

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА
ИМЕНИ АКАДЕМИКА А.П. АВЦЫНА
ФГБНУ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ХИРУРГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА
Б.В. ПЕТРОВСКОГО»

**ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С
МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МОРФОГЕНЕЗА В
НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ. РЕГЕНЕРАТИВНАЯ
БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА»**

ALL-RUSSIAN SCIENTIFIC CONFERENCE WITH
INTERNATIONAL PARTICIPATION
"ACTUAL TOPICS OF NORMAL AND PATHOLOGICAL
MORPHOGENESIS. REGENERATIVE BIOLOGY AND
MEDICINE"

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

15-16 ноября 2023 г.
Москва

УДК 616 091 +591
ББК 52.5+28.66
С 23

DOI: 10.31088/ResInstHumMorph2023.15-16

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Председатель: член-корреспондент РАН Л.М. Михалева
Заместитель председателя: член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский

Члены редакционной коллегии:
канд. биол. наук Т.В. Безуглова
профессор М.Н. Болтовская
профессор О.В. Макарова
докт. мед. наук Т.Х. Фатхудинов
А.К. Конюкова

С23 Сборник научных трудов Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии. Регенеративная биология и медицина». — М.: Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», 2023. — 142 с.

ISBN 978-5-6044479-2-5

В сборнике опубликованы результаты научных исследований, посвященных изучению как фундаментальных, так и прикладных аспектов патологической анатомии, клеточной биологии, цитологии и эмбриологии, а также регенеративной биологии и медицины. В сборнике представлены материалы, посвященные изучению морфологических основ иммунитета, воспаления, регенерации, закономерностей морфо- и эмбриогенеза в норме и патологии, способствующие решению ряда фундаментальных и прикладных аспектов клинической и экспериментальной морфологии, диагностики и обоснованию новых методов лечения заболеваний.

УДК 616 091 +591
ББК 52.5+28.66

*Текст публикаций воспроизведен в оригинальном авторском варианте без редакторской правки.
Ответственность за возможные ошибки лежит целиком на авторах.*

© НИИ морфологии человека им. ак. А.П. Авцына
ФГБНУ «РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского», 2023

ISBN 978-5-6044479-2-5

МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПАТОЛОГИИ РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА

Аксенова М.Г.¹, Степанова И.И.¹, Степанов А.А.¹, Тихонова Н.Б.¹, Алексанкин А.П.¹,
Низяева Н.В.¹

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва
sibr@yandex.ru

MOLECULAR GENETIC RESEARCH IN THE HUMAN PATHOLOGY OF REPRODUCTION

Aksenova M.G.¹, Stepanova I.I.¹, Stepanov A.A.¹, Tikhonova N.B.¹, Aleksankin A.A.¹, Nizyaeva N.V.¹
¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, sibr@yandex.ru

Введение. Бесплодие, привычное невынашивание беременности, преэклампсия и плацентарная недостаточность часто обусловлены генетическими причинами от хромосомных аномалий (анеуплоидий) до полиморфизмов кандидатных генов, формирующих «хабы» для всех биологических процессов, начиная с гаметогенеза и заканчивая развитием здорового эмбриона. Для изучения генетического влияния на развитие репродуктивной патологии используют несколько методических подходов. Во-первых, это классические эксперименты *in vivo* на релевантных моделях животных. Во-вторых, это исследования на клеточных линиях, включая эмбриональные стволовые клетки. И, в-третьих, это все способы генотипирования биологических образцов человека, включая экспрессию РНК и микроРНК и полиморфизмы ДНК кандидатных генов.

Материалы и методы. Для аналитического обзора использованы базы данных биомедицины и геномики <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>; транскриптомов клеточных линий https://cancer.sanger.ac.uk/cell_lines, <https://www.proteinatlas.org/humanproteome/subcellular/cell+line>, <https://maayanlab.cloud/Harmonizome/dataset/CCLE+Cell+Line+Gene+Expression+Profiles> и релевантных моделей животных <https://nagrc.go.ug>, <http://informatics.jax.org>.

Результаты и обсуждение. Генетические механизмы патологии репродукции человека часто изучаются с использованием релевантных животных моделей животных. Первые результаты в области биологии плаценты, функции яичников и фертильности, некодирующих РНК в гаметогенезе, метаболизме яйцеклеток и эмбрионов, криоконсервации, путях сигнальной трансдукции, динамике хроматина и эпигенетики были получены при использовании моделей животных. Инбредные животные генетически однородны, что позволяет проводить генетические исследования с небольшими размерами

выборки. С помощью методов молекулярной биологии определенные гены либо удаляются (нокаутуются), либо подвергаются направленному мутагенезу, либо сверхэкспрессируются у трансгенных животных. Большое сходство последовательностей ДНК человека и мыши обеспечивает проведение глубокого генетического анализа биологических процессов, связанных с репродукцией, неинвазивно для человека. Клеточные линии часто используются в качестве моделей вместо исследований клеток *in vivo*, где они регулируются сигнальными пептидами, гормонами и факторами роста. Во всем мире существуют серьёзные сложности с получением тканей репродуктивных органов и плаценты, из которых могут быть получены первичные клетки для культивации, и очень ограниченный доступ к человеческим бластоцистам. Известные фенотипы клеточных линий эндометрия и трофобласта широко используются для функциональных исследований имплантации и плацентации. Для изучения других репродуктивных нарушений используются клеточные линии гладких мышц, поверхностного и микроваскулярного эпителия яичников; эндотелия капилляров ворсин плаценты; эпителия эндометрия, фаллопиевых труб и шейки матки. Цель исследований с использованием клеточных линий состоит в том, чтобы предельно точно предсказать простимулированное изменение экспрессии одного или нескольких генов, приводящей к изменению функции ткани, органа или всего организма. Высвобождение закрытых мембраной компартментов (внеклеточных везикул) является недавно выявленным мощным механизмом межклеточной коммуникации. С репродуктивной биологией связана способность внеклеточных везикул передавать генетическую информацию (miRNA) между клетками для изменения фенотипа и функции клеток-реципиентов. Совместное культивирование клеточных линий репродуктивного тракта с внеклеточными везикулами или без них позволяет оценить изменение экспрессии мРНК генов, участвующих в развитии.

Заключение. Генетические аномалии, приводящие к бесплодию у женщин, включают большие хромосомные аномалии, субмикроскопические делеции и дупликации хромосом, а также вариации последовательности ДНК в генах, которые контролируют многочисленные биологические процессы, участвующие в оогенезе, поддержании овариального резерва, гормональной сигнализации и анатомическом и функциональном развитии женских репродуктивных органов. Несмотря на большое количество генов, вовлеченных в репродуктивную физиологию при изучении моделей на животных, только подмножество этих генов связано с бесплодием человека.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТ ПРИ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛОДА И ВНУТРИУТРОБНОМ ПЕРЕЛИВАНИИ КРОВИ

Аксенова А.А.¹, Баринова И.В.¹, Дзюба Г.С.¹, Антипова И.И.¹, Аксенов А.Н.¹

¹ГБУЗ МО МОНИИАГ, Москва, anaaksyonova@yandex.ru

MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF PLACENTAS IN FETAL HEMOLYTIC DISEASE AND INTRAUTERINE BLOOD TRANSFUSION

Aksenova A.A.¹, Barinova I.V.¹, Dzyuba G.S.¹, Aksenov A.N.¹

¹GBUZ MO MONIAG, Moscow, anaaksyonova@yandex.ru

Введение. Гемолитическая болезнь новорожденных (эритроblastоз) обусловлена иммунологическим конфликтом между матерью и плодом из-за несовместимости по эритроцитарным антигенам, с чем связано развитие гемолитической анемии и желтухи. Чаще всего гемолитическая болезнь развивается при несовместимости плода и матери по резус-фактору. Основным симптомом, определяющим состояние плода и новорожденного при данной патологии, служит анемия, для антенатальной диагностики которой проводится доплерометрическое исследование максимальной систолической скорости кровотока в средней мозговой артерии (МСК СМА) плода. Его увеличение свыше 1.5 МоМ (множитель отклонения от медианы) характерно для выраженной анемии, требующей активных действий от врача. Основным патогенетическим методом лечения плодов с тяжелыми формами ГБП является внутриутробное переливание крови (ВПК). Используются свежие клетки доноров с кровью 0(I) Rh(-) — эритроцитная масса, обедненная лейкоцитами и тромбоцитами (ЭМОЛТ). Таким образом увеличивается уровень гемоглобина и улучшается общее состояние плода, а беременность продлевается ближе к доношенным срокам (Савельева Г.М, 2019).

В зарубежной литературе практически нет данных о том, какие изменения наблюдаются в плаценте после проведения этой процедуры в связи с тем, что в последние десятилетия в развитых странах Европы и Америки все несенсибилизированные D-отрицательные женщины, родившие D-положительных детей, получают иммунопрофилактику, являющуюся эффективной мерой по предотвращению аллоиммунизации к D-антигену эритроцитов. (Павлова Н.Г, 2015). В единичных исследованиях показано, что после неоднократной процедуры ВПК были обнаружены признаки дозревания ворсинчатого дерева в виде дополнительной дифференцировки ворсин по сравнению с другими случаями, где ВПК не проводилось.

Материалы и методы. Нами исследованы 22 плаценты новорожденных в сроках 28-39 недель (недоношенных – 17, доношенных – 5), которым проводилось ВПК для лечения ГБП

от 1 до 3 раз в сроки 24-35 недель. Возраст беременных составлял от 22 до 40 лет, в анамнезе у них было от 2 до 5 беременностей, 2-5 родов, уровень антител от 1:1024 до 1:131072. Весоростовые показатели доношенных новорожденных составляли от 2400г/45см до 3600г/51см, недоношенных – от 1050г/38см до 2810г/47см. Всем детям при рождении поставлен диагноз анемической формы гемолитической болезни новорожденного (ГБН). Перцентильная (П) оценка массы плацентарных дисков по шкале МО (Барина И.В, 2013) выявила плацентомегалию в 4 наблюдениях в сроки 28-36 недель, повышенную массу - в 2 наблюдениях в сроки 32-35 недель, а масса 16 плацент соответствовала среднему коридору значений 25-75 П. Степень зрелости ворсинчатого дерева при доношенных сроках в большинстве наблюдений не соответствовала сроку: в 2 плацентах отмечена патологическая незрелость – вариант дифференцированных промежуточных ворсин, еще в 2 – диссоциированное созревание ворсинчатого дерева с сочетанием дифференцированных промежуточных и терминальных ворсин.

Результаты и обсуждение. Наибольшую сложность в нашем исследовании представляла диагностика соответствия зрелости ворсинчатого дерева плацент недоношенных новорожденных гестационному возрасту в связи со структурными особенностями ворсин, являющимися физиологически незрелыми в эти сроки. В половине наблюдений (8) во втором и начале третьего триместра нами отмечено нарушение созревания ворсинчатого дерева. Патологическая незрелость 4 плацент в сроках 28-34 недель была обусловлена преобладанием ворсин, характерных для 18-20 недель беременности - недифференцированных промежуточных ворсин с ретикулярной, ячеистой стромой, содержащей множественные макрофаги. Диссоциированное созревание ворсинчатого дерева еще 4 плацент в сроках 29-35 недель мы определили, как сочетание недифференцированных промежуточных и ворсин терминального типа. В одном наблюдении в сроке 31-32 недель отмечено преждевременное созревание с преобладанием терминальных ворсин. Ядерные формы эритроцитов в плодовых сосудах ворсин обнаружены лишь в 3 плацентах.

Было проведено иммуногистохимическое исследование плацент с ВПК с антителами к CD68, для верификации плацентарных макрофагов, играющих важную роль в регуляции материнского иммунного ответа, а также с антителами к CD34 для определения степени васкуляризации ворсин и отличия сосудов от стромальных каналов.

Заключение. Таким образом, морфологическая картина плацент при тяжелой анемической форме ГБН, потребовавшей ВПК, отличается от классической, предполагающей патологическую незрелость и обязательное наличие ядерных форм, являющихся одним из основных признаков гемолитической болезни. Перспективным является поиск

иммуногистохимических маркеров, специфичных для этой патологии. Актуальным остается и способ оценки зрелости ворсинчатого дерева плаценты для недоношенных сроков беременности, а также комплексный клинико-морфологический подход к диагностике гемолитической болезни плода.

ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ КАК МЕТОД ПРЯМОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК (НЕТОЗ) В ОБРАЗЦАХ КРОВИ

Александркин А.П.^{1,2}, Степанова И.И.¹, Гоуфман Е.И.¹, Авдеева А.С.², Кожемова Б.Э.²

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, aap2004@yandex.ru

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва

FLOW CYTOMETRY A METHOD FOR DIRECT QUANTITATIVE DETERMINATION OF NEUTROPHILIC EXTRACELLULAR TRAPS (NETs) IN BLOOD SAMPLES

Aleksankin A.P.^{1,2}, Stepanova I.I.¹, Goufman E.I.¹, Avdeeva A.S.², Kozhemova B.E.²

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, aap2004@yandex.ru

²Federal State Budgetary Scientific Institution "V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology", Moscow

Введение. Нетоз – процесс, при котором активированные нейтрофилы во внеклеточном пространстве формируют «сетеподобные» структуры (neutrophil extracellular traps, NETs), которые состоят из модифицированного хроматина и белков цитоплазмы, ядра, гранул нейтрофилов, обладающих антимикробной активностью. Нетоз может запускаться не только микроорганизмами, но и тромбоцитами, иммунными комплексами, белками системы комплемента, провоспалительными цитокинами, хемокинами, микрокристаллами, холестерином и др. (Нурбаева К.С. и др. 2021)

Нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs) способствуют врожденному иммунитету, а также многочисленным заболеваниям, таким как тромбоз глубоких вен, ишемия миокарда и аутоиммунные заболевания. На сегодняшний день большая часть знаний о формировании NET была собрана посредством качественного микроскопического исследования отдельных нейтрофилов *in vitro* или агрегатных структур *in vivo* (Gavillet M. et al., 2015).

Мы предлагаем проведение нового анализа на основе проточной цитометрии для идентификации и количественного определения NETs с использованием антител против ключевых составляющих NETs, в частности антитела к миелопероксидазе (МПО). Этот

метод применим как к мышинным, так и к человеческим образцам для оценки индуцированных NETs *in vitro* или обнаружения NETosis *in vivo* в образцах крови.

Эта новая методология позволяет быстро и надежно оценить несколько тысяч клеток на образец и не зависит от потенциальной ошибки наблюдателя. Использование этой новой технологии облегчает прямое обнаружение *in vivo* циркулирующих NETs в образцах крови.

Материалы и методы. В исследование включено 15 пациентов с достоверным диагнозом системная красная волчанка (СКВ): 10 женщин и 5 мужчин с высокой и средней степени активности по SLEDAI-2K. Медиана (Me) возраста всей группы составляла 33 [25; 40] года. Контрольную группу составили 5 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами. Использовалась цельная кровь с добавлением солей ЭДТА из локтевой вены в количестве 4 мл. Кровь для анализа была использована в течении 3-х часов после взятия. Для получения периферических мононуклеарных клеток (ПМК) использовался метод основанный на седиментации в одноступенчатом градиенте плотности раствора Фиколла плотностью 1,077 г/см³. Полученные ПМК стимулировали 100 нМ форбол-12-миристат-13-ацетат, чтобы вызвать нетоз, в течение 4 ч при 37⁰С и 5%СО₂. Далее клетки отмывались фосфатно-солевым буфером и инкубировались в 3% бычьим сывороточным альбумином (БСА), в течение 30 мин для блокирования неспецифического связывания антител. К 100 мкл (1·10⁶ клеток) отмытых клеток добавляли 10 мкл антиМПО-PerCP (Cloud-Clone Corp.) инкубировали 30 мин в темноте. После инкубации добавляли LumiNuc LUCS 13 (Lumiprobe, Россия) проводили подсчет клеток на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). Гранулоциты, состоящие в основном из нейтрофилов, были отобраны по свойствам прямого и бокового рассеяния.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований образцов крови установлено, что у пациентов с СКВ по сравнению с группой здоровых доноров отмечалась тенденция к повышению уровня МПО: СКВ – 80% (69,3-87,3%) и доноров 15% (7,5-25,5%), $p < 0,05$.

Заключение. Проточная цитометрия как метод прямого количественного определения МПО в образцах крови позволит сопоставить уровень МПО в нейтрофилах пациентов до и после лечения и оценить в динамике количественные изменения на фоне проводимой терапии. Данный метод можно использовать при создании лекарственных препаратов, избирательно подавляющие активные нейтрофилы с избыточной выработкой ими NETs.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ НА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫСАХ ЛИНИИ SPRAGUE DAWLEY И WISTAR

Александркина В.В.¹, Тихонова Н.Б.¹, Болтовская М.Н.¹, Вишнякова П.А.², Низяева Н.В.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
alexval1978@yandex.ru*

*²ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и
перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва*

COMPARATIVE MODELING OF MECHANICAL DAMAGES OF THE ENDOMETRIUM IN LABORATORY RATS SPRAGUE DAWLEY AND WISTAR

Aleksankina V.V., Tikhonova N.B., Boltovskaya M.N., Vishnyakova P.A., Nizyaeva N.V.

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, alexval1978@yandex.ru*

*²V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology
Ministry of Health of Russia, Moscow*

Введение. Одной из проблем в гинекологии является частичная или полная облитерация полости матки рубцовой тканью в результате поражения базального слоя эндометрия при внутриматочных вмешательствах. По этическим принципам поиск новых подходов к предупреждению возникновения патологии и стимуляции регенерации эндометрия возможен только при моделировании подобных повреждений на лабораторных животных. Крысы линий Sprague Dawley и Wistar являются наиболее востребованными при проведении различных экспериментальных исследований.

Материалы и методы. Работа проводилась на половозрелых самках крыс линий Sprague Dawley (N=15) и Wistar (N=15) (возраст 5-8 месяцев, масса 200-280 г). Одним из критериев отбора был регулярный эстральный цикл. Для определения фазы цикла в течение 3 недель у всех самок ежедневно в утренние часы получали вагинальные мазки, проводили их цитологическое исследование с помощью набора готовых красителей «Диахим-Дифф-Квик» («Абрис+», Россия). Оперировали животных в фазу эструса. Операцию проводили под общим наркозом. На антимезометриальной стороне в середине рога делали продольный сквозной разрез длиной 1,5 см. Рог в зоне разреза раскрывали и производили скальпелем по эндометрию выскабливающие разнонаправленные движения. Разрезы стенки маточного рога, брюшной стенки и кожи послойно ушивали непрерывным обвивным швом с использованием стерильного монофиламентного рассасывающегося шовного материала. Результаты моделирования механического повреждения эндометрия оценивали на 7, 15 и 30

сутки после операции (по 5 голов на точку исследования).

Результаты и обсуждение. У всех 15 самок линии Sprague Dawley цикл был регулярным, и его длительность составляла 4-6 дней. Из 20 самок линии Wistar у 15 особей эстральный цикл также был регулярный 4-7 дней. У остальных самок линии Wistar цикл был нерегулярным, у 2 самок цикл длился от 4-5 до 8-10 дней (из них диэструс 4-6 дней), у 3 особей выявлена длительная фаза диэструса (10-15 дней).

При макроскопическом исследовании матки у самок Sprague Dawley на 7 сутки, на 15 и на 30 сутки отмечено наличие серозометры, скопления серозной жидкости в полости матки из-за нарушения ее оттока во влагалище, между яйцеводом и участком рога с поврежденным эндометрием. Оперированный участок был уплотнен и сужен по сравнению с неповрежденным рогом. При гистологическом исследовании оперированного участка выявлена полная облитерация маточной полости соединительной тканью, единичные маточные железы или их отсутствие у всех животных на всех сроках исследования.

При макроскопическом исследовании матки у оперированных самок Wistar на 7 сутки наличие серозометры отмечено у 3 особей, у 2 – отек отсутствовал. На 15 сутки у всех животных обнаружена серозометра. На 30 сутки обнаружен отек оперированного рога краниальнее зоны повреждения эндометрия. В раннем периоде заживления (7 суток после операции) у 2 животных в матке обнаружены упругие объемные образования диаметром до 7 мм. Объемные образования могли быть единичными и множественными (до 3 шт), располагались выше или ниже участка травмированного эндометрия в оперированном роге или в интактном роге. У всех животных с объемными образованиями отека в оперированном роге не наблюдали. При гистологическом исследовании объемные образования в маточной полости представляли собой зоны децидуализации эндометрия. Маточная полость в зоне повреждения эндометрия у животных с объемными образованиями была стенозирована, однако проток для маточной жидкости сохранялся, что и обуславливало отсутствие серозометры. У всех животных с серозометрой обнаружена полная облитерация маточной полости в зоне повреждения.

Заключение. У крыс линии Sprague Dawley наблюдался регулярный эстральный цикл, стабильность и однородность морфологических изменений при моделировании механической травмы эндометрия. Среди крыс линии Wistar отмечались большое разнообразие в длительности и регулярности эстрального цикла, а также индивидуальная вариабельность результатов эксперимента.

ВЛИЯНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ И АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙ ГОРМОНОВ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КЛЕТОК ПОЧКИ ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Андрианова Н.В.¹, Попков В.А.^{1,2}, Буян М.И.³, Брезгунова А.А.^{1,3}, Макиевская К.И.³, Буян А.И.⁴, Черкесова К.С.⁵, Зорова Л.Д.^{1,2}, Певзнер И.Б.^{1,2}, Плотников Е.Ю.^{1,2}

¹*Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, andrianova@belozersky.msu.ru*

²*Национальный исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова*

³*Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова*

⁴*Институт белка Российской академии наук*

⁵*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина*

EFFECTS OF PREGNANCY AND PREGNANCY-ASSOCIATED HORMONES ON KIDNEY CELLS REGENERATION AFTER ISCHEMIC INJURY

Andrianova N.V.¹, Popkov V.A.^{1,2}, Buyan M.I.³, Brezgunova A.A.^{1,3}, Makievskaya K.I.³, Buyan A.I.⁴, Cherkesova K.S.⁵, Zorova L.D.^{1,2}, Pevzner I.B.^{1,2}, Plotnikov E.Y.^{1,2}

¹*A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, andrianova@belozersky.msu.ru*

²*V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology*

³*Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University*

⁴*Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences*

⁵*K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology*

Введение. Беременность может индуцировать множество защитных и регенеративных каскадов и повышать скорость восстановления некоторых органов после повреждающего воздействия. В частности, ранее было показано, что беременность может снижать тяжесть почечной недостаточности и степень повреждения ткани при остром почечном повреждении (ОПП). Молекулярные механизмы защитного действия беременности до сих пор до конца не изучены, но одним из факторов может являться изменение гормонального фона. В связи с этим целью данной работы было детальное исследование влияния беременности на ткань почки, а также анализ эффектов гормонов, ассоциированных с беременностью, в частности, прогестерона и эстрадиола.

Материалы и методы. В ходе работы были проведены эксперименты *in vivo* на самках, самцах и беременных самках крыс. В клетках почек беременных самок с помощью проточной цитометрии оценен мембранный потенциал митохондрий, проанализирован

уровень окислительного стресса путем окрашивания витальных срезов почки красителем DCF и оценена тотальная антиоксидантная активность. На самцах и самках смоделировано ОПП и изучена его тяжесть, в том числе на фоне введения гормонов, ассоциированных с беременностью (прогестерон или эстрадиол). В сыворотке крови измерены уровни креатинина и мочевины, а также оценены более чувствительные маркеры ОПП, - белки NGAL и KIM-1 в моче. Помимо этого, было биоинформатическими методами проведено сравнение экспрессии генов рецепторов прогестерона и эстрадиола в почке у самцов и самок. Затем проведены эксперименты *in vitro* на первичных культурах, полученных из почек крыс, а также на перевиваемой культуре эпителиальных клеток почки MDCK. Оценена жизнеспособность и скорость пролиферации культур при добавлении в питательную среду исследуемых гормонов или сыворотки от беременных и небеременных самок. Проанализировано состояние митохондрий почечных клеток, а также изучено их восстановление после ишемического повреждения, вызванного кислородно-глюкозной депривацией.

Результаты и обсуждение. Было продемонстрировано, что факторы, содержащиеся в сыворотке от беременных самок, способствуют усилению пролиферации клеток почки и регенерации после ишемического повреждения. Кроме того, беременность нормализует мембранный потенциал митохондрий в клетках почки после острого почечного повреждения, а также регулирует уровень окислительного стресса. Терапия гормонами (прогестерон или эстрадиол) оказывает разное действие на ткань почки самцов и самок, что было показано как в экспериментах на животных, так и на клеточных культурах. Данные эффекты могут быть обусловлены различиями в экспрессии рецепторов к данным гормонам, в частности ESR1, PGRMC1, PAQR5, PAQR7.

Заключение. Защитные эффекты беременности на почечную ткань могут быть частично опосредованы повышением уровня определенных гормонов. В связи с этим гормоны, повышающиеся при беременности, могут быть использованы в качестве дополнительной стратегии лечения почечных патологий, особенно у групп пациентов, которым показана заместительная гормональная терапия. Работа поддержана грантом РФФ 22-74-00058.

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС

Грабеклис С.А.¹, Михалева Л.М.², Козлова М.А.², Арешидзе Д.А.², Дыгай А.М.³

¹ФГБНУ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова», г. Москва, office@ibch.ru

«Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии. Регенеративная биология и медицина», 2023

²Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
morfolhum@mail.ru

³ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», г. Москва, niiopp@mail.ru

**INFLUENCE OF CONSTANT LIGHTING ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF
THE LIVER OF RATS**

Grabeklis S.A.¹, Mikhaleva L.M.², Kozlova M.A.², Areshidze D.A.², Dygai A.M.³

¹FSBSI Shemyakin-Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry, Moscow, office@ibch.ru

²Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, morfolhum@mail.ru

³FSBSI Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, niiopp@mail.ru

Введение. Ритмичность процессов функционирования жизнедеятельности на клеточном, органном и системном уровнях является одним из фундаментальных свойств живого. Среди широкого спектра биоритмов особо важными для млекопитающих являются циркадные ритмы (ЦР). К значимым факторам дезорганизации биоритмов относят нарушение режима света-темноты, в частности, световое загрязнение – воздействие света в ночное время. Установлено, что световое загрязнение, вызывающее дефицит мелатонина и нарушение циркадной ритмичности, связано с развитием злокачественных новообразований печени, неалкогольной жировой болезни печени, билиарного цирроза и ряда других патологий этого органа.

Материалы и методы. Работа выполнена на 80 самцах крыс аутбредного стока Вистар в возрасте 6 месяцев. Крысы были случайным образом разделены на 2 равные группы. 1-я группа (контроль, n=40) содержалась при фиксированном световом режиме (свет: темнота/12:12 ч с включением света в 8:00 и выключением в 20:00 ч). 2-я группа, экспериментальная (n=40), содержалась при постоянном освещении 24 ч в сутки. Длительность эксперимента составляла 3 недели. Выведение крыс из эксперимента производилось в 9:00, 15:00, 21:00 и 3:00. Осуществляли морфологические, морфометрические, гисто- и иммуногистохимические исследования по стандартным методикам.

Результаты и обсуждение. Морфологическая картина печени крыс контрольной группы соответствовала возрастной норме. У экспериментальных животных, при практически неизменной структуре, наблюдаются единичные некротизированные гепатоциты, а также клетки с признаками мелкокапельной жировой дистрофии. Трехнедельное пребывание в условиях постоянного освещения привело к увеличению площади гепатоцитов, снижению

ЯЦО, плоидности и доли двуядерных гепатоцитов. Анализ содержания липидов в гепатоцитах позволил установить достоверное повышение количества этих метаболитов с $0,14 \pm 0,09$ балла в контроле до $1,18 \pm 0,27$ балла, что соответствует жировой дистрофии, в экспериментальной группе. В то же время содержание гликогена в гепатоцитах крыс экспериментальной группы достоверно уменьшилось. Результаты иммуногистохимических исследований продемонстрировали усиление экспрессии *p53* и *Per2* при неизменной доле *Ki67*-позитивных гепатоцитов. и снижении экспрессии *Bmal1* и *Clock*. У животных экспериментальной группы содержание глюкозы в крови увеличивается. Активность АЛТ практически неизменна в экспериментальной группе, однако активность АСТ у крыс экспериментальной группы увеличилась. Содержание общего белка и альбумина в эксперименте снижается. При анализе содержания прямого и общего билирубина у крыс экспериментальной группы не было отмечено достоверных отличий от уровня контроля.

Заключение. Трехнедельное постоянное освещение вызывает комплексное изменение состояния печени, проявляющееся как на структурном, так и на функциональном уровнях.

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА РИТМОСТАЗ ПЕЧЕНИ КРЫС

Гребеклис С.А.¹, Михалева Л.М.², Козлова М.А.², Арешидзе Д.А.², Дыгай А.М.³

¹ФГБНУ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова», г. Москва, office@ibch.ru

²Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,

morfolhum@mail.ru

³ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», г. Москва, niiopp@mail.ru

INFLUENCE OF CONSTANT LIGHTING ON THE RHYTMOSTASIS OF LIVER OF RATS

Grabeklis S.A.¹, Mikhaleva L.M.², Kozlova M.A.², Areshidze D.A.², Dygai A.M.³

¹FSBSI Shemyakin-Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry, Moscow, office@ibch.ru

²Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, morfolhum@mail.ru

³FSBSI Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, niiopp@mail.ru

Введение. Среди широкого спектра биоритмов особо важными для млекопитающих являются циркадианные ритмы (ЦР), связанные со сменой дня и ночи, период колебаний которых составляет 24 ± 4 часа. Именно существование циркадианной ритмичности позволяет приспособиться к успешному существованию в условиях светового цикла на

планете. Комплекс ЦР млекопитающих генетически обусловлен, но может модулироваться влиянием факторов внешней и внутренней среды, что обеспечивает адаптацию организма к меняющимся условиям. К значимым факторам дезорганизации биоритмов относят нарушение режима света-темноты, в частности, световое загрязнение – воздействие света в ночное время. Световое загрязнение обусловлено рядом социальных причин: продолжительным взаимодействием с цифровой техникой, сверхурочной и сменной работой, трансмеридианными перелетами (jetlag) и т. д. В климато-географических условиях нашей страны нарушенный режим фотопериодизма отмечается в условиях высоких северных широт, часто проявляясь у людей, работающих в этих условиях вахтовым методом, в затруднении или нарушении течения адаптационных процессов, в том числе циркадной ритмичности функций организма.

Материалы и методы. Работа выполнена на 80 самцах крыс аутбредного стока Вистар в возрасте 6 месяцев, случайным образом разделенных на 2 равные группы. 1-я группа (контроль, n=40) содержалась при фиксированном световом режиме (свет:темнота/12:12 ч с включением света в 8:00 и выключением в 20:00 ч). 2-я группа, экспериментальная (n=40), содержалась при постоянном освещении 24 ч в сутки. Длительность эксперимента составляла 3 недели. Выведение крыс из эксперимента производилось в 9:00, 15:00, 21:00 и 3:00. Осуществляли морфологические, морфометрические, гисто- и иммуногистохимические исследования по стандартным методикам. Для статистического расчета амплитуды и акрофазы ЦР выполняли косинор-анализ с использованием программы CosinorEllipse2006-1.1.

Результаты и обсуждение. Для всех исследованных параметров в контроле был обнаружен достоверный циркадианный ритм. В результате влияния постоянного освещения отмечается уменьшение амплитуды ритма размеров ядра гепатоцита и ЯЦО, и смещение акрофазы ритма ЯЦО на ночные часы в гепатоцитах экспериментальных крыс. Косинор-анализ установил наличие ЦР содержания липидов и гликогена, экспрессии *Ki-67* и *p53* в гепатоцитах крыс контрольной группы, однако в эксперименте они разрушаются. Также обнаружен ритм экспрессии *Bmal1*, *Per2* и *Clock* у животных обеих групп, однако в гепатоцитах экспериментальных животных эти ритмы претерпели значительные амплитудно-фазовые перестройки. Результаты косинор-анализа свидетельствуют о наличии ЦР уровня глюкозы у животных всех групп. Достоверный ЦР активности АЛТ установлен только в контроле. В то же время ЦР АСТ с близкими характеристиками отмечен в обеих группах. ЦР общего белка и альбумина обнаруживаются у животных обеих групп. ЦР прямого и общего билирубина также зафиксировано только в контроле.

Заключение. Трехнедельное постоянное освещение оказывает существенное влияние на структуру ЦР печени, вызывая нарушение, а в ряде случаев и разрушение изученных ритмов.

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ НА
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕРЕВИВАЕМОЙ МЕЛАНОМЫ B16.**

Арешидзе Д.А.¹, Козлова М.А.¹, Мнихович М.В.¹, Безуглова Т.В.¹, Черников В.П.¹, Гюева З.В.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
morfolhum@mail.ru*

**INFLUENCE OF VARIOUS LIGHT REGIMES ON MORPHOFUNCTIONAL
CONDITION OF TRANSPLANTABLE MELANOMA B16.**

Areshidze D.A.¹, Kozlova M.A.¹, Mnikhovich M.V.¹, Bezuglova T.V.¹, Chernikov V.P.¹, Gioeva Z.V.¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, morfolhum@mail.ru*

Введение. Воздействие света в ночное время, часто называемое световым загрязнением, увеличилось и стало существенной частью современного образа жизни, что сопровождается множеством серьезных расстройств поведения и состояния здоровья, включая и онкологические заболевания. Одним из основных факторов, провоцирующих рост количества новообразований, является воздействие света в ночные часы, вызывающее нарушение эндогенной циркадной ритмичности и подавляющее ночную секрецию мелатонина эпифизом. Рядом исследований показано влияние ночного освещения на спонтанный канцерогенез у грызунов. Хорошо известно, что постоянное освещение обладает активирующим влиянием в отношении развития химически индуцированного канцерогенеза у лабораторных животных.

Материалы и методы. Исследование проведено на мышах-самцах BDF1 массой 21-22 г, разделенных на 3 равных группы: контрольная группа (сразу после перевивки опухоли животные содержались в условиях фиксированного светового режима); I экспериментальная (мыши содержались при постоянном освещении), II экспериментальная (мыши содержались в постоянной темноте). Продолжительность эксперимента составила 14 суток. Животных выводили из эксперимента 4 раза в сутки в 9.00, 15.00, 21.00 и 3.00 часов. Определяли массу тела мыши, массу и объем опухоли, осуществляли микроморфометрические исследования опухоли, рассчитывали митотический индекс, иммуногистохимически определяли экспрессию *Per2*, *BMAL1* и *Clock*, методом иммуноферментного анализа определяли уровень

мелатонина в крови животных.

Результаты и обсуждение. Концентрация мелатонина в крови контрольных животных составила $44,88 \pm 6,77$ пг/мл, у мышей I экспериментальной группы – $18,16 \pm 1,15$ пг/мл, а у животных II группы концентрация мелатонина возросла до $58,70 \pm 7,90$ пг/мл. В условиях постоянного освещения существенно увеличивается масса тела животных, составляя $24,31 \pm 0,41$ г против $22,16 \pm 0,44$ г в контроле. При этом более высокой оказывается и масса опухоли, повышаясь от $4,98 \pm 0,27$ г в контроле до $7,04 \pm 0,31$ г. Объем опухоли достоверно не изменялся. Постоянная темнота не вызвала существенных изменений массы тела животных, а масса опухоли в результате ее составила $3,25 \pm 0,28$ г, что меньше, чем у обеих прочих групп; то же справедливо и в отношении её объема, равного $4,35 \pm 0,27$ см³. Митотический индекс в контроле составил $7,28 \pm 0,54$ ‰, у животных I группы он существенно возрастает, достигая $10,05 \pm 0,78$ ‰, а у мышей группы II он снижается до $6,03 \pm 0,44$ ‰. В результате анализа экспрессии *Bmal1* нами не было обнаружено никаких межгрупповых различий. При постоянном освещении снижается экспрессия *Clock*, составляя $9,28 \pm 1,49$ ‰ против $14,15 \pm 0,93$ ‰ в контроле, а при постоянной темноте она усиливается, достигая $15,52 \pm 1,15$ ‰. Также в условиях постоянной темноты отмечено усиление экспрессии *Per2* ($16,08 \pm 1,86$ ‰ против $11,67 \pm 1,24$ ‰ в контроле). Морфологические исследования позволяют говорить о том, что у животных II группы отмечается регресс опухоли.

Заключение. Проведенное исследование свидетельствует о том, что режим освещения оказывает значительное влияние на морфофункциональное состояние перевиваемой меланомы. Двухнедельное пребывание животных в условиях постоянного освещения вызывает более интенсивный рост опухоли, а содержание мышей в постоянной темноте, наоборот, тормозит этот процесс, в опухолях этой группы животных отмечены процессы регресса новообразования.

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ПОДХОД К ПОИСКУ ЭФФЕКТОРОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT У НИЗШИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Борисенко И.Е.¹, Ересковский А.В.^{1,2}

¹ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет», i.borisenko@spbu.ru

²Средиземноморский институт морской и континентальной экологии и биоразнообразия
(Марсель, Франция)

A TRANSCRIPTOMIC APPROACH TO THE SEARCH FOR EFFECTORS OF THE WNT SIGNALING PATHWAY IN LOWER INVERTEBRATES

Borisenko I.E.¹, Ereskovsky A.V.^{1,2}

¹*Saint Petersburg State University, i.borisenko@spbu.ru*

²*Mediterranean Institute of marine and terrestrial Biodiversity and Ecology (Marseille, France)*

Введение. Обмен информацией между клетками организма обеспечивается с помощью ограниченного числа молекулярных механизмов. Один из таких механизмов, сигнальный путь Wnt (часто под ним подразумевается канонический, или бета-катенин-опосредованный Wnt-сигналинг), участвует в огромном числе процессов, происходящих во взрослом организме, в эмбриональном развитии, в регенерации и при малигнизации клеток. Это механизм коммуникации паракринного типа, т.е. передача сигнала осуществляется благодаря секреции в межклеточное пространство белка-лиганда Wnt, взаимодействующего с рецептором Frizzled на компетентной клетке. Ряд белок-белковых взаимодействий, следующий за этим, приводит к активации в ядре клетки экспрессии генов-мишеней. Wnt-каскад регулирует пролиферацию и апоптоз, миграцию клеток, обеспечивает поддержание их стволового статуса и уход в дифференцировку. На уровне организации плана строения тела наиболее яркой ролью Wnt-пути является спецификация передне-задней оси тела животного.

Среди многоклеточных животных губки (Porifera) являются одним из древнейших типов. Их тело лишено осей симметрии, свойственных позвоночным – передне-задей, дорсо-вентральной. Признаки передне-задней оси имеет только личинка – расселительная стадия в жизненном цикле губок, из-за активного, направленного и, по-видимому, координированного движения. Тело губок устроено крайне просто на тканевом уровне, а многие типы клеток способны к де- и трансдифференцировке, из-за чего губки обладают колоссальными способностями к регенерации. Это делает их ценным объектом в изучении механизмов, обеспечивающих способность организма регенерировать. Выбрав губку вида *Halisarca dujardini* (класс Demospongiae) в качестве модельного объекта, мы ранее описали клеточные механизмы ее регенерации, вклад деления клеток в этот процесс, и показали, что экспрессия некоторых из ее Wnt-генов активируется в ходе регенерации.

Описанные выше процессы (продиферация, дифференцировка, апоптоз, миграция клеток) объединяет в рассматриваемом случае механизм их регуляции, опосредованный Wnt-лигандами. При этом мало что известно об эффекторах – генах-мишенях, чья активация меняется под влиянием сигналинга. Для ряда моделей описаны гены, экспрессирующиеся под влиянием Wnt, и показано, что существенную роль в определении генов-мишеней играет контекст (например, состояние хроматина) в компетентной клетке. Между тем, именно мишени сигнального каскада будут определять, как будет реализован эффект от такого сигнала.

Материалы и методы. Нами предпринята попытка поиска мишеней Wnt-каскада у губки *H. dujardinii* с помощью его фармакологической активации с последующим секвенирование РНК. Губок обрабатывали азакенпауллоном – ингибитором киназы GSK3b, приводящим к накоплению в клетке бета-катенина, выделяли из тканей РНК, секвенировали их на платформе Illumina NovaSeq6000 и подсчитывали количество транскриптов каждого из генов.

Результаты и обсуждение. Образцы РНК, полученные от губок с гиперактивированным Wnt-каскадом, сравнивали с таковыми от губок без обработки фармакологическим агентом. Было показано, что 4850 генов меняют свою экспрессию при активации Wnt-каскада: 1088 генов увеличивает экспрессию, а 3762 генов – уменьшает ее (за изменение принято увеличение или уменьшение количества транскриптов более, чем в 2 раза при p -value <0.05). Анализ терминов онтологии генов (GO) среди оверэкспрессированных транскриптов показал, что наиболее представлены транскрипты, связанные с протеинкиназной активностью и связыванием нуклеозидтрифосфатов. Неожиданно, из группы транскрипционных факторов были обнаружены лишь представители bZIP и молекулы, сходные с рецепторами ретиноевой кислоты. Среди наиболее активно экспрессирующихся генов – компоненты системы убиквитинилирования и факторы трансляции, количество транскриптов которых возрастает более, чем в 1000 раз.

