

КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ
При поддержке Российского общества патологоанатомов

Том 11 | № 1 | 2022

ISSN 2226-5988 (print)

ISSN 2686-6749 (online)

**«Клиническая
и экспериментальная
морфология»**

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Периодичность 4 раза в год

Основан в 2011 году

Журнал индексируется в:

Scopus;

RSCI;

РИНЦ;

представлен в информационной
базе данных eLIBRARY.ru

Включен в перечень ВАК

Учредитель

ФГБНУ «Научно-
исследовательский институт
морфологии человека
имени академика А.П. Авцына»
117418, Москва,
ул. Цюрупы, д. 3

Адрес редакции

117418, Москва,
ул. Цюрупы, д. 3

Заведующая редакцией
Куликова К.А.

Научный редактор
Васюкова О.А.

Телефоны +7 (499) 120-13-34
+7 (499) 128-87-01

e-mail: sem.journal@mail.ru

www.sem-journal.ru

Тираж 500 экземпляров

Издательство

«Группа МДВ»

www.mdv-group.ru

Подписные индексы:

70045 по каталогу
агентства «Урал-Пресс»

70045 по каталогу «Пресса
России» через агентство АРЗИ

Свидетельство о регистрации
средства массовой информации
ПИ № ФС77-47183
от 2 ноября 2011 года.

© ФГБНУ «Научно-
исследовательский институт
морфологии человека
имени академика А.П. Авцына»

Главный редактор

Михалева Л.М., доктор мед. наук, профессор

Почетный редактор

Кактурский Л.В., член-корреспондент РАН, доктор мед. наук, профессор

Заместители главного редактора

Зайратьянц О.В., доктор мед. наук, профессор, Москва, Россия

Макарова О.В., доктор мед. наук, профессор, Москва, Россия

Ответственный секретарь

Болтовская М.Н., доктор биол. наук, профессор, Москва, Россия

Редакционная коллегия

Александрова М.А., доктор биол. наук,
Москва, Россия

Алексеева Н.Т., доктор мед. наук,
профессор, Воронеж, Россия

Андреева Е.Р., доктор биол. наук, доцент,
Москва, Россия

Банин В.В., член-корр. РАН, доктор
мед. наук, профессор, Москва, Россия

Большакова Г.Б., доктор биол. наук,
Москва, Россия

Буравков С.В., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Гарновская М.Н., кандидат биол. наук,
доцент, Чарльстон, США

Ковригина А.М., доктор биол. наук,
профессор, Москва, Россия

Коришнов А.Г., доктор мед. наук,
профессор, Гейдельберг, Германия

Кочуков М.Ю., кандидат мед. наук,
Хьюстон, США

Кушлинский Н.Е., академик РАН, доктор
мед. наук, профессор, Москва, Россия

Марков И.И., доктор мед. наук,
профессор, Самара, Россия

Никитюк Д.Б., член-корр. РАН,
доктор мед. наук, профессор,
Москва, Россия

Николенко В.Н., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Пауков В.С., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Постнов А.Ю., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Рогов Ю.И., кандидат мед. наук,
доцент, Минск, Республика Беларусь

Рыжова М.В., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Савельев С.В., доктор биол. наук,
профессор, Москва, Россия

Черняев А.Л., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Яглова Н.В., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Редакционный совет

Волошук И.Н., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Воронин К.Э., доктор мед. наук, доцент,
Чарльстон, США

Доросевич А.Е., доктор мед. наук,
профессор, Смоленск, Россия

Ермолаева С.А., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Ерофеева Л.М., доктор биол. наук,
профессор, Москва, Россия

Знойко И.Ю., кандидат биол. наук,
Чарльстон, США

Кондашевская М.В., доктор биол. наук,
доцент, Москва, Россия

Кононов А.В., доктор мед. наук,
профессор, Омск, Россия

Кравцов В.Г., кандидат мед. наук,
Тель-Авив, Израиль

Милованов А.П., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Мишнев О.Д., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Мхитаров В.А., кандидат биол. наук,
Москва, Россия

Новочадов В.В., доктор мед. наук,
профессор, Волгоград, Россия

Пархоменко Ю.Г., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Рыбакова М.Г., доктор мед. наук,
профессор, Санкт-Петербург, Россия

Фатхудинов Т.Х., доктор мед. наук,
доцент, Москва, Россия

Черников В.П., кандидат мед. наук,
Москва, Россия

Яглов В.В., доктор мед. наук, профессор,
Москва, Россия

К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами редакции.
Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции.

Перепечатка и любое воспроизведение материалов и иллюстраций в печатном или электронном виде из журнала
«Клиническая и экспериментальная морфология» допускаются только с письменного разрешения издателя.

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MORPHOLOGY

SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL
With the support of the Russian Society of Pathology

Volume **11** | No **1** | 2022

ISSN 2226-5988 (print)
ISSN 2686-6749 (online)

“Clinical and Experimental Morphology”

SCIENTIFIC AND PRACTICAL
PEER-REVIEWED JOURNAL

Frequency: 4 issues per year

Founded in 2011

The journal is indexed in:
Scopus;
Russian Science Citation Index
(RSCI);
online platform of the Russian
Science Citation Index database
eLIBRARY.RU

The Journal is included
in the current List of Scientific
Journals of the Higher Attestation
Commission of Russia
(Vysshaya Attestatsionnaya
Komissiya, VAK)

Journal founder

FSBSI “A.P. Avtsyn Research
Institute of Human Morphology”

Tsyurupy st., 3,
Moscow, 117418, Russia

Editorial office address

Tsyurupy st., 3,
Moscow, 117418, Russia

Managing editor Kulikova K.A.
Science editor Vasyukova O.A.

Tel. +7 (499) 120-13-34
+7 (499) 128-87-01

e-mail: cem.journal@mail.ru
www.cem-journal.ru

Edition of 500 copies

Publisher
“Gruppa MDV”
www.mdv-group.ru

Subscription index:

70045 according
to the “Ural-Press” agency catalog
70045 according to the “Pressa
Rosii” catalog via ARZI agency

The mass media registration
certificate ПИ № ФС77-47183
dated November 2, 2011

© FSBSI “A.P. Avtsyn Research
Institute of Human Morphology”

Editor-in-chief

Mikhaleva, Lyudmila M., Dr. Sci. Med., Professor

Honorary editor-in-chief

Kakturskiy, Lev V., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor

Deputy editors-in-chief

Zairatyants, Oleg V., Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Makarova, Olga V., Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Executive secretary

Boltovskaya, Marina N., Dr. Sci. Biol., Professor, Moscow, Russia

Editorial board

Aleksandrova, Maria A., Dr. Sci. Biol.,
Moscow, Russia

Alekseeva, Natalia T., Dr. Sci. Med., Professor,
Voronezh, Russia

Andreeva, Elena R., Dr. Sci. Biol., Associate
Professor, Moscow, Russia

Banin, Victor V., Corresponding Member
of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Bolshakova, Galina B., Dr. Sci. Biol.,
Moscow, Russia

Buravkov, Sergey V., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Chernyaev, Andrey L., Dr. Sci. Med.,
Professor, Moscow, Russia

Garnovskaya, Maria N., Cand. Sci. Biol.,
Associate Professor, Charleston, USA

Kochukov, Mikhail Yu., Dr. Sci. Med.,
Houston, USA

Korshunov, Andrey G., Cand. Sci. Med.,
Professor, Heidelberg, Germany

Kovrigina, Alla M., Dr. Sci. Biol., Professor,
Moscow, Russia

Chernikov, Valeriy P., Cand. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Dorosevich, Alexandr E., Dr. Sci. Med.,
Professor, Smolensk, Russia

Ermolaeva, Svetlana A., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Erofeeva, Lyudmila M., Dr. Sci. Biol.,
Professor, Moscow, Russia

Fatkhudinov, Timur Kh., Dr. Sci. Med.,
Associate Professor, Moscow, Russia

Kondashevskaya, Marina V., Dr. Sci. Biol.,
Associate Professor, Moscow, Russia

Kononov, Alexey V., Dr. Sci. Med., Professor,
Omsk, Russia

Kravtsov, Vladimir G., Cand. Sci. Med.,
Tel Aviv, Israel

Milovanov, Andrey P., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Kushlinsky, Nikolai E., Academician
of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Markov, Igor I., Dr. Sci. Med., Professor,
Samara, Russia

Nikityuk, Dmitriy B., Corresponding
Member of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Nikolenko, Vladimir N., Dr. Sci. Med.,
Professor, Moscow, Russia

Paukov, Vyacheslav S., Dr. Sci. Med.,
Professor, Moscow, Russia

Postnov, Anton Yu., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Rogov, Yuri I., Cand. Sci. Med., Associate
Professor, Minsk, Republic of Belarus

Ryzhova, Marina V., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Saveliev, Sergey V., Dr. Sci. Biol., Professor,
Moscow, Russia

Yaglova, Natalia V., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Editorial review board

Mishnev, Oleko D., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Mkhitarov, Vladimir A., Cand. Sci. Biol.,
Moscow, Russia

Novochadov, Valeriy V., Dr. Sci. Med.,
Professor, Volgograd, Russia

Parkhomenko, Yuri G., Dr. Sci. Med.,
Professor, Moscow, Russia

Rybakova, Margarita G., Dr. Sci. Med.,
Professor, Saint Petersburg, Russia

Voloshchuk, Irina N., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Voronin, Konstantin E., Dr. Sci. Med.,
Associate Professor, Charleston, USA

Yaglov, Valentin V., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Znoyko, Iya Yu., Cand. Sci. Biol.,
Charleston, USA

Only articles prepared in accordance with the requirements of the editorial board are accepted for publication.
The authors point of view may not coincide with that of the editorial board.

Reprinting and any reproduction of materials and illustrations in print or electronic form from the journal “Clinical and experimental morphology” are allowed only with the written permission of the publisher.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ORIGINAL RESEARCH

- Л.В. Волкова, М.С. Шушвал*
Морфологическая характеристика фоновых патологических процессов в слизистой оболочке, прилежащей к опухолевому узлу, при раке желудка кишечного типа
- 5 *L.V. Volkova, M.S. Shushval*
Morphological characteristics of background pathological processes in the mucous membrane adjacent to the tumor in gastric cancer of the intestinal type
- М.Ф. Дорфман, А.С. Гаспаров, О.И. Пацан, М.Г. Саакян, С.Ф. Дорфман*
Клинические и морфологические особенности простой и клеточной миомы
- 16 *M.F. Dorfman, A.S. Gasparov, O.I. Patsap, M.G. Sahakyan, S.F. Dorfman*
Clinical and morphological features of simple and cellular fibroids
- Е.В. Москвичев, Л.М. Меркулова, А.И. Кузнецова, О.Ю. Кострова, Е.Г. Драндрова, Г.Ю. Стручко, Е.М. Сперанская*
Иммуногистохимическая характеристика сторожевых лимфатических узлов при разных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы
- 25 *E.V. Moskvichev, L.M. Merkulova, A.I. Kuznecova, O.Yu. Kostrova, E.G. Drandrova, G.Yu. Struchko, E.M. Speranskaya*
Immunohistochemical characteristic of sentinel lymph nodes in various molecular subtypes of breast carcinoma
- В.В. Печникова, А.М. Пишихачев, Л.М. Михалева*
Клинико-морфологические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия
- 33 *V.V. Pechnikova, A.M. Pshikhachev, L.M. Mikhaleva*
Clinical and morphological features of inflammatory, precancerous, and cancerous lesions of the urothelium
- П.В. Пигаревский, С.В. Мальцева, В.А. Снегова, Н.Г. Давыдова, О.Г. Яковлева*
Белок S100A8 в атеросклеротических поражениях у человека
- 43 *P.V. Pigarevsky, S.V. Maltseva, V.A. Snegova, N.G. Davydova, O.G. Yakovleva*
Protein S100A8 in atherosclerotic lesions in humans

*A.D. Koniaeva, E.Y. Varakuta, A.E. Leiman,
E.N. Bolbasov, K.S. Stankevich*
Changes in the cellular composition
of the inflammatory infiltrate and connective tissue
of the oral mucosa in rats during wound healing using
a protective piezoelectric coating

50 *А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, А.Е. Лейман,
Е.Н. Ботьбасов, К.С. Станкевич*
Изменения клеточного состава воспалительного
инфильтрата и соединительной ткани слизистой
оболочки полости рта крыс при регенерации раны
с использованием защитного пьезоэлектрического
покрытия

*М.М. Тусупбекова, Е.А. Шарапатов,
Е.А. Пронкин, А.В. Лавриненко, Е.М. Тургунов*
Сравнительное исследование
морфологических изменений почки
и мочеточника кролика при различных способах
инфицирования

62 *М.М. Tusupbekova, Y.A. Sharapatov, E.A. Pronkin,
A.V. Lavrinenko, Y.M. Turgunov*
Comparative study of morphological changes in the
kidney and ureter of a rabbit with various methods
of infection

МЕТОДЫ TECHNICAL NOTES

Т.А. Ломановская, Т.В. Боронихина, А.Н. Яцковский
Оценка информативности морфологических
изменений эритроцитов при гипervитаминозе А
и выбор прогностических признаков
его возникновения

73 *Т.А. Lomanovskaya, T.V. Boronikhina, A.N. Yatskovskiy*
Assessment of the informative value of erythrocyte
morphological changes in hypervitaminosis A and
choice of prognostic signs of its onset

ХРОНИКА EVENTS

I научно-практическая конференция
Межрегионального танаториологического
общества «Перспективы междисциплинарного
взаимодействия для развития патологической
анатомии и судебной медицины»,
посвященная памяти Н.М. Крупнова

79 I scientific and practical conference
of the Interregional thanatoradiological society
“Prospects for interdisciplinary interaction
in the development of pathological anatomy and
forensic medicine” dedicated to the memory
of N.M. Krupnov

Морфологическая характеристика фоновых патологических процессов в слизистой оболочке, прилежащей к опухолевому узлу, при раке желудка кишечного типа

Л.В. Волкова¹, М.С. Шушвал²

¹ ФГАОУ ВО Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

² ГБУЗ Областная клиническая больница Калининградской области, Калининград, Россия

Резюме. *Введение.* Многие фундаментальные и практические проблемы, связанные с предопухолевыми изменениями в желудке, исследованы недостаточно, что указывает на актуальность их изучения как на этапах развития карцином, так и в слизистой оболочке, прилежащей к опухоли. Цель исследования – изучение частоты встречаемости, выраженности и взаимосвязей фоновых патологических процессов в слизистой оболочке желудка на разном расстоянии от опухолевого узла при карциномах желудка кишечного типа.

Материалы и методы. Исследован операционный материал 43 пациентов с карциномами желудка кишечного типа после гастрэктомии и резекций желудка (626 тканевых образцов) из опухолевого узла и прилегающей слизистой оболочки желудка на расстоянии от 1 см до линий резекции. Оценивали частоту встречаемости, степень выраженности и корреляционные взаимосвязи выявленных фоновых патологических процессов – гиперплазии эпителия, кишечной метаплазии, воспалительных и атрофических изменений.

Результаты. В слизистой оболочке, прилежащей к опухоли, выявлены гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия, воспалительные и атрофические изменения. При удалении от опухолевого узла обнаружено статистически значимое уменьшение числа случаев гиперплазии, кишечной метаплазии эпителия и атрофических изменений, снижение степени выраженности всех исследованных патологических процессов. Выявлены положительные корреляционные зависимости слабой и умеренной величины между параметрами, характеризующими патологические процессы на разном расстоянии от опухоли.

Заключение. Частота встречаемости и степень выраженности выявленных фоновых патологических процессов – гиперплазии эпителия, кишечной метаплазии, воспалительных и атрофических изменений, обнаруженных в слизистой оболочке при раке желудка кишечного типа, уменьшаются при удалении от опухолевого узла. Результаты корреляционного анализа демонстрируют возможность функциональной взаимосвязи таких процессов как эпителиальная гиперплазия, кишечная метаплазия и атрофия, а также, по-видимому, их важную роль в желудочном канцерогенезе. Обнаружение этих изменений в материале, полученном из областей линий резекции, диктует необходимость дальнейшего изучения их клинического значения.

Ключевые слова: рак желудка, гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия, воспалительная инфильтрация, атрофия

Для корреспонденции: Лариса Владимировна Волкова. E-mail: volkova16@gmail.com

Для цитирования: Волкова Л.В., Шушвал М.С. Морфологическая характеристика выявленных фоновых патологических процессов в слизистой оболочке, прилежащей к опухолевому узлу, при раке желудка кишечного типа. Клинический эксперимент. морфология. 2022;11(1):5–15. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.5-15.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 01.10.2021. Получена после рецензирования 08.11.2021. Принята в печать 16.12.2021.

Morphological characteristics of background pathological processes in the mucous membrane adjacent to the tumor in gastric cancer of the intestinal type

L.V. Volkova¹, M.S. Shushval²

¹ Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

² Regional Clinical Hospital of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russia

Abstract. Introduction. Many fundamental and practical problems associated with pre-tumor changes in the stomach have not been sufficiently studied, which indicates the relevance of their study both at the stages of carcinoma development and in the mucous membrane adjacent to the tumor. The study aimed to detect the incidence, severity, and interconnections of background pathological processes in the gastric mucosa at different distances from the tumor node in gastric carcinomas of the intestinal type.

Materials and methods. The surgical material of 43 patients with gastric carcinomas of the intestinal type after gastrectomy and resection of the stomach (626 tissue samples) from the tumor node and adjacent gastric mucosa at a distance from 1 cm to the resection lines was investigated. We assessed the frequency of occurrence, severity, and correlation relationships of the background pathological processes, i.e., epithelial hyperplasia, intestinal metaplasia, and inflammatory and atrophic changes.

Results. In the mucous membrane adjacent to the tumor, we revealed epithelial hyperplasia, intestinal metaplasia, and inflammatory and atrophic changes. There was a significant decrease in the number of cases of hyperplasia and intestinal metaplasia of the epithelium at the distance from the tumor. Moreover, we detected a decrease in the severity of all studied pathological processes. Positive moderate correlations were revealed between the parameters characterizing pathological processes at different distances from the tumor.

Conclusion. The incidence and severity of background pathological processes, i.e., epithelial hyperplasia, intestinal metaplasia, and inflammatory and atrophic changes, detected in the mucous membrane in intestine type of gastric carcinoma decrease with distance from the tumor node. The results of the correlation analysis indicate the possibility of a functional relationship of such processes as epithelial hyperplasia, intestinal metaplasia and atrophy, as well as their important role in gastric carcinogenesis. The detection of these changes in the material obtained from the areas of the resection lines indicates the need for further study of their clinical significance.

Keywords: gastric cancer, epithelial hyperplasia, intestinal metaplasia, inflammatory infiltration, atrophy

Corresponding author: Larisa V. Volkova. E-mail: volkova16@gmail.com

For citation: Volkova L.V., Shushval M.S. Morphological characteristics of background pathological processes in the mucous membrane adjacent to the tumor in gastric cancer of the intestinal type. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):5–15 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.5-15.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 01.10.2021. **Received in revised form** 08.11.2021. **Accepted** 16.12.2021.

Введение

В настоящее время общеизвестной концепцией, характеризующей этапы канцерогенеза в слизистой оболочке желудка (СОЖ) и включающей фоновые и предраковые изменения при развитии рака кишечного типа, является каскад Коррея [1]. Схема развития указанных карцином включает основные этапы: инфицирование *Helicobacter pylori*; атрофический гастрит; кишечная метаплазия и дисплазия [2]. Риск развития рака желудка увеличивается при наличии фоновых и предраковых процессов, хронического гастрита, кишечной метаплазии, атрофии, полипов фундальных желез и гиперпластических полипов, следующим этапом прогрессирования являются интраэпителиальные неоплазии без признаков стромальной инвазии – дисплазия низкой (слабой) и высокой (тяжелой) степени [2–4]. Тем не менее многие вопросы, связанные с фоновыми, предраковыми и интраэпителиальными неопластическими изменениями в желудке, остаются недостаточно изучен-

ными. Так, до сих пор неясно, является ли метаплазия предшественницей рака желудка или это просто маркер высокого риска малигнизации. Механизмы развития полной и неполной кишечной метаплазии, их взаимосвязь и возможность взаимной трансформации, роль в развитии дисплазии и рака, клональность предопухольных изменений, роль стволовых клеток в развитии кишечной метаплазии, дисплазии и карцином желудка окончательно не установлены [4]. Морфофункциональные, молекулярные и генетические особенности так называемой слизистой оболочки желудка, прилегающей к опухоли, являются предметом ряда современных исследований [5–12]. Во многих публикациях при изучении карцином желудка в качестве контроля используется гистологически нормальная ткань, прилегающая к опухоли, – Normal Adjacent Mucosa или Gastric Normal Adjacent Mucosa (NAT или gNAT, соответственно) [5]. Тем не менее имеются факты, подтверждающие уникальные характеристики NAT при различных типах

опухолей [5–12]. При изучении карциномы молочной железы в NAT выявлены такие молекулярные отличия от нормальной ткани как аллельный дисбаланс, длина теломер, транскриптомные и эпигенетические aberrации [6, 7]. Есть мнение, что ткань NAT может считаться промежуточным, морфологически нормальным, но молекулярно измененным предопухолевым состоянием, указанные отклонения определяются на расстоянии до 1 см от края опухоли [8]. Транскриптомный анализ рака простаты [9], толстой кишки [10] выявил уникальные профили экспрессии генов для NAT, возникающие в результате взаимодействия между опухолью и прилегающей тканью, что, по-видимому, опосредуется цитокинами и другими факторами, секретлируемыми опухолью. Таким образом, при сравнении опухоли и прилегающей ткани, обычно рассматриваемой в качестве нормального контрольного образца, многие потенциальные биомаркеры рака могут быть оценены неадекватно [8]. При изучении молекулярных характеристик gNAT желудка установлено, что прилегающая к опухоли слизистая оболочка отличается как от нормальной, так и от опухолевой ткани и представляет собой промежуточное состояние [5]. Не только генетические и молекулярные особенности gNAT находятся на стадии начальных разработок, но и морфологические изменения в настоящее время изучены недостаточно. Для понимания механизмов желудочного канцерогенеза, морфологических, генетических, молекулярных особенностей слизистой оболочки при раке желудка необходимо дальнейшее исследование не только фоновых и предраковых процессов до момента малигнизации, но и патологических изменений в слизистой оболочке желудка на разном расстоянии от опухолевого узла. Цель исследования – изучение частоты встречаемости, выраженности и взаимосвязей фоновых патологических процессов в слизистой оболочке желудка на разном расстоянии от опухолевого узла при карциномах желудка кишечного типа.

Материалы и методы

Проведено исследование операционного материала 43 пациентов после гастрэктомий и резекций желудка, выполненных в областной клинической больнице Калининградской области в 2017–2019 годах. Биоматериал (626 тканевых образцов) исследован в патологоанатомическом отделении ОКБ и лаборатории иммуногистохимической, патологоанатомической и клинической диагностики БФУ им. И. Канта. Выборка состояла из 43 наблюдений (23 случая – мужчины, 20 – женщины) с аденокарциномами желудка кишечного типа (ICD-0-code: 8140/3) разной степени злокачественности (G1, G2 и G3). Возраст пациентов, включенных в исследование, варьировал от 61,5 до 68,3 года. Вырезку операционного материала проводили поэтапно: определяли максимальные границы опухоли, слизистую оболочку желудка на расстоянии 1 см и 2 см маркировали цветными клипсами, фиксировали на подложке в 10% забуференном растворе формалина в течение 24 часов, затем вырезали фрагменты опухоли и СОЖ на разном удалении от опухолевого узла. Тканевые образцы получали из следующих участков: 1) опухолевый узел; 2) СОЖ на расстоянии 1 см от опухолевого узла; 3) СОЖ на расстоянии 2 см от опухолевого узла; 4) СОЖ в области проксимальной линии резекции; 5) СОЖ в области дистальной линии резекции. Проводку и заливку в парафин выполняли по стандартной методике. Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, альциановым синим в сочетании с ШИК-реакцией, по Романовскому–Гимзе. Препараты изучали при помощи микроскопа Leica DMLB (Leica Microsystems, Германия), микрофотографии получали с использованием микроскопа Leica DM 1000 (Leica Microsystems, Германия). Для объективизации данных разработали алгоритм полуколичественного морфометрического исследования в виде специальной карты – схемы, учитывающей ряд параметров гисто- и цитоархитектоники слизистой оболочки желудка, выраженность фоновых патологических процессов – гиперплазии эпителия, кишечной метаплазии, воспалительной инфильтрации и атрофии. Оценка выполнялась с помощью балльной системы подсчета выраженности патологических изменений, варьирующей в интервале от 0 до 3 баллов. При отсутствии указанных фоновых процессов оценка соответствовала 0, а при их выявлении и в зависимости от степени выраженности оценивалась как 1, 2 или 3 балла при максимально выраженных изменениях. Указанные патологические процессы оценивали полуколичественно при изучении 10 полей зрения ($\times 400$) в слизистой оболочке желудка на разном расстоянии от опухолевого узла при карциномах желудка кишечного типа. При оценке гиперплазии учитывали изменения покровно-ямочного и фовеолярного эпителия, при кишечной метаплазии, выявленной в единичных железах, балльная оценка соответствовала 1 баллу, в 5–10 железах – 2 баллам, при диффузном поражении более 10 желез – 3 баллам. Выраженность воспалительного инфильтрата составляла 1–3 балла в зависимости от его плотности и распространения в собственную мышечную пластинку. Атрофические изменения оценивали с учетом количества патологически измененных желез: при атрофии, выявленной в единичных железах, оценка соответствовала 1 баллу, в 5–10 железах – 2 баллам, при диффузном поражении более 10 желез – 3 баллам.

