лечение в РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского в период с 2004 по 2017 годы. В качестве контрольной группы использовались образцы 10 почек, которые были получены при нефрэктомии.

Для гистологического исследования биоптатов почечных трансплантатов использовалась окраска гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, PAS-реакцией. ИГХ исследование проводилось с антителами к аденовирусу, цитомегаловирусу, ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр, вирусу герпеса I типа и вирусу герпеса II типа, а также с антителами к CD3 (Т-лимфоциты) и CD20 (В-лимфоциты).

Результаты: по результатам морфологического и ИГХ исследования: вирусный нефрит выявлен в 43 (37,4%) случаях, причем в 5 из них потеря трансплантата с преобладанием некротических изменений; сочетание отторжения с вирусным нефритом – в 36 (31,3%); острое отторжение – в 21 (18,3%); вирусные частицы без признаков нефрита и отторжения – в 15 (13,0%) случаях. В 83 (72,2%) случаях была выявлена экспрессия антител к

аденовирусу, в 50 (43,5%) – к вирусу герпеса I типа, в 1 (0,9%) – к вирусу герпеса II типа, в 2 (1,7%) – к цитомегаловирусу.

Выявлена корреляция морфологических проявлений нефрита с обнаружением аденовируса методом ИГХ ($r=0,45$, $p<0,05$). При сравнении исследуемой группы с группой контроля экспрессия антигенов аденовируса достоверно чаще ($p<0,05$) наблюдалась в посттрансплантационном периоде, что указывает на роль иммуносупрессии в развитии вирусной инфекции.

У пациентов с потерей трансплантата отмечались специфические морфологические признаки вирусного нефрита: у 4 (дети до 6 лет) экспрессия антител к аденовирусу от незначительной до умеренной степени выраженности, у пациентки 53 лет аденовирус не обнаружен; во всех случаях экспрессия антител к вирусу герпеса I типа от незначительной до выраженной, умеренная и выраженная экспрессия антител к CD3 и незначительная – к CD20, что позволяет предположить снижение реактивности иммунного ответа.

В группе отторжения экспрессия антител к аденовирусу достоверно ниже ($p<0,05$), чем при сочетании отторжения с вирусным нефритом.

Экспрессия маркеров Т- и В-лимфоцитов более выражена в группах отторжения и сочетания отторжения с нефритом: преимущественно умеренная экспрессия CD3 и слабая – CD20 в обеих группах, что представляло сложность при дифференциальной. При постановке диагноза «пограничные изменения» мы в первую очередь учитывали тубулит, как проявление отторжения.

Заключение. Наблюдалась корреляция развития вирусного нефрита со степенью экспрессии аденовируса при ИГХ исследовании. При сочетании вирус-индуцированного нефрита и острого отторжения ИГХ исследование с маркерами Т- и В-лимфоцитов облегчает дифференциальную диагностику, но не является специфичным, поскольку Т-лимфоциты определяются в интерстиции как при отторжении, так и при вирусном нефрите: основной критерий отторжения в этих случаях – морфологическое выявление тубулита. Малое количество В-лимфоцитов при вирусном нефрите с потерей трансплантата может быть связано со снижением реактивных свойств организма и требует дальнейшего изучения.

Литература:

1. Cukuranovic J., Ugrenovic S., Jovanovic I., Visnjic M., Stefanovic V. Viral Infection in Renal Transplant Recipients // The Scientific World J. – 2012. – P. 1-18.
2. Jennette J.C., Olson J.L., Silva F.G., D'Agati V.D., eds. Heptinstall's pathology of the kidney. – 7th ed. – Philadelphia: Wolters Kluwer, 2014. – P. 1422-1438, 1456-1460.
3. Echavarría M. Adenoviruses in immunocompromised hosts // Clin. Microbiol. Rev. – 2008. – 21(4). – P. 704-715.
4. Storsley L, Gibson IW. Adenovirus interstitial nephritis and rejection in an allograft // J. Am. Soc. Nephrol. – 2011. – 22(8). – P. 1423-1427.

Д.Э. Сураев, И.И. Виноградов, Р.В. Деев

Особенности строения сосудов рака молочной железы

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия
(surik195@ya.ru)*

D.E. Suraev, I.I. Vinogradov, R.V. Deev

Features of the structure vessels of breast cancer

Актуальность: известно, что злокачественные опухоли, в частности рак молочной железы (РМЖ), характеризуются как лимфогенным, так и гематогенным метастазированием. Многочисленными исследованиями показано, что прогрессия злокачественной опухоли выходит на новый уровень после развития у нее собственной сосудистой сети [1, 2]. Увеличение объема первичного опухолевого узла также зависит от процесса опухолевого ангиогенеза, который существенно повышает возможность лимфогенного и гематогенного метастазирования. Несмотря на важность сосудистого компонента опухоли, тонкое строение кровеносных сосудов при этом все еще остается недостаточно изученным.

Цель исследования: выявить особенности строения стенки сосудов РМЖ.

Материал и методы: образцы РМЖ фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина, окрашивались гематоксилином и эозином. Изготавливали гистологические препараты для светооптической микроскопии, выполняли морфометрию. Учет параметров вели отдельно для двух групп, первая группа – РМЖ с метастазами, вторая – РМЖ без метастазов. При морфометрическом анализе гистологических препаратов оценивались следующие параметры: ширина ЭК, высота ЭК и толщина сосудистой стенки.

Результаты и их обсуждение: при анализе гистологических препаратов группы РМЖ с метастазами выявляются эндотелиальные клетки (ЭК), располагающиеся на базальной мембране (БМ). ЭК имеют уплощенную форму. ЭК находятся разноудаленно от соседних ЭК, образуя свободные «окна» на базальной мембране. Выявляется миграция ЭК и расслоение сосудистой стенки.

При изучении препаратов группы РМЖ без метастазов также выявляются уплощенные ЭК, довольно плотно прилегающие к БМ, расслоение сосудистой стенки и миграция ЭК. Основным отличием между двумя группами явилось то, что ЭК второй группы плотно прилегают друг к другу.

Ширина ЭК первой группы составила $9,62 \pm 0,40$ мкм, второй – $10,7 \pm 0,32$ мкм (различия достоверны, $p < 0,05$); высота ЭК первой и второй групп равна $3,27 \pm 0,14$ мкм и $3,4 \pm 0,12$ мкм; толщина сосудистой стенки в первом случае составляет $10,38 \pm 2,88$ мкм, во втором – $9,45 \pm 1,65$. Таким образом, статистически значимых различий по указанным параметрам выявлено не было ($p > 0,05$).

Выводы: в результате опухолевого ангиогенеза в структуре сосудистой стенки РМЖ выявляются следующие изменения: образование «окон» между соседними ЭК, миграция ЭК, расслоение сосудистой стенки.

Работа поддержана внутривузовским грантом РязГМУ.

Литература:

1. Майбородин И.В., Красильников С.Э., Козяков А.Е. и др. Целесообразность изучения опухолевого ангиогенеза, как прогностического фактора развития рака // Новости хирургии. – 2015. – 23(3). – С. 339-347.
2. Нефедова Н.А., Давыдова С.Ю. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и гипоксия-индуцибельного фактора (HIF) в опухолевом ангиогенезе // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №3. – С. 51.

У.Н. Туманова, А.И. Щеголев

Иммуногистохимическая характеристика васкуляризации ткани очаговой узловой гиперплазии печени в зависимости от размера узлов

*ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия
(ashegolev@oparina4.ru)*

U.N. Tumanova, A.I. Shchegolev

Immunohistochemical characteristics of vascularization of tissue focal nodular hyperplasia of the liver depending on the size of the nodes

Опухолевый ангиогенез считается основным фактором, способствующим росту новообразования, а также процессам инвазии и развитию метастазов [1]. В онкоморфологии рекомендованным способом оценки ангиогенеза является анализ иммуногистохимических препаратов с антителами к эндотелиальным клеткам.

Цель работы: сравнительный анализ васкуляризации ткани очаговой узловой гиперплазии печени в зависимости от размера новообразования.

Материал и методы. В основу работы положен морфологический анализ операционного материала 15 больных (4 мужчин и 11 женщин в возрасте 14-68 лет), оперированных по поводу очаговой узловой гиперплазии (ОУГ) печени. В зависимости от размеров ОУГ делили на малые (диаметром менее 2 см), средние (от 2 см до 5 см) и большие (диаметром более 5 см). Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования использовали готовые к употреблению мышиные моноклональные антитела к CD34 и кроличьи поликлональные антитела к CD105, и полимерную систему детекции производства Spring Bioscience. Морфометрический анализ иммуногистохимических препаратов проводили при помощи системы анализа изображения на базе микроскопа «Axio Imager M1» с использованием программы AxioVision (Carl Zeiss). Определяли количество и удельную площадь просвета иммунопозитивных синусоидов.

Результаты. При морфологическом изучении гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, ткань ОУГ представлена обычными печеночными балками, расположенными вокруг центрального рубца и отходящих от него фиброзных септ и содержащими синусоидные сосуды.

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к CD34 и CD105 установлено, что данные реакции с антителами маркируют лишь часть синусоидов в ткани ОУГ: положительная реакция отмечается лишь в синусоидах, расположенных вблизи центрального рубца и фиброзных лучей. При этом реакция к CD105 определяется в меньшем числе синусоидов и характеризуется более низкой интенсивностью реакции по сравнению с CD34. В синусоидах перипухолевой (нормальной) ткани печени реакция с данными маркерами не определяется.

При морфометрии иммуногистохимических препаратов максимальное количество синусоидов с положительной экспрессией к CD34 установлено в малых ОУГ, а наименьшее их число - в опухолях среднего размера. На препаратах с реакцией на CD105 наибольшее количество синусоидов отмечается в больших образованиях, а наименьшее – также в средних опухолях. Максимальные значения суммарной площади просвета синусоидов, отражающей степень кровенаполнения ткани, зарегистрированы нами в средних новообразованиях при окраске CD34 и в опухолях больших размеров при окраске CD105. Наименьшие уровни кровенаполнения характерны для малых ОУГ.

Подобные изменения количества и размеров синусоидов отражают, видимо, особенности роста ткани ОУГ. На начальных этапах развития образования кровоснабжение ткани достигается преимущественно за счет увеличения количества синусоидов. При достижении определенных размеров кровоснабжение осуществляется путем как расширения уже имеющихся синусоидных сосудов, так и неоангиогенеза в перисептальных областях. В пользу последнего свидетельствуют установленные нами наибольшие значения (68,9%) показателя степени неоангиогенеза в больших ОУГ [2].

Следует отметить, что при анализе значений степени васкуляризации ткани ОУГ, полученных путем иммуногистохимического выявления маркеров эндотелиоцитов, следует учитывать, что выраженность их экспрессии зависит от типа антител, особенностей строения и рецепторного аппарата эндотелиоцитов, а также степени оксигенации циркулирующей крови [3, 4]. Тем не менее, показатели степени васкуляризации являются весьма эффективными критериями лучевой и морфологической дифференциальной диагностики [5].

Таким образом, иммуногистохимические методы позволяют оценить показатели васкуляризации ткани ОУГ. Степень васкуляризации зависит от размеров новообразования и используемого маркера эндотелиоцитов.

Литература:

1. Zhu A.X., Duda D.G., Sahani D.V., Jain R.K. HCC and angiogenesis: possible targets and future directions // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2011. – №8. – P. 292-301.
2. Щеголев А.И., Туманова У.Н., Дубова Е.А. Морфометрическая оценка степени васкуляризации очаговой узловой гиперплазии печени // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* – 2013. – №8. – P. 235-239.
3. Tátrai P., Somorácz A., Batmunkh E. Agrin and CD34 immunohistochemistry for the discrimination of benign versus malignant hepatocellular lesions // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2009. – №33. – P. 874-885.

4. Туманова У.Н., Щеголев А.И. Ангиогенез при гепатоцеллюлярном раке // Успехи современной биологии. – 2015. – 135(2). – С. 164-176.
5. Туманова У.Н., Кармазановский Г.Г., Дубова Е.А., Щеголев А.И. Сравнительный анализ степени васкуляризации гепатоцеллюлярного рака и очаговой узловой гиперплазии печени по данным компьютерно-томографического и морфологического исследований // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2013. – №12. – С. 9-15.