Заключение. Мы не наблюдали усиления экспрессии таких мишеней Wnt, как протоонкогены *c-myc* и циклин-зависимые киназы, описанного ранее. Картина изменения экспрессии генов, описываемая у губки *H. dujardinii*, указывает скорее на регуляцию на уровне трансляции и на работу киназ в ответ на активацию сигнального пути Wnt. В дальнейшем мы планируем дополнить работу данными RNA-seq после ингибирования Wnt-каскада, и иммунопреципитации хроматина с антителами к бета-катенину – ключевому транскрипционному фактору этого сигнального пути.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-74-00042, <https://rscf.ru/project/22-74-00042/>.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕДСЕРДНОГО И МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ В ГРАНУЛАХ КАРДИОМИОЦИТОВ И В ПЛАЗМЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ

Бугрова М.Л.¹, Галкина М.В.¹, Щелчкова Н.А.¹, Латшин Р.Д.¹

¹ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний

Новгород, marysmir@mail.ru

THE STUDY OF ATRIAL AND BRAIN NATRIURETIC PEPTIDES IN

CARDIOMYOCYTE GRANULES AND THEIR PLASMA LEVEL IN SALT LOADING IN RATS

Bugrova M.L.¹, Galkina M.V.¹, Shchelchkova N.A.¹, Lapshin R.D.¹

¹Volga Region Research Medical University

Введение. Предсердный (ПНП) и мозговой (МНП) натрийуретические пептиды – биоактивные вещества, вызывающие гипотензивный эффект за счет повышения диуреза и натрийуреза и через подавление ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Пептиды имеют сходный механизм действия, тем не менее, есть и различия, поэтому наибольшую практическую и научную значимость представляют работы, где одновременно исследуются оба гормона. В настоящее время активно изучается взаимосвязь артериального давления (АД) с солевой нагрузкой. Солевой дисбаланс является одной из причин развития артериальной гипертензии. Изучение натрийуретических пептидов при солевой нагрузке вносит вклад в понимание патогенеза данного заболевания.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на белых аутбредных самцах крыс линии Wistar массой 280–300 г (n=21). Все животные во время эксперимента получали стандартный рацион, имели свободный доступ к корму и воде. Раствор NaCl вводили per os в дозе 1 г/кг массы тела на протяжении 2-х (n=7) и 4-х недель (n=7). Измеряли артериальное давление (АД) неинвазивным способом с помощью прибора LE5001 NonInvasive Blood Pressure Meter (Panlab), используя хвостовую манжету. Электронно-микроскопический анализ ткани правого предсердия интактных и экспериментальных животных проводили по стандартной методике. Клеточную локализацию ПНП и МНП выявляли на ультратонких срезах с помощью поликлональных антител (Rabbit anti-Atrial Natriuretic Factor (1-28) (rat), Rabbit anti-Brain Natriuretic Peptide-32 (Rat), Peninsula Laboratories, LLC, Bachem). Считали гранулы 2-х типов в полях зрения: А-типа с хорошо визуализируемой мембраной («осуществляют накопление и хранение пептида»), и гранулы В-типа с нечеткой мембраной («выделяющие гормон в саркоплазму»). Для определения пептидов в плазме крови использовали ИФА-наборы SEA225Ra и SEA541Ra (Cloud-clone Corp). Для оценки достоверности данных применяли тест Манна-Уитни и критерий Уилкоксона.

Результаты и обсуждение. Через 2 недели солевой нагрузки достоверных различий уровня артериального давления не наблюдали.

Через 4 недели эксперимента выявили снижение АД на 21% по сравнению с исходными значениями. Через 2 недели солевой нагрузки обнаружили увеличение количества гранул с ПНП: А – типа на 79%, В – типа на 128%, по сравнению с интактной серией. Через 4 недели эксперимента количество гранул А-типа снизилось, но оставалось на 33% выше интактных животных; число В – гранул возросло и было на 147% больше интактного показателя.

Таким образом, выявлено увеличение образования и выделения ПНП в гранулах секреторных кардиомиоцитов. При этом плазменная концентрация пептида через 2 недели снизилась в 5 раз по сравнению с исходной. Через 4 недели по показателям животные разделились на 2 группы: в одной уровень ПНП в плазме так и сохранялся на низком уровне, в другой группе - восстанавливался до исходного значения.

Через 2 недели солевой нагрузки выявили уменьшение количества гранул с МНП: А – типа на 60%, В – типа на 52%, что свидетельствовало о снижении гранулообразования и выделения пептида. Через 4 недели эксперимента количество гранул с пептидом резко возросло: А-типа на 78% выше интактных животных; число В – гранул на 61% больше интактного показателя. По-видимому, произошла активация гранулообразования МНП в ответ на длительную солевую нагрузку. При этом уровень пептида в плазме через 2 недели эксперимента снижался на 33%, через 4 недели – восстанавливался до исходного уровня.

Заключение. Таким образом, в течение эксперимента мы наблюдали разную реакцию ПНП и МНП на солевую нагрузку. В то же время, изменения количественных показателей пептидов продемонстрировало формирование адаптационных механизмов к высокому содержанию соли. Нами показано, что система натрийуретических пептидов в данных условиях изменяется обратимо, а кардиомиоциты правого предсердия сохраняют способность реагировать на специфические регуляторные сигналы.

АНАЛИЗ ОПЫТА МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИЧИН НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Волкова Л.В.^{1,2}

¹*Московский финансово-промышленный университет "Синергия", Москва, Россия*
²*ООО «ВЕСТ-ЛАБ», Калининград, volkova16@gmail.com*

ANALYSIS OF EXPERIENCE IN MORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF THE CAUSES OF FAILED PREGNANCY

Volkova L.V.^{1,2}

¹*Moscow Financial and Industrial University "Synergy", Moscow*
²*LLC "WEST-LAB", Kaliningrad, volkova16@gmail.com*

Введение. Ежегодно во всем мире происходит 23 миллиона выкидышей, что означает 44 потери беременности каждую минуту, а совокупный риск выкидыша составляет 15,3% всех беременностей (Quenby S. Et al. 2021). Проблема неразвивающейся беременности (НБ) является крайне актуальной, известно, что распространенность НБ составляет около 2% при одноплодных беременностях, при многоплодных – вдвое выше, а около 60-70% самопроизвольных прерываний беременностей до 12 недель связано с НБ (Радзинский В.Е.

и соавт., 2021). Диагностика этиопатогенеза выкидышей и НБ с целью подготовки к последующей беременности является важной практической задачей.

Материалы и методы. Проведен сравнительный ретроспективный анализ результатов морфологических исследований соскобов/аспиратов эндометрия и акушерско-гинекологического анамнеза при НБ (всего – 140 наблюдений за период 2009-2022 гг.) в группе I (40 случаев в г. Курске) и в группе II (100 случаев в г. Калининграде). На гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, исследовали фрагменты париетального эндометрия, маточно-плацентарной области и ворсины хориона. Для оценки вероятных причин НБ использовали морфологические критерии по Милованову А.П., Серовой О.Ф. (2011). В соответствии с ними диагностировали следующие эндокринопатии: 1) с гистологическими признаками ретардации желез (тип А) – вариант РЖ; 2) проявлениями незавершенной децидуализации (тип В и/или недостаточность рецепторов к прогестерону) – вариант НД; 3), смешанный тип (сочетание РЖ и НД) – вариант СТ. Помимо этого выявляли воспалительные изменения (наличие лейкоцитарных и/или лимфоцитарных инфильтратов), вероятные признаки нарушения гемостаза (реологические нарушения, массивные кровоизлияния), патологию ворсин хориона. Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы IBM SPSS Statistics 23.0.

Результаты и обсуждение. Возраст пациенток в исследованных выборках варьировал от 21 года до 44 лет, в обеих группах значительная часть пациенток была в возрасте до 32 лет. Материал из полости матки в обеих группах при НБ соответствовал преимущественно 4-9 неделям гестации. Во многих случаях имел место отягощенный акушерско-гинекологический анамнез: 35,7% (I группа) и 54% (II группа) - НБ, медикаментозные и спонтанные аборты, внематочная беременность, полипы эндометрия, эктопия шейки матки, миома матки, синдром поликистозных яичников. У некоторых женщин отмечена экстрагенитальная патология: ОРВИ, тиреотоксикоз, ожирение. Более 40% пациенток группы II в период беременности принимали препараты прогестерона. Установили, что морфологические изменения в группе I соответствовали эндокринопатиям - 17/40 (42,5%) женщин (вариант НД или СТ), острому децидуиту и/или хроническим воспалительным изменениям - 14/40 (35,0 %) пациенток, патологии ворсин хориона - 4/40 (12,5%) случаев, выраженным реологическим нарушениям - 2/40 (5%). В структуре группы II диагностирована следующая патология: эндокринопатии - 69/100 (69,0%) женщин (НД или СТ), острый децидуит и/или хронические воспалительные изменения - 46/100 (46%) пациенток, патология ворсин хориона - 7/100 (7%) случаев, реологические нарушения - 26/100 (26 %). Количество эндокринопатий при НБ в г. Калининграде превышало показатели в г. Курске в 1,6 раза ($p < 0,01$), что указывает на возможные региональные

особенности этиопатогенеза данной патологии и требует уточнения на большем объеме выборок, стандартизации диагностического материала и алгоритмов морфологического исследования.

Заключение. При клинико-морфологическом анализе 140 наблюдений неразвивающейся беременности выявлено: 1) значительное число женщин с НБ раннего репродуктивного возраста с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом; 2) морфологическая картина в материале из полости матки указывала на преобладание эндокринных нарушений, несмотря на то, что в период беременности многим пациенткам назначали препараты прогестерона, а также - воспалительных процессов; 3) патология хориального компонента и реологические нарушения выявлены в меньшем числе случаев. Для корректной сравнительной морфологической оценки региональных особенностей НБ, а также другой патологии I триместра беременности по материалу из полости матки, необходимы значительные объемы исследуемых выборок, а также - стандартизированные подходы к приготовлению препаратов и диагностические алгоритмы для анализа, интерпретации патологических изменений во фрагментированном материале, специальная подготовка врачей-патологоанатомов в области репродуктивной патологии и эмбриологии.

**ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СЕЛЕЗЕНКИ У КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА,
ПОДВЕРГАВШИХСЯ НИЗКОДОЗОВОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ
ДИХЛОРДИФЕНИЛТРИХЛОРЭТАНА В ПРЕНАТАЛЬНОМ И ПОСТНАТАЛЬНОМ
ПЕРИОДАХ ОНТОГЕНЕЗА**

Б.Б. Гагулаева¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
gagulati@yandex.ru*

**DIFFERENCES IN DEVELOPMENT OF THE SPLEEN IN PUBERTAL RATS EXPOSED
TO LOW DOSWS OF DICHLORODIPHENYLTRICHLOROETHANE DURING
PRENATAL AND POSTNATAL ONTOGENY**

B.B. Gagulaeva¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, gagulati@yandex.ru*

Введение. В настоящее время вопрос о влиянии эндокринных дисрапторов и, в частности, дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) на развитие органов иммунной защиты мало изучен. Анализ заболеваемости показывает неуклонный рост эндокринных и иммунных патологий не только у взрослых, но и у детей, что обуславливает не только научную, но и социальную

значимость этой проблематики. Это диктует необходимость проведения исследований влияния низких нетоксичных доз ДДТ на развитие органов лимфоидной системы.

Материалы и методы. Исследование проводили на самцах крыс Вистар (n=10), являющихся потомством самок, получавших в течение беременности и периода лактации вместо воды раствор о,п-ДДТ. Затем потомство самостоятельно потребляло аналогичный раствор о,п-ДДТ до достижения 6-недельного возраста, что соответствует пубертатному периоду. В качестве контроля использовали мужское потомство интактных самок (n=10). Животных выводили из эксперимента передозировкой золетила. Проводили гистологическое и морфометрическое исследование препаратов селезенки, окрашенных гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение. Селезенка 6-недельных крыс контрольной группы имела типичное строение. Паренхима селезенки была образована лимфоидной тканью в виде лимфоидных узелков, периартериальных лимфоидных муфт (ПАЛМ) и маргинальной зоны. Среди лимфоидных узелков у контрольных преобладали вторичные, имеющие герминативные центры. Маргинальная зона занимала небольшую площадь и представляла собой скопление мононуклеарных клеток и гранулоцитов. Красная пульпа была представлена ретикулярной тканью с расположенными в ней форменными элементами крови. Среди клеток красной пульпы в небольшом количестве встречались сегментоядерные гранулоциты и мегакарициты.

Селезенка крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ, также имела типичное строение. Относительная и абсолютная масса селезенки не отличались от контрольных значений. Площадь, занимаемая белой пульпой, не отличалась от показателей контрольной группы. Доля лимфоидных узелков в селезенке животных опытной группы практически не отличалась, но доля вторичных узелков была в два с лишним раза меньше, чем в контроле. Маргинальная зона была аналогична по структуре, но количество сегментоядерных гранулоцитов в ней было меньшим. Количество клеток в единице площади красной пульпы было в 1,5 раза больше, чем в контрольной группе, при этом содержание гранулоцитов, наоборот было вдвое меньшим. В красной пульпе у опытных животных количество мегакарицитов втрое превышало значения контрольной группы.

Заключение. В селезенке крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, отмечалось снижение темпов формирования герминативных центров в лимфоидных узелках, несмотря на адекватное развитие белой пульпы органа. Гемопоэтические процессы в красной пульпе протекали более активно. Отмечалось пониженное содержание нейтрофилов в красной пульпе и маргинальной зоне, что также указывает на замедление превращения селезенки из органа гемопоэза в орган иммунной защиты.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ РЕНТГЕНОВСКОЙ ФАЗОКОНТРАСТНОЙ МИКРОТОМОГРАФИИ

Гулимова В.И.¹, Бузмаков А.В.², Юнеман О.А.^{1,3}, Кривоносов Ю.С.², Букреева И.Н.^{3,4},

Григорьев А.Ю.², Прощина А.Е.¹, Харламова А.С.¹, Асадчиков В.Е.², Савельев С.В.¹

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,*

gulimova@yandex.ru;

²*ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» Российской академии наук, Москва, Россия,*

buzmakov@gmail.com;

³*Институт Нанотехнологий, Рим, Италия, ojunemann@yandex.com;*

⁴*ФГБУН Физический институт имени П.Н.Лебедева РАН, Москва, Россия,*

innabukreeva@yahoo.it.

PROSPECTS FOR MACHINE LEARNING METHODS IN THE ANALYSIS OF IMAGES OF BIOLOGICAL OBJECTS IN X-RAY PHASE-CONTRAST MICROTOMOGRAPHY

Gulimova V.I.¹, Buzmakov A.V.², Junemann O.A.^{1,3}, Krivonosov Y.S.², Bukreeva I.N.^{3,4},

Grigorev A.U.², Proshchina A.E.¹, Kharlamova A.S.¹, Asadchikov V.E.², Saveliev S.V.¹

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution*

"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow; gulimova@yandex.ru;

²*Federal Scientific Research Centre "Crystallography and Photonics" of Russian Academy of*

Sciences, Moscow; buzmakov@gmail.com;

³*Institute of Nanotechnology, Rome, Italy; ojunemann@yandex.com;*

⁴*P.N. Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow;*

innabukreeva@yahoo.it.

Введение. Сегментация большого количества изображений биологических объектов, полученных различными физическими методами, трудозатратна и требует кропотливой работы специалистов высокого уровня. В нашей работе мы оцениваем возможности технологий машинного обучения и искусственного интеллекта для сегментации морфологических структур на изображениях, полученных с помощью синхротронной рентгеновской фазоконтрастной компьютерной микротомографии (РФКТ). Основной проблемой при сегментации трёхмерной структуры биологических объектов после РФКТ является достоверное определение границ тканей. При традиционной световой микроскопии этот процесс осуществлялся вручную по визуальным признакам. В настоящее время появилась возможность использовать машинное обучение «с учителем», когда на

нескольких размеченных изображениях алгоритм обучают выделять морфологические признаки объекта, и в дальнейшем он способен сегментировать другие изображений сходных объектов. Это особенно актуально для РФКТ, где мы обрабатываем тысячи срезов, не окрашенных гистологическими красителями, на которых межструктурные границы проявляются в виде различий восстановленной плотности, выраженной в градациях серого. Поэтому сегментация внутренней пространственной структуры объекта в томографическом 3D изображении является ключевым вопросом разрабатываемой технологии.

Материалы и методы. Исследование проводили на взрослых самках хрящепалого геккона (*Chondrodactylus turnery* Gray, 1864) в соответствии с международными нормами по содержанию и изучению рептилий. Проект одобрен решением комиссии по биомедицинской этике ГНЦ ИМБП РАН от 04 апреля 2013 г., протокол № 319. С помощью РФКТ были изучены проксимальные хвостовые фрагменты интактных гекконов без диссекции и какой-либо инвазивной предварительной подготовки. Для сегментации изображений мы использовали специализированное программное обеспечение Plastik (Berg, Stuart, et al., 2019) реализующее метод обучения «с учителем» - «случайный лес» («random forest») и построенное на процессе интерактивной разметки изображений, а также нейронную сеть Segment Anything Model (SAM) (Kirillov, Alexander, et al., 2023).

Результаты и обсуждение. Методы машинного обучения хорошо показали себя при сегментации фазоконтрастных изображений, как в режиме обработки двумерных срезов, так и при обработке всего трёхмерного объема. После ручной разметки примерно 5% от всего набора данных, алгоритмы смогли достаточно точно разметить остальные слои, учитывая текстуру изображений, их морфологию и яркостные характеристики.

Заключение. Полученные результаты после уточнения и доработки алгоритма могут быть использованы в биологии и медицине для надёжного определения границ тканей и локализации новообразований в высокоразрешающем томографическом анализе, а также для ускорения и стандартизации анализа больших объёмов данных. Одной из самых важных перспектив данного проекта может стать разработка методов использования искусственного интеллекта для анализа биологических и медицинских процессов, происходящих на микроскопическом уровне без применения инвазивных методов и забора биоптатов.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ PDX-1 В НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЯХ, НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ КАРЦИНОМАХ И РАКАХ ЖЕЛУДКА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

Гуревич Л.Е.¹, Васюкова О.А.², Бондаренко Е.В.^{1,3}, Шикина В.Е.¹, Михалева Л.М.²

¹ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт

(МОНИКИ) им. М.Ф. Владимирского, Москва, www.monikiweb.ru.

² Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, <http://morfolhum.ru/>

³ФГБУ «НМИЦ эндокринологии», Москва, <https://www.endocrincentr.ru/>

FEATURES OF PDX-1 EXPRESSION IN GASTRIC NEUROENDOCRINE TUMORS OF DIFFERENT GRADES, NEUROENDOCRINE CARCINOMAS, AND GASTRIC CANCERS

Gurevich L.E.¹, *Vasyukova O.A.*², *Bondarenko E.V.*^{1,3}, *Shikina V.E.*¹, *Mikhaleva L.M.*²

¹*Moscow Regional Research and Clinical Institute ("MONIKI"), Moscow*

²*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

³*National Medical Research Center for Endocrinology, Moscow*

Введение. Одной из самых актуальных проблем онкоморфологии является поиск для каждого типа новообразований специфических маркеров и трансформирующих факторов (ТФ), играющих ключевую роль в определении степени их дифференцировки и злокачественного потенциала. Нейроэндокринные опухоли (НЭО) различной локализации могут мало отличаться по строению, но не по своему злокачественному потенциалу и прогнозу.

Материалы и методы. Материалом исследования послужил биопсийный и операционный материал, полученный от 80 пациентов с 90 солитарными или множественными НЭО различной степени злокачественности и нейроэндокринными карциномами (НЭК). Группой сравнения был 40 раков желудка, 12 из которых - перстневидноклеточные. ИГХ-исследование проводилось с антителами PDX-1 (клон EP139, Cell Marque, США) в разведении 1:100; к Ki67 (RTU, Ventana Confirm, США). Для PDX-1 положительной считали ядерную экспрессию в большинстве опухолевых клеток, индекс Ki-67 вычисляли по стандартному протоколу, как средний % при учете 500-1000 клеток. Статистическую обработку проводили с помощью Microsoft Office Excel 2016, Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение. Средний возраст пациентов составил 54,7±12,6 лет (медиана возраста 55 [45; 65] лет), отношение мужчин к женщинам – 24:56, средний размер опухоли был 3,16 см (диапазон 0,2-18 см, медиана 1.5 [0.8; 4.5] см). Большая часть НЭО и НЭК располагались в теле желудка (38 (42.2%) опухолей), в кардии (6, 6,7%) и антральном отделе (13 (14.4%)), в 21 (23.3%) случаях поражение выходило за пределы одной и более локализаций, а в 12 (33,3%) отдел желудка не был указан точно, особенно при множественных опухолях. Высокодифференцированные НЭО желудка G1-G3

диагностированы в 79 случаях (87,8%), НЭК – в 10 (%), из них 7 мелкоклеточных, МК НЭК, 3 крупноклеточных, КК НЭК. НЭО G1 было 51 (56,7%, медиана Ki67 – 1,2%), НЭО G2 - 24 (26,7%, медиана Ki67 – 7%), а НЭО G3 - 4 случая (4,4%, медиана Ki67 – 18,8%). Для НЭК медиана Ki67 составила 51,5%. Экспрессия PDX-1 выявлена в 36/79 НЭО (45,6%): в 27/51 G1 (52,9%), 6/24 G2 (25%), 3/4 G3 (75%). PDX-1 -позитивными были 70% НЭК (7/10,70%). В группе сравнения PDX-1-позитивными были 77,4% раков желудка (70%, 28/40, из них в 100%, 12/12 перстневидноклеточных). Сравнительный анализ PDX-1 позитивных и PDX-1 негативных НЭО и НЭК желудка выявил статистически значимые различия этих групп по типу НЭО желудка ($p=0,005$). Из всех НЭО желудка НЭК чаще всего экспрессировали PDX-1 (63,6% от всех позитивно окрашенных НЭО), в то время, как среди PDX-1 негативных опухолей преобладал 3 тип НЭО желудка (58,3% от всех PDX-1 негативных образований).

Заключение. В нашей когорте экспрессия PDX-1 выявлялась в большинстве НЭО G3, НЭК и раках желудка, особенно в перстневидноклеточных. Это свидетельствует о важной роли PDX-1 в злокачественной трансформации эпителия желудка и перспективе его использования в качестве мишени для терапии.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕБНЫХ МИНДАЛИН ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ ТОКСИКО-АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМЫ I СТЕПЕНИ

Гуров А.В.¹, Дубовая Т.К.¹, Ермолаев А.Г.¹, Мурзаханова З.В.¹

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский национальный исследовательский медицинский университет им.

Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Москва, ermolaev2009@yandex.ru

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PALATINE TONSILS IN CHRONIC TONSILLITIS OF THE TOXIC-ALLERGIC FORM OF THE I DEGREE

Gurov A.V.¹, Dubovaya T.K.¹, Ermolaev A.G.¹, Murzakhanova Z.V.¹

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation,

Moscow, ermolaev2009@yandex.ru

Введение. Вопрос выбора лечебной тактики при ХТ ТАФ I остается дискуссионным. В данном вопросе можно опираться на морфологическую характеристику ткани небных миндалин в условиях данной формы и стадии болезни. Цель исследования: определить морфологическую характеристику ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите токсико-аллергической формы I степени, как основу для выбора лечебной тактики.

Материалы и методы. В первой части исследования были проанализированы результаты морфологического исследования 64 образцов ткани небных миндалин, полученных от 64 больных, которым была выполнена тонзиллэктомия при ХТ ТАФ I соответствии с клинической классификацией по Б.С. Преображенскому и В.Т. Пальчуну, ввиду отсутствием эффекта от консервативной терапии.

Для морфологического анализа гистологические срезы окрашивались гематоксилином Майера-эозином. Наличие и степень дисциркуляторных расстройств, дистрофических изменений покровного эпителия, склеротической деформации, воспалительной инфильтрации и конгломератов микроорганизмов в исследуемых образцах мы оценивали по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) от «+» до «+++», где «+» - слабо выраженные изменения, «++» - умеренно и «+++» - сильно выраженные изменения. Количество лимфоидных фолликулов оценивали в пяти репрезентативных полях зрения (5РПЗ). Окраска методом «трихром» по Массону проводилась для оценки склеротической деформации миндалин и определения доли стромального компонента в виде коллагеновых волокон. Иммуногистохимическое исследование в автоматическом режиме выполняли для детализации воспалительных и реактивных изменений, достоверной визуализации иммуногистоархитектоники лимфоидной ткани НМ и оценки ее вклада в адаптивный иммунитет. Использовали антитела, CD79a, CD20, CD3 интенсивность экспрессии которых оценивали как стойкую или слабую, а расположение клеток характеризовали как очаговое или диффузное, а также – Bcl2, Ki67, экспрессию которых оценивали количественно.

Результаты и обсуждение. Окраска ткани НМ гематоксилином Майера и эозином позволила установить, что во всех исследованных препаратах миндалины были покрыты неравномерно утолщенным зрелым многослойным плоским эпителием с умеренно выраженным дискератозом и очаговым неглубоким акантозом (++) . В 82,8% образцов (n=53, $p \leq 0,05$) отмечали умеренно выраженную (++) , а в 17,2% (n=11, $p \leq 0,05$) сильно выраженную (+++) склеротическую деформацию миндалин. Субэпителиально в 89,1% образцов (n=57, $p \leq 0,05$) выявляли умеренно выраженную (++) и в 10,9% образцов (n=7, $p \leq 0,05$) сильно выраженную (+++) хроническую воспалительную инфильтрацию без признаков активности воспалительного процесса. В 28,1% образцов (n=18, $p \leq 0,05$) мы обнаружили умеренно выраженные изъязвления поверхности части крипт, представленные зрелой грануляционной тканью (++) . В 42,2% образцов (n=27, $p \leq 0,05$) данной группы мы обнаружили множественные крипты с облитерацией их просвета и наличием умеренно выраженных немногочисленных конгломератов, содержащих микроорганизмы (++) . Во всех препаратах обнаружили редукцию числа лимфоидных фолликулов – 3-4 (в 5 РПЗ), паратонзиллярные очаговые кровоизлияния. Также во всех исследованных образцах паратонзиллярно

визуализировались слюнные железы с очаговыми кровоизлияниями и мелкими фокусами перидуктальной хронической воспалительной инфильтрации. Прилежащая мышечная ткань на отдельных участках имела признаки отека с геморрагическим пропитыванием. С помощью окраски ткани НМ методом «трихром» по Массону мы выявили содержание коллагеновых волокон – $29,3 \pm 3,4\%$ в данной группе, от исследованной площади препаратов. По результатам иммуногистохимического исследования с использованием соответствующих маркеров Т и В-лимфоцитов в НМ нам удалось выявить в В-клетках фолликулов слабую диффузную мембранную реакцию в герминативных центрах и стойкую диффузную позитивную мембранную экспрессию в клетках мантийной зоны с В-клеточными маркерами CD20 и CD79a. Помимо этого, мы подтвердили обнаруженную редукцию фолликулов, а также – очаговую мембранную реакцию с В-клетками паракортикальной зоны. Локализация Т-клеточных маркеров CD3 не отличалась от таковой в других группах. Иммуногистохимическое исследование с использованием соответствующих маркеров пролиферации и антиапоптоза выявило, что в тканях НМ от больных группы 3 количество клеток, экспрессирующих Ki67 в герминативных центрах фолликулов – 12000 ± 490 , в мантийной зоне – 1200 ± 440 . Bcl2 в мантийной зоне фолликулов экспрессировали 8000 ± 310 клеток. Распределение клеток, экспрессирующих данные маркеры было одинаково с 1 группой.

Заключение. Хроническое воспаление в небных миндалинах приводит к изменению их цитоархитектоники и функционального состояния. Выявлена специфичность данных изменений в ткани небных миндалин при хроническом тонзиллите токсико-аллергической формы I степени, что является основой для выбора оптимальной тактики лечения в зависимости от его формы и степени ХТ.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛИОБЛАСТОМЫ 101.8 У КРЫС ВИСТАР С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ

*Джалилова Д.Ш.¹, Мхитаров В.А.¹, Золотова Н.А.¹, Косырева А.М.¹, Цветков И.С.¹,
Халанский А.С.¹, Алексеева А.И.¹, Макарова О.В.¹*

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва
juliajal93@mail.ru*

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR-BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF

GLIOBLASTOMA 101.8 IN WISTAR RATS WITH DIFFERENT HYPOXIA RESISTANCE

*Dzhalilova D.Sh.¹, Mkhitarov V.A.¹, Zolotova N.A.¹, Kosyreva A.M.¹, Tsvetkov I.S.¹,
Khalansky A.S.¹, Alekseeva A.I.¹, Makarova O.V.¹*

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

Введение. Недостаток кислорода играет одну из ключевых ролей в опухолевой прогрессии, так как фактор, индуцируемый гипоксией – HIF-1, влияет на экспрессию генов, регулирующих ангиогенез, инвазию и метастазирование (Semenza et al., 2010). Известно, что организмы различаются по устойчивости к недостатку кислорода и уровню экспрессии HIF-1 (Kirova et al., 2013; Dzhalilova et al., 2020), что, вероятно, может обуславливать предрасположенность к возникновению, развитию и скорости прогрессии опухолей.

Материалы и методы. Устойчивость к гипоксии самцов крыс Вистар определяли по «времени жизни» на «высоте» 11500 м в барокамере, соответствующему временному интервалу от момента подъема до принятия бокового положения. К высокоустойчивым к гипоксии относили крыс, «время жизни» которых на «высоте» составляло более 240 сек (n=24), к низкоустойчивым – менее 80 сек (n=13). Через месяц после определения устойчивости к гипоксии животным опытных групп в головной мозг имплантировали гомогенизированную ткань глиобластомы крысы 101.8. На 11-е и 15-е сутки после имплантации животных выводили из эксперимента, оценивали выживаемость, в гистологических срезах – объем опухолей, долю сосудов, площадь некрозов, митотическую активность опухолевых клеток по экспрессии Ki-67. В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определяли содержание HIF-1 α и IL-1 β . Для установления достоверности различий между показателями использовали непараметрические критерии (Манна-Уитни, Крускала-Уоллиса и Данна) в «Statistica 8.0». Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение. Показано, что после имплантации глиобластомы 101.8 как на 11-е, так и на 15-е сутки выживаемость высокоустойчивых к гипоксии крыс составила 100%, при этом прогрессия глиобластомы у этих крыс характеризовалась увеличением объема опухолей, а также повышением содержания HIF-1 α в сыворотке крови. Выживаемость низкоустойчивых к гипоксии крыс Вистар на 11-е сутки после имплантации глиобластомы составила 85%, а на 15-е сутки – 55%. Гибель животных наблюдалась преимущественно на 9-14 сутки эксперимента. Прогрессия глиобластомы у низкоустойчивых к гипоксии крыс характеризовалась увеличением объема опухолей, а

также повышением содержания провоспалительного цитокина IL-1 β в сыворотке крови. Кроме того, у низкоустойчивых к гипоксии крыс выявлено снижение массы тела на 10-е сутки эксперимента, что свидетельствует о развитии интоксикационного синдрома. Обнаружены особенности прогрессии глиобластомы у животных с разной устойчивостью к гипоксии – показано, что у высокоустойчивых к недостатку кислорода крыс по сравнению с низкоустойчивыми во все сроки эксперимента была выше пролиферативная активность опухолевых клеток, а на 15-е сутки – объем опухолей и площадь некрозов. В то же время у низкоустойчивых к гипоксии животных на 15-е сутки после имплантации опухоли было выше содержание IL-1 β в сыворотке крови по сравнению с высокоустойчивыми. Полученные результаты свидетельствуют о том, что опухолевая прогрессия различается в зависимости от исходной устойчивости к гипоксии, которую необходимо учитывать при разработке новых терапевтических подходов к лечению глиобластомы.

Заключение. Понимание молекулярных механизмов взаимосвязи устойчивости к гипоксии и прогрессии опухолей послужит основой для разработки новых персонализированных подходов к терапии онкологических заболеваний.

ОСОБЕННОСТИ ИНИЦИАЦИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА У ВЫСОКОУСТОЙЧИВЫХ И НИЗКОУСТОЙЧИВЫХ К ГИПОКСИИ МЫШЕЙ

C57/BL6

Джалилова Д.Ш.¹, Силина М.В.¹, Золотова Н.А.¹, Косырева А.М.¹, Ганцова Е.А.¹,

Цветков И.С.¹, Мхитаров В.А.¹, Макарова О.В.¹

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
elchandrey@yandex.ru*

PECULIARITIES OF COLON TUMORS INITIATION IN TOLERANT AND SUSCEPTIBLE TO HYPOXIA C57/BL6 MICE

Dzhalilova D.Sh.¹, Silina M.V.¹, Zolotova N.A.¹, Kosyрева A.M.¹, Gantsova E.A.¹, Tsvetkov I.S.¹,

Makarova O.V.¹

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

Введение. Колоректальный рак (КРР) – один из наиболее часто диагностируемых видов рака. При длительном течении язвенного колита на фоне хронического воспаления у 10% больных развивается КРР. Ранее нами показано, что у низкоустойчивых (НУ) к гипоксии мышей течение острого и хронического язвенного колита более тяжелое по сравнению с

высокоустойчивыми (ВУ). Вероятно, предрасположенность к возникновению, развитию и скорости прогрессии КРР у организмов с разной устойчивостью к гипоксии также различается.

Материалы и методы. Работа выполнена на половозрелых самцах мышей C57Bl/6, массой тела 20-22 г. Устойчивость животных к гипоксии определяли в барокамере по «времени жизни» на «высоте» 10000 м, соответствующему временному интервалу от момента подъема до принятия бокового положения. К ВУ к гипоксии относили мышей, «время жизни» которых на «высоте» составляло более 10 мин, к НУ – менее 3 мин. Через месяц после определения устойчивости к гипоксии ВУ и НУ к гипоксии животным опытных групп внутрибрюшинно вводили азоксиметан (АОМ) в дозе 10 мг/кг. Затем животные получали перорально 1% раствор декстрансульфата натрия (ДСН) в течение 7 дней, воду в течение 14 дней, 0,5% ДСН в течение 7 дней, воду в течение 14 дней, 0,5% ДСН 5 дней и воду до 70-х и 140-х суток эксперимента. Контрольные группы мышей на протяжении всего эксперимента потребляли воду. На 71-е сутки и 141-е сутки животных выводили из эксперимента. Проводили морфологическое, морфометрическое и иммуногистохимическое исследования дистального отдела толстой кишки. Проводили общий анализ крови, исследовали содержание моноцитов (anti-Mouse CD11b) и субпопуляций лимфоцитов (anti-Mouse CD19, CD4, CD8, NK-1.1, CD25 и Foxp3) в периферической крови с помощью проточной цитофлуориметрии. В дистальном отделе толстой кишки оценивали содержание иммунных клеток (anti-Mouse CD19, CD4, CD8, NK-1.1, F4/80, CD25 и Foxp3) и пролиферативную активность клеток (anti-Mouse Ki-67). Для установления достоверности различий между показателями использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни («Statistica 8.0»).

Результаты и обсуждение. На 71-е сутки эксперимента масса тела НУ к гипоксии мышей была статистически значимо выше по сравнению с ВУ, а на 141-е – не различалась. На макроскопическом уровне как у ВУ, так и у НУ к гипоксии мышей в дистальном отделе толстой кишки выявлялись опухоли. При морфологическом исследовании 40,0% опухолей были представлены ворсинчатыми полипами, а 31,4% – микроаденокарциномами. По данным общего анализа крови в опытных группах мышей относительное число моноцитов было выше у ВУ к гипоксии животных по сравнению с НУ как на 71-е, так и на 141-е сутки эксперимента. По данным цитофлуориметрического анализа в дистальном отделе толстой кишки на 141-е сутки эксперимента у НУ к гипоксии мышей выявлено статистически значимо более высокое по сравнению с ВУ абсолютное и относительное количество CD4+CD25+Foxp3- и цитотоксических CD8+ клеток. При оценке пролиферативной активности клеток с использованием маркера Ki-67 показано, что НУ к гипоксии животные

имели большее относительное количество активно делящихся клеток в дистальном отделе толстой кишки.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что частота развития колоректального рака не зависит от исходной устойчивости к гипоксии, однако число моноцитов в крови повышается только у высокоустойчивых к гипоксии мышей. Кроме того, у низкоустойчивых к гипоксии мышей повышается количество CD4+CD25+Foxp3-, цитотоксических CD8+, а также Ki-67+ клеток в дистальном отделе толстой кишки. Понимание молекулярных механизмов взаимосвязи устойчивости к гипоксии и течения опухолевого процесса послужит основой для разработки новых персонализированных подходов к терапии онкологических заболеваний.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-25-00294 «Индивидуальная устойчивость к гипоксии и молекулярно-биологические особенности инициации опухолевого роста на экспериментальной модели колоректального рака».

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСОВ КОБАЛЬТА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ НОРМОКСИИ И ГИПОКСИИ

Джалилова Д.Ш.¹, Мартьянова А.А.², Диатроптова М.А.¹, Хакина Е.А.³

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
juliaajal93@mail.ru

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.
Пирогова, Москва

³Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова
Москва

CYTOTOXICITY OF COBALT COMPLEXES UNDER NORMOXIA AND HYPOXIA

Dzhalilova D.Sh.¹, Martyanova A.A.², Diatroptova M.A.¹, Khakina E.A.³

¹Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

³A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Moscow

Введение. Гипоксия является одним из ключевых факторов опухолевой прогрессии. Опухоли с высокой степенью гипоксии обладают наиболее злокачественным потенциалом. В настоящее время актуальна разработка пролекарств, которые активируются непосредственно в гипоксической среде опухоли. При этом такие лекарственные средства

должны обладать низкой токсичностью для нормальных клеток организма, находящихся в условиях нормоксии, и быть высокотоксичными для опухолевых клеток в условиях гипоксии. Использование соединений на основе металлов, в частности, кобальта, может рассматриваться как способ доставки лекарственных препаратов, который не влияет на здоровые ткани и обладает цитотоксичностью в отношении опухолей.

Материалы и методы. Клетки культуры эпидермоидной карциномы человека A431, меланомы B16 и фибробластов мыши L929 инкубировали с 4 различными комплексами кобальта (Co-Phen, Co-Viру, Co-ViруCOOMe, Co-ViруOMe) в 7 концентрациях (от 8 μ M до 1250 μ M) и в качестве контроля свободным дигидроксикумарином в условиях нормоксии (5% CO₂, 95% атмосферного воздуха при 37 °C) и гипоксии (1% O₂, 5% CO₂, 94% N₂) в течение 24ч. Оценивали жизнеспособность клеток с помощью МТТ-теста.

Результаты и обсуждение. В условиях нормоксии в отношении клеточной культуры B16 наибольшую цитотоксичность проявили два комплекса кобальта: Co-Phen и Co-ViруCOOMe, жизнеспособность клеток снижалась до 38 и 59% соответственно, а в отношении клеточных культур A431 и L929 – Co-Phen, процент жизнеспособных клеток составил 66 и 51% соответственно. При этом установлено, что в условиях гипоксии максимальное цитотоксическое действие в отношении клеточной культуры A431 оказывал комплекс Co-ViруOMe – процент жизнеспособных клеток снижался до 71%. В отношении клеточной культуры B16 максимальное цитотоксическое действие в условиях гипоксии оказывал комплекс Co-Viру, процент жизнеспособных клеток снижался до 63%, а в отношении клеточной линии L929 – Co-ViруCOOMe, процент жизнеспособных клеток – 66%. Кроме того, в отношении клеточных культур B16 и L929 комплекс Co-ViруOMe в гипоксических условиях оказывал более выраженное цитотоксическое действие по сравнению с нормоксией.

Заключение. Эффекты комплексов кобальта различаются не только в зависимости от концентраций и условий (нормоксии и гипоксии), но и от используемой клеточной линии. Комплекс Co-ViруOMe в гипоксических условиях характеризовался высокой цитотоксичностью по отношению ко всем трем клеточным линиям – L929, B16 и A431, при этом наиболее выраженный эффект наблюдался для линии A431. Соединение Co-Phen оказывало противоположный эффект: цитотоксичность в нормоксических условиях была выше по сравнению с гипоксическими по отношению ко всем трем клеточным линиям.

**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИОКАРДА ЧЕЛОВЕКА ПРИ
ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ С ОБСТРУКЦИЕЙ ПРИТОКА**

*Дземешкевич С.Л.¹, Мотрева А.П.⁴, Арешидзе Д.А.², Козлова М.А.², Черников В.П.², Мершина Е.А.³, Мартьянова Ю.Б.⁴, Калмыкова О.В.⁴, Петрова О.В.⁴, Балашова М.С.⁵, Садекова М.А.¹,
Заклязьминская Е.В.¹*

¹ ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, *info@med.ru*

² Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
morfolhum@mail.ru

³ ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В.Ломоносова», г. Москва, *info@rector.msu.ru*

⁴ ФГБУ «ФЦССХ» (г. Астрахань), *fcssh@astra-cardio.ru*

⁵ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, г. Москва, *rektorat@sechenov.ru*

**ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF HUMAN MYOCARDIUM IN
HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY WITH INFLOW OBSTRUCTION**

*Dzemeshevich S.L.¹, Motreva A.P.⁴, Areshidze D.A.², Kozlova M.A.², Chernikov V.P.², Merшина Е.А.³, Martyanova Y.B.⁴, Kalmykova O.V.⁴, Petrova O.V.⁴, Balashova M.S.⁵, Sadekova M.A.¹,
Zaklyazminskaya E.V.¹*

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution "Petrovsky National Research Centre of Surgery",
Moscow, *info@med.ru*

² Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, *morfolhum@mail.ru*

³ Lomonosov Moscow State University, Moscow, *info@rector.msu.ru*

⁴ FSBI «Federal Center for Cardiovascular Surgery» (Astrakhan), *fcssh@astra-cardio.ru*

⁵ FSAEI of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow,
rektorat@sechenov.ru

Введение. Гипертрофия миокарда у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) имеет различные анатомические фенотипы, многие из которых мало описаны с морфологической точки зрения, и структурные основы патологии сердечной мышцы у таких пациентов требуют уточнения.

Материалы и методы. Образцы гипертрофированного участка миокарда размером 2 мм³ фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН 7,4), дофиксировали в 1% растворе OsO₄, обезвоживали в этаноле, контрастировали 1% уранилацетатом на 70% этаноле и проводили заливку в смесь эпон–аралдит по стандартной методике. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-III (LKB Produkter, Швеция), дополнительно контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в

просвечивающем электронном микроскопе JEM-100CX (JEOL, Япония).

В ходе проведения трансмиссионной электронной микроскопии оценивали морфологическую картину ткани миокарда, форму и характер пространственной ориентации кардиомиоцитов и их органелл (ядер, митохондрий).

Результаты и обсуждение. При электронно-микроскопическом исследовании биоптатов из гипертрофированных участков миокарда установлено, что при преимущественно сохранной структуре кардиомиоцитов они характеризуются хаотическим, неупорядоченным расположением и волнообразной деформацией; деконструкция (лизис) миофибрилл выявлена лишь на незначительном количестве участков образца. Наблюдается расширение цистерн саркоплазматического ретикулума, характерное для кальциевой перегрузки клеток, что косвенно подтверждается повышенной электронной плотностью митохондрий и миофибрилл. Также обнаружена характерная для гипертрофии миокарда остроконечная деформация ядер кардиомиоцитов.