Данные обрабатывали статистически с помощью программ IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США): использовали критерий оценки нормальности распределения Колмогорова–Смирнова, вычисляли значения Med – медианного значения данных, Q1 и Q3 – первого и третьего квартилей, соответственно. Достоверность различий определяли с помощью U-критерия Манна–Уитни (N=43), критерия χ^2 по Пирсону, использовали методы корреляционного анализа. Учитывали статистически значимые линейные корреляционные зависи-

мости. При оценке гиперплазии учитывали изменения покровно-ямочного и фовеолярного эпителия, при кишечной метаплазии, выявленной в единичных железах, балльная оценка соответствовала 1 баллу, в 5–10 железах – 2 баллам, при диффузном поражении более 10 желез – 3 баллам. Выраженность воспалительного инфильтрата составляла 1–3 балла в зависимости от его плотности и распространения в собственную мышечную пластинку. Атрофические изменения оценивали с учетом количества патологически измененных желез: при атрофии, выявленной в единичных железах, оценка соответствовала 1 баллу, в 5–10 железах – 2 баллам, при диффузном поражении более 10 желез – 3 баллам.

мости между одноименными показателями (в случае одноименных корреляционных пар, то есть, например, между показателями «эпителиальная гиперплазия на расстоянии 1 см – эпителиальная гиперплазия на расстоянии 2 см» и т.д.) и разноименными показателями (в случае разноименных корреляционных пар, то есть, например, между показателями «эпителиальная гиперплазия на расстоянии 1 см – кишечная метаплазия на расстоянии 1 см» и т.д.) показатели отражали степень выраженности исследованных патологических процессов.

Результаты

Исследованная выборка состояла из аденокарцином кишечного типа (ICD-0-code: 8140/3) – всего 43 случая. В структуре исследованных карцином кишечного типа преобладали низкодифференцирован-

ные аденокарциномы (G3) – 20 пациентов (46,5%), умеренно дифференцированные аденокарциномы (G2) диагностированы в 18 случаях (41,8%), высокодифференцированные аденокарциномы (G1) выявлены у пяти пациентов (11,6%). Метастазы в регионарные лимфатические узлы имели место преимущественно при аденокарциномах G2 и G3, в 20 случаях (46,5%) диагностировано прорастание опухоли за серозную оболочку желудка. В СОЖ на расстоянии 1 см и 2 см от опухолевого узла, в области проксимальной и дистальной линий резекции выявлены следующие патологические процессы: гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия, воспалительная инфильтрация, нередко в сочетании с инфекцией *H. pylori*, атрофические изменения.

При эпителиальной гиперплазии (рис. 1 А) имеют место удлинение желудочных ямок, наличие широких

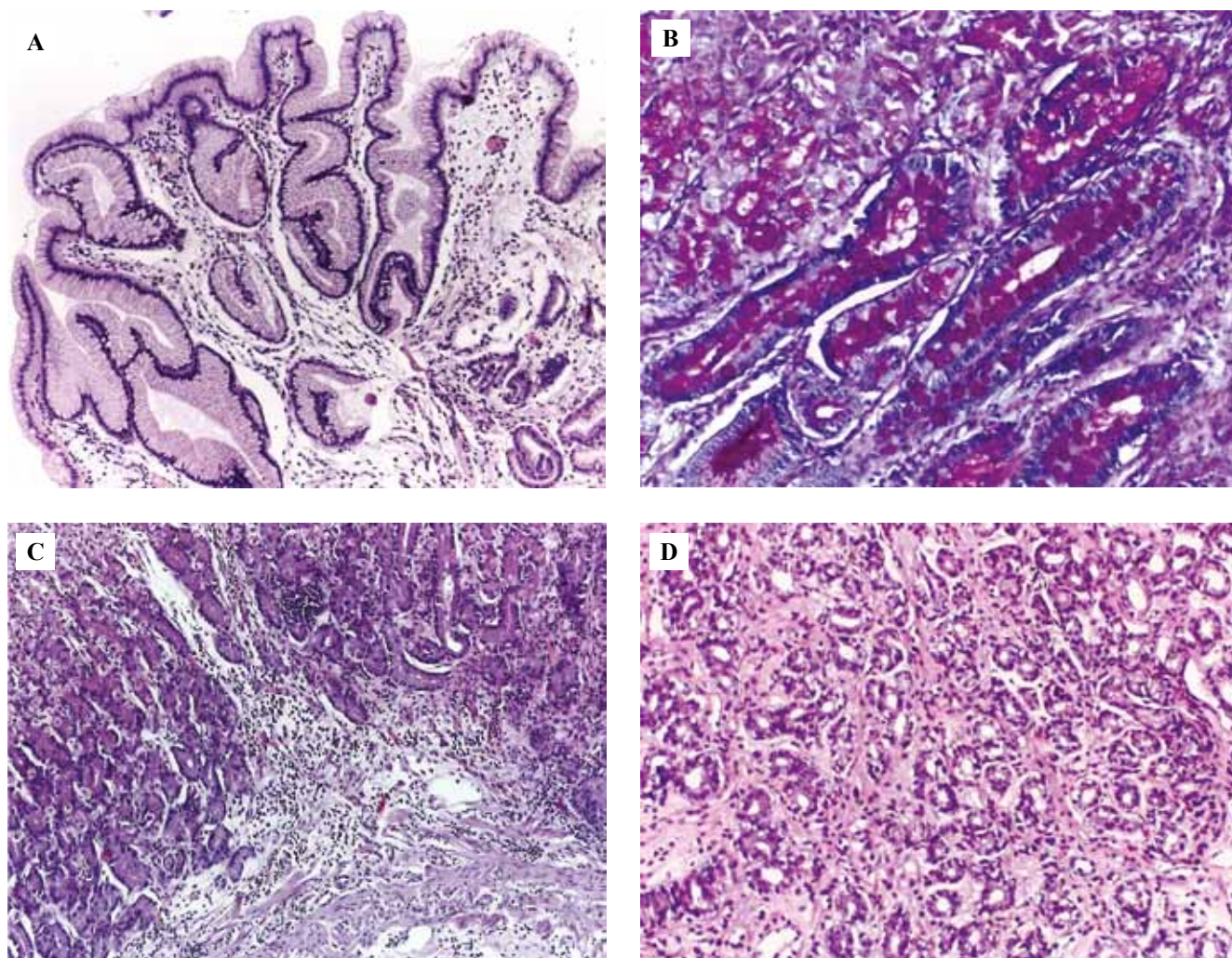


Рис. 1. Патологические процессы, выявленные в прилегающей СОЖ на расстоянии от опухоли.

А – эпителиальная гиперплазия, В – кишечная метаплазия, С – воспалительные изменения, D – атрофия.

Окраска гематоксилином и эозином (А, С, D), ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим (В).

А, С, D – $\times 100$, В – $\times 200$

Fig. 1. Pathological features identified in the adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor.

A – epithelial hyperplasia, B – intestinal metaplasia, C – inflammatory changes, D – atrophy. H&E stain (A, C, D),

PAS reaction in combination with alcian blue (B). A, C, D – $\times 100$, B – $\times 200$

ветвистых валиков, клетки покровно-ямочного эпителия увеличены в размерах и содержат большое количество муцина. Кишечная метаплазия (рис. 1 В) характеризуется замещением эпителия желудка клетками кишечного типа, присутствием бокаловидных клеток в эпителии, в исследованных образцах преобладали очаговые слабо выраженные изменения. При воспалительном процессе в слизистой оболочке обнаруживается различное количество лимфоцитов, гистиоцитов, эозинофилов и плазмочитов (рис. 1 С), характерных для хронического воспаления, в стадии обострения в инфильтрате присутствуют нейтрофильные гранулоциты. Атрофические изменения характеризуются истончением слизистой оболочки, уменьшением числа желез, изменением их формы и клеточного состава эпителия (рис. 1 D). Общее число наблюдений с выявленными патологическими процессами в прилегающей слизистой оболочке на разном расстоянии от опухолевого узла представлено на рисунке 2.

Установлено, что по мере удаления от опухолевого узла в слизистой оболочке желудка обнаруживается статистически значимое уменьшение количества таких патологических изменений как гиперплазия и метаплазия эпителия (табл. 1), снижение выраженности многих патологических процессов (табл. 2). Гиперплазия эпителия в СОЖ обнаружена в 36 случаях (83,7%) на расстоянии 1 см и в 31 наблюдении (72,1%) на расстоянии 2 см от опухолевого узла, в проксимальной и дистальной линии резекции 21 случая (48,8%) и 18 случаев (41,9%), соответственно. Кишечная метаплазия на расстоянии 1 см и 2 см от опухолевого узла выявлена в 30 (69,8%) и 15 случаях (34,9%), соответственно, в материале из проксимальной линии резекции – у 11 пациентов (25,6%), дистальной – у 10 (23,2%). В зоне кишечной метаплазии нередко обнаруживались дисрегенераторная перестройка эпителия и дисплазия желез низкой степени. Во всех случаях, как на расстоянии 1–2 см, так и по линиям резекции, имели место воспалительные изменения СОЖ. На расстоянии 1 см

от опухолевого узла преобладали признаки умеренного и выраженного воспалительного процесса, тогда как при удалении от опухоли на 2 см и больше указанные изменения менее выражены (табл. 2). Наличие *H. pylori* в образцах ткани на расстоянии 1 см и 2 см от первичного опухолевого узла выявлено в 39,5% случаев (17 наблюдений). Атрофические изменения в СОЖ имели место в 38 случаях (88,4%) на расстоянии 1 см от опухолевого узла, 36 случаях (83,7%) на расстоянии 2 см, в проксимальной и дистальной линии резекции они составили 20 случаев (46,5%) и 22 случая (51,2%), соответственно (рис. 2).

При оценке коррелируемости показателей степени выраженности различных патологических процессов в слизистой оболочке желудка при удалении от опухолевого узла аденокарциномы кишечного типа (N=43) выявлен ряд статистически значимых положительных корреляционных зависимостей (табл. 3), преимущественно слабой и умеренной величины ($0,3 < r < 0,65$) между одноименными (11) и разноименными показателями (36). Установлено, что число корреляционных связей с корреляционными парами, включающими одноименные показатели, распределилось следующим образом: гиперплазия эпителия (4), кишечная метаплазия (3), воспаление (2), атрофия (2). Корреляционные пары с разноименными параметрами включали такие показатели как гиперплазия эпителия (19), кишечная метаплазия (21), атрофия (24), воспаление (8). Положительные коэффициенты корреляции в случае корреляционных пар с одноименными показателями варьировали от 0,209 до 0,791, а коэффициенты, превышавшие +0,5, выявлены между такими показателями как эпителиальная гиперплазия, кишечная метаплазия, воспалительная инфильтрация на разном расстоянии от опухоли. Корреляционные зависимости, характеризующие взаимосвязи между разноименными показателями, были статистически значимыми, при этом величины коэффициентов корреляции варьировали от +0,256 до +0,884.

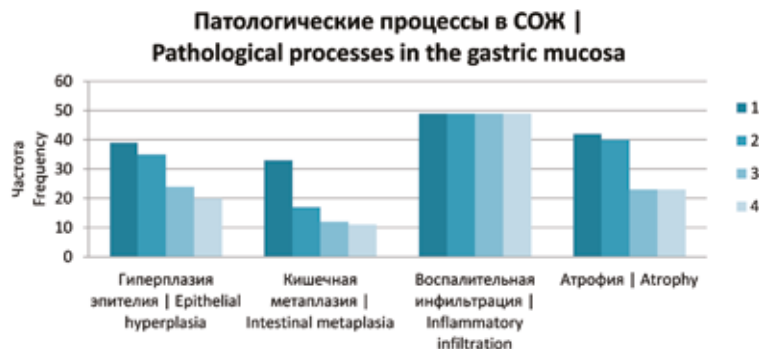


Рис. 2. Общее число наблюдений с патологическими процессами, выявленными в СОЖ на расстоянии от опухолевого узла. Слизистая оболочка желудка на расстоянии от опухолевого узла:

1 – 1 см, 2 – 2 см, 3 – проксимальная линия резекции, 4 – дистальная линия резекции

Fig. 2. The total number of cases with pathological alterations identified in the adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor. Adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor node:

1 – 1 cm, 2 – 2 cm, 3 – proximal line of resection, 4 – distal line of resection

**Изменение частоты встречаемости гиперплазии эпителия и кишечной метаплазии в СОЖ
на расстоянии от опухолевого узла |
Changes in the incidence of epithelial hyperplasia and intestinal metaplasia in the adjacent gastric mucosa
at a distance from the tumor node**

Сравниваемые процессы: N1–N2 Compared processes: N1–N2	Число случаев N 1 Number of cases N1	Число случаев N 2 Number of cases N2	Значения критерия χ^2 Pearson's χ^2 test	Уровень значимости p-value
Гиперплазия эпителия: 1–2 Epithelial hyperplasia: 1–2	36	31	1,08	–
Гиперплазия эпителия: 1–3 Epithelial hyperplasia: 1–3	36	21	10,1	0,000
Гиперплазия эпителия: 1–4 Epithelial hyperplasia: 1–4	36	18	24,1	0,000
Гиперплазия эпителия: 2–3 Epithelial hyperplasia: 2–3	31	21	4,86	0,05
Гиперплазия эпителия: 2–4 Epithelial hyperplasia: 2–4	31	18	6,83	0,001
Кишечная метаплазия: 1–2 Intestinal metaplasia: 1–2	30	15	21,2	0,000
Кишечная метаплазия: 1–3 Intestinal metaplasia: 1–3	30	11	15,3	0,000
Кишечная метаплазия: 1–4 Intestinal metaplasia: 1–4	30	10	16,9	0,000
Атрофия желез: 1–3 Atrophy of the glands: 1–3	38	20	15,3	0,000
Атрофия желез: 1–4 Atrophy of the glands: 1–4	38	22	12,4	0,000
Атрофия желез: 2–3 Atrophy of the glands: 2–3	36	20	11,5	0,000
Атрофия желез: 2–4 Atrophy of the glands: 2–4	36	22	8,94	0,000

Слизистая оболочка желудка на расстоянии от опухолевого узла: 1 – 1 см, 2 – 2 см, 3 – проксимальная линия резекции, 4 – дистальная линия резекции. Критерий χ^2 по Пирсону, N=43

Adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor node: 1 – 1 cm, 2 – 2 cm, 3 – proximal line of resection, 4 – distal line of resection. Pearson's χ^2 test, N=43

Таблица 2 | Table 2

**Изменение выраженности патологических процессов в СОЖ на расстоянии от опухолевого узла |
Changes in the severity of pathological processes in the adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor node**

Процесс Process	Med (Q1, Q3)	Различия N _x и N _y Differences N _x and N _y	Уровень значимости p-value
Гиперплазия эпителия: 1 Epithelial hyperplasia: 1	1 (0,75; 2)	–	–
Гиперплазия эпителия: 2 Epithelial hyperplasia: 2	1 (0; 1)	2–4	P<0,002
Гиперплазия эпителия: 3 Epithelial hyperplasia: 3	0 (0; 1)	1–3	P<0,006
Гиперплазия эпителия: 4 Epithelial hyperplasia: 4	1 (0; 1)	1–4	P<0,000
Кишечная метаплазия: 1 Intestinal metaplasia: 1	1 (0; 1,25)	–	–
Кишечная метаплазия: 2 Intestinal metaplasia: 2	0 (0; 1)	1–2	P<0,002
Кишечная метаплазия: 3 Intestinal metaplasia: 3	0 (0; 0)	1–3	P<0,000
Кишечная метаплазия: 4 Intestinal metaplasia: 4	0 (0; 1)	1–4	P<0,000
Воспаление: 1 Inflammation: 1	2 (1; 3)	–	–
Воспаление: 2 Inflammation: 2	2 (1; 2)	1–2	P<0,01
Воспаление: 3 Inflammation: 3	1 (0; 1)	1–3 2–3	P<0,000 P<0,000
Воспаление: 4 Inflammation: 4	1 (0; 1)	1–4 2–4	P<0,000 P<0,000
Атрофия: 1 Atrophy: 1	1 (1; 1)	–	–
Атрофия: 2 Atrophy: 2	1 (1; 1)	2–3	P<0,01
Атрофия: 3 Atrophy: 3	0 (0; 1)	1–3	P<0,000
Атрофия: 4 Atrophy: 4	1 (0; 1)	1–4 2–4	P<0,000 P<0,000

Значения указаны в формате Med (Q1,Q3), где Med – медианное значение данных, Q1 и Q3 – первый и третий квартили, соответственно. Слизистая оболочка желудка на расстоянии от опухолевого узла: 1 – 1 см, 2 – 2 см, 3 – проксимальная линия резекции, 4 – дистальная линия резекции. Достоверность различий определяли с помощью U-критерия Манна–Уитни, N=43. Сравниваемые выборки N_x и N_y указаны в графе 3 таблицы

Values are given as Med (Q1, Q3), where Med is the median value, Q1 and Q3 are the first and third quartiles, respectively. Adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor node: 1 – 1 cm, 2 – 2 cm, 3 – proximal line of resection, 4 – distal line of resection. Significance of differences was determined using the Mann–Whitney U test, N=43. Compared samples N_x and N_y are indicated in column 3 of the table

**Корреляция степени выраженности патологических процессов в СОЖ на расстоянии от опухолевого узла |
Correlation of the frequency of occurrence of pathological processes in the adjacent gastric mucosa
at a distance from the tumor node**

Корреляционные пары Correlation pairs	Коэффициент корреляции, r Correlation coefficient, r	Уровень значимости p-value
1	2	3
Одноименные корреляционные пары Correlation pairs of the same name		
Гиперплазия эпителия: 1–2 Epithelial hyperplasia: 1–2	0,209	0,037
Гиперплазия эпителия: 1–3 Epithelial hyperplasia: 1–3	0,512	0,000
Гиперплазия эпителия: 1–4 Epithelial hyperplasia: 1–4	0,209	0,037
Гиперплазия эпителия: 2–3 Epithelial hyperplasia: 2–3	0,389	0,010
Кишечная метаплазия: 1–2 Intestinal metaplasia: 1–2	0,558	0,000
Кишечная метаплазия: 1–3 Intestinal metaplasia: 1–3	0,781	0,000
Кишечная метаплазия: 1–4 Intestinal metaplasia: 1–4	0,791	0,000
Воспаление: 1–2 Inflammation: 1–2	0,419	0,000
Воспаление: 2–3 Inflammation: 2–3	0,698	0,000
Атрофия: 1–3 Atrophy: 1–3	0,349	0,006
Атрофия: 1–4 Atrophy: 1–4	0,488	0,000
Разноименные корреляционные пары Heteronymic correlation pairs		
Гиперплазия эпителия 1 – кишечная метаплазия 2 Epithelial hyperplasia 1 – intestinal metaplasia 2	0,581	0,004
Гиперплазия эпителия 1 – кишечная метаплазия 3 Epithelial hyperplasia 1 – intestinal metaplasia 3	0,791	0,000
Гиперплазия эпителия 1 – кишечная метаплазия 4 Epithelial hyperplasia 1 – intestinal metaplasia 4	0,814	0,000
Гиперплазия эпителия 2 – кишечная метаплазия 2 Epithelial hyperplasia 2 – intestinal metaplasia 2	0,372	0,025
Гиперплазия эпителия 2 – кишечная метаплазия 3 Epithelial hyperplasia 2 – intestinal metaplasia 3	0,581	0,001
Гиперплазия эпителия 2 – кишечная метаплазия 4 Epithelial hyperplasia 2 – intestinal metaplasia 4	0,605	0,000
Гиперплазия эпителия 3 – кишечная метаплазия 1 Epithelial hyperplasia 3 – intestinal metaplasia 1	0,488	0,002
Гиперплазия эпителия 3 – кишечная метаплазия 3 Epithelial hyperplasia 3 – intestinal metaplasia 3	0,279	0,017
Гиперплазия эпителия 3 – кишечная метаплазия 4 Epithelial hyperplasia 3 – intestinal metaplasia 4	0,302	0,022

Окончание табл. 3 | Table 3 (end)

1	2	3
Гиперплазия эпителия 4 – кишечная метаплазия 2 Epithelial hyperplasia 4 – intestinal metaplasia 2	0,372	0,025
Гиперплазия эпителия 4 – кишечная метаплазия 3 Epithelial hyperplasia 4 – intestinal metaplasia 3	0,581	0,001
Гиперплазия эпителия 4 – кишечная метаплазия 4 Epithelial hyperplasia 4 – intestinal metaplasia 4	0,605	0,000
Атрофия 1 – воспаление 2 Atrophy 1– inflammation 2	0,744	0,000
Атрофия 1 – воспаление 4 Atrophy 1 – inflammation 4	0,884	0,000
Атрофия 2 – воспаление 2 Atrophy 2 – inflammation 2	0,791	0,000
Атрофия 2 – воспаление 4 Atrophy 2 – inflammation 4	0,837	0,000
Атрофия 3 – воспаление 3 Atrophy 3 – inflammation 3	0,395	0,005
Атрофия 3 – воспаление 4 Atrophy 3 – inflammation 4	0,535	0,000
Атрофия 4 – воспаление 3 Atrophy 4 – inflammation 3	0,535	0,001
Атрофия 4 – воспаление 4 Atrophy 4 – inflammation 4	0,395	0,000
Атрофия 1 – гиперплазия эпителия 2 Atrophy 1 – epithelial hyperplasia 2	0,302	0,014
Атрофия 3 – гиперплазия эпителия 1 Atrophy 3 – epithelial hyperplasia 1	0,558	0,000
Атрофия 3 – гиперплазия эпителия 2 Atrophy 3 – epithelial hyperplasia 2	0,349	0,014
Атрофия 3 – гиперплазия эпителия 4 Atrophy 3 – epithelial hyperplasia 4	0,349	0,014
Атрофия 4 – гиперплазия эпителия 1 Atrophy 4 – epithelial hyperplasia 1	0,698	0,000
Атрофия 4 – гиперплазия эпителия 2 Atrophy 4 – epithelial hyperplasia 2	0,488	0,002
Атрофия 4 – гиперплазия эпителия 4 Atrophy 4 – epithelial hyperplasia 4	0,488	0,002
Атрофия 1 – кишечная метаплазия 2 Atrophy 1– intestinal metaplasia 2	0,372	0,016
Атрофия 1 – кишечная метаплазия 3 Atrophy 1 – intestinal metaplasia 3	0,581	0,000
Атрофия 1– кишечная метаплазия 4 Atrophy 1 – intestinal metaplasia 4	0,605	0,000
Атрофия 2 – кишечная метаплазия 2 Atrophy 2 – intestinal metaplasia 2	0,326	0,025
Атрофия 2 – кишечная метаплазия 3 Atrophy 2 – intestinal metaplasia 3	0,535	0,000
Атрофия 2 – кишечная метаплазия 4 Atrophy 2 – intestinal metaplasia 4	0,558	0,000
Атрофия 3 – кишечная метаплазия 1 Atrophy 3 – intestinal metaplasia 1	0,535	0,003
Атрофия 3 – кишечная метаплазия 4 Atrophy 3 – intestinal metaplasia 4	0,256	0,040
Атрофия 4 – кишечная метаплазия 1 Atrophy 4 – intestinal metaplasia 1	0,674	0,000

Слизистая оболочка желудка на расстоянии от опухолевого узла: 1 – 1 см, 2 – 2 см, 3 – проксимальная линия резекции, 4 – дистальная линия резекции. N=43

Adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor node: 1 – 1 cm, 2 – 2 cm, 3 – proximal line of resection, 4 – distal line of resection. N=43

Обсуждение

В настоящем исследовании в СОЖ на расстоянии от опухолевого узла аденокарциномы и в области линий резекции выявлены и охарактеризованы фоновые патологические процессы – гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия, воспалительная инфильтрация и атрофические изменения, в ряде случаев эпителиальная гиперплазия и кишечная метаплазия обнаружены в материале из областей проксимальной и дистальной линий резекции. Ранее в слизистой оболочке при удалении от опухолевого узла были диагностированы и описаны дисплазии низкой и высокой степени, нередко ассоциированные с воспалительной инфильтрацией, кишечной метаплазией, гиперплазией эпителия и атрофией [13]. Известны аналогичные данные, свидетельствующие о наличии морфологических изменений на разном расстоянии от очага плоскоклеточного рака полости рта в клинически нормальной слизистой оболочке, прилежащей к опухоли [14]. Полученные результаты указывают на необходимость дальнейшего изучения не только молекулярных, генетических и эпигенетических характеристик ткани [5–12], прилежащей к опухоли, но и ее гисто- и цитоархитектоники, а также на проблему оценки адекватности хирургического края резекции при аденокарциномах желудка. Есть мнение, что gNAT желудка по молекулярным характеристикам отличается от нормальной и опухолевой ткани и представляет собой промежуточное состояние [5], значение морфологических изменений в СОЖ, прилегающей к опухоли, до настоящего времени не выяснено. При оценке коррелируемости морфологических показателей, характеризующих исследованные фоновые патологические процессы при аденокарциномах желудка, установлено, что такие признаки как гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия и атрофия в слизистой оболочке, прилежащей к опухоли, характеризовались наличием статистически значимых положительных линейных корреляционных зависимостей средней и высокой величины при оценке корреляционных пар с одноименными и разноименными показателями. Корреляционные зависимости между одноименными показателями свидетельствуют о синхронности степени выраженности соответствующего фонового патологического процесса в СОЖ на разном расстоянии от опухолевого узла. Статистически значимые корреляционные зависимости между разноименными показателями указывают на возможность функциональных взаимосвязей соответствующих различных фоновых патологических процессов, а также, по-видимому, на их важную роль в желудочном канцерогенезе на этапе уже сформировавшейся опухоли. Результаты настоящего исследования, а также ряд современных публикаций [15–18] свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения феномена канцеризации поля на различных моделях и этапах канцерогенеза с помощью современных методов – морфологических и иммуногистохимических,

молекулярно-генетических, статистических, методов системного анализа и других.