Н.В. Фатеева, Л.П. Перетятко, Р.А. Кузнецов

**Морфологические отличия структур компактного слоя
гравидарного эндометрия при хронического эндометрите
в ранние сроки беременности**

ФГБУ «Ив. НИИ МиД им. В.Н. Городкова» МЗ РФ

N.V. Fateeva, L.P. Peretiatko, R.A. Kuznetsov

**Morphological differences of structures of a compact layer of the gravidar
endometrium in chronic endometrium in the early stages of pregnancy**

Актуальность. Неэффективный прирост рождаемости и, следовательно, репродуктивный ресурса населения является актуальной проблемой государства и практической медицины. Несмотря на успехи в изучении этиологии, патогенеза и терапии выкидышей в ранние сроки (5-12 нед.), в том числе с морфологических позиций, потеря беременности остается на достаточно высоком уровне (10-25%). На долю привычного невынашивания беременности (ПНБ), среди всех репродуктивных потерь, приходится от 5% до 20%. Воспаление и гормональные нарушения в эндометрии относят к наиболее частым причинам осложнения беременности. С современных позиций, хронический эндометрит (ХЭ) рассматривают, как сочетание клинических проявлений и морфологических изменений в слизистой матки при длительно текущем и периодически обостряющемся воспалении, вызванном патогенной и условно-патогенной флорой. На сегодняшний день существующие мнения об этиологии, патогенезе и морфологии эндометрия при ХЭ представляют собой сочетание противоречивых точек зрения различных ученых на проблему. Структурные изменения гравидарного эндометрия изучены с 7 по 10 дни ненарушенного менструального цикла и частично в соскобах при ХЭ, взятых при спонтанных абортах в первом триместре беременности. Морфологическое описание эндометрия в биопсийном материале, полученном из полости матки у женщин с ПНБ в анамнезе при ХЭ, в доступных источниках литературы фрагментарно и крайне разноречиво.

Целью исследования явилось изучение структурных особенностей компактного слоя эндометрия с акцентом на преобразования фибробластоподобных клеток (ФПК) по мере прогрессирования беременности в условиях хронического воспаления.

Материал и методы. Осуществлено обзорное гистологическое исследование 35 соскобов из полости матки от женщин с ХЭ и ПНБ в сроки 5-12 недель в анамнезе (основная гр.) и 30 – при прерывании неосложненной беременности хирургическим путем в вышеуказанные сроки (гр. сравнения). Наряду с обзорной гистологией использована локальная морфометрия для определения площади клеток и их ядер с применением программы «ВидеоТест-Мастер Морфология 4». Исследование соскобов осуществлялось в микроскопе для лабораторных исследований «Mikros» (AUSTRIA) MC 300X при увеличении 400. Собранный материал в группах разделен на подгруппы в зависимости от срока беременности: до 5 нед., 6-8 нед., 9-10 нед., 11-12 недель. Результаты диагностированных изменений в эндометрии при ХЭ сопоставлялись с подобными в группе сравнения. Статистическая обработка полученных морфометрических параметров проводилась с использованием программы «GraphPadPrism».

Результаты и их обсуждение. Оценка структурных преобразований ФПК гравидарного эндометрия в прецедуальные, по мере прогрессирования беременности, свидетельствует о существенном отставании их трансформации через установленные промежуточные формы (5) в контрольной группе. Предложенная классификация трансформации ФПК в ранние сроки беременности при физиологическом течении изложена в одной из публикаций и представлена в печать. Второй особенностью является клеточный полиморфизм и пролонгированное существование различных форм трансформирующихся клеток. Так до 11-12 недель беременности при ХЭ по периферии биологического субстрата наряду, с соответствующими сроку гестации прецедуальными клетками, встречаются в неравных соотношениях разнообразные по структуре и площади промежуточные формы (5) клеток, соответствующие различным стадиям трансформации, выявленным при искусственных абортах. Следовательно, при ХЭ нарушается последовательная дифференцировка ФПК в ранние сроки беременности (5-12 нед). В компактном слое эндометрия, кроме выше обозначенных структурных изменений, преобладают процессы репаративной регенерации в форме субституции с формированием соединительной ткани в зонах поствоспалительного некроза, вызванного хроническим воспалением. Репаративная регенерация в эндометрии сочетается с одной из форм патологической регенерации (дисрегенерацией), а именно гипорегенерацией аномально трансформирующихся ФПК эндометрия. Ядра преобразующихся клеток компактного слоя эндометрия полиморфны (гипер- и гипохромные) с внутриядерными включениями, в цитоплазме клеток вирусные включения. В клетках нарушено ядерно-цитоплазматическое соотношение в связи с уменьшением площади клеток и их ядер. Среди трансформирующихся ФПК выявляются мелкие и аномальные формы, свидетельствующие о гипорегенерации. Подобные морфологические изменения при воспалении, согласно публикациям, частично встречаются как при спонтанных абортах, так и при замершей беременности. Выявленная перестройка эндометрия при ХЭ свидетельствует о срыве адаптивных механизмов, обусловленном персистенцией патогенных возбудителей. Структурные нарушения сопровождаются дисфункцией клеточного и тканевого компонентов компактного слоя слизистой.

Выводы. Компактный слой эндометрия при ХЭ в 5-12 нед. беременности структурно изменяется за счет отставания на этапах трансформации ФПК в прецедуальные, клеточного полиморфизма и пролонгированного существования менее дифференцированных форм. Нельзя исключить, что на процессы дифференцировки ФПК влияет не только этиологический фактор, но и сочетание репаративной регенерации с дисрегенерацией. Выявленные структурные изменения эндометрия при ХЭ, возможно являются одной из причин повторяющихся репродуктивных потерь у пациенток.

А.В. Федотов, Н.М. Крупнов

Динамика морфологических изменений эпителиосперматогенного слоя мужских половых желез при черепно-мозговой травме

ГБУ РО «Бюро судебно-медицинской экспертизы», Рязань, Россия

A.F. Fedotov, N.M. Krupnov

The Dynamics of morphological changes in the epitheliospermatogenous layer of the male gonads in cases of craniocerebral trauma

Актуальность. Доля черепно-мозговых травм занимает одну из ведущих позиций в структуре современного травматизма и составляет от 30% до 60% всех повреждений с преимущественным поражением активной части населения: лиц молодого и среднего возраста. Согласно статистическим данным, а также проведенным ранее исследованиям, нарушение функции гипоталамо-гипофизарной системы возникает практически во всех случаях тяжелой черепно-мозговой травмы в остром периоде. Также имеются данные о том, что указанные нарушения выявляются в промежуточном и отдаленном периодах у 70% лиц, перенесших черепно-мозговую травму. Современный этап развития медицины в сфере оказания экстренной помощи и реабилитации неврологических больных, перенесших черепно-мозговую травму позволяет констатировать увеличение выживаемости подобных пациентов [3]. Вместе с этим морфологические изменения мужских половых желез при черепно-мозговой травме до настоящего времени остаются малоизученными. Целью работы является изучение нарушений структуры и функции мужских половых желез после черепно-мозговой травмы.

Материал и методы. Объектом исследования послужили половые железы 35 умерших от ЧМТ в возрасте 22-35 лет (I период среднего возраста) и 31 умершего от ЧМТ травмы в возрасте 36-59 лет (II период среднего возраста). Во всех случаях ЧМТ погибшие имели детей (1 или 2). Атеросклеротические изменения сосудов были минимальными (площадь поражения аорты <6 %). А также, согласно данным аутопсийного исследования, отсутствовали морфологические признаки эндокринных заболеваний и интоксикаций. Ис-

следованные случаи в каждой группе разбиты на 2 подгруппы: 1 – мужские половые железы погибших практически мгновенно от тяжелой сочетанной травмы включая ЧМТ (группа сравнения и контроля); 2 – мужские половые железы умерших в различные временные периоды (7-20 дней) после ЧМТ. В работе использованы гистологический, морфометрический и иммуногистохимический методы исследования. Оценка морфологического состояния всех изучаемых компонентов половой железы проводилась на основе комплексного стереологического исследования [1] при помощи полуавтоматического компьютерного анализа методом точечного счета. Для объективной оценки состояния извитых семенных канальцев определяли площадь поперечного сечения и толщину их стенки, а также «индекс сперматогенеза» [2].

Результаты и их обсуждение. При органомерметрическом исследовании у больных с различными сроками переживания после ЧМТ отмечено уменьшение массы мужских половых желез на 22-26% по отношению к группе сравнения. Площадь поперечного сечения канальцев при ЧМТ в I периоде среднего возраста составляет $35,0 \text{ мкм}^2$, а во II периоде среднего возраста 28 мкм^2 , и достоверно не отличается от возрастного контроля. Толщина стенки извитых семенных канальцев при ЧМТ в I периоде среднего возраста составляет $5,75 \text{ мкм}$, а во II периоде среднего возраста $6,8 \text{ мкм}$, и также, как и площадь поперечного сечения канальцев практически не отличается от показателей группы сравнения. Количество сустентоцитов на поперечном срезе канальца при ЧМТ не отличается от возрастного контроля, и составляет в I периоде среднего возраста 19, а во II периоде 17. Это указывает на определенную устойчивость сустентоцитов к воздействию травматического фактора. Однако, проведенный детальный морфологический анализ эпителио-сперматогенного слоя (ЭС) выявил существенные нарушения сперматогенеза с его отчетливым угнетением при ЧМТ. На сроках гибели от ЧМТ в интервале от 7 до 14 дней в извитых семенных канальцах отмечается выраженный процесс десквамации сперматогенных клеток в просвет канальца. При этом они выходят из ЭС слоя и располагаются группами по 3-8 клеточных элементов в центре канальца. А на месте их прежнего расположения остаются множественные крупные вакуоли. В отдельных полях зрения обнаруживаются многоядерные клеточные элементы, имеющие симпластическое строение, свидетельствующие о нарушениях дифференцировки ранних сперматид на стадии их формирования. Нарушения сперматогенеза у этой группы больных также характеризуются, зонами сегментарного «выпадения» сперматогенных клеток. При этом сегментарный характер повреждений завершался практически тотальным повреждением ЭС слоя. У больных погибших через 14-20 дней после ЧМТ повреждение ЭС слоя имеют более выраженный характер и проявляются в форме морфологического синдрома т.н. «пестрой атрофии» половых желез. А в ряде случаев демонстрирует картину синдрома «только клетки Сертоли». Как правило, в зонах расположения таких канальцев не редко обнаруживается очаговая гиперплазия интерстициальных эндокриноцитов. Иммуногистохимическое исследование с антителами к Ki-67 в контроле выявляет митотическую активность сперматогоний на 2 и 5 стадиях цикла. При этом Ki-67- позитивные сперматогонии немногочисленны и равномерно распределены по базальной

мембране канальца. В зонах разрушенного ЭС слоя обнаруживается увеличение количества сперматогоний, демонстрирующих повышенную экспрессию Ki-67. Это проявляется в виде отчетливой положительной интенсивной окраски с маркером, который выявляется сразу во многих сперматогониях, имеющих цепочечный характер расположения. Подобные картины указывают на локальное повышение пролиферативной активности сперматогоний и свидетельствует о начальных проявлениях регенеративных изменений сперматогенных клеток.

Заключение. Таким образом, при ЧМТ отмечаются существенные нарушения структуры половых желез, затрагивающие основные составляющие компоненты органа: извитые семенные канальцы и интерстициальную соединительную ткань, включая интерстициальные эндокриноциты. Наиболее чувствительными клеточными элементами ЭС слоя являются ранние сперматиды, а менее чувствительными суспендоциты.

Литература:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство. – М.: Медицина, 1990.
2. Астраханцев А.Ф., Соловьев А.А. Способ диагностики гипосперматогенеза и атрофии сперматогенных клеток яичка: Патент на изобретение № 2100117, от 15.01.2001.
3. Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M. et al. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe // Acta Neurochir. (Wien) – 2006. – 148(3). – P. 255-268.