Отмечаются выраженная гиперплазия, полиморфизм и гиперхромия митохондрий, которые характеризуются большим числом и чрезвычайно плотной упаковкой крист, а также содержат многочисленные электронноплотные включения. Вокруг митохондрий наблюдается умеренное количество гранул гликогена.

Выявляется присутствие локализованного преимущественно периваскулярно клеточного инфильтрата с преобладанием клеток лимфоцитарного ряда и нейтрофилов.

Отмечен отек стромы миокарда, от умеренного до выраженного, умеренный периваскулярный и плексиморфный фиброз.

Заключение. Показано прогрессирующее развитие периваскулярного фиброза, способное привести к облитерации артериол и венул; наличие в биоптате лимфоцитарно-нейтрофильного инфильтрата, характерного для развития миокардита; присутствие морфологических признаков внутриклеточного накопления кальция, которое может служить объяснением нарушению процесса диастолического расслабления миокарда, характерному для ГКМП. Впервые проведенное электронно-микроскопическое изучение генетически детерминированной диффузно-генерализованной гипертрофии миокарда позволяет охарактеризовать его ультраструктуру и прогностически анализировать патогенез прогрессивного развития ГКМП данного фенотипа.

**ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ЖЕЛТОЧНОГО МЕШКА ЧЕЛОВЕКА
(МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Дубинина Н.Н.¹, Понн Е.А.¹

*¹ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет,
anna.dubinina05@gmail.com*

HUMAN YOLK SAC LIFE CYCLE (MORPHOLOGICAL STUDY)

Dubinina N.N.¹, Ponn E.A.¹

¹Novosibirsk State Medical University, anna.dubinina05@gmail.com

Введение. Желточный мешок человека как типичный представитель системы внезародышевых органов характеризуется опережающей (в сравнении с дефинитивными органами эмбриона) скоростью развития. Выполнение им ряда жизненно важных функций в первом триместре беременности предполагает высокий уровень дифференциации составляющих его стенку тканей, их многофункциональность, а также быструю инволюцию. *Цель исследования* – изучить особенности гистогенеза желточного мешка человека в первом триместре физиологической беременности.

Материалы и методы. Желточный мешок забирали из abortивного материала в ГБУЗ НСО «Гинекологическая больница № 2» в период с 5 по 12 неделю внутриутробного развития; всего исследовано 34 органа разной степени зрелости. Для светооптического исследования срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Для идентификации основных структур органа использовали полутонкие срезы. Ультратонкие срезы исследовали в электронном микроскопе JEM-1010 (Jeol, Япония). Объемную плотность структурных элементов органа подсчитывали при помощи программного комплекса ImageJ (Fiji).

Результаты и обсуждение. Желточный мешок человека представляет собой округлое тонкостенное образование диаметром 4.0-5.5 мм, заполненное серозной жидкостью. В составе органа выделяют собственно желточный мешок, его стебель, а также карманообразное расширение стенки органа, в котором расположена клубочковая сеть капилляров. Между желточными сосудами в составе стебля располагается проток, связывающий полость органа с эмбриональной кишкой на ранних этапах развития.

Период функциональной активности желточного мешка сопровождается преобладанием в его стенке эпителия энтодермального происхождения, который принимает активное участие в формировании энтодермальных трубок. Вместе с системой внутриклеточных везикул трубки, возможно, имеют отношение к транспорту примитивных эритроцитов к эмбриону. Данные электронномикроскопического анализа позволяют проводить аналогию между

фенотипом «желточного» эпителия и секреторно-активными гепатоцитами, обеспечивающими синтез белков плазмы крови, аполипопротеинов, холестерина и других веществ. Эпителий наружной поверхности, обращенный в полость экзоцелома, имеет все признаки активно абсорбирующей ткани в виде длинных тонких микроворсинок и пиноцитозных везикулы, что позволяет сравнивать его с каемчатым эпителием тонкой кишки.

Морфологическая перестройка стенки желточного мешка начинается с 7-8 недели внутриутробного развития. К указанному сроку просвет желточного протока оказывается полностью облитерирован. Окончание первого триместра беременности сопровождается слушиванием энтодермального эпителия в полость органа с последующим формированием клеточного детрита, увеличением объема соединительной ткани и появлением в стенке органа многочисленных бессосудистых локальных истончений. В наименьшей степени преобразования затрагивают экзоцеломический эпителий, а также часть стенки органа, содержащую клубочковую капиллярную сеть.

Заключение. Жизненный цикл желточного мешка человека непродолжительный – он ограничивается окончанием первого триместра беременности. В течение указанного периода отчетливо прослеживаются все составляющие гистогенез органа компоненты – детерминация, пролиферация, дифференциация, специализация и клеточная гибель. Особенностью протекания всех указанных процессов является ярко выраженный принцип асинхронности, характерный как для системы внезародышевых органов в целом.

ТУЧНОКЛЕТОЧНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ ОПУХОЛИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС

Ерофеева Л.М.¹, Мнихович М.В.¹, Безуглова Т.В.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»,
Москва, gystology@mail.ru*

MAST CELL TUMOR INFILTRATION IN EXPERIMENTALLY INDUCED BREAST CANCER IN RATS

Erofeeva L.M.¹, Mnikhovich M.V.¹, Bezuglova T.V.¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

Введение. Тучные клетки (ТК), вырабатывающие разнообразные биологически активные вещества, медиаторы и цитокины, являются одним из компонентов опухолевого микроокружения. Роль этих клеток в опухолевом процессе в настоящее время привлекает

внимание исследователей, т.к. они способны по-разному влиять на опухолевый рост (пролиферацию и выживание клеток опухоли, инвазивность и метастазирование, ангиогенез) проявляя как противоопухолевую, так и проопухолевую активность (Cimrean A.M. et all., 2017; Ribatti D. et all., 2021). Увеличение числа ТК в строме опухоли связывают и с хорошим, и с плохим прогнозом. ТК взаимодействуют с другими опухолевыми инфильтрирующими клетками и формируют микроокружение. В связи с этим они рассматриваются в качестве потенциальной мишени для иммунотерапии. Однако роль ТК в патогенезе раковых опухолей еще недостаточно изучена (Aronte-Lopez A. et all., 2020; Hanes M.R. et all., 2021).

Материалы и методы. Исследование выполнено с соблюдением биоэтических норм, с разрешения локального этического комитета ФГБНУ НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына (Протокол № 27/3 от 11.10.2021 г.). В эксперименте использовали половозрелых самок крыс Вистар ($n=30$) массой тела 160-180 г, распределённых на две группы: контрольную ($n=10$) и опытную ($n=20$). У животных опытной группы индуцировали развитие рака молочной железы (РМЖ) по оригинальной методике, позволяющей моделировать эпителиальные опухоли молочной железы у животных, которые по гистогенетическим характеристикам наиболее приближены к опухолям молочной железы человека. Материал для исследования (кусочки опухоли молочной железы) фиксировали в 10% нейтральном формалине. Парафиновые срезы толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и толуидиновым синим. На срезах, окрашенных толуидиновым синим, подсчитывали выявляемые ТК (клетки с метахроматическими гранулами) на условной единице площади 1 мм². Для характеристики функционального состояния популяции ТК подсчитывали цитограмму, определяли индекс насыщения популяции гепарином, и индекс дегрануляции. Ультраструктурные показатели секреции исследовали методом трансмиссионной электронной микроскопии. Вариационно-статистическую обработку полученных данных проводили в программе Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. В молочной железе крыс контрольной группы ТК обнаруживаются в основном в строме вблизи кровеносных сосудов, где они располагаются одиночно или группами из 3-4 клеток, а также в междольковой соединительной ткани, сопровождающей междольковые млечные протоки. Внутри долек молочной железы встречаются лишь единичные ТК. В популяции ТК преобладают очень тёмные и тёмные клетки, цитоплазма которых плотно заполнена метахроматическими гранулами. Светлых клеток в 9 раз меньше, а очень светлые клетки отсутствуют. Индекс насыщения популяции ТК гепарином составляет 8.68 единиц. По степени дегрануляции почти половину популяции составляют клетки с сильной дегрануляцией (47.6%) и половину — клетки с умеренной

(23.8%) и слабой (28.6%) дегрануляцией. В молочной железе крыс опытной группы в соединительнотканной строме между тяжами опухолевых клеток наблюдалась высокая степень инфильтрации ТК. В перитуморозной зоне, которая отделяет опухоль от окружающих тканей, также наблюдалась густая сеть кровеносных сосудов и инфильтрация ТК. Концентрация ТК на единице площади гистологического среза в разных зонах опухоли варьировала в широких пределах. Так, в строме опухоли в среднем насчитывалось от 1.90 ± 0.54 до 5.00 ± 2.49 клеток, в перитуморозной зоне концентрация ТК составляла 2.7 ± 1.1 клеток на единице площади среза. В строме опухоли и в перитуморозной зоне в популяции ТК преобладали светлые и очень светлые клетки, тёмные клетки были немногочисленны, а очень тёмные — отсутствовали. Индекс насыщения популяции гепарином в строме опухоли составил 0.18, в перитуморозной зоне — 0.15. В популяции ТК, расположенных в строме молочной железы вне опухоли, наоборот, преобладали тёмные и очень тёмные клетки, как и у животных контрольной группы. Индекс насыщения гепарином составил 1.98, концентрация клеток варьировала в пределах 1-3 клетки, в среднем 1.70 ± 0.64 на единице площади среза. По степени дегрануляции преобладающим типом в популяции ТК молочной железы крыс с РМЖ являлись клетки с сильной степенью дегрануляции. При исследовании на ультраструктурном уровне отмечали деформацию, полиморфизм и бледность секреторных гранул, увеличение количества пустот в цитоплазме. На поверхности ТК были видны мелкие пальцевидные выросты клеточной мембраны. При РМЖ отмечали учащение случаев деструктивных изменений и разрушения ТК.

Заключение. Изменения структурно-функционального состояния популяции ТК на светооптическом и ультраструктурном уровне свидетельствуют об активизации системы ТК в строме опухоли молочной железы при экспериментально индуцированном РМЖ.

РОЛЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЧАСТИЦ МИКРОПЛАСТИКА В РАЗВИТИИ ОСТРОГО КОЛИТА

Золотова Н.А.¹, Джалилова Д.Ш.¹, Цветков И.С.¹, Макарова О.В.¹

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, natashazltv@gmail.com

THE ROLE OF MICROPLASTIC CONSUMPTION IN THE DEVELOPMENT OF ACUTE COLITIS

Zolotova N.A.¹, Dzhaliilova Dz.Sh.¹, D.N. Tsvetkov I.S.¹

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow

Введение. Микропластик, загрязняющий окружающую среду, может представлять опасность для здоровья живых организмов, в том числе человека. Экспериментальные исследования на мышах и крысах показали, что микропластик способен проникать во внутреннюю среду организма, вызывать структурные повреждения и нарушения функции различных органов. Предполагается, что загрязнение окружающей среды микропластиком является одним из факторов, способствующих увеличению заболеваемости воспалительными заболеваниями кишечника – язвенным колитом и болезнью Крона. Однако исследований роли микропластика в этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний кишечника не изучена. Цель работы – оценить способность микропластика индуцировать воспалительные реакции в толстой кишке и усугублять течение острого колита.

Материалы и методы. Половозрелых самцов мышей C57BL/6 разделили на 4 группы по 8 животных: 1) контроль, 2) потребление микропластика, 3) острый колит, 4) острый колит на фоне потребления микропластика. Мышам 2 и 4 группы в течение 6 недель поилки наполняли суспензией 10 мг/л микрочастиц полистирола диаметром 5 мкм. В группах 3 и 4 с 36 по 40 день эксперимента колит индуцировали 1% раствором декстрансульфата натрия (ДСН). Проводили гистологическое (гематоксилин и эозин), гистохимическое (альциановый синий, ШИК-реакция) и иммунофлуоресцентное (антитела к хромогранину А – эндокринные клетки) исследование слизистой оболочки ободочной кишки.

Результаты и обсуждение. При гистологическом исследовании стенки ободочной кишки мышей, длительно потреблявших микропластик, патологические изменения не выявлены. Наблюдалось повышение числа клеток в собственной пластинке слизистой оболочки, увеличение числа эндокринных клеток, снижение объемной доли бокаловидных клеток, повышение содержания в них высокосульфатированных муцинов. Содержание нейтральных муцинов в бокаловидных клетках значительно не менялось. В группах 3 и 4 в ободочной кишке наблюдались язвы и воспалительная инфильтрация слизистой оболочки. При воздействии микропластика язвы встречались чаще. Однако мы не выявили различий по содержанию клеточных элементов в собственной пластинке слизистой оболочки, числу эндокринных клеток, объемной доле бокаловидных клеток и содержанию в них нейтральных и высокосульфатированных муцинов при колите между животными получавшими и не получавшими микропластик.

Заключение. Микрочастицы полистирола диаметром 5 мкм в дозе 2,3 мг/кг/сут при воздействии в течение 6 недель вызывают адаптивные изменения слизистой оболочки ободочной кишки у мышей. Длительное потребление микропластика не влияет на

выраженность изменений секреторных клеток и воспалительной инфильтрации слизистой оболочки при остром ДСН-индуцированном колите.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ (№ 22-24-00232).

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЭНДОМЕТРИИ В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОГО УЧЕНИЯ ОБ ЭПИГЕНЕТИКЕ

Казачков Е.Л.¹, Затворницкая А.В.¹, Казачкова Э.А.¹, Воропаева Е.Е.¹

¹ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск,

doctorkel@yandex.ru

PATHOGENETIC ASPECTS OF HYPERPLASTIC PROCESSES IN THE ENDOMETRIUM IN THE LIGHT OF MODERN DOCTRINE OF EPIGENETICS

Kazachkov E.L.¹, Zatornitskaya A.V.¹, Kazachkova E.A.¹, Voropaeva E.E.¹

¹South ural state medical university, Chelyabinsk

Введение. Нарушение эпигенетической регуляции генов может приводить к стойкой патологии органов и систем. Изучение гиперплазии эндометрия в условиях многофакторных эпигенетических расстройств репродуктивного здоровья женщин и угрозы злокачественной трансформации эндометрия является чрезвычайно актуальным.

Материалы и методы. В I группу вошли 30 пациенток с гиперплазией эндометрия без атипии, во II – 30 женщин с гиперплазией эндометрия с атипией, в III – 30 женщин с эндометриоидной аденокарциномой эндометрия. Исследование имело дизайн одномоментного ретроспективного с использованием гистологических, гисто- и иммуногистохимических, статистических методов. Гистохимическое окрашивание производили с использованием нитрата серебра для оценки активности районов ядрышковых организаторов. Иммуногистохимическое окрашивание выполняли: 1) для анализа микросателлитной нестабильности (MSI) и оценки экспрессии антигенов системы исправления ошибок репликации (MMR): MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2; 2) для определения особенностей пролиферативной и антипролиферативной активности клеток эндометрия с использованием мышинных моноклональных антител к Ki-67 и p16^{INK4a} соответственно. Изучение экспрессии иммуногистохимических маркеров было основано на оценке относительного объёма коричневого окрашивания ядер и цитоплазмы клеток на всей площади среза (%). Сравнение между группами проводили с помощью непараметрических статистических методов. Величину вероятности ошибки устанавливали на уровне менее 0,05.

Результаты и обсуждение. Оценка пролиферативной активности клеток эндометрия у пациенток изучаемых групп свидетельствует о высоком пролиферативном потенциале

клеток эпителия желез и стромы эндометрия, о чем говорит статистически значимое увеличение уровня экспрессии Ki-67 в ряду от гиперплазии эндометрия без атипии к гиперплазии эндометрия с атипией и эндометриоидной аденокарциноме эндометрия ($p < 0,01$). Наряду с этим, в клетках эндометрия отмечена значительная антипролиферативная активность: величина экспрессии маркера p16^{INK4a} была статистически значимо больше в тканевых образцах при гиперплазии эндометрия с атипией и эндометриоидной аденокарциноме эндометрия по сравнению с гиперплазией эндометрия без атипии ($p = 0,03$). Повышенная экспрессия p16^{INK4a} свидетельствует о возможном участии вирусов в развитии пролиферативных поражений эндометрия, а данные об одновременной повышенной пролиферативной и антипролиферативной активности легли в основу программы ЭВМ для определения повышенного риска рецидивирования гиперплазии эндометрия (Затворницкая А.В. и соавт., 2019) с последующей разработкой алгоритма персонализированной тактики ведения этих пациенток.

Возможности эпигенетики позволили установить в образцах слизистой оболочки матки при пролиферативных заболеваниях эндометрия нарушения MMR – MSI. Образцы слизистой оболочки матки при гиперплазии эндометрия без атипии и с атипией отличаются статистически значимо более высокой экспрессией MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 по отношению к тканевым образцам при эндометриоидной аденокарциноме эндометрия. Отмеченные структурные особенности MSI при гиперплазии эндометрия и, прежде всего, с атипией свидетельствуют о наличии дефектной MMR при данной патологии, что является причиной появления пептидов сдвига рамки считывания, которые, возможно, вносят вклад в онкотрансформацию слизистой оболочки матки. Указанные особенности позволили разработать модель расчета риска онкотрансформации, которую возможно использовать при определении тактики ведения пациенток с гиперплазией эндометрия (Затворницкая А.В. и соавт., 2023).

MSI и изменение пролиферативной / антипролиферативной активности клеток эндометрия происходят на фоне усиления белково-синтетической функции клеток в биоптатах слизистой оболочки матки при гиперплазии эндометрия, на что указывает статистически значимое увеличение количества ядрышковых организаторов в эндометрии в ряду гиперплазия эндометрия без атипии → гиперплазия эндометрия с атипией → эндометриоидная аденокарцинома эндометрия ($p = 0,02$). Результаты проведенного исследования свидетельствуют об изменении пролиферативного потенциала клеток эпителия желез и стромы эндометрия, могут быть использованы как показатель степени дифференцировки клетки, а также для оценки продолжительности клеточного цикла.

Заключение. При пролиферативных заболеваниях эндометрия изучение патогенетических

особенностей пролиферации клеток слизистой оболочки матки в условиях определённого эпигенетического ландшафта целесообразно для раскрытия сути патологического процесса и выбора тактики ведения пациенток с данной патологией.

BASILAR ARTERY OF THE HUMAN EMBRYO: THE VALUE OF THE LIMITATION OF PUBLICATION RESOURCES.

Kalugina M. G.¹, Gorbunov A.V.²

¹Tambov State University named after G.R. Derzhavin, kaluginamg@yandex.ru

²Tambov State Technical University, alexey.gorbunov@mail.ru

Введение. Морфогенетические закономерности индивидуального развития артерий головного мозга человека на этапах онтогенеза для объяснения вариантов строения и аномалий развития являются фундаментом современных исследований в области нейронаук. Знания о формообразовании базилярной артерии в эмбриональном периоде пренатального онтогенеза человека призваны оказать существенное значение в формировании процессов диагностики и лечебной тактики при цереброваскулярных расстройствах.

Материалы и методы. Публикации по эмбриональному развитию базилярной артерии человека всех доступных ресурсах за последние 5 лет.

Результаты и обсуждение. На сегодняшний день концепция возникновения и развития артерий головного мозга в эмбриональном периоде человека такова. В 3–4 недели внутриутробного развития внутренние сонные артерии образуются III парой жаберных дуг каждой стороны или путём соустья соответствующей дорсальной аорты и III пары жаберных дуг. Внутренние сонные артерии слева и справа формируются непосредственно по типу плексиформного образования. В 3–4 недели внутриутробного развития намечаются ветви (в том числе персистирующая тройничная артерия) из первичных внутренних сонных артерий. К 4 неделе внутриутробного развития образуются парные первичные базилярные артерии (трактуются как нерегулярная базилярная артерия), соединенные с внутренними сонными артериями посредством персистирующих тройничных артерий. На 4–5 неделе внутриутробного развития образуются первичные позвоночные артерии дорсально от дорсальных аорт из шейных ветвей межсегментных артерий. В 5–6 недель внутриутробного развития первичные позвоночные артерии участвуют в формировании целостной первичной базилярной артерии. В 5–8 недель внутриутробного развития намечаются анастомозы посредством задних соединительных артерий с первичными ветвями внутренних сонных артерий, образуя артериальный круг большого мозга. В 5–8 недель внутриутробного развития из первичных базилярных артерий намечаются верхние мозжечковые и нижние передние мозжечковые артерии, а из первичных позвоночных артерий – задние нижние

мозжечковые артерии. Причем все исследования по эмбриональному развитию базилярной артерии человека за последние 5 лет для формирования научного контента захватывают лишь отдельные стадии эмбриогенеза человека, а морфологические и морфометрические данные требуют уточнения (Горбунов А.В., 2022, Рева А.В. с соавт., 2018).

Заключение. Таким образом, наш анализ публикаций всех доступных ресурсов за последние 5 лет по эмбриональному развитию базилярной артерии человека показал, что все приводимые исследования захватывают лишь отдельные стадии эмбриогенеза человека, а морфологические и морфометрические данные требуют уточнения, что обуславливает необходимость лонгитудинального сущностного анализа публикаций за период более 5 лет, вероятно с изучением информации ресурсов с захватом 10-100 лет для формирования современного научного контента.

ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОГО ОТВЕТА ПРИ ТРАВМЕ СРЕДНЕМОЗГОВОГО ТЕГМЕНТУМА МОЛОДИ КЕТЫ *ONCORHYNCHUS KETA*

Капустянов И.А.¹

¹*Национальный научный центр морской биологии имени А. В. Жирмунского, ДВО РАН,
Владивосток, ilyaak9772@gmail.com*

PECULIARITIES OF THE REPARATIVE RESPONSE IN TRAUMA OF THE MIDBRAIN TEGMENTUM OF JUVENILE CHUM SALMON *ONCORHYNCHUS KETA*

Капустянов И. А.¹

¹*A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok,
ilyaak9772@gmail.com*

Введение. Известно, что мозг взрослых позвоночных обладает способностью к нейрогенезу. У взрослых млекопитающих локализация нейральных стволовых клеток (вНСК), в основном ограничивается конечным мозгом. Они формируются из эмбриональной радиальной глии (РГ) и непосредственно не образуют нейроны, продуцируя сначала промежуточную популяцию клеток-предшественников.

Мозг взрослых рыб является местом непрерывной пролиферативной деятельности, которая не ограничивается теленцефалом (Zupanc, Sîrbulescu, 2011). Изучение свойств вНСК рыб проводилось главным образом на теленцефалоне *Danio rerio*, у которого в этом отделе мозга обнаружены нейральные стволовые клетки (НСК) с фенотипом РГ и промежуточные предшественники.

Тем не менее, паттерны взрослого нейрогенеза, установленные на данной модели нуждаются в уточнении и детализации, поскольку эта модель не учитывает всю сложность и гетерогенность вНСК других позвоночных. Поскольку тегментальная область в мозге рыб

является наименее изученной по сравнению с конечным мозгом и мозжечком, основной интерес в нашей работе был сконцентрирован на мезенцефалическом тегментуме и прилежащих к нему областях ствола. Данные на ранней молодежи форели *Salmo trutta morpha* показали наличие большого количества пролиферирующих клеток в среднем мозге (Candal et al., 2005). У сеголеток и двухгодовалой молодежи симы *Oncorhynchus masou* в области тегментума и ствола мозга при маркировании PCNA выявлена высокая пролиферативная активность и экспрессия транскрипционного фактора Pax6 в матричных областях ствола (Pushchina et al., 2017). Таким образом, ранее проведенные исследования на молодежи рыб разных возрастов и у взрослых животных указывают на наличие конститутивных процессов пролиферации и нейрогенеза у различных видов рыб в области ствола мозга. Целью настоящей работы было исследование репаративного ответа при травме среднемозгового тегментума молодежи кеты *Oncorhynchus keta*. В задачи исследования входило: 1) определение пролиферативной активности мезенцефалического тегментума в условиях интактности и после травматического повреждения; 2) исследование особенностей конститутивного нейрогенеза мезенцефалического тегментума молодежи кеты и изменений, возникающих после травматического повреждения; 3) исследование участия радиальной глии в процессах конститутивного роста мезенцефалического тегментума молодежи кеты и определение структурных перестроек, возникающих после травмы.

Материалы и методы. Для оценки пролиферативной активности, нейрогенеза и глиогенеза в интактной молодежи кеты *Oncorhynchus keta* и через 3 дня после травматического повреждения в среднемозговом тегментуме молодежи кеты использовали моноклональные антитела против ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA), нейрон-специфического кальций-связывающего белка (NuCD) и глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) на свободноплавающих срезах мозга.

Результаты и обсуждение. В тегментуме кеты выявлена пролиферативная активность в перивентрикулярной зоне как в отдельных клетках, так и в небольших кластерах клеток. Наличие конститутивных нейрогенных зон обеспечивает процессы персистентного роста мозга. После повреждения тегментума активизируется пролиферация в перивентрикулярной зоне, происходит реактивация конститутивных нейрогенных зон и формирование реактивных нейрогенных ниш в паренхиме, пролиферативная активность инициируется также в центрах вторичной пролиферации (базальном тегментуме). Впервые установлено, что травматическое повреждение тегментума приводит к ускоренной дифференциации нейронов в субвентрикулярной зоне и дорсомедиальном тегментуме, а также появление NuCD⁺ клеток с эпендимом- и радиоглиальным фенотипом в субвентрикулярной зоне, отсутствующих у интактных животных. Впервые показано, что в результате повреждения

теgmentума формируются локальные очаги посттравматического нейрогенеза, расположенные в паренхиме ретикулярной формации и зоны посттравматического глиоза, способствующие более эффективному процессу миграции клеток к зоне травмы.

Заключение. Полученные данные дают новую информацию о конститутивной биологии нейральных стволовых клеток и их участии в регенерации мозга.

АУТОПСИЙНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ «РАДИОАКТИВНЫХ ТЕЛ»

Квачева Ю.Е.¹

¹Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр им.

А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва, fmbc@fmbamail.ru

AUTOPSIES OF “RADIOACTIVE BODIES”

Kvacheva Yu.E.¹

State Research Center - Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical

Biological Agency, Moscow, fmbc@fmbamail.ru

Введение. В последние годы сформировалось понятие «аутопсии высокого риска», применяемое по отношению к секционным исследованиям трупов лиц, прижизненно подвергшихся воздействию опасных факторов химической, биологической или радиационной природы. При этом нельзя не отметить, что если особенности аутопсийных исследований при двух первых из названных опасностей достаточно подробно освещены в литературе, то сведения в отношении вскрытий «радиоактивных тел» остаются пока вне фокуса должного внимания существующих руководств по секционной технике.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили опубликованные в открытой печати и электронных ресурсах официальные документы международных организаций по радиационной безопасности и научные работы, содержащие описание случаев аутопсийных исследований тел умерших лиц, загрязненных радиоактивными веществами.

Результаты и обсуждение. Исторической точкой отсчета «радиоактивных» аутопсий стал секционные исследования погибших в результате атомных бомбардировок японских городов Хиросима и Нагасаки (1945 г.), выполненные в подавляющем большинстве случаев как лимитированные вскрытия. В нашей стране патологоанатомические исследования по указанному направлению были начаты в 1946 г. под руководством академика АМН СССР Н.А. Краевского, заложившего научные основы отечественной школы радиационной патологии. В послевоенный период совокупный опыт секционных наблюдений завершившихся летально радиационных поражений, развившихся вследствие радиационных инцидентов и аварий, объединил около полутора сотен наблюдений.

Наиболее масштабными среди них являются исследования тел погибших в результате аварии 1986 г. на Чернобыльской АЭС (СССР). Как отдельный раздел «радиоактивных» аутопсий следует рассматривать секционные исследования тел умерших при обстоятельствах противоправного применения источников ионизирующего излучения (ИИИ), в частности, описанные в литературе самоубийства (Сафронов Е.И., 1972 г.), а также несчастные случаи при нарушениях правил эксплуатации, хранения, транспортировки или умышленного хищения «потерянных» ИИИ (Singh S.R. et al., 2013). В этих исследованиях для решения вопросов о причинно-следственной связи с летальным исходом поражения необходимо применение ряда специальных дополнительных методик, ведущими среди которых являются СИЧ- («счетчик излучения человека») спектрометрия трупа и отбираемых на вскрытии образцов органов и гистоавторадиография. Существенно важное значение при аутопсийных исследованиях «радиоактивных тел» имеют вопросы обеспечения радиационной безопасности медицинского персонала танатологических отделений, основные принципы которой могут быть сформулированы следующим образом: (i) Медицинский персонал, участвующий в постмортальных исследованиях трупов людей, пострадавших в радиационных авариях, подвержен риску радиационного переоблучения / радиоактивного заражения. (ii) Природа и степень указанного риска не всегда очевидны перед началом или непосредственно в ходе проведения аутопсии. (iii) В целях обеспечения радиационной безопасности участников аутопсийных исследований необходимы специальные комплексные меры защиты, включая индивидуальный дозиметрический контроль облучения и применение средств индивидуальной защиты. В каждом из исследуемых случаев проводится тщательный анализ индивидуальной ситуации с составлением предварительного плана секционного исследования. Это требует координации действий патологов, дозиметристов и персонала подразделений радиационной безопасности. К использованию в практической работе патологоанатомов рекомендуется безопасная техника вскрытия, включая правила и порядок извлечения аутопсийных образцов с раздельным исследованием «радиоактивных» органов, а также временные и дистанционные лимиты работы с трупом. Обязательными являются меры по предотвращению радиоактивного загрязнения помещений прозектур, для чего необходимо устанавливать режим контролируемых входа и выхода персонала, перемещения трупов внутри рабочих помещений и процедуры по деконтаминации с оценкой остаточных уровней радиоактивной загрязненности.

Заключение. Потенциальные риски «радиоактивных» аутопсий для медицинского персонала танатологических отделений могут быть предотвращены обязательным соблюдением мер политики безопасности и комплекса технических приемов.

Представленный опыт постакцидентальных аутопсий способен составить основу для разработки методологии аутопсийных исследований «вновь возникшей» категории радиоактивных тел – умерших с инкорпорированными радиоактивными материалами медицинского назначения.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕМЕННИКОВ ПОСЛЕ ТЕМНОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

Кондакова Л.И.¹, Калашникова С.А.¹

¹ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет,

larisakondakova@gmail.com

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TESTES UNDER CONDITIONS OF LIGHT DESYNCHRONOSIS

Kondakova L.I.¹, Kalashnikova S.A.¹

¹Volgograd State Medical University, larisakondakova@gmail.com

Введение. Проблема стресса у человека и его влияние на мужскую репродуктивную систему привлекает внимание специалистов различных областей науки. Социальный, психологический стресс, стресс, вызванный световым десинхронозом, приводит к подавлению стероидогенной и сперматогенной функции тестикул и репродуктивной дисфункции.

Материалы и методы. Исследования были выполнены на 12 опытных и 6 контрольных половозрелых крысах самцах в возрасте 4 мес. Эксперименты были проведены с учетом этических норм и рекомендаций по гуманизации работ с лабораторными животными (ГОСТ 33044-2014, «Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей»). Проведенное исследование одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 2022/164 от 25.11.2022). Моделирование темновой депривации осуществляли путем размещения животных опытных групп в помещении с 24-часовым искусственным освещением (300 Люкс) в течение 30 суток. Особи контрольной группы были размещены в помещении в аналогичном временном режиме, но при 12-часовом световом режиме. Животные имели свободный доступ к воде и корму. Затем 6 животных опытной группы подвергались эвтаназии, а 6 животных были размещены в помещении при 12-часовом световом режиме в течение 14 суток с последующей эвтаназией, забором семенников для гистологического исследования и окраской гематоксилином по Майеру и эозином. Исследование и визуализацию гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа Leica DM 1000 (Германия) и специализированного программного обеспечения управления настройками и захвата изображения LAS v.4.7. Статистическая

50

обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0. Проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями с помощью множественного сравнения подгрупп (ANOVA Kraskel-wallis, test Dunn). Изменения считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показали, что у крыс после 30-суточной темновой депривации наблюдалось преждевременное старение репродуктивной системы с угнетением сперматогенеза, что сопровождалось уменьшением толщины сперматогенного эпителия на 26,3% ($p < 0,001$). Сперматоциты 1-го порядка располагались неравномерно, сохраняя свои морфологические характеристики и примыкая к сперматогониям. Сперматоциты второго порядка наблюдались не во всех канальцах и их количество значительно уменьшилось, что может свидетельствовать о гипотрофии сперматогенного эпителия. Выявлено незначительное уменьшение количества и площади сустентоцитов (клеток Сертоли) на 5,4% и 12,4% соответственно. Морфометрический анализ клеток Лейдига показал значительное уменьшение их площади и ядер на 26,9% и 21,7% ($p < 0,001$).

Через 14 суток после прекращения воздействия светового десинхроноза наблюдалось восстановление клеточных популяций сперматогенного эпителия, что сопровождается увеличением его толщины на 20,1%. Также наблюдалось увеличение количества сустентоцитов на 4,8%, их площади на 10,1% и ядра на 5,6%. Сустентоциты имели пирамидальную форму и располагались на базальной мембране, сохраняя свою связь со сперматидами. Одновременно было выявлено увеличение площади клеток Лейдига и их ядер на 14,95% ($p < 0,001$) и 20,72% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с положительной контрольной группой.

Полученные данные свидетельствуют о том, что 30-суточная темновая депривация вызывает приводит к возникновению морфологических изменений в семенниках, изменяет популяцию сперматогенных клеток, сустентоцитов и клеток Лейдига, которые могут быть критической причиной мужской репродуктивной дисфункции.

Заключение. Таким образом, воздействие на семенники такого негативного фактора, как темновая депривация, сопровождается неспецифическими изменениями, характеризующиеся истончением сперматогенного эпителия, уменьшением количества сперматогенных эпителиальных клеток, повреждением эндокриноцитов с последующим их частичным восстановлением по прекращению негативного воздействия.

**СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У НЕУСТОЙЧИВЫХ И УСТОЙЧИВЫХ К
СТРЕССУ КРЫС ВИСТАР ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО
СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА**

Кондашевская М.В.¹

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
histologist77@mail.ru*

**THE STATE OF THE VASCULAR ENDOTHELIUM IN STRESS-RESISTANT AND
STRESS- SENSITIVE WISTAR RATS IN MODELING POST-TRAUMATIC STRESS
DISORDER**

Kondashevskaya M.V.¹

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, histologist77@mail.ru*

Введение. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) – это тяжелое психическое расстройство, которое развивается в результате эмоциональной и/или физической травмы. Существенной причиной сложности изучения механизмов патогенеза заболевания является достаточно длительный и неопределенный по времени период развития заболевания от момента стрессирования до проявления его симптомов. Наиболее часто ПТСР рассматривается как психотравмирующее последствие пребывания в боевой обстановке, что весьма злободневно в настоящее время. Не менее актуальными пусковыми инцидентами являются стихийные, техногенные и социально-экономические катастрофы. К этому списку также следует добавить пандемию COVID-19 (2019–2022 гг.). У части пострадавших от травматических событий, неустойчивых к стрессу индивидов, впоследствии диагностируются тревожно-депрессивные и соматоформные расстройства, развивающиеся коморбидно с ПТСР, или самостоятельно, вызывая профессиональную и социальную дизадаптацию с устойчивыми изменениями личностных черт. Такие люди обычно обращаются к врачу-психиатру или психотерапевту, тогда как остальная часть популяции индивидов, переживших психотравмирующие события, у которых не развились признаки психических и эмоциональных нарушений, устойчивые к стрессу индивиды, чаще всего остаются без медицинского обследования и помощи.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на половозрелых самцах крыс Вистар (n=40, масса тела 180-200 г), которые были разделены на 2 группы: контрольная (n=10) и крысы, у которых моделировали ПТСР, используя предаторный стресс (n=30). У всех крыс регистрировали: поведение в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), уровень кортикостерона в сыворотке крови (ИФА), скорость кровотока в теменной коре методом

52

лазерной доплеровской флоуметрии (ALF-21, США). Состояние эндотелия оценивали по реакции сосудов на введение ацетилхолина (АХ, 10^{-5} М). Данные анализировали с помощью ANOVA и поправкой на множественные сравнения Тьюки. Значение $p < 0.05$ считалось значимым.

Результаты и обсуждение. Тестирование крыс в ПКЛ обеспечило возможность разделения популяции животных ПТСР на низкоустойчивых к предаторному стрессу (НУПС) и высокоустойчивых (ВУПС) особей по показателю индекса тревожности (ИТ) [Cohen H., et all., 2008]. Дополнительным подтверждением того, что после стресса у крыс развилось ПТСР-подобное состояние, служили показатели уровня кортикостерона (Корт), которые обычно снижаются при ПТСР. У ВУПС уровень Корт был на 35.6% выше, чем у НУПС, но, тем не менее, на 30.1%, ниже, чем в контроле. Характерное для АХ увеличение (на 28.6%) объемной скорости кровотока зарегистрировано в контроле, тогда как у НУПС и ВУПС АХ скорость кровотока снижалась (на 21.3 и 18.3% соответственно). Указанную реакцию сосудов исследователи связывают с нарушением выработки ключевого вазодилататора – оксида азота (NO) [Gutterman DD, et all., 2016]. Одной из главных причин повреждения эндотелия сосудов и расстройства механизмов выработки NO эндотелием обычно является образование большого количества активных форм кислорода.

Заключение. Таким образом, в нашем эксперименте впервые установлено, что при моделировании ПТСР у крыс Вистар наблюдается развитие дисфункции эндотелия, выраженное в меньшей степени у высокоустойчивых и в значительной степени – у низкоустойчивых к стрессу особей. Экстраполируя полученные данные на людей, необходимо подчеркнуть, что диагностическим исследованиям следует подвергать всю популяцию индивидов, испытавших экстраординарное стрессирование, а в случае необходимости использовать лекарственные средства, направленные на лечение дисфункции эндотелия.

ЗАВИСИМОСТЬ EX VIVO ПРОДУКЦИИ IL-1 β И IL-10 АКТИВИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ У КРЫС ВИСТАР С ЛПС-ИНДУЦИРОВАННЫМ СИСТЕМНЫМ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ОТВЕТОМ

Косырева А.М.¹, Джалилова Д.Ш.¹, Цветков И.С.¹, Макарова О.В.¹

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,

kosyreva.a@list.ru.

RELATION OF IL-1 β AND IL-10 EX VIVO PRODUCTION BY ACTIVATED BLOOD

CELLS FROM BASIC RESISTANCE TO HYPOXIA OF WISTAR RATS WITH LPS-INDUCED SIRS

Kosyreva A.M.¹, Dzhaililova D.Sh.¹, Tsvetkov I.S.¹, Makarova O.V.¹

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution*

"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, kosyreva.a@list.ru

Введение. Синдром системного воспалительного ответа (ССВО) развивается в 30-70% случаев при тяжелом течении инфекционных и неинфекционных воспалительных заболеваний и характеризуется гиперпродукцией провоспалительных медиаторов. В механизмах развития и прогрессирования ССВО важную роль играет транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией – HIF-1. HIF-1 ограничивает транскрипционную активность NF-κB – ядерного фактора, регулирующего воспалительный ответ, а ингибиторы, способствующие разрушению субъединицы HIF-1, также опосредованно регулируют активность NF-κB. Поскольку молекулярно-биологические механизмы гипоксии и воспаления, реализуемые путями активации HIF-1 и NF-κB, тесно взаимосвязаны, устойчивость к гипоксии может быть одним из факторов, определяющих особенности течения воспалительных и иммунных реакций. Целью работы было установить особенности спонтанной и стимулированной продукции цитокинов клетками крови *ex vivo* у самцов крыс Вистар с разной устойчивостью к гипоксии при моделировании системного воспалительного ответа (СВО), индуцированного введением липополисахарида (ЛПС).

Материалы и методы. Работа выполнена на половозрелых самцах крыс Вистар (возраст 10-12 недель), массой тела 220-260 г. Для определения устойчивости к гипоксии животных помещали в вентилируемую барокамеру «на высоту» 11500 м. В эксперимент были включены высокоустойчивые (ВУ) к гипоксии крысы (n=10), время жизни которых «на высоте» составляло более 240 секунд, и низкоустойчивые (НУ) (n=14), у которых показатель времени жизни «на высоте» не превышал 80 секунд. Через месяц ВУ (n=6) и НУ (n=8) к гипоксии крысам внутрибрюшинно вводили ЛПС 1,5 мг/кг *E.coli* O26:B6. ВУ (n=4) и НУ (n=6) к гипоксии животным контрольной группы внутрибрюшинно вводили NaCl 0,9%. Животных выводили из эксперимента через 24 часа после введения ЛПС путем передозировки золетила (15 мг/кг). В периферической крови с помощью автоматического гематологического анализатора Mindray BC-2800Vet (Китай) оценивали количество лимфоцитов и гранулоцитов. Для оценки функциональной активности клеток цельной крови определяли спонтанную и стимулированную продукцию цитокинов – провоспалительного IL-1β и противовоспалительного IL-10. Стимуляцию проводили комплексным митогеном, состоящим из ЛПС *E.coli*, фитогемагглютинаина (ФГА) и конканавалина А (КонА) (2 мкг, 4 мкг и 4 мкг соответственно). Клетки крови

культивировали при температуре 37°C и 5% концентрации CO₂. Через 24 часа собирали кондиционированную среду для оценки концентрации ИЛ-1β и ИЛ-10 методом ИФА с помощью коммерческих наборов (ThermoFisher, США). Для статистической обработки полученных данных использовали программу «Statistica 8.0» и непараметрические методы статистики (критерии Краскелла-Уоллиса и Данна). Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты и обсуждение. В работе показано, что в контрольной группе НУ к гипоксии крыс индекс соотношения спонтанной продукции ИЛ-1β к ИЛ-10 клетками крови был выше, а показатель абсолютного числа лимфоцитов ниже, чем у ВУ к гипоксии крыс. Выявленная нами ранее высокая экспрессия *Hif-1α* у НУ к гипоксии крыс может определять более высокую продукцию провоспалительного цитокина ИЛ-1β по отношению к противовоспалительному ИЛ-10, и как следствие, приводить к более тяжелому течению воспалительных реакций у НУ.