Заключение

При исследовании морфологических изменений в слизистой оболочке, прилежащей к аденокарциномам желудка кишечного типа, выявлены такие фоновые патологические процессы как гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия, воспалительные и атрофические изменения. По мере удаления от опухолевого узла в слизистой оболочке желудка обнаруживается статистически значимое уменьшение числа случаев гиперплазии эпителия, метаплазии эпителия и атрофии, а также снижение степени выраженности всех исследованных патологических изменений. Показатели коррелируемости патологических процессов в слизистой оболочке желудка на разном расстоянии от опухоли указывают на возможность функциональной взаимосвязи таких фоновых изменений как эпителиальная гиперплазия, кишечная метаплазия и атрофия, а также, по-видимому, на их важную роль в желудочном канцерогенезе. В некоторых наблюдениях эпителиальная гиперплазия и кишечная метаплазия обнаружены в материале, полученном из областей проксимальной и дистальной линий резекции, что указывает на необходимость изучения их клинического значения.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.В. Волкова.
Сбор и обработка материала – М.С. Шушвал.
Написание текста – Л.В. Волкова, М.С. Шушвал.
Редактирование – Л.В. Волкова.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.V. Volkova.
Collected the data and performed the analysis – M.S. Shushval.
Wrote the paper – L.V. Volkova, M.S. Shushval.
Edited the manuscript – L.V. Volkova.

Литература/References

1. Kinoshita H, Hayakawa Y, Koike K. Metaplasia in the stomach – precursor of gastric cancer? *Int J Mol Sci.* 2017;18(10):2063. DOI: 10.3390/ijms18102063.
2. Михалева Л.М., Бирюков А.Е., Мидибер К.Ю. Современный подход к диагностике и лечению раннего рака желудка. *Новости клинической цитологии России.* 2019;23(3):5–14. DOI: 10.24411/1562-4943-2019-10301.
Mikhaleva LM, Birukov AE, Midiber KYu. Modern view in early gastric cancer diagnostics and management. *Russian News of Clinical Cytology.* 2019;23(3):5–14 (In Russ.). DOI: 10.24411/1562-4943-2019-10301.
3. WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds.). *Digestive system tumours: WHO classification of tumours.* V. 1. 5th ed. Lyon: IARC, 2019. 635 p.
4. Шушвал М.С., Волкова Л.В., Ныженик Л.М., Мусатов А.А. Предопухолевые и интраэпителиальные неопластические процессы при развитии карцином желудка. *Современные проблемы науки и образования.* 2019;4:147. DOI: 10.17513/spno.29086.

- Shushval MS, Volkova LV, Nyzhnik LM, Musatov AA. Intraepithelial precancerous and neoplastic processes in the development of carcinoma of the stomach. *Modern problems of science and education*. 2019;4:147 (In Russ.). DOI: 10.17513/spno.29086.
5. Russi S, Calice G, Ruggieri V, Laurino S, La Rocca F, Amendola E et al. Gastric normal adjacent mucosa versus healthy and cancer tissues: Distinctive transcriptomic profiles and biological features. *Cancers (Basel)*. 2019;11(9):1248. DOI: 10.3390/cancers11091248.
 6. Heaphy CM, Bisoffi M, Fordyce CA, Haaland CM, Hines WC, Joste NE et al. Telomere DNA content and allelic imbalance demonstrate field cancerization in histologically normal tissue adjacent to breast tumors. *Int J Cancer*. 2006;119(1):108–16. DOI: 10.1002/ijc.21815.
 7. Heaphy CM, Grith JK, Bisoffi M. Mammary field cancerization: Molecular evidence and clinical importance. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;118(2): 229–39. DOI: 10.1007/s10549-009-0504-0.
 8. Aran D, Camarda R, Odegaard J, Paik H, Oskotsky B, Krings G et al. Comprehensive analysis of normal adjacent to tumor transcriptomes. *Nat Commun*. 2017;8(1):1077. DOI: 10.1038/s41467-017-01027-z.
 9. Chandran UR, Dhir R, Ma C, Michalopoulos G, Becich M, Gilbertson J. Differences in gene expression in prostate cancer, normal appearing prostate tissue adjacent to cancer and prostate tissue from cancer free organ donors. *BMC Cancer*. 2005;5:45. DOI: 10.1186/1471-2407-5-45.
 10. Sanz-Pamplona R, Berenguer A, Cordero D, Molleví DG, Crous-Bou M, Sole X et al. Aberrant gene expression in mucosa adjacent to tumor reveals a molecular crosstalk in colon cancer. *Mol Cancer*. 2014;13:46. DOI: 10.1186/1476-4598-13-46.
 11. Shin N, Jo HJ, Kim WK, Park WY, Lee JH, Shin DH et al. Gastric pit dysplasia in adjacent gastric mucosa in 414 gastric cancers: Prevalence and characteristics. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(7):1021–9. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31821ec495.
 12. Agoston AT, Odze RD. Evidence that gastric pit dysplasia-like atypia is a neoplastic precursor lesion. *Hum Pathol*. 2014;45(3):446–55. DOI: 10.1016/j.humpath.2013.10.032.
 13. Волкова Л.В., Шушвал М.С. Морфологическая характеристика диспластических процессов в слизистой оболочке, прилежащей к опухоли, при раке желудка кишечного типа. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(3):47–54. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.47-54. Volkova LV, Shushval MS. Morphological characteristics of dysplasia in the mucous membrane adjacent to the tumor in intestinal type gastric cancer. *Clin. exp. morphology*. 2021;10(3):47–54 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.47-54.
 14. Cankovic M, Ilic MP, Vuckovic N, Bokor-Bratic M. The histological characteristics of clinically normal mucosa adjacent to oral cancer. *J Cancer Res Ther*. 2013;9(2):240–4. DOI: 10.4103/0973-1482.113365.
 15. Babji DV, Kale AD, Hallikerimath SR, Kotrashetti VS. Histomorphometric study to compare histological changes between oral squamous cell carcinoma and apparently normal adjacent oral mucosa. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;67(Suppl 1):21–8. DOI: 10.1007/s12070-014-0730-6.
 16. Gabusi A, Morandi L, Asioli S, Foschini MP. Oral field cancerization: History and future perspectives. *Pathologica*. 2017;109(1):60–5. PMID: 28635994.
 17. Curtius K, Wright NA, Graham TA. An evolutionary perspective on field cancerization. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(1):19–32. DOI: 10.1038/nrc.2017.102.
 18. Willenbrink TJ, Ruiz ES, Cornejo CM, Schmults CD, Arron ST, Jambusaria-Pahlajani A. Field cancerization: Definition, epidemiology, risk factors, and outcomes. *J Am Acad Dermatol*. 2020;83(3):709–17. DOI: 10.1016/j.jaad.2020.03.126.

Информация об авторах

Лариса Владимировна Волкова – доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальной медицины Медицинского института, заведующая лабораторией иммуногистохимической, патологоанатомической и клинической диагностики Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта.

Михаил Сергеевич Шушвал – врач-патологоанатом областной клинической больницы Калининградской области.

Author information

Larisa V. Volkova – Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Fundamental Medicine, Medical Institute, Head of the Laboratory of Immunohistochemical, Pathological and Clinical Diagnostics, Immanuel Kant Baltic Federal University. <https://orcid.org/0000-0003-0938-8577>

Mikhail S. Shushval – Pathologist, Regional Clinical Hospital of the Kaliningrad Region. <https://orcid.org/0000-0002-4479-1794>

Клинические и морфологические особенности простой и клеточной миомы

М.Ф. Дорфман^{1,2}, А.С. Гаспаров¹, О.И. Пацап³, М.Г. Саакян², С.Ф. Дорфман⁴

¹ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

² ГБУЗ Городская клиническая больница имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

³ ФГБУ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва, Россия

⁴ Медико-диагностический центр «LFCO», Москва, Россия

Резюме. Введение. Современная тенденция смещения времени реализации репродуктивной функции женщины на более старший возраст диктует совершенствование методов, алгоритмов диагностики и выбора тактики органосохраняющего лечения миомы матки. В доступной литературе имеются лишь единичные сообщения, в которых сопоставляются данные, полученные с применением предоперационных методов визуализации с результатами гистологического исследования тканей миоматозных узлов. Цель исследования – изучить особенности морфотипа и клинического течения заболевания у пациенток с простой и клеточной миомой матки.

Материалы и методы. В результате комплексного клинико-морфологического обследования и лечения 80 пациенток с лейомиомой тела матки были выделены две группы. Группу 1 составили 50 пациенток с типичной лейомиомой матки, группу 2 – 30 пациенток с клеточной лейомиомой матки. Всем пациенткам перед хирургическим вмешательством строилась пациент-специфическая персоналицированная трехмерная математическая и графическая модель новообразований матки. Миоматозные узлы подвергались стандартному патологоанатомическому исследованию с окраской гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону для оценки фиброза и иммуногистохимическому исследованию с антителом Ki-67.

Результаты. Частота дисменореи, меноррагии, первичного бесплодия, гиперпластических процессов эндометрия значительно превышала таковую ($p < 0,05$) в группе пациенток с клеточной миомой. Для пациенток группы 2 показаниями к операции являлись локализация миоматозных узлов, увеличение размеров узлов в 64,6% случаев, в группе 1 доля таких пациенток составила 26,0% ($p < 0,05$). Большие размеры миомы матки, множественная локализация узлов были выявлены более чем в 50% случаев в группе 2, при этом аналогичные показатели в группе 1 отмечены только в 14% случаев. У пациенток с типичной лейомиомой индекс Ki-67 составил 0–1–2%, у пациенток с клеточной лейомиомой – 3–4–5%. В группе типичных лейомиом площадь фиброза составила 20–40%; в группе клеточных – до 10%. **Заключение.** Клеточные миомы тела матки характеризуются быстрым ростом, большими размерами узлов, большей частотой подслизистой локализации, более высокой частотой бесплодия, сочетанием с гиперпластическими процессами эндометрия, маточными кровотечениями, выраженным болевым синдромом и более молодым возрастом пациенток.

Ключевые слова: лейомиома матки, простая лейомиома матки, клеточная лейомиома матки, 3D моделирование, хирургическая навигация

Для корреспонденции: Марк Феликсович Дорфман. E-mail: dorfmanmark@yahoo.com

Для цитирования: Дорфман М.Ф., Гаспаров А.С., Пацап О.И., Саакян М.Г., Дорфман С.Ф. Клинические и морфологические особенности простой и клеточной миомы. Клини. эксп. морфология. 2022;11(1):16–24. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.16-24.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 18.11.2021. Получена после рецензирования 10.01.2022. Принята в печать 28.02.2022.

Clinical and morphological features of simple and cellular fibroids

M.F. Dorfman^{1,2}, A.S. Gasparov¹, O.I. Patsap³, M.G. Sahakyan², S.F. Dorfman⁴

¹ People's Friendship University of Russia, Moscow

² S.S. Yudin City Clinical Hospital of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

³ Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

⁴ Medical and Diagnostic Centre "LFCo", Moscow, Russia

Abstract. Introduction. The current trend of shifting the time of delivery to an older age requires the improvement of methods, algorithms for diagnosis, and choice of management for organ-preserving treatment of uterine fibroids. There are few reports in which data obtained using preoperative imaging methods are compared with the results of histological examination of leiomyomata. The aim of the study was to investigate the features of morphotype and clinical course of the disease in patients with common and cellular uterine leiomyoma.

Materials and methods. We divided 80 patients with uterine leiomyoma into 2 groups after comprehensive clinical and morphological examination and treatment. Group 1 involved 50 patients with conventional uterine leiomyoma; group 2 included 30 patients with cellular uterine leiomyoma. All patients had a patient-specific personalized three-dimensional mathematical and graphical model of uterine fibroids built before surgery. Leiomyomata were subjected to a standard pathological examination with hematoxylin and eosin staining, immunohistochemical study with Ki-67 antibody, and Van Gieson picrofucsin to assess fibrosis.

Results. The frequency of dysmenorrhea, menorrhagia, primary infertility, and endometrial hyperplastic processes significantly exceeded ($p < 0.05$) those in the group of patients with cellular myoma. In 64.6% of patients of group 2, the indications for surgery were location of myomatous nodes and their enlargement; in group 1, the percentage of such patients was 26.0% ($p < 0.05$). Large uterine fibroids and multiple locations of nodes were detected in more than 50% of patients in group 2, while those in patients of group 1 were determined only in 14%. In patients with conventional leiomyoma, the Ki-67 index was 0–1–2%, whereas in patients with cellular leiomyoma it was 3–4–5%. In group 1, the fibrosis area was 20–40%; in group 2, this indicator reached up to 10%.

Conclusion. Uterine cell myoma is characterized by rapid growth, large node sizes, a higher frequency of both submucosal location and infertility, a combination with hyperplastic endometrial processes, uterine bleeding, pronounced pain syndrome, and a younger age.

Keywords: uterine leiomyoma, conventional uterine leiomyoma, cellular uterine leiomyoma, 3D modeling, surgical navigation

Corresponding author: Mark F. Dorfman. E-mail: dorfmanmark@yahoo.com

For citation: Dorfman M.F., Gasparov A.S., Patsap O.I., Sahakyan M.G., Dorfman S.F. Clinical and morphological features of simple and cellular fibroids. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):16–24 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.16-24.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Received 18.11.2021. **Received in revised form** 10.01.2022. **Accepted** 28.02.2022.

Введение

Миома матки является наиболее распространенным доброкачественным новообразованием у женщин репродуктивного возраста [1–4]. По разным данным, у 25–50% женщин выявляется миома матки в возрасте до 50 лет, при этом пик заболеваемости приходится на 35–45 лет [1, 2, 5]. Актуальность совершенствования методов, алгоритмов диагностики и выбора тактики органосохраняющего лечения миомы матки не вызывает сомнений, особенно в связи с современной тенденцией смещения времени реализации репродуктивной функции женщины на более старший возраст [1, 6]. До 50–70% оперативных вмешательств в гинекологических стационарах выполняется по поводу миомы матки, из них 61–96% приходится на радикальные операции, в том числе в репродуктивном возрасте (24–26,8%), тогда как в лечении женщин этой возрастной группы

предпочтительным должно быть использование органосохраняющих методов [7, 8]. При выборе тактики лечения в настоящее время недостаточно учитывается гистологический подтип лейомиомы матки. Всемирная организация здравоохранения рекомендует выделять лейомиому матки, которую в литературе часто обозначают как простую или обычную, и ее гистологические варианты (клеточная лейомиома; «причудливая» лейомиома (симпластная); фумарат-гидратаза-дефицитная лейомиома; митотически активная лейомиома; липолейомиома; эпителиоидная лейомиома и т.д.) [9, 10].

Известно, что гистологические подтипы лейомиомы обладают различным пролиферативным потенциалом и вследствие этого могут требовать разного тактического подхода к лечению. В то же время недостаточно изучены и аппроксимированы топографические и функциональные маркеры кровоснабжения узлов миомы

в зависимости от их морфологической структуры. Это, в свою очередь, крайне актуально для выбора тактики как консервативного лечения, так и хирургического органосохраняющего.

Арсенал методов органосохраняющего лечения миомы матки в настоящее время представлен эмболизацией маточных артерий (ЭМА), фокусированной ультразвуковой (ФУЗ) аблацией, миомэктомией [11–13]. При значительных деструктивных изменениях и преобладании пролиферативных компонентов в миоматозных узлах показано выполнение миомэктомии [14, 15]. Ввиду совершенствования и развития функциональных неинвазивных методов диагностики в качестве приоритета на этапе дооперационного обследования следует считать 3D УЗИ с оценкой структуры, топографии кровоснабжающих сосудов и индексов васкуляризации миоматозных узлов [16–18]. В то же время в доступной литературе имеются лишь единичные сообщения, в которых данные, полученные с применением предоперационных методов визуализации, сопоставляются с результатами гистологического исследования тканей миоматозных узлов. Нечетко сформулированы рекомендации по выбору и тактике лечения миомы матки в зависимости от результатов указанных выше методов диагностики.

Нельзя не отметить, что прогнозирование гистотипа миомы матки позволяет определить тактику дальнейшего лечения с применением самых современных технологий органосохраняющего лечения [19]. Клиницисты могут использовать 3D моделирование и в дальнейшем навигационные технологии, чтобы спланировать вмешательство, объединить их с интраоперационными изображениями и выполнить органосохраняющую малотравматичную операцию с сохранением репродуктивной функции женщины [20, 21].

Цель исследования – изучить особенности морфотипа и клинического течения заболевания у пациенток с простой и клеточной миомой матки.

Материалы и методы

В исследовании представлены результаты комплексного клинико-морфологического обследования и лечения 80 пациенток с лейомиомой тела матки в возрасте от 18 до 45 лет (средний возраст $35,4 \pm 6,4$ года), находившихся в гинекологическом отделении № 2 ГКБ им С.С. Юдина и университетской клинике репродукции и оперативной гинекологии Российского университета дружбы народов «Я здорова!». Изучались данные анамнеза, менструальная функция (возраст менархе, особенности менструального цикла и его нарушения), а также половая и репродуктивная (число беременностей, их течение и исход). Анализировались жалобы пациенток, истории развития заболевания, особенности течения, предшествующее лечение и его эффективность. Проводилось гистологическое и иммуногистохимическое исследование полученного операционного материала.

Показаниями к оперативному лечению являлись бесплодие, невынашивание беременности, большие размеры миомы, центрипетальный рост узла при планировании беременности, быстрое увеличение размеров узла [10]. В исследование были включены пациентки с миоматозными узлами 3-, 4-, 5-, 6- и 7-го типа (по классификации FIGO) размерами от 4 до 10 см.

Пациенток поделили на две группы по результатам морфологического исследования удаленных препаратов миоматозных узлов. Группу 1 составили 50 пациенток с типичной лейомиомой матки, в группу 2 вошли 30 пациенток с пролиферативной клеточной лейомиомой матки. У всех женщин отсутствовали в анамнезе оперативные вмешательства на брюшной полости и органах малого таза. Гормональную терапию пациенткам не проводили. Критериями исключения были онкологические заболевания репродуктивных органов в анамнезе.

Эхографические исследования проводили на аппарате экспертного класса Voluson E8 Expert GE Healthcare (GE, США) с использованием трансвагинального датчика с частотой 3,6–8,8 МГц. Были использованы следующие критерии ультразвуковой оценки: параметры оценки кровотока как в режиме цветного доплеровского картирования (ЦДК), так и в режиме энергетического доплера. Рассматривались значения индекса резистентности (resistance index, RI), пульсационный индекс (pulsation index, PI), систоло-диастолическое соотношение (systolic/diastolic ratio, SDR). С помощью прикладной программы VOCALTM (Virtual Organ Computer aided AnaLysis, США) или QLab (Quantification Laboratory, США) в ручном режиме производили обводку контура матки, включая миоматозные узлы. В результате этой манипуляции автоматически рассчитывался объем матки и определялся индекс васкуляризации (vascularization index, VI), индекс потока (flow index, FI) и васкуляризационно-поточковый индекс (vascularization flow index, VFI).

Индекс васкуляризации – количество цветных вокселей, поделенное на общее количество цветных и серых вокселей, отражающее долю кровеносных сосудов в ткани. Не имеет единицы измерения и выражается числовым значением от 0 до 100.

Индекс потока – среднее значение цвета всех цветных вокселей, указывающее среднюю скорость потока. Не имеет единицы измерения и выражается числовым значением от 0 до 100.

Индекс потока васкуляризации – среднее значение цвета всех серых и цветных вокселей в объеме, произведение VI и FI (математическая зависимость, полученная путем умножения VI на FI и деления результата на 100).

Полученные результаты обрабатывали стандартными статистическими методами. Поскольку все количественные данные не подчинялись нормальному распределению, они представлены в виде медианы (Me), а также минимальных и максимальных значений (min–

max), обработка проводилась в программе GraphPad Prism 8.0.1 (США), использовались методы непараметрической статистики – тест Вилкоксона. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Всем женщинам перед хирургическим вмешательством строилась пациент-специфическая персонафицированная трехмерная математическая и графическая модель новообразований матки.

Операционный материал в виде удаленных миома-тозных узлов помещался в забуференный нейтральный 10% раствор формалина для фиксации и после стандартной гистологической проводки был залит в парафиновые блоки. Гистологические срезы толщиной 3–4 мкм изготовлены с использованием ротационных микротомов (Sacuga, Япония), окрашены гематоксилином и эозином по стандартной методике. Также препараты окрашивали пикрофуксином по ван Гизону для выявления коллагеновых волокон, увеличение содержания которых свидетельствует о снижении процессов пролиферации и развитии склероза. Количественную оценку фиброза проводили вычислением площади окрашенных коллагеновых волокон ко всей площади

гистологического среза, выраженной в процентах. Иммуногистохимическое исследование с антителом Ki-67 (MIB-1, моноклональное, Ready to use, Dako, Дания) для определения индекса пролиферативной активности проводилось с помощью иммуноштейнера Ventana UltraBenchmark (Roche Diagnostics, США). Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования с указанным антителом осуществлялась путем подсчета количества окрашенных ядер лейомиоцитов на 100 клеток в 10 полях зрения ($\times 400$ /HPF). Пролиферативную активность по экспрессии Ki-67 оценивали следующим образом: 0–20% – низкая пролиферативная активность, 21–50% – умеренная пролиферативная активность, 51–100% – высокая пролиферативная активность.

Результаты

Средний возраст пациенток составил $36,2 \pm 12,3$ года. Большинство женщин входили в возрастную группу 30–39 лет – 51,3% (из них 20% пациенток группы 1 и 43% из группы 2). Основные клинико-анамнестические параметры простой и клеточной миомы матки

Таблица | Table

Клинико-анамнестические параметры простой и клеточной миомы матки |
Clinical and anamnestic parameters of conventional and cellular uterine leiomyoma

Исследуемые параметры Investigated parameters	Группа 1 (n=50) Group 1 (n=50)		Группа 2 (n=30) Group 2 (n=30)*	
	Абс. Num.	%	Абс. Num.	%
Общая слабость, повышенная утомляемость General weakness, increased fatigue	19	38	15	50
Дисменорея Dysmenorrhea	7	14	11	36,6
Меноррагия Menorrhagia	10	20	20	66,6
Метропиррагия Metrorrhagia	8	16	11	36,6
Анемия (гемоглобин меньше 99 г/л) Anemia (hemoglobin less than 99 g/L)	5	10	20	66,6
Беременности Pregnancies	49	98	27	90
Самопроизвольный аборт Spontaneous abortion	5	10	5	16,6
Первичное бесплодие Primary infertility	3	6	9	30
Гиперпластический процесс эндометрия Hyperplastic endometrial lesion	5	10	19	63,3
Эндометриоз матки Uterine endometriosis	19	38	20	66,6
Центрипетальный рост, субмукозный рост узлов Centripetal growth, submucosal nodal growth	13	26	19	63,3
Большие размеры миомы матки** Large size of leiomyoma**	12	24	16	53
Быстрый рост узла/узлов миомы матки*** Rapid growth of leiomyoma***	7	14	22	73,3
Множественная миома матки, 2–3 узла Multiple uterine fibroids, 2–3 nodes	7	14	24	80

* достоверность различий по сравнению с группой 1 ($p < 0,05$)

** большой размер опухоли (более 12 недель беременности) [10]

*** увеличение матки более чем на 4 недели беременности в течение 1 года [10]

* the significance of the differences compared to group 1 ($p < 0.05$)

** large tumor size (more than 12 weeks of pregnancy) [10]

*** enlargement of the uterus for more than 4 weeks of pregnancy within 1 year [10]

представлены в таблице. У пациенток с типичной миомой отмечался более длительный интервал времени от начала заболевания до операции, чем у пациенток с клеточной миомой. Это объясняется тем, что клеточная миома растет значительно быстрее, чем простая, характеризуется ранним клиническим проявлением в виде менометроррагии, бесплодия и невынашивания беременности, вызванного наличием узлов, деформирующих полость матки.

При анализе результатов клинического обследования пациенток обращали внимание на жалобы и характеристики анамнеза в сравниваемых группах. Большинство предъявляли одновременно по 2–3 жалобы. Частота и интенсивность жалоб у женщин с клеточной миомой матки были выше, чем у имеющих типичную миому. Основными по частоте жалобами у пациенток группы 2 были общая слабость и повышенная утомляемость, обильные и длительные менструации, а также тазовые боли, не связанные с менструальным циклом.