А.П. Швальб

Морфологические структуры дополнительных механизмов гемодинамики

ГБУ РО «Бюро судебно-медицинской экспертизы», Рязань, Россия

А.Р. Shvalb

Morphological structures of additional mechanisms of hemodynamics

Традиционно считается, что основной силой, движущей кровь, в том числе и по микрососудам является остаточная энергия сердечного выброса, называемая *vis a tergo*, и, в меньшей степени, присасывающее действие правого желудочка, называемое *vis a fronte*. Однако логично допустить мысль о существовании двух параллельных систем кровообращения. Одна из них обеспечивает системную (быструю) циркуляцию за счет описанных сил, а вторая обеспечивает обменные (медленные) процессы в капиллярах. Первая замыкает артериальную и венозную систему через артериовенозные шунты и метартериолы, вторая – через истинные капилляры.

Цель работы показать существование дополнительных по отношению к сердечному выбросу механизмов, обеспечивающих движение крови по микрососудам.

Материалы и методы. Объектами изучения служили гистологические препараты различных органов человека (скелетная мышца, гладкая мышца стенка кишки, миокард, жировая ткань), полученные в результате аутопсийных исследований и окрашенных гематоксилином и эозином. Обработка результатов осуществлялась методами логического познания.

Результаты. При целенаправленном изучении гистологического строения вышеперечисленных тканей выявлены среди прочих следующие закономерности:

- всегда можно выделить наименьшую по количеству группу клеток, окруженных более или менее видимой капсулой; принципиально важным является то, что внутри долек находятся только метартериола, капилляры, возможно посткапиллярная венула, а сосуды более крупного калибра расположены в соединительнотканых перегородках;

- эти дольки формируют более крупную структуру, ограниченную отчетливой соединительнотканной капсулой, в которой расположены сосуды большего калибра – артериолы, венулы и мелкие вены, а так же становятся заметны и лимфатические протоки;

- следующим уровнем ограничения являются широкие фиброзно-жировые капсулы, содержащие артерии, вены, лимфатические сосуды, нервные волокна.

Обсуждение. Уровни гемомикроциркуляторного русла подробно освещены в литературе. Главным дополнением является выделение соединительнотканых капсул, ограничивающих объем. Суть заключается в том, что минимальную тканевую дольку с точки зрения гидродинамики можно представить в виде емкости, под напряжением заполненной полужидким (коллоидным) содержимым (клетки паренхимы, межклеточное вещество, клетки соединительной ткани, эндотелиальные клетки, тканевая жидкость, кровь, лимфа). Форма дольки может быть самой разнообразной формы и динамически меняться, однако, для упрощения логично представить ее шарообразной. Исходя из того, что объем шара прямо пропорционален третьей степени радиуса следует, что незначительное увеличение содержимого дольки за счет поступления из-вне по отношению к ограниченному нерастяжимыми стенками объему вызовет значительное напряжение внутри ее. Описанная ситуация создается при прохождении пульсовой порции крови по мелким артериям и артериолам. Единственным структурным механизмом, позволяющим сбросить избыточное давление, являются содержимое венозного колена и интерстициальная жидкость дольки. Сохранение объема происходит исключительно за счет сдавления венозных сосудов и интерстициального пространства, что приводит к центростремительному выбросу крови. Таким образом, пульсовая волна способствует, во-первых, созданию напора при опорожнении венозного колена микроциркуляторного русла и, во-вторых, выходу интерстициальной жидкости в лимфатические протоки. При последующей диастоле в капиллярах и в интерстиции создается отрицательное давление, способствующее массопереносу из клеток в интерстиций, т.к. обратному току венозной крови препятствует ряд морфо-функциональных механизмов. Одним из них

является гипотетически существующая собственная активность эндотелия венозного колена капилляров. Она заключается в попеременном набухании и спадании эндотелиоцитов, что создает движущую силу, направление которой зависит от градиента давления. Хотя этот механизм имеет вероятностную направленность, но при нормальном состоянии обеспечивает центростремительное движение потока. Такое состояние существует при полноценно функционирующих венозных клапанах, которые появляются уже в венулах диаметром от 50 мкм. В рамках данной статьи мы не касаемся вопросов нервно-рефлекторной регуляции, капиллярной вазомоции и ряда других.

Таким образом, дольковая организация большинства тканей является существенным фактором движения крови по микроциркуляторному руслу (МЦР) и создает напор дренирующего потока (венозного и лимфатического) в постмикроциркуляторном звене. Можно выделить следующие механизмы гемомикроциркуляции и уровни их реализации:

1. Остаточная сила сердечного выброса – метартериола
2. Пульсовая транстканевая волна – артерия, артериола и метартериола
3. Капиллярная активность – преимущественно венозное колено МЦР.

Вывод. Движущей силой венозного возврата на уровне микроциркуляции являются гидродинамические процессы в тканевой дольке и собственная активность эндотелия капилляров.

А.В. Шестакова¹, А.В. Шестаков²

Клинико-морфологическая характеристика структур сердца и селезенки при инфекционном эндокардите

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия (1)

ФГБУ «ФЦССХ им. С.Г. Суханова» Минздрава России, Пермь, Россия (2)

A.V. Shestakova¹, A.V. Shestakov

Clinical and morphological features of the heart and spleen in infective endocarditis

Проблема инфекционного эндокардита остается особо значимой в связи со стойко сохраняющейся тенденцией роста заболеваемости и смертности в большинстве стран мира. Данная тенденция может быть связана с успешным развитием операций на клапанах сердца, осложнением которых является развитие инфекционного эндокардита [1-5].

Цель исследования – изучить клинико-морфологические характеристики структур сердца и селезенки у пациентов с инфекционным эндокардитом.

Материал и методы. Проведено клинико-лабораторное обследование 11 пациентов с установленным диагнозом инфекционный эндокардит, первичный, подострое течение. Средний возраст пациентов составил 39,3±4,0 (от 28 до 58)

лет. Трое из обследованных пациентов страдали наркотической зависимостью. Всем пациентам была проведена эхокардиография (ЭхоКГ) и электрокардиография (ЭКГ), а также УЗИ и компьютерная томография органов брюшной полости. Ультразвуковая оценка состояния селезенки учитывала следующие критерии: размеры самого органа; выявление гипоэхогенных, жидкостных или эхогенных образований, оценка их расположения и размеров.

Результаты. В ходе проведенного исследования было установлено, что при инфекционном эндокардите выявляются грубые деструктивные изменения со стороны клапанов сердца, приводящие к их стенозу и/или недостаточности с последующим возможным развитием эмболического инфаркта миокарда, а также со стороны селезенки, проявляющиеся ее увеличением, инфарктами или абсцессами.

По результатам эхокардиографии в предоперационный период кардиальная патология была представлена преимущественным поражением аортального и митрального клапанов, причем недостаточность аортального клапана отмечена у 27,3% пациентов, а его стеноз – у 18,1%. У всех пациентов также отмечалась дилатация левого желудочка. При проведении электрокардиографии и эхокардиографии миокардит заподозрен у 36,4% пациентов, а в последующем подтвержден в ходе гистологического исследования пораженного клапанного аппарата и миокарда. У части пациентов отмечены признаки трансмуральной ишемии переднебоковой, верхушечной и нижней стенок левого желудочка. При эхокардиографии отмечались такие явления, как гипокинезия передней и боковой стенок левого желудочка с распространением на заднюю стенку и верхушку сердца.

По данным УЗИ и компьютерной томографии брюшной полости в предоперационный период, изменения селезенки у пациентов были представлена увеличением ее размеров у 63,6% пациентов и наличием инфарктов у 36,3% пациентов. Инфаркт селезенки чаще визуализировался как образование средней и/или высокой эхогенности, неправильной формы с основанием, обращенным к капсуле органа. Инфаркты располагались в нижнем сегменте органа. При этом следует отметить, что наличие инфарктов в среднем и верхнем отделах органа отмечено не было. Абсцессы селезенки были установлены у 72,2% пациентов. Все абсцессы являлись единичными, и визуализировались как образование неправильной формы, неоднородной структуры, с прерывистыми и/или неровными контурами или как жидкостное образование с четкими границами. У 18,2% пациентов отмечалось сочетанное поражение в виде наличия в селезенке и инфаркта, и абсцесса.

Таким образом, при инфекционном эндокардите кроме характерных морфологических изменений в клапанах сердца и миокарде, имеются ярко выраженные признаки поражения селезенки. Ультразвуковое исследование селезенки, так же как и ЭхоКГ в выявлении вегетаций на клапанах сердца, относится к скрининговым методам диагностики, использование которых необходимо при выборе тактики лечения и оценке эффективности лечения.

Литература:

1. Лебединская Е.А., Лебединская О.В., Годовалов А.П. и др. Морфологиче-

ские характеристики индуцированной иммуносупрессии // Материалы Международной научной конференции «Новые задачи современной медицины». – М., 2012. – С. 63-67.

2. Лебединская О.В., Лебединская Е.А., Лосева Л.Ф. и др. Морфогистохимические изменения органов гемиммунопоза и периферической крови мышей на фоне индуцированной иммуносупрессии и её коррекции // Морфологические ведомости. – 2010. – №4. – С. 49-59.

3. Логинова Н.П., Шилов Д.Ю., Годовалов А.П. и др. Особенности пролиферации тимоцитов *in vivo* и *in vitro* у детей с врожденными пороками сердца // Российский иммунологический журнал. – 2014. – 8(3-17). – С. 340-343.

4. Логинова Н.П., Четвертных В.А., Лебединская О.В. и др. Функциональные особенности Т-лимфоцитов у детей с врожденными пороками сердца // Российский иммунологический журнал. – 2015. – 9(2-18). – С. 216-221.

5. Шестакова А.В., Кадыралиев Б.К., Годовалов А.П., Быкова Л.П. Опсонизация *Candida albicans* иммуноглобулином для внутривенного введения // Медицинская иммунология. – 2015. – 17(S). – С. 434.

А.В. Шилов², М.В. Мнихович^{2, 3}, Р.Е. Калинин¹, И.А. Сучков¹

Реактивность эндотелия: экспериментальное исследование с N-нитро-L-аргинин метиловым эфиром

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (1)*

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (2)*

*ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия (3)*

A.V. Shilov, M.V. Mnichovich, R.E. Kalinin, I.A. Souchkov

Endothelial reactor: experimental study with n-nitro-l-arginin methyl ether

На сегодняшний день нет сомнений в том, что эндотелиальная дисфункция играет важную роль в патогенезе атеросклероза, его прогрессировании и развитии его осложнений [1, 2, 7]. Некоторые авторы считают, что основной причиной возникновения рестеноза в зоне наложенных анастомозов является дисфункция эндотелия, приводящая к гиперплазии неоинтимы [1, 2, 6, 7].

Цель работы: выявить морфологические изменения на светооптическом и ультраструктурном уровне при L-NAME-индуцированной эндотелиальной патологии, определить эффективность данной экспериментальной модели.

Эксперимент произведен на 10 беспородных кошках, массой от 3,0 до 4,5 кг в соответствии с «Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» и приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. Животные содержались в стандарт-

ных условиях вивария, получали стандартный рацион питания и воду *ad libitum*. Эндотелиальную дисфункцию вызывали путем введения N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME). Животных выводили из эксперимента через 3, 5 и 7-е сут. Выделенные сосуды подвергались гистологическому исследованию по стандартной методике и с дополнительной окраской пикрофуксином по Ван Гизону и по методу Маллори с помощью микроскопа Leica DMI 4000 B с видеозахватом камерой Leica. Также проводилась трансмиссионная электронная микроскопия, фрагментов сосудистой стенки на электронном микроскопе «Libra 120» с автоматическим сканированием изображений («Carl Zeiss», Германия).

В результате исследований при световой микроскопии были выявлены дистрофические и некробиотические изменения в сосудистой стенке, которые проявлялись, набуханием, истончением и сморщиванием эндотелиоцитов, а местами их отсутствием. В субэндотелиальном слое обнаружены набухание волокон, интерстициальный отек, стертость внутренней эластической мембраны, ее базофилия, сегментация эластических волокон. На ультраструктурном уровне при электронной микроскопии отмечались дистрофические и деструктивные изменения органелл, которые можно разделить на адаптивные и патологические изменения в эндотелии. Компенсаторными процессам являются набухание и деструкция отдельных митохондрий, увеличение ядерной поверхности эндотелиоцитов. К патологическим - отек и гипертрофия эндотелиальных клеток, деструкция митохондрий, расширение и отек перикапиллярного пространства, нарушение целостности базальной мембраны кровеносных капилляров. Данные морфологические изменения сопровождаются сладжированием тромбоцитов и эритроцитов с явлениями деструкции клеточных элементов, повышенной проницаемостью сосудистой стенки с выходом форменных элементов крови в перикапиллярное пространство, формированием микротромбов. Также отмечается нарушение ультраструктурной организации гладких миоцитов в области формирования тромбов. Все это свидетельствует о значительном нарушении микрогемодинамики в тканях, неспособности поддерживать оптимальный тонус сосудов.