При развитии СВО только у ВУ к гипоксии крыс наблюдалось увеличение индекса отношения гранулоцитов к лимфоцитам, тогда как у НУ к гипоксии крыс этот показатель не отличался от значений в контрольной группе. Кроме того, в ответ на развитие СВО только ВУ к гипоксии крысы демонстрировали снижение спонтанной и стимулированной продукции ИЛ-1β и спонтанной – ИЛ-10, тогда как у НУ к гипоксии крыс по сравнению с контрольной группой на 1-е сут развития СВО изменений как спонтанной, так и стимулированной продукции ИЛ-1β и ИЛ-10 не наблюдалось.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о высоком провоспалительном потенциале клеток крови у НУ к гипоксии крыс, что может быть связано с исходно более высоким уровнем экспрессии *Hif-1*, что, вероятно, определяет развитие более тяжелого течения СВО у особей с низкой устойчивостью к гипоксии.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ ИНСУЛИНА В α-КЛЕТКАХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Кривова Ю.С.¹, Прощина А.Е.¹, Отлыга Д.А.¹, Харламова А.С.¹, Савельев С.В.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва*

IMMUNOHISTCHEMICAL DETECTION OF INSULIN IN α-CELLS OF THE HUMAN PANCREAS

Krivova Y.S.¹, Proshchina A.E.¹, Otylga D.A.¹, Kharlamova A.S.¹, Saveliev S.V.¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

Введение. Иммуногистохимическое окрашивание на инсулин служит основным методом идентификации β -клеток и оценки их массы в аутопсиях и биопсиях поджелудочной железы, который широко используется в исследованиях механизмов патогенеза нарушений углеводного обмена – сахарного диабета 1 и 2 типа (СД1, СД2), врожденного гиперинсулинемизма (ВГИ) и др. В то же время, в литературе появляется все больше данных о зависимости количества выявляемых β -клеток от чувствительности применяемого метода. С одной стороны, на животных моделях диабета и у людей с СД2 показано, что снижение окрашивания на инсулин обусловлено значительной степенью дегрануляции β -клеток. При этом применение комбинации вторичных антител позволяет увеличить чувствительность метода и выявить большее количество β -клеток. С другой стороны, низкий уровень экспрессии инсулина был обнаружен в α -клетках поджелудочной железы людей с СД1 длительного течения при увеличении времени экспозиции срезов, окрашенных методом непрямой иммунофлуоресценции.

Материал и методы. Исследованы аутопсии поджелудочной железы 2 детей (3 года, 13 лет) с недавно диагностированным СД1, 2 взрослых людей (27 лет, 41 год) с СД1 длительностью более 15 лет, 5 взрослых людей (62–76 лет) с СД2. Группой сравнения послужили аутопсии поджелудочной железы 2 детей (4 года, 8 лет) и 5 взрослых (25–83 лет), не страдавших нарушениями углеводного обмена (группа сравнения), а также 5 операционных биопсий ткани поджелудочной железы вне фокуса аденоматоза от новорожденных (0–3 месяца) с фокальной формой ВГИ. Парафиновые срезы окрашивали методом непрямой иммунофлуоресценции антителами к инсулину и комбинацией антител к инсулину и глюкагону. В качестве первичных антител применяли: мышинные моноклональные антитела к инсулину (Sigma, Cat.#I2018; Thermo Fisher Scientific Inc., Cat.#Ms-1379-P), кроличьи поликлональные антитела к инсулину (Santa Cruz Biotechnology, Cat.#Sc-9168; Abcam, Cat.#ab63280), поликлональные антитела морской свинки к инсулину (Dako, Cat.#A0564), кроличьи поликлональные антитела к глюкагону (Thermo Fisher Scientific Inc., Cat.#PA-13442). В качестве вторичных антител применяли AlexaFluor®555 goat anti-rabbit IgG(H+L) (Molecular Probes, Cat#A21429), AlexaFluor®488 goat anti-mouse IgG(H+L) (Molecular Probes, Cat#A11029), AlexaFluor®488 goat anti-guinea pig IgG(H+L) (Molecular Probes, Cat#A11073).

Результаты и обсуждение. В ходе исследования выявлены существенные отличия в распределении иммунореактивности к инсулину при использовании антител различных производителей. В реакциях с антителами фирм Thermo Fisher Scientific Inc., Santa Cruz Biotechnology и Dako иммунореактивность к инсулину наблюдалась в β -клетках панкреатических островков в группе сравнения и при СД2. В поджелудочной железе детей с

недавно диагностированным СД1 инсулин+ β -клетки присутствовали лишь в небольшом количестве (около 10%) панкреатических островков. У лиц с длительным течением СД1 инсулин+ β -клетки в панкреатических островках отсутствовали. При двойном иммунофлуоресцентном окрашивании с использованием антителами к инсулину фирмы Thermo Fisher Scientific Inc колокализация инсулина с глюкагоном наблюдалась в отдельных клетках панкреатических островков в группе сравнения, при СД2 и в сохранившихся островках у детей с недавно диагностированным СД1. В реакциях с антителами фирм Sigma и Abscam, иммунопозитивная реакция на инсулин выявлена во всех панкреатических островках у детей и взрослых с СД1. Анализ колокализации гормонов с применением мышиных моноклональных антител к инсулину фирмы Sigma показал, что как в группе сравнения, так и при СД1 и СД2, позитивная реакция на инсулин наблюдается в большинстве α -клеток панкреатических островков.

Заключение. Выявленные различия в распределении иммунореактивности к инсулину, вероятно, обусловлены различной чувствительностью и эпитоп-специфичностью применяемых антител. Полученные результаты свидетельствуют о том, что большинство глюкагон-позитивных клеток одновременно содержат инсулин или его предшественники (проинсулин, препроинсулин) и могут служить источником эндогенного инсулина даже у людей с продолжительным СД1.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СИНТЕЗА ПРОТЕОГЛИКАНОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ У КРЫС

Крылов П.А.¹, Новочадов В.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», krylov.pavel@volsu.ru

SPATIAL ORGANIZATION SYNTHESIS OF PROTEOGLYCAN ARTICULAR CARTILAGE IN EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS IN RATS

Krylov P.A.¹, Novochadov V.V.¹

¹Volgograd State University, krylov.pavel@volsu.ru

Введение. Протеогликаны, такие как лубрицин и агрекан, являются высокоспециализированными белками суставного хряща, обеспечивающие его уникальные свойства. Потеря или нарушение синтеза лубрицина может привести к утрате лубрикативных свойств суставной поверхности, что будет способствовать повышению коэффициента трения скольжения и в конечном итоге развитию остеоартроза. Агрекан обеспечивает сшивку гиалуроновой кислоты, обеспечивая формирования пространственной структуры хрящевого матрикса, физико-химические свойства и устойчивость по повышенным физическим нагрузкам. В настоящее время отсутствуют данные о том, как

пространственно-ориентирован синтез протеогликанов в условиях остеоартроза, возникает ли переориентирование синтеза лубрицина с хондроцитов поверхностной зоны на клетки промежуточной зоны и наоборот. [Wilusz R.E., et al., 2014, Knudson, W., et al., 2019].

Материалы и методы. Образцы суставного хряща были взяты у 30 белых крыс самцов линии Wistar, массой 250-300 г. Выведение животных осуществляли с помощью введения 10 кратной дозы «Рометар», Россия (200 мг/кг массы). У шести крыс контрольной группы были взяты коленные суставы для исследования в интактном состоянии. У животных в четырех экспериментальных группах, по 6 животных (3, 6, 9, 12 недель), выполняли моделирование остеоартроза путем внутрисуставного введения суспензии стерильного медицинского талька («АГАТ-МЕД», Россия) в соотношении с физиологическим раствором NaCl 1:5 [Котельников Г.П. и др., 2006]. Животных из экспериментальных групп выводили спустя 3, 6, 9 и 12 недель.

Окраску препаратов осуществляли с помощью красителей гематоксилин и эозин, для выявления основных компонентов матрикса суставного хряща применяли сафрарин О. Иммуногистохимическое окрашивание для выявления протеогликанов в суставном хряще проводили на основе общепринятого протокола. Анализ изображений гистологических препаратов осуществлялся с использованием программы в свободном доступе ImageJ v. 1.53t (National Institutes of Health, США). Морфометрия суставного хряща включала измерение позитивно окрашенных клеток в результате иммуногистохимической реакции на лубрицин и агрекан, как индекс экспрессии (%). Количественные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 12.0 (StatSoftInc., США) с использованием критерия Манна-Уитни ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. Иммуногистохимическая окраска суставного хряща на выявление агрекана при развитии ОА показала, что на 3 неделе был повышенный синтез агрекана в промежуточной зоне, а также незначительно в поверхностной зоне, к шестой неделе он снизился и протекал на границе промежуточной и поверхностной зон. На 9 неделе экспрессия агрекана снизилась почти в два раза, согласно качественной оценки интенсивности окраски, аналогичная тенденция наблюдалась на 12 неделе эксперимента. При экспериментальном остеоартрозе на 3-й неделе эксперимента синтез лубрицина хондроцитами поверхностной зоны суставного хряща снизился почти в 2 раза по сравнению с интактными животными. На третьей неделе после моделирования экспериментального ОА, было выявлено частичное разрушение поверхностной зоны суставного хряща. При этом клетки с характерным фенотипом хондроцитов промежуточной зоны имеют коричневую окраску, что свидетельствует о том, что клетки синтезируют лубрицин. Через 6 недель в экспериментальной группе с ОА была выявлена низкая экспрессия лубрицина в

поверхностной зоне, при этом хондроциты промежуточной зоны локализованные на границе также были позитивно окрашены на лубрицин. На 6 неделе экспрессия лубрицина соответствовала 3 неделе при ложной операции. На 9 неделе в группе с экспериментальным остеоартрозом синтез лубрицина вырос. На гистологических препаратах суставного хряща видно незначительную численную плотность хондроцитов III типа, активно синтезирующий лубрицин, при этом хондроциты локализованные на границе промежуточной и поверхностной зон также экспрессируют исследуемый протеогликан. На 12 неделе синтез лубрицина в группе с экспериментальным ОА снизился в два раза по сравнению с группой 9 недель. Хондроциты III типа расположены горизонтально суставной поверхности, но при этом не окрашиваются на лубрицин. Единичные хондроциты промежуточной зоны имеют окраску.

Заключение. В результате проведенных экспериментальных исследований были получены данные о пространственной организации синтеза протеогликанов суставного хряща. В случаи разрушения суставной поверхности, сопровождающаяся гибелью хондроцитов III типа поверхностной зоны, хондроциты II типа начинают синтезировать лубрицин.

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ УГЛЕРОДНЫХ ТОЧЕК НА МОДЕЛИ ГЛИОБЛАСТОМЫ И ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ПОЧКИ *IN VITRO*

Куделькина В.В.¹, Косырева А.М.¹, Копылов А.Н.², Мусаева Д.У.², Сюй А.В.³, Алексева А.И.¹, Захаркив А.Ю.², Тимошенко В.Ю.²

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, verakudelkina8047@gmail.com*

²*Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, dreadnought88@gmail.com*

³*Московский физико-технический институт 141701, Московская область, г. Долгопрудный, info@mipt.ru*

ANTITUMOR AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF CARBON DOTS IN THE *IN VITRO* MODEL OF GLIOBLASTOMA AND EMBRYO KIDNEY

Kudelkina V.V.¹, Kopylov A.N.², D.U. Musaeva², Kosyreva A.M.¹, Xu A.V.³, Alekseeva A.I.¹, Zakharkiv A.Yu.², Tymoshenko V.Yu.²

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, verakudelkina8047@gmail.com*

²*National Research Nuclear University MEPHI, Moscow, dreadnought88@gmail.com*

Введение. Углеродные точки (УТ) – полупроводниковые люминесцентные наночастицы, которые применяются для визуализации биологических объектов в качестве биозондов и биосенсоров для измерения внутриклеточного pH, глюкозы, в диагностике и терапии опухолей для доставки лекарственных веществ. В составе композитов УТ применяются для доставки генов, лекарств, фототермальной и фотодинамической терапии опухолей. Перспективны УТ как тераностикумы – лечение с одновременной визуализацией клеток опухоли. УТ имеют уникальные оптические свойства, электропроводны, фотохимически и термически стабильны, биосовместимы, безопасны для окружающей среды. УТ точки могут специфично накапливаются в опухолях и способствуют визуализации и гибели их клеток (Shen C.L., et al., 2022). УТ достаточно просто и дешево синтезировать, они излучают флуоресценцию от синего до оранжевого цвета при возбуждении УФ или синим светом. Кратковременное возбуждение и испускание света УТ может вызывать повреждение клеток, что можно применять в противоопухолевой терапии, а их связывание с макромолекулами, антителами, поверхностно-активными веществами (ПАВ), пегилирование, может способствовать большей селективности их доставки в ткани опухоли и снижения токсичности для клеток организма.

Материалы и методы. УТ точки получали растворением 300 мг мочевины (pure, Reakhim, Россия) и 150 мл лимонной кислоты (pure, Reakhim, Россия) в 5 мл дистиллированной воды. Синтезировали УТ в микроволновом реакторе Anton Paar (Чехия) при температуре 180⁰ С 15 минут, при 1200 об/мин, охлаждали после синтеза до 55⁰ С. Очищали УТ изопропиловым спиртом и переводили в воду. Клетки культивировали в среде Imdm gluta max (Gibco, США) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (Hyclone, США), 0,1 мг/мл антибиотика пенициллина+стрептомицина (Gibco, США) при t=37⁰ С, в атмосфере 5% углекислого газа и 95% воздуха. МТТ-тестом оценивали противоопухолевые эффекты УТ на клеточной линии глиобластомы М6 мыши, цитотоксическую активность исследовали на клеточной линии эмбриона почки НЕК 293 человека *in vitro*. Клеточные линии предоставлены Коллекцией НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ "РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского", Москва.

Результаты и обсуждение. УТ в дозе 0,88 и 0,45 мг/мл, растворенные в полной питательной среде, не оказывали статистически значимого ингибирующего действия на клетки эмбриона почки человека НЕК 293 и глиобластомы М6 мыши, пролиферативная и метаболическая активность клеток не изменялась. УТ в дозе 0,65 мг/мл в 1% водном растворе плуроника F 68 достоверно снижали метаболическую активность, уменьшая пролиферацию клеток эмбриона почки человека НЕК 293 и глиобластомы М6 мыши по

сравнению с большей дозой УТ – 0,88 мг/мл, растворенных в питательной среде. УТ в дозе 0,88 мг/кг снижали пролиферацию клеток глиобластомы М6 мышцы относительно интактных клеток.

Заключение. Концентрация УТ и ПАВ влияют на их цитотоксическую активность. Более низкая концентрация УТ в растворе ПАВ ингибирует пролиферацию и метаболическую активность клеток больше, чем УТ без ПАВ.

РОЛЬ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОТВЕТЕ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА НА ПОВРЕЖДЕНИЕ

Макаревич П.И.^{1,2}, *Еремичев Р.Ю.*^{1,2}, *Александрюшкина Н.А.*¹, *Нимирицкий П.П.*^{1,2},
*Кулебякина М.А.*², *Ткачук В.А.*^{1,2}

¹ *Институт регенеративной медицины, ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия*

² *Факультет фундаментальной медицины, ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия*

ROLE OF STROMAL CELLS IN HUMAN TISSUES RESPONSE TO DAMAGE

Makarevich P.I.^{1,2}, *Eremichev R. Yu.*^{1,2}, *Alexandrushkina N.A.*¹, *Nimiritsky P.P.*^{1,2},
*Kulebyakina M.A.*², *Tkachuk V.A.*^{1,2}

¹ *Institute for regenerative medicine, Lomonosov Moscow State University Moscow, Russia*

² *Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University Moscow, Russia*

pmakarevich@mc.msu.ru

Введение. Среди разнообразия резидентных клеток ведущую роль в регуляции тканевого гомеостаза и ответе на повреждение играют клетки стромы мезенхимного происхождения (МСК), обнаруженные практически во всех тканях организма.

В настоящее время наша работа сконцентрирована на изучении тканеспецифичной роли стромальных клеток в заживлении, регенерации тканей человека и их росте после повреждения. Особенно важным нам представляется расшифровка механизмов регуляции баланса двух ключевых морфогенных процессов - фиброза и регенерации.

Материалы и методы. В ходе работы нами были исследованы тканеспецифичные свойства МСК из тканей, склонных к фиброзированию (кожа, жировая ткань) и к регенерации (эндометрий, костный мозг) после повреждения. В рамках данной работы мы изучали не только влияние МСК на ангиогенез в моделях сокультивирования с клетками эндотелия, сборку тканеинженерных конструкций в виде пластов, но также оценивали роль окружения, сопровождающего ранозаживление, в активации фиброза или регенерации. Для этого нами были использованы препараты растворимых факторов, выделенных из

сыворотки периферической крови и менструальной жидкости.

Результаты и обсуждение. При анализе данных РНК-секвенирования показаны свойства МСК, отражающие их потенциальную роль как «координаторов» формирования тканеподобных структур, в т.ч. после повреждения органов. Было показано, что стромальные клетки способны к самоорганизации и формированию гетерогенных конструкций, в которых *in vitro* воспроизводится транскриптомный профиль такого важного события в развитии как конденсация мезенхима. Нами был изучен ответ МСК из различных источников к фиброгенным стимулам (TGF- β 1) и их дифференцировочный потенциал, что позволило выявить уникальные свойства МСК эндометрия свойства по сравнению с клетками из других источников.

Вторым важным наблюдением стали результаты исследования взаимодействия МСК из менструальной крови (по сути, выделяемых из эндометрия), с растворимыми факторами, выделяемыми при менструации. Интерес к этому объекту связан с тем, что эндометрий заживает без рубцевания и представляет собой уникальный случай многократно повреждения и эпиморфной регенерации у человека в каждом менструальном цикле. Мы обнаружили, что критический для фиброобразования этап перехода МСК в миофибробласты может подавляться растворимыми факторами менструальной крови, но не сыворотки периферической крови. Данный эффект наблюдался не только в культурах МСК эндометрия, но и МСК дермы или жировой ткани, для которых характерно фиброзирование после травмы. Таким образом, взаимодействие между резидентными МСК и факторами, выделяемыми в зоне повреждения, оказалось одним из важных звеньев, вероятно, опосредующих регенерацию ткани. Дальнейшим этапом может стать идентификация этих факторов и выяснение механизма их действия.

Заключение. Представленная работа предлагает рассматривать функцию МСК как «клеток-координаторов», активация которых при повреждении приводит к запуску тканеспецифичной программы. Успешная реализация этой программы может зависеть от растворимых факторов, содержащихся в окружении, сопровождающем восстановление ткани.

Работа была выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова и по перспективному направлению научно-образовательного развития Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

**ОЦЕНКА СИНОВИТА ГОЛЕНОСТОПНОГО СУСТАВА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ
НЕЙРООСТЕОАРТРОПАТИИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИЧЕСКИМ
ОСТЕОМИЕЛИТОМ**

Мезенцев И.Н.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и
ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России,
Курган, mezen.igor.82@mail.ru

**ASSESSMENT OF THE ANKLE SYNOVITIS IN DIABETIC
NEUROSTEOARTHROPATHY COMPLICATED WITH CHRONIC OSTEOMYELITIS**

Mezentsev I.N.¹

¹Pizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian
Federation

Введение. Одним из серьезных поражений голеностопного сустава у пациентов с диабетом является диабетическая нейроостеоартропатия (стопа Шарко, сустав Шарко), осложненная остеомиелитом. От 10% до 72% язв диабетической стопы сопровождается остеомиелитом, что значительно увеличивает риск ампутации нижних конечностей (Sybenga A.B. et al., 2020). Роль синовиальной оболочки в патогенезе диабетической нейроостеоартропатии остаётся малоизученной.

Материал и методы. Исследовали синовиальную оболочку и костно-хрящевые фрагменты голеностопного сустава от 33 пациентов (13 женщин и 20 мужчин в возрасте от 29 до 80 лет) с синдромом диабетической стопы (хроническая фаза стопы Шарко, классификация по S. Eichenholtz 3 ст) и хроническим остеомиелитом. Микроскопическое исследование парафиновых и полутонких срезов проводили на микроскопе «AxioScope.A1» с камерой «AxioCam» (CarlZeissMicroImagingGmbH, Германия). Полуколичественным методом оценивали фазу воспалительного процесса хронического остеомиелита по шкале A. Tiemann et al. (2014), синовит по шкале V. Krenn et al. (2006). Количественные характеристики представлены в виде медиан и квартилей (Me (Q1; Q3)), оценку корреляционной связи производили с применением коэффициента Спирмена (r , мощность критерия 0,8–0,9, уровень доверительной вероятности 95%).

Результаты и обсуждение. Гистологические признаки хронического остеомиелита острого течения (выраженный остеонекроз, костные микросеквестры, избыточная остеокластическая резорбция, замещение костного мозга грануляционной тканью, клеточный состав воспалительного инфильтрата: лимфоциты, плазматические клетки, нейтрофилы - более 5 в поле зрения) зарегистрированы у 11 пациентов, оценка по шкале A. Tiemann et al., (2014) составила 7 - 9 баллов [7 (7;8)]. Признаки подострого течения

хронического остеомиелита (умеренно выраженный остеонекроз, клеточный состав воспалительного инфильтрата: лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, нейтрофилы - менее 5 в поле зрения) выявлены у 16 пациентов, оценка составила 4 - 5 баллов [5 (4;5)]. Признаки ослабленного хронического остеомиелита – ремиссия (остеонекроз низкой степени выраженности, участки фиброза костного мозга, клеточный состав воспалительного инфильтрата: гистиоциты, лимфоциты, плазматические клетки) выявлены у 6 пациентов, оценка составила 2-3 балла [3 (2;3)]. При оценке синовита по шкале V. Krenn et al. (2006) слабо выраженный синовит определялся у 15 пациентов, синовит высокой степени выраженности у 18 пациентов. При статистическом анализе выявили высокую (от 0,7 до 0,9 по шкале Чеддока) положительную корреляционную взаимосвязь между выраженностью воспалительной фазы хронического остеомиелита и синовита (коэффициент корреляции Спирмена $r=0,76$, $p=1,7E-16$). Полуколичественная оценка синовита у пациентов с признаками ослабленного хронического остеомиелита от 3 до 4 баллов [4 (3;4)], с признаками подострого течения хронического остеомиелита от 4 до 5 баллов [4 (4;5)], с признаками острого течения хронического остеомиелита от 5 до 8 баллов [7 (5;7)]. Независимо от воспалительной фазы хронического остеомиелита во всех наблюдениях отмечали гиперплазию и гиперваскуляризацию синовиальной оболочки, наличие костных и хрящевых фрагментов, воспалительный инфильтрат. Со стороны сосудов определялось выраженное сужение просветов либо их полное закрытие как за счет гиперплазии эндотелиоцитов, так и за счет гиперплазии компонентов меди.

Заключение. В синовиальной оболочке голеностопного сустава при диабетической нейроостеоартропатии, осложненной хроническим остеомиелитом, выявленные структурные изменения способствовали формированию синовиального паннуса. Установлена положительная корреляция между выраженностью воспалительной фазы хронического остеомиелита и синовита.

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КЛАССИФИКАЦИИ СПЕКТРА АТИПИЧНОЙ ПЛАЦЕНТАЦИИ (PAS)

А. П. Милованов¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,*

a_p_milovanov@mail.ru

MODERN ASPECTS OF CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CLASSIFICATION OF PLACENTA ACCRETA SPECTRUM (PAS)

А. P. Milovanov¹

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution*

"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, tatyana-doc-6@mail.ru

Введение. Начало XXI века характеризуется быстрым, нерегулируемым ростом кесаревых сечений (КС) во всем мире. Если ВОЗ рекомендует оптимальное их число 12- 15% ко всем родам, то реальные цифры опережают эти показатели в 2- 3 раза. Каждое новое оперативное родоразрешение сопровождается дополнительной прибавкой соединительной ткани к прежнему ятрогенному рубцу. Мировое сообщество акушеров в 2018 году предложило новую классификацию PAS, основанную на глубине проникновения ворсин плаценты в стенку матки по месту рубца (5 степеней) и уточненную группой экспертов- морфологов (Hecht J. L. et al. 2020): 1-я степень- неинвазивная, проникновение ворсин в слой фибриноида, без вовлечения внутреннего миометрия; 2— глубокая инвазия с истончением миометрия, при сохранении не менее 25% толщины и целой серозной оболочки; 3А- глубокая инвазия с поражением всего миометрия , но сохранении серозы; 3Д и Е- врастание ворсин в мочевого пузырь, внематочную фиброзножировую ткань, подтвержденные морфологическим исследованием. Наибольшие разногласия среди акушеров и патологоанатомов вызывали степени Д, и Е, то есть р1. percreta. Акушеры на основании макрокартины сближения стенки матки с мочевым пузырем, либо посредством спаечного процесса между ними подозревали наличие р1. percreta и иссекали прилежащую часть мочевого пузыря, но в операционном материале ворсин плаценты не выявляется, кроме спаечного процесса.

Материал и методы. Патоморфологическим методом исследовано 97 иссеченных стенок маток во время первого КС, без влияния рубца (условная норма, n= 20), после миопластики при PAS (2-4 КС, 65 женщин), 12 гистерэктомий при полном предлежании из регионов России, Москвы и Московской области. Операционный материал вырезали с особой ориентировкой при указании эндометрия и серозной оболочки, чтобы в микропрепаратах была видна протяженная маточноплацентарная граница с вросшими ворсинами. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и азокармином по Маллори.

Результаты и обсуждение. Морфологическая диагностика 1 и 2 -ой степеней PAS особых трудностей не вызывала; это соприкосновение терминальных ворсин с пограничным слоем фибриноида, либо проникновение ворсин в первую треть миометрия, а также протяженный рубец в толще относительно сохранных миометриальных пучков и серозной оболочки. 3А степень отличалась тем, что ворсины, окаймленные фибриноидом, проникали в глубь, почти до серозной оболочки. Рубцовая ткань распространялась по межмышечным прослойкам и концентрировалась вокруг синусоидальной сети и миометриальных сосудов. Степень 3Д характеризовалась тем, что миометрий оставался в виде единичных, миоцитов в составе

серозной оболочки. Наибольшие разногласия среди акушеров и патологов вызывали степени 3Д и 3Е. В последние годы все чаще при УЗИ и макроскопически, во время операции регистрируют т.н. «грыжу» нижнего сегмента, то есть выбухание истонченной части стенки матки площадью до 18х 20 см. В классификации PAS и в обзоре группы патологов (Necht J.L. et al. 2020) они обозначаются как расхождение рубцов на матке. В статье, опубликованной в «Архиве патологии» (2023; 85(2): 13-20), мы обосновали выделение истонченного нижнего сегмента как отдельного варианта PAS, считая его следствием нарастающего механического фактора давления околоплодных вод и головки плода на плаценту, в результате ворсины проникают до серозной оболочки. В этом убеждают следующие морфологические факты;

1. Кроме характерного внешнего вида, микроскопически в составе истонченного сегмента определяются прилегающие, сближенные ворсины, окруженные слоем фибриноида, чаще типа pl. increta в виде сглаженных бухт, а также единичные, растянутые миоциты, узкая полоска рубцовой ткани и серозная оболочка, выстланная мезотелием.
2. Изменившаяся гистоархитектоника ворсин плаценты в связи с давлением на ее хориальную пластину: вместо нормального дихотомического ветвления от хориальной до базальной оболочек преобладает их параллельное расположение слою фибриноида с выявлением в этой зоне опорных и промежуточных ворсин.
3. При УЗИ в плацентах часто видны расширенные синусоиды, заполненные материнской кровью; они свидетельствуют о затрудненном оттоке крови из межворсинчатого пространства через венозные коллекторы истонченного сегмента стенки матки.
4. Выделение тонкого сегмента как степени PAS позволит более четко разграничить его с pl. retacreta, для которой главным признаком остается проникновение ворсин за пределы серозной оболочки матки, но с обязательным морфологическим обнаружением ворсин в прилежащих органах малого таза.

Заключение. Предлагаемая акушерским сообществом классификация спектра атипичной плацентации (PAS) нуждается в патоморфологической детализации и уточнении некоторых особенностей. Если диагностика pl. accreta, increta возможна при использовании глубины проникновения ворсин в стенку матки с последующим иссечением маточноплацентарной зоны (миопластика), то неблагоприятное течение раневого процесса (субституция) и действие механического фактора вызывает резкое истончение нижнего сегмента матки после КС. У таких женщин требуется особая двухэтапная хирургическая тактика: первый этап – донный разрез и благополучное извлечение ребенка, второй - продолжение разреза в нижний сегмент и удаление «грыжи» вместе с плацентой при специальной системе профилактики объема кровопотери.

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГКИХ МЫШЕЙ С ОСТРЫМ РЕСПИРАТОРНЫМ
ДИСТРЕСС-СИНДРОМОМ ПРИ ТЕРАПИИ ПОЛЯРИЗОВАННЫМИ ПО M2
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОМУ ТИПУ МАКРОФАГАМИ**

Мирошниченко Е.А.¹, Вишнякова П.А.², Цветков И.С.¹, Джалилова Д.Ш.¹, Косырева А.М.¹

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
katerinamir10011@gmail.com*

²*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и
перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва*

**MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF
MICE LUNGS WITH ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME AFTER
THERAPY WITH M2 POLARIZED ANTI-INFLAMMATORY MACROPHAGES**

Miroshnichenko E.A.¹, Vishnyakova P.A.², Tsvetkov I.S.¹, Dzhililova D.Sh.¹, Kosyreva A.M.¹

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

²*National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Named after
Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow*

Введение. Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – одна из основных причин высокой смертности в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Цитокиновый шторм, возникающий в ответ на патогены, приводит к активной миграции M1-макрофагов в легкие с неконтролируемым массовым высвобождением провоспалительных цитокинов. Лечение таких состояний остается симптоматическим, и ведется поиск эффективных подходов к терапии ОРДС, одним из которых может быть клеточная терапия с использованием аллогенных M2-макрофагов. Целью работы было исследование морфологических и молекулярно-биологических изменений в легких мышей с ОРДС при терапии поляризованными по M2 противовоспалительному типу макрофагами.

Материалы и методы. ОРДС моделировали у половозрелых самцов мышей C57Bl/6 (n=15) путем интратрахеального (и/т) введения 125 мкл ЛПС *E.coli* O111:B4 (Sigma, США) в дозе 15 мг/кг. Макрофаги линии RAW 264.7 поляризовали в M2 фенотип инкубированием клеток с IL-4 в течение 24 ч. Сразу после моделирования ОРДС мышам группы терапии (n = 5) внутривенно (в/в) вводили 5×10^6 M2-поляризованных макрофагов RAW264.7 в объеме

300 мкл. Животным группы сравнения ($n = 5$) вводили 5×10^6 неполяризованных клеток RAW264.7 в том же объеме. Группе мышей с ОРДС без терапии ($n = 5$) в/в вводили 300 мкл NaCl 0,9%. Животным контрольной группы ($n = 5$) вводили NaCl 0,9% и/т и в/в. Выведение животных проводили через 24 ч передозировкой диэтилового эфира. Методом ПЦР-РТ в легких оценивали уровень экспрессии мРНК про- (*Nos2*, *Tnfa* и *Cd38*) и противовоспалительных (*Arg1*, *Tgfb*) цитокинов, маркеров М1- и М2-макрофагов соответственно, а также экспрессии мРНК фактора роста эндотелия сосудов – *Vegf*. Методом вестерн-блот в легких определяли содержание Arg1, CD206 и TGF β с первичными (Arginase: sc-18351, Santa-Cruz; GAPDH: Cat.#5G4, Hytest; CD206: ab64693, Abcam; TGF β : ab66043 Abcam) и вторичными (Bio-Rad) антителами. В крови методом ИФА оценивали концентрацию ЛПС и IL-1 β с использованием коммерческих наборов (Cloud-Clone, США). Определяли число нейтрофилов в межальвеолярных перегородках легких на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Данные обрабатывали в программе «Statistica» с использованием критериев Краскела-Уоллиса и Данна.

Результаты и обсуждение. В легких мышей с ОРДС, которым вводили как поляризованные, так и неполяризованные RAW264.7, наблюдалась воспалительная реакция, которая характеризовалась бронхитом и интерстициальной пневмонией, увеличением числа нейтрофилов в межальвеолярных перегородках. В отличие от мышей без лечения, внутривенное введение RAW264.7 в обоих случаях приводило к появлению муфтообразных скоплений лимфоцитов вокруг легочных вен. Во всех группах с ОРДС наблюдалось увеличение числа нейтрофилов в межальвеолярных перегородках, однако, наиболее высокое их число было выявлено в группе ОРДС с терапией неполяризованными макрофагами. При терапии поляризованными макрофагами по М2 фенотипу наблюдалось снижение концентрации IL-1 β в сыворотке крови. В легких мышей с терапией как поляризованными, так и неполяризованными макрофагами было обнаружено повышение уровня экспрессии мРНК маркеров М2-макрофагов – *Arg1*, *Tgfb* и фактора роста эндотелия сосудов *Vegf*. Более выраженные изменения наблюдались в группе мышей, которым вводили поляризованные макрофаги. При этом, в группе мышей с ОРДС, которым вводили неполяризованные макрофаги, снижалось содержание белка Arg1 в легких. Тогда как экспрессия маркера поляризации макрофагов по М1 типу - CD38, снижалась в обеих группах терапии ОРДС. Экспрессия провоспалительных цитокинов TNF α и iNOS не изменялась во всех экспериментальных группах.

Заключение. Таким образом, терапия химически поляризованными макрофагами RAW264.7 по М2 фенотипу приводит к миграции иммунокомпетентных клеток в легкие, о

чем свидетельствуют муфтообразные скопления клеток иммунного ряда в периваскулярных пространствах легочных вен. Увеличение уровня экспрессии маркеров M2 макрофагов - *Arg1* и *Tgfb β* , а также снижение концентрации провоспалительного цитокина IL-1 β в сыворотке крови свидетельствует об активации противовоспалительных реакций в ответ на экспериментальную терапию ОРДС M2 поляризованными макрофагами.

СВЯЗЬ ОПУХОЛЕВОГО ПОЧКОВАНИЯ И ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА (НА ПРИМЕРЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ)

Мнихович М.В.¹, Лозина М.В.², Ширипенко И.А.^{1,2}, Безуглова Т.В.¹, Сидорова О.А.², Тарасова П.А.³, Солдатова А.А.², Малыгин Б.В.², Кузнецов В.А.², Снегур С.В.⁴, Павлова Ю.Г.⁴

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, mnichmaxim@yandex.ru

²ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

³ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва

⁴ГБУ РО Рязанская областная клиническая больница, Рязань

CONNECTION OF TUMOR BUDDING AND EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSFORMATION (BY THE EXAMPLE OF BREAST CANCER)

Mnikhovich M.V.¹, Lozina M.V.², Shiripenko I.A.^{1,2}, Bezuglova T.V.¹, Sidorova O.A.², Tarasova P.A.³, Soldatova A.A.², Malygin B.V.², Kuznetsov V.A.², Snegur S.V.⁴, Pavlova Y.G.⁴

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow

²Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow

³RUDN University, Moscow

⁴Regional clinical hospital, Ryazan

Введение. Почкование опухоли – характерный для значительного числа видов рака общепатологический процесс, который морфологически выражается в присутствии скопления единичных клеток (обычно до 4-5 клеток) или целого участка неопластического эпителия в инвазивном крае эпителиальной опухоли. При этом опухолевые почки могут присутствовать как по периферии (периопухоловое почкование), так и в центре (внутриопухоловое почкование) опухоли. Оба варианта морфологически идентифицируются как проявление эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), при

котором клетки проявляют миграционные и инвазивные свойства. В раке молочной железы опухолевое почкование наблюдается в зоне инвазивного роста и показывает признаки, характерные для ЭМП. Так, в опухолевых почках отмечается потеря адгезии молекул E-кадгерина и экспрессия маркеров активированного сигнального пути Wnt. Считается, что опухолевые почки представляют собой атипичные клетки, начавшие процесс опухолевой инвазии благодаря увеличению собственной клеточной подвижности как первостепенного начала метастазирования (Grigore et al., 2016). В настоящее время известно 2 сценария поведения опухолевых почек. Согласно первому, клетки в опухолевой почке остаются связанными, в том числе во время метастазирования, до самого образования метастаза (Mu et al., 2015). Согласно второму, клетки в опухолевой почке теряют межклеточные связи в процессе акантолиза. Благодаря этому возможен процесс дополнительного отрыва опухолевых клеток от почек и образование метастазов, вторичных уже по отношению к первичной почке (Wang et al., 2016).

Материалы и методы. Использовался биопсийный, а также хирургический материал от 43 пациенток с верифицированным инвазивным раком молочной железы неспецифического типа. Образцы для световой микроскопии окрашивались гематоксилином и эозином. Проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к E-кадгерину, β -катенину и маркеру неспецифического рака молочной железы GATA3.

Результаты и обсуждение. Оценка опухолевого почкования на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, показала изменения, характерные для эпителиально-мезенхимального перехода, что выражалось в повышенном содержании веретенообразных, полиморфных и многоотростчатых клеток в опухолевых почках по сравнению с наличием таких клеток в основной опухоли.

Иммуногистохимическое исследование показало сниженную экспрессию E-кадгерина и повышенную экспрессию β -катенина в опухолевых почках. Снижение иммуноэкспрессии GATA3 в опухолевом почковании также указывает на утрату эпителиальной специфичности клетками рака молочной железы в инвазивном крае (зоне ЭМП).

Заключение. Опухолевое почкование является прогностически значимым признаком при определении злокачественного потенциала опухоли и позволяет более точно оценивать метастатическую способность рака молочной железы неспецифического типа. Понимание процесса почкования опухоли и его связи с эпителиально-мезенхимальным переходом позволяет прогнозировать течение болезни, что необходимо для адекватного лечения пациенток с данной патологией.

ИЗГОТОВЛЕНИЕ СОСУДИСТЫХ КОРРОЗИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ: ИННОВАЦИИ И ПРАКТИЧЕСКИЙ ОПЫТ

*Мнихович М.В.¹, Солдатова А.А.², Ширипенко И.А.^{1,2}, Лозина М.В.², Малыгин Б.В.²,
Кузнецов В.А.², Сидорова О.А.², Тарасова П.А.³*

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
mnichmaxim@yandex.ru*

*²ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова,
Москва*

³ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва

MANUFACTURING OF VASCULAR CORROSION PREPARATIONS: INNOVATIONS AND PRACTICAL EXPERIENCE

*Mnikhovich M.V.¹, Soldatova A.A.², Shiripenko I.A.^{1,2}, Lozina M.V.², Malygin B.V.²,
Kuznetsov V.A.², Sidorova O.A.², Tarasova P.A.³*

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

²Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow

³RUDN University, Moscow

Введение. Коррозионное литье (КЛ) представляет собой процесс приготовления макропрепаратов, имеющих вид анатомически и топографически верных слепков органов и полых структур. Наиболее распространено применение КЛ в области ангиологии, так как коррозионный препарат, при правильной технике изготовления, способен обеспечить полноценную визуализацию сосудистой сети вплоть до мельчайших порядков ветвления. Интерес к таким препаратам поддерживается еще и потому, что слепок сосудистого русла, повторяя интактное строение сосудистой сети, позволяет увидеть не только характеристики, свойственные нормальной анатомии органа, но и аномальные или патологические особенности.

С точки зрения хранения готовых препаратов, важным аспектом является прочность и долговечность готового экспоната. Классические методы хранения коррозионных препаратов, как правило, останавливаются на открытом экспонировании в воде или консервирующем растворе. Однако при таком способе хранения высок риск механической деструкции сосудистого слепка, что особенно значимо для мельчайших ветвей сосуда.

Материалы и методы. На базе морфологического музея НИИ морфологии человека им.акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» нами был апробирован метод изготовления коррозионных препаратов, заключающийся в использовании

современных полимерных материалов. Нами было изготовлено 32 коррозионных препарата, представляющих собой слепки сосудистого русла нативных органов, а именно: 20 образцов почек, 9 образцов легких, 3 образцов сердца. Производилась предварительная окраска полимерного материала при помощи специальных красителей заданных цветов. Затем препараты, согласно собственной методике, заключались в специальную эпоксидную смолу для толстослойной заливки. После чего препараты были готовы к экспонированию.

Результаты и обсуждения. Полученные препараты являлись точным слепком сосудистого русла исследуемых органов, что дало возможность оценить точные топографо-анатомические характеристики изучаемой сосудистой сети. Применение красителей разного цвета дало возможность бихромной заливки и обеспечило дифференциальную визуализацию венозного и артериального русла. Дальнейшее заключение в специальную эпоксидную смолу, представляющую собой прозрачную среду, обеспечило простоту транспортировки и долговечность препарата, при этом визуальные свойства не были изменены.

Заключение. Таким образом, применение современных полимерных и красящих материалов позволило во многом решить проблемы классического коррозионного литья. Достигнутые прочность, долговечность и превосходные визуальные качества слепка изучаемого объекта возносят коррозионное литье на новый современный уровень. Слепки, полученные таким образом, представляют ценность не только при создании наглядных учебных пособий и музейных экспонатов, но и обладают ценностью для научных исследований.

СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРИНЕВРАЛЬНОЙ ИНВАЗИИ В ИНДУЦИРОВАННОЙ ОПУХОЛИ У КРЫС

*Мнихович М.В.¹, **Малыгин Б.В.**², Ширипенко И.А.^{1,2}, Безуглова Т.В.¹, Сидорова О.А.²,*

Лозина М. В.², Кузнецов В.А.², Тарасова П.А.³, Солдатова А.А.²

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
mnichmaxim@yandex.ru*

*²ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова,
Москва*

³ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва

METHOD OF MODELING PERINEURAL INVASION IN RATS' INDUCED TUMOR

*Mnikhovich M.V.¹, **Malygin B.V.²**, Shiripenko I.A.^{1,2}, Bezuglova T.V.¹, Sidorova O.A.²,*

Lozina M.V.², Kuznetsov V.A.², Tarasova P.A.³, Soldatova A.A.²

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution

"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow

²Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow

³RUDN University, Moscow

Введение. Периневральная инвазия (ПНИ) — это инвазия клеток злокачественной опухоли вдоль нерва через его оболочки и волокна. Периневральную инвазию следует диагностировать в том случае, если в окружении нерва более 33% области занято опухолевыми клетками (Liebig, 2009). В настоящее время ПНИ является довольно частым осложнением при различных видах злокачественных новообразований, например, в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы, холангиокарциноме, раках головы и шеи, колоректальном раке, раке простаты, раке желудка, раке шейки матки. Обнаружение данного явления говорит о неблагоприятной прогностической картине, характеризующейся снижением продолжительности жизни пациента и возникновением дополнительных клинических признаков в виде невралгий и парезов, параличей.