Характер нарушений менструальной функции различался в зависимости от морфотипа миомы матки в группах обследуемых женщин. У пациенток с клеточной миомой (группа 2) статистически значимо чаще ($p < 0,05$) имели место нарушения менструальной функции по сравнению с пациентками с типичной миомой матки (группа 1). Наиболее часто встречались нарушения по типу дисменореи и меноррагии. Частота дисменореи у пациенток с клеточной миомой в 1,5 раза превышала уровень соответствующего показателя в группе женщин с простой миомой матки, а частота меноррагии у пациенток группы 2 была в 2 раза больше аналогичного показателя частоты выявления этой патологии у пациенток группы 1.

Оценка репродуктивного анамнеза пациенток показала высокую частоту беременностей, значительная часть которых завершилась самопроизвольным прерыванием или искусственным абортom. Частота первичного бесплодия у обследуемых с клеточной миомой матки была выше аналогичного показателя у пациенток с типичной миомой (30 и 6%, соответственно).

Обращала на себя внимание высокая частота гинекологических заболеваний в анамнезе пациенток. Отягощенный гинекологический анамнез был характерен для представительниц обеих групп. По показателям частоты патологии шейки матки, а также опухолей и опухолевидных образований яичников статистически значимые межгрупповые различия не отмечены. Тем не менее в группе пациенток с клеточной миомой матки частота гиперпластических процессов эндометрия значимо превышала ($p < 0,05$) таковую в группе женщин с простой миомой, значения показателей составили в этих группах 63,3 и 19%, соответственно.

Общепризнано, что наличие миомы матки часто сопровождается маточными кровотечениями, приводящими к развитию у женщин анемии. Следует отметить, что у пациенток с типичной миомой матки уровень

гемоглобина в большинстве случаев соответствовал нормативным значениям или анемии легкой степени, в то время как при клеточной миоме в 13 наблюдениях (66,6%) уровень гемоглобина был меньше 99 г/л.

Показания к операции в группах различались. Так, для пациенток с клеточной миомой матки (группа 2) показаниями чаще всего являлись локализация миоматозных узлов, их рост и число деформирующих полость матки (центрипетальный рост, подслизистая локализация) – 64,6% (31 женщина), в группе 1 доля таких пациенток была значимо ниже ($p < 0,05$) – 26,0% (13 пациенток).

Быстрый рост узлов миомы послужил показанием к консервативной миомэктомии у 73,3% пациенток группы 2 (22 женщины), тогда как в группе 1 эти показания к хирургическому лечению отмечались значимо реже ($p < 0,05$) – в 14% случаев (семь женщин). Большие размеры миомы матки отмечались у 16 пациенток (53%), множественная локализация узлов выявлена в 24 случаях (80%), последний показатель был статистически значимо выше ($p < 0,05$) такового в группе 1, где аналогичное показание отмечено только у семи пациенток (14%).

При морфологическом исследовании лейомиома макроскопически представлена плотным нодулярным образованием с неровной поверхностью, белесоватого цвета, на разрезе волокнистого вида. При микроскопическом исследовании выявлены преимущественно два подтипа лейомиомы: типичная лейомиома с различными вторичными изменениями и клеточная лейомиома. Гистоархитектоника типичной лейомиомы была представлена разнонаправленными пучками гладкомышечных волокон веретенообразной формы с овальными и вытянутыми ядрами; вторичные изменения характеризовались наличием отека межмышечной фиброзной стромы, различной выраженностью склеротических изменений вплоть до развития гиалиноза. Клеточная лейомиома отличалась по гистоархитектонике плотным расположением клеточных элементов с формированием разнонаправленных пучков и волокон, миоциты обладали большим количеством эозинофильной цитоплазмы, форма ядер варьировала от округлой до вытянутой, отмечалось увеличение количества сосудов капиллярного типа. Участки пролиферации миоцитов наблюдались преимущественно вокруг сосудов и могли быть выявлены как в толще узла, так и на его периферии (рис. 1 А, В). При окрашивании по ван Гизону выявлено различное содержание коллагена в этих двух группах: в типичной лейомиоме содержание коллагена варьировало от 20 до 40% и зависело от выраженности вторичных дистрофических изменений; в клеточной лейомиоме содержание коллагена было минимальным, до 10%, при этом коллагеновые волокна локализовались преимущественно периваскулярно (рис. 1 С, Д, рис. 2). При иммуногистохимическом исследовании с маркером пролиферативной активности Ki-67 у пациенток с типичной лейомиомой индекс пролифера-

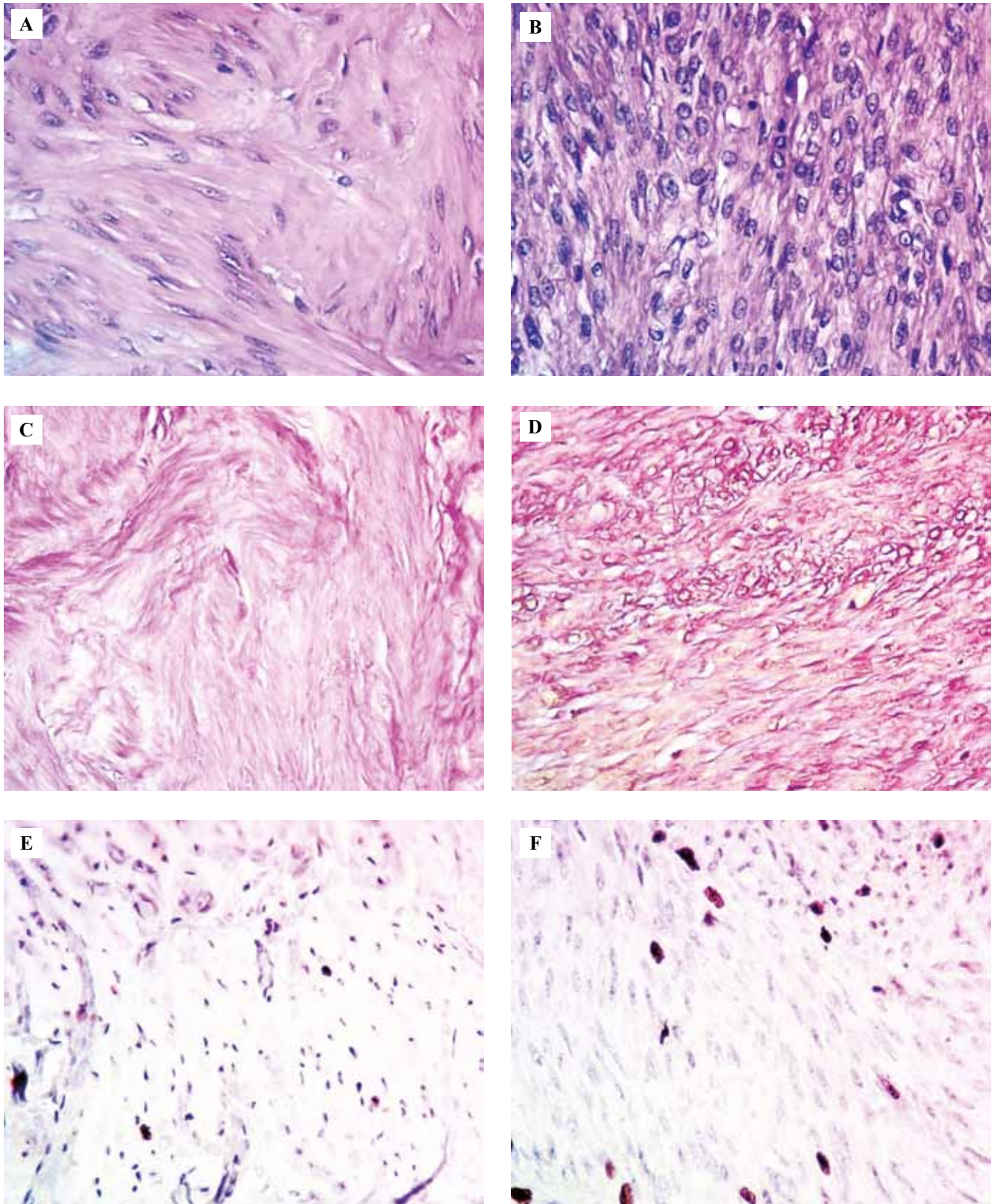


Рис. 1. Патоморфологические особенности простой лейомиомы – группа 1 (А, С, Е) и клеточной лейомиомы матки – группа 2 (В, D, F). А, В – окраска гематоксилином и эозином, ×400. С, D – окраска по ван Гизону, ×400. Е, F – иммуногистохимическая экспрессия Ki-67, ×400

Fig. 1. Pathomorphological features of conventional leiomyoma – group 1 (A, C, E) and cellular uterine leiomyoma – group 2 (B, D, F). A, B – H&E stain, ×400. C, D – Van Gieson staining, ×400. E, F – immunohistochemical expression of Ki-67, ×400

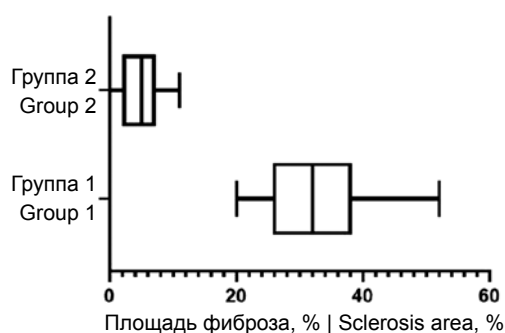


Рис. 2. Параметры площади фиброза в простой и клеточной лейомиоме матки

Fig. 2. Parameters of fibrosis area in conventional and cellular uterine leiomyoma

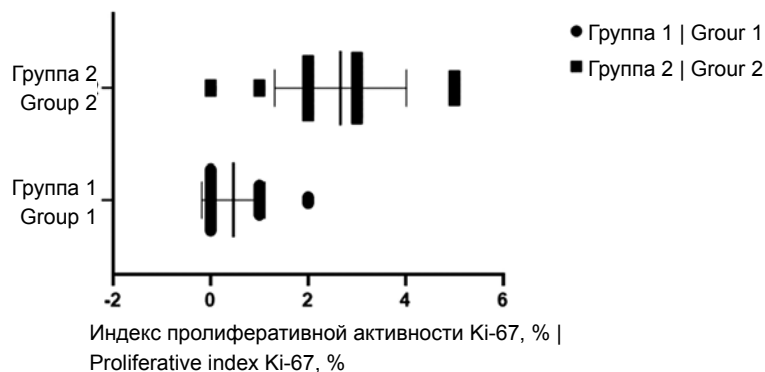


Рис. 3. Параметры индекса пролиферативной активности (Ki-67) в простой и клеточной лейомиоме матки

Fig. 3. Parameters of the proliferative index (Ki-67) in conventional and cellular uterine leiomyoma

тивной активности составил 0–1–2%, в то время как у пациенток с клеточной лейомиомой он был равен 3–5% (рис. 1 Е, F, рис. 3).

Заключение

При оценке индекса пролиферативной активности подтвержден доброкачественный характер новообразований – низкая пролиферативная активность, характерная для лейомиомы, но выявлены различия между двумя ее подтипами. У пациенток с типичной лейомиомой индекс пролиферативной активности составил 0–1–2%, в то время как у имеющих клеточную лейомиому он был равен 3–4–5%. При оценке выраженности фиброза при окрашивании по ван Гизону в группе типичных лейомиом площадь фиброза занимает 20–40% и сопровождается гиалинозом, миксоматозными изменениями; в группе клеточных лейомиом площадь фиброза составляла до 10%.

У пациенток с клеточной миомой матки есть ряд клинических особенностей по сравнению с имеющими простую миому матки. Клеточные миомы матки характеризуются быстрым ростом миоматозных узлов, большими размерами узлов, большей частотой подслизистой локализации узлов, более высокой частотой бесплодия, сочетанием с гиперпластическими процессами эндометрия, маточными кровотечениями, более выраженным болевым синдромом и более молодым возрастом.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – М.Ф. Дорфман, А.С. Гаспаров.

Сбор и обработка материала – М.Ф. Дорфман, О.И. Пацап, М.Г. Саакян, С.Ф. Дорфман.

Написание текста – М.Ф. Дорфман, О.И. Пацап.

Редактирование – А.С. Гаспаров.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – M.F. Dorfman, A.S. Gasparov.

Collected the data and performed the analysis – M.F. Dorfman, O.I. Patsap, M.G. Sahakyan, S.F. Dorfman.

Wrote the paper – M.F. Dorfman, O.I. Patsap.

Edited the manuscript – A.S. Gasparov.

Литература/References

1. Адамьян Л.В., Андреева Е.Н., Артымук Н.В., Белоцерковцева Л.Д., Беженарь В.Ф., Геворкян М.А. и др. Миома матки: диагностика, лечение и реабилитация. Проблемы репродукции. 2018;24(S6):605–649. Adamyan LV, Andreeva EN, Artymuk NV, Belotserkovtseva LD, Bezhenar VF, Gevorkyan MA et al. Uterine fibroids: diagnostics, treatment, and rehabilitation. Problemy Reproduktsii = Russian Journal of Human Reproduction. 2018;24(S6):605–649 (In Russ.).
2. Г.М. Савельева, Г.Т. Сухих, В.Н. Серов, В.Е. Радзинский, И.Б. Манухин (ред.). Гинекология: Национальное руководство. 2-е изд. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 1008 с. GM Savelyeva, GT Sukhikh, VN Serov, VE Radzinsky, IB Manukhin (eds.). Gynecology: National guideline. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media, 2017. 1008 p. (In Russ.).
3. Абрамова С.В., Миронова И.Н., Курганова О.Ю., Богомолова Т.Ю., Каримова А.А. Клинико-эпидемиологические аспекты миомы матки (обзор литературы). Бюллетень науки и практики. 2018;4(4):69–74. DOI: 10.5281/zenodo.1218227. Abramova SV, Mironova IN, Kurganova OYu, Bogomolova TYu, Karimova AA. Clinical-epidemiological aspects of uterine fibroid (literature review). Bulletin of Science and Practice. 2018;4(4):69–74 (In Russ.). DOI: 10.5281/zenodo.1218227.
4. De La Cruz MS, Buchanan EM. Uterine Fibroids: Diagnosis and treatment. Am Fam Physician. 2017;95(2):100–7. PMID: 28084714.
5. Carranza-Mamane B, Havelock J, Hemmings R. The management of uterine fibroids in women with otherwise unexplained infertility. J Obstet Gynaecol Can. 2015;37(3):277–85. DOI: 10.1016/S1701-2163(15)30318-2.
6. Paul PG, Paul G, Radhika KT, Bulusu S, Shintre H. Laparoscopic myomectomy for a plethora of submucous myomas. J Minim Invasive Gynecol. 2017;24(6):893–4. DOI: 10.1016/j.jmig.2017.02.006.
7. Шановалов А.Г., Железная А.А. Анализ клинико-функциональных показателей у женщин детородного возраста с миомой матки. Медико-социальные проблемы семьи. 2017;22(1):48–52. Доступно по адресу: <http://journal.ak-gin.org/index.php/mspf/article/view/46> (получено 17.02.2022).

- Shapovalov AG, Zheleznyaya AA.* Analysis of clinical and functional indicators in women of childbearing age with uterine myoma. *Medical and Social Problems of Family.* 2017;22(1):48–52 (In Russ.). Available from: <http://journal.ak-gin.org/index.php/mspf/article/view/46> (accessed 17.02.2022).
8. *Drayer SM, Catherino WH.* Prevalence, morbidity, and current medical management of uterine leiomyomas. *Int J Gynaecol Obstet.* 2015;131(2):117–22. DOI: 10.1016/j.ijgo.2015.04.051.
9. The WHO Classification of Tumours Editorial Board. WHO classification of tumours. Female genital tumours. V. 4. 5th ed. Lyon: IARC, 2020. 632 p.
10. Миома матки. Клинические рекомендации. Российское общество акушеров-гинекологов (РОАГ), рабочая группа. Минздрав России. 2020. 48 с. Доступно по адресу: <https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/science/default/download/808.html> (получено 17.02.2022).
Uterine fibroids. Clinical guidelines. Russian Society of Obstetricians and Gynecologists (ROAG). Ministry of Health of Russia. 2020. 48 p. Available from: <https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/science/default/download/808.html> (accessed 17.02.2022).
11. *Freed MM, Spies JB.* Uterine artery embolization for fibroids: A review of current outcomes. *Semin Reprod Med.* 2010;28(3):235–41. DOI: 10.1055/s-0030-1251480.
12. *Ван Я., Ромаданова Ю.А., Бахвалова А.А., Федина Е.В., Зиновьев А.А., Шабанова Д.Д. и др.* Оценка репродуктивного потенциала у пациенток после миомэктомии. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.* 2021;8(1):35–39. DOI: 10.17816/2313-8726-2021-8-1-35-39.
Van Y, Romadanova YuA, Bakhvalova AA, Fedina EV, Zinov'ev AA, Shabanova DD et al. Assessment of reproductive potential in patients after myomectomy. *V.F. Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology.* 2021;8(1):35–39. DOI: 10.17816/2313-8726-2021-8-1-35-39. (In Russ.).
13. *Радзинский В.Е., Тотчиев Г.Ф.* Миома матки: курс на органосохранение. Информационный бюллетень. Москва: Редакция журнала Status Praesens, 2014. 24 с. Доступно по адресу: https://dropdoc.ru/doc/375659/zdes._---statuspraesens (получено 17.02.2022).
Radzinsky VE, Totchiev GF. Uterine fibroids: a course for organ preservation. *Information bulletin.* Moscow: Redaktsia zhurnala Status Praesens, 2014. 24 p. (In Russ.). Available from: https://dropdoc.ru/doc/375659/zdes._---statuspraesens (accessed 17.02.2022).
14. *Селихова М.С., Вдовин С.В.* Современные подходы к ведению пациенток с миомой матки. *РМЖ. Мать и дитя.* 2017;26(25):1938–1940. Доступно по адресу: https://wchjournal.com/articles/ginekologiya/Sovremennye_podhody_k_vedeniyu_pacientok_s_miomoy_matki/ (получено 17.02.2022).
Selikhova MS, Vdovin SV. Modern approaches to managing the patients with uterine myoma. *Russian Journal of Woman and Child Health.* 2017;26(25):1938–1940 (In Russ.). Available from: https://wchjournal.com/articles/ginekologiya/Sovremennye_podhody_k_vedeniyu_pacientok_s_miomoy_matki/ (accessed 17.02.2022).
15. *Тухомиров А.Л.* Оптимизация микроинвазивного хирургического лечения миомы матки. *РМЖ. Мать и дитя.* 2008;19(16):1228–1231. Доступно по адресу: https://www.rmj.ru/articles/pediatriya/Optimizaciya_mikroinvazivnogo_hirurgicheskogo_lecheniya_miomy_matki/ (получено 17.02.2022).
Tikhomirov AL. Optimization of microinvasive surgical treatment of uterine fibroids. *Russian Journal of Woman and Child Health.* 2008;19(16):1228–1231. (In Russ.). Available from: https://www.rmj.ru/articles/pediatriya/Optimizaciya_mikroinvazivnogo_hirurgicheskogo_lecheniya_miomy_matki/ (accessed 17.02.2022).
16. *Bent RE, Wilson MD, Jacoby VL, Varon S, Parvataneni R, Saberi N et al.* Myoma imaging by gynecologic surgeons training in intraoperative ultrasound technique. *J Minim Invasive Gynecol.* 2019;26(6):1139–43. DOI: 10.1016/j.jmig.2018.11.006.
17. *Дорфман М.Ф., Гаспаров А.С.* Моделирование и хирургическая навигация в оперативной гинекологии. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* 2020;8(2):121–127. DOI: 10.24411/2303–9698-2020-13020.
Dorfman MF, Gasparov AS. Modeling and surgical navigation in operative gynecology. *Obstetrics and gynecology: news, opinions, training.* 2020;8(2):121–127 (In Russ.). DOI: 10.24411/2303-9698-2020-13020.
18. *Minsart AF, Ntoutoume Sima F, Vandenhoute K, Jani J, van Pachterbeke C.* Does three-dimensional power Doppler ultrasound predict histopathological findings of uterine fibroids? A preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;40:714–20. DOI: 10.1002/uog.11155.
19. *Nieuwenhuis LL, Keizer AL, Stoelinga B, Twisk J, Hehenkamp W, Brölmann H, Huirne J.* Fibroid vascularisation assessed with three-dimensional power Doppler ultrasound is a predictor for uterine fibroid growth: A prospective cohort study. *BJOG.* 2018;125(5):577–84. DOI: 10.1111/1471-0528.14608.
20. М.Ф. Дорфман, А.С. Гаспаров, В.Е. Радзинский. Способ подготовки и выполнения хирургической операции на органах малого таза. Патент Российской Федерации 2736800. Заявитель и патентообладатель Дорфман Марк Феликсович – № 2020120723. Заявлено 23.06.2020; опубликовано 20.11.2020. Бюллетень № 32.
MF Dorfman, AS Gasparov, VE Radzinsky. A method for preparing and performing a surgical operation on the pelvic organs. Patent No. 2736800 Russian Federation. Applicant and patent holder Mark F. Dorfman – № 2020120723. Application 23.06.2020; publ. 20.11.2020. Bul. No. 32.
21. *Озерская И.А., Девыцкий А.А.* Ультразвуковая дифференциальная диагностика узлов миометрия в зависимости от гистологического строения опухоли. *Медицинская визуализация.* 2014;2:110–121. Доступно по адресу: https://medvis.vidar.ru/jour/article/view/32?locale=ru_RU (получено 17.02.2022).
Ozerskaya IA, Devitsky AA. Ultrasonic differential diagnosis myometrium nodes depending on the histological structure of the tumor. *Medical Visualization.* 2014;(2):110–121 (In Russ.). Available from: https://medvis.vidar.ru/jour/article/view/32?locale=ru_RU (accessed 17.02.2022).

Информация об авторах

Марк Феликсович Дорфман – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета непрерывного медицинского образования Российского университета дружбы народов.

Александр Сергеевич Гаспаров – доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета непрерывного медицинского образования Российского университета дружбы народов.

Ольга Игоревна Пацап – кандидат медицинских наук, заведующая патологоанатомическим отделением Федерального центра мозга и нейротехнологий ФМБА России.

Мариам Гришаевна Саакян – врач акушер-гинеколог городской клинической больницы имени С.С. Юдина.

Софья Феликсовна Дорфман – врач акушер-гинеколог Медико-диагностического центра «LFCo».

Author information

Mark F. Dorfman – Cand. Sci. (Med.), Assistant at the Chair of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Faculty of Continuing Medical Education, People's Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-8500-4267>

Aleksandr S. Gasparov – Dr. Sci. (Med.), Professor at the Chair of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Faculty of Continuing Medical Education, People's Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0003-2432-5574>

Olga I. Patsap – Cand. Sci. (Med.), Head of the Pathology Department, Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies of FMBA of Russia.

<https://orcid.org/0000-0003-4620-3922>

Mariam G. Sahakyan – Obstetrician and Gynecologist, S.S. Yudin City Clinical Hospital.

<https://orcid.org/0000-0002-4300-3215>

Sofia F. Dorfman – Obstetrician and Gynecologist, Medical and Diagnostic Centre "LFCo".

<https://orcid.org/0000-0003-4580-5585>

Иммуногистохимическая характеристика сторожевых лимфатических узлов при разных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы

Е.В. Москвичев^{1,2}, Л.М. Меркулова², А.И. Кузнецова²,
О.Ю. Кострова², Е.Г. Драндрова², Г.Ю. Стручко², Е.М. Сперанская²

¹ АУ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Чувашии, Чебоксары, Россия

² ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия

Резюме. *Введение.* Рак молочной железы у женщин является часто встречаемой злокачественной опухолью. Прогноз течения и тактика лечения этого новообразования зависят от клинической стадии и биологического подтипа опухоли. Цель исследования – изучить иммуногистохимическую характеристику сторожевых лимфатических узлов при различных молекулярно-биологических подтипах опухоли молочной железы.

Материалы и методы. С помощью гистологических и иммуногистохимических методов изучены 44 лимфатических узла пациенток с диагностированным раком молочной железы. В исследования были взяты регионарные подмышечные лимфатические узлы без признаков метастатического поражения. Проводилось окрашивание гематоксилином и эозином, использовались моноклональные антитела к белку S100, к кластеру дифференцировки лимфоцитов 4 и 8. Результаты оценивали при помощи методов световой микроскопии.

Результаты. В первую очередь были установлены молекулярно-биологические подтипы опухоли молочной железы. Выявлено, что в 45% случаев (n=20) у женщин диагностирован люминальный (Lum) подтип опухоли, у 25% пациенток (n=11) обнаружен Her2⁺ вариант, остальные 29,5% случаев (n=13) составил T⁺ (тройной негативный) рак. Более выраженная экспрессия S100-позитивных клеток наблюдается в паракортикальной зоне лимфатических узлов при подтипе «тройной негативный» по сравнению с люминальным. Обнаружено неравномерное распределение CD8⁺ лимфоцитов при разных подтипах рака молочной железы. При этом наблюдается возрастание занимаемой ими площади в следующей последовательности: Lum (18,6%), Her2⁺ (19,8%), T⁺ (20,1%). Наименьшее количество CD4⁺ лимфоцитов было обнаружено при люминальном подтипе рака. Наибольшее количество CD4⁺ клеток отмечено при Her2⁺ подтипе.