Таким образом, наши исследования показали, что при воздействии L-NAME развиваются морфологические изменения архитектоники эндотелиальных клеток, в результате чего возникает эндотелиальная дисфункция. Модель L-NAME индуцированной эндотелиальной патологии отличается высокой воспроизводимостью и адекватными результатами.

Литература:

1. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Жеребятёва С.Р., Пшенников А.С. Операции на сосудах. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2015.
2. Сучков И.А., Пшенников А.С., Герасимов А.А. и др. Профилактика рестеноза в реконструктивной хирургии магистральных артерий // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2013. – №2. – С. 12-19.
3. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С., Новиков А.Н. Варианты экспериментального моделирования венозной эндотелиальной дисфункции: со-

временное состояние проблемы // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. – №3. – С. 143-147.

4. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мнихович М.В. и др. Особенности морфологической картины в зоне сосудистого анастомоза в различные сроки после реконструктивных операций на артериях нижних конечностей. – М., 2013. – №1. – С. 21-27.

5. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С. Эндотелиальная дисфункция и способы ее коррекции при облитерирующем атеросклерозе. – М.: ГЕОТАР-МЕДИА, 2014.

6. Napoli C., Ignarro L. J. Nitric oxide and atherosclerosis // Nitric Oxid. – 2001. – №5. – P. 88-97.

М.А. Селезнева¹, М.В. Мнихович^{2,1}, С.В. Анистратов³, В.В. Лучинин³,
А.В. Шилов³, И.В. Васин⁴, С.В. Снегур⁴, Ю.Г. Павлова⁴, К.В. Буньков⁵

Гетерогенность рака молочной железы: предпосылки к прогнозу

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (1)

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (2)*

*Московская Международная Лаборатория Патоморфологии
«LABORATOIRES DE GENIE», Москва, Россия (3)*

ГБУ РО «Областная Клиническая Больница», Рязань, Россия (4)

ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Рязань, Россия (5)

M.A. Selezneva, M.V. Mnichovich, S.V. Anistratov, V.V. Luchinin, A.V. Shilov,
I.V. Vasin, S.V. Snegur, Yu.G. Pavlova, K.V. Bunkov

Heterogeneity of mammary gland cancer: prerequisites to the prognosis

Гетерогенными называют предмет или систему, состоящие из множества варьирующих единиц/компонентов, которые часто нелегко сортируются или разделяются.

Неоднородность клеточного состава в пределах опухоли, или внутриопухолевая гетерогенность, является ключевой характеристикой злокачественных новообразований. Рудольф Вирхов, основоположник современной патологической анатомии, впервые описал неоднородность клеток по форме и морфологии в пределах одной опухоли еще в середине 19-го века.

Блум и Ричардсон в работе «Гистологическая градация и прогнозирование рака молочной железы» отметили, что пациенты одного возраста, со схожими симптомами и стадией заболевания отличаются характером клинического течения и исходом. Авторы создали классификацию РМЖ по степени дифференцировки опухоли, основываясь на оценке параметров внутриопухолевой

гетерогенности: наличия в опухоли тубулярных объединений клеток, вариабельности в размерах, форме и окраске ядра и частоты гиперхромных и митотических ядер. Новейшая эпоха изучения внутриопухолевой гетерогенности началась с фундаментального исследования Питера Новелла, в котором изложен классический постулат онкологии: "агрессивные злокачественные субклоны, входящие в состав опухоли, возникают в результате селективного отбора, в основе которого лежит повышенная нестабильность генома". С тех пор сосуществование различных клеточных популяций в пределах одной опухоли считается неотъемлемой чертой любого злокачественного новообразования, а механизмы формирования внутриопухолевой гетерогенности и характер ее влияния на течение и исход заболевания являются предметом активного изучения.

Термин «гетерогенность опухоли» подразумевает существование ряда отличий клеток в опухоли, клеток первичной опухоли и метастазов, клеток отдельных метастазов одной опухоли. Различают следующие формы гетерогенности опухолей: межопухолевая – разные (первично множественные) опухоли в одном органе могут иметь различный фенотип; внутриопухолевая – каждая отдельная опухоль состоит из фенотипически и функционально гетерогенных опухолевых клеток с неодинаковым поведением.

В настоящее время показано, что большинство опухолей обладает вариабельностью по широкому спектру морфологических и функциональных показателей. Установлено также, что гетерогенность (плейоморфизм) опухолевых клеток затрагивает фенотипические, генетические и эпигенетические признаки. В процессе прогрессии опухоли, составляющие ее клетки претерпевают ряд разнообразных изменений. Каждая опухоль по своему строению может быть архитектурно сложна, участки опухоли также различны по васкуляризации, инфильтрации иммунными клетками "хозяина", соединительнотканными компонентами и другим характеристикам, которые могут менять фенотип идентичных клеток. Эти и другие факторы могут приводить к тому, что даже внутри одного клона клетки оказываются не идентичными.

В настоящее время известно, что внутриопухолевая гетерогенность играет существенную роль в реализации различных форм (клинических проявлений) опухолевой прогрессии: росте и инвазии первичной опухоли, лимфогенном и гематогенном метастазировании, и рассматривается как один из основных факторов, определяющих развитие новообразования, поддержание онкогенного потенциала, выживание клеток в условиях динамичного микроокружения и устойчивость опухоли к лекарственному воздействию. В соответствии с этим очевидно, что разработка молекулярно-генетических подходов прогноза течения злокачественных новообразований, предсказания эффективности терапии для назначения ее адекватной тактики должна проводиться с учетом факторов и механизмов формирования внутриопухолевой гетерогенности.

Была изучена внутриопухолевая гетерогенность при раке молочной железы (РМЖ). В исследование были включены 160 больных раком молочной железы стадии T1-4N0-2M0-1 в возрасте от 21 до 73 лет, распространенность заболевания определялась согласно международной классификации по системе TNM (2012 г.).

Морфологическому исследованию подвергался операционный материал. Иммуногистохимическое исследование проводили с применением следующей панели поликлональных антител: к рецепторам эстрогена ER, прогестерона PgR, Ki 67, Bcl-2, Her2, p63, гладкомышечный актин (ГМА), общий цитокератин, цитокератин 7, виментин, Е-кадгерин (Dako, Lab Vision Flex).

Во всех случаях гистологическая форма рака молочной железы была представлена инфильтрирующим протоковым раком. Показана вариабельная экспрессия Her2, рецепторов к эстрогенам и прогестерону в пределах опухоли. Инвазивная карцинома неспецифического типа (invasive carcinoma of no special type, IC NST) составляет основную долю РМЖ (до 75% всех случаев).

В результате сопоставления молекулярно-биологических и морфологических данных сделан вывод о существовании внутриопухолевой гетерогенности почти во всех образцах рака молочной железы.

Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность IC NST, представлена наличием пяти различных типов инфильтративного компонента или морфологических структур, включающих тубулярные, солидные, трабекулярные, альвеолярные структуры и дискретные группы опухолевых клеток, были исследованы закономерности ее формирования. Все опухолевые клетки имеют как необходимый набор молекул для межклеточного соединения (кадгерин-катениновый комплекс и интегрины семейства $\beta 1$), так и интегриновые рецепторы для образования контактов с соединительнотканной основой. Второй подтип, к которому относятся альвеолярные и солидные структуры, характеризуется тем, что большинство опухолевых клеток соединены друг с другом и не имеют связи со стромой. Исключение составляет наружный слой клеток, контактирующий с соединительной тканью. Большинство опухолевых клеток таких структур экспрессирует кадгерин-катениновый комплекс, но теряет интегриновые рецепторы, ответственные за связь со стромой. Найдена связь внутриопухолевой морфологической гетерогенности с молекулярными подтипами. Оказалось, что трижды-негативные опухоли чаще характеризуются наличием одного (любого) типа морфологических структур, тогда как при люминальном РМЖ, в основном, встречаются опухоли с пятью типами структур. Однако не у всех пациентов базальноподобные опухоли молочной железы демонстрируют значительную внутриопухолевую гетерогенность, а трижды-негативный РМЖ не всегда является клонально однородной опухолью.

В результате сопоставления молекулярно-биологических и морфологических данных сделан вывод о существовании внутриопухолевой гетерогенности почти во всех образцах рака молочной железы.

Таким образом, анализ морфологической и молекулярной гетерогенности РМЖ служит основой для лучшего понимания механизмов канцерогенеза и опухолевой прогрессии.

Г.А. Юнси¹, С.А. Василенко¹, И. Юнси²

Монографическое описание вспышки туберкулеза крупного рогатого скота в Красногвардейском районе Республики Крым

*Медицинская академия имени С.И. Георгиевского
ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», Симферополь, Россия (1)*

*Академия биоресурсов и природопользования
ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», Симферополь, Россия (2)*

G.A. Younsi¹, S.A. Vasilenko¹, I. Younsi²

Monographic description of tuberculosis of cattle outbreak in the Krasnogvardeysky region of the Republic of Crimea

Туберкулез крупного рогатого скота, вызываемый *Mycobacterium tuberculosis bovis* (bTB) успешно ликвидирован во многих развитых странах, включая Австралию, большинство государств - членов ЕС, Швейцарию, Канаду и все, кроме нескольких, штаты в США [1]. Однако bTB остается серьезной проблемой в мире, в том числе в РФ, где вспышки заболеваемости объясняются резервуаром инфекции *Mycobacterium bovis* в дикой природе, почвенными и метеорологическими условиями биогеохимических провинций [2]. Контроль bTB важен из-за его потенциальной опасности для здоровья человека, а также из-за серьезных экономических потерь вследствие выбраковки молока и убоя зараженного скота, необходимости проведения длительных и затратных противоэпизоотических мероприятий [3]. Возможность борьбы с болезнью путем вакцинации крупного рогатого скота (КРС) непопулярна в ветеринарной медицине в основном из-за потенциальной компрометации существующих туберкулиновых диагностических тестов. При этом КРС может стать инфекционно опасным задолго до того, как проявятся какие-либо очевидные клинические признаки, характерные для bTB, даже при условии тщательного ветеринарного обследования [3, 4].

Цель данной работы – описать клинико-патоморфологические изменения в органах и тканях при вспышке bTB в ОХ «Клепинино» Красногвардейского района Республики Крым, выявить причины возникновения bTB в данном эпидемически благополучном хозяйстве.

Материалы и методы. В сентябре 2015 г. проведено плановое обследование (двойная туберкулиновая проба) 180 коров черно-пестрой породы в возрасте 4 - 7 лет ГУП РК «Крымский элеватор» ОХ «Клепинино» Красногвардейского района Республики Крым. Животные, давшие положительную реакцию на внутрикожное введение туберкулина, были подвергнуты вынужденному убою с последующим гистологическим исследованием пораженных органов. Срезы окрашены гематоксилином и эозином, для бактериоскопического исследования мазков использовалась окраска по Цилю-Нильсену.

Результаты. При клиническом осмотре коров температура, пульс и дыхание были в пределах физиологической нормы, симптоматика, характерная

для бТВ, не выявлена. Однако при этом из 180 особей у 150 (83,3%) отмечена реакция на введение ППД - туберкулина в виде утолщения кожной складки от 6,0 до 25,0 мм. Проведен диагностический убой двух особей, установлен диагноз: туберкулез, вызванный *Mycobacterium tuberculosis bovis*. В соответствии с правилами по профилактике и ликвидации туберкулеза СПЗ.1. 093-96, ВП 13.3.1325-96 п.7.1.4 осуществлен вынужденный убой 150 особей. При макроскопическом осмотре у 135 (90,0%) особей отмечено поражение лимфатических узлов (средостенных, подчелюстных, заглоточных, бронхиальных, околожелудочных, печеночных, мезентериальных и паховых), у 60 (40,0%) – поражение реберной плевры, у 89 (59,3%) – паренхимы легких, у 5 (3,3%) – селезенки, у 2 (1,3%) – стенки кишечника. Из 28 молодых особей у 23 (82,1%) установлена генерализованная форма («жемчужница»).