На данный момент основным источником для практических исследований феномена ПНИ является хирургический материал, получаемый в ходе оперативных вмешательств, забора образцов ткани для биопсийного исследования, а также аутопсийного материала от пациентов с опухолями, склонными к частному возникновению ПНИ. Такой подход не способствует развитию данной области исследований.

Материал и методы. В течение 7 недель 1 раз в неделю 14 крыс-самцов линии Wistar получали инфльтрационные инъекции в область проекции большеберцового нерва. В качестве индуцирующего вещества в составе раствора инъекции использовался канцероген антраценового ряда. С момента последней инъекции ожидали 6 недель, до момента формирования крупных опухолевых узлов. По истечении этого периода крысы выводились из опыта согласно приказу Минвуза от 13.11.1984 г. №724 «Правила проведения работы с использованием экспериментальных животных» и приказу № 755 от 12.08.1977 г. Минздрава СССР «О гуманном обращении с экспериментальными животными». Далее из топографической области, в которой обнаруживается опухолевидное образование, извлекался макропрепарат. При извлечении сохранялись гистотопография и анатомическое строение прилежащих к опухоли структур. Полученный материал проходил фиксацию в 10% растворе забуференного формалина и заливался парафином. Затем срезы окрашивались гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение. Были получены материалы индуцированной опухоли (саркомы) крыс с присутствующим феноменом периневральной инвазии, которые в дальнейшем могут быть изучены с помощью специальных методов исследования с целью подробного анализа различных аспектов искомого явления.

Заключение. Полученные результаты подтверждают состоятельность и эффективность избранного метода индукции ПНИ. Потенциально данное исследование увеличит количество материала, пригодного для расширения работ в направлении изучения периневральной инвазии, что будет способствовать как более детальному анализу гистологических, цитологических, молекулярных аспектов, так и упрощению разработки терапии состояния.

РАК ПЕДЖЕТА СОСКА: НОВЫЙ ПОДХОД К МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Мнихович М.В.¹, Сидорова О.А.², Романов А.В.¹, Безуглова Т.В.¹, Ширипенко И.А.^{1,2}, Лозина М. В.², Тарасова П.А.³, Солдатова А.А.², Малыгин Б.В.², Кузнецов В.А.²

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
mnichmaxim@yandex.ru*

²*ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова,
Москва*

³*ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва*

PAGET NIPPLE CANCER: A NEW APPROACH TO MORPHOLOGICAL DIAGNOSI

*Mnikhovich M.V.¹, Sidorova O.A.², Romanov A.V.¹, Bezuglova T.V.¹, Shiripenko I.A.^{1,2},
Lozina M.V.², Tarasova P.A.³ Soldatova A.A.², Malygin B.V.², Kuznetsov V.A.²*

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

²*Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow*

³*RUDN University, Moscow*

Введение. Среди всех заболеваний молочной железы особое место занимает рак Педжета - эпидермально-тропная протоковая опухоль, затрагивающая также кожу соска. Данная патология поражает, как правило, пациенток в постменопаузе и составляет 4% от всех злокачественных новообразований молочной железы согласно статистике ВОЗ. Клиническая картина характеризуется, прежде всего, типичным поражением центральной части соска с дальнейшим вовлечением по мере прогрессирования ареолы и окружающей

кожной ткани. Основным методом диагностики рака Педжета, как и в случае прочих онкологических заболеваний, является патологоанатомическое исследование.

Гистопатологическая картина рака Педжета имеет собственные характерные черты. В случае морфологической диагностики определяющими становятся эпидермальные клетки Педжета – злокачественные железистые эпителиальные клетки с обильной и прозрачной цитоплазмой и плеоморфным гиперхроматическим ядром, представленные в базальном слое. Клетки могут располагаться по отдельности или формировать гнездные скопления. Кроме того, описано несколько случаев экстрамаммарной локализации рака Педжета.

Несмотря на специфику патоморфологических изменений, гистологическая картина рака Педжета имеет общие визуальные признаки с рядом схожих заболеваний молочной железы (таких, как меланома, болезнь Боумена) и клетками Токера. Наличие в ткани общих морфологических черт зачастую приводит к неправильной диагностике, затруднению в постановке диагноза и, как следствие, снижению эффективности терапии.

Материалы и методы. Нами были отобраны образцы биопсийного и хирургического материала от пациенток с верифицированным диагнозом рака Педжета молочной железы (РПМЖ). В исследовании рассматривалось 63 образца, полученных от пациенток 47-65 лет. Использовалась рутинная окраска гематоксилином и эозином, а также иммуногистохимическое исследование (панель антител: CD138, P53, CK8, Ck7, HER2/Neu, EMA/MUC1, HMB45, Melan A, S100, P-63, P-40) с последующим применением метода световой микроскопии. Кроме того, в исследовании применялся метод электронной микроскопии.

Результаты и обсуждение. Согласно полученным результатам, в случае 57 пациенток диагноз РПМЖ был поставлен верно, в то время как в 3 случаях подтвердился диагноз «Болезнь Боумэна», в 2 случаях диагностировалась меланома, а еще в одном случае – атипичные клетки Токера. На основании анализа и проведенного исследования нами были сформулированы основные принципы дифференциальной диагностики представленных в выборке заболеваний при проведении морфологической диагностики, также для каждой патологии описан иммуногистохимический профиль.

Специфическая морфология клеток Педжета обусловлена обилием везикулярных клеточных компонентов. плеоморфизмом клеток, четко визуализирующимся хроматином. Клетки не имеют излюбленной локализации и обнаруживаются во всех слоях эпидермиса, однако никогда не прорастают в дерму (за интрадермальную инвазию, вероятно, принимается подлежащий рак). Хорошо выявляются PAS-позитивные внутриклеточные гранулы. Высокая экспрессия маркеров HER-2/Neu, высок пролиферативный индекс Ki-67 и, в то же время, отсутствует экспрессия плоскоклеточных и меланоцитарных маркеров.

Экспрессия ER- и PR- рецепторов, молекул синдекана 1 типа (*CD138*), а также протеины семейства *P53* и *S100* варьибельна.

Клетки Токера расположены, главным образом, в базальном слое, плеоморфизм отсутствует. Ядра в этих клетках крупные и округлые. Клетки Токера позитивны к *CD138*, негативны к *HER-2* и имеют пониженный (по сравнению с клетками Педжета) индекс пролиферации *Ki-67*. Расположение под ними структур рака молочной железы не характерно. Меланома характеризуется наличием атипичных меланоцитов, расположенных поодиночке или гнездно. Плеоморфизм высок, позитивна экспрессия меланоцитарных маркеров (*SOX-10*, *S100*, *HMB-45*), выражена экспрессия *S100*, в то время, как экспрессия *HER-2/Neu* – отрицательна. В случае болезни Боуэна характерна выраженная плоскоклеточная дифференцировка. Данная патология дает отрицательную реакцию на антитела к муцину (*PAS*, *ALcian Blue*) и выраженную положительную реакцию при использовании плоскоклеточных маркеров (*p63*, *p40*). Экспрессии *HER-2/Neu* также отрицательна.

Заключение. В ходе нашего исследования были сформулированы основные закономерности распределения иммуногистохимических профилей и морфологической картины для более успешной диагностики онкологических заболеваний молочной железы. Представленный материал может быть использован в патологоанатомической практике, а также для оптимизации и улучшения имеющихся в данное время диагностических алгоритмов.

ИММУННОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДТИПОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Мнихович М.В.¹, Ерофеева Л.М.¹, Безуглова Т.В.¹, Ширипенко И.А.^{1,2}, Тарасова П.А.³,

Пирогова Е.А.³, Сидорова О.А.², Лозина М. В.², Кузнецов В.А.², Малыгин Б.В.²,

Солдатова А.А.²

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,

mnichmaxim@yandex.ru

²ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет

имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

³ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

IMMUNE MICROENVIRONMENT OF VARIOUS MOLECULAR BIOLOGICAL SUBTYPES OF BREAST CANCER

*Mnikhovich M.V.¹, Erofeeva L.M.¹, Bezuglova T.V.¹, Shiripenko I.A.^{1,2}, Tarasova P.A.³,
Pirogova E.A.³, Sidorova O.A.², Lozina M. V.², Kuznetsov V.A.², Malygin B.V.², Soldatova A.A.²*

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

²Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow

³RUDN University, Moscow

Введение. Классификация, необходимая для выделения подтипов рака молочной железы (PMЖ), в качестве основного классифицирующего критерия берет рецепторный фенотип опухоли. Таким образом, оценка молекулярных подтипов PMЖ учитывает наличие рецептора эстрогена (estrogen receptor - ER), рецептора прогестерона (progesterone receptor - PR) и рецептора эпидермального фактора роста человека 2 (human epidermal receptor-2 - HER2). Соответственно, выявление экспрессии тех или иных рецепторов в образце исследуемой ткани позволяет разделить PMЖ на типы: люминальный А и Б, HER2-позитивный, а также тройной негативный рак молочной железы (ТНPMЖ). Прогноз и тактика лечения в отношении того или иного случая PMЖ во многом зависит от молекулярного фенотипа опухоли, однако особенности опухолевого микроокружения также могут быть учтены при прогнозировании. Так, например, иммунное микроокружение включает обильные лимфоидные инфильтраты, в зависимости от состава которых прогноз конкретной пациентки может как улучшаться, так и ухудшаться.

Материалы и методы. Проведенный анализ научной литературы опирается на такие базы данных, как PubMed, Web of Science, Scopus, Elibrary. Материалом исследования послужил операционный и биопсийный материал, полученный в период обследования и лечения от 35 пациенток с верифицированным диагнозом рак молочной железы. Используются стандартные гистологические методики, иммуногистохимическое (ИГХ) исследование (для оценки фенотипа по характеру экспрессии ER, PR, HER2 и для оценки пролиферативной активности по Ki-67). Отдельно ИГХ применялась в отношении экспрессии таких маркеров иммунного микроокружения, как CD20, CD4, CD8, CD68, CD138. Производился подсчет плотности клеток на площади среза в 1 мм², а также оценивалось количество и удельный вес (%) клеточных популяций.

Результаты и обсуждение. По сочетанию ER, PR и Her2 большинство (50%) рассмотренных случаев относились к люминальному В подтипу, 42% - к люминальному А и 8% - к ТНPMЖ. Нами был проведен сравнительный анализ степени выраженности лимфоидной инфильтрации различных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы при различной пролиферативной активности опухолевых клеток по экспрессии Ki-67. В случаях люминального А подтипа с пролиферативной активностью

опухолевых клеток менее 10% наблюдалась диффузная лейкоцитарная инфильтрация опухолевой ткани слабой степени выраженности. В опухолях люминального В подтипа с уровнем экспрессии Ki-67 17-25% отмечали также диффузную, но более выраженную лимфоидную инфильтрацию. В случаях с высокой пролиферативной активностью (Ki-67 30-40%) наблюдали выраженную лимфоидную инфильтрацию с образованием лимфоидных узелков и плотных лимфоидных скоплений вокруг млечных протоков, а также плотные интратуморальные лимфоидные инфильтраты, которые окружали опухолевые клетки в виде валиков. Лимфоцитарная инфильтрация в образцах с ТНРМЖ достигала наибольшего уровня, что отражалось в сравнительно более высоком индексе пролиферации Ki-67 (33-35%). В этом случае в междольковых соединительнотканых прослойках отмечали выраженный фиброз и выявляли лимфоидные инфильтраты как диффузные, так и в виде первичных и вторичных лимфоидных узелков. Строма железы была диффузно инфильтрирована крупными округлыми опухолевыми клетками, лимфоцитами и плазматическими клетками. По данным морфометрии, лимфоидные скопления и первичные лимфоидные узелки имели практически идентичный клеточный состав (>60% лимфоцитов), однако макрофаги и плазмоциты также присутствовали в большом количестве. ИГХ исследование показало, что макрофаги (CD68+) и плазмоциты (CD138+) располагались и в лимфоидных скоплениях (узелках), и в интерстициальных инфильтратах, где отмечалась их концентрация в непосредственной близости с опухолевыми клетками. Инфильтрирующие опухоль лимфоциты (tumor infiltrating lymphocytes - TIL) являются одним из главных компонентов лимфоидного инфильтрата и имеют прямую связь с прогнозом заболевания. Установлено, что злокачественные опухоли с высоким уровнем TIL быстро прогрессируют и имеют высокий уровень некроза опухоли. Плазматические клетки также являются основными представителями иммунного микроокружения. Исследования показывают, что большая плотность популяции плазматических клеток коррелирует с положительным прогнозом и ответом на химиотерапию при раке молочной железы. Например, плотность плазматических клеток при ТНРМЖ оказывает значительное влияние на безрецидивную выживаемость (Theresa Ferrao et al., 2018). Опухоль-ассоциированные макрофаги (tumor associated macrophages – TAM), которые входят в состав иммунного микроокружения, являются отрицательным прогностическим маркером. Показано, TAM фенотипа M2 повышают метастатический потенциал (Tabassum Munir et al., 2021).

Заключение. Образование узелков и узелок-подобных структур, связанное с значительной интенсивностью инфильтрации иммунокомпетентными клетками, наиболее характерно для подтипов рака молочной железы с высоким индексом пролиферации Ki-67 (25-40%). Дальнейшая оценка иммунного микроокружения позволит точнее оценить особенности

течения заболевания, вовремя скорректировать терапевтическую тактику и внесет ясность в уточнение фенотипических деталей подтипов рака молочной железы.

НОВЫЕ МЕТОДИКИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ И НОРМАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИИ

Мнихович М.В.¹, Лозина М.В.², Ширипенко И.А.^{1,2}, Безуглова Т.В.¹, Пастухова Д.А.^{1,3}, Сидорова О.А.², Солдатова А.А.², Малыгин Б.В.², Кузнецов В.А.²

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, m nichmaxim@yandex.ru

²ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

³ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ Эндокринологии», Москва

NEW METHODS FOR MANUFACTURING ANATOMICAL PREPARATIONS IN PATHOLOGICAL AND NORMAL MORPHOLOGY

Mnikhovich M.V.¹, Lozina M.V.², Shiripenko I.A.^{1,2}, Bezuglova T.V.¹, Pastuhova D.A.^{1,3}, Sidorova O.A.², Soldatova A.A.², Malygin B.V.², Kuznetsov V.A.²

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow

²Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow

³National Medical Research Center for Endocrinology Moscow

Введение. Среди множества способов изготовления анатомических препаратов центральную роль важнейшую роль играет изготовление влажных анатомических препаратов (Ярославцев, 1961). Принимая во внимание многовековой опыт создания таких музейных анатомических препаратов, можно достаточно точно сформулировать основные недостатки классических методик. Среди них особо следует отметить токсичность большинства консервирующих растворов, а также необходимость их периодической замены. Регулярная замена компонентов консервирующей среды, в свою очередь, требует частого проведения ревизии материалов коллекции и поддержания их в надлежащем виде. При этом сами консерванты зачастую являются летучими и высокотоксичными, что создает определенные риски при эксплуатации и экспонировании. К тому же при несоблюдении концентрации и процентных соотношений компонентов раствора возможны различные повреждения анатомических препаратов, начиная от обратимых изменений и заканчивая

полной утратой первоначального вида музейного материала, что потенциально может привести к обеднению коллекций национальных анатомических музеев. С другой стороны, на современном этапе продукты химической промышленности более разнообразны, что позволяет использовать материалы, которые не были доступны анатомам прошлого. С помощью таких нетоксичных материалов возможны разработки новых методов сохранения анатомических препаратов, которые не будут требовать такого ухода и затрат после изготовления, как классические методы.

Материалы и методы. На базе морфологического музея НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» был разработан и апробирован метод приготовления анатомических препаратов с последующим заключением в специальную эпоксидную смолу для толстослойной заливки. Материал, предварительно химически обработанный согласно собственному методу, заключался в эпоксидную смолу при помощи заливки приготовленной эпоксидной смолы в специальные силиконовые формы соответствующих размеров. После полного затвердевания смолы препараты были готовы к экспонированию.

Результаты и обсуждение. При выборе материала, в котором будет сохраняться анатомический препарат, учитывались потенциальное токсическое воздействие сохраняющей среды, ее оптические свойства, которые не должны влиять на визуализацию и, как следствие, на экспонирование, а также физические характеристики, которые важны в самом процессе приготовления. Результатом можно считать многочисленные готовые музейные анатомические препараты, представленные образцами нормальных и патологически измененных анатомических структур, а именно более 100 препаратов (различные полые и паренхиматозные органы; костно-суставной материал; плодный материал; «пироговские» распилы разных топографических областей; коррозионные препараты; органокомплексы животных; отдельные анатомические образования, в том числе патологические; редкие образцы онкологической и общей патологии). Стоит отметить, что такие препараты просты и экономичны в изготовлении, а также крайне прочны и долговечны, что позволяет транспортировать и хранить их без специальных условий. Кроме того, заключенные в эпоксидную смолу анатомические препараты не обладают токсичностью в готовом виде.

Заключение. Предложенный способ создания музейных анатомических препаратов может быть использован в качестве экспонируемых материалов в соответствующих тематических музеях, а также в целях обучения на кафедрах нормальной, топографической и патологической анатомии.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В ИНВАЗИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА

Мнихович М.В.¹, Безуглова Т.В.¹, **Тарасова П.А.**², Ширипенко И.А.^{1,3}, Ерофеева Л.М.¹,
Сидорова О.А.³, Лозина М.В.³, Кузнецов В.А.³, Малыгин Б.В.³, Солдатова А.А.³

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
mnichmaxim@yandex.ru

²ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва

³ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова,
Москва

HETEROGENEITY OF TUMOR-ASSOCIATED FIBROBLASTS IN INVASIVE BREAST CANCER OF NON-SPECIFIC TYPE

Mnikhovich M.V.¹, Bezuglova T.V.¹, **Tarasova P.A.**², Shiripenko I.A.^{1,3}, Erofeeva L.M.¹, Sidorova
O.A.³, Lozina M.V.³, Kuznetsov V.A.³, Malygin B.V.³, Soldatova A.A.³

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow

²RUDN University, Moscow

³Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow

Введение. Опухоль-ассоциированные фибробласты (cancer associated fibroblasts – CAF), являются наиболее распространенными клетками опухолевой стромы. Морфологически эти клетки имеют вытянутую форму с зубчатым ядром. Основная функция CAF – ремоделирование внеклеточного матрикса посредством его деградации и последующего синтеза новых компонентов. Также CAF участвуют в регуляции васкулогенеза и ангиогенеза опухоли, оказывают эпигенетическое влияние на опухолевые клетки, регулируют эпителиально-мезенхимальный переход, оказывают влияние на иммунное микроокружение опухоли. В микроокружении молочной железы описано несколько классификаций CAF. По экспрессируемым на поверхности клеток маркерам выделено 4 типа CAF (CAF-S1, CAF-S2, CAF-S3 и CAF-S4) (Costa et al. 2018). Данные подтипы CAF также разделены по выполняемым функциям, например, S1 и S4 являются миофибробластными. Предложено деление CAF рака молочной железы по клеточным источникам на 4 подтипа: vCAF (Vascular) – из периваскулярных клеток, mCAF (Matrix) – из резидентных фибробластов, cCAF (Cycling) – источник точно не установлен, и dCAF (Developmental) – из опухолевых клеток (Bartoschek et al. 2018).

Материалы и методы. Поиск литературы осуществлялся по базам данных Scopus, Web of Science, PubMed и на платформе РИНЦ — Elibrary. Материалом исследования послужил

операционный и биопсийный материал, полученный в период обследования и лечения от 35 пациенток с верифицированным диагнозом рак молочной железы. Применялись следующие морфологические методы исследования: гистологические (окрашивание срезов гематоксилином и эозином), иммуногистохимические (α -SMA, подоплагин, CD44). Иммуногистохимические исследования проводили в соответствии со стандартным протоколом. В качестве первичных антител использовали мышинные моноклональные анти-CD44 (клон MRQ-13, mouse, разведение 1:100), анти-подоплагин/grp36 антитела (клон EPR22182), Anti-SMARCD2 Abcam [EPR20860-251] в разведении 1:100.

Результаты и обсуждение. Нами выявлены 2 фенотипа CAF: связанные с α -гладкомышечным актином (α -SMA) и подоплагин, и CAF, экспрессирующие CD44. Экспрессия всех 3-х маркеров была максимально выражена в зонах инвазивного роста (в том числе, в зоне эпителиально-мезенхимального перехода), однако практически отсутствовала в паренхиме опухоли и в ее центральной части. CAF имели разную степень зрелости и по своему строению не отличались от соединительнотканых клеток неопухолевой ткани. CAF звездчатой или крестообразной формы имели более вытянутую форму с хорошо различимыми профилями гранулярной эндоплазматической сети, в узких цистернах которой отмечалось накопление тонковолокнистого хлопьевидного материала и выход его в экстрацеллюлярное пространство (синтетический фенотип и образование экстрацеллюлярного матрикса). CAF такой морфологии выраженно экспрессировали α -SMA и подоплагин и ассоциировались с десмопластической реакцией стромы. CAF, которые показали экспрессию CD44, наблюдались в зоне эпителиально-мезенхимального перехода, что предполагает взаимосвязь CAF и этого процесса.

В исследовании Paulsson et al. (2014) показано, что α -SMA ассоциировано с клеточной активностью и обратно коррелирует с общей выживаемостью у пациенток с раком молочной железы. CAF при экспрессии подоплагина также оказывают влияние на повышение злокачественности опухоли (Primeaux, Gowrikumar, and Dhawan 2022). Zöller M. (2011) показал, что маркер CD44 экспрессируется опухолевыми стволовыми клетками и ассоциирован с такими процессами, как эпителиально-мезенхимальный переход, подвижность опухолевых клеток в контексте метастазирования, устойчивость к апоптозу и к терапевтическим агентам.

Ранее в рамках отдельной классификации было предложено выделять миофибробластный фенотип CAF. Аналогично описанной классификации для рака поджелудочной железы, Sebastian et al. (2020) в строме рака молочной железы выделили CAF, которые выражено экспрессировали α -SMA и были ассоциированы с десмоплазией стромы.

Заключение. Проведена дифференциация САФ по фенотипическим свойствам и по экспрессируемым маркерам. Выявлены свойства САФ, которые преимущественно присущи опухолевым стволовым клеткам.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ ПЕРФУЗИИ ОПУХОЛИ. ВАСКУЛОГЕННАЯ МИМИКРИЯ: ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Мнихович М.В.¹, Ширипенко И.А.^{1,2}, Безуглова Т.В.¹, Сидорова О.А.², Тарасова П.А.³, Лозина М.В.², Скафи К.Х.⁴, Солдатова А.А.², Кузнецов В.А.², Малыгин Б.В.²

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, mnichmaxim@yandex.ru*

²*ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова, Москва*

³*ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия*

⁴*Медицинский центр Клалит, Иерусалим*

ALTERNATIVE WAYS OF TUMOR PERFUSION. VASCULAR MIMICRY: PHENOTYPICAL FEATURES

Mnikhovich M.V.¹, Shiripenko I.A.^{1,2}, Bezuglova T.V.¹, Sidorova O.A.², Tarasova P.A.³, Lozina M.V.², Skafi K.H.⁴, Soldatova A.A.², Kuznetsov V.A.², Malygin B.V.²

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

²*Pirogov Russian National Research Medical University, Faculty of Pediatrics, Moscow*

³*RUDN University, Moscow*

⁴*Clalit Medical Center, Jerusalem*

Введение. На современном этапе развития онкоморфологии особое внимание уделяется уточнению и детализации фенотипических особенностей тех или иных подтипов опухолей. Важным при оценке инвазивных и метастатических возможностей новообразования представляется выявление стромально-сосудистых особенностей опухолевого микроокружения. Известно, что для возникновения феномена метастазирования клеткам опухоли изначально требуется обеспечить собственное выживание в условиях агрессивной опухоль-лимитирующей среды. Выживание опухолевых клеток зависит в том числе от доступа к метаболитам, напрямую связанным с перфузией. Так, например, считается, что рост опухоли в объеме (> 2 мм³) запускает компенсирующий возросшие метаболические потребности ангиогенез (Jiang et al. 2020). Механизмы опухолевого ангиогенеза включают в себя как классические (свойственные для здорового организма), так и альтернативные

(сугубо патологические) пути реализации. Одним из таких путей считается так называемая васкулогенная мимикрия (ВМ). Под ВМ понимается индуцируемый опухолью процесс формирования васкулогенных каналов (ВК), ограниченных базальной мембраной, при котором эндотелиальные клетки отсутствуют и заменяются опухолевыми клетками (Maniotis et al. 1999). Функционально ВК обеспечивают транспорт метаболитов и энергетических субстратов. Клинически прослеживается прямая связь между агрессивностью фенотипа опухоли, частотой встречаемости феномена ВМ, удельным весом ВК в картине общей системы перфузии опухоли, а также прогнозом выживаемости (Мнихович и соавт. 2022).

Материалы и методы. Исследование проводилось на гистологическом материале молочных желез, полученных в результате секторальной резекции или мастэктомии с последующей лимфодиссекцией. Было отобрано 26 образцов от пациенток без неoadьювантной химиотерапии с унифицированным гистологическим типом рака молочной железы (инвазивная протоковая карцинома молочной железы неспецифического типа). Материал фиксировался в 10% забуференном формалине. Применялись рутинные гистологические техники, гисто- и иммуногистохимия (PAS-реакция; антитела к виментину, Е-кадгерину, CD31, CD34). Отдельно оценивались электронномикроскопические характеристики.

Результаты и обсуждения. По результатам сравнения гистохимического и иммуногистохимического фенотипов было предложено разделить васкулогенные каналы на две группы. Первая группа клеток (85%), имеющих отношение к формированию васкулогенных каналов, принадлежали к фенотипу CD34-/PAS+. Вторая группа клеток (15%), также образующая васкулогенные каналы, принадлежала к CD34+/PAS+. Существование как минимум двух фенотипически отличных групп клеток, формирующих васкулогенные каналы, требует дальнейшей экспериментальной детализации молекулярно-генетических, морфологических и инвазивных свойств опухоли, в рамках канцерогенеза которой представлен феномен васкулогенной мимикрии.

Заключение. Существование альтернативных механизмов опухолевого ангиогенеза диктует не только особый подход к потенциальной высокоселективной антиангиогенной терапии, но и создает возможности для уточнения фенотипа опухоли и, как результат, наиболее успешного планирования терапии и формирования прогноза для пациента.

**ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОТИПА КЛЕТОК В КУЛЬТУРАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ,
ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ ЛЮМИНАЛЬНЫХ ПОДТИПОВ**

***Могиленских А.С.*^{1,2}, *Суслонова А. П.*², *Гребенюк Е.В.*^{1,2}, *Шамшурина Е.О.*², *Сазонов С.В.*^{1,2},
Демидов С.М.^{1,2}**

¹ *ГАОУ СО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург,
annasajler@yandex.ru*

² *ФГБУ ВО Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург*

**STUDYING THE PHENOTYPE OF CELLS IN BREAST CANCER CULTURES
DERIVED FROM SAMPLES OF LUMINAL SUBTYPES**

***Mogilenskikh A.S.*^{1,2}, *Susloнова A.P.*¹, *Grebenyuk E.V.*^{1,2}, *Shamshurina E.O.*¹, *Sazonov S.V.*^{1,2},
Demidov S.M.^{1,2}**

¹ *Ural State Medical University, Yekaterinburg*

² *Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg*

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) - распространенное заболевание. В 2021 году на него пришлось 66,7 % от общего количества случаев онкологических заболеваний. Для определения эффективности тех или иных препаратов против опухоли у конкретного пациента используют культуры клеток, однако клетки рака молочной железы обладают высокой гетерогенностью, что при культивировании приводит к появлению клеток с измененными характеристиками по сравнению с первоначальным образцом. Одной из характеристик опухолевых клеток является их морфология. При оценке клеточной культуры выделяют несколько групп клеток, отличающихся по размеру, форме, количеству отростков. Было показано, что при пересевах клеточной культуры на каждом пассаже происходит изменение фенотипа клеток.

Материалы и методы. В исследование были включены культуры, полученные из хирургических образцов опухолевой ткани РМЖ с определенным молекулярно-биологическим подтипом (люминальным А и В). Образец обрабатывали раствором Хэнкса с 0,1% гентамицином, измельчали с помощью хирургических ножниц. Полученную смесь растворяли в смеси ферментов (коллагеназы-гиалуронидазы) и питательной среде DMEM:F12(ДИАЭМ) 1:9, помещали на 15 часов в термостат на качающуюся платформу. Затем раствор центрифугировали, механически удаляли плавающий жир, и обрабатывали раствором трипсина (ПанЭко). После ресуспендирования смесь разбавляли HF (раствор Хэнкса с 10% фетальной бычьей сывороткой) 1:1 и центрифугировали при 1,4 RPM (5 мин). Супернатант сливали, затем обрабатывали ферментами диспазой и ДНКазой (STEMCELL, Канада), повторяли то же, что и при трипсинизации. Осадок растворяли в питательной среде Mammocult (STEMCELL, Канада) в 5мл флаконы. Через 7-10 суток после достижения

монослоя, клеточные культуры снимали с поверхности с помощью трипсина и скребка. Полученный осадок разводили в питательной среде, половину помещали в флаконы, а другую половину распределяли на предметные стекла в виде капли с питательной средой, культивировали 1-2 дня. Затем фиксировали и окрашивали раствором Май-Грюнвальда. Подсчет при увеличении оптического микроскопа $\times 200$ Meiji Techno MT4200L. В каждом случае оценивали не менее 500 клеток на случай наблюдения. Данную процедуру проводили на протяжении четырех пассажей (P1-P4).

Результаты и обсуждение. При исследовании клеточных культур, полученных из образцов люминального А подтипа (КЛА), на P1 было выделено две группы клеточных культур. В первой группе преобладали клетки округлые, преимущественно мелких размеров (83,2%) и небольшое количество средних округлых клеток (1,3%). В второй группе была высокая гетерогенность, присутствовали как округлые мелкие (14,6%), так и отростчатые (27,2%), фибробластоподобные (18,19%), веретеновидные (34,62%), гигантские клетки (5,9%). При исследовании клеточных культур, полученных из образцов люминальных В подтипов (КЛВ), подобного деления не отмечалось. Большинство клеток в культурах были мелкие и средние округлые (98,7% и 1,3%). На P2 в КЛА было отмечено, что разнообразие клеточной популяции в первой группе культур увеличилось, появились округлые средние (35,5%) и фибробластоподобные клетки (13,5%), однако гигантские клетки отсутствовали. Во второй группе культур на том же пассаже наоборот, имелась уменьшилась клеточная гетерогенность. Большинство клеток округлые мелкие (87,9%), небольшое количество веретеновидных клеток (11,3%) и гигантских (1,3%). В КЛВ на втором пассаже преобладали средние отростчатые клетки (57,2%), присутствовали веретеновидные (20,2%), фибробластоподобные (4,4%) и мелкие клетки (18,2%). При исследовании клеток в КЛА третьего пассажа присутствовала тенденция, характерная для P1 – разделение на две группы: первая – с преобладанием мелких клеток (93,8%) и вторая группа культур, состоящая преимущественно из фибробластоподобных клеток (45,5%) и средних отростчатых (30,9%). На P3 в КЛВ морфология клеток не отличалась от второго пассажа, преобладающей группой клеток были средние отростчатые (38,1%) и веретеновидные клетки (54,8%). На P4 во всех группах в образцах, полученных и от люминального А и от люминального В подтипа, отмечается присутствие всех перечисленных типов клеток, без преобладания какой-либо группы.

Заключение. Первичные клеточные культуры, полученные из образцов люминального А подтипа, демонстрируют большую гетерогенность, чем полученные из образцов люминального В подтипа. Все полученные клеточные культуры меняют морфологические характеристики клеток на протяжении четырех пассажей.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИЛАКТОГЛИКОЛИДНЫХ МАТРИКСОВ ДЛЯ
ГЕН-АКТИВИРОВАННЫХ МАТЕРИАЛОВ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ МЕТОДОМ
АНТИСОЛЬВЕНТНОЙ 3D-ПЕЧАТИ**

Мокроусова В.О.^{1,2}, Хворостина М.А.^{1,3}, Кузнецова В.С.^{1,2}, Бухарова Т.Б.¹, Недорубова И.А.¹,
Васильев А.В.^{1,2}, Миронов А.В.³, Попов В.К.³, Гольдштейн Д.В.¹, Лосев Ф.Ф.², Кулаков А.А.²

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва,
victoria-mok@yandex.ru

² ФГБУ НМИЦ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и
челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва

³ ФНИЦ «Кристаллография и фотоника РАН», Москва

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF POLYCTOGLYCOLIDE MATRIXES FOR GENE-
ACTIVATED MATERIALS MANUFACTURED BY ANTI-SOLVENT 3D PRINTING**

Mokrousova V.O.^{1,2}, Khvorostina M.A.^{1,3}, Kuznetsova V.S.^{1,2}, Bukharova T.B.¹, Nedorubova I.A.¹,
Vasilyev A.V.^{1,2}, Mironov A.V.³, Popov V.K.³, Goldstein D.V.¹, Losev F.F.², Kulakov A.A.²

¹Research Centre for Medical Genetics, Moscow; *victoria-mok@yandex.ru*

²Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery, Moscow;

³FSRC "Crystallography and Photonics", Moscow

Введение. Восполнение обширных дефектов костной ткани требует применения биорезорбируемых скаффолдов с задаваемой формой и архитектоникой, способствующих адгезии, пролиферации и дифференцировке остеогенных клеток-предшественников. Одним из способов изготовления скаффолдов является антисольвентная 3D-печать матричных структур из раствора полилактогликолида в нетоксичном растворителе тетрагликоле. Полученные таким методом материалы могут быть использованы для доставки остеоиндуктивных компонентов, в том числе генетических конструкций, несущих ген *BMP-2*. Благодаря низкой токсичности и соответствующих физиологическим значениям температурам фазовых процессов получаемые материалы способствуют сохранению биологических свойств генетических конструкций.

Материалы и методы. Для изготовления PLGA матриксов были использованы полилактогликолид марки Purasorb PDLG 7507 (Purac, Biochem BV, Нидерланды) и тетрагидрофуруриловый эфир полиэтиленгликоля (тетрагликоль, ТГ) («Sigma-Aldrich», США). 3D-печать была произведена при температуре подложки +4°C или +25°C из сопел диаметром 160 мкм или 330 мкм. Перед проведением эксперимента PLGA стерилизовали путем двукратного погружения частиц в 70% этанол на 10 мин с отмывкой в физиологическом растворе. Для оценки свойств матриксов использовали охарактеризованные культуры мультипотентных мезенхимных стромальных клеток

жировой ткани крыс (ММСК ЖТ). Цитотоксические свойства оценивали с помощью МТТ-теста, клеточную адгезию определяли путем витального окрашивания красителями РКН-26 («Sigma», США), DAPI и кальцеин АМ («Biotium», США). Анализ адгезивных свойств клеток, их морфологии и плотности на матриксах исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе Phenom ProX («Phenom», Нидерланды). Ускоряющее напряжение составило 15 кВ.

Результаты и обсуждение. Наиболее выраженными цитосовместимыми свойствами обладали матриксы, напечатанные при температуре +4°C и диаметре сопла 160 мкм. На 14 сутки число жизнеспособных клеток в данной группе составило $111,6 \pm 1,5\%$. С помощью флуоресцентной микроскопии на 14 сутки также отмечали увеличение плотности расположения живых клеток на образцах. Число мертвых клеток, окрашенных DAPI, на всех образцах сравнимо с их количеством в контрольной группе. С помощью СЭМ было выявлено, что 3D-матриксы обладают высокими адгезионными свойствами. При этом было отмечено, что матриксы, сформированные при 4°C, поддерживают адгезию клеток лучше, чем матриксы, сформированные при 25°C. Полученные результаты являются развитием исследований по формированию и изучению матричных свойства материалов, изготавливаемых методом антисольвентной 3D-печати из PLGA. Впервые получены данные, касающиеся преимущества цитосовместимых свойств матриц, напечатанных при температуре +4°C, по сравнению с матрицами, полученными при других температурных условиях.

Заключение. Исследованные матриксы из полилактогликолида обладают высокой биологической совместимостью и способствуют клеточной адгезии. Метод антисольвентной 3D-печати матричных структур из раствора полилактогликолида в нетоксичном растворителе тетрагликоле является перспективным для создания трехмерных персонализированных ген-активированных остеопластических материалов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00425).

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ МЕКСИДОЛА НА ФОНЕ 60-ТИ ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

Морозов В.Н.¹

¹ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», morozov_v@bsu.edu.ru

INFLUENCE OF MEXIDOL INTRODUCTION IN THE BACKGROUND OF 60-DAY

EXPOSURE OF SODIUM BENZOATE ON THE MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE THYROID GLAND IN RATS

Morozov V.N.

FSAEI NI “Belgorod National Research University”, morozov_v@bsu.edu.ru

Введение. В настоящее время появляется все больше данных о неблагоприятном влиянии бензоата натрия на организм. Имеются сведения о нефро- и гепатотоксическом, гонадотоксическом действии бензоата натрия, мутагенном эффекте, повышении сенсбилизации организма к аллергенам (Shahmohammadi M. et al., 2016; Piper J.D. et al., 2017). В более ранней работе было установлено, что длительное введение бензоата натрия сопровождается качественными и количественными изменениями гистологического строения и ультраструктуры щитовидной железы у крыс, в функциональном плане указывающие на ее гипофункцию (Морозов В.Н. и др., 2022). Учитывая то, что одним из механизмов неблагоприятного влияния бензоата натрия на организм является инициация оксидативного стресса клеток и перекисного окисления липидов, актуальным представляется использование в качестве корректоров препаратов с антиоксидантным действием, в частности мексидола.

Материалы и методы. В эксперименте участвовало 150 белых самцов-крыс массой 200-210 г., распределенных на 5 групп. В первой группе животные в течение 60 суток внутрижелудочно получали 0,9% изотонический раствор натрия хлорида; во 2-й и 3-й группах - в аналогичных условиях крысы подвергались воздействию бензоата натрия в дозах 500 и 1000 мг/кг массы тела (Eastman Chemical B.V., Нидерланды), а в 4-й и 5-й группах – на фоне условий 2-й и 3-й групп внутримышечно вводили мексидол из расчета 50 мг/кг (международное непатентованное название – этилметилгидроксипиридина сукцинат, ООО Медицинский центр «Эллара», РФ). Выведение животных из эксперимента осуществлялось на 3, 10, 15, 24 и 45 сутки методом декапитации под эфирным наркозом. Изготовление гистологических препаратов проводилось по стандартной методике с окрашиванием срезов гематоксилин-эозином. На аппаратном комплексе, состоящем из персонального компьютера (с установленным ПО «Nis-Elements BR 4.60.00»), микроскопа Nikon Eclipse Ni и цифровой камеры Nikon DS-Fi3 (Nikon Corporation, Japan), проводили анализ срезов, фотографирование и морфометрию. Измеряли внутренний диаметр фолликулов, высоту фолликулярного эпителия, а также площадь ядра и цитоплазмы тироцитов в центре и на периферии, а также вычисляли просвет-эпителиальный индекс (отношение внутреннего диаметра фолликула к высоте фолликулярного эпителия) и ядерно-цитоплазматическое отношение. Статистическую обработку полученных данных проводили в лицензионных компьютерных программах «MS Excel» (Microsoft, USA), а также «Statistika

10.0» (StatSoft Inc., USA). Для установления статистической значимости изменений использовали параметрический t-критерий Стьюдента (при $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. В группе, в которой на фоне 60-ти суточного воздействия бензоата натрия в дозе 500 мг/кг вводился мексидол из расчета 50 мг/кг выявлено, что высота фолликулярного эпителия была больше, чем в группе без использования корректора, с 3 по 15 сутки эксперимента на 6,62%, 4,51%, 3,27% в центре и на 3,27%, 3,87%, 4,19% на периферии щитовидной железы, площадь ядер фолликулярных клеток на 3, 15 сутки на 4,44%, 5,13% в центре и на 3 сутки на 4,31% на периферии. Просвет-эпителиальный индекс был меньше аналогичного показателя 2-й группы с 3 по 15 сутки на 7,73%, 5,95%, 3,99% и на 4,23%, 5,19%, 5,61% соответственно. Ядерно-цитоплазматическое отношение увеличивалось с 3 по 15 сутки на 5,95%, 5,04%, 6,62% в центре и на 3 сутки на 7,72% на периферии.

В группе с введением мексидола на фоне 60-ти дневного воздействия бензоата натрия в дозе 1000 мг/кг корректирующее влияние препарата проявлялось с 10 суток эксперимента. Высота фолликулярного эпителия была выше аналогичного параметра 3-й группы с 10 по 15 сутки на 4,77%, 4,82% в центре и с 10 по 24 сутки на 3,09%, 3,37%, 2,32% на периферии; просвет-эпителиальный индекс был меньше с 10 по 24 сутки на 5,46%, 7,28%, 6,37% в центре и с 10 по 15 сутки на 4,16%, 5,33% на периферии. Ядерно-цитоплазматическое отношение увеличивалось с 10 по 15 сутки на 5,46%, 4,53% в центре щитовидной железы.