Заключение. Проведенные исследования показали, что на ранней стадии рака молочной железы не выявлено достоверных различий в реакции разных субпопуляций Т-лимфоцитов. В то же время нами установлено достоверное увеличение количества внутрифолликулярных S100⁺ клеток, что указывает на активацию дендритных клеток при тройном негативном раке.

Ключевые слова: рак молочной железы, иммуногистохимия, регионарный лимфатический узел, клеточный иммунитет, лимфоциты

Для корреспонденции: Евгений Васильевич Москвичев. E-mail: moskvichev@rambler.ru

Для цитирования: Москвичев Е.В., Меркулова Л.М., Кузнецова А.И., Кострова О.Ю., Драндрова Е.Г., Стручко Г.Ю., Сперанская Е.М. Иммуногистохимическая характеристика сторожевых лимфатических узлов при разных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы. Клини. экп. морфология. 2022;11(1):25–32. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.25-32.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 09.08.2021. Получена после рецензирования 23.08.2021. Принята в печать 22.09.2021.

Immunohistochemical characteristic of sentinel lymph nodes in various molecular subtypes of breast carcinoma

Е.В. Москвичев^{1,2}, Л.М. Меркулова², А.И. Кузнецова², О.Ю. Кострова²,
Е.Г. Драндрова², Г.Ю. Стручко², Е.М. Сперанская²

¹ Republican Clinical Oncology Dispensary of the Ministry of Health of Chuvashia, Cheboksary, Russia

² IN Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

Abstract. *Introduction.* Breast cancer in women is a very common malignant tumor. The prognosis of the development and management of the disease depend on the clinical stage and biological subtype of the

tumor. The aim of the research was to study immunohistochemical characteristics of sentinel lymph nodes in various molecular and biological subtypes of breast cancer.

Materials and methods. We studied 44 lymph nodes of females with a diagnosed breast cancer using histological and immunohistochemical methods. Regional axillary lymph nodes without signs of metastatic lesions were taken into the investigation. Hematoxylin and eosin staining was performed; monoclonal antibodies to S100 protein and cluster of lymphocyte differentiation 4 and 8 were used. We used light microscopy to assess the results.

Results. We determined molecular and biological subtypes of breast cancer. In 45.5% of cases (n=20) women were diagnosed with luminal cancer (Lum); in 25% of cases (n=11), with Her2⁺ variant; and in 29.5% of cases (n=13), with Tr⁻ cancer (triple-negative). A more pronounced expression of S100-positive cells was observed in the paracortical zone of lymph nodes in triple-negative compared with the luminal one. We revealed uneven distribution of CD8⁺ lymphocytes in various subtypes of breast cancer, with an increase in their area in the following sequence: Lum (18.6%), Her2⁺ (19.8%), and Tr⁻ (20.1%). The lowest number of CD4⁺ lymphocytes was found in the luminal breast cancer. The largest number of CD4⁺ cells was observed in the Her2⁺ subtype.

Conclusion. The research demonstrated no reliable differences in the reaction of various subpopulations of T-lymphocytes in early-stage breast cancer. At the same time, we revealed a reliable increase in the number of intrafollicular S100⁺ cells that indicates dendrite cells activation in Tr⁻ cancer.

Keywords: breast cancer, immunohistochemistry, regional lymph node, cellular immunity, lymphocytes

Corresponding author: Evgenii V. Moskvichev. E-mail: moskvichev@rambler.ru

For citation: Moskvichev E.V., Merkulova L.M., Kuznecova A.I., Kostrova O.Yu., Drandrova E.G., Struchko G. Yu., Speranskaya E.M. Immunohistochemical characteristic of sentinel lymph nodes in various molecular subtypes of breast carcinoma. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):25–32. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.25-32 (In Russ.).

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 09.08.2021. **Received in revised form** 23.08.2021. **Accepted** 22.09.2021.

Введение

Несмотря на достигнутые успехи в диагностике и лечении пациентов онкологического профиля, заболеваемость раком молочной железы до сих пор остается высокой не только в России, но и во всем мире [1]. В последнее время наблюдается рост показателей злокачественных новообразований репродуктивной системы у женщин молодого возраста [2]. В лечении пациенток данной категории предпочтительно применять органосохраняющие и реконструктивно-пластические операции [3]. Безусловно, при выборе тактики лечения необходимо учитывать молекулярно-биологический подтип опухоли, основываясь на ее рецепторном статусе.

Всего выделяют пять молекулярных подтипов опухоли: 1. люминальный А (PЭ +, HER2 –, Ki67 <20%, PП >20%); 2. люминальный В/HER2 отрицательный (PЭ +, HER2 –, Ki67 >30%, PП <20%); 3. люминальный В/HER2 положительный (PЭ +, HER2 +, Ki67 любой, PП любые); 4. HER2 положительный (не люминальный) (PЭ –, HER2 +, PП –); 5. тройной негативный (PЭ –, HER2 –, PП –) [4].

Согласно клиническим рекомендациям, для каждого подтипа предложена наиболее рациональная и эффективная схема химио-, гормоно- и неоадъювантной терапии [5]. Известно, что разные биологические подтипы опухоли имеют существенные различия в клиническом течении, скорости роста и метастазировании [6].

Чаще всего исход заболевания зависит от наличия метастазов в лимфатических узлах. В настоящее время для определения злокачественности опухоли всем пациентам проводят интраоперационную биопсию сторожевого лимфатического узла [7, 8]. Тем не менее до сих пор мало изучены изменения в лимфатических узлах в зависимости от молекулярного подтипа рака молочной железы, их роль в росте и развитии первичной опухоли, а также скорости метастазирования. Изучение иммунных характеристик сторожевых лимфатических узлов с учетом их принадлежности к разным молекулярно-биологическим подтипам новообразований молочной железы может быть полезно в понимании прогноза заболевания, а также при назначении таргетной терапии и индивидуальных схем лечения.

Иммунотерапия на современном этапе развития онкологической помощи является одним из перспективных направлений. Известно, что экспрессия белка PDL-1 на опухолевых клетках и лимфоцитах реактивного окружения является благоприятным прогностическим фактором, улучшающим показатели терапевтического ответа и выживаемости [9].

Цель исследования – изучить иммуногистохимическую характеристику сторожевых лимфатических узлов при различных молекулярно-биологических подтипах опухоли молочной железы.

Материалы и методы

Работа выполнена на архивном операционном материале, полученном у 44 пациенток с раком молочной железы с клинической стадией T1–2N0M0 в возрасте 39–65 лет, перенесших расширенную мастэктомию с диссекцией сторожевых регионарных лимфатических узлов. Ни одной из пациенток до операции химио- или лучевая терапия не проводилась. Письменное информированное согласие было получено от всех пациенток. Проведенное исследование согласовано и одобрено на заседании локального этического комитета медицинского факультета ЧГУ имени И.Н. Ульянова. В исследования были взяты регионарные подмышечные лимфатические узлы без признаков метастатического поражения. Лимфатические узлы разрезали через ворота, окрашивали гематоксилином и эозином и проводили иммуногистохимическое исследование в соответствии с алгоритмом, разработанным для фенотипирования структурных и клеточных элементов лимфатического узла [10, 11].

В работе применялись следующие методы.

1. Иммуногистохимический метод с использованием коммерческих моноклональных антител (МКАТ) фирмы Leica (Великобритания):

а) МКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 4 (CD4);

б) МКАТ к кластеру дифференцировки лимфоцитов 8 (CD8);

в) МКАТ к белку нейроэктодермы S100.

Материал для исследования иммуногистохимическими методами фиксировали 10% нейтральным забуференным формалином в течение 24 часа, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм. Срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре +37°C 18 часов. Демаскировку и иммуногистохимическое окрашивание проводили на автостейнере Leica Bond Max (Германия). Контролем иммуногистохимической реакции служила неиммунизированная кроличья сыворотка. Из гистологических блоков регионарных лимфатических узлов формировали тканевые мультиблоки с числом исследуемых образцов не менее 20. В каждом образце была исследована экспрессия биологически значимых маркеров CD4, CD8, S100. Результат реакции оценивали с применением микроскопа Leica DM4000B (Германия).

2. Окрашивание гематоксилином и эозином с проведением морфометрических измерений.

3. Компьютерная морфометрия с использованием лицензионных программ Leica application suite 3.6.0 (Германия) и «Микроанализ» (Россия). Оценку экспрессии антигенов проводили в 10 полях зрения отдельно для каждой группы лимфатических узлов, принадлежащих пациенткам с конкретным биологическим подтипом опухоли. Рассчитывалась площадь, занимаемая дендритными клетками S100, CD4 и CD8 лимфоцитами, по отношению к общей площади

поля зрения в паракортикальной зоне лимфатических узлов.

4. Статистическая обработка с использованием лицензионного пакета программ STATISTICA Application версия 10.0.228.2, достоверность определялась t-критерием Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При иммуногистохимическом исследовании биопсийного материала опухоли молочной железы определяли гистологический вариант, степень дифференцировки, экспрессию PЭ/П, HER2 и Ki67. Исходя из характера их распределения, устанавливали биологические подтипы опухоли. В 20 препаратах из 44 был диагностирован люминальный подтип опухоли, в 11 – Her2⁺ вариант, остальные 13 случаев составил Tг⁻ (тройной негативный) рак.

Нами обнаружено, что более выраженная экспрессия S100-позитивных клеток наблюдается в паракортикальной зоне лимфатических узлов, относящихся к подтипу «тройной негативный» (рис. 1) (p=0,017).

В регионарных сторожевых лимфатических узлах пациенток с раком молочной железы с подтипом «люминальный» S100⁺ клетки диффузно распределены в паракортикальной зоне и в мозговых синусах, причем в некоторых лимфатических узлах распределение этих клеток в паракортикальной зоне позволяет визуально достаточно четко очертить границы данной зоны (рис. 2).

В подтипе Her2⁺ помимо классического распределения интердигитирующих дендритных клеток

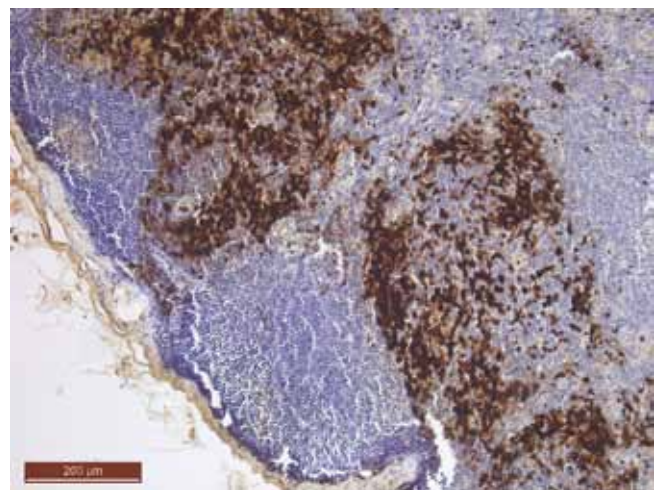


Рис. 1. Регионарный лимфатический узел при тройном негативном подтипе рака молочной железы. Увеличение числа и плотности распределения S100⁺ клеток в паракортикальной зоне. Частичная атрофия корковой зоны. Иммуногистохимическая реакция к S100, ×10

Fig. 1. Regional lymph node in triple-negative breast cancer. Increase in the number and density of distribution of S100⁺ cells in the paracortical zone. Partial atrophy of the cortical zone. Immunohistochemical staining for S100, ×10

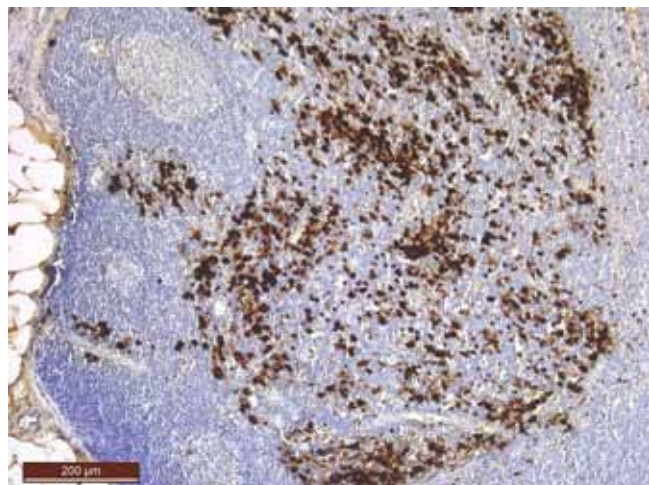


Рис. 2. Регионарный лимфатический узел при люминальном подтипе рака молочной железы. Распределение S100⁺ клеток в мозговых синусах и паракортикальной зоне. Иммуногистохимическая реакция к S100, ×10

Fig. 2. Regional lymph node in the luminal breast cancer. Distribution of S100⁺ cells in medullary sinuses and the paracortical zone. Immunohistochemical staining for S100, ×10

в паракортикальной зоне и синусах лимфатического узла обнаружена их локализация внутри герминативных центров (рис. 3).

CD8⁺ и CD4⁺ лимфоциты в изучаемых нами образцах обнаружены в паракортикальной и интерфолликулярной зонах лимфатических узлов.

Выявлено неравномерное распределение CD8⁺ лимфоцитов при разных подтипах рака молочной железы (рис. 4, 5). При этом наблюдается незначительное

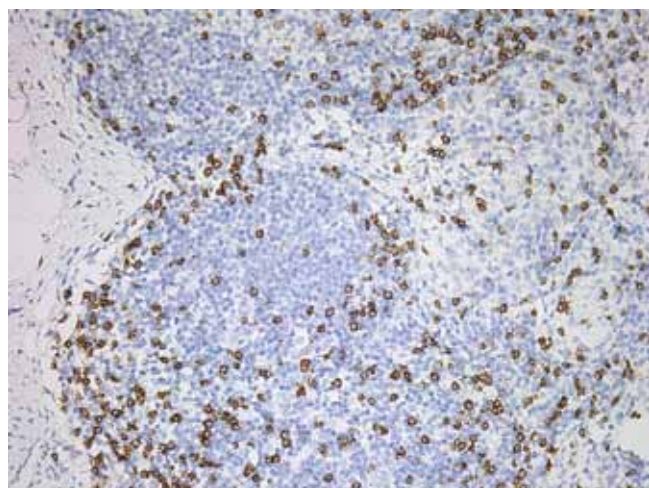


Рис. 4. Регионарный лимфатический узел при люминальном подтипе рака молочной железы. Распределение CD8⁺ клеток вокруг фолликулов. Иммуногистохимическая реакция к CD8, ×20

Fig. 4. Regional lymph node in luminal breast cancer. Distribution of CD8⁺ cells around the follicles. Immunohistochemical staining for CD8, ×20

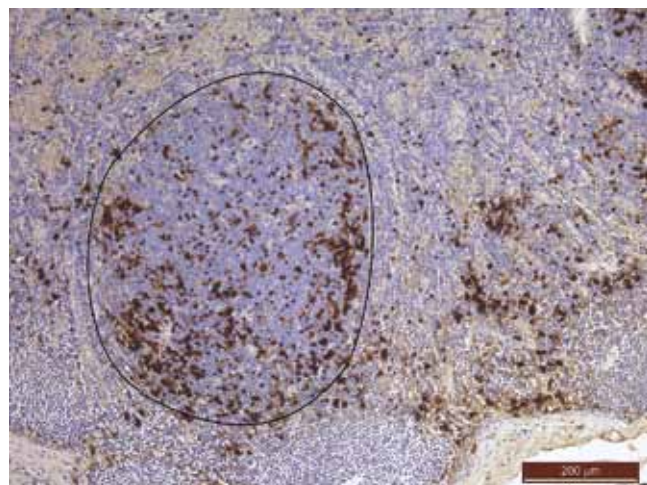


Рис. 3. Регионарный лимфатический узел при Her2⁺ подтипе рака молочной железы. Распределение S100⁺ клеток внутри фолликулов. Иммуногистохимическая реакция к S100, ×10

Fig. 3. Regional lymph node in Her2⁺ breast cancer. Distribution of S100⁺ cells inside follicles. Immunohistochemical staining for S100, ×10

возрастание занимаемой ими площади в следующей последовательности: Lum, Her2⁺, Tr⁻ (18,6%, 19,8%, 20,1%). Однако при сравнении интенсивности характера их экспрессии не обнаружено достоверно значимой разницы между разными подгруппами.

Известно, что CD8⁺ Т-клетки обладают цитотоксическими функциями, в том числе с киллерной и супрессивной активностью [12, 13]. Т-киллеры оказывают прямое антигенобусловленное цитолитическое

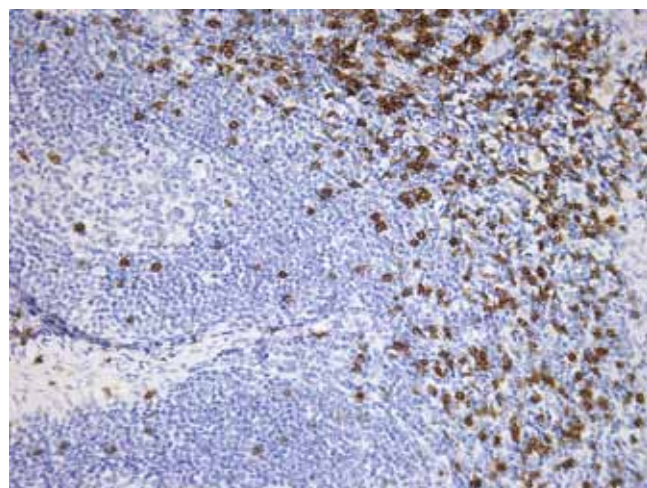


Рис. 5. Регионарный лимфатический узел при тройном негативном подтипе рака молочной железы. Распределение CD8⁺ клеток в паракортикальной зоне лимфатического узла. Иммуногистохимическая реакция к CD8, ×20

Fig. 5. Regional lymph node in triple-negative breast cancer. Distribution of CD8⁺ cells in the paracortical zone of the lymph node. Immunohistochemical staining for CD8, ×20

действие на поврежденные клетки, а Т-супрессоры ответственны за подавление антителообразования В-лимфоцитами [14]. Велика роль $CD8^+$ лимфоцитов в противоопухолевом иммунном ответе. Так, $CD8^+$ Т-киллер распознает чужеродный антиген в составе HLA I на поверхности опухолевой клетки и активизируется под воздействием интерлейкина-2, после чего он разрушает чужеродную опухолевую клетку путем продукции перфоринов, гранзимов или индукции апоптоза через Fas-лиганды [15].

При изучении особенностей распределения $CD4^+$ лимфоцитов нами выявлена экспрессия этого маркера в паракортикальной и интерфолликулярной зонах, а также в небольшом количестве в подкапсульных синусах и в мозговых тяжах. $CD4^+$ Т-хелперы управляют противоопухолевым иммунным ответом, влияя на разные этапы его развития путем продукции цитокинов.

При оценке экспрессии $CD4^+$ Т-лимфоцитов обнаружена выраженная разница в степени их распределения при разных подтипах рака молочной железы. Площадь, занимаемая $CD4^+$ Т-лимфоцитами в паракортикальной зоне лимфатических узлов, возрастает в ряду Lum, Tg, Her2⁺ – 25,9%, 30,4%, 33,9% (рис. 6, 7).

Лимфатические узлы, относящиеся к периферическим органам иммунной системы, играют важную роль в сложном взаимодействии между опухолью и организмом. Доказано влияние состояния регионарных к опухоли лимфатических узлов на прогноз заболевания, в частности на срок 5-летней выживаемости при раке молочной железы [16]. К тому же все основные методы лечения в настоящее время определяются наличием или отсутствием метастазов, их числом, размерами в регионарных к опухоли лимфатических узлах [17].

На ранних стадиях опухолевого роста происходит манифестация клеточных и гуморальных иммунных реакций, а также макрофагальной системы. Отмечается гиперплазия паракортикальной зоны с увеличением количества и активности Т-клеток [18]. Возрастает пролиферативная активность клеток. В большом количестве обнаруживается белок S100, выявляющий интердигитирующие дендритные клетки, перерабатывающие антиген для Т-лимфоцитов [19]. Усиливается рециркуляция клеточных элементов через посткапиллярные венулы. Гуморальные иммунные реакции проявляются в виде гиперплазии фолликулов с появлением крупных центров размножения и плазматизации коркового плато с мягкотными тяжами [20]. Фагоцитарная система активируется за счет фиксированных и свободных макрофагов [18]. На более поздних стадиях опухолевого развития реактивные процессы направлены на перераспределение иммунокомпетентных клеток со сдвигом иммунных реакций в сторону В-клеточного гуморального иммунитета и инактивации Т-клеточного иммунитета. Известно, что благоприятный прогноз ассоциируется с наличием Т-клеточной паракортикальной реакции, а неблагоприятный коррелирует с преобладанием фолликулов с реактивными центрами

и В-клеток, что в конечном счете способствует метастазированию опухоли и дальнейшей генерализации процесса [21].

Наши исследования показали, что нет существенной разницы в степени распределения $CD8^+$ лимфоцитов в паракортикальной зоне регионарных лимфатических

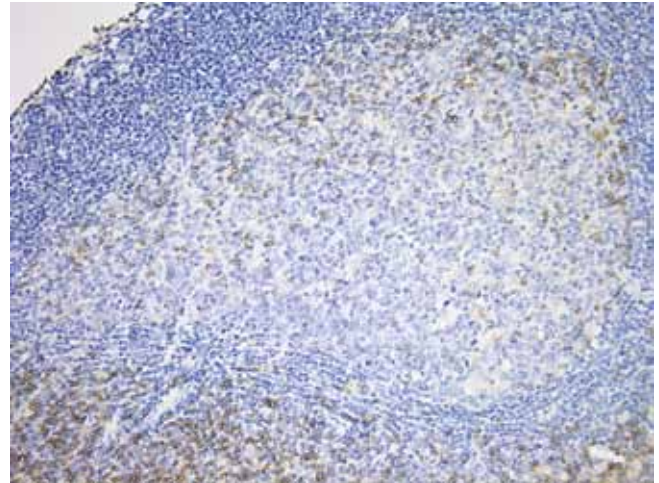


Рис. 6. Регионарный лимфатический узел при тройном негативном подтипе рака молочной железы. Неоднородное распределение $CD4^+$ клеток в интерфолликулярной зоне лимфатического узла и в зоне мантии светлого центра. Иммуногистохимическая реакция к $CD4$, $\times 20$

Fig. 6. Regional lymph node in triple-negative breast cancer. Uneven distribution of $CD4^+$ cells in the interfollicular zone of the lymph node and the mantle zone of the germinal center. Immunohistochemical staining for $CD4$, $\times 20$

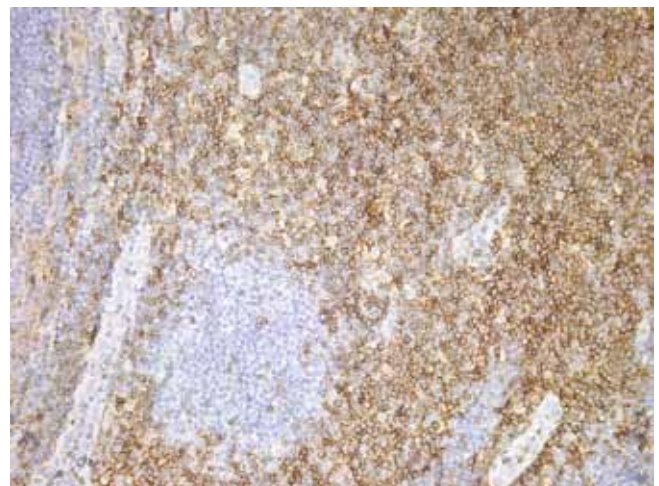


Рис. 7. Регионарный лимфатический узел при Her2⁺ подтипе рака молочной железы. Выраженное мембранное окрашивание $CD4^+$ клеток в паракортикальной зоне лимфатического узла. Иммуногистохимическая реакция к $CD4$, $\times 20$

Fig. 7. Regional lymph node in Her2⁺ subtype breast cancer. Well-pronounced membrane staining of $CD4^+$ cells in the paracortical zone of the lymph node. Immunohistochemical staining for $CD4$, $\times 20$

узлов рака молочной железы при разных биологических подтипах. Вероятно, на ранних сроках опухолевого роста, которые мы изучали, еще не наблюдается значимых различий иммунной реактивности со стороны Т-киллеров.

В одном из исследований [22] было замечено, что количество CD4⁺ и CD8⁺ клеток в непораженных регионарных лимфатических узлах при раке молочной железы уменьшается по сравнению со здоровой группой. Независимо от наличия метастазов популяция CD4⁺ клеток и дендритных клеток в подмышечных лимфатических узлах, не относящихся к сторожевым, коррелировала с безрецидивной выживаемостью.

В исследованиях *in vitro* показано, что популяция натуральных регуляторных Т-клеток (CD4⁺, CD25⁺), активизированная антигеном, способна подавлять противоопухолевый ответ [23]. Мишенями для супрессивной активности выступают CD4⁺, CD25⁻, CD8⁻ клетки, NK, В-клетки, дендритные клетки и моноциты.