При патогистологическом исследовании в пораженных органах выявлены туберкулезные гранулемы: центр узелков – казеозный некроз в виде гомогенной оксифильно окрашенной массы с пикнотичными ядрами и ядрами в состоянии рексиса. По периферии казеозного некроза – радиально расположенные эпителиоидные клетки, среди которых встречаются гигантские. За зоной эпителиоидных клеток выявлена зона лимфоидных клеточных элементов. Встречаются туберкулезные гранулемы с петрификациями в центре.

При бактериоскопическом исследовании мазков из патологического материала, окрашенных по Цилю-Нильсену, обнаружены микроорганизмы, морфологически сходные с возбудителем туберкулеза, в дальнейшем бактериологически типизированные как *Mycobacterium tuberculosis bovis*.

Причинами, способствовавшими возникновению заболевания КРС в эпидемически благополучном хозяйстве, могли быть грызуны, синантропная птица, вода, корм, почва. Молодые животные, по-видимому, заразились через молоко или обрат, полученные от больных животных.

Выводы: туберкулез КРС ГУП РК «Крымский элеватор» ОХ «Клепинино» Красногвардейского района Республики Крым протекал латентно, выявлен только при туберкулинизации всего поголовья, патоморфологическое исследование установило полиорганное поражение. Заражение, вероятно, произошло в результате неэффективных профилактических мероприятий по минимизации распространения бТВ из дикой природы.

Литература:

1. The Center for Food security and Public health. Iowa State University Bovine Tuberculosis, http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/bovine_tuberculosis.pdf. Last Updated: October 2007.
2. Туберкулез крупного рогатого скота. Ветеринария в сельском хозяйстве. Диагностика и лечение заболеваний, <http://handcent.ru/osnovy-veterinarnoy-geografii/2828-tuberkulez-krupnogo-rogatogo-skota.html>.
3. Донченко Н.А. Усовершенствование средств и методов диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота. – Новосибирск, 2008.
4. Базарбаев М, Сырым Н.С., Елекеев Т.А. и соавт. Сенситины для дифференциации неспецифических реакций у КРС на ППД-туберкулин для млекопитающих // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – 6(140). – С. 118-125.

А.А. Бонацкая¹, И.И. Виноградов^{1,2}

**Периваскулярная эпителиоидноклеточная опухоль (РЕСома)
забрюшинного пространства**

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (1)*

*ГБУ РО «Областной клинический онкологический диспансер»,
Рязань, Россия (2)
(rzgmu@rzgmu.ru)*

A.A. Bonatskaya, I.I. Vinogradov

Perivascular epithelioid cell tumor (PEComa) of retroperitoneum

Новообразования с периваскулярной (perivascular) эпителиоидноклеточной (epithelioid cell) дифференцировкой (РЕСома) – исключительно редкие мезенхимальные опухоли, состоящие из гистологически и иммуногистохимически выявляемых периваскулярных эпителиоидных клеток.

Термин «РЕСома» был предложен Zamboni и соавт. в 1996 г. В 2002 термин был признан классификацией ВОЗ. Им стали обозначать группу новообразований, в которую так же включены: ангиомиолипома, светлоклеточная «сахарная» опухоль, лимфангиолейомиоматоз легких. Для РЕСома характерна периваскулярная локализация, часто с радиальным расположением клеток вокруг просвета сосуда. Также типично расположение эпителиоидных клеток ближе к сосудам; веретенновидные клетки, похожие на гладкие миоциты, как правило, определяются в отдалении от сосудов. Строма опухоли может быть гиалинизирована. Чаще всего локализованы в матке, также встречаются в печени, поджелудочной железе и в забрюшинном пространстве.

Цель исследования: провести анализ гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином – эозином, провести иммуногистохимическое исследование опухоли с целью уточнения ее гистогенеза и степени дифференцировки (злокачественная или доброкачественная).

Материалом для исследования послужили препараты окрашенные гематоксилином и эозином и парафиновые блоки, полученные после нефрэктомии слева у больной с предварительным диагнозом «забрюшинная опухоль».

Результаты и обсуждение: из анамнеза известно, что с жалобами на тупые, ноющие боли в левой поясничной области пациентка обратилась в областную клиническую больницу, где ей было выполнено МРТ-исследование забрюшинного пространства. По данным МРТ: картина объемного забрюшинного образования описанной локализации (нельзя исключить воспали-

тельный неспецифический процесс). Пациентке выполнена операция: ревизия брюшинного пространства слева, нефрэктомия слева. При гистологическом заключении - злокачественная опухоль неясного гистогенеза. Патоморфологическое исследование на базе Рязанского областного онкологического диспансера выявило опухоль, состоящую из крупных, преимущественно эпителиоидных клеток со светлой гранулярной цитоплазмой, инфильтрирующую жировую клетчатку с очагами некроза и участками геморрагического пропитывания. В почке картина хронического пиелонефрита. Проведено ИГХ-исследование с антителами к PanCK, CD45, виментину, S-100, синаптофизину, хромогранину А, CD56, CD99, CD117, HMB-45, melan A, PLAP, SMA, кальретинину, Ki-67. Реакция с АТ к S-100, HMB-45 – положительная в части клеток опухоли. Реакция с АТ к NSE, melan A, SMA – положительная в клетках опухоли. Реакция с АТ к ОЦЛ, ОЛА, виментину, синаптофизину, хромогранину А, CD56, CD99, CD117, PLA, кальретинину – отрицательная в клетках опухоли. Индекс Ki-67 – 7%. Иммунофенотип соответствует PEComa (периваскулярной эпителиоидноклеточной опухоли). С учетом данных о распаде (из протокола операции), вероятнее - злокачественной. ICD-O код 8714/3.

Заключение. Приведенное клиническое наблюдение иллюстрирует решающее значение иммуногистохимического исследования в определении гистогенеза опухоли и постановки диагноза, что диктует необходимость более широкого внедрения данной методики в клиническую практику.

Д.Е. Кузьмичев, И.М. Вильцев, С.В. Чирков

К вопросу морфологической диагностики некоторых заболеваний эндокринных желез

*КУ ХМАО - Югры «Бюро судебно-медицинской экспертизы»,
Ханты-Мансийск
(sudmednauka@mail.ru)*

D.E. Kuzmichev, I.M. Viltsev, S.V. Tchirkov

To the issue of morphological diagnostics some diseases of the endocrine glands

Во многих случаях, постмортальная диагностика в танатологической практике заболеваний, причин смерти крайне затруднена. Связано это, с тем, что первичными целями судебно-медицинской службы служит установление насильственной смерти (травм, отравлений, ятрогений), а для самой работы врача – судебно-медицинского эксперта характерно минимальное количество информации об умершем, в том числе и медицинской. Работать необходимо, помня и зная практически все медицинские дисциплины, в наших случаях на первый план выступили основы эндокринологии.

Цель работы состояла в практических аспектах диагностики синдрома Иценко-Кушинга и Тиреоидита Хашимото для врачей – морфологов, в первую очередь судебно-медицинских экспертов.

Материалы и методы. С применением морфологических, морфометрических и рентгенологических методов исследовались случаи из судебно-медицинской практики, которые, по сути, явились секционными находками.

Случай №1. На necropsию в танатологический отдел доставлена приезжая женщина, 38 лет. Смерть произошла, среди знакомых, на фоне мнимого здоровья. Каких-либо других катamnестических данных на момент исследования, установлено не было. Характерными морфологическими особенностями стали: выраженный центральный тип ожирения, надключичные жировые подушки, кожные покровы лица истончены, атрофичны, насыщенно красного цвета (плетора лица), гиперпигментация и сухость кожных покровов конечностей, гипертрихоз лица, груди и спины, «буйволинный горб», выраженные абдоминальные стрии, отеки голеней и стоп, явления распространенной пиодермии, грибковые поражения ногтей пластин пальцев стоп, экхимозы и сосудистые звездочки конечностей. С помощью цифрового передвижного рентгенологического аппарата были установлены явления остеопороза в костях черепа, длинных трубчатых костях, консолидированные переломы ребер, костей нижних конечностей. По органам и тканям – признаки быстро наступившей смерти, при нормальной форме увеличенные в размерах гипофиз (4×3,5×2,8 см, массой 7 грамм), надпочечники (10×5,5×1,5 см, общей массой 26 грамм), уменьшение в размерах и массе печени (19,5×8×7×7 см, массой 740 грамм), кроме того имели место выраженный отек головного мозга и легких. Микроскопически: в коже уплотнение эпидермиса с отсутствием сосочков, уменьшение коллагеновых волокон и фиброзной ткани, атрофия мышечных волокон скелетной мускулатуры и миокарда, значительное скопление в аденогипофизе базофильных клеток, дегенеративные изменения разных отделов головного мозга, выраженная гипертрофия коры надпочечников, атрофические изменения в яичниках, распространенные васкулиты.

Случай № 2. Молодой мужчина, 29 лет приехал в гости к родственникам, через три внезапно скончался дома. Какой-либо медицинской документации предоставлено не было. Мужчина был худощавого телосложения, с четко проступающими через кожу, контурами щитовидной железы. Патоморфологические признаки были следующие. Щитовидная железа уплотнена, с бугристой поверхностью, резко увеличена в размерах и массе (9×6×4,5 см, массой 110 грамм), ткань ее белесовато-розоватого цвета, крупнодольчатая, в строме железы инфильтрация лимфоидными элементами, плазматическими клетками, лимфоидные фолликулы различного размера, некоторые из которых трансформированы. В целом выраженные дегенеративные изменения щитовидной железы и признаки кардиомиопатии.

Результаты. В первом случае была верифицирована причина смерти «Синдром Иценко-Кушина», который осложнился отеком головного мозга и легких, во втором случае «Тиреоидит Хашимото, гипертрофический вариант», приведший к развитию «Тиреотоксической кардиомиопатии и сердеч-

ной недостаточности». В танатогенезе при синдроме Иценко-Кушинга, на первый план выступили левожелудочковая недостаточность, отек легких, а при тиреодите Хашимото – на фоне развившейся кардиомиопатии - аритмии, фибрилляция и сердечная недостаточность.

Выводы. Как нам, кажется, оба случая имеют некоторое прикладное значение для врачей – морфологов (судебно-медицинский экспертов и патологоанатомов), могут быть интересны начинающим врачам. Так как, как уже, выше указано, зачастую особенностью работы в танатологических отделах Бюро судебно-медицинский экспертизы, является полное отсутствие или минимальное количество катамнестической информации, к тому же, ввиду разных причин и особенностей, информации может быть противоречивой и не всегда правдивой. Таким образом, от врача – судебно-медицинского эксперта требуются знания в различных разделах медицины, как практической, так и теоретической. А полагаться, в ряде случаев необходимо именно на морфологические и морфометрические методы исследований, ну и конечно, же своевременно и правильно использовать вспомогательные методы, в нашем – цифровое рентгенологическое оборудование. Скажем пару, слов и медицинской составляющей в работе судебной медицины. Второй значимой задачей нашей службы является помощь практическому здравоохранению в разработке профилактически, диагностических, лечебных и иных мероприятий, которое реализуются в первую очередь через накопленный опыт экспертов и выражаются в адекватной двухстороннем сотрудничестве с клиницистами путем разбора летальности, научных конференций, семинаров, в том числе и тематических. Не нужно, как это часто бывает, подменять судмедэксперта – патологоанатомом.

А.С. Кулешова, Ю.Г. Павлова, И.И. Виноградов, И.В. Васин

Случай ранней метастатической меланомы

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия*

A.S. Kuleshova, U.G. Pavlova, I.I. Vinogradov, I.V. Vasin

Case of early metastatic melanoma

Актуальность. В России в 2015 г. в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями меланома составила 14,2 % [1]. Ежегодный прирост заболевших составляет 5,7 тыс. человек, 2,2 тыс. из них умирают. Если в 2006 г. число заболевших было 39,7 на 100 000 населения, в 2012 - 48,3 на 100 000 населения, то в 2016 - уже 59,3. При этом удельный вес больных с запущенными стадиями процесса от числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом в 2016 г. составил 18,9 % [2,3]. В мире заболеваемость меланомой продолжает расти со скоростью примерно 3 % в год [4].