Заключение. Введение мексидола из расчета 50 мг/кг сопровождается уменьшением выраженности и продолжительности изменений морфометрических параметров щитовидной железы у половозрелых крыс, вызванных 60-ти суточным воздействием бензоата натрия, по сравнению с группами без использования корректора.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ

Надеев А.П.¹, Чернова Т.Г.¹, Саломейна Н.В.¹, Кретова А.С.¹, Парахина Л.И.¹,

Парахина А.И.¹, Хромова А.Е.¹, Карпов М.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», Новосибирск,
nadeevngma@mail.ru

ETIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE PLACENTA IN INFECTIOUS LESION

Nadeev A.P.¹, Chernova T.G.¹, Salomeina N.V.¹, Kretova A.S.¹, Parakhina L.I.¹, Parakhina A.I.¹,

Khromova A.E.¹, Karpov M.A.¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk

Введение. Последу принадлежит исключительная важная роль в развитии плода, выполнении защитной (в том числе, противoinфекционной) функции по отношению к плоду, предотвращению внутриутробного инфицирования. Вместе с тем реализация внутриутробного инфицирования плода во внутриутробную инфекцию зависит от вида, биологических свойств и количества попавшего к плоду возбудителя, наличие специфических и неспецифических иммунных механизмов в организме матери, плода и последе, а также выраженностью компенсаторных и адаптивных механизмов в последе и у плода [Oh JW et al., 2020]. Среди этиологических возбудителей инфекционного поражения последа выделяют специфические (хламидии, микоплазмы, бледные трепонемы и другие) и неспецифические (разнообразные вирусы, бактериальные возбудители: факультативные анаэробы, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*; ассоциации различных анаэробов), грибы и простейшие [Милованов А.П., 1999]. Основным патологическим процессом в последе является острое и хроническое воспаление, часто сочетающееся с хронической плацентарной недостаточностью (ХПН) (до 77%). Для острого воспаления наиболее частая локализация отмечается в плодных оболочках (мембранит), что отражает восходящий путь внутриутробного инфицирования. Для хронического воспаления наиболее частой локализацией является базальный децидуит и париетальный хориодецидуит, связанное с наличием у женщин очагов латентной генитальной и экстрагенитальной инфекции. Известно, что среди причин ХПН основное место занимает инфекционная патология, на что указывает и частое сочетание ХПН с воспалением, а также преэклампсия, эндокринные и соматические (экстрагенитальные) заболевания беременных. В свою очередь ХПН способствует развитию преэклампсии и повышает проницаемость плацентарного барьера для инфекционных агентов [Надеев А.П. и др., 2022].

Материалы и методы. Проведен анализ историй болезни и 75 плацент, предоставленных роддомом ГБУЗ НСО «ГКБ №1» (Новосибирск), которые были разделены на две группы: в 1-ю группу вошли плаценты женщин с преэклампсией (n=50), 2-я группа была контрольной и включала в себя плаценты женщин без преэклампсии (n=25). Морфологическое исследование выполнено на микропрепаратах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином. Для бактериологического исследования проводили отбор мазков с неповрежденных околоплодных оболочек и среза пуповины, а также участков материнской и плодной частей плаценты. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили классическим методом и с использованием микробиологического анализатора («VactoSCREEN»). Исследовали мазки из цервикального канала беременных. Достоверность различий сравниваемых средних величин определяли на основании

критерия Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Морфологическое исследование показало, что у женщин 1-й группы инфекционно-воспалительные изменения плаценты встречаются чаще, чем в 2-й группе контроля. При этом выявляются преимущественно децидуит (44% в 1-й группе и 36% - во 2-й группе), париетальный хориодецидуит (32% - в 1-й группе и 0% - во 2-й группе; мембранит (20% - в 1-й группе и 20% - во 2-й группе).

Анализ бактериологического исследования мазков цервикального канала беременных женщин показал, что в группе плацент с преэклампсией (1-я группа) доля положительных посевов составила 48%, в то время как в 2-й группе без преэклампсии 12%. В плаценте при изучении мазков из микроорганизмов преобладающими явились грибы рода *Candida* (30% в 1-й группе и 8% - 2-й группе), грамположительные бактерии (20% - в 1-й группе и 8% - во 2-й группе) и грамотрицательные палочки (18% - в 1-й группе и 0% - во 2-й группе). При этом в 1-й группе плацент с преэклампсией ассоциация из двух и более микроорганизмов встречалась в 14% случаев, в то время как в 2-й контрольной группе отмечены лишь в 4% случаев. При бактериологическом исследовании плацент в 100% случаев при преэклампсии выявлен рост микроорганизмов, в то время как в 2-й контрольной группе микроорганизмы высеваются в 57% случаев. Во всех исследуемых группах отмечается рост бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, а также *Streptococcus agalactiae* и *Enterococcus faecalis*. Наряду с этим, в 1-й группе выделены такие микробы как *Streptococcus anginosus* и *Staphylococcus hominis*.

Заключение. 1. Морфологические изменения в плаценте при преэклампсии характеризуется большей частотой воспалительных проявлений.

2. Микробиота плацент при преэклампсии отличается большим видовым разнообразием микроорганизмов, включает бактериальную и грибковую микрофлору, и их ассоциации.

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В РАЗВИТИИ ЛОКАЛЬНОГО РЕЦИДИВА В САРКОМАХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Непомнящая Е.М.¹, Ульянова Е.П.¹, Шульгина О.Г.¹, Алиев Т.А.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» МЗ РФ,

Ростов-на-Дону, evgeniyamarkovna@mail.ru

THE SIGNIFICANCE OF ANGIOGENESIS FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF LOCAL RECURRENCE IN SOFT TISSUE SARCOMAS

¹Nepomnyashchaya E.M.¹, Ulyanova E.P.¹, Shulgina O.G.¹, Aliev T.A.¹

National Medical Research Center for Oncology, Roston-on-Don

Введение. Саркомы мягких тканей (СМТ) являются одной из трудно решаемых проблем

онкологии. Высокая частота локального рецидивирования СМТ побуждает к поиску ее причин, благодаря чему возникает интерес не только к особенностям опухолевых клеток, но и к микроокружению опухолей. Особое значение имеет неоангиогенез.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили клинические данные о 58 больных с саркомами мягких тканей. Все больные были распределены на 2 группы: 1 группа – больные с первичными СМТ - 32 человека; 2 группа – с рецидивными СМТ (26 больных). Иммуногистохимические исследования проводили на срезах с парафиновых блоков, предназначенных для стандартного морфологического исследования. Использовали антитела к CD34 (клон QBEnd/10, фирмы Cell Marque, США) и VEGF (клон VG1, фирмы Diagnostic BioSystems, США), разведение 1:200. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью программы Statistica 13.0 (StatSoft, США). Математическая модель расчета риска прогрессирования локального рецидивирования сарком мягких тканей была разработана посредством метода логистической регрессии при анализе полученных нами результатов обследования пациентов. Поиск прогностических предикторов прогрессирования онкологического процесса был осуществлен на основе логистической регрессии с помощью метода ROC-анализа (receiver operating characteristic) при оценке значений исследуемых биомаркеров у пациентов с учетом наличия или отсутствия у них рецидивов заболевания.

Результаты и обсуждение. Одним из важнейших этапов развития опухоли считается ее способность индуцировать и поддерживать ангиогенез. Изучение молекулярных механизмов ангиогенеза показало, что динамический баланс, обеспечивающий формирование и развитие новых сосудов внутри опухоли, зависит от про- и антиангиогенных факторов (Ramjiawan R. R. et al., 2017). В результате исследования факторов ангиогенеза (VEGF и CD34) нами было выявлено, что в среднем количество сосудов микроциркуляторного русла в поле зрения преобладало у пациентов группы первичных СМТ (Me=13 [7;16]). Данный показатель был в 1,9 раза значимо выше ($p=0,025$) по сравнению с группой рецидивных СМТ (Me=7 [2;18]). Различия по экспрессии VEGF в опухолевых клетках статистической значимости не имели ($p=0,301$). В результате ИГХ-исследования были получены данные, которые использовали для математической обработки с помощью метода регрессионного анализа. В результате была создана статистически значимая комплексная математическая модель для прогнозирования течения СМТ. Математическое выражение комплексной модели: $y = \exp(-3,12 + 0,25 * CD34 + 0,036 * VEGF) / (1 + \exp(-3,12 + 0,25 * CD34 + 0,036 * VEGF))$, где y – риск локального рецидивирования. Исходя из расчетов с помощью модели была дана характеристика нелинейной связи между риском локального рецидивирования сарком мягких тканей и

количеством сосудов, окрашенных маркером CD34, а также между риском локального рецидивирования сарком мягких тканей и экспрессией VEGF.

При повышении количества сосудов, окрашенных CD34, уровня 9 включительно, риск локального рецидивирования сарком мягких тканей с диагностической чувствительностью 80% и специфичностью 88,89% возрастал. Площадь по ROC-кривой составила $0,811 \pm 0,112$, что свидетельствовало о высоком качестве прогностической системы. Доверительная вероятность отклонения ROC-кривой от диагональной линии была высокой и составила $p < 0,006$ ($z = 2,766$). При повышении экспрессии VEGF уровня 7 включительно риск локального рецидивирования сарком мягких тканей с диагностической чувствительностью 70% и специфичностью 100% также возрастал. Площадь по ROC-кривой составила $0,911 \pm 0,064$, доверительная вероятность отклонения ROC-кривой от диагональной линии составляла $p < 0,0001$ ($z = 6,45$).

Заключение. Таким образом, учитывая важность маркеров CD34 и VEGF в развитии механизмов ангиогенеза опухоли, была создана статистически значимая комплексная математическая модель для прогнозирования локального рецидива СМТ. Коэффициент риска локального рецидивирования до 0,5 предполагал низкий уровень и более благоприятный исход, а выше 0,7 – возможность высокого уровня развития локального рецидива. Данную модель целесообразно использовать в практических целях.

ПОСТНАТАЛЬНЫЙ НЕЙРОГЕНЕЗ В ЦНС НИЗШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.

Обухов Д.К.¹, Пущина Е.В.², Вараксин А.А.²

¹ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, ² Национальный научный центр морской биологии им. А.В.Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, dkobukhov@yandex.ru.

POSTNATAL NEUROGENESIS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF LOWER VERTEBRATES.

Obukhov D.K.¹, Pushchina E.V.², Varaksin A.A.²

¹ St. Petersburg State University, ² A.V. Zhirmunsky National Scientific Center for Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok, dkobukhov@yandex.ru.

Введение. Проблема регенерации нервной ткани в ЦНС в постнатальный период развития животных и человека связана с насущными задачами репаративной медицины (Регенеративная биология и медицина. Книга II, 2015). В последние годы в качестве модельных объектов широко используются низшие позвоночные животные (амфибии, рыбы), обладающие, с одной стороны, сходными принципами развития нервной системы, а

с другой стороны рядом методических преимуществ (Puschina et al., 2017). В работе представлен краткий обзор собственных исследований и данных других авторов по проблеме постнатального нейрогенеза в ЦНС низших позвоночных животных.

Материал и методы. В качестве объектов исследования использовалось несколько видов взрослых рыб (амурский осетр *Acipenser schrenkii*; лосось-сима *Oncorhynchus masou*; кета *Onchorhynchus keta*, карп *Cyprinus carpio* и др.). Для выявления пролиферативных зон в мозге, маркирования НСК и их потомков использовали иммуногистохимические окраски на: ядерный антиген (PCNA); ароматазу B; TUNEL – маркирование фрагментов ДНК; ядерный маркер нейрональной дифференцировки (HuCD), транскрипционные факторы PAX2, PAX6; маркер нейробластов – даблкортин (DCX); цитоскелетные белки – нестин, винбластин; нейромедиаторы и ферменты их синтеза – тирозингидроксилазу, ГАМК, NO-синтазу, цистатионин β -синтазу и ряд других.

Результаты и обсуждение. У млекопитающих процессы постнатального нейрогенеза ограничены несколькими участками в конечном мозге: субветрикулярной зоне (SVZ) в районе латеральных мозговых желудочков и субгранулярной зоне (SGZ) в гиппокампе. Кроме того, процессы нейрогенеза у млекопитающих достаточно быстро угасают с возрастом (Kempermann G, 2013). У низших позвоночных животных, в том числе и у рыб, обнаружен ряд особенностей постнатального нейрогенеза.

- в ЦНС низших позвоночных обнаружено несколько пролиферативных зон, где в течении длительного времени происходит образование новых нейронов и глиальных клеток. Иммуногистохимическое маркирование показало, что в конечном, промежуточном, среднем и продолговатом мозге разных видов рыб выявляются пролиферативные ниши, основу которых составляют клетки т.н. радиальной глии (RG), являющиеся потомками нейрональных стволовых клеток (Puschina et al., 2019). При этом распределение пролиферативных зон соответствует нейромерной структуре мозга, что подтверждается маркированием PAX2, PAX6 и PCNA.
- показано, что в зависимости от района мозга, молодые нейро- и глиобласты могут или мигрировать на большие расстояния от зон пролиферации, или оставаться в зоне пролиферации;
- характерной особенностью пост-нейрогенеза рыб является гибель части мигрирующих клеток путем апоптоза, подтвержденная с помощью TUNEL-маркирования фрагментов ДНК. Это существенно отличается от млекопитающих, где распространены процессы некроза части молодых мигрирующих клеток. Эта особенно четко проявляется при сравнении процессов репаративного нейрогенеза при травме мозга у высших и низших позвоночных (Puschina, Obukhov, 2012; Puschina et al., 2017, 2022);

- в пролиферативных зонах мозга низших позвоночных животных выявлена высокая активность NO (оксид азота), H₂S (сероводорода) ГАМК и тирозингидроксилазы. Полагают, что эти молекулы- модуляторы, попадая в межклеточные пространства в районах нейроглиогенеза, оказывают регулирующее действие на процессы пролиферации, апоптоза и дифференцировку клеток пролиферативных ниш). Особенно интересно нейропротективное действие сероводорода и глутамат синтазы как в норме, так и при травмах мозга (Puschina et al., 2020);

- для ЦНС низших позвоночных характерно, в отличии от млекопитающих и птиц, не только длительный период постнатального нейрогенеза, но и выживание большинства молодых нейронов и глиальных клеток.

Заключение. Исследование постнатального нейрогенеза в ЦНС низших позвоночных животных, как в условиях нормы, так и при повреждении мозга, позволяет рассматривать эти объекты как перспективные модели для изучения сложных процессов нейро- и глиогенеза в нервной системе млекопитающих и человека.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ В ДИСТАЛЬНОМ СЕГМЕНТЕ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И СУБПЕРИНЕВРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МСК

Петрова Е.С.¹

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, iempes@yandex.ru

INVESTIGATION OF DEMYELINIZATION IN THE DISTAL SEGMENT OF THE RAT SCIATIC NERVE AFTER INJURY AND SUBPERINEURAL INTRODUCTION OF MSCs

Petrova E.S.¹

¹*Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine", St.*

Petersburg, iempes@yandex.ru

Введение. В настоящее время для стимуляции регенерации поврежденных нервов в эксперименте активно используются мезенхимные стволовые клетки (МСК), полученные из разных источников (костного мозга, жировой ткани, пуповины и др.) (Lavorato et al., 2022). МСК вырабатывают ростовые, ангиогенные, антиоксидантные, иммуносупрессивные и другие факторы, способные оказывать репаративное, антиапоптотическое, противовоспалительное и антифибротическое влияние на ткани. Малоизученными являются вопросы, касающиеся механизмов воздействия экзогенных МСК на эндогенные клетки нерва реципиента (нейролеммоциты, фибробласты, макрофаги и другие клетки эндоневрия) после травмы. Удобной моделью для изучения изменения процессов валлеровской

дегенерации (ВД) под воздействием клеточной терапии является модель передавливания нерва путем наложения лигатуры и субпериневральная трансплантация суспензии МСК. Целью настоящей работы явилось исследование демиелинизации в седалищном нерве крысы через 7 суток после травмы и однократной трансплантации МСК костного мозга крыс той же линии.

Материалы и методы. В работе использовали крыс линии Вистар-Киото массой 200-250 г ($n = 10$). При работе с животными руководствовались международными правилами Европейского сообщества по гуманному обращению с экспериментальными животными. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (протокол № 2/22 от 06.04.2022). Седалищные нервы повреждали путем наложения лигатуры в течение 40 с. Части крыс субпериневрально вводили взвесь МСК (5×10^4 в 5 мкл культуральной среды). Животным контрольной группы повреждали седалищный нерв аналогичным образом и вводили субпериневрально культуральную среду в объеме 5 мкл. МСК костного мозга крыс Вистар-Киото получали в ООО Транс-Технологии (ген. директор к.б.н. Д.Г. Полинцев). Через 7 суток после операции изучали миелиновые волокна на продольных срезах через дистальный сегмент нерва реципиента после окрашивания препаратов люксолевым прочным синим (Luxol fast blue) (LFB). LFB-окрашенные области измеряли с помощью программного обеспечения ImageJ.

Результаты и обсуждение. Мы использовали гистохимический краситель LFB, являющийся спирторастворимой аминовой солью сульфированного фталоцианина меди, который позволяет выявлять липопротеины, входящие в состав миелиновых оболочек. В последние годы количественную оценку клиренса миелина с помощью этого метода широко применяют на различных моделях травмы нервных проводников (Niemi et al., 2013). В настоящей работе установлено, что количество миелиновых волокон после травмы значительно снижается к 7 сут. Это связано с деструктивными процессами, происходящими в дистальном сегменте нерва в период ВД. Оказалось, что после применения субпериневрального введения суспензии МСК в дистальном сегменте поврежденного нерва сохраняется больше миелиновых волокон. Показано, что плотность распределения миелина в этот срок у подопытных животных выше, чем у контрольных (повреждение нерва без введения МСК) в полтора раза ($p < 0,05$). Таким образом, в ранние сроки после наложения лигатуры, в период ВД, наблюдается замедление процесса демиелинизации в дистальном сегменте нерва, часть тонких миелиновых волокон сохраняется, не подвергаясь ВД. Отмеченный факт подтверждает ранее полученные результаты японских исследователей Miyano et al. (2022), которые изучали влияние однократного введения МСК на

поврежденный седалищный нерв и соответствующие спинномозговые ганглии крысы и установили, что клеточная терапия может способствовать сохранности миелиновых волокон в дистальном сегменте нерва после повреждения. По мнению авторов, экзогенные МСК могут влиять на демиелинизацию аксонов за счет уменьшения уровня провоспалительных цитокинов.

Заключение. Установлено, что после субперинеуральной трансплантации МСК костного мозга крысы в дистальном сегменте поврежденного нерва реципиента наблюдается задержка процесса демиелинизации поврежденных нервных волокон. Механизмы отмеченных на ранних сроках после повреждения нерва изменений требуют дальнейших исследований.

НОВАЯ МОДЕЛЬ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧКИ: ИНДУЦИРОВАННАЯ ФОТОТРОМБОЗОМ ФОКАЛЬНАЯ ИШЕМИЯ

Плотников Е.Ю.¹, Брезгунова А.А.¹, Андрианова Н.В.¹, Попков В.А.¹, Ткачев С.Ю.², Манских В.Н.¹, Певзнер И.Б.¹, Зорова Л.Д.¹, Тимашев П.С.², Силачев Д.Н.¹, Зоров Д.Б.¹

¹*Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, plotnikov@belozersky.msu.ru*

²*Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет)*

NEW MODEL OF ACUTE KIDNEY INJURY: PHOTOTROMBOSIS-INDUCED FOCAL ISCHEMIA

Plotnikov E.Y.¹, Brezgunova A.A.¹, Andrianova N.V.¹, Popkov V.A.¹, Tkachev S.Y.², Manskih V.N.¹, Pevsner I.B.¹, Zorova L.D.¹, Timashev P.S.², Silachev D.N.¹, Zorov D.B.¹

¹A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, plotnikov@belozersky.msu.ru

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

Введение. Все имеющиеся в настоящее время модели острого почечного повреждения (ОПП) вызывают поражение всей почки, поэтому особый научный интерес представляет разработка моделей, которые вызывали бы повреждение только отдельных участков почечной паренхимы. Такой подход может помочь дифференцировать процессы, происходящие в поврежденных и здоровых участках. Целью этого исследования была разработка модели ишемии почек, вызванной фототромбозом и описание реализующихся при таком повреждении механизмов.

Материалы и методы. Для индукции фототромбоза животным вводили бенгальский

розовый в дозе 40 мг/кг и освещали локальную зону почки лазером с длиной волны 585 нм в течение 10 минут. Через 6, 24 или 48 часов собирали образцы крови, мочи и почек крыс, в которых анализировали уровень креатинина, мочевины и NGAL, а также проводили оценку изменений в ткани почки с помощью гистологических методов и микрокомпьютерной томографии (микро-КТ). Гистологическое исследование проводили с окраской гематоксилин-эозином, реактивом Шиффа с периодной кислотой, окраской на ретикулин и фибрин, а также иммунофлуоресцентным окрашиванием на такие белки, как β -актин, KIM-1 (молекула повреждения почек 1), PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток).

Результаты и обсуждение. Плотность сигнала микро-КТ в области ишемизированной паренхимы была снижена через 24 часа после индукции повреждения, в то время как в клубочках наблюдалась более высокая интенсивность сигнала. Гистологически выявлено серьезное повреждение канальцев и клубочков с потерей ядер и щеточной каемки в некоторых клетках канальцев, что указывает на апоптотическую гибель клеток. Продемонстрировано накопление фибрина в просвете сосудов, что подтверждает развитие тромбоза сосудов. В канальцах в зоне повреждения и прилегающей почечной ткани наблюдались гиалиновые цилиндры и десквамация эпителия.

Фототромбоз приводил к повышению уровня маркеров почечного повреждения и пролиферации, например, уровня KIM-1 в очаге поражения и окружающих тканях. PCNA, уровень которого отражает активность пролиферации и регенерации тканей, локализовался в KIM-1-положительных канальцах, причем PCNA-позитивные клетки преимущественно принадлежали к канальцам в ткани, прилегающей к зоне инфаркта.

Дисфункция почек была оценена путем измерения концентраций мочевины и креатинина в сыворотке крови, которые являются общепринятыми маркерами ОПП в клинической практике. Фототромботическое повреждение не вызвало значительного повышения уровней мочевины и креатинина, поэтому мы дополнительно оценили уровень NGAL в моче, поскольку этот маркер более чувствителен к ОПП, чем мочевина и креатинин крови. Мы обнаружили увеличение уровня NGAL в моче через 6 и 24 часа после фототромбоза, тогда как через 48 часов после ишемии NGAL снизился до контрольных значений.

Кроме того, мы наблюдали развитие фиброза через месяц после фототромбоза, в частности, обнаружили незрелые коллагеновые волокна в области инфаркта при окраске по Массону, и значительную кальцификацию в очаге поражения с помощью специфического окрашивания, что является хорошо описанным признаком фиброза почек.

Заключение. В нашем исследовании предложен и апробирован новый метод моделирования локальной ишемии почки с использованием фототромбоза, который создает воспроизводимое ишемическое поражение в корковом веществе. Этот метод имеет

преимущества перед другими моделями ишемии, включая четко определенное расположение очага, высокую воспроизводимость и минимальную инвазивность. Мы также смогли детектировать долгосрочные последствия ишемии почек, вызванной фототромбозом, такие как почечный фиброз и воспаление.

Работа поддержана грантом РФФ 21-75-30009.

АТЛАС ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

***Прошина А.Е.¹, Харламова А.С.¹, Кривова Ю.С.¹, Отлыга Д.А.¹, Сонин Г.А.¹, Дремин Е.М.²,
Савельев С.В.¹***

¹ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
brainmicroscopy@yandex.ru

² Веб-студия Евгения Дремина, Новосибирск

ATLAS OF HUMAN PRENATAL BRAIN DEVELOPMENT

***Proshchina A.E.¹, Kharlamova A.S.¹, Krivova Yu.S.¹, Otlyga D.A.¹, Sonin G.A., Dremine Ye. M.²,
Saveliev S.V.¹***

¹ Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Center of
Surgery”, Moscow

² Dremine web Studio, Novosibirsk

Введение. Новейшая страница в истории атласов головного мозга – создание так называемых мультимодальных цифровых атласов, которые совмещают в себе изображения целого мозга как на макроморфологическом (в том числе, с применением методов прижизненной визуализации), так и на тканевом, и даже на клеточном уровнях, включают данные гистологических и иммуногистохимических исследований, гибридизации *in situ* и результаты других методов. Однако даже наиболее представительные современные международные проекты являются далеко не полными в части данных о внутриутробном созревании мозга человека.

Материалы и методы. Методология научных исследований в области создания атласа и информационной системы по пренатальному морфогенезу головного мозга человека включает следующие этапы: исследование предметной области, определение задачи автоматизации, разработку информационной модели, функционала информационной системы и программного обеспечения, выбор аппаратных и программных средств для реализации системы, тестирование и анализ результатов, дальнейшее развитие и совершенствование системы.

Результаты и обсуждение. На основе проведенного анализа разработан проект

информационной системы "Атлас развития мозга человека", в которой выделены три основных блока:

1) "Описание стадии развития мозга" - блок, содержащий описание образцов коллекции по пренатальному развитию мозга. Исходя из анализа литературы и других баз данных по коллекциям мозга можно выделить следующие атрибуты объектов этого блока: возраст донора, его пол, вес, рост (теменно-копчиковая длина), основные клинические данные, вес и размеры мозга (желательно до и после фиксации), дата забора материала, фиксатор, исследованные части мозга, плоскость срезов, их толщина, дистанция между серийными срезами, методы окраски. Данный раздел содержит как макроморфологическое описание внешнего строения мозга с соответствующими изображениями, так и описание основных морфогенетических событий в мозге, происходящие на разных сроках, а также галереи срезов с гистологическим окрашиванием гематоксилином и эозином, по Нисслию и по Маллори.

2) "Референсные атласы" - модуль, содержащий аннотированные карты срезов головного мозга на разных этапах пренатального онтогенеза. Для описания каждой структуры должна быть принята общая концептуальная модель представления данных: латинское название, а также общепринятые русское и английское название и наиболее распространенные синонимы, указание принадлежности к определенному отделу головного мозга и (или) группе структур, эволюционное происхождение, общность функции и т.д. В данном случае ключевым составным атрибутом становится уникальный номер среза и принадлежность его к определенному образцу из коллекции.

3) "Иммуногистохимические атласы" - модуль, содержащий данные по развитию трансляционного профиля клеток головного мозга. Для третьего блока объектами тоже становятся срезы головного мозга, со следующим набором идентифицирующих свойств: уникальный номер среза, принадлежность его к определенному образцу коллекции, метод иммуногистохимического окрашивания.

В настоящее время часть материалов уже доступна на сайте проекта <https://brainmorphology.science/ru/> На сайте представлена общая информация о проекте, описание основных методов, которые применяются при создании атласа, краткое описание и микрофотографии гистологических серийных срезов головного мозга эмбрионов и плодов на сроках от 10 до 16 недель гестационного развития. Некоторые препараты доступны с более низким разрешением на веб-сайте лаборатории <https://brainmicroscopy.com/collection/homo/brain-development/normal-development/>

Заключение. Создание информационной системы для сбора и обработки данных по пренатальному морфогенезу головного мозга человека является важным шагом в

исследования этого процесса и может помочь в разработке новых методов диагностики и лечения нервных заболеваний. *Исследование поддержано грантом (РНФ) №22-15-00172.*

СЕКРЕЦИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫМИ МОНОЦИТАМИ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Садыхов Н.К.¹, Шахпазян Н.К.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,*

drawnman@mail.ru

SECRETION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES BY CULTURED MONOCYTES IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

Sadyhov N.K.¹, Shakhpazyan N.K.¹

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution

"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, drawnman@mail.ru

Введение. Моноциты, ключевые участники иммунной системы, секретируют различные цитокины, включая фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α) и интерлейкин-1 бета (IL-1 β), которые являются важными посредниками воспалительного и иммунного ответов. Цель исследования – изучение особенностей секреции провоспалительных цитокинов моноцитами у пациентов с КРР, что поможет лучше понять механизмы врождённого иммунитета и потенциальной роли цитокинового ответа для диагностики и лечения этого заболевания.

Материалы и методы. В исследование включено 21 участник, из которых 12 пациентов с колоректальным раком (КРР) (аденокарцинома) и 9 пациентов группы сравнения. Участвовали пациенты с впервые-выявленным колоректальным раком и пациенты группы сравнения, сопоставимые по возрасту и полу у которых была отобрана венозная кровь для выделения моноцитов. Образцы крови пациентов были получены с их согласия и до начала хирургического вмешательства, лучевой, или медикаментозной терапии опухоли. Полученные моноциты подвергались двойному стимулированию липополисахаридом (ЛПС) в концентрации 1 мкг/мл в первый день, спустя 24 часа и на 6 день, на 7 день происходило завершение эксперимента. Далее концентрация TNF- α и IL-1 β в культуральной среде определялась методом ИФА с использованием коммерческих наборов. В заключении статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения SPSS Statistics v. 26.0 (SPSS Inc., USA). Характер распределения данных определялся с применением, теста Шапиро-Вилка.

Результаты и обсуждение. Обнаружено, что особенностью моноцитов пациентов с КРР

является выделение TNF-а после первой стимуляции ЛПС с последующим истощением его секреции. Это выражается в том, что через 7 дней культивирования выявляется значимо более низкий уровень базальной секреции (в культуре не рестимулированной ЛПС) и практически отсутствие увеличения секреции TNF-а после повторной стимуляции у пациентов с КРР по сравнению с пациентами из группы сравнения.

Паттерн секреции IL-1b сходен у обеих групп, но через 1 сутки отмечается значимо более высокий уровень в не стимулированной культуре (базовый) и через 7 суток культивирования отмечается более выраженная секреция IL-1b после повторной стимуляции ЛПС у пациентов с КРР, по сравнению с группой сравнения. Это может быть связано с приобретенной иммунотолерантностью моноцитов что служит механизмом защиты опухоли от иммунного воздействия.

Заключение. На данный момент нет четкого понимания чем вызвана аномальная секреция TNF-а и повышенная секреция IL-1β моноцитами пациентов с КРР, для полноты картины требуется эксперимент по определению секреции более широкой панели цитокинов. Однако о потенциальном применении выявленного эффекта истощения TNF-а можно говорить уже сейчас, оно может заключаться в возможности разработки диагностических тестов для оценки прогрессии КРР, прогноза заболевания, или оценки эффективности методов лечения на основе индивидуального иммунного профилирования пациентов. Так же коррекция нарушенной секреции TNF-а, как фактора дизрегуляции иммунного ответа, может являться мишенью для иммунотерапии.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 23-25-00196.

**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО РАЗРЫВА
ВНЕПЛАЦЕНТАРНЫХ ОБОЛОЧЕК У БЕРЕМЕННЫХ С
НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ**

Сарыева О.П.¹, Проценко Е.В.¹

¹*ФГБУ Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н.*

Городкова, e-mail: procenko_e_v@mail.ru

**MORPHOLOGICAL SUBSTANTIATION OF PREMATURE RUPTURE OF FETAL
MEMBRANES IN PREGNANT WOMEN WITH UNDIFFERENTIATED CONNECTIVE
TISSUE DYSPLASIA**

Saryeva O.P.¹, Procenko E.V.¹

¹*Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named V.N. Gorodkov*

Введение. Особая актуальность проблемы преждевременного разрыва плодных оболочек

(ПРПО) в акушерской практике определяется высокой частотой встречаемости. Согласно статистическим данным, до 51% преждевременных родов инициированы ПРПО (Артымук Н.В., Елизарова Н.Н., 2016). Считается, что одним из факторов, способствующих реализации ПРПО и преждевременных родов, является недифференцированная дисплазия соединительной ткани (нДСТ). Ее высокая распространенность в популяции и манифестация в молодом возрасте свидетельствуют об актуальности темы нДСТ для акушерской практики (Стяжкина С.Н. и др., 2014).

Материалы и методы. Проведено комплексное морфологическое исследование плодных оболочек 35 последов: 13 составили 1 основную группу (с ПРПО и нДСТ); 22 – 2 основную группу (с ПРПО без нДСТ). Оболочки 20 последов составили группу сравнения (с нДСТ без ПРПО). Контрольную группу составили 30 последов от соматически здоровых женщин с физиологическим течением беременности. Критериями отбора женщин в основные группы послужило наличие 4-9 внешних и висцеральных маркеров дисплазии соединительной ткани, согласно шкале Т.Е. Кадуриной (2009). Морфологическое исследование внеплацентарных оболочек включало макро- и микроскопическое исследование, иммуногистохимию (ММР-9) и электронную микроскопию.

Результаты и обсуждение. При гистологическом исследовании внеплацентарных оболочек последов 1 основной группы париетальный децидуит диагностирован в 65% случаев, что достоверно не отличается от показателя 2 группы (81,8%, $p=0,03$). В большинстве случаев имел место субамниальный отек, частичная десквамация и уплощение амниотического эпителия, а также очаговый склероз и отек компактного слоя. В зоне разрыва оболочек отмечены участки гипоплазии компактного вещества, гиалиноза и прослойки фибриноида. Уровень экспрессии ММР-9 в структурах внеплацентарных оболочек был существенно выше, чем в группе сравнения ($p=0,001$), что вероятно, обусловлено проявлением дезорганизации соединительной ткани в сочетании с воспалением. На ультраструктурном уровне выявлено обеднение клеточного состава компактного слоя и увеличение объема экстрацеллюлярного матрикса. Цитоплазма отростков фибробластов в состоянии умеренно выраженной вакуолизации. Количество коллагеновых и ретикулярных волокон в компактном слое уменьшено. Волокна дезориентированы, разнонаправлены, расположены разрозненными группами, с формированием неполноценных пучков. Часть волокон фрагментирована и укорочена. Во 2 основной группе частота встречаемости восходящей инфекции с развитием париетального хориоамнионита (68,2%) была достоверно выше показателей других групп. Гистологически в оболочках отмечена очаговая пролиферация амниотического эпителия и смешанноклеточная, лимфо-лейкоцитарная, инфильтрация на территории децидуального и

цитотрофобластического слоев. Уровень экспрессии ММР-9 достоверно меньше показателей 1 основной группы ($p=0,001$).

Во внеплацентарных оболочках группы сравнения частота париетального децидуита была достоверно ниже показателей основных групп ($p=0,003$). Компактный слой был отечным и отличался уменьшенным количеством фибробластов. Экспрессия ММР-9 была достоверно меньше показателей основных групп ($p=0,001$).

Заключение. Таким образом, морфологическими особенностями плодных оболочек при их преждевременном разрыве в сочетании с нДСТ являются проявления дезорганизации соединительной ткани, которые в сочетании с увеличением местной экспрессии ММР-9, ответственной за ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса, позволяют считать, что причина ПРПО связана не только с воспалением в оболочках, но и дисплазией соединительной ткани. Дисплазию соединительной ткани следует рассматривать в качестве одного из предикторов ПРПО.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИППОКАМПА И ЭКСПРЕССИЯ ПРО-И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС ВИСТАР ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ПОТРЕБЛЕНИЕМ $AlCl_3$

Сентябрева А.В.¹, Мирошниченко Е.А.¹, Косырева А.М.¹

¹*Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, alexandraasentyabreva@gmail.com.*

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE HIPPOCAMPUS AND EXPRESSION OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE PREFRONTAL CORTEX IN ADULT AND OLD WISTAR RATS WITH $AlCl_3$ -INDUCED NEURODEGENERATION

Sentyabreva A.V.¹, Miroshnichenko E.A.¹, Kosyreva A.M.¹

¹*Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow.*

Введение. Выявление инициальных механизмов нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, до сих пор остается актуальной и сложной задачей. Эти заболевания относятся к группе возраст-ассоциированных, а их моделирование проводят на половозрелых животных. Использование для этих целей старых грызунов позволит получить более релевантные модели нейродегенеративных заболеваний. Цель исследования – выявление морфофункциональных изменений в гиппокампе и коре головного мозга

молодых и старых крыс Вистар при моделировании нейродегенерации длительным потреблением хлорида алюминия.

Материалы и методы. Работа выполнена на молодых ($n=20$, возраст 3 месяца) и старых ($n=20$, возраст 24 месяца) самцах крыс Вистар массой тела 220-250 г и 400-450 г соответственно. Молодые и старые крысы двух опытных групп ($n=10$ в каждой) потребляли $AlCl_3$ в дозе 100 мг/кг в сутки в течение 8 недель с питьевой водой. Молодые и старые животные двух контрольных групп ($n=10$ в каждой) потребляли питьевую воду *ad libitum*. На гистологических препаратах головного мозга, окрашенных по Нисслию, в зонах CA1, CA3 и зубчатой извилины гиппокампа оценивали абсолютное число нейронов на стандартной площади поля зрения (25000 μm^2) и относительное количество гиперхромных нейронов. Методом qPCR-RT в префронтальной коре головного мозга определяли уровень экспрессии IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α , IL-10, TGF- β , iNOS, CD163, HIF-1, BACE1, APP. Полученные данные анализировали с помощью непараметрических методов статистики (Критерии Краскелла-Уоллиса и Данна). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При морфологическом исследовании гистологических препаратов головного мозга у молодых опытных крыс в CA1 зоне гиппокампа относительное количество гиперхромных нейронов было достоверно больше, чем у контрольных молодых животных, а в зоне CA3 и зубчатой извилине их процент был выше у старых крыс по сравнению с молодыми в группах с моделированием нейродегенерации. Уровни экспрессии в префронтальной коре головного мозга провоспалительных цитокинов IL-18, TNF- α , iNOS (маркер M1 активации микроглии) и CD163 (маркер M2 активации микроглии) были значительно выше в группе старых контрольных крыс по сравнению с молодыми животными контрольной группы. Тогда как уровень экспрессии противовоспалительного TGF- β и фактора, индуцируемого гипоксией, HIF-1 демонстрировали обратную тенденцию. Экспрессия IL-10 не выявлялась в префронтальной коре старых животных обеих групп, а у молодых крыс, потреблявших хлорид алюминия, снижалась по сравнению с контрольной группой. По сравнению с соответствующей контрольной группой у старых крыс, потреблявших хлорид алюминия, наблюдалось снижение уровни экспрессии белка-прекурсора амилоида (APP), который является интегральным рецептором и участвует в синаптогенезе и нейропластичности, а также фермента BACE1, который участвует в метаболизме APP. Статистически значимых различий по уровню экспрессии IL-1 β , IL-6 между исследуемыми группами выявлено не было.

Заключение. При старении у крыс Вистар в префронтальной коре наблюдается повышение экспрессии провоспалительных и снижение - противовоспалительных цитокинов, что

соответствует развитию инфламейджинга – возраст-ассоциированного вялотекущего воспаления. При моделировании нейродегенерации молодые крысы характеризовались слабовыраженными изменениями в головном мозге с увеличением экспрессии IL-18, TNF- α и снижением IL-10. Тогда как у старых животных при длительном потреблении хлорида алюминия развивались более выраженные изменения в головном мозге: наблюдалось увеличение относительного числа гиперхромных нейронов в гиппокампе и снижение уровня экспрессии APP и BACE1, что может быть следствием истощения ресурсов стареющих клеток и гибели нейронов, вызванных токсическим действием AlCl₃. Таким образом, моделирование нейродегенеративных процессов необходимо проводить на старых особях, которые характеризуются провоспалительным фенотипом, что является одним из инициальных механизмов развития нейродегенеративных заболеваний у людей.

РАЗРАБОТКА БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ЦЕЛЬЮ ТЕРАПИИ ОСТРЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Силачев Д.Н.¹, Горюнов К.В.¹, Шевцова Ю.А.¹, Попов К.В.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова», Москва, proteins@mail.ru

DEVELOPMENT OF A BIOMEDICAL CELL PRODUCT BASED ON MESENCHYMAL STROMAL CELLS FOR THERAPY OF ACUTE PATHOLOGICAL CONDITIONS OF THE BRAIN

Silachev D. N.¹, Goryunov K. V.¹, Shevtsova Yu. A.¹, Popov K. V.¹

¹National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V. I. Kulakov, Moscow

Введение. Острые патологические состояния головного мозга, такие как ишемический инсульт, черепно-мозговая травма и нейродегенеративные заболевания, являются тяжелым бременем для глобального здравоохранения. Несмотря на достижения в области медицинского менеджмента, возможности лечения этих состояний остаются ограниченными. В последние десятилетия новые исследования продемонстрировали, что мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) обладают уникальными регенеративными свойствами, которые делают их потенциальными кандидатами для клеточной терапии при острых патологиях головного мозга. Их уникальные регенеративные свойства, иммуномодулирующая функция и способность к многолинейной дифференцировке открывают потенциал для улучшения нейропротекции, регенерации

нервной системы и функционального восстановления. Одной из стратегий повышения терапевтической эффективности МСК является их генетическая модификация для сверхэкспрессии нейротрофических факторов, в частности BDNF и др. Этот подход потенциально может увеличить секрецию важных нейропротекторных факторов, способствуя выживанию нейронов и поддержке роста аксонов. Наши исследования также продемонстрировали, что сверхэкспрессия митохондриальной Rho GTPase 1 (Miro1) повышает терапевтический потенциал МСК за счет межклеточного транспорта митохондрий в донорские клетки. В связи с этим, целью данного проекта является разработка прототипа лекарственного препарата на основе МСК, сверхэкспрессирующих белок Miro1, для терапии острых патологических состояний головного мозга.

Материалы и методы. Был проведен анализ всей имеющейся литературы по вирусным векторам и их модификациям доступным для клинического применения. Также помимо анализа, применяли компьютерное программное обеспечение SnapGene Software. Для клонирования применяли метод ПЦР в реальном времени, лигазную и рестриктазную реакции, а также генетическое секвенирование готовых плазмид. МСК были получены из тканей плаценты здоровых родильниц после их письменного согласия, культивированы до III пассажа и заморожены для дальнейшей трансдукции.

Результаты и обсуждение. После тщательного анализа литературы был выбран ряд промоторов, которые получили все необходимые разрешения для клинического применения (PGK и EF-1 α). Также рассмотрены варианты конструкторов, содержащие инсуляторные последовательности, защищающие трансген от блокировки экспрессии. С помощью компьютерного обеспечения были созданы модели всех предполагаемых плазмид лентивирусных конструкторов III поколения и визуализированы их карты, необходимые для этапов клонирования. Особенностью плазмиды, несущей трансген RNOT1 является наличие репортерной метки в виде GFP-белка.

Заключение. В результате первого этапа исследования благодаря полученным картам плазмид происходят завершающие этапы клонирования с дальнейшей трансдукцией в МСК и оценкой эффективности и генотоксичности созданных конструкторов. Исследования ведутся в рамках государственного задания 1022041100336-7.