Полученные нами данные о степени распределения CD4⁺ клеток в сторожевых лимфатических узлах при разных подтипах рака молочной железы частично соотносятся с имеющимися клиническими данными о характере течения этих различных молекулярных видов рака. Так, наименьшее количество CD4⁺ лимфоцитов было обнаружено в люминальном подтипе рака, который, как известно, обладает наиболее благоприятным клиническим течением [6], тогда как увеличение CD4⁺ клеток было отмечено в Her2⁺ подтипе, которому присущи агрессивный рост и высокая скорость метастазирования [24].

Известно, что МКАТ к белку S100 позволяет обнаружить в паракортикальной зоне лимфатических узлов интердигитирующие дендритные клетки, определяющие стимуляцию Т-клеточного ответа [25]. По видимому, тройному негативному раку присуща самая выраженная активация клеточного иммунного ответа по сравнению с другими подтипами рака. Тем не менее корреляции между степенью распределения S100⁺ и CD8⁺ клетками нами не замечено.

Установлено, что в подтипе Her2⁺ помимо классического распределения интердигитирующих дендритных клеток в паракортикальной зоне и синусах лимфатического узла обнаружена их локализация внутри герминативных центров. В литературе есть данные, что S100 экспрессируют не только интердигитирующие дендритные клетки, располагающиеся в паракортикальной зоне, но и активированные фолликулярные дендритные клетки [26]. Выявленный нами факт активации фолликулярных дендритных клеток при метастазе рака молочной железы Her2⁺ представляет научный и практический интерес.

Заключение

Проведенное исследование показало, что на ранней стадии рака молочной железы не выявлено достоверных различий в реакции различных субпопуля-

ций Т-лимфоцитов. В то же время нами установлено достоверное увеличение количества внутрифолликулярных S100⁺ клеток, что указывает на активацию дендритных клеток при тройном негативном раке. Это, возможно, обусловлено более выраженной утратой молекул главного комплекса гистосовместимости HLA в тройном негативном раке по сравнению с другими подтипами.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.В. Москвичев, А.И. Кузнецова.

Сбор и обработка материала – А.И. Кузнецова, Е.М. Сперанская.

Написание текста – Е.В. Москвичев, А.И. Кузнецова, О.Ю. Кострова, Е.Г. Драндрова.

Редактирование – Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.V. Moskvichev, A.I. Kuznecova.

Collected the data and performed the analysis – A.I. Kuznecova, E.M. Speranskaya.

Wrote the paper – E.V. Moskvichev, A.I. Kuznecova, O.Yu. Kostrova, E.G. Drandrova.

Edited the manuscript – L.M. Merkulova, G.Yu. Struchko.

Литература/References

1. Якобс О.Э., Рожкова Н.И., Каприн А.Д., Муйжнек Е.Л., Бурдина И.И., Запирова С.Б. и др. Диагностика микрокальцинатов как фактора, провоцирующего развитие рака молочной железы. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2019;8(5):327–332. DOI: 10.17116/onkolog20198051327. Yakobs OE, Rozhkova NI, Kaprin AD, Muizhnek EL, Burdina II, Zapirova SB et al. Diagnosis of microcalcifications as a factor initiating the development of breast cancer. P.A. Herzen Journal of Oncology. 2019;8(5):327–332 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog20198051327.
2. Mashekova A, Zhao Y, Ng E, Zarikas V, Mukhmetov O. Recent advances on artificial intelligent techniques for breast cancer diagnosis. Bulletin of Almaty University of Power Engineering and Telecommunications. 2020;4(51):126–35. DOI: 10.51775/1999-9801_2020_51_4_126.
3. Зирияходжаев А.Д., Рассказова Е.А., Ермошченкова М.В., Куприянов П.И., Токаев В.К. Особенности комбинированного лечения рака молочной железы с изолированным метастатическим поражением надключичных или парастеральных лимфатических узлов. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2019;8(5):394–401. DOI: 10.17116/onkolog20198051394. Zikiryakhodzhaev AD, Rasskazova EA, Ermoshchenkova MV, Kupriyanov PI, Tokaev VK. Features of combined treatment for breast cancer with isolated supraclavicular or parasternal lymph node metastasis. P.A. Herzen Journal of Oncology. 2019;8(5):394–401 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog20198051394.
4. Vasconcelos I, Hussainzada A, Berger S, Fietze E, Linke J, Siedentopf F et al. The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free survival. Breast. 2016;29:181–5. DOI: 10.1016/j.breast.2016.07.016.

5. Schmid P, Cortes J, Puzstai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J et al. Pembrolizumab for early triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2020;382(9):810–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1910549.
6. Darwish A, latif AA, Abdallah D. Biological subtypes of breast cancer and pattern of locoregional relapse. *Int J Cancer Treat.* 2019;2(1):47–53. DOI: 10.3619/FRCM.1000117
7. Волченко Н.Н., Борисова О.В., Мельникова В.Ю., Ермолаева А.Г., Глухова Ю.К. Срочное интраоперационное цитологическое исследование сторожевых лимфатических узлов при раннем раке молочной железы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2019;8(3):169–174. DOI: 10.17116/onkolog2019803115169.
Volchenko NN, Borisova OV, Melnikova VYu, Ermolaeva AG, Glukhova YuK. Urgent intraoperative cytological examination of sentinel lymph nodes in early breast cancer. *P.A. Herzen Journal of Oncology.* 2019;8(3):169–174 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog2019803115169.
8. Старкова М.В., Зикийходжаев А.Д., Грушина Т.И., Суркова В.С., Славнова Е.Н., Леонтьев А.В. Диагностическая значимость биопсии сторожевого лимфатического узла у больных ранним раком молочной железы. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2019;8(6):422–427. DOI: 10.17116/onkolog20198061422.
Starkova MV, Zikiryakhodzaev AD, Grushina TI, Surkova VS, Slavnova EN, Leontyev AV. Diagnostic value of sentinel lymph node biopsy in patients with early breast cancer. *P.A. Herzen Journal of Oncology.* 2019;8(6):422–427 (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog20198061422.
9. Chandrasekaran D, Sundaram S, Kadhiresan N, Ramaswami P. Programmed death ligand 1; An immunotarget for renal cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2019;20(10):2951–7. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.10.2951.
10. Белянин В.Л., Цыплаков Д.Э. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. Санкт-Петербург–Казань: Чувашия, 1999. 328 с.
Belyanin VL, Tsyplakov DE. Diagnosis of reactive lymph node hyperplasia. St. Petersburg–Kazan: Chuvashia, 1999. 328 p. (In Russ.).
11. С.В. Петров, Н.Т. Райхлин (ред.). Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 4-е изд. Казань: DESIGNstudio “RED”, 2012. 624 с.
SV Petrov, NT Raykhlin (eds.). Manual on immunohistochemical diagnosis of human tumors. 4th ed. Kazan: DESIGNstudio “RED”, 2012. 624 p. (In Russ.).
12. Feng F, Liu Y, Liu G, Zhu P, Zhu M, Zhang H et al. Human CD8⁺CD28⁻ T suppressor cells expanded by IL-15 *in vitro* suppress in an allospecific and programmed cell death protein 1-dependent manner. *Front Immunol.* 2018;9:1442. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01442.
13. Rashed HE, Abdelrahman AE, Abdelgawad M, Balata S, Shabrawy ME. Prognostic significance of programmed cell death ligand 1 (PD-L1), CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and p53 in non-small cell lung cancer: An immunohistochemical study. *Turk Patoloji Derg.* 2017;1(1):211–22. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01398.
14. Tunland B. Role of gut microbiota in immune homeostasis. In: B Tunland (ed.). *Human Microbiota in Health and Disease: From Pathogenesis to Therapy.* Academic Press, 2018. P. 135–154. DOI: 10.1016/B978-0-12-814649-1.00004-1.
15. Kalia V, Sarkar S. Regulation of effector and memory CD8 T cell differentiation by IL-2–A balancing act. *Front Immunol.* 2018;9:2987. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02987.
16. Vrabie EM, Alecu M, Cirimbei C, Daha C, Prunoiu VM, Stanculeanu DL et al. The management of axillary lymph nodes in breast cancer – A retrospective single-centre study. *Chirurgia (Bucur).* 2021;116(2):186–92. DOI: 10.21614/chirurgia.116.2.186.
17. Takalkar UV, Advani S. Prognostic indicators in breast cancer patients. *J Cancer Res Forecast.* 2018;1(1):1011.
18. Komohara Y, Anami T, Asano K, Fujiwara Y, Yatsuda J, Kamba T. Anti-cancer immune reaction and lymph node macrophage; A review from human and animal studies. *Immuno.* 2021;1:223–30. DOI: 10.3390/immuno1030014.
19. Komohara Y, Ohnishi K, Takeya M. Possible functions of CD169-positive sinus macrophages in lymph nodes in anti-tumor immune responses. *Cancer Sci.* 2017;108(3):290–5. DOI: 10.1111/cas.13137.
20. Seidl M, Bader M, Vaihinger A, Wellner UF, Todorova R, Herde B et al. Morphology of immunomodulation in breast cancer tumor draining lymph nodes depends on stage and intrinsic subtype. *Sci Rep.* 2018;8(1):5321. DOI: 10.1038/s41598-018-23629-3.
21. Kuroda H, Jamiyan T, Yamaguchi R, Kakumoto A, Abe A, Harada O et al. Tumor-infiltrating B cells and T cells correlate with postoperative prognosis in triple-negative carcinoma of the breast. *BMC Cancer.* 2021;21(1):286. DOI: 10.1186/s12885-021-08009-x.
22. Kohrt HE, Nouri N, Nowels K, Johnson D, Holmes S, Lee PP. Profile of immune cells in axillary lymph nodes predicts disease-free survival in breast cancer. *PLoS Med.* 2005;2(9):e284. DOI: 10.1371/journal.pmed.0020284.
23. Скотаренко Л.В., Воротников И.К., Кадагидзе З.Г., Шамилов Ф.А. Особенности Т-клеточного иммунитета при раке молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 2011;4:24–28.
Skotarenko LV, Vorotnikov IK, Kadagidze ZG, Shamilov FA. The specific features of T cell immunity in breast cancer. *Tumors of Female Reproductive System.* 2011;4:24–28 (In Russ.).
24. Poorolajal J, Nafissi N, Akbari ME, Mahjub H, Esmailnasab N, Babaee E. Breast cancer survival analysis based on immunohistochemistry subtypes (ER/PR/HER2): A retrospective cohort study. *Arch Iran Med.* 2016;10:680–6. PMID: 27743431.
25. Rouillé E, Bilbault H, Levin C, Lezmi S. Characterization of an interdigitating dendritic cell hyperplasia case in a lymph node of a control C57BL/6 mouse. *J Toxicol Pathol.* 2021;34(1):101–6. DOI: 10.1293/tox.2020-0039.
26. Romero-Palomo F, Riscalde MA, Molina V, Sánchez-Cordón PJ, Pedrera M, Gómez-Villamandos JC. Immunohistochemical detection of dendritic cell markers in cattle. *Vet Pathol.* 2013;50(6):1099–108. DOI: 10.1177/0300985813482951.

Информация об авторах

Евгений Васильевич Москвичев – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова, заведующий патологоанатомическим отделением Республиканского клинического онкологического диспансера Минздрава Чувашии.

Лариса Михайловна Меркулова – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Анна Ивановна Кузнецова – ассистент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Ольга Юрьевна Кострова – кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Елена Геннадьевна Драндрова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Глеб Юрьевич Стручко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Екатерина Михайловна Сперанская – ассистент кафедры общей и клинической морфологии ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Author information

Evgenij V. Moskvichev – Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University; Head of the Pathology Department, Republican Clinical Oncology Dispensary of the Ministry of Health of Chuvashia.
<https://orcid.org/0000-0002-2850-5487>.

Larisa M. Merkulova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.
<https://orcid.org/0000-0001-7460-6791>

Anna I. Kuznecova – Assistant, Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.
<https://orcid.org/0000-0003-1418-5037>

Olga Yu. Kostrova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of the Instrumental Diagnostics with Phthysiology Course, IN Ulyanov Chuvash State University.
<https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>

Elena G. Drandrova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of the the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.
<https://orcid.org/0000-0003-3341-3373>

Gleb Yu. Struchko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.
<https://orcid.org/0000-0002-0549-5116>

Ekaterina M. Speranskaya – Assistant, General and Clinical Morphology Department, IN Ulyanov Chuvash State University.
<https://orcid.org/0000-0003-0946-3434>

Клинико-морфологические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия

В.В. Печникова^{1,2}, А.М. Пшихачев^{2,3}, Л.М. Михалева^{1,2}

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, Москва, Россия

² ГБУЗ Городская клиническая больница № 31 Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

³ Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Резюме. *Введение.* Рак мочевого пузыря (РМП) является значимой проблемой здравоохранения из-за тенденции к рецидивам, прогрессированию и метастазированию, что требует больших государственных затрат. Изучение предраковых поражений уротелия способствует более раннему выявлению заболевания и в дальнейшем оказывает влияние на тактику лечения. Однако среди экспертов существуют большие разногласия в интерпретации патологических процессов уротелия, поэтому целью нашего исследования стала оценка клинико-морфологических особенностей воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия.

Материалы и методы. В исследование были включены 120 пациентов (77 мужчин и 43 женщины) с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия. Пациенты были разделены на четыре подгруппы: в первую подгруппу (I) вошли 11 пациентов с реактивной атипией уротелия, во вторую подгруппу (II) – 24 пациента с уротелиальной дисплазией, в третью подгруппу (III) – 51 пациент с мышечно-неинвазивным РМП (МНИРМП) и в четвертую подгруппу (IV) – 34 пациента с мышечно-инвазивным РМП (МИРМП). Клинически оценивались пол, возраст, размер и локализация поражений, их одиночность и множественность, а также наличие крови в моче. Патоморфологически для III и IV подгрупп исследовался уровень инвазии злокачественной опухоли и степени ее дифференцировки. При статистической обработке данных использовалась программа IBM SPSS Statistics (версия 23) для Windows.

Результаты. В ходе исследования выявлено, что опухолевые поражения встречаются у мужчин чаще, чем у женщин. Размер уротелиальной дисплазии у женщин достоверно больше, чем у мужчин ($U=26$; $p=0,019$). В III подгруппе (МНИРМП) с увеличением возраста множественные поражения встречались чаще ($U=155,5$; $p=0,048$). В IV подгруппе (МИРМП) у пациентов более молодого возраста отмечены менее дифференцированные опухоли.

Заключение. Данные исследования продемонстрировали клинико-морфологические особенности пациентов с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями мочевого пузыря.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря, мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, уротелиальная дисплазия, реактивная атипия, онкология, патологическая анатомия

Для корреспонденции: Людмила Михайловна Михалева. E-mail: mikhalevalm@yandex.ru

Для цитирования: Печникова В.В., Пшихачев А.М., Михалева Л.М. Клинико-морфологические особенности воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия. Клини. эксп. морфология. 2022;11(1):33–42. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.33-42.

Финансирование. Работа выполнена в рамках поискового научного исследования № АААА-А20-120122190025-7.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 27.10.2021. Получена после рецензирования 23.11.2021. Принята в печать 16.12.2021.

Clinical and morphological features of inflammatory, precancerous, and cancerous lesions of the urothelium

V.V. Pechnikova^{1,2}, A.M. Pshikhachev^{2,3}, L.M. Mikhaleva^{1,2}

¹ A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

² City Clinical Hospital No. 31 of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

³ Medical Research and Education Center of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract. *Introduction.* Bladder cancer (BC) is a significant public health problem due to its high likelihood of relapse and local or metastatic progression, which requires big government funding. The study of the

urothelial precancerous lesions contributes to the earlier disease detection and influences the management strategy. However, experts argue on how to interpret pathological processes of the urothelium, therefore, the purpose of our study was to evaluate clinical and morphological features of inflammatory, precancerous, and cancerous lesions of the urothelium.

Materials and methods. The study included 120 patients (77 men and 43 women) with inflammatory, precancerous, and cancerous lesions of the urothelium. The patients were divided into 4 subgroups: subgroup I included 11 patients with reactive atypia of the urothelium; subgroup II involved 24 patients with urothelial dysplasia; subgroup III consisted of 51 patients with non-muscle-invasive BC (NMIBC); and subgroup IV included 34 patients with muscle-invasive BC (MIBC). We assessed clinically gender, age, size, lesion location, singleness and multiplicity of lesions, and the presence of blood in the urine. We also performed pathological assessment for subgroups III and IV: we studied the level of tumor invasion and the tumor grade. For statistical processing of the data, we used IBM SPSS Statistics (version 23) for Windows.

Results. The study revealed tumor lesions to be more common in men than in women. The size of urothelial dysplasia in women was significantly greater than in men ($U=26$; $p=0.019$). In subgroup III (NMIBC), multiple lesions were more common with increasing age ($U=155.5$; $p=0.048$). In subgroup IV (MIBC), younger patients were found to have less differentiated tumors.

Conclusion. This study demonstrated the clinical and morphological features of patients with inflammatory, precancerous, and cancerous lesions of the bladder.

Keywords: bladder cancer, muscle non-invasive bladder cancer, muscle invasive bladder cancer, urothelial dysplasia, reactive atypia, oncology, pathology

For citation: Pechnikova V.V., Pshikhachev A.M., Mikhaleva L.M. Clinical and morphological features of inflammatory, precancerous and cancerous lesions of the urothelium. *Clin. exp. morphology.* 2022;11(1):33–42 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.33-42

Corresponding author: Liudmila M. Mikhaleva. E-mail: mikhalevalm@yandex.ru

Funding. The study was carried out within the framework of exploratory research No. AAAA-A20-120122190025-7.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 27.10.2021. **Received in revised form** 23.11.2021. **Accepted** 16.12.2021.

Введение

В условиях развития современной цивилизации с каждым годом возрастает доля распространенности онкологических заболеваний в общей популяции. Рак мочевого пузыря (РМП) является значимой проблемой здравоохранения, в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в России РМП занимает 9-е место у мужчин и 16-е у женщин [1]. Средний возраст больных обоего пола с впервые установленным диагнозом «рак мочевого пузыря» в России по состоянию на 2019 год составлял 65,7 года (у мужчин – 66,9 года, у женщин – 69,5 года). В период с 2009 по 2019 год наблюдалась явная тенденция к росту показателей заболеваемости РМП, что соответствует общему положительному приросту за десятилетие в размере 30,8% [1].

Самым частым гистологическим типом РМП является уротелиальная карцинома – ее обнаруживают в 90% случаев как в США, так и в России [2]. По своей структуре уротелий (ранее в литературе использовалось понятие «переходный эпителий») представлен специализированными клетками, выстилающими мочевыводящие пути, и, в отличие от обычного эпителия, они могут сжиматься и растягиваться. Плоскоклеточный рак и аденокарцинома мочевого пузыря – более редкие злокачественные новообразования данной локализации, распространенность которых не превышает 2–5% [3], поэтому в настоящее время исследование

уротелиального рака представляется более актуальной и приоритетной медицинской проблемой.

Интенсивное развитие новых технологий и подходов к диагностике РМП позволяет в большинстве случаев выявить заболевание на ранних стадиях. По данным многочисленных авторов, глубина инвазии – критически важный прогностический фактор выживаемости пациентов с уротелиальной карциномой [4–6].

На момент постановки диагноза у большинства пациентов (70–75%) выявляют мышечно-неинвазивный РМП (МНИРМП) [7]. В данную категорию включаются поражения уротелия без инвазии в мышечный слой мочевого пузыря (МП), такие как папиллярная неинвазивная карцинома (соответствующая стадия TNM – Ta); «плоская» карцинома *in situ*, ограниченная слизистой оболочкой (Tis); карцинома с инвазией в подэпителиальную соединительную ткань (T1) [8]. Среди МНИРМП около 70% поражений имеет стадию pTa, 20% – pT1 и оставшиеся 10% – Tis [9]. Мышечно-инвазивный РМП (МИРМП) встречается у 20–25% пациентов [7], при этом категория T варьирует от T2a до T4b в зависимости от степени инвазии в мышечный слой. Инвазия может быть ограничена стенкой мочевого пузыря или выходить за ее пределы, в части случаев с прорастанием в соседние органы. Как мышечно-неинвазивный, так и инвазивный РМП имеет разные варианты прогноза и лечения.

У пациентов с мышечно-неинвазивным типом заболевания (Ta, T1, Tis) отмечаются большая выживаемость и меньшая летальность, чем у пациентов со стадией опухоли T2–T4 [10, 11].

При этом стоит отметить, что МНИРМП является широким разнородным злокачественным новообразованием, представленным папиллярными, «плоскими» и раннеинвазивными поражениями. В зависимости от характеристик опухоли вероятность рецидива для любого конкретного пациента может составлять от 15% до 70% спустя 1 год после проведенного лечения [12], что считается главной проблемой у пациентов с данной формой РМП. При этом большинство неинвазивных опухолей имеет довольно низкую вероятность (10–20%) прогрессирования [12–14]. Инвазивный тип обладает более высокой частотой метастатического распространения и нуждается в радикальной форме лечения [15], при этом 5-летняя выживаемость пациентов без метастазов составляет около 60% и снижается до 10% в случае ранней диссеминации [16].

Высокая тенденция к рецидивам, прогрессированию или метастазированию РМП требует значительных затрат для системы здравоохранения [14]. Одним из решений данной проблемы представляется сдвиг клинической парадигмы с лечения на предупреждение РМП, а именно поиск факультативных и облигатных предраковых поражений уротелия. Адекватная и своевременная диагностика поражений уротелия (в том числе предраковых) может снизить затраты, а также показатели заболеваемости и смертности [17].

Уротелиальная дисплазия («плоская» уротелиальная неоплазия низкой степени злокачественности) предшествует РМП и связана с повышенным риском прогрессирования и рецидива заболевания [5]. Сохранение дисплазии после лечения указывает на его неэффективность и в дальнейшем может привести к радикальной цистэктомии. По данным литературы, существует связь дисплазии и МИРМП: считается, что структурные и функциональные дефекты в белке p53 и/или ретинобластомы (RB) способствуют трансформации диспластических процессов в рак [18, 19].

Дисплазия часто упускается из внимания патологоанатомами, а иногда ошибочно диагностируется как реактивная атипия или карцинома *in situ*. В части случаев эксперты используют также понятие «атипия уротелия неясного значения» [20]. Морфологически при дисплазии происходят потеря «перпендикулярного строения» уротелия, минимальные изменения в виде увеличения или нерегулярности ядер. Напротив, клеточная поляриность сохраняется при реактивной атипии, и обычно наблюдаются признаки остро/хронического воспаления в уротелии (на что в анамнезе могут указывать травмы, инфекции, камни или внутрипузырные манипуляции), но не полиморфизм или неправильный паттерн хроматина [17].

Следовательно, дифференциальная диагностика дисплазии и реактивной атипии очень важна при вос-

палительных процессах уротелия или при реактивных состояниях после проведенного лечения [17].

Таким образом, учитывая разногласия в интерпретации патологических процессов уротелия, целью нашего исследования стала оценка клинико-морфологических особенностей воспалительных, предраковых и раковых поражений уротелия.

Материалы и методы

В исследование были включены 120 пациентов (77 мужчин и 43 женщины) с воспалительными, предраковыми и раковыми поражениями уротелия в возрасте от 39 лет до 91 года (медиана = 69).

Пациенты были разделены на четыре подгруппы. В первую подгруппу (I) вошли 11 пациентов с реактивной атипией уротелия, во вторую подгруппу (II) – 24 пациента с уротелиальной дисплазией, в третью подгруппу (III) – 51 пациент с МНИРМП и в четвертую подгруппу (IV) – 34 пациента с МИРМП.

Всем пациентам была выполнена трансуретральная резекция (ТУР) мочевого пузыря с последующей химиотерапией митомицином С и патологоанатомическим исследованием биопсированных фрагментов по стандартной методике. Клинически оценивали пол, возраст, размер и локализацию поражений, их одиночность и множественность, а также наличие крови в моче. Измерение линейного размера поражения в сантиметрах выполнялось эндоскопически в ходе ТУР. При сборе данных для множественных поражений использовался линейный размер наибольшего поражения.

Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном растворе формалина и после гистологической проводки в автоматическом гистопроцессоре Leica ASP 300 (Leica Microsystems, Германия) заливали в парафин на станции Leica EG 1150 (Leica Microsystems, Германия). Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином в автоматической станции Leica ST 5010 (Leica Microsystems, Германия). Микроскопическое исследование осуществляли на триокулярном микроскопе Leica DMLB (Leica Microsystems, Германия, окуляры ×10) с использованием цифровой камеры Leica DFC 420 (Германия). В полученных микропрепаратах проводили патоморфологическую оценку поражений, для III и IV подгрупп микроскопически исследовали уровень инвазии опухоли (по классификации TNM 8-го издания: Ta – неинвазивная папиллярная карцинома; T1 – опухоль с распространением в подэпителиальную соединительную ткань; T2 – опухоль с инвазией мышечного слоя мочевого пузыря). Также в III и IV подгруппах микроскопически производили оценку степени дифференцировки опухолей по классификации ВОЗ 1973 года (G1 – высокая степень дифференцировки опухоли (низкая степень злокачественности); G2 – умеренная степень дифференцировки опухоли; G3 – низкодифференцированная опухоль) и по классификации ВОЗ 2016 года (low-grade поражения – высокодиффе-

ренцированные опухоли, низкой степени злокачественности; high-grade поражения – низкодифференцированные опухоли, высокой степени злокачественности).