Цель исследования: продемонстрировать бурное и ранее метастазирование меланомы и многообразие форм генерализации.

Материалы и методы. На рассмотрение представлен патологоанатомический случай. Пациентка с декабря 2016 по январь 2017 года находилась на стационарном лечении в онкологическом диспансере по поводу меланомы кожи правого плечевого сустава. Было проведено широкое иссечение опухоли кожи правого плечевого сустава и 2 близлежащих сателлитов. Гистологическое заключение: изъязвленная, пигментная, эпителиоидно-веретенноклеточная, узловая меланома с умеренной митотической активностью и слабой лимфоидной реакцией. 5 уровень инвазии по Кларку, толщина опухоли по Бреслоу – 7,5 см. Описанные очаги по периферии представлены опухолевыми сателлитами меланомы в дерме. По краям резекции опухолевого роста не выявлено. pT4bNx. В последствии проведен курс химиотерапии. При настоящем поступлении в областную клиническую больницу пациентка предъявляла жалобы на общую слабость, тошноту, трехкратную рвоту кровью, одышку. На ФГДС: эндоскопическая картина множественного опухолевого (вероятно метастатического) поражения желудка с элементами состоявшегося кровотечения и нарушением эвакуации из желудка. Пациентка переведена в реанимационное отделение. Несмотря на проводимое лечение, состояние больной с отрицательной динамикой. Реанимационные мероприятия без эффекта. 05.03.17 констатирована смерть. На аутопсии обнаружены послеоперационные рубцы на коже правого плеча от удаленной меланомы, множественные метастазы в щитовидную железу, обе молочные железы, ребра, легкие, сердце, сальник, печень, селезенку, стенку желудка, почки, надпочечники, тело матки, подмышечные лимфатические узлы, лимфатические узлы средостения, паратрахеальные, ворот печени, брыжейки тонкой и толстой кишки, а также некроз и изъязвление метастатического узла в стенке желудка и признаки массивного желудочно-кишечного кровотечения, что и послужило причиной смерти. Выставлен патологоанатомический диагноз. Основное заболевание: меланома кожи правого плеча с множественными метастазами в щитовидную железу, обе молочные железы, ребра, легкие, сердце, сальник, печень, селезенку, стенку желудка, почки, надпочечники, тело матки, подмышечные лимфатические узлы, лимфатические узлы средостения, паратрахеальные, ворот печени, брыжейки тонкой и толстой кишки, pT4bN3M1. Операция: широкое иссечение опухоли кожи правого плечевого сустава и 2 близлежащих сателлитов давностью 2 месяца. Курс химиотерапии давностью 1 месяц 24 дня. Осложнения основного заболевания: Синдром портальной гипертензии: варикозное расширение вен нижней трети пищевода. Некроз и изъязвление метастатического узла в стенке желудка. Массивное желудочно-кишечное кровотечение. Выраженные дистрофические изменения и малокровие внутренних органов. Отек легких и головного мозга. Сопутствующие заболевания: Атеросклероз коронарных артерий сердца (2 степень, 2 стадия, стеноз 30%). Атеросклероз аорты.

Вывод. Слабая чувствительность опухоли к химиотерапевтическим препаратам, многообразие путей метастазирования и стремительная скорость диссеминации меланомы показывает необходимость ранней диагностики для стабилизации смертности от данного заболевания.

Литература:

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). – М., 2017.
2. Аксель Е.М. Состояние онкологической помощи населению в России и странах СНГ в 2007 году // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина. – 2009. – 20: 3(Прил. 1). – С. 8-155.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. – М., 2017.
4. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures. 2006. Atlanta, GA, American Cancer Society. <http://www.cancer.org/downloads/STT/CAFF2006PWSecured.pdf>.

М.О. Мавликеев¹, А.А. Титова¹, А.Т. Чебочакова¹, И.Л. Плакса^{2,3},
Н.Ф. Гизатуллина^{4,5}, А.П. Киясов¹, Р.В. Деев^{3,6}

Случай синдрома Кароли: клинико-лабораторные особенности и патогистологический анализ

ФГАОУ ВО «Казанский федеральный университет», Казань, Россия (1)

*ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 ДЗМ»,
Москва, Россия (2)*

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (3)

ГАОУЗ «МКДЦ», Казань, Россия (4)

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Россия (5)

*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (6)*

(mmavlikeev@gmail.com)

М.О. Mavlikeev, A.A. Titova, A.T. Chebochakova, I.L. Plaksa,
N.F. Gizatullina, A.P. Kiyasov, R.V. Deev

Caroli's syndrom case: clinical and laboratory characteristics and histopathological analysis

Синдром Кароли – редкое (частота 1:1000000) аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, характеризующееся кистозным расширением внутрипеченочных желчных протоков в сочетании с портальным фиброзом, ведущими к портальной гипертензии. Данное заболевание обусловлено мутацией в гене PKHD1, кодирующем белок фиброцистин – компонент первичных ресничек эпителия, в результате чего нарушается формирование желчных протоков. Патоморфогенез синдрома Кароли остаются недостаточно изученными. Нами описан клинический случай с подробным патогистологическим анализом.

Пациент в возрасте тридцати семи лет, с детства страдавший циррозом печени неясной этиологии, поступил в ГАОУЗ «МКДЦ» (Казань) в мае 2016

года с жалобами на сильную боль в правом эпигастрии, желтуху и рвоту. При обследовании обнаружена выраженная гепатоспленомегалия. Была произведена ЭРХПГ с одновременной литотрипсией и последующей установкой назобилиарного дренажа, при фистулографии обнаружены множественные кистозные расширения внутрипеченочных желчных протоков. В ходе 25-дневной госпитализации пациенту проводились повторные сеансы плазмафереза с целью детоксикации, ЭРХПГ и санации общего желчного протока, с отрицательной динамикой состояния пациента в виде нарастания уровня прямого билирубина, появления и неуклонного прогрессирования дисметаболической энцефалопатии, переходом в состояние комы и последующей смертью.

В ходе патологоанатомического вскрытия обнаружено: печень плотная, бугристая, зелено-коричневого цвета, увеличена в размерах до 30,0×19,0×23,0×12,0 см. На разрезе ткань печени узловатая, с широкими волокнистыми прослойками желто-серого цвета, расширенными внутрипеченочными желчными протоками и множественными многокамерными кистами 0,5-7,5 см в диаметре с плотными стенками толщиной 0,1-0,5 см, заполненными замазкообразной коричневой желчью и местами бело-желтым гноем. Желчные протоки значительно расширены, левый печеночный проток обтурирован. В расширенных портальной и селезеночной венах обнаружены пристеночные тромбы. Обнаружено варикозное расширение вен нижней трети пищевода, размеры селезенки увеличены до 27,0×12,0×6,0 см.

Образцы внутренних органов были зафиксированы в 10% нейтральном формалине и залиты в парафин по стандартной методике, гистологические срезы были окрашены гематоксилином и эозином, срезы печени также были окрашены по Маллори, альциановым синим, импрегнированы серебром по Футу, а также иммуногистохимически с антителами к Ki-67, цитокератинам (ЦК) 7, 8, 19, CD34, CD4, CD8, CD45, CD68, десмину, каспазе 3, bcl-2, α-фетопroteinу. В качестве контроля были взяты образцы печени пациента в возрасте тридцати лет, умершего от разрыва аневризмы мозговой артерии.

При патогистологическом анализе срезов внутренних органов обнаружены: перичеллюлярный отек и сморщивание нейронов коры головного мозга, полнокровие сосудов и склероз межалвеолярных перегородок в легких, венозное полнокровие мозгового вещества почек и гиалиново-капельная дистрофия нефроцитов, атрофия белой и красной пульпы селезенки с выраженным фиброзом ретикулярной стромы.

При патогистологическом анализе срезов печени обнаружены широкие прослойки фиброзной ткани, между которыми замурованы псевдоузлы печеночной паренхимы различной формы и размеров. Печеночные балки дискомплексированы, синусоиды расширены, отдельные гепатоциты некротизированы. В фиброзных полях обнаруживалось увеличенное количество желчных протоков различного калибра. Протоки расширены, с разрывами стенки, имели причудливую форму, содержали желчные камни и гной. Выстилка протоков либо псевдомногослойная, с гиперплазированными холангиоцитами, переполненными кислыми мукополисахаридами, либо атрофичная. Наблюдается лимфогистиоцитарная инфильтрация слизистой протоков. Фиброзные поля и

стенки кист различных размеров и форм инфильтрированы CD8+ лимфоцитами. Окрашивание с антителами к CD68 выявило увеличенные в численности и размерах клетки Купфера, фагоцитирующие желчь. Также были обнаружены ЦК7-позитивные гепатоциты.

Таким образом, патогистологический анализ печени пациента с синдромом Кароли выявил кистозное расширение внутрипеченочных желчных протоков, гнойный холангит и как следствие билиарный цирроз печени. При этом важными патоморфогенетическими компонентами синдрома являются тяжелый портальный фиброз с обширной лимфоцитарной инфильтрацией, выраженная дуктулярная реакция с дисплазией холангиоцитов и нарушение дифференцировки общей клетки-предшественницы холангиоцитов и гепатоцитов.

М.В. Мнихович^{1,2}, К.Ю. Мидибер¹, С.В. Шугай³, К.В. Буньков⁴, И.В. Васин⁵,
С.В. Снегур⁵, Ю.Г. Павлова⁵, К.А. Акопян²

Краниальные метастазы рака молочной железы

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Россия (1)*

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия (2)

*ФГАУ «Национальный научно-практический центр нейрохирургии
им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ, Москва, Россия (3)*

ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Смоленск, Россия (4)

ГБУ РО «Областная Клиническая Больница», Рязань, Россия (5)

M.V. Mnikhovich, K.Yu. Midiber, S.V. Shugai, K.V. Bun'kov, I.V. Vasin,
S.V. Snegur Yu.G. Pavlova, K.A. Hakobyan

Cranial metastasis of breast cancer

Рак молочной железы (РМЖ) представляет собой патогенетически полиморфное заболевание, и не все подгруппы больных получают одинаковый эффект от определенной терапии. У больных распространенным раком молочной железы особо актуальным является определение гормональной и лекарственной чувствительности опухоли для индивидуального подбора схем. С этой целью используется идентификация молекулярнобиологических тканевых маркеров в опухолях. Большинство из них характеризуют определенные биологические особенности опухоли, специфику ее «поведения» - например, гормональную зависимость или способность к метастазированию. РМЖ имеет особенную предрасположенность к развитию метастазов в кости.

Костная ткань обладает уникальной способностью постоянно регенерировать под влиянием системных и локальных гормонов, факторов роста, цитокинов. Скелет человека находится в динамическом состоянии, так как координирующее действие остеокластов и остеобластов на трабекулярной по-

верхности приводит к постоянному чередованию процессов резорбции и костеобразования. При нормальных процессах перестройки костной ткани в результате действия остеокластов на гидроксиапатит костного матрикса, а также за счет продукции протеолитических ферментов и ионов водорода происходит резорбция кости, образование лакун в местах действия этих клеток. Последующее костеобразование происходит под влиянием остеобластов, которые синтезируют белки костного матрикса (коллаген I типа, остеокальцин, остонектин) и которые ответственны за секрецию факторов роста и минерализацию формирующейся костной ткани.

Метастазирование опухолевой клетки в кости приводит к активному образованию местных паракринных факторов, стимулирующих активность остеокластов: простагландина E, ряда цитокинов, таких как TGF- α , β , эпидермальный фактор роста (EGF), фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкинов (IL-1, IL-6), прокатепсина D и др. Клетки иммунной системы могут также синтезировать факторы активизирующие остеокласты: лимфотоксин, IL-1, IL-6, интерферон-гамма (IFN- γ), колониестимулирующие факторы, в частности GM-CSF. Помимо местных факторов, активность остеокластов может стимулироваться системными воздействиями, а именно, паратгормонподобным белком. При исследованиях в эксперименте установлено, что опухолевые клетки, экспрессирующие PTHrP, отличаются как высокой частотой метастазирования в кости, так и предрасполагают к возникновению гиперкальциемии. Таким образом, имеются убедительные доказательства того, что клетки РМЖ продуцируют факторы, активизирующие остеокласты, которые вызывают резорбцию костной ткани; при этом выделяются цитокины и факторы роста, которые, в свою очередь, стимулируют пролиферацию опухолевых клеток. При этом образуется «порочный круг».