**ЗАВИСИМОСТЬ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО
ОТВЕТА ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К НЕДОСТАТКУ КИСЛОРОДА У
СТАРЫХ САМЦОВ КРЫС ВИСТАР**

Силина М.В.¹, Джалилова Д.Ш.¹, Косырева А.М.¹, Цветков И.С.¹, Макарова О.В.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
marusyasilina99@yandex.ru*

**DEPENDENCE OF THE SEVERITY OF THE COURSE OF THE SYSTEMIC
INFLAMMATORY RESPONSE ON THE INITIAL RESISTANCE TO OXYGEN
DEFICIENCY IN OLD MALE WISTAR RATS**

Silina M.V.¹, Dzhaliilova D.Sh.¹, Kosyreva A.M.¹, Tsvetkov I.S.¹, Makarova O.V.¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow*

Введение. Ведущую роль в ответе организма на гипоксию играет белок HIF-1 α , концентрация и уровень экспрессии мРНК которого варьируется в зависимости от устойчивости к недостатку кислорода. Эти различия могут влиять на тяжесть течения системного воспалительного ответа (СВО) (Dzhalilova et al., 2019). Ранее нами показано, что уровень экспрессии *Hif-1a* у низкоустойчивых (НУ) к гипоксии половозрелых крыс Вистар был выше, чем у высокоустойчивых (ВУ), и коррелировал с более тяжелым течением СВО (Dzhalilova et al., 2021). Однако взаимосвязь тяжести течения СВО и устойчивости к недостатку кислорода у старых животных остается неизученной. Поэтому цель исследования – оценить морфологические и молекулярно-биологические особенности течения системного воспалительного ответа в зависимости от исходной устойчивости к гипоксии у старых самцов крыс Вистар.

Материалы и методы. Объект исследования – самцы крыс Вистар в возрасте 18 месяцев (n=50). В барокамере на критической «высоте» (11500 м) определяли устойчивость к гипоксии по «времени жизни» (ВЖ) до принятия бокового положения. Животных делили на 2 группы – ВУ (n=11, ВЖ>240 с) и НУ (n=13, ВЖ<80 с). Моделирование СВО проводили путем внутрибрюшинного введения липополисахарида (ЛПС) *E.coli* O26:B6 (Sigma) в дозе 1,5 мг/кг, крыс выводили из эксперимента через 6 ч. Определяли концентрацию белков HIF-1 α и IL-1 β в сыворотке крови и продукцию IL-10 спленоцитами. Методом ПЦР в реальном времени оценивали экспрессию генов *Hif-1a*, *Hif-2a*, *Vegf*, *Nf-kb*, *Tgf-b*, *Il-10*, *Il-1b* и *Il-6* в печени. На гистологических препаратах легких подсчитывали количество нейтрофилов в межальвеолярных перегородках в стандартном поле зрения (25 тыс. мкм²). У животных с некрозами в печени их площадь измеряли (ув. 200) в 10 полях зрения, результаты выражали

в мкм². Проводили статистическую обработку полученных данных в программе «Statistica 8.0». Достоверность различий между показателями определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни и считали их статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В ранние сроки развития СВО только у ВУ к гипоксии крыс наблюдалась гибель (57%). Через 6 часов после введения ЛПС в сыворотке крови как НУ, так и ВУ животных наблюдалось увеличение концентрации белка HIF-1 α , более выраженное у ВУ. При этом уровень экспрессии гена *Hif-1a* в печени ВУ к гипоксии старых крыс Вистар был статистически значимо ниже, чем у НУ. Уровни экспрессии *Hif-2a* и *Vegf* статистически значимо не различались ни в контрольных, ни в опытных группах. Концентрация белка IL-1 β в сыворотке крови статистически значимо увеличивалась через 6 часов после введения ЛПС как у ВУ, так и у НУ к гипоксии животных. Также независимо от исходной устойчивости к недостатку кислорода в печени наблюдался более высокий уровень экспрессии генов провоспалительных цитокинов – *Il-1b* и *Il-6* после введения ЛПС. Статистически значимых различий в продукции IL-10 спленоцитами не выявлено ни в контрольных, ни в опытных группах независимо от исходной устойчивости к гипоксии. При исследовании уровней экспрессии генов противовоспалительных цитокинов *Il-10* и *Tgf-b* в печени статистически значимых различий в контрольных группах не наблюдалось, однако отмечался более высокий уровень *Il-10* у опытных ВУ к недостатку кислорода крыс по сравнению с контролем. По данным морфометрического исследования легких, число нейтрофилов в межальвеолярных перегородках легких было статистически значимо выше у НУ к гипоксии крыс через 6 ч после введения ЛПС по сравнению с ВУ. По площади некрозов в печени статистически значимых различий между группами выявлено не было. Возможно, у ВУ к гипоксии старых крыс Вистар в ответ на введение ЛПС развивается СВО с нарушением гемодинамики и гипоксией, что приводит к быстрому повышению экспрессии мРНК *Hif-1a* и содержания белка HIF-1 в ответ на развивающуюся кислородную недостаточность, что может быть причиной их гибели.

Заключение. Через 6 часов после введения ЛПС у ВУ к гипоксии старых животных СВО характеризуется более высоким содержанием HIF-1 α в сыворотке крови и меньшей выживаемостью, а у НУ – высоким уровнем экспрессии *Hif-1a* в печени и выраженной нейтрофильной инфильтрацией межальвеолярных перегородок легких.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых ученых МК-2573.2022.1.4 «Прогнозирование течения системной воспалительной реакции у старых крыс на основе исходной устойчивости к гипоксии».

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БИСФЕНОЛА А НА СТРУКТУРНО-
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЖЕЛТОГО ТЕЛА ЯИЧНИКОВ
ПОЛОВОЗРЕЛОГО ПОТОМСТВА**

Соляникова Д.Р.¹, Брюхин Г.В.¹

*¹ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск,
ZhdanovaDR@mail.ru*

**THE EFFECT OF BISPHENOL A CHRONIC EXPOSURE TO THE STRUCTURAL AND
FUNCTIONAL FEATURES OF OVARIES CORPUS LUTEUM OF MATURE
POSTERITY**

Solyannikova D.R.¹, Brukhin G.V.¹

¹South-Ural State Medical University, Chelyabinsk

Введение. Высокий уровень развития современной промышленности и технологий имеет, помимо колоссального положительного значения, также и выраженные негативные последствия. В частности, это касается вопроса загрязнения окружающей среды человека целым спектром химических веществ, в том числе, так называемыми эндокринными дизрапторами, которые, по определению ВОЗ, представляют собой экзогенные химические вещества, изменяющие функционирование эндокринной системы за счет их молекулярного сходства с гормонами. Наиболее распространенным эндокринным дизраптором является бисфенол А, поскольку он, являясь пластификатором, входит в состав пластмасс, резины, чернил и других синтетических материалов, повсеместно окружающих человека. Данное вещество имеет молекулярное сходство с эстрадиолом, в связи с чем оказывается выраженное влияние на клетки-мишени этого гормона, поэтому наиболее деструктивное воздействие он оказывает на репродуктивную систему, и, прежде всего, на женскую. Известно, что эстрадиол является одним из ключевых гормонов, регулирующих деятельность желтого тела яичников у крыс.

Материалы и методы. В эксперименте использовали белых лабораторных половозрелых самок крыс линии Wistar, массой 195-215 г. Животные ежедневно утром в течение 45 суток получали с пищей бисфенол А в дозе 200 мг/кг массы тела (Sigma-Aldrich, США). Через 4-7 дней после окончания затравки самок подсаживали к самцам для получения потомства. В результате были сформированы две группы животных: «Контроль» (интактные животные женского пола) (n=18) и группа «Бисфенол А» (потомство женского пола, полученное от самок крыс, подвергшихся хроническому воздействию бисфенола А) (n=11). На 120-128 сутки жизни (в эструс период) потомство выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Яичники фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин для проведения иммуногистохимического исследования. Использовали

поликлональные антитела к каспазе-3, рецепторам фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ) крыс. Интенсивность экспрессии данных антигенов оценивали полуколичественно в баллах: 0 – отсутствие окрашивания, 1 – слабое, 2 – умеренное, 3 – интенсивное, 4 – очень интенсивное (цвет клетки черно-коричневый). Также оценивали морфометрические особенности клеток желтого тела яичника. Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программы IBM SPSS Statistica v.21 (IBM Corp., Armonk, NY, США). Для определения статистически значимых различий между экспериментальными группами использовали U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. У половозрелого потомства животных, подвергшихся хроническому воздействию бисфенола А, выявлено снижение размеров как больших, так и малых лютеоцитов яичника, а также размеров их ядер, при этом границы между клетками стали нечеткими. Выявлено заметное расширение кровеносных сосудов желтого тела во всех участках железы. Кроме того, возросла доля «очень светлых лютеоцитов» обоих типов с многочисленными мелкими или очень крупными вакуолями, причем клетки располагаются как одиночно, так и образуют значительные конгломераты или тяжи. У контрольных животных 96,2% лютеоцитов имеют слабую (1 степень) экспрессию рецепторов к ФСГ (2,1% - 0 степень, 1,5% - 3 степень), тогда как у подопытной группы 48,6% лютеоцитов имеют слабую экспрессию, а 52% клеток вообще не содержат данный рецептор. Экспрессия рецепторов к ЛГ у контроля составила 3 степень у подавляющего большинства лютеоцитов (более 97%), однако у группы «Бисфенол А» за счет появившихся «очень светлых клеток», цитоплазма которых почти полностью занята липидными каплями, доля клеток с интенсивной экспрессией данных рецепторов снизилась до 67,6%. При этом строма желтого тела (эндотелиоциты, соединительная ткань с мигрировавшими лейкоцитами) не содержит рецепторы к ЛГ в обеих экспериментальных группах. Интересно отметить, что практически все лютеоциты яичников обеих групп имеют очень слабую экспрессию каспазы-3 белка, но, при этом, строма желез окрашивается умеренно и интенсивно в обеих группах.

Заключение. Установлены морфофункциональные изменения лютеоцитов желтого тела яичников половозрелого потомства животных, подвергшихся хроническому воздействию бисфенолом А, свидетельствующие о снижении их функционального состояния, а также о снижении их чувствительности к ЛГ и ФСГ гипофиза.

**ПОЛУЧЕНИЕ ГИБРИДОМ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ
АНТИТЕЛА К КОМПОНЕНТАМ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ
ЛОВУШЕК**

Степанова И.И.¹, Степанов А.А.¹, Тихонова Н.Б.¹, Аксенова М.Г.¹, Алексанкин А.П.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
i-ste@yandex.ru*

**GENERATION OF HYBRIDOMAS SECRETING MONOCLONAL ANTIBODIES
AGAINST THE COMPONENTS OF EXTRACELLULAR NEUTROPHIL TRAPS**

Stepanova I.I.¹, Stepanov A.A.¹, Tikhonova N.B.¹, Aksenova M.G.¹, Aleksankin A.A.¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, i-ste@yandex.ru*

Введение. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs – neutrophil extracellular traps) сетеподобная структура, состоящая из ДНК, гистонов и антимикробных пептидов. NETs образуются активированными нейтрофилами в ответ на инфекционные агенты, воспалительную реакцию и повреждения. Избыточное образование NETs связывают с сепсисом, аутоиммунными нарушениями и раком. Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек является важным инструментом для изучения роли нейтрофилов и их активации при различных патологических состояниях. Для количественного исследования NETs одним из наиболее удобных методов является твердофазный иммуноферментный анализ на основе моноклональных антител против компонентов NETs.

Материалы и методы. Материал для иммунизации мышей линии Balb/c был получен путём активации промиелоцитов линии HL60. В качестве стимулятора активации использовали PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate). Клетки HL60 переводили в дифференцированную форму с помощью ДМСО и активировали PMA. Контроль активации нейтрофилов осуществляли визуально, обращая внимание на прикрепление и форму клеток, наличие дегрануляции. Появление дегранулированных нейтрофильных белков (протеиназа 3 и миелопероксидаза) в культуральной жидкости подтверждали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Затем кондиционированную культуральную среду забирали и центрифугировали при 1300g в течение 5 минут, осадок отбрасывали, надосадочную жидкость диализовали против 20 mM бикарбоната аммония и лиофилизировали. Лيوфилизированный препарат растворяли в дистиллированной воде и иммунизировали мышей в подушечки задних. Иммунизацию проводили с использованием адъювантов Фрейнда по короткой схеме. На третий день после последнего бустирования стерильно забирали паховые лимфатические узлы, которые гомогенизировали, лимфоциты отделяли от

стромы и использовали для гибридизации с клетками миеломы линии SP2. Сыворотку крови иммунных мышей использовали для визуализации нейтрофильных внеклеточных ловушек в клеточной культуре методом inCell-ELISA. Первичный скрининг гибридом-продуцентов моноклональных антител к компонентам NETs проводили с помощью ИФА, используя в качестве антигена лиофилизированный препарат. Вторичный скрининг выбранных гибридом проводили с помощью миелопероксидазы, протеиназы 3 и ДНК человека, выделенной из цельной крови.

Результаты и обсуждение. При первичном скрининге отобрали 210 положительных клонов, из них после вторичного скрининга оставили 41 клон. С протеиназой 3 работало 5 клонов, с миелопероксидазой – 2 клон, с ДНК – 8 клонов, остальные клоны работали только с лиофилизированным препаратом. Сыворотка иммунной мыши и культуральная жидкость отобранных клонов гибридом-продуцентов показали наличие NETs в активированной дифференцированной культуре HL60 методом inCell-ELISA. При выявлении NETs сывороткой иммунной мыши наблюдали четко ограниченные окрашенные поля вокруг и между клеток. Выявленные компоненты NETs с помощью культуральной жидкости клонов-продуцентов отличались в зависимости от специфичности клонов. Структуры, визуализированные моноклональными антителами, отличались от окрашенных структур сывороткой иммунной мыши.

Заключение. Получен 41 клон гибридом-продуцентов моноклональных мышинных антител, специфически взаимодействующих с компонентами NETs. Специфичность взаимодействия подтверждена методами иммуноферментного анализа и в inCell-ELISA. Планируется использовать полученные клоны для разработки тест-системы для количественной оценки NETs в биологических жидкостях.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТОРОК АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА И СТЕНКИ ВОСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ У ПАЦИЕНТОВ С ДВУСТВОРЧАТЫМ И ТРЕХСТВОРЧАТЫМ АОРТАЛЬНЫМ КЛАПАНОМ

*Сухачева Т.В.¹, Пеняева Е.В.¹, Соборов М.А.¹, Тевосов Д.Р.¹, Хугаев Г.А.¹, Гарманов С.В.¹,
Мироненко В.А.¹, Серов Р.А.¹*

¹ФГБУ «НМИЦ ССХ им А.Н. Бакулева», Москва, sukhachevat@gmail.com

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE AORTIC VALVE AND ASCENDING AORTA IN PATIENTS WITH BICUSPID AND TRICUSPID AORTIC VALVES

*Sukhacheva T.V.¹, Penyaeva E.V.¹, Soborov M.A.¹, Tevosov D.R.¹, Khugaev G.A.¹,
Garmanov S.V.¹, Mironenko V.A.¹, Serov R.A.¹*

¹A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery, Moscow,

sukhachevat@gmail.com

Введение. Двустворчатый (ДАК) аортальный клапан (АоК) - один из наиболее частых врожденных пороков сердца, встречающийся у 1-2% населения. Нарушение эмбриогенеза полулунных клапанов и восходящей аорты (Ао) вкупе с гемодинамической перегрузкой приводит к несостоятельности стенки Ао. Цель исследования: анализ изменений морфологии створок АоК и стенки Ао у пациентов с ДАК и трехстворчатым аортальным клапаном (ТАК) при аневризме аорты.

Материалы и методы. Исследованы биопсии АоК и восходящей Ао пациентов с ДАК 18-71 г. (n=49, 73% муж. / 27% жен.) и пациентов с ТАК 22-84 лет (n=99, 64% муж. / 36% жен.), которым выполнено протезирование АоК и/или восходящей Ао. У пациентов отсутствовали внешние признаки генетической патологии, подтверждающие наличие соединительно-тканной дисплазии. У пациентов с ДАК диаметр Ао составил $50,7 \pm 9,1$ мм, фракция выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) – $72,4 \pm 15,4\%$. У пациентов с ТАК диаметр восходящей Ао составил $53,9 \pm 11,2$ мм, ФВ ЛЖ – $72,1 \pm 21,5\%$. У пациентов с ДАК стеноз и недостаточность АоК определена в 50% и 54,2% случаев, у пациентов с ТАК - в 27% и 62,1% случаев, соответственно. Парафиновые срезы створок АоК и стенки Ао окрашивали гематоксилином и эозином, на эластик по Вейгерту, альциановым синим и трихромом по Массону. Проведена 4-балльная оценка выраженности фиброза, петрификации и миксоматоза створок АоК пациентов с ДАК (n=39) и ТАК (n=34); оценка изменений морфологии интимы (утолщения, выраженности атеросклероза) и меди Ао (фрагментации эластических волокон, снижения плотности и хаотичного расположения гладкомышечных клеток (ГМК), выраженности кистовидной дегенерации, фиброза и ламинарного некроза); определена толщина слоев стенки Ао ($\times 100$). Результаты обработаны с использованием методов непараметрической статистики (критерия Манн-Уитни, коэффициента корреляции Спирмена) при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Выявлены достоверные отличия по возрасту (ср. $48,0 \pm 13,1$ vs $58,5 \pm 10,7$ лет), диаметру корня Ао ($50,7 \pm 9,1$ vs $47,0 \pm 12,2$ мм) и наличию артериальной гипертензии (63,6 vs 90,4%) у пациентов с ДАК и ТАК ($p < 0,05$). Сократительная функция миокарда ЛЖ (ФВ ЛЖ) в этих группах достоверно не отличается. Выявлено значительное утолщение створок ДАК по сравнению с ТАК ($p < 0,05$), которое коррелирует с наличием стеноза АоК ($r = 0,66$; $p = 0,004$) и обусловлено развитием в них фиброза ($r = 0,61$; $p = 0,001$). В свою очередь, створки ТАК, в отличие от ДАК, как правило, истончены с очаговым развитием миксоматозных изменений ($p < 0,05$). Петрификация обнаружена в 53,5% образцах ДАК и в 20,9% образцах ТАК. Выявлены достоверные различия толщины интимы Ао

(73,9±52,3 vs 145,9±149,5 мкм) и адвентиции (598,2±259,5 vs 809,9±400,6 мкм), соответственно ($p<0,05$), в то время как толщина меди (1138,9±245,1 vs 1181,1±271,2 мкм) у пациентов двух групп не отличается. При ДАК утолщение интимы Ао, как правило, слабо выражено, и не коррелирует с дилатацией Ао, у 22,9% пациентов зарегистрированы атеросклеротические изменения. Изменение толщины интимы Ао коррелирует с изменением толщины меди ($r=0,43$; $p=0,003$) и ее морфологии - фрагментацией эластических волокон ($r=0,46$; $p=0,002$), хаотичным расположением ГМК ($r=0,46$; $p=0,007$), увеличением числа vasa vasorum ($r=0,39$; $p=0,008$). При ТАК утолщение интимы Ао связано с нарастанием в ней компонентов внеклеточного матрикса, и коррелирует с дилатацией Ао ($r=0,26$; $p=0,01$), недостаточностью АоК ($r=0,45$; $p=0,0006$) и обратно коррелирует с утолщением створок АоК за счет фиброза ($r=-0,43$; $p=0,02$) и петрификации ($r=-0,44$; $p=0,01$). Толщина интимы Ао также увеличена за счет её атеросклеротических изменений ($r=0,39$; $p=0,008$), зарегистрированных у 40,7% пациентов с ТАК. В меди Ао при ТАК чаще, чем при ДАК встречается фрагментация эластических волокон, хаотичное расположение ГМК, повышение содержания vasa vasorum ($p<0,05$). Изменение толщины меди Ао обратно коррелирует с наличием стеноза АоК ($r=-0,51$; $p=0,004$) и положительно - с истончением створок ТАК ($r=0,42$; $p=0,03$).

Заключение. При ДАК выявлено преимущественное развитие фиброза и петрификации створок АоК, обуславливающих его стеноз. В то время как при пороке ТАК створки, как правило, истончены и в большей степени подвержены очаговым миксоматозным изменениям. У пациентов с ДАК необходимость в оперативном вмешательстве на АоК и восходящей Ао возникает в более молодом возрасте при менее выраженных изменениях морфологии стенки Ао по сравнению с пациентами с пороком ТАК.

ФОТОБИОМОДУЛЯЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИОСАТЕЛЛИТОЦИТОВ В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Takhaviev P.V.^{1,2}, Golovneva E.S.^{1,2}, Briukhin G.V.¹

¹ *ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск*

² *ГБУЗ Многопрофильный центр лазерной медицины, Челябинск, Россия*

PHOTOBIO-MODULATION AND QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF MYOSATELLITOCYTES IN REGENERATING SKELETAL MUSCLE TISSUE

Takhaviev R.V.^{1,2}, Golovneva E.S.^{1,2}, Briukhin G.V.¹

¹ *South Ural State Medical University, Chelyabinsk*

² *Multidisciplinary Center for Laser Medicine, Chelyabinsk*

Введение. Лазерное облучение является универсальным методом, используемым в терапии и обладает множеством положительных и специфических эффектов. Инфракрасная фотомодуляция осуществляет своё влияние, в том числе, посредством усиления пролиферации, изменения активности ферментов, уровня синтеза белка, проницаемости мембраны и экспрессии генов. Низкоинтенсивное зеленое лазерное излучение является малоизученным средством и его влияние на регенерацию скелетных мышц не изучалось. При этом, существуют единичные работы, указывающие на стимулирующие пролиферацию и дифференцировку эффекты. Миосателлитоциты являются камбиальными клетками скелетной мышечной ткани, по большей части гиперхромны и при активации экспрессируют группу миогенных факторов, в том числе MyoD. Исходя из этого, целью настоящего исследования явилось сравнение влияния инфракрасной и зеленой фотомодуляции на плотность расположения MyoD⁺ ядер и соотношение гипохромных и гиперхромных ядер.

Материалы и методы. В эксперименте было использовано 120 самцов крыс (Wistar) в возрасте 4-6 месяцев. Для достижения поставленной цели были сформированы 3 экспериментальные группы: I группа – контрольная (резанная рана m. gastrocnemius без дополнительного воздействия) (n = 40); II группа – опытная (резанная рана с использованием инфракрасной фотобиомодуляции экспозицией в 1 минуту) (n = 40), III группа опытная (резанная рана с использованием зеленой фотобиомодуляции экспозицией в 1 минуту) (n = 40). Производился надрез m. gastrocnemius скальпелем с глубиной 2 мм. Воздействие осуществляли лазерным аппаратом ИРЭ «Полюс» с длиной волны 980 нм и аппаратом «Малахит» длиной волны 520 нм, мощность 1,0 Вт, в непрерывном режиме излучения. Животных выводили из опыта на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки эксперимента. Гистологические срезы мышц окрашивались иммуногистохимически с использованием антител к MyoD. Показатель плотности расположения MyoD⁺ ядер рассчитывали на увеличении 1000 (об.×100; ок.×10) с использованием масляной иммерсии.

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ экспериментальных данных убедительно свидетельствует об увеличении количества MyoD⁺ ядер в группе применения инфракрасного и зеленого лазерного облучения на 3-и сутки на 63,7% и 108% соответственно. При этом, достоверных различий между двумя экспериментальными сроками в зоне очаговых изменений на 3-и сутки не обнаруживалось. В то же время, выявлялось увеличение плотности расположения MyoD⁺ ядер в интактной зоне в группе применения излучения с длиной волны 520 нм. На остальных сроках эксперимента достоверных различий выявлено не было. Полученные данные соотношения гипохромных и гиперхромных ядер в очаговой зоне указывают на увеличение количества гиперхромных

ядер на 3-х сутках эксперимента в группах применения лазерного облучения. В то же время, соотношение гипохромных и гиперхромных ядер в группе применения зеленой фотомодуляции отмечалось на более низком уровне, при сравнении с группой применения инфракрасного лазерного облучения. В то же время, значение соотношения гипохромных и гиперхромных ядер достоверно снижалось в группе применения инфракрасного лазера по сравнению с контролем. На 7-е сутки обнаруживалось снижение показателя, что указывает на увеличение относительного количества гиперхромных ядер в группе применения инфракрасной фотомодуляции. При этом, во II группе животных обнаруживается достоверно большее содержание гиперхромных ядер по сравнению с показателем группы применения зеленого лазерного облучения (III), соответствующего значению контрольной группы. На 14-е и 30-е сутки эксперимента не было обнаружено различий в соотношении гипохромных ядер к гиперхромным ядрам в опытных группах по сравнению с контрольной группой.

Заключение. Полученные результаты указывают на активирующее действие зеленой и инфракрасной фотомодуляции на миосателлитоциты ($MyoD^+$) скелетной мышечной ткани. Уменьшение значения соотношения количества гипохромных ядер к гиперхромным ядрам свидетельствует об увеличении относительного количества гиперхромных ядер в группах применения лазерного излучения. При этом, эффект увеличения относительного количества гиперхромных ядер был пролонгирован в группе применения инфракрасной фотомодуляции.

АДИПОЦИТЫ В ЗАЖИВЛЕНИИ МАТОЧНОЙ СТЕНКИ

Тихонова Н.Б.¹, Куликов И.А.², Фокина Т.В.¹, Алексанкина В.В.¹, Милованов А.П.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
nb-ti@hotmail.com*

²ГБУ Минздрава Московской области «Видновский перинатальный центр»

ADIPOCYTES IN THE HEALING OF THE UTERINE WALL

Tikhonova N.B.¹, Kulikov I.A.², Fokina T.V.¹, Nizyaeva N.V.¹, Milovanov A.P.¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, nb-ti@hotmail.com*

²Vidnovsky Perinatal Center

Введение. Роль жировой ткани в заживлении хирургических ран маточной стенки практически не исследована. Однако показано участие зрелых адипоцитов в заживлении кожных ран путем их трансдифференцировки в миофибробласты, которые мигрируют в

зону заживления (Shook et al 2020). В экспериментальном исследовании обнаружено непосредственное взаимодействие жирового компонента брыжейки с поврежденным участком маточной стенки и наличие адипоцитов в области восстановления поврежденных тканей (Тихонова и др. 2021). Работ по изучению адипоцитарного компонента при заживлении маточной стенки после кесарева сечения в научной литературе нами не обнаружено.

Материалы и методы. Ретроспективно исследовано 10 образцов маточно-плацентарной области без предшествующего кесарева сечения (КС) в анамнезе (гестация 39-40 недель, возраст 25-41 год), 10 образцов с рубцом на матке после КС (1-4 КС, гестация 38-40 недель, возраст 27-41 года) и 10 образцов с рубцом на матке после КС и вращением ворсин плаценты (2-5 КС, гестация 33-39 недель, возраст 24-43 года). Материал был получен из архива ГБУ «Видновский перинатальный центр» в виде парафиновых блоков. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори. Проводили иммуногистохимическое исследование на маркер жировых клеток FABP4.

Результаты и обсуждение. Жировой компонент обнаружен во всех трёх исследованных группах. В первой группе без предшествующего КС адипоциты в маточной стенке встретились только в одном случае в виде небольшой группы из 6 крупных зрелых клеток в периваскулярной зоне сосудистого слоя миометрия (10% случаев). Во второй группе с предшествующими КС в 80% случаев (8 образцов) обнаружен адипоцитарный компонент в области рубцовой ткани. Адипоциты преимущественно локализовались в серозе, в меньшей степени в периваскулярной области сосудов рубца и в двух случаях между мышечными волокнами миометрия. В серозе группы адипоцитов располагались под мезотелием и тянулись вдоль маточной стенки, в периваскулярной зоне жировые клетки группировались вокруг сосудистой стенки. Между мышечных волокон адипоциты встречались редко и в очень малых группах по 2-6 клеток. В третьей группе с предшествующими КС и вращением плаценты обнаружен адипоцитарный компонент в маточно-плацентарной области в зоне рубца в 80% наблюдений (8 образцов). Локализация адипоцитов в маточной стенке третьей группы принципиально не отличалась от локализации во второй группе с КС, но без вращающего ворсин. Вне рубцовой ткани адипоцитарный компонент в стенке беременной матки во второй и третьей группах не обнаружен. Такая локализация адипоцитов в женской беременной матке согласуется с экспериментальными данными по участию жирового компонента в заживлении маточной стенки после хирургического разреза. Динамика появления и влияние на полноценность восстановления маточной стенки жирового компонента остаётся неясной и требует дальнейшего изучения как экспериментальными методами, так и клиническими исследованиями.

Заклучение. В результате проведенного исследования стенки беременной матки без рубца после кесарева сечения, с рубцом после кесарева сечения и с рубцом после кесарева сечения и врастанием ворсин плаценты выявлен адипоцитарный компонент, несомненно связанный с наличием рубца в маточной стенке. Какова взаимосвязь наличия жировых клеток в ткани рубца и предрасположенности такого рубца к патологии врастания ворсин требует дальнейших исследований. Однако можно с большой долей вероятности предположить, что группы зрелых жировых клеток, обнаруживаемые в маточно-плацентарной области при врастании ворсин плаценты, появились там в процессе заживления маточной стенки после предшествующего кесарева сечения и не связаны непосредственно с процессом врастания ворсин.

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА НА ОСНОВАНИИ ПОДСЧЕТА ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Трегубова А.В.¹, Бадлаева А.С.¹, Табеева Г.И.¹, Асатурова А.В.¹,

¹ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И. Кулакова» Минздрава России (г. Москва)

a.asaturova@gmail.com

CHRONIC ENDOMETRITIS REPRODUCIBILITY WITH PLASMA CELLS COUNTING

Tregubova A.V.¹, Badlaeva A.S.¹, Tabeeva G.I.¹, Asaturova A.V.¹,

¹FSBI «National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov» Ministry of Healthcare of the Russian Federation;

Введение. Одной из ведущих причин женского бесплодия являются воспалительные болезни матки, среди которых лидирующую позицию занимает хронический эндометрит (ХЭ). Поэтому точная и своевременная диагностика ХЭ имеет решающее значение для планирования тактики ведения таких пациенток, выбора метода (методов) лечения и мониторинга, решения вопроса о программах вспомогательных репродуктивных технологий. Несмотря на то, что в настоящее время распространены различные подходы к морфологической/иммуногистохимической диагностике хронического эндометрита, стандартизированным, признанным в мире алгоритмом является определение и подсчет плазматических клеток в строме эндометрия. В настоящее время не существует единых референсных значений для количества плазматических клеток в строме слизистой тела матки, необходимых для подтверждения диагноза ХЭ, в зависимости от лаборатории, учреждения, страны такое количества варьирует от 5 клеток на 10 полей зрения до 1 на 10 полей зрения (при увеличении x 400). В то же время в нескольких исследованиях показано, что иммуногистохимический метод верификации плазматических клеток позволяет

существенно увеличить точность диагностики ХЭ и во производительность соответствующих диагнозов среди патологов. Для иммунофенотипирования плазматических клеток наиболее широкое применение получил маркер CD138.

Материалы и методы. в ходе исследования патологоанатомы 1-го патологоанатомического отделения с дополнительной специализацией в области гинекологической патологии (три врача со стажем работы 5, 6 и 14 лет) независимо друг от друга оценивали 50 образцов эндометрия гистологическим и иммуногистохимическим (ИГХ) методами (верификация экспрессии CD138 (syndecan-1) (B-A38, CELL MARQUE), ready to use). Для стандартизации оценки препаратов был сформирован датасет полноразмерных изображений всего слайда (whole slide image, WSI) с помощью сканера Aperio T2 (Leica, Германия).

Результаты. Порог диагностики ХЭ составлял ≥ 5 плазматических клеток на 10 полей зрения при увеличении $\times 400$. Для оценки воспроизводимости диагнозов между врачами-патологоанатомами использовался коэффициент каппа Коэна. Воспроизводимость была минимальной (0,253-0,389) для образцов, окрашенных гематоксилин-эозином, и от умеренной до отличной (0,670-1,000) для иммуногистохимических образцов, окрашенных CD138.

Заключение. В результате проведенного исследования было выявлено, что использование маркера плазматических клеток CD138 значительно улучшило воспроизводимость результатов между исследователями. Данное иммуногистохимическое окрашивание также может быть успешно использовано для автоматизированного подсчета плазматических клеток с помощью машинного обучения. В дальнейшем мы планируем применение нового маркера плазматических клеток, MUM1, который имеет ядерную экспрессию, более пригодную для компьютерного зрения, чем мембранная, характерная для CD138. Кроме того, у MUM1 отсутствует положительный внутренний контроль (окрашивание железистого эпителия), что позволит снизить число случаев ложной верификации плазматических клеток, за которые нейросеть ошибочно принимает клетки многослойного плоского эпителия влагалищной порции шейки матки, которые могут присутствовать в соскобе из полости матки, а также клетки эпителиоцитов маточных желез. Исследование выполнено в рамках выполнения государственного задания № 223013000171-

РЕЦИДИВЫ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

***Фаттахов А.Р.,** Баринова И.В., Кардава И.В.*

ГБУЗ МО МОНИИАГ, Москва, 1983fattakhov@gmail.com

RECURRENCE OF SQUAMOUS CELL INTRAEPITHELIAL LESIONS OF THE CERVIX UTERI

***Fattakhov A.R.,** Barinova I.V., Kardava I.V.*

Moscow Regional Research Institute Of Obstetrics And Gynecology, Moscow,

1983fattakhov@gmail.com

Moscow Regional Scientific Research Institute of Obstetrics and Gynecology.

Введение. Конизация шейки матки является рекомендуемым методом лечения плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени тяжести (HSIL), поскольку это относительно безопасная и недорогая амбулаторная процедура, которую можно проводить под местной анестезией (Miranda C, Oliveira S et al., 2022). В качестве одного из видов конизации шейки матки широко применяется петлевая электрохирургическая процедура эксцизии (LEEP) с идеальным терапевтическим эффектом. Тем не менее, у 2–48 % пациенток с HSIL, которым выполнена LEEP, отмечаются рецидивы HSIL (Zhu M, He Y, Baak JP et al., 2015). Важное значение в возникновении рецидивов поражения имеют патологические изменения в краях резекции, что требует более тщательного наблюдения в послеоперационном периоде. У пациенток, которым проводили лечение по поводу HSIL шейки матки, отмечается повышенный риск развития вагинальной интраэпителиальной неоплазии (VaIN). Временной период, в течение которого развивается VaIN, может составлять от 2 до 17 лет после оперативного лечения поражения шейки матки.

Материалы и методы. Мы наблюдали рецидивы HSIL шейки матки у 5 пациенток после первичной конизации. Первоначальный диагноз HSIL был установлен по данным цитологического исследования с последующей биопсией шейки матки. Показанием для повторной конизации и удаления матки с шейкой явилось наличие патологических изменений плоского эпителия в краях эксцизии – структурных особенностей HSIL во влагалищном и эндоцервикальном крае конуса. Повторные конизации и радикальные операции были выполнены через 2 недели - 5,5 месяцев после первичной конизации. Двум пациенткам, 29 и 36 лет, были выполнены повторные конизации шейки матки, еще двум - 41 года и 44 лет - после первичной и повторной конизации выполнены экстирпация матки с маточными трубами, а одной пациентке 52 лет - робот-ассистированная пангистерэктомия. Макроскопически операционный материал от первой и повторной конизаций отличался количеством и размерами присланных фрагментов шейки матки. У пациенток иссекались по

2-3 фрагмента диаметром 1-4 см и толщиной 0,3-0,6 см. Весь материал исследования был представлен конусами шейки матки, присланными в виде 13 фрагментов (115 образцов ткани) и тремя шейками матки после радикальных операций (46 образцов ткани), исследованными без архива. Изучались морфометрические показатели – количество и глубина крипт, протяженность поражения в поверхностном эпителии, количество и глубина пораженных крипт.

Известно, что слизистая оболочка цервикального канала на передней и задней поверхностях имеет продольные гребни, от которых под углом отходят складки с ворсинчатоподобными образованиями, способствующими формированию расщелин и углублений в виде трабекулярных крипт количеством до 100 и глубиной 3-5 мм, (Кондриков Н.И., Барина И.В., 2019).

Результаты и обсуждение. В наших исследованиях в первичных конусах максимальная глубина эндоцервикальных крипт составила 5 мм, максимальная глубина распространения HSIL в криптах – 2,5 мм, максимальное количество эндоцервикальных крипт в конусах – 79, вовлеченных в патологический процесс – 13, максимальная протяженность поражения в поверхностном эпителии – 12 мм. В повторных конусах максимальная глубина эндоцервикальных крипт составила 3,3 мм, максимальная глубина распространения HSIL в криптах – 1,5 мм, максимальное количество крипт в конусах – 78, вовлеченных в патологический процесс – 5, максимальная протяженность поражения в поверхностном эпителии – 5 мм. Шейки матки после конизации, удаленные вместе с телом матки, имели размеры 4х3 см (2 конизации в анамнезе), 3х4х2 см (1 конизация в анамнезе) и 2,5х4 см (1 конизация в анамнезе). Максимальная протяженность HSIL в поверхностном эпителии составила 10 мм, максимальная глубина эндоцервикальных крипт – 7 мм, максимальное количество крипт – 121, количество крипт, вовлеченных в патологический процесс – 13, максимальная глубина распространения HSIL в криптах – 2,4 мм. У двух пациенток, после первичной и повторной конизации, мы не обнаружили распространения HSIL в крипты эндоцервикса в удаленной шейке.

У всех пациенток в первичных конусах отмечались патологические изменения в виде HSIL в краях эксцизии: у двух - в эндоцервикальном крае эксцизии, у троих - во влагалищном крае. При повторных операциях во всех наблюдениях в материале конизаций и удаленных шейках имелись структурные особенности HSIL с локализацией в поверхностном эпителии, а также в криптах. Лишь у одной пациентки в удаленной шейке матки мы обнаружили плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки высокой степени тяжести во влагалищном крае операции. Морфометрия удалённых технически фрагментированных конусов, обусловленных деформацией шейки матки, свидетельствует о необходимости

иссечения достаточных по протяженности и объему ткани шейки матки. Максимальная глубина крипт в конусах составила 5 мм, а в удаленной с телом шейке достигала 7 мм. Большее значение в удаленном конусе имеет количество крипт, вовлеченное в HSIL, весьма значительное – до 13, при повторной конизации – 5. Также важное значение имеет максимальная протяженность поражения в поверхностном эпителии, достигая 12 мм.

Наличие патологических изменений в краях эксцизии в первичных конусах во всех наших наблюдениях приводили к рецидиву HSIL. Для более широкого удаления патологических изменений выполняются радиоволновая конусная большая петлевая эксцизия зоны трансформации (LLETZ), как с применением «волнообразного паруса», так и «треугольного паруса». Мы сопоставили размеры иссеченных конусов, где сохраняются интраэпителиальные поражения в эндоцервикальных криптах. Результаты морфометрии показали, что при использовании гинекологами «волнообразного паруса» объем эндоцервикального края эксцизии составляет 0,8 мм³ при толщине его 0,5-0,6 см, а «треугольного паруса» - 0,2 мм³ при толщине его 0,3 см.

Заключение. Среди вероятных причин так называемых рецидивов HSIL обсуждается ряд факторов, в том числе персистенция вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска, высокая вирусная нагрузка, состояние местного иммунитета шейки матки. Однако обнаружение HSIL в краях эксцизии свидетельствует о том, что основной причиной рецидивов является неполное иссечение патологического очага, как в поверхностном эпителии слизистой оболочки цервикального канала, так и в многочисленных достаточно глубоких криптах эндоцервикса.

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МАТОЧНО-ПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСА

Фокина Т.В.¹, Милованов А.П.¹

*¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва,
tatyana-doc-6@mail.ru*

IMMUNOHISTOCHEMICAL EXAMINATION OF THE UTERO-PLACENTAL COMPLEX

Fokina T.V.¹, Milovanov A.P.¹

*¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution
"Petrovsky national research centre of surgery", Moscow, tatyana-doc-6@mail.ru*

Введение. В репродуктивном здоровье женщин при физиологической и патологической беременности иммуногистохимически недостаточно изучены ключевые механизмы

децидуализации эндометрия матки во время беременности и плацентации в системе «мать-плацента плод». Особенно важна роль маточно-плацентарного комплекса (МПК) – непосредственного контакта (взаимодействия) двух антигенно чужеродных слоев: децидуального матки и цитотрофобласта (ЦТ) плаценты плода. Цель исследования - Оценить роль иммунофенотипических изменений децидуальных клеток (ДК) и эпителиоцитов желез эндометрия в развитии цитотрофобластической инвазии в I-ом триместре нормальной беременности, а также в патогенезе неразвивающейся беременности (НБ) эндокринной природы.

Материалы и методы. Соскобы эндометрия (abrasio) от 88 женщин, 47 из которых пожелали прервать беременность в I-ом триместре (группа сравнения) и 41 женщина с НБ. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование выполняли на депарафинированных срезах непрямым иммунопероксидазным методом. В качестве маркеров использовали первичные мышиные моноклональные антитела: для идентификации интерстициального цитотрофобласта – к цитокератину-8, для определения типов ДК – к десмину, структур мезодермальной природы – виментину, для определения функциональной активности эндометрия (ДК и эпителиоцитов желез) – IGFBP-1 (белок, связывающий инсулиноподобные факторы роста) и гликоделин, а также антитела к металлопротеиназам (ММР2 и ММР9) и их ингибиторам – системы TIMPs (TIMP1 и TIMP2).

Метод ИГХ использовался для определения: функциональных возможностей данного МПК, дифференцировки структур, взаимодействия клеточного состава и выделения тех или иных компонентов (ферментов, гормонов, рецепторов к ним). Сложность заключается в том, что на рутинных гистологических окрасках иммунофенотипические клетки, однотипные по структуре, ИГХ разделяются на ряд популяций, несущих различные функции.

Результаты и обсуждение. Цитотрофобластическая инвазия (ЦТИ) в МПК – это ключевой механизм имплантации и плацентации у человека, реализуемый посредством пролиферации и миграции вневорсинчатого ЦТ до спиральных артерий эндометрия, инвазии в их стенки с формированием устьев, открывающихся в межворсинчатое пространство плаценты и возникновением маточно-плацентарного кровотока. Важнейшим регулирующим механизмом ЦТИ является децидуализация стромальных клеток эндометрия. Децидуализированный эндометрий с одной стороны способствует миграции ЦТ, т.к. ДК синтезируют ламинин и коллаген 4 типа, с другой – препятствуют излишнему распространению ЦТ посредством синтеза в ДК его ингибиторов (TIMP1 и TIMP2), а также инсулиноподобного фактора роста, связанного с белком IGFBP-1 (плацентарный альфа-1 микроглобулин, ПАМГ). Доказано, что функциональный пик и затухание первой волны ЦТИ в течение I-го триместра нормальной беременности осуществляются в условиях

этапной децидуализации стромы париетального и, особенно, базального эндометрия. Происходит смена фенотипа и спектра функций ДК, различные типы которых активируют или ингибируют степень инвазии интерстициального и внутрисосудистого ЦТ.