По классификации ВОЗ 1973 года микроскопически опухоли G1 характеризуются отсутствием выраженного полиморфизма (ядра униформные, вытянутые, полярность клеток сохранена) и митозов; опухоли G2 – умеренно выраженными изменениями полярности клеток, увеличением размеров и формы ядер; степень G3 отличается выраженной дезорганизацией архитектоники клеток, значительной ядерной атипией и полиморфизмом, в опухоли также наблюдается большое количество митозов.

В опухолях low-grade (по классификации ВОЗ 2016 года) присутствует минимальная клеточная дезорганизация, полярность, размер и форма ядер переменны, митозы, как правило, редкие. Low-grade поражения соответствуют степеням дифференцировки G1 и G2 1973 года. High-grade поражения микроскопически имеют выраженные архитектурные, цитологические и ядерные нарушения. Ядерная атипия проявляется видимыми и полиморфными ядрышками, большим количеством митозов. В high-grade поражениях могут наблюдаться некрозы опухоли и слияние ее сосочков. High-grade поражения соответствуют степеням дифференцировки G2 и G3 1973 года.

При статистической обработке данных использовали программу IBM SPSS Statistics (версия 23) для Windows. Определение нормальности распределения осуществляли на основе расчета критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. В соответствии с проведенной проверкой на нормальность распределения применялись непараметрический коэффициент корреляции Спирмена и непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Распределение пациентов, включенных в исследование, в подгруппах по возрасту и по размеру поражений (атипия, дисплазия) или опухолей (МНИРМП, МИРМП) представлены в таблицах 1 и 2.

I подгруппа

I подгруппу пациентов составили мужчины ($n=11$) в возрасте от 52 до 73 лет (Me – 62 (58; 70)).

Размер поражения варьировал от 0,15 до 1 см (Me – 0,6 (0,3; 0,9)).

При вычислении коэффициента корреляции Спирмена связь возраста и размера поражения в I подгруппе не обнаружена ($R=0,394$; $p=0,23$).

По локализации реактивной атипия уротелия отмечалась в треугольнике МП ($n=1$; 9,09%), боковой стенке МП ($n=2$; 18,18%), задней стенке МП ($n=2$; 18,18%), в устье одного из мочеточников ($n=4$; 36,36%), поражение более одной локализации выявлено в двух наблюдениях (18,18%) (рис. 1).

Таблица 1 | Table 1

Распределение подгрупп по возрасту (в годах) |
Age distribution in subgroups (in years)

Подгруппа Subgroup	n	Me (L 25%; U 75%)
I	11	62 (58; 70)
II	24	68 (51; 74)
III	51	70 (62; 74)
IV	34	65 (58; 78)

n – число наблюдений; Me (L 25%; U 75%) – медиана и квантили

n – number of cases; Me (L 25%; U 75%) – median and quartiles

Таблица 2 | Table 2

Распределение подгрупп по размеру поражений/опухоли (в сантиметрах) |
Size distribution of lesions/tumors in subgroups (in centimeters)

Подгруппа Subgroup	n	Me (L 25%; U 75%)
I	11	0,6 (0,3; 0,9)
II	24	1,2 (0,52; 1,675)
III	51	1,3 (0,5; 2,6)

n – число наблюдений; Me (L 25%; U 75%) – медиана и квантили

n – number of cases; Me (L 25%; U 75%) – median and quartiles

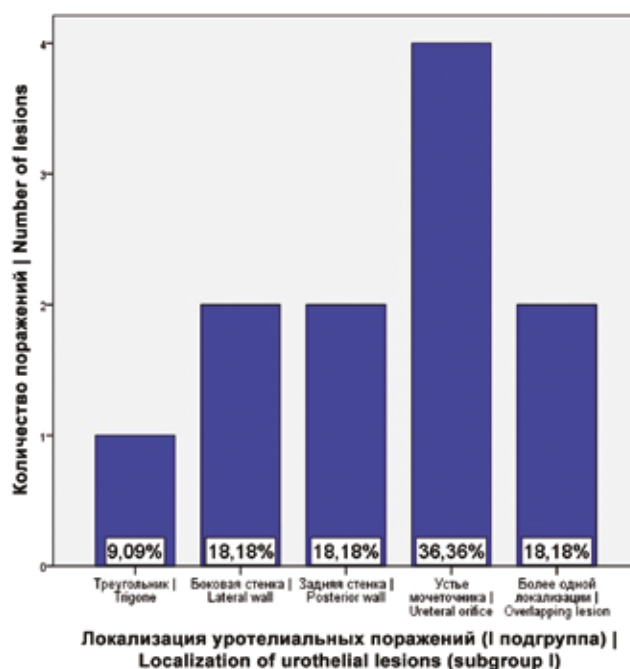


Рис. 1. Распределение уротелиальных поражений по локализации в I подгруппе

Fig. 1. Distribution of urothelial lesions by location in subgroup I

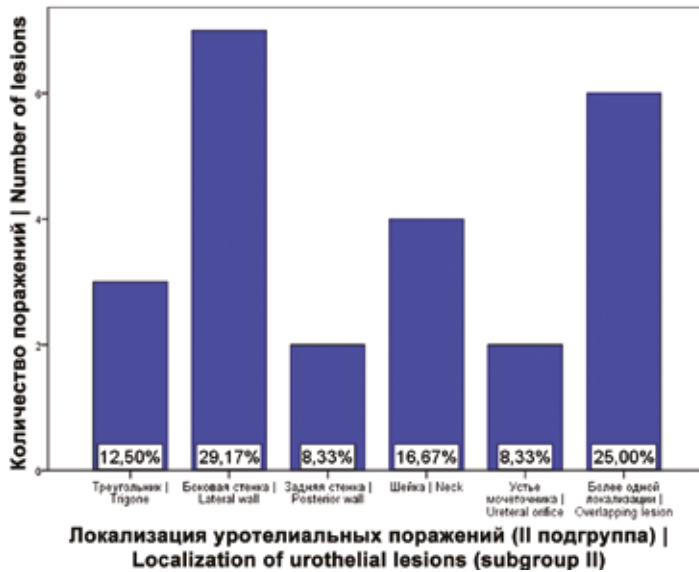


Рис. 2. Распределение уротелиальных поражений по локализации во II подгруппе

Fig. 2. Distribution of urothelial lesions by location in subgroup II

Одиночное поражение наблюдалось в девяти случаях (81,8%), множественное – в двух (18,2%). В одном наблюдении (9,1%) клинически определялась кровь в моче, в остальных наблюдениях (n=10; 90,1%) кровь в моче не обнаружена.

II подгруппа

II подгруппу составили 24 пациента (восемь мужчин и 16 женщин) в возрасте от 43 до 88 лет, Me – 68 (51; 74). Возраст мужчин: Me – 73 (68; 74); женщин: Me – 59 (46,75; 75,5). Размер поражений у пациентов обоего пола находился в пределах от 0,3 до 3 см (Me – 1,2 (0,52; 1,675)): у мужчин (Me – 0,8 (0,37; 0,9)); у женщин – от 0,4 до 3 см (Me – 1,25 (0,67; 2,0)).

При вычислении коэффициента корреляции Спирмена связь возраста и размера поражения во II подгруппе не обнаружена ($R = -0,18$; $p = 0,93$).

При сравнении возраста мужчин и женщин с дисплазией уротелия с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни статистически значимые различия не выявлены ($p > 0,05$).

При сравнении размера поражения уротелия у мужчин и женщин во II подгруппе с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни выявлены статистически значимые различия: размер уротелиальной дисплазии у женщин достоверно больше, чем у мужчин ($U = 26$; $p = 0,019$).

По локализации дисплазия уротелия наблюдалась в следующих локализациях (рис. 2): в тре-

угольнике МП (n= 3; 12,5%), боковой стенке МП (n=7; 29,1%), задней стенке МП (n=2; 8,3%), шейке МП (n=4; 16,67%), в устье одного из мочеточников (n=2; 8,33%), поражение более одной локализации наблюдалось в шести случаях (25%).

Одиночное поражение наблюдалось в 18 случаях (75%), множественное – в шести (25%). Возраст пациентов при одиночном поражении: Me – 65 (48,25; 74), при множественном: Me – 68 (57; 78).

У большинства пациентов отмечалось наличие крови в моче (n=19; 79,17%), у пяти пациентов (20,83%) кровь в моче не обнаружена.

III подгруппа

В III подгруппу вошел 51 пациент (32 мужчины и 19 женщин с МНИРМП) в возрасте от 41 до 86 лет, Me – 70 (62; 74). Возраст мужчин: Me – 70 (59; 73,75); женщин: Me – 71 (67; 79).

Размер опухолевых поражений у пациентов обоего пола находился в пределах от 0,12 до 4,4 см (Me – 1,3 (0,5; 2,55)). Размер МНИРМП у мужчин варьировал от 0,12 до 4,4 см (Me – 1,9 (0,5; 2,9)), у женщин – от 0,15 до 4 см (Me – 0,9 (0,3; 2,3)).

При сравнении возраста пациентов и размера МНИРМП в группах по полу с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни статистически значимые различия не выявлены ($p > 0,05$).

По локализации МНИРМП встречались в треугольнике МП (n=1; 1,96%), куполе МП (n=2; 3,92%), боковой стенке МП (n=21; 41,18%), передней стенке МП (n=3; 5,88%), задней стенке МП (n=3; 5,88%), шейке МП (n=2; 3,92%), в устье одного из мочеточников (n=8; 15,69%), поражение более одной локализации наблюдалось в 11 случаях (21,57%) (рис. 3).

Одиночное поражение отмечено в 38 наблюдениях (74,5%), множественное – в 13 (35,2%). Возраст пациентов при одиночном поражении: Me – 69,5 (62; 73), при множественном: Me – 80 (62,5; 81).



Рис. 3. Распределение уротелиальных поражений по локализации в III подгруппе

Fig. 3. Distribution of urothelial lesions by location in subgroup III

При сравнении групп (возраст) с множественным и одиночным поражением с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни выявлены статистически значимые различия: с увеличением возраста множественные поражения встречаются чаще ($U=155,5$; $p=0,048$).

В 42 наблюдениях (82,35%) присутствовала кровь в моче, в остальных наблюдениях ($n=9$; 17,65%) кровь в моче не обнаружена.

По уровню инвазии по классификации TNM в 11 случаях (21,57%) выявлена стадия Ta (папиллярная неинвазивная карцинома), в 40 (78,43%) – T1 стадия (инвазия опухоли в подэпителиальную соединительную ткань). Возраст пациентов со стадией Ta: Me – 69 (59; 70), при стадии T1: Me – 71,5 (63; 74,75) (статистически значимые различия не обнаружены ($p=0,21$)).

При этом размер МНИРМП при стадии Ta: Me – 2 (0,6; 3), а при стадии T1: Me – 1,1 (0,35; 2,57), что, возможно, связано и с меньшим числом наблюдений опухолей Ta стадии.

Степень дифференцировки МНИРМП по классификации ВОЗ 1973 года (G1, G2, G3) распределялась следующим образом: 20 опухолей (39,22%) соответствовали G1 образованиям (высокодифференцированным), 22 случая (43,14%) – G2 (умереннодифференцированным), девять наблюдений (17,65%) – G3 (низкодифференцированным).

Возраст пациентов со степенью дифференцировки МНИРМП G1: Me – 70 (62,75; 73,75), при опухолях G2: Me – 68 (59,75; 80), при опухолях G3: Me – 73 (70,5; 78,0), соответственно.

При сравнении групп со степенью дифференцировки G1 и G2 МНИРМП с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни статистически значимые различия не обнаружены ($p=0,89$), такой же результат получен для групп G1/G3 ($p=0,116$) и G2/G3 ($p=0,174$).

Размер МНИРМП также возрастал при снижении степени дифференцировки. Размер опухолевых образований при степени G1: Me – 0,8 (0,42; 2,87); G2: Me – 0,95 (0,29; 2,57); G3: Me – 1,8 (1,25; 2,8).

При сравнении групп со степенью дифференцировки G1 и G2 с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни статистически значимые различия не обнаружены ($p=0,89$), такой же результат получен для групп G1/G3 ($p=0,216$) и G2/G3 ($p=0,188$).

При использовании классификации степени дифференцировки опухоли ВОЗ 2016 года (low-grade, high-grade) выявлено 20 случаев (39,2%) low-grade образований и 31 поражение (60,78%) high-grade.

Возраст пациентов с low-grade поражениями: Me – 70 (62,75; 73,75), при опухолях high-grade: Me – 71 (62; 80). Размер опухолей с low-grade дифференцировкой: Me – 0,8 (0,42; 2,87), у high-grade поражений: Me – 1,5 (0,5; 2,6).

При сравнении групп с low-grade и high-grade МНИРМП с помощью непараметрического

U-критерия Манна–Уитни статистически значимые различия не обнаружены ($p=0,602$).

IV подгруппа

IV подгруппу составили 34 пациента (26 мужчин и восемь женщин с МИРМП) в возрасте от 44 до 90 лет, Me – 65 (58; 78). Возраст мужчин: Me – 65 (57,5; 76); женщин: Me – 72 (61; 83).

Размер опухолевых поражений у пациентов IV подгруппы не определялся ввиду инвазивного характера роста опухоли, поэтому размер поражения в этой подгруппе не оценивали.

При сравнении возраста в группах по полу с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни статистически значимые различия не выявлены ($p>0,05$).

По локализации МИРМП встречался в треугольнике МП ($n=2$; 5,88%), боковой стенке МП ($n=8$; 23,53%), задней стенке МП ($n=6$; 17,65%), шейке МП ($n=2$; 5,88%), поражение более одной локализации наблюдалось в 16 случаях (47,06%) (рис. 4).

Одиночное поражение при МИРМП наблюдалось в 18 случаях (52,94%), множественное – в 16 (47,06%). Возраст пациентов при одиночном поражении: Me – 65 (59,5; 75,25); при множественном: Me – 69 (56,5; 80). Статистически значимые различия при этом не обнаружены ($p=0,67$).

Во всех наблюдениях (100%) присутствовала кровь в моче.

По уровню инвазии по классификации TNM во всех наблюдениях (100%) установлена стадия T2 (инвазия опухоли в мышечную оболочку МП).

Степень дифференцировки МИРМП по классификации ВОЗ 1973 года распределялась следующим образом: в 14 случаях (41,18%) наблюдалась степень G2, в оставшихся 20 (58,82%) установлена степень G3,

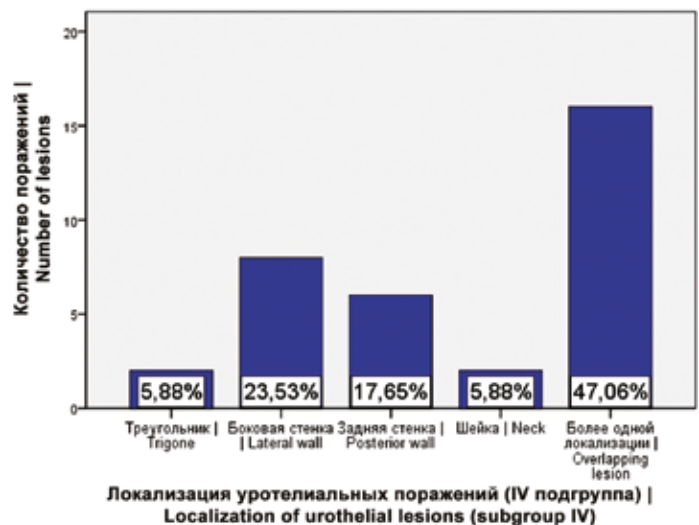


Рис. 4. Распределение уротелиальных поражений по локализации в IV подгруппе

Fig. 4. Distribution of urothelial lesions by location in subgroup IV

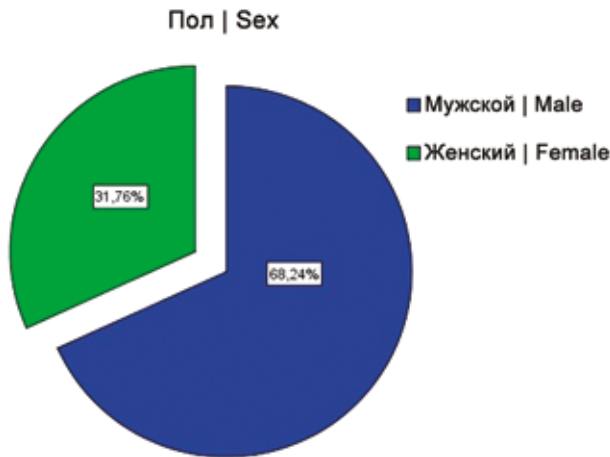


Рис. 5. Распределение пациентов с РМП по полу (в %)
Fig. 5. Distribution of patients with bladder cancer by sex (in %)

опухоли со степенью дифференцировки G1 в IV подгруппе в нашем исследовании не выявлены.

Возраст пациентов со степенью дифференцировки опухоли G2: Me – 77 (65; 80), при опухолях G3: Me – 61 (58; 71).

При сравнении групп (возраст) со степенью дифференцировки G2 и G3 с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни были выявлены статистически значимые различия: у пациентов более молодого возраста встречался менее дифференцированный МИРМП ($U=64$; $p=0,007$).

Все случаи МИРМП (100%) были отнесены к высокой степени злокачественности (high-grade).

Дополнительно объединение III и IV подгрупп пациентов показало, что частота встречаемости РМП у мужчин выше, чем у женщин (58 мужчин против 27 женщин; 68,24 и 31,76%, соответственно) (рис. 5).

Обсуждение

Полученные нами результаты в отношении заболеваемости РМП у пациентов обоего пола соответствуют данным литературы – как в России, так и во всем мире мужчины чаще страдают РМП, чем женщины [1, 21]. Точные причины этого явления пока неясны [22]. Ранее указанную особенность связывали с распространенностью табакокурения в мужской популяции, однако в исследованиях было показано, что риск развития РМП у некурящих мужчин также намного выше, чем у некурящих женщин [23]. Одно из объяснений этой разницы в заболеваемости связано с половыми гормонами и их рецепторами. Эпидемиологическое исследование показало, что женщины в постменопаузе имеют больший риск развития РМП, чем находящиеся в пременопаузе [24]. Экспериментальные работы продемонстрировали, что частота возникновения спонтанного и химически индуцированного РМП значительно выше у самцов крыс, чем у самок [25–27], а лечение самцов крыс с депривацией андрогенов снижает развитие химически индуцированного РМП [25, 26, 28]. Недавние исследова-

ния показывают, что один из генов, связанный с X-хромосомой (*KDM6A*), может иметь большое значение в объяснении причин сниженной заболеваемости в женской популяции [29]. Данный ген имеет свойства онкосупрессора и более выражен у женщин (с хромосомами XX) по сравнению с мужчинами (с хромосомами XY) [29].

Клинические и патоморфологические особенности РМП крайне важны и дают прогностическую информацию о поведении опухоли. Существующие оценочные системы рисков для прогнозирования МНИРМП рассматривают пожилой возраст и мультифокальность поражения как прогностически неблагоприятные в отношении последующего рецидива и прогрессии [12, 30]. Влияние данных факторов на исход заболевания подтверждается в многих научных работах. В частности, S. Naukaas et al. продемонстрировано, что множественное поражение связано с более коротким безрецидивным периодом заболевания [31]. В исследовании R.V. Nerli et al. также показано, что пациенты с множественными low-grade поражениями Ta стадии имеют высокий риск развития рецидивов и прогрессии [32]. Однако нами найдена только одна работа, демонстрирующая связь числа опухолей и возраста пациентов: I. Ozbey et al. установили, что у более молодых пациентов чаще встречались одиночные опухоли мочевого пузыря, чем множественные [33]. При этом стоит отметить, что авторы оценивали данные пациентов моложе 40 лет, пациенты более старшего возраста в исследовании включены не были. В нашей работе установлено, что с увеличением возраста множественные поражения при МНИРМП встречаются чаще. Мы полагаем, что этот факт может еще больше усугубить дальнейший прогноз заболевания. В данной группе пациентов нам видится целесообразным более пристальное внимание к процедуре TUR, а также их длительное последующее наблюдение ввиду крайне высокой вероятности прогрессии и рецидива опухоли.

Согласно результатам научных исследований, прогнозирование течения РМП у пациентов молодого/пожилого возраста порой вызывает большие затруднения, поскольку стандартное определение молодого возраста для пациентов с опухолевыми поражениями мочевого пузыря отсутствует. Часть исследователей считают возрастной медианой отсечения 40 лет [34, 35], в то время как в других работах за пороговое значение принимается отметка в 70 лет [36, 37]. Эпидемиологически, как уже было описано ранее, средний возраст пациентов в России с впервые выявленным РМП составил 65,7 года [1], тогда как в США – 73 года [38], поэтому есть основания предполагать, что для РМП критерием молодого возраста может считаться диапазон от 55 до 65 лет или возраст меньше 70 лет. В нашей работе медиана возраста пациентов в IV подгруппе (МИРМП) со степенью дифференцировки опухоли G2 составила 77 лет (65; 80), а при опухолях G3 – 61 год (58; 71). Китайскими учеными на основании исследования базы

данных Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) показана корреляция возраста и наличия метастазов в лимфатических узлах: по сравнению с контрольной группой (возраст более 80 лет) у пациентов со стадиями T2 и T4 в возрасте меньше 50 лет чаще определялись метастатически пораженные лимфатические узлы, вероятность была наибольшей в возрастной подгруппе 50–59 лет [39]. Лимфодиссекция является неотъемлемой частью радикальной цистэктомии при МИРМП. Доказано, что разумный подход к лимфодиссекции помогает точно определить патологоанатомическую стадию заболевания и последующее лечение [40]. В ретроспективном исследовании молодые пациенты с радикальной цистэктомией и лимфодиссекцией внутрибрюшных лимфатических узлов демонстрировали лучшую выживаемость, чем пациенты с только радикальной цистэктомией [41]. Другое ретроспективное исследование показало, что прогноз выживаемости в группе с расширенной лимфодиссекцией лучше, чем в группе со стандартной лимфодиссекцией [42]. При этом стоит отметить, что, по данным южнокорейских исследователей, расширенная или сверхрасширенная лимфодиссекция по сравнению со стандартной может не иметь значительного влияния на местный рецидив опухоли, отдаленные метастазы, выживаемость при заболевании и общую выживаемость [43], поэтому вопрос, может ли лимфодиссекция тазовых лимфатических узлов положительно влиять на прогноз заболевания, остается спорным и требует дальнейшего изучения. Учитывая описанные выше данные и полученные нами результаты в группе МИРМП, мы предполагаем, что у пациентов с МИРМП требуется тщательное определение статуса лимфатических узлов, особенно в возрасте ниже среднего.

К моменту написания статьи научные результаты по размеру дисплазии уротелия в литературе отсутствовали, что оставляет перспективы для дальнейшего изучения и сопоставления с прогнозом и исходом заболевания.

Заключение

В ходе нашего исследования зафиксированы следующие положения.

Опухолевые поражения встречаются у мужчин чаще, чем у женщин, что соответствует данным литературы. Требуется дальнейшее изучение гормональных и генетических факторов для определения причин большей заболеваемости лиц мужского пола.

При сравнении размера поражения у мужчин и женщин во II подгруппе (дисплазия) с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни выявлены статистически значимые различия: размер поражений у женщин достоверно больше, чем у мужчин. Полученный нами результат вызван фактором пола, а не возраста, так как возраст мужчин и женщин во II подгруппе не различался. Оценка размера дисплазии при цистоскопии в будущем, возможно, позволит уточнить

влияние данного фактора на прогноз возникновения рака мочевого пузыря у пациентов.

При сравнении групп (возраст) с множественным и одиночным поражением в III подгруппе с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни были выявлены статистически значимые различия. Полученные данные указывают на то, что с увеличением возраста множественные поражения встречаются чаще. Трансуретральная резекция мочевого пузыря у пациентов пожилого возраста должна проводиться максимально тщательно, чтобы не упустить возможные злокачественные и предраковые фокусы. Множественные поражения являются значимым фактором риска рецидива и прогрессия заболевания, поэтому крайне важно пристальное и более длительное последующее наблюдение пациентов.

При сравнении групп (возраст) со степенью дифференцировки G2 и G3 в подгруппе IV с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни были выявлены статистически значимые различия: у пациентов более молодого возраста встречались чаще низкодифференцированные злокачественные опухоли. Данный результат означает, что более молодых пациентов нужно тщательно клинически обследовать после трансуретральной резекции мочевого пузыря, так как у них опухоли имеют более агрессивное течение и вероятность раннего метастазирования крайне высока.

Полученные нами результаты позволили нам сформировать новый взгляд на клинико-морфологические особенности пациентов с реактивными, предраковыми и раковыми поражениями мочевого пузыря.

Сокращения

МП – мочевой пузырь

МИРМП – мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря

МНИРМП – мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря

РМП – рак мочевого пузыря

ТУР – трансуретральная резекция

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.М. Михалева,

А.М. Пшихачев.

Сбор и обработка материалов – В.В. Печникова.

Написание текста – В.В. Печникова.