До 90% аутопсий пациентов с РМЖ выявляют метастазы в кости, в основном имеются метастазы только в кости и ни в какие другие органы. Поражаются при этом, как правило, позвоночник, проксимальная часть бедренной и плечевой костей, кости таза, ребра, грудина. По данным различных авторов, частота метастазирования рака молочной железы в кости составляет от 13,5 до 85%. По мере увеличения стадии рака молочной железы сокращается временной интервал между диагностикой первичного процесса и появлением костных метастазов. Анализ метастатического поражения скелета в процессе диагностики показал, что чаще всего встречались множественные метастазы (40,9%). Реже диагностировали солитарные метастазы (21,6%). И, наконец, промежуточное положение (37,5%) заняли сочетанные метастазы, когда наряду с костными метастазами имелось поражение других органов.

Одной из основных причин преимущественного поражения метастазами РМЖ костей скелета является секреторная активность клеток РМЖ, позволяющая создать в костной ткани максимально благоприятные возможности для роста и развития метастазов.

Мы наблюдали 2 случая рака молочной железы у женщин 55 и 71 года.

У больной №1 Н., 71 года, по поводу внутрипротокового рака (ER 6 баллов, PR 8 баллов, Ki67 - 10%, HER2neu-0 баллов) была выполнена ради-

кальная мастэктомия справа, проведено 5 курсов полихимиотерапии по схеме CAF. Через 2 года после лечения рецидив. Больная получала симптоматическую терапию. На аутопсии при вскрытии полости черепа обнаружено, что затылочная и части височной кости с обеих сторон замещены опухолевой тканью. При микроскопии: метастаз рака молочной железы в кости черепа.

Вторая больная С., 55 лет, после радикальной мастэктомии получала гормонотерапию по поводу инфильтрирующего протоково-долькового рака молочной железы (ER – 8 баллов, PR – 4 балла, Her2\neo - 0 Ki67 – 3%). Через 10 месяцев от начала лечения, прогрессия опухоли. На аутопсии: в проекции височной кости и задней черепной ямки в твердой мозговой оболочке солидное разрастание опухолевой ткани 2,0x2,0x1,8 см, мягко-эластической консистенции. При микроскопии – метастазы рака молочной железы. Других метастатических поражений у данных пациенток не было выявлено. Таким образом, нами приведены случаи редкого метастазирования рака молочной железы в кости и полость черепа.

Приведённые наблюдения демонстрируют редкий случай метастазирования рака молочной железы в кости. Метастазированию способствовало длительное течение заболевания из-за позднего обращения за медицинской помощью. Визуальная локализация опухоли у большинства больных способствует ранней диагностике и своевременному лечению, что предупреждает подобное неблагоприятное течение заболевания.

И.Л. Плакса^{1,2}, М.В. Пешков³, Е.М. Харланова⁴, В.М. Кравцова⁴, Р.В. Деев^{1,5}

Патогистологическая характеристика костного мозга пациентов со злокачественным остеопетрозом

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (1)

*ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 ДЗМ»,
Москва, Россия (2)*

*ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»,
Санкт-Петербург, Россия (3)*

*ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия (4)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (5)*

(mikhail.peshkov.95@mail.ru)

I.L. Plaksa, M.V. Peshkov, E.M. Charlanova, V.M. Kravcova, R.V. Deev

Pathohistological study of the bone marrow biopsy specimens in recessive osteopetrosis

Введение. Наличие в России эндемичного очага аутосомно-рецессивного (злокачественного) остеопетроза в республиках Чувашия и Ма-

рий-Эл, где частота встречаемости этой патологии достигает 1:3500 новорожденных, определяет актуальность изучения клеточных и молекулярных механизмов развития данного заболевания. Вследствие выраженных нарушений кроветворного микроокружения на фоне морфологических изменений костной ткани и стромы костного мозга (КМ), ведущим в клинической структуре заболевания часто является синдром костномозговой недостаточности, что обуславливает гибель больных от кровотечений, анемии и инфекционных осложнений. Единственным эффективным средством лечения пока остаётся трансплантация гемопоэтических клеток костного мозга (ТГСК), однако её успех может во многом зависеть от выраженности патоморфологических изменений в КМ. В связи с этим комплексный анализ морфологических изменений КМ, в совокупности с клиническими проявлениями заболевания и результатом ТГСК может помочь в определении прогноза, а также выявить связь между молекулярно-генетической основой патологии и структурными проявлениями.

Цель. Оценить патогистологические изменения костного мозга у пациентов с аутосомно-рецессивным остеопетрозом, которым была выполнена ТГСК.

Материалы и методы. Материалом для исследований явились трепанационные биопсии и мазки крови КМ четырёх пациентов со злокачественной формой остеопетроза в возрасте 11 месяцев, 1 года, 1.5 и 7 лет, которые поступили в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой из республик Чувашия и Марий Эл для ТГСК. Гистологическая обработка материала включала фиксацию в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинацию в трилоне Б и заключение в парафин, с последующим изготовлением срезов толщиной 4-5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, азуром и эозином и по Ван-Гизону. Мазки костного мозга окрашивали по Романовскому-Гимзе.

Результаты и обсуждение. У всех пациентов была выявлена мутация в гене TCIRG1, которая приводит к изменению структуры $\alpha 3$ субъединицы вакуольной H^+ -АТФаз, что определяет нарушение функции ионного канала и, как следствие, полную утрату резорбтивной функции остеокластов. Выраженный сдвиг равновесия между формированием костной ткани и её резорбцией в сторону остеогенеза на светооптическом уровне выражался в формировании избыточного количества низкоминерализованного остеоида, что привело к практически полной облитерации большей части костномозговых лакун – их средняя площадь составляла $42\,812 \pm 3\,547 \text{ мк}^2$ при норме для этого возраста $450\,000 \pm 5\,000 \text{ мк}^2$. Увеличение объёма остеоида, по-видимому, по принципу обратной связи сопровождалось достоверным увеличением числа остеокластов, индекс которых варьировал от 5.6 ± 1.2 до 17.6 ± 3.4 , при норме от 0.1 до 0.39 (П.А. Ревелл, 1993). Несмотря на это, лакуны резорбции (Хаушипа) не определялись, что косвенно подтверждает полную утрату резорбтивной функции остеокластов. Также общим гистологическим феноменом было отсутствие адгезии остеокластов к эндосту трабекул губчатого вещества – как правило, клетки находились на расстоянии 5-10 микрометров от эндоста или располагались свободно в центре костномозговых лакун. Проявлением активного остеокластогенеза у одного из пациентов являлось резкое

увеличение количества клеток моноцитарного ряда, с умеренно выраженными признаками внутридифферонной гетероморфности, которые располагались дискретно и формировали ведущий клеточный дифферон. Одновременно с уменьшением площади костномозговых лакун, у всех пациентов отмечалось разрастание в их пространстве соединительной ткани различной степени зрелости, что отражало фиброз стромы костного мозга, что ещё в большей степени способствовало нарушению кроветворного микроокружения.

У всех пациентов при поступлении имелась двух- или трёхростковая цитопения. Морфологически это проявлялось резким ограничением и(или) полным подавлением гемопоэза - объём гемопоэтической ткани от площади межабтрабекулярных пространств у всех больных составлял не более 5-10%, при нормальном значении 90-95%, в зависимости от возраста пациента. Лишь в отдельных костномозговых лакунах сохранялись участки кроветворной ткани, которая была представлена преимущественно эритроидным ростком, расположенным в том числе в парабтрабекулярных зонах, со сдвигом до переходных и более ранних форм и чертами дисплазии. Клеточные формы мегакариоцитарного ростка у большей части пациентов практически полностью отсутствовали или были представлены единичными клетками с чертами дисплазии, что соответствовало выраженной тромбоцитопении у пациентов. Миелопоз в большинстве случаев был практически полностью подавлен и представлен единичными сегментоядерными гранулоцитами, также с признаками умеренной дисплазии.

Несмотря на тщательный подбор HLA-совместимых доноров, проведение аллогенной ТГСК у 3 из 4 пациентов осложнилось первичным неприживлением трансплантата, что предопределило гибель больных в скором времени после выполнения процедуры. Один из пациентов продолжает оставаться под наблюдением в раннем посттрансплантационном периоде.

Вывод. Клинико-морфологический анализ показал, что выраженные патоморфологические изменения костного мозга у больных злокачественным остеопетрозом является неблагоприятным прогностическим фактором, который снижает вероятность успеха ТГСК.

И.Л. Плакса^{1,2}, С.С. Савин³, Е.М. Харланова⁴, В.М. Кравцова⁴

Системный мастоцитоз: клинико-морфологический анализ пяти случаев пациентов с редким заболеванием

ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (1)

*ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 ДЗМ»,
Москва, Россия (2)*

*ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»,
Санкт-Петербург, Россия (3)*

*ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия (4)
(rabbitcss@inbox.ru)*

Systemic mastocytosis: clinicopathological study based on six patients with rare disease

Введение. Системный мастоцитоз (СМ) является клинически гетерогенной группой онкогематологических заболеваний, основным морфологическим проявлением которых является патологическая пролиферация и хоуминг тучных клеток (ТК) в одном и более органах. Согласно крайнему пересмотру классификации ВОЗ миелоидных неоплазий 2016 года эта группа нозологий была выделена из раздела миелопролиферативных заболеваний (МПЗ) в отдельную рубрику, что обусловлено молекулярно-генетическими особенностями патогенеза. Однако, как и при МПЗ, центральным компонентом в диагностике СМ остаётся патоморфологическое исследование, которое направлено на выявление популяции опухолевых клеток и оценку биологических характеристик СМ.

Цель. Выполнить клиничко-морфологический анализ больных СМ с позиции современной классификации ВОЗ миелоидных неоплазий.

Материалы и методы. Материалом для исследования являлись трепанационные биопсии и мазки крови костного мозга (КМ) 3 женщин и 2 мужчин с СМ, в возрасте от 17 до 68 лет. Гистологическая обработка материала включала фиксацию в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинацию в трилоне Б и заключение в парафин, с последующим изготовлением срезов толщиной 4-5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, азуром и эозином и по Ван-Гизону. Мазки КМ окрашивали по Романовскому-Гимзе. При постановке диагноза была использована классификация ВОЗ пересмотра 2016 года, согласно которой диагноз СМ может быть поставлен при наличии у пациента 1 большого и 1 одного малого критерия, среди которых: большой критерий – наличие в КМ (или другом внутреннем органе) мультифокальных инфильтратов, состоящих из более чем 15 плотно расположенных ТК; малые критерии – уровень триптазы в сыворотке крови выше 20 нг/мл, наличие в опухолевых клетках мутации в 816 кодоне гена KIT, а также экспрессия в них CD2 и/или CD25. Также выполнялась оценка «В» и «С» находок, наличие и количество которых отражает степень злокачественности процесса, что позволяет определить конкретную нозологическую форму: индолентный системный мастоцитоз (ИСМ), вялотекущий системный мастоцитоз (ВСМ), агрессивный системный мастоцитоз (АСМ) и тучно-клеточный лейкоз.

Результаты и обсуждение. Среди пациентов наблюдался значительный полиморфизм клинических симптомов: у 3 из 5 пациентов заболевание манифестировало кожными проявлениями, такими как пятнисто-папулезная сыпь на коже спины, живота, конечностей, часто сопровождающаяся зудом; у одного из больных в структуре заболевания доминировали желудочно-кишечные проявления - тошнота, жидкий стул, признаки синдрома мальабсорбции, в то время как у наиболее пожилого пациента единственным признаком СМ была анемия средней степени тяжести. Широкое разнообразие проявлений СМ обусловило то, что пациенты длительное время получали лишь симптоматическое

лечение или по поводу других заболеваний в непрофильных отделениях, прежде чем была установлена гематологическая природа заболевания – средний период времени постановки правильного диагноза составил от 5 месяцев до 7 лет. При обследовании в условиях гематологического отделения у всех пациентов был выявлен «большой» критерий для постановки диагноза СМ - поражение КМ. Дополнительным малым критерием СМ у 3 из 5 пациентов было наличие мутации D816V c-KIT, у остальных двух было выявлено увеличение концентрации триптазы в сыворотке крови свыше 20нг/мл.