Изучали функциональную активность эндометрия при нормальной беременности и НБ.

Для децидуальной реакции эндометрия в I-ом триместре физиологической беременности характерна этапная структурно-функциональная перестройка клеток стромы: от фибробластоподобных клеток-предшественников и десмин-положительных миофибробластов через стадию виментин- и IGFBP-1-положительных клеток промежуточного типа к эпителиоидным ДК не экспрессирующим данные маркеры.

На пике активности первой волны ЦТИ (6, 7, 8 нед. после оплодотворения) в слизистом слое матки иммуновизуализировано максимальное количество виментин-положительных ДК и единичные IGFBP-1-экспрессирующие ДК. В период завершения первой волны ЦТИ и появления тупиковых форм ЦТ – многоядерных гигантских клеток (9, 10 нед. после оплодотворения) доминирующими становятся IGFBP-1-продуцирующие ДК.

Эндометрий при НБ, обусловленной гипоэстрогенией, характеризуется выраженной ретардацией желез, при уменьшении экспрессии гликоделина в эпителиоцитах. ЦТИ становится менее выраженной, чем при физиологической беременности. В эндометрии при НБ, связанной с дефицитом прогестиннов, выявляется незавершенная децидуализация стромы, уменьшение количества эпителиоидных клеток, увеличение числа десмин-, виментин- и IGFBP-1-положительных ДК и экспрессии IGFBP-1 в эпителиоцитах желез.

Заключение. Иммуногистохимическое исследование дает возможность достоверно визуализировать типы клеток материнского и плодного происхождения и их функциональную активность в довольно сложном по составу маточно-плацентарном комплексе.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АСТРОЦИТАРНОЙ ПОПУЛЯЦИИ В РАЗВИВАЮЩЕМСЯ ПЕРЕДНЕМ МОЗГЕ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

Харламова А.С.¹, Кривова Ю.С.¹, Юнеман О.А.¹, Прошина А.Е.¹, Савельев С.В.¹

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва

ASTROCYTE HETEROGENEITY IN THE DEVELOPING HUMAN TELENCEPHALON

Kharlamova A.S.¹, Krivova Yu.S.¹, Junemann O.A.¹, Proshchina A.E.¹, Saveliev S.V.¹

¹Avtsyn research institute of human morphology of federal state budgetary scientific institution "Petrovsky national research centre of surgery", Moscow

Введение. Морфология, профили экспрессии, и соответственно, функциональные

особенности астроцитов могут существенно отличаться в зависимости от локализации, как между крупными регионами головного мозга, так и в их пределах. Так, в пределах коры головного мозга млекопитающих принято выделять протоплазматические астроциты (ПА) серого вещества и волокнистые астроциты (ВА) белого вещества, а также наиболее рано дифференцирующиеся астроциты маргинальной зоны (mz). Пределы нормы и пространственно-временные паттерны глиальной дифференцировки, также, как и гетерохронии глиогенеза в случае созревания переднего мозга человека, остаются малоизученными. Для ПА у млекопитающих показано два глиогенных источника – вентральные желудочковые возвышения, и дорсальная вентрикулярная зона. Предполагается, что вентрикулярная радиальная глия на ранних этапах дифференцировки дает прогениторные клетки внешней субвентрикулярной зоны – источник основных проекционных нейронов коры, – и промежуточные прогениторные клетки – источник ПА. Тогда как в поздней дифференцировке (после раннего фетального периода) для ПА, олигодендробластов серого вещества, а также вставочных нейронов обонятельных луковиц предполагается общий источник из когорты промежуточных радиальных клеток (Yang 2022). Также на модельных видах показано, что ВА и олигодендробласты, как и предшественники интернейронов коры мигрируют тангенциально из области желудочковых возвышений. Происхождение олигодендробластов, в том числе, корковой пластинки, из латерального желудочкового возвышения и интерпедункулярной зоны перегородки показано на плодах человека на префетальном и в начале раннего фетального периодов (Харламова и др. 2018). Для ВА происхождение не из подкорковых герминативных зон пока не подтверждено, хотя и не исключается (Tabata, 2015). Различные линии дифференцировки основных клеточных популяций переднего мозга и их источники выделяют на основании их транскрипционного/трансляционного профилей. При этом не существует универсального пан-астроцитарного маркера для характеристики популяции на всех стадиях дифференцировки во всех регионах переднего мозга (Holst et al., 2019). Для характеристики астроцитарного глиогенеза у плодов человека мы использовали четыре маркера (анти-GFAP, ALDH1L1, FABP-7, Sox9), характерных по литературным данным для астроцитарной популяции на разных стадиях дифференцировки, включая зрелые астроциты.

Материалы и методы. Работа выполнена на аутопсийном материале плодов человека из коллекции лаборатории развития нервной системы НИИМЧ им. ак. А.П. Авцына. Для иммуноморфологического исследования с использованием иммунопероксидазной метки, иммунофлюорисцентной и комбинированных меток были отобраны полушария головного мозга от 38 плодов человека на сроках от 8 недель после оплодотворения до рождения.

Результаты и обсуждение. Созревание и специфическая дифференцировка

астроцитарной популяции мозга человека начинается не позднее рубежа префетального и раннего фетального периода (12-13 недель гестации). Временной профиль трансляционных карт по GFAP- и ALDH1L1-антигенам отличается с некоторым опережением распространения ALDH1L1-метки по провизорным зонам переднего мозга. Полученные данные поддерживают более универсальный характер анти-ALDH1L1 как пан-астроцитарного маркера для корковой пластинки, но не для провизорных зон коры. Результаты экспериментов двойного иммунофлюорисцентного мечения свидетельствуют о неоднородности ВА популяции: в развивающемся белом веществе плодов на этапе позднего фетального периода и у новорожденного присутствуют как клетки с колокализацией метки ALDH1L1+/GFAP+, так и ALDH1L1-/GFAP+ и ALDH1L1+/GFAP-. Распределение GFAP+ и ALDH1L1+глиобластов в провизорных зонах стенок полушарий не исключают происхождение волокнистых астроцитов из дорсальных пролиферативных зон переднего мозга. Продукты экспрессии FABP-7 и Sox9 появляются в переднем мозге сравнительно рано – уже в начале раннего фетального периода, однако профили распределения метки по этим антигенам отличаются. Сравнительная иммуноморфология распределения FABP-7-иммунореактивности в переднем мозге плодов человека ставит под вопрос принадлежность FABP-7-нейробластов к астроцитарной популяции на внутриутробном этапе развития человека: пространственно-временной трансляционный профиль по FABP-7 отличается от паттернов распределения ALDH1L1/GFAP, а эксперименты с двойным и тройным мечением показали крайне редкую колокализацию FABP-7-метки с другими астроцитарными маркерами.

Заключение. Иммуноморфологическое исследование развивающегося переднего мозга плодов человека на разных стадиях гестации показало, что пространственно-временные профили трансляции развивающегося переднего мозга к использованным антигенам отличаются, что свидетельствует о гетерогенности астроцитарной популяции уже в раннем онтогенезе человека.

Эта работа поддержана грантом РФФ № 22-25-00370.

**ИЗУЧЕНИЕ ОБЛАСТИ ПОДАОРТАЛЬНОГО КОНУСА СЕРДЦА КРЫС
С ПОМОЩЬЮ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ВЫЯВЛЕНИЯ
ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА**

Чумасов Е.И.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, ua1ct@mail.ru

STUDY OF THE AREA OF THE SUB-AORTAL CONE OF THE HEART OF RATS

USING IMMUNOHISTOCHEMICAL DETECTION OF THE WILLEBRAND FACTOR

Chumasov E.I.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg

Введение. Применение иммуногистохимической реакции на фактор Виллебранда (фВ) позволяет изучать морфофункциональные особенности эндотелиальных клеток кровеносных сосудов разных отделов сердца. Ранее показано, что один из белков свертываемости крови фактор Виллебранда содержится в эндотелиальных клетках (ЭК), в макрофагах, тромбоцитах, а также выявляется в виде различных размеров гранул и мелкой зернистости среди форменных элементов плазмы крови (Коржевский и др., 2017; Чумасов и др., 2019). Целью настоящей работы явилось исследование с помощью применения иммуногистохимической реакции на фактор Виллибранда области, называемой подаортальным конусом (infundibulum) в сердце крыс разного возраста.

Материалы и методы. Работа выполнена на новорожденных крысятах и крысах Вистар в возрасте 3-4 мес и 18-19 мес (n=15). Материал фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида. Иммуногистохимическая реакция проводилась на парафиновых срезах. Для выявления белка свертываемости крови фВ использовали поликлональные кроличьи антитела в разведении 1:250 («Дако», Дания). В качестве вторичных антител применяли реагенты из набора «Reveal Polyvalent HRP/ DAB Detection System kit» («SpringBioscience», США). Для визуализации продукта ИГХ реакции использовали хромоген DAB⁺ («Дако», Дания). Часть срезов подкрашивали толуидиновым синим.

Результаты и обсуждение. Подаортальный конус (ПАК) представляет собой полость, которая ограничена плотной тканью фиброзного кольца и клапанного аппарата, и является продолжением полости левого желудочка. ПАК имеет форму треугольника. Широкая сторона треугольника обращена к створкам и отверстию аортального клапана, а вершина - связана с полостью левого желудочка и в ней нередко наблюдается кровенаполнение и стаз эритроцитов (ЭР). Установлено, что в этом отделе сердца, эндотелиоциты выстилающие полость характеризуются избирательной иммуноположительной реакцией к белку свёртываемости крови фВ. Их гипертрофированные тела окрашиваются в черный цвет, что служит отражением определённого функционального состояния клеток эндотелия, их морфологических и функциональных признаков гипертрофии, синтеза и секреции путем экзоцитоза белковых гранул в плазму крови. Прослежено, как от поверхности цитоплазмы ЭК в полость ПАК выделяются фВ⁺ различных размеров гранулы, включая структуры, сходные с тельцами Вейбеля—Паладе; которые распределяются диффузно либо очагово между ЭР и лейкоцитами. Кроме перечисленных фВ-содержащих элементов в ПАК часто присутствуют различных размеров и формы пигментные структуры. Они имеют вид глыбок,

очаговых скоплений, окрашенных в интенсивно черный цвет, и часто встречаются у взрослых животных в соединительной ткани фиброзного кольца и створок клапанов. Некоторые из них прилежат к поверхности эндотелия створок клапанов и частично эндокарда предсердий и желудочков. Глыбки пигмента и зернистость обнаруживаются в ткани фиброзного кольца, а также между пучками мышечных волокон. Важно отметить, что в сердце новорожденных крысят структуры с признаками фВ-иммунопозитивной зернистости и пигментные образования не встречается. В крови подаортального конуса половозрелых (3-4 мес) и стареющих крыс концентрация специфической фВ-положительной зернистости и скоплений глыбок пигмента заметно увеличивается по сравнению с новорожденными крысятами. Такая же гетерохронность появления очаговых скоплений структурных элементов, сходных с тельцами Вейбеля-Паладе обнаружена в соединительной ткани миокарда, между капиллярами и миокардиальными волокнами. Предполагается, что появление фВ⁺ белков свертываемости крови в интерстиции миокарда связано с физиологической регенерацией и гибелью эндотелиальных клеток сосудов МЦР сердца.

Заключение. Установлено, что в сердце крыс с возрастом параллельно с морфологическими изменениями повышается секреторная активность выброса белка фВ из эндотелиальных клеток в плазму крови. Впервые в полостях корня аорты и подаортального конуса удалось обнаружить массовое скопление палочковидных телец, сходных с тельцами Вейбеля—Паладе, тромбоцитов, фагоцитарных клеток, пигментированных структур, а также проследить начальные стадии образования тромбов. Полученные данные представляют интерес не только для морфологов, но и для клиницистов и могут иметь важное прогностическое и профилактическое значение. нении. авторов. WAGNER, J. B. O VICTOR J. MARDER

СТАРЕНИЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗ. НОВЫЕ АСПЕКТЫ

Шапошников А.В.¹, Непомнящая Е.М.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» МЗ РФ,

Ростов-на-Дону, alexshap@donpac.ru

AGING AND CARCINOGENESIS. NEW ASPECTS

Shaposhnikov A.V.¹, Nepomnyashchaya E.M.¹

¹National Medical Research Center for Oncology, Rostov on Don, alexshap@donpac.ru.

Введение. Старение – один из важнейших факторов канцерогенеза, охватывающий организм человека на органно-системном и клеточно-молекулярном уровнях. Данные мировой и отечественной статистик свидетельствуют о прямой корреляции заболеваемости

злокачественными новообразованиями с возрастом. Экспоненциальный возрастозависимый рост количества больных, страдающих раком неоспорим и подтвержден статистическими данными многих стран. В США вероятный процент возникновения ЗНО всех локализаций для мужчин в возрасте от 10 до 49 лет равен 3,4%; в возрасте 50-59 лет – 6,1, а для лиц старше 70 лет – 31,9%, т.е. почти в десять раз выше, чем в первые 40 лет жизни. В России средний возраст онкозаболевших в 2021 г. составил 54,4 года. «Грубый» показатель заболеваемости в возрасте 20-24 года – 64,5, в возрасте 70-74 года – 1488,35, т.е. в 23 раза выше.

Материалы и методы. Проанализированы и обобщены литературные и собственные данные последних лет, касающиеся различных показателей: иммунного статуса, молекулярно-генетических маркеров, факторов пролиферации, рецепторов и лиганд, морфологических изменений в клетке и ее органеллах, участвующих в канцерогенезе при старении. Создана концепция канцерогенеза при старении, ведущую роль при этом имеет механизм сформированного секреторного фенотипа.

Результаты и обсуждение. Базовыми особенностями старения являются: дерегуляция усвоения нутриентов; эпигенетические альтерации; укорочение теломер; потеря внутриклеточных протеинов; геномная нестабильность; митохондриальная дисфункция; клеточное старение; микробный дисбаланс и др.

Однако главная роль в туморогенезе в настоящее время отводится клеточному старению, отличающемуся от органо-организменного по ряду механизмов, среди которых выделяют четыре группы событий: сформированный секреторный фенотип (ССФ), морфоизмененные клетки и ее органеллы; метаболические альтерации и макромолекулярные повреждения. ССФ представляет собой сумму белковых продуктов жизни стареющей клетки, обладающих способностью вызывать молекулярные альтерации генов и повреждение ДНК - интерлейкины (IL6, IL7, IL13, 15), протеазы (MMP-1-3-10-12-13-14, катепсин В), регуляторы роста (EGF, HGF, KGF, VEGF), рецепторы и лиганды (ICAM-1-3, EGF-R) и др. Не менее важную роль играет механизм иммуностарения, как на уровне врожденного, так и адаптивного иммунитета. Альтерации касаются практически всех иммунных клеток (нейтрофилы, моноциты, CD8+, Т-лимфоциты, CD4+, Т-хеллеры и В-клетки), особенно в зоне опухолевого микроокружения. Вместе с тем, выявлено, что на определенном этапе стареющая клетка и, в первую очередь, элементы ССФ, играют онкопротективную роль, сдерживая пролиферацию клеток. Создается обратная связь: клеточное старение ↔ опухоль. Важнейшим фактором при этом выступает время.

Заключение. Накопление дегенеративно-воспалительных заболеваний с возрастом, постоянные мутагенные экзо-эндогенные воздействия, в конечном итоге и обуславливают

системные и генетические альтерации, ведущие к злокачественному росту.

ПЛОДЫ-АКАРДИУСЫ - НАБЛЮДЕНИЯ ИЗ ПРАКТИКИ.

Шахина М.Ю.¹, Барина И.В.¹, Солодовникова Н.Г.², Алимova Н.Г.²

¹ГБУЗ МО «Московский областной НИИ акушерства и гинекологии, г. Москва

²ГБУЗ МО «Балашихинский родильный дом»

FETUS-ACARDIUSES - OBSERVATIONS FROM PRACTICE.

Shakhina M. Yu.¹, Barinova I. V.¹, Solodovnikova N. G.², Alimova N. G.²

¹GBUZ MR «MONNIAG», Moscow

²GBUZ MR «Balashikha Maternity Hospital»

Введение. Одним из редких осложнений многоплодной монохориальной беременности – является формирование плода-акардиуса, чаще - среди монозиготных двоен женского пола. Ведущей теорией развития данного осложнения считается гемодинамическая, основанная на том, что в мезенхиме стенок желточных мешков эмбрионов-близнецов образуются первые кровеносные сосуды, формирующие анастомозы между двумя будущими системами кровообращения. Один плод из двойни с нормально развитой системой кровоснабжения, а кровоснабжение акардиального плода происходит за счет обедненной кислородом крови, оттекающей из тела плода-помпы через крупный артерио-артериальный анастомоз, с развитием синдрома обратной артериальной перфузии (СОАП), который является наиболее тяжелым вариантом фето-плацентарной трансфузии или TRAP (twin reversed arterial perfusion) - синдромом близнецовой ретроградной артериальной перфузии.

Материалы и методы. Было проведено макроскопическое и микроскопическое исследование плодов-акардиусов.

Результаты и обсуждение. № 1 - пациентка Г., 32 лет, 4-я беременность 21-22 недели (в анамнезе 3 доношенные беременности). На скрининге I триместра выявлены множественные внутриутробные пороки развития центральной нервной системы 1 плода (шизэнцефалия, очаговая полимикромерия, микроэнцефалия, гидроцефалия), ацефалия 2-го плода, СОАП, множественные сосудистые анастомозы плаценты. В 14 недель беременности была диагностирована гибель плода-акардиуса и было принято решение о досрочном прекращении беременности. При патологоанатомическом исследовании послед был в виде единого диска диаметром до 15 см и толщиной 2 см, массой 207 г. Пуповина длиной 11см, толщиной 0,8 см, с краевой локализацией, тремя сосудами. В 1,5 см от ее основания отходит пуповина 2-го (акардиального) плода в виде тяжа длиной 11см толщиной 0,4 см, с двумя сосудами. Плоды женского пола, 1-й – длиной 23 см, массой 400 г, 2-й - длиной 8 см, массой 25 г, с мацерацией и пороками развития – головной конец без различимых лицевых костей,

туловище сформированное, с резко деформированными недоразвитыми конечностями - Acardius ancers. При гистологическом исследовании ворсинчатое дерево плаценты соответствует сроку беременности, с кровоизлияниями в строме отдельных ворсин, с субхориальным тромбозом; тромбоз единственной артерии и вены пуповины плода-акардиуса.

№ 2 - пациентка Т. 32-х лет, с наследственной тромбофилией высокого тромбогенного риска. Беременность 2-я (1-я беременность - медаборт в 12 недель). По данным скринингового УЗ-исследования в сроке беременности 12-13 недель выявлена киста плаценты размерами до 30 мм; в сроке 17 недель 3 дня - в полости матки 3 плодных яйца: одно - без эмбриона, в другом плодном яйце – эмбрион, без сердцебиения, в третьем - плод, соответствующий 15-16 неделям беременности; в 25 недель - размеры плода соответствуют сроку, на плодовой поверхности – анэхогенное образование больших размеров. В 36 недель беременности родился живой недоношенный мальчик. Вместе с последом выделилось образование неправильной формы, связанное с пуповиной плода. При патологоанатомическом исследовании: плацента диаметром до 16 см и толщиной 3,5 см, массой 499 г, пуповина с краевой локализацией, длиной 30 см, диаметром 1,3 см, с 3 сосудами, индекс извитости 0,8; от основания пуповины отходит пуповина 2-го плода длиной 15 см, с двумя сосудами. Плод-акардиус неправильной овоидной формы 10х5х5 см, частично покрыт кожей с волосами, с полиповидно выбухающим бурым образованием мягко-эластической консистенции с гладкой блестящей поверхностью. В области одного из полюсов плода-акардиуса имеется отверстие, напоминающее ротовое. При гистологическом исследовании плацента с признаками острой восходящей амниотической инфекции, патологической незрелостью ворсинчатого дерева (вариант недифференцированных промежуточных ворсин), признаками хронической гипоксии. Пуповина акардиуса проходит в составе амниотического тяжа, представлена аллантоисом, единственной артерией, веной с флебитом и фуникулитом. Акардиус покрыт кожей, мягкие ткани его представлены фиброзной тканью с тонкостенными сосудами, нейроглией, хориоидным сплетением и мягкими мозговыми оболочками, мышечной и жировой тканями, нервными стволами, также определяются множественные кисты с различной выстилкой.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ МАКРОФАГОВ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ 70% РЕЗЕКЦИИ У МЫШЕЙ

Гринберг М.В.¹, Ельчанинов А.В.²

¹ *ФГАОУВО «Российский университет дружбы народов»*

² *Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына*

CHARACTERISTICS OF PROLIFERATIVE ACTIVITY OF LIVER MACROPHAGES AFTER 70% RESECTION IN MICE

Grinberg M.V.¹, Elchaninov A.V.²

¹*Peoples friendship university of Russia*

²*Avtsyn research institute of human morphology of "petrovsky national research centre of surgery",
Moscow.*

Введение. Макрофаги являются ключевыми клетками, регулирующими регенерацию печени. Поддержание численности популяции органных макрофагов определяется процессами миграции, клеточной гибели и пролиферации. При этом все большее внимание исследователей отводится гибели макрофагов при повреждении органов. Предполагают, что данный процесс является необходимым явлением, которое запускает репаративные процессы в органе. Данные о выраженности митотической активности и клеточной гибели макрофагов при регенерации печени остаются фрагментарными. Цель – изучить активность пролиферации и клеточной гибели макрофагов печени, при ее регенерации после 70% резекции.

Материалы и методы. У самцов мышей линии BalbC (n=76) воспроизводили модель регенерации печени после 70% резекции, животных выводили из эксперимента через 1, 3 и 7 суток после операции. Макрофаги выделяли с помощью магнитного сортирования по маркеру F4/80. У полученных макрофагов методом проточной цитометрии изучали уровень пролиферации по маркеру Ki67 и клеточной гибели (ANNEXIN V – FITC Kit - Apoptosis Detection Kit). Полученные данные анализировали с помощью непараметрических методов статистики (Критерии Краскелла-Уоллиса и Данна). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Резекция 70% паренхимы вызывает активацию процессов пролиферации и клеточной гибели макрофагов. Макрофаги, экспрессирующие маркер клеточной пролиферации Ki67, появляются в печени через 1 сутки после резекции печени, наибольших значений индекс Ki67 достигает через 3 суток после операции (Ин Ki67=42,4%). Наибольший уровень клеточной гибели макрофагов наблюдался через 1 сутки после резекции печени (15,3%).

Заключение. Численность популяции макрофагов печени, регенерирующей после 70% резекции, определяется как пролиферацией, так и клеточной гибелью. Проллиферация носит более длительный характер, значимое увеличение числа гибнущих макрофагов отмечается только через 1 сутки после резекции печени.

СОДЕРЖАНИЕ

Номер п/п	Авторы	Название тезисов/доклада	Стр.
1	<u>Аксенова М.Г.</u> , Степанова И.И., Степанов А.А., Тихонова Н.Б., Алексанкин А.П., Низяева Н.В.	МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПАТОЛОГИИ РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА	3
2	<u>Аксенова А.А.</u> , Баринова И.В., Дзюба Г.С., Антипова И.И., Аксенов А.Н	МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТ ПРИ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛОДА И ВНУТРИУТРОБНОМ ПЕРЕЛИВАНИИ КРОВИ	5
3	<u>Алексанкин А.П.</u> , Степанова И.И., Гоуфман Е.И., Авдеева А.С., Кожемова Б.Э.	ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ КАК МЕТОД ПРЯМОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК (НЕТОЗ) В ОБРАЗЦАХ КРОВИ	7
4	<u>Алексанкина В.В.</u> , Тихонова Н.Б., Болтовская М.Н., Вишнякова П.А., Низяева Н.В.	СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ НА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫСАХ ЛИНИИ SPRAGUE DAWLEY И WISTAR	9
5	<u>Андрианова Н.В.</u> , Попков В.А., Буян М.И., Брезгунова А.А, Макиевская К.И., Буян А.И., Черкесова К.С., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Плотников Е.Ю	ВЛИЯНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ И АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙ ГОРМОНОВ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КЛЕТОК ПОЧКИ ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ	11
6	<u>Грабеклис С.А.</u> , Михалева Л.М., Козлова М.А., Арешидзе Д.А., Дыгай А.М.	ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС	12
7	<u>Грабеклис С.А.</u> , Михалева Л.М, Козлова М.А., Арешидзе Д.А., Дыгай А.М.	ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА РИТМОСТАЗ ПЕЧЕНИ КРЫС	14
8	<u>Арешидзе Д.А.</u> , Козлова М.А., Мнихович М.В., Безуглова Т.В., Черников В.П., Гиоева З.В	ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕРЕВИВАЕМОЙ МЕЛАНОМЫ В16.	16
9	<u>Борисенко И.Е.</u> , Ересковский А.В.	ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ПОДХОД К ПОИСКУ ЭФФЕКТОРОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT У НИЗШИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ	17
10	<u>Бугрова М.Л.</u> , Галкина М.В., Щелчкова Н.А., Лапшин Р.Д.	ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕДСЕРДНОГО И МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ В ГРАНУЛАХ КАРДИОМИОЦИТОВ И В ПЛАЗМЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ	19
11	<u>Волкова Л.В.</u>	АНАЛИЗ ОПЫТА МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИЧИН НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ	21
12	<u>Гагулаева Б.Б.</u>	ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СЕЛЕЗЕНКИ У КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА, ПОДВЕРГАВШИХСЯ	23

		НИЗКОДОЗОВОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ДИХЛОРДИФЕНИЛТРИХЛОРЭТАНА В ПРЕНАТАЛЬНОМ И ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДАХ ОНТОГЕНЕЗА	
13	<u>Гулимова В.И.</u> , Бузмаков А.В., Юнеман О.А., Кривоносов Ю.С., Букреева И.Н, Григорьев А.Ю., Прошина А.Е., Харламова А.С., Асадчиков В.Е., Савельев С.В.	ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ РЕНТГЕНОВСКОЙ ФАЗОКОНТРАСТНОЙ МИКРОТОМОГРАФИИ	25
14	<u>Гуревич Л.Е.</u> , Васюкова О.А., Бондаренко Е.В., Шикина В.Е., Михалева Л.М.	ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ PDX-1 В НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЯХ, НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ КАРЦИНОМАХ И РАКАХ ЖЕЛУДКА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ	26
15	<u>Гуров А.В.</u> , Дубовая Т.К., Ермолаев А.Г., Мурзаханова З.В.	МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕБНЫХ МИНДАЛИН ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ ТОКСИКО-АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМЫ I СТЕПЕНИ	28
16	<u>Джалилова Д.Ш.</u> , Мхитаров В.А., Золотова Н.А., Косырева А.М., Цветков И.С., Халанский А.С., Алексеева А.И., Макарова О.В.	МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛИОБЛАСТОМЫ 101.8 У КРЫС ВИСТАР С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ	30
17	<u>Джалилова Д.Ш.</u> , Силина М.В., Золотова Н.А., Косырева А.М., Ганцова Е.А., Цветков И.С., Мхитаров В.А., Макарова О.В.	ОСОБЕННОСТИ ИНИЦИАЦИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА У ВЫСОКОУСТОЙЧИВЫХ И НИЗКОУСТОЙЧИВЫХ К ГИПОКСИИ МЫШЕЙ C57/BL6	32
18	<u>Джалилова Д.Ш.</u> , Мартыанова А.А., Диатроптова М.А., Хакина Е.А.	ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСОВ КОБАЛЬТА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ НОРМОКСИИ И ГИПОКСИИ	34
19	Дземешкевич С.Л., Мотрева А.П., Арешидзе Д.А., <u>Козлова М.А.</u> , Черников В.П., Мершина Е.А., Мартыанова Ю.Б., Калмыкова О.В., Петрова О.В., Балашова М.С., Садекова М.А., Заклязьминская Е.В.	УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИОКАРДА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ С ОБСТРУКЦИЕЙ ПРИТОКА	36
20	<u>Дубинина Н.Н.</u> , Попп Е.А.	ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ЖЕЛТОЧНОГО МЕШКА ЧЕЛОВЕКА (МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)	38
21	<u>Ерофеева Л.М.</u> , Мнихович М.В., Безуглова Т.В.	ТУЧНОКЛЕТОЧНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ ОПУХОЛИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС	39

22	<u>Золотова Н.А.,</u> Джалилова Д.Ш., Цветков И.С., Макарова О.В.	РОЛЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЧАСТИЦ МИКРОПЛАСТИКА В РАЗВИТИИ ОСТРОГО КОЛИТА	41
23	<u>Казачков Е.Л.,</u> Затворницкая А.В., Казачкова Э.А., Воропаева Е.Е.	ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЭНДОМЕТРИИ В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОГО УЧЕНИЯ ОБ ЭПИГЕНЕТИКЕ	43
24	<u>Kalugina M. G.,</u> Gorbunov A.V.	BASILAR ARTERY OF THE HUMAN EMBRYO: THE VALUE OF THE LIMITATION OF PUBLICATION RESOURCES.	45
25	<u>Капустянов И. А.</u>	ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОГО ОТВЕТА ПРИ ТРАВМЕ СРЕДНЕМОЗГОВОГО ТЕМЕНТУМА МОЛОДИ КЕТЫ <i>ONCORHYNCHUS KETA</i>	46
26	<u>Квачева Ю.Е.</u>	АУТОПСИЙНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ «РАДИОАКТИВНЫХ ТЕЛ»	48
27	<u>Кондакова Л.И.,</u> Калашникова С.А.	МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕМЕННИКОВ ПОСЛЕ ТЕМНОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ	50
28	<u>Кондашевская М.В.</u>	СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У НЕУСТОЙЧИВЫХ И УСТОЙЧИВЫХ К СТРЕССУ КРЫС ВИСТАР ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА	52
29	<u>Косырева А.М.,</u> Джалилова Д.Ш., Цветков И.С., Макарова О.В.	ЗАВИСИМОСТЬ EX VIVO ПРОДУКЦИИ IL-1β И IL-10 АКТИВИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ У КРЫС ВИСТАР С ЛПС-ИНДУЦИРОВАННЫМ СИСТЕМНЫМ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ОТВЕТОМ	53
30	<u>Кривова Ю.С.,</u> Прошина А.Е., Отлыга Д.А., Харламова А.С., Савельев С.В.	ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ ИНСУЛИНА В α-КЛЕТКАХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА	55
31	<u>Крылов П.А.,</u> Новочадов В.В.	ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СИНТЕЗА ПРОТЕОГЛИКАНОВ СУСТАВНОГО ХРЯЦА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ У КРЫС	57
32	<u>Куделькина В.В.,</u> Косырева А.М., Копылов А.Н., Мусаева Д.У. Сюй А.В., Алексеева А.И., Захаркив А.Ю., Тимошенко В.Ю.	ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ УГЛЕРОДНЫХ ТОЧЕК НА МОДЕЛИ ГЛИОБЛАСТОМЫ И ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ПОЧКИ <i>IN VITRO</i>	59
33	<u>Макаревич П.И.,</u> Еремичев Р.Ю., Александрович Н.А., Нимирицкий П.П., Кулебякина М.А., Ткачук В.А.	РОЛЬ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОТВЕТЕ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА НА ПОВРЕЖДЕНИЕ	61
34	<u>Мезенцев И.Н.</u>	ОЦЕНКА СИНОВИТА ГОЛЕНОСТОПНОГО СУСТАВА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРООСТЕОАРТРОПАТИИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ	63
35	<u>Милованов А. П.</u>	СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КЛАССИФИКАЦИИ СПЕКТРА АТИПИЧНОЙ ПЛАЦЕНТАЦИИ (PAS)	64
36	<u>Мирошниченко Е.А.,</u> Вишнякова П.А.,	МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГКИХ	67

	Цветков И.С., Джалилова Д.Ш., Косырева А.М.	МЫШЕЙ С ОСТРЫМ РЕСПИРАТОРНЫМ ДИСТРЕСС-СИНДРОМОМ ПРИ ТЕРАПИИ ПОЛЯРИЗОВАННЫМИ ПО М2 ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОМУ ТИПУ МАКРОФАГАМИ	
37	Мнихович М.В., <u>Лозина М.В.</u> , Ширипенко И.А., Безуглова Т.В., Сидорова О.А., Тарасова П.А., Солдатова А.А., Малыгин Б.В., Кузнецов В.А., Снегур С.В., Павлова Ю.Г.	СВЯЗЬ ОПУХОЛЕВОГО ПОЧКОВАНИЯ И ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА (НА ПРИМЕРЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ)	69
38	Мнихович М.В., <u>Солдатова А.А.</u> , Ширипенко И.А., Лозина М.В., Малыгин Б.В., Кузнецов В.А., Сидорова О.А., Тарасова П.А.	ИЗГОТОВЛЕНИЕ СОСУДИСТЫХ КОРРОЗИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ: ИННОВАЦИИ И ПРАКТИЧЕСКИЙ ОПЫТ	71
39	Мнихович М.В., <u>Малыгин Б.В.</u> , Ширипенко И.А., Безуглова Т.В., Сидорова О.А., Лозина М. В., Кузнецов В.А., Тарасова П.А., Солдатова А.А.	СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРИНЕВРАЛЬНОЙ ИНВАЗИИ В ИНДУЦИРОВАННОЙ ОПУХОЛИ У КРЫС	72
40	Мнихович М.В., <u>Сидорова О.А.</u> , Романов А.В., Безуглова Т.В., Ширипенко И.А., Лозина М.В., Тарасова П.А., Солдатова А.А., Малыгин Б.В., Кузнецов В.А.	РАК ПЕДЖЕТА СОСКА: НОВЫЙ ПОДХОД К МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ	74
41	Мнихович М.В., Ерофеева Л.М., Безуглова Т.В., Ширипенко И.А., Тарасова П.А., <u>Пирогова Е.А.</u> , Сидорова О.А., Лозина М. В., Кузнецов В.А., Малыгин Б.В., Солдатова А.А.	ИММУННОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДТИПОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	76
42	Мнихович М.В., <u>Лозина М.В.</u> , Ширипенко И.А., Безуглова Т.В., Пастухова Д.А., Сидорова О.А., Солдатова А.А., Малыгин Б.В., Кузнецов В.А.	НОВЫЕ МЕТОДИКИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ И НОРМАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИИ	79
43	Мнихович М.В.,	ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В	81

	Безуглова Т.В., <u>Тарасова П.А.</u> , Ширипенко И.А., Ерофеева Л.М., Сидорова О.А., Лозина М.В., Кузнецов В.А., Малыгин Б.В., Солдатова А.А.	ИНВАЗИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА	
44	Мнихович М.В., <u>Ширипенко И.А.</u> , Безуглова Т.В., Сидорова О.А., Тарасова П.А., Лозина М.В., Скафи К.Х., Солдатова А.А., Кузнецов В.А., Малыгин Б.В.	АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ ПЕРФУЗИИ ОПУХОЛИ. ВАСКУЛОГЕННАЯ МИМИКРИЯ: ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ	83
45	<u>Могиленских А.С.</u> , Суслонова А. П., Гребенюк Е.В., Шамшурина Е.О., Сазонов С.В., Демидов С.М.	ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОТИПА КЛЕТОК В КУЛЬТУРАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ ЛЮМИНАЛЬНЫХ ПОДТИПОВ	85
46	<u>Мокроусова В.О.</u> , Хворостина М.А., Кузнецова В.С., Бухарова Т.Б., Недоруובה И.А., Васильев А.В., Миронов А.В, Попов В.К., Гольдштейн Д.В., Лосев Ф.Ф., Кулаков А.А.	БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИЛАКТОГЛИКОЛИДНЫХ МАТРИКСОВ ДЛЯ ГЕН- АКТИВИРОВАННЫХ МАТЕРИАЛОВ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ МЕТОДОМ АНТИСОЛЬВЕНТНОЙ 3D-ПЕЧАТИ	87
47	<u>Морозов В.Н.</u>	ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ МЕКСИДОЛА НА ФОНЕ 60-ТИ ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС	88
48	<u>Надеев А.П.</u> , Чернова Т.Г., Саломейна Н. В., Кретова А.С., Парахина Л.И., Парахина А.И., Хромова А.Е., Карпов М.А.	ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ	90
49	<u>Непомнящая Е.М.</u> , Ульянова Е.П., Шульгина О.Г., Алиев Т.А.	ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В РАЗВИТИИ ЛОКАЛЬНОГО РЕЦИДИВА В САРКОМАХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ	92
50	<u>Обухов Д.К.</u> , Пущина Е.В., Вараксин А.А.	ПОСТНАТАЛЬНЫЙ НЕЙРОГЕНЕЗ В ЦНС НИЗШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.	94
51	<u>Петрова Е.С.</u>	ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ В ДИСТАЛЬНОМ СЕГМЕНТЕ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И СУБПЕРИНЕВРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МСК	96
52	<u>Плотников Е.Ю.</u> , Брезгунова А.А., Андрианова Н.В., Попков В.А., Ткачев С.Ю.,	НОВАЯ МОДЕЛЬ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧКИ: ИНДУЦИРОВАННАЯ ФОТОТРОМБОЗОМ ФОКАЛЬНАЯ ИШЕМИЯ	98

	Манских В.Н., Певзнер И.Б., Зорова Л.Д., Тимашев П.С., Силачев Д.Н., Зоров Д.Б.		
53	<u>Прощина А.Е.</u> , Харламова А.С., Кривова Ю.С., Отлыга Д.А., Сонин Г.А., Дремин Е.М., Савельев С.В.	АТЛАС ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА	100
54	<u>Садыхов Н.К.</u> , Шахпазян Н.К.	СЕКРЕЦИЯ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫМИ МОНОЦИТАМИ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ	102
55	Сарыева О.П., <u>Проценко Е.В.</u>	МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО РАЗРЫВА ВНЕПЛАЦЕНТАРНЫХ ОБОЛОЧЕК У БЕРЕМЕННЫХ С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	103
56	<u>Сентябрева А.В.</u> , Мирошниченко Е.А., Косырева А.М.	МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИППОКАМПА И ЭКСПРЕССИЯ ПРО-И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС ВИСТАР ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ПОТРЕБЛЕНИЕМ $AlCl_3$	105
57	<u>Силачев Д.Н.</u> , Горюнов К. В., Шевцова Ю.А., Попов К.В.	РАЗРАБОТКА БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ЦЕЛЬЮ ТЕРАПИИ ОСТРЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА	107
58	<u>Силина М.В.</u> , Джалилова Д.Ш., Косырева А.М., Цветков И.С., Макарова О.В.	ЗАВИСИМОСТЬ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К НЕДОСТАТКУ КИСЛОРОДА У СТАРЫХ САМЦОВ КРЫС ВИСТАР	109
59	<u>Соляникова Д.Р.</u> , Брюхин Г.В.	ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БИСФЕНОЛА А НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЖЕЛТОГО ТЕЛА ЯИЧНИКОВ ПОЛОВОЗРЕЛОГО ПОТОМСТВА	111
60	<u>Степанова И.И.</u> , Степанов А.А., Тихонова Н.Б., Аксенова М.Г., Алексанкин А.П.	ПОЛУЧЕНИЕ ГИБРИДОМ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К КОМПОНЕНТАМ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛОВУШЕК	113
61	<u>Сухачева Т.В.</u> , Пеняева Е.В., Соборов М.А., Тевосов Д.Р., Хугаев Г.А., Гарманов С.В., Мироненко В.А., Серов Р.А.	МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТОРОК АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА И СТЕНКИ ВОСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ У ПАЦИЕНТОВ С ДВУСТВОРЧАТЫМ И ТРЕХСТВОРЧАТЫМ АОРТАЛЬНЫМ КЛАПАНОМ	114
62	<u>Тахавиев Р.В.</u> , Головнева Е.С., Брюхин Г.В.	ФОТОБИОМОДУЛЯЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИОСАТЕЛЛИТОЦИТОВ В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ	116
63	<u>Тихонова Н.Б.</u> , Куликов И.А., Фокина Т.В., Алексанкина В.В., Милованов А.П.	АДИПОЦИТЫ В ЗАЖИВЛЕНИИ МАТОЧНОЙ СТЕНКИ	118

64	<u>Трегубова А.В.</u> , Бадлаева А.С., Табеева Г.И., <u>Асатурова А.В.</u>	ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА НА ОСНОВАНИИ ПОДСЧЕТА ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК	120
65	<u>Фаттахов А.Р.</u> , Баринова И.В., Кардава И.В.	РЕЦИДИВЫ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ	122
66	<u>Фокина Т.В.</u> , Милованов А.П.	ОСОБЕННОСТИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МАТОЧНО-ПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСА	124
67	<u>Харламова А.С.</u> , Кривова Ю.С., Юнеман О.А., Прошина А.Е., Савельев С.В.	ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АСТРОЦИТАРНОЙ ПОПУЛЯЦИИ В РАЗВИВАЮЩЕМСЯ ПЕРЕДНЕМ МОЗГЕ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА	126
68	<u>Чумасов Е.И.</u>	ИЗУЧЕНИЕ ОБЛАСТИ ПОДАОРТАЛЬНОГО КОНУСА СЕРДЦА КРЫС С ПОМОЩЬЮ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ВЫЯВЛЕНИЯ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА	128
69	<u>Шапошников А.В.</u> , Непомнящая Е.М.	СТАРЕНИЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗ. НОВЫЕ АСПЕКТЫ	130
70	<u>Шахина М.Ю.</u> , Баринова И.В., Солодовникова Н.Г., Алимова Н.Г.	ПЛОДЫ-АКАРДИУСЫ - НАБЛЮДЕНИЯ ИЗ ПРАКТИКИ.	132
71	<u>Гринберг М.В.</u> , Ельчанинов А.В.	ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ МАКРОФАГОВ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ 70% РЕЗЕКЦИИ У МЫШЕЙ	133

Сборник научных трудов

**Всероссийской научной конференции с международным участием
«Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии. Регенеративная биология
и медицина»**

Научно-исследовательский институт морфологии человека
имени академика А.П. Авцына
ФГБНУ «российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»

Издательство ООО «Группа МДВ»

Подписано в печать 24.10.2023 Формат 60x90/8

Бумага офсетная. Усл. печ. л. 29.5

Тираж 500 экз.