Степень выраженности поражения КМ среди больных значительно варьировала: у 3 из 5 пациентов объём опухолевой инфильтрации составлял более 30%, что является одной из «В» находок, которая свидетельствует о более злокачественном течении заболевания. Также у больных был различный паттерн поражения: у 3 из 5 пациентов ТК формировали очаги, или нодули, различного размера и формы, как правило, в паратрабекулярных зонах и(или) в непосредственной близости от костных балок, с образованием в их проекции соединительной ткани разной степени зрелости, что отражало фиброз стромы КМ. Одновременно с опухолевыми клетками, которые при данном паттерне были представлены преимущественно вытянутыми атипичными клетками I типа, в очагах присутствовали эозинофильные гранулоциты, зрелые лимфоциты и плазматические клетки, что отражает их полиморфный состав. У двух других пациентов был выявлен диффузный и интерстициальный тип инфильтрации, при котором округлые опухолевые клетки II типа (промастоцит), с гипогранулярной цитоплазмой, образовывали сплошные поля и(или) были рассеяны между гематогенными клетками, с образованием немногочисленных скоплений по 6-8 клеток. На фоне опухолевой инфильтрации у 3 из 5 отмечалось умеренное сужение всех ростков кроветворения, а также развитие черт умеренной дисплазии вторичного характера в части клеток преимущественно эритроидного и мегакариоцитарного ростков. У 1 из пациентов с диффузным типом поражения костного мозга был обнаружен очаг остеолизиса в области поясничных позвонков, что является «С» находкой и критерием постановки диагноза АСМ, при котором показано выполнение полихимиотерапии. Трём пациентам с учётом объёма инфильтрации КМ более 30% и его гиперклеточности («В» находки) был поставлен диагноз ВСМ и назначена гормональная терапия. У одного из больных не было выявлено ни одной из «В» и «С» находок, что определяет благоприятный прогноз и позволяет поставить диагноз ИСМ, при котором оправдано применение тактики «watch and wait».

Вывод. Правильный выбор лечения больных СМ в рамках современной классификации требует комплексного анализа патоморфологических изменений в совокупности с клинико-лабораторными данными.

А.А. Романова, В.И. Рыбкина

Злокачественное новообразование тонкого отдела кишечника (случай из практики)

*ГБУЗ Ямало-Ненецкого автономного округа
«Надымская центральная районная больница», Надым, Россия
(viktoriya.rybkina.1992@mail.ru)*

A.A. Romanova, V.I. Rybkina

Neoplasm of the small intestine

Введение. Точная морфологическая идентификация опухоли является неотъемлемым "золотым" стандартом для выбора метода лечения, определения эффективности терапии, прогноза течения и возможности рецидива. Неблагоприятным в прогностическом плане является недифференцированный рак, когда морфологическая идентификация опухоли становится невозможной, ввиду выраженных анапластических изменений опухолевых клеток. Данная форма характеризуется активной пролиферацией недифференцированных клеток, гистогенез которых после применения методов ИГХ не установлен. Опухоль обладает способностью к быстрому инфильтративному росту и раннему метастазированию [1].

Актуальность. Несмотря на то, что на долю тонкой кишки приходится 75% длины всей пищеварительной трубки, частота опухолей этого отдела кишечника составляют 3-6% всех желудочно-кишечных новообразований, в том числе и доброкачественных. Частота злокачественных новообразований (ЗНО) данной локализации составляет около 1% наблюдений [2]. Лидирующими являются аденокарциномы, злокачественные карциноиды и лимфосаркомы [3].

Цель. На основании прижизненного гистологического исследования операционного материала, определить гистогенез и степень дифференцировки ЗНО тонкой кишки.

Материал и методы. Материалом для данного исследования послужил операционный материал, полученный после резекции тощей и подвздошной кишки от пациента К., 43 лет, прооперированного urgently, по поводу язвенно-некротического энтероилеита, осложнившегося развитием множественных перфоративных язв тощей, подвздошной кишки и перитонитом. Резецированный участок тонкой кишки был помещен в контейнер с фиксирующим раствором - забуференным нейтральным (10%) формалином. Затем осуществлялось макроскопическое исследование. После фиксации материал был подвергнут стандартной гистологической проводке в автоматическом процессоре STP120 Microm (Германия) с дальнейшей заливкой в парафиновые блоки. Приготовленные на ротационном полуавтоматическом микротоме HM 325 Microm (Германия) серийные срезы толщиной 3 - 5 мкм окрашивались по стандартной методике, с применением следующих красителей: гематоксилин-эозина, раствора альцианового синего, пикрофуксина по Ван - Гизону. Для

идентификации опухоли был применен ИГХ-метод с постановкой антител ЦКР-ПАН, CD3, CD20 и синаптофизина. Проведение микроскопии осуществлялось на световых микроскопах Olympus, Zeiss (Axioskop 40) [4, 5].

Результаты. При **макроскопическом исследовании** операционного материала препарата, серозная оболочка тонкой кишки была резко утолщена, с наличием фибринозных наложений по всей поверхности. На разрезе, со стороны слизистой кишки, визуализировались расположенные, на равном удалении друг от друга (от 5,0 до 8,0 см), перфоративные отверстия овальной формы с "подрытыми" краями, размерами 2,0х1,4 см. Также определялись язвенные дефекты округлой формы с валикообразно приподнятыми краями, дно которых имело красный цвет и фибринозные наложения. Регионарные лимфатические узлы были увеличены до 1,5 см. в диаметре, светло-серого цвета.

На **гистологических препаратах** стенка тонкой кишки с резко нарушенной структурой. Края язвенных дефектов были представлены опухолевой тканью с признаками выраженной пролиферации клеток анапластического эпителиоидно-клеточного типа, не формирующие никаких структур. Данные клетки имели светлую цитоплазму и крупное полиморфное ядро, встречались множественные фигуры патологических митозов. Инфильтративный характер роста опухоли распространялся от слизистой оболочки до серозного слоя. Перифокально, в венулах и лимфатических сосудах визуализировались комплексы опухолевых эмболов. Регионарные лимфатические узлы в большинстве полей зрения с признаками центрального некроза, окруженного солидными разрастаниями опухолевых комплексов с признаками выраженной анаплазии и с наличием в них фигур патологических митозов.

С целью верификации гистогенеза опухоли было проведено **ИГХ исследование**. Получены следующие результаты: отрицательная реакция на синаптофизин (опухоли АПУД- системы, карциноиды), CD3 - отрицательная (на Т-клеточную лимфому), CD20 - отрицательная (на В-клеточную лимфому). Отмечена выраженная экспрессия ЦКР-ПАН, что может свидетельствовать о наличии признаков гистогенеза исследуемой опухоли в пользу ее эпителиального происхождения. С учетом морфологических характеристик, данная опухоль может соответствовать недифференцированной карциноме тонкого кишечника с инфильтративно-язвенной формой роста, с распространением на брыжейку кишки и множественными перфорациями стенки тонкой кишки.

Выводы. Таким образом, был представлен редкий случай первичного злокачественного новообразования тонкой кишки: недифференцированной карциномы с инфильтративной формой роста и мультифокальным поражением стенки. Данный случай является сложным как для клинической диагностики, так и морфологической верификации.

Литература:

1. Струков А.И. Патологическая анатомия: учебник. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во «Медицина», 1971.
2. Пальцев М.А., Аничков Н.М., Литвицкий П.Ф. Патология человека: учебник: в 2-х т. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2009. – Т. 2. Частный курс.

3. Польшинский А.А., Лемешевская З.П., Зезюлина О.Н. и соавт. Сложный случай диагностики саркомы тонкой кишки (случай из практики) // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2005. – №3. – С. 97-99.
4. Шабунина-Басок Н.Р., Романова А.А. Характер и степень выраженности сосудистых реакций плацент жительниц Крайнего Севера при физиологической и осложненной беременности (стереоморфометрическое и иммуногистохимическое исследование) // Уральский медицинский журнал. – 2017. – №4. – С. 111-113.
5. Мальков П.Г., Франк Г.А., Пальцев М.А. Стандартные технологические процедуры при проведении патологоанатомических исследований; клинические рекомендации RPS1.1 Российское общество патологоанатомов. – М.: Практическая медицина, 2017.

К.А. Шукис^{1,2}, И.И. Виноградов^{2,3}, Е.В. Страхов^{1,2}, Р.В. Деев^{2,4}

**Необходимость применения иммуногистохимического метода
для диагностики новообразований на примере клинического случая
опухоли щитовидной железы**

*ГУЗ РО «Городская клиническая больница №11», Рязань, Россия (1)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Рязань, Россия (2)
ГУЗ РО «Клинический онкологический диспансер», Рязань, Россия (3)
ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия (4)*

K.A. Shukis, I.I. Vinogradov, E.V. Strachov, R.V. Deev

**The need for the application of immunohistochemistry for diagnosis
of neoplasms in the example of a clinical case of thyroid tumor**

Актуальность: патология щитовидной железы встречается у 8 - 18% взрослого населения земного шара, то есть примерно у 1,5 миллиарда человек (ВОЗ). В эндокринной патологии болезни щитовидной железы занимают второе место по своей распространенности. Злокачественные опухоли составляют 1 - 3% в структуре онкологической патологии (48). Рак щитовидной железы составляет от 0,4% до 6% всех раков и является наиболее распространенной формой злокачественных новообразований эндокринной системы. За 20 лет заболеваемость раком щитовидной железы возросла в 3 раза. В 1985 году этот показатель в среднем по России составлял 1,7 на 100000 населения, то в 1995 году - 3,4 - 5,1 на 100000 населения. Заболеваемость раком щитовидной железы, по данным 2004 г., равна 5,7 случая на 100000 чел. Доля данной патологии в структуре онкологической заболеваемости у женщин составляет 2,9%.

Цель исследования: провести анализ гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином - эозином и иммуногистохимических препаратов

ткани щитовидной железы. Уточнение гистогенеза опухоли. Определить степень дифференцировки опухоли (злокачественная или доброкачественная).

Материал и методы: препараты для гистологического и иммуногистохимического исследования были подготовлены из ткани щитовидной железы, полученной после гемитиреоидэктомии справа у больной с предварительным диагнозом: склерозированная аденома. Иммуногистохимическое исследование на базе Рязанского областного клинического онкологического диспансера было проведено с антителами к ОЦК, виментину, S-100, SMA, кальдесмону, CD-34, Ki-67.

Иммуногистохимическое исследование на базе Казанского (Приволжского) федерального университета было проведено с Ki-67, Pck, aSMA, vWF, S-100.

Результаты: заключение патогистологического исследования, проведенное в ГБУ РО Городская Клиническая Больница №11: ангиофиброма щитовидной железы. Заключение ИГХ исследования Рязанского областного клинического онкологического диспансера: реакция с антителами к виментину, SMA, CD34 – положительная в клетках опухоли. Реакция с антителами к ОЦК, кальдесмону, S-100 – отрицательная в клетках опухоли. Индекс Ki67 – 7%. С учетом фенотипирования – солитарная фиброзная опухоль щитовидной железы. Аналогичный диагноз был поставлен в заключении ИГХ исследования на базе Казанского (Приволжского) федерального университета.

Выводы: проведенный анализ показал, что данное образование - это редко встречающаяся веретенноклеточная соединительнотканная опухоль предположительно фибробластического происхождения. Использование нескольких видов различных маркеров увеличило точность диагностики опухоли щитовидной железы, а использование ряда дополнительных биомаркеров помогло определить доброкачественный потенциал опухоли. Таким образом, наряду с использованием традиционных диагностических методов исследования щитовидной железы, необходимо шире внедрять использование биомаркеров различных групп, свойств и специфичности для понимания молекулярных процессов развития новообразования и его прогрессирования.

Научное издание

Актуальные вопросы
фундаментальной, экспериментальной
и клинической морфологии

Материалы Всероссийской конференции
молодых специалистов

5-6 октября 2017 года

Сдано в печать 02.10.2017.

Бумага писчая. Гарнитура Times. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,5. Тираж 150 экз. Заказ №692.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии
управления информационных технологий, телекоммуникаций и оперативной полиграфии
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России
390026, г. Рязань, ул. Т. Шевченко, 34