Редактирование текста – Л.М. Михалева, В.В. Печникова.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.M. Mikhaleva, A.M. Pshikhachev.

Collected the data and performed the analysis – V.V. Pechnikova.

Wrote the paper – V.V. Pechnikova.

Edited the manuscript – L.M. Mikhaleva, V.V. Pechnikova.

Литература/References

1. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова (ред.). Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). Москва: Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Национального медицинского ис-

- следователяского центра радиологии Минздрава России, 2020. 252 с.
- AD Kaprin, VV Starinskiy, AO Shakhzadova (eds.). Malignant neoplasms in Russia in 2019 (incidence and mortality). Moscow: P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2020. 252 p. (In Russ.). Available from: https://glavonco.ru/cancer_register/%D0%97%D0%B0%D0%B1%D0%BE%D0%BB_2019_%D0%AD%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80.pdf (Accessed 22.02.2022)
2. Kaufman DS, Shipley WU, Feldman AS. Bladder cancer. *Lancet*. 2009;374(9685):239–49. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60491-8.
 3. Martin JW, Carballido EM, Ahmed A, Farhan B, Dutta R, Smith C et al. Squamous cell carcinoma of the urinary bladder: Systematic review of clinical characteristics and therapeutic approaches. *Arab J Urol*. 2016;14(3):183–91. DOI: 10.1016/j.aju.2016.07.001.
 4. Cheng L, Montironi R, Davidson DD, Lopez-Beltran A. Staging and reporting of urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Mod Pathol*. 2009;22(Suppl. 2):S70–95. DOI: 10.1038/modpathol.2009.1.
 5. Holmång S, Hedelin H, Anderström C, Holmberg E, Johansson SL. The importance of the depth of invasion in stage T1 bladder carcinoma: A prospective cohort study. *J Urol*. 1997;157(3):800–3; discussion 804. DOI: 10.1016/s0022-5347(01)65044-4.
 6. Liu Y, Zheng H, Xu X, Zhang X, Du P, Liang J et al. The invasion depth measurement of bladder cancer using T2-weighted magnetic resonance imaging. *Biomed Eng Online*. 2020;19(1):92. DOI: 10.1186/s12938-020-00834-8.
 7. Kamat AM, Hahn NM, Efsthathiou JA, Lerner SP, Malmström PU, Choi W et al. Bladder cancer. *Lancet*. 2016;388(10061):2796–810. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30512-8.
 8. JD Brierley, MK Gospodarowicz, C Wittekind (eds.). *TNM Classification of Malignant Tumours*. 8th ed. Wiley-Blackwell, 2017. 272 p.
 9. van Rhijn BW, Burger M, Lotan Y, Solsona E, Stief CG, Sylvester RJ et al. Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy. *Eur Urol*. 2009;56(3):430–42. DOI: 10.1016/j.eururo.2009.06.028.
 10. Burger M, Catto JW, Dalbagni G, Grossman HB, Herr H, Karakiewicz P et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *Eur Urol*. 2013;63(2):234–41. DOI: 10.1016/j.eururo.2012.07.03.
 11. Steinmaus C, Ferreccio C, Acevedo J, Yuan Y, Liaw J, Durán V et al. Increased lung and bladder cancer incidence in adults after in utero and early-life arsenic exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014;23(8):1529–38. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0059.
 12. Sylvester RJ, van der Meijden AP, Oosterlinck W, Witjes JA, Boufflioux C, Denis L et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: A combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol*. 2006;49(3):466–5; discussion 475-7. DOI: 10.1016/j.eururo.2005.12.031.
 13. van den Bosch S, Alfred Witjes J. Long-term cancer-specific survival in patients with high-risk, non-muscle-invasive bladder cancer and tumour progression: A systematic review. *Eur Urol*. 2011;60(3):493–500. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.05.045.
 14. Hodges KB, Lopez-Beltran A, Davidson DD, Montironi R, Cheng L. Urothelial dysplasia and other flat lesions of the urinary bladder: clinicopathologic and molecular features. *Hum Pathol*. 2010;41(2):155–62. DOI: 10.1016/j.humpath.2009.07.002.
 15. Shinagare AB, Ramaiya NH, Jagannathan JP, Fennessy FM, Taplin ME, van den Abbeele AD. Metastatic pattern of bladder cancer: correlation with the characteristics of the primary tumor. *AJR Am J Roentgenol*. 2011;196(1):117–22. DOI: 10.2214/AJR.10.5036.
 16. Kim TJ, Cho KS, Koo KC. Current status and future perspectives of immunotherapy for locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: A comprehensive review. *Cancers*. 2020;12(1):192. DOI: 10.3390/cancers12010192.
 17. McKenney JK, Desai S, Cohen C, Amin MB. Discriminatory immunohistochemical staining of urothelial carcinoma in situ and non-neoplastic urothelium: an analysis of cytokeratin 20, p53, and CD44 antigens. *Am J Surg Pathol*. 2001;25(8):1074–8. DOI: 10.1097/00000478-200108000-00013.
 18. Wu XR. Urothelial tumorigenesis: A tale of divergent pathways. *Nat Rev Cancer*. 2005;5(9):713–25. DOI: 10.1038/nrc1697.
 19. McConkey DJ, Lee S, Choi W, Tran M, Majewski T, Lee S et al. Molecular genetics of bladder cancer: Emerging mechanisms of tumor initiation and progression. *Urol Oncol*. 2010;28(4):429–40. DOI: 10.1016/j.urolonc.2010.04.008.
 20. H Moch, PA Humphrey, TM Ulbright, VE Reuter (eds.). *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. 4th ed. Lyon: IARC Press, 2016. 400 p.
 21. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49. DOI: 10.3322/caac.21660.
 22. Mikhaleva LM, Pechnikova VV, Pshikhachev AM, Rogov KA, Gusev MA, Patsap OI et al. Bladder Cancer: Update on Risk Factors, Molecular and Ultrastructural Patterns. *Curr Med Chem*. 2021;28(41):8517–33. DOI: 10.2174/0929867328666210309111731.
 23. Freedman ND, Silverman DT, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. *JAMA*. 2011;306(7):737–45. DOI: 10.1001/jama.2011.1142.
 24. McGrath M, Michaud DS, De Vivo I. Hormonal and reproductive factors and the risk of bladder cancer in women. *Am J Epidemiol*. 2006;163(3):236–44. DOI: 10.1093/aje/kwj028.
 25. Okajima E, Hiramatsu T, Iriya K, Ijuin M, Matsushima S. Effects of sex hormones on development of urinary bladder tumours in rats induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. *Urol Res*. 1975;3(2):73–9. DOI: 10.1007/BF00256185.
 26. Miyamoto H, Yang Z, Chen YT, Ishiguro H, Uemura H, Kubota Y et al. Promotion of bladder cancer development and progression by androgen receptor signals. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(7):558–68. DOI: 10.1093/jnci/djk113.
 27. Boorman GA. Animal model of human disease: Carcinoma of the ureter and urinary bladder. *Am J Pathol*. 1977;88(1):251–4. PMID: 879270.

28. *Imada S, Akaza H, Ami Y, Koiso K, Ideyama Y, Takenaka T.* Promoting effects and mechanisms of action of androgen in bladder carcinogenesis in male rats. *Eur Urol.* 1997;31(3):360–4. DOI: 10.1159/000474484.
29. *Kaneko S, Li X.* X chromosome protects against bladder cancer in females via a *KDM6A*-dependent epigenetic mechanism. *Sci Adv.* 2018;4(6):eaar5598. DOI: 10.1126/sciadv.aar5598.
30. *Пшихачев А.М., Михалева Л.М., Гусниев М.А., Печникова В.В., Поляно Н.И., Сорокин Н.И. и др.* Клинико-морфологические особенности немышечноинвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания (обзор литературы). *Онкоурология.* 2021;17(1):134–141. DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-1-134-141.
- Pshikhachev AM, Mikhaleva LM, Gusniev MA, Pechnikova VV, Polyanko NI, Sorokin NI et al.* Clinical and morphological features of non-muscle invasive bladder cancer: implications for treatment, prognosis and relapse of the disease (literature review). *Cancer Urology.* 2021;17(1):134–141 (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-1-134-141.
31. *Haukaas S, Daehlin L, Maartmann-Moe H, Ulvik NM.* The long-term outcome in patients with superficial transitional cell carcinoma of the bladder: A single-institutional experience. *BJU Int.* 1999;83(9):957–63. DOI: 10.1046/j.1464-410x.1999.00078.x.
32. *Nerli RB, Ghagane SC, Shankar K, Sanikop AC, Hiremath MB, Dixit NS et al.* Low-grade, multiple, Ta non-muscle-invasive bladder tumors: Tumor recurrence and worsening progression. *Indian J Surg Oncol.* 2018;9(2):157–61. DOI: 10.1007/s13193-018-0728-8.
33. *Ozbey I, Aksoy Y, Biçgi O, Polat O, Okyar G.* Transitional cell carcinoma of the bladder in patients under 40 years of age. *Int Urol Nephrol.* 1999;31(5):655–9. DOI: 10.1023/a:1007160522033.
34. *Nomikos M, Pappas A, Kopaka ME, Tzoulakis S, Volonakis I, Stavrakakis G et al.* Urothelial carcinoma of the urinary bladder in young adults: Presentation, clinical behavior and outcome. *Adv Urol.* 2011;2011:480738. DOI: 10.1155/2011/480738.
35. *Madrid García FJ, Parra Muntaner L, Rivas Escudero JA, Sánchez Sánchez E, Monsalve Rodríguez M, Gómez Cisneros S et al.* Transitional cell bladder carcinoma in patients younger than 40 years of age. *Arch Esp Urol.* 1998;51(10):991–4 (in Spanish). PMID: 9951121.
36. *Hempenius L, Slaets JP, Boelens MA, van Asselt DZ, de Bock GH, Wiggers T et al.* Inclusion of frail elderly patients in clinical trials: Solutions to the problems. *J Geriatr Oncol.* 2013;4(1):26–31. DOI: 10.1016/j.jgo.2012.08.004.
37. *Basche M, Barón AE, Eckhardt SG, Balducci L, Persky M, Levin A et al.* Barriers to enrollment of elderly adults in early-phase cancer clinical trials. *J Oncol Pract.* 2008;4(4):162–8. DOI: 10.1200/JOP.0842001.
38. *Siegel RL, Miller KD, Jemal A.* Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(1):7–34. DOI: 10.3322/caac.21551.
39. *Tian Z, Meng L, Wang X, Diao T, Hu M, Wang M et al.* Young age increases the risk of lymph-node metastasis in patients with muscle-invasive bladder urothelial carcinoma. *BMC Cancer.* 2020;20(1):851. DOI: 10.1186/s12885-020-07354-7.
40. *Bruins HM, Veskimäe E, Hernandez V, Imamura M, Neuberger NM, Dahm P et al.* The impact of the extent of lymphadenectomy on oncologic outcomes in patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer: A systematic review. *Eur Urol.* 2014;66(6):1065–77. DOI: 10.1016/j.eururo.2014.05.031.
41. *Larcher A, Sun M, Schiffmann J, Tian Z, Shariat SF, McCormack M et al.* Differential effect on survival of pelvic lymph node dissection at radical cystectomy for muscle invasive bladder cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2015;41(3):353–60. DOI: 10.1016/j.ejso.2014.10.061.
42. *Abol-Enein H, Tilki D, Mosbah A, El-Baz M, Shokeir A, Nabeeh A et al.* Does the extent of lymphadenectomy in radical cystectomy for bladder cancer influence disease-free survival? A prospective single-center study. *Eur Urol.* 2011;60(3):572–7. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.05.062.
43. *Choi SY, You D, Hong B, Hong JH, Ahn H, Kim CS.* Impact of lymph node dissection in radical cystectomy for bladder cancer: How many vs how far? *Surg Oncol.* 2019;30:109–16. DOI: 10.1016/j.suronc.2019.06.008.

Информация об авторах

Валентина Викторовна Печникова – младший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, врач-патологоанатом ГКБ № 31.

Ахмедхан Мухамедович Пшихачев – доктор медицинских наук, врач-уролог ГКБ № 31, старший научный сотрудник МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, заведующая патологоанатомическим отделением ГКБ № 31.

Author information

Valentina V. Pechnikova – Junior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; Pathologist, City Clinical Hospital No. 31.
<https://orcid.org/0000-0001-5896-4556>

Achmedkhan M. Pshikhachev – Dr. Sci. (Med.), Urologist, City Clinical Hospital No. 31; Senior Researcher, Medical Research and Educational Center of Lomonosov Moscow State University.
<https://orcid.org/0000-0002-4424-3261>

Lyudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; Head of the Pathology Department, City Clinical Hospital No. 31.
<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

Белок S100A8 в атеросклеротических поражениях у человека

П.В. Пигаревский, С.В. Мальцева, В.А. Снегова, Н.Г. Давыдова, О.Г. Яковлева

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. *Введение.* Согласно современным исследованиям, в патогенезе атеросклероза важную роль может играть изменение содержания различных представителей семейства белков S100 при формировании атеросклеротического поражения в сосудистой стенке. Цель работы – изучить содержание мононуклеарных клеток, экспрессирующих белок S100A8, в разных типах атеросклеротических поражений на фоне развития воспалительного процесса в сосудистой стенке при атерогенезе у человека.

Материалы и методы. Иммуногистохимическое и морфометрическое исследование проведено на аутопсийном материале (18 случаев), полученном от лиц, умерших от острой сердечно-сосудистой недостаточности атеросклеротической этиологии. Экспрессия белка S100A8 в сегментах аорты (из района дуги, грудного и брюшного отделов), коронарных артериях и артериях основания мозга – 40 образцов ткани – выявлялась высокочувствительным стрептавидин-биотиновым методом. Сравнительному анализу были подвергнуты нормальные участки артерий, липидные пятна, нестабильные и стабильные атеросклеротические бляшки. Статистический анализ проводился с использованием компьютерной программы Statistica Version 10. Значимость различий между изучаемыми выборками определяли с помощью Т-критерия Стьюдента.

Результаты. В интима нестабильных атеросклеротических поражений обнаружена внутриклеточная локализация белка S100A8. Его экспрессия сосредоточивается преимущественно в цитоплазме макрофагов. В нормальных участках интимы аорты, коронарных артерий, базилярной артерии (*a. basilaris*) и в покрышке стабильных атеросклеротических бляшек внутриклеточная продукция S100A8 минимальна либо отсутствует совсем. В участках сосудистой стенки с экспрессией S100A8 выявляются многочисленные воспалительные мононуклеарноклеточные инфильтраты. По данным морфометрии их содержание в интима нестабильных бляшек статистически значимо превышает аналогичный показатель в интима нормальных участков артерий и стабильных поражений.

Заключение. Выдвигается гипотеза, что белок S100A8 может способствовать активации иммуновоспалительных реакций в сосудистой стенке, которые лежат в основе формирования нестабильных прогрессирующих атеросклеротических поражений, приводящих к развитию острого коронарного синдрома. Дальнейшие исследования могут предоставить больше доказательств, подтверждающих, что S100A8 белки являются перспективной лекарственной мишенью в профилактике и терапии атеросклероза.

Ключевые слова: атерогенез, белок S100A8, нестабильная атеросклеротическая бляшка

Для корреспонденции: Петр Валерьевич Пигаревский. E-mail: pigarevsky@mail.ru

Для цитирования: Пигаревский П.В., Мальцева С.В., Снегова В.А., Давыдова Н.Г., Яковлева О.Г. Белок S100A8 в атеросклеротических поражениях у человека. Клини. эксп. морфология. 2022;11(1):43–49. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.43-49.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 24.03.2021. Получена после рецензирования 20.04.2021. Принята в печать 15.06.2021.

Protein S100A8 in atherosclerotic lesions in humans

P.V. Pigarevsky, S.V. Maltseva, V.A. Snegova, N.G. Davydova, O.G. Yakovleva

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

Abstract. *Introduction.* In the pathogenesis of atherosclerosis, a change in the content of different proteins in S100 protein family may play an important role in the formation of atherosclerotic lesions in the vascular wall. The aim was to study the content of mononuclear cells expressing protein S100A8 in different types

of atherosclerotic lesions secondary to the development of the inflammatory process in the vascular wall during atherogenesis in humans.

Materials and methods. Immunohistochemical and morphometric studies were performed on autopsy material (18 cases) obtained from patients who died from acute cardiovascular insufficiency of atherosclerotic etiology. We detected the expression of S100A8 protein in the aortic segments (from the arc, thoracic and abdominal regions), coronary arteries, and arteries of the circle of Willis (40 tissue samples) using a highly sensitive two-stage streptavidin-biotin method. Comparative analysis was subjected to normal areas of arteries, lipid stain, and unstable and stable atherosclerotic plaques. We performed a statistical analysis with the computer program Statistica Version 10. The significance of the differences between the samples studied was determined by the Student's T-criterion.

Results. Intracellular localization of S100A8 protein was found in the intima of unstable atherosclerotic lesions. Its expression was mainly concentrated in the cytoplasm of macrophages. Intracellular production of S100A8 was minimal or absent in normal areas of aorta intima, coronary arteries, a. basilaris, and in the cap of stable atherosclerotic plaques. We detected numerous inflammatory mononuclear cell infiltrates in the areas of the vascular wall with S100A8 expression. According to the morphometry, their content in the intima of unstable plaques significantly exceeded the similar rate in the intima of normal areas of arteries and stable lesions.

Conclusion. We hypothesize that protein S100A8 may contribute to the activation of immune-inflammatory reactions in the vascular wall, which are the basis for the formation of unstable progressive atherosclerotic lesions leading to the development of acute coronary syndrome. Further research may provide more evidence to support that S100A8 proteins are a promising drug target in the prevention and therapy of atherosclerosis.

Keywords: atherogenesis, S100A8 protein, unstable atherosclerotic plaque

Corresponding author: Peter V. Pigarevsky. E-mail: pigarevsky@mail.ru

For citation: Pigarevsky P.V., Maltseva S.V., Snegova V.A., Davydova N.G., Yakovleva O.G. Protein S100A8 in atherosclerotic lesions in humans. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):43–49 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.43-49

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24.03.2021. **Received in revised form** 20.04.2021. **Accepted** 15.06.2021.

Введение

В настоящее время появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что морфологической основой острого коронарного синдрома (ОКС) являются нестабильные, легкоранимые атеросклеротические бляшки артерий, склонные к изъязвлению, разрыву и последующему тромбозу [1–5]. Единый патогенез всех форм заболевания ОКС, возможно, связан с общим морфологическим субстратом – нестабильной атеросклеротической бляшкой. Однако механизмы развития нестабильных атеросклеротических бляшек, причины их разрыва, а также роль иммуновоспалительных реакций в этом процессе остаются малоизученными.

Согласно современным исследованиям, в патогенезе атеросклероза важную роль может играть изменение содержания различных представителей семейства белков S100 в сосудистой стенке при формировании атеросклеротического поражения. Эти белки экспрессируются в гранулоцитах, моноцитах и макрофагах, но также могут быть индуцированы при активации в других типах клеток, таких как сосудистые эндотелиальные клетки, фибробласты и кератиноциты [6, 7]. Некоторые представители семейства белков S100, связываясь с рецепторами конечных продуктов глубокого гликирования (RAGE), рецеп-

торами-поглотителями (CD36) и Toll-подобными рецепторами 4 (TLR-4), участвуют в клеточном ответе при воспалении в процессе прогрессирования атеросклероза [8]. Показано, в частности, что внутриклеточная продукция S100A8/A9 вызывает миграцию фагоцитов в зону формирования атеросклеротического поражения [9].

Считается, что S100A8/A9 ускоряет атерогенез за счет привлечения и активации нейтрофилов и моноцитов в артериальной стенке, и, возможно, играет центральную роль в сложных взаимодействиях между врожденным иммунитетом и развитием сердечно-сосудистых заболеваний [6]. Отмечается, что увеличенная экспрессия в коронарных артериях S100 A8/A9/A12 вызывает дестабилизацию атеросклеротической бляшки и способствует развитию ОКС [10].

Следует отметить, что в отношении атеросклероза данные литературы основываются преимущественно на клинико-иммунологических и экспериментальных исследованиях. Иммуногистохимический анализ сосудистой стенки человека на предмет обнаружения в ней белка S100A8 отражен в единичных работах и носит фрагментарный характер. И практически отсутствуют работы, посвященные изучению роли этого белка при формировании прогрессирующих, нестабильных атеросклеротических поражений.

Целью нашего исследования было изучение содержания мононуклеарных клеток, экспрессирующих белок S100A8, в разных типах атеросклеротических поражений на фоне развития воспалительного процесса в сосудистой стенке при атерогенезе у человека.

Материалы и методы

Материалом исследования послужили 18 аутопсий, полученных от мужчин в возрасте 63 ± 7 лет, умерших от острой сердечно-сосудистой недостаточности атеросклеротической этиологии. Обязательным условием для отбора материала являлось отсутствие тяжелых сопутствующих заболеваний, способных оказывать воздействие на иммунологическую реактивность.

Исследовали сегменты аорты (из района дуги, грудного и брюшного отделов), коронарные артерии и артерии основания головного мозга (*a. basilaris*) – всего 40 образцов ткани.

Иссеченные кусочки фиксировали в 4% забуференном параформальдегиде. Иммуноморфологическое и микроскопическое исследование проводили на парафиновых и криостатных срезах толщиной 4–6 мкм.

Для верификации типов атеросклеротических поражений с целью отбора нестабильных, обладающих признаками прогрессирующего роста бляшек, проводили окрашивание препаратов на выявление липидов красителем Oil Red O (Dako, Дания).

Степень инфильтрации сосудистой стенки мононуклеарами оценивали на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином Майера с докраской водно-спиртовым раствором эозина.

Для определения S100A8 в нестабильных и стабильных атеросклеротических поражениях было проведено иммуногистохимическое исследование высокочувствительным двухступенчатым стрептавидин-биотиновым пероксидазным методом. В качестве первичных использовали кроличьи антитела против белка S100A8 человека (Anti-S100A8 antibody, Sigma-Aldrich, США). Продукт реакции выявляли с помощью готового набора реагентов Cell & Tissue Staining Kit, HRP-DAB System (R&D Systems, США) и хромогена 3,3-диаминобензидина. Докрашивание ядер осуществляли метиловым зеленым (Methyl Green, Dako, США). С целью корректного анализа результата применялся отрицательный контроль по антителам на параллельных срезах: вместо первичных антител наносили используемый разбавитель антител 0,1% фосфатный буфер (pH 7,4), далее окрашивание препаратов проводилось согласно стандартному протоколу.

Морфометрический анализ для выявления степени инфильтрации сосудистой стенки проводили на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Всего исследовано 40 образцов сосудистой стенки. Суммарный подсчет всех мононуклеарных клеток, среди которых преобладающими являлись макрофаги и лимфоциты, осуществлялся в следующих зонах сосудистой стенки: в интиме нормальных участков артерий,

в зонах интимы под липидным пятном, в фиброзной покрышке нестабильных и стабильных бляшек, в их атероматозных ядрах. В каждой зоне определяли численность клеток в 10 полях зрения. Подсчеты проводили без морфометрической сетки при $\times 600$ в микроскопе Olympus CX41 (Olympus, Япония).

Для проверки вариационных рядов на нормальность применяли статистический критерий нормальности Колмогорова–Смирнова. Статистический анализ полученных данных проводился с помощью компьютерной программы Statistica Version 10. Значимость различий между изучаемыми выборками определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента парным методом сравнения выборок.

Полученные препараты исследовали в световом микроскопе Leica DM 2500 (Leica, Германия). Микрофотографии получали с использованием цифровой фотокамеры Leica DFC 420 и компьютерной программы Leica Application Suit Version 3.4.0.

Результаты

При иммуногистохимическом анализе стенки артерий белок S100A8 не выявлялся в интиме нормальных участков аорты, коронарных артерий и артерий основания головного мозга (рис. 1 А). Его не удалось обнаружить ни в эндотелиальных клетках, ни в суб-эндотелиальном пространстве, ни в более глубоких отделах внутренней оболочки сосудов. В начальных атеросклеротических поражениях – липидных пятнах – либо выявлялись единичные макрофаги, содержащие в своей цитоплазме белок S100A8, преимущественно в поверхностных отделах интимы, либо они отсутствовали совсем.

Противоположная картина наблюдалась в нестабильных атеросклеротических поражениях, причем во всех трех типах изучаемых сосудов. Уже на ранних этапах формирования нестабильной атеросклеротической бляшки в поверхностных отделах ее фиброзной покрышки обнаруживались многочисленные макрофаги, содержащие в своей цитоплазме белок S100A8 (рис. 1 В).

На более поздних стадиях в поврежденной покрышке нестабильных поражений также выявлялись макрофаги, экспрессирующие этот белок (рис. 1 С). Следует отметить, что в атероматозном ядре нестабильных бляшек внутри- и внеклеточные отложения белка S100A8 полностью отсутствовали (рис. 1 D). Не были выявлены они ни в плотной фиброзной покрышке, ни и в других отделах стабильной атеросклеротической бляшки.

Параллельный гистологический анализ стенки этих же сосудов позволил установить, что в местах отложения белка S100A8 в покрышке нестабильных атеросклеротических поражений наблюдаются многочисленные мононуклеарноклеточные инфильтраты, представленные в основном лимфоцитами и макрофагами (рис. 2 А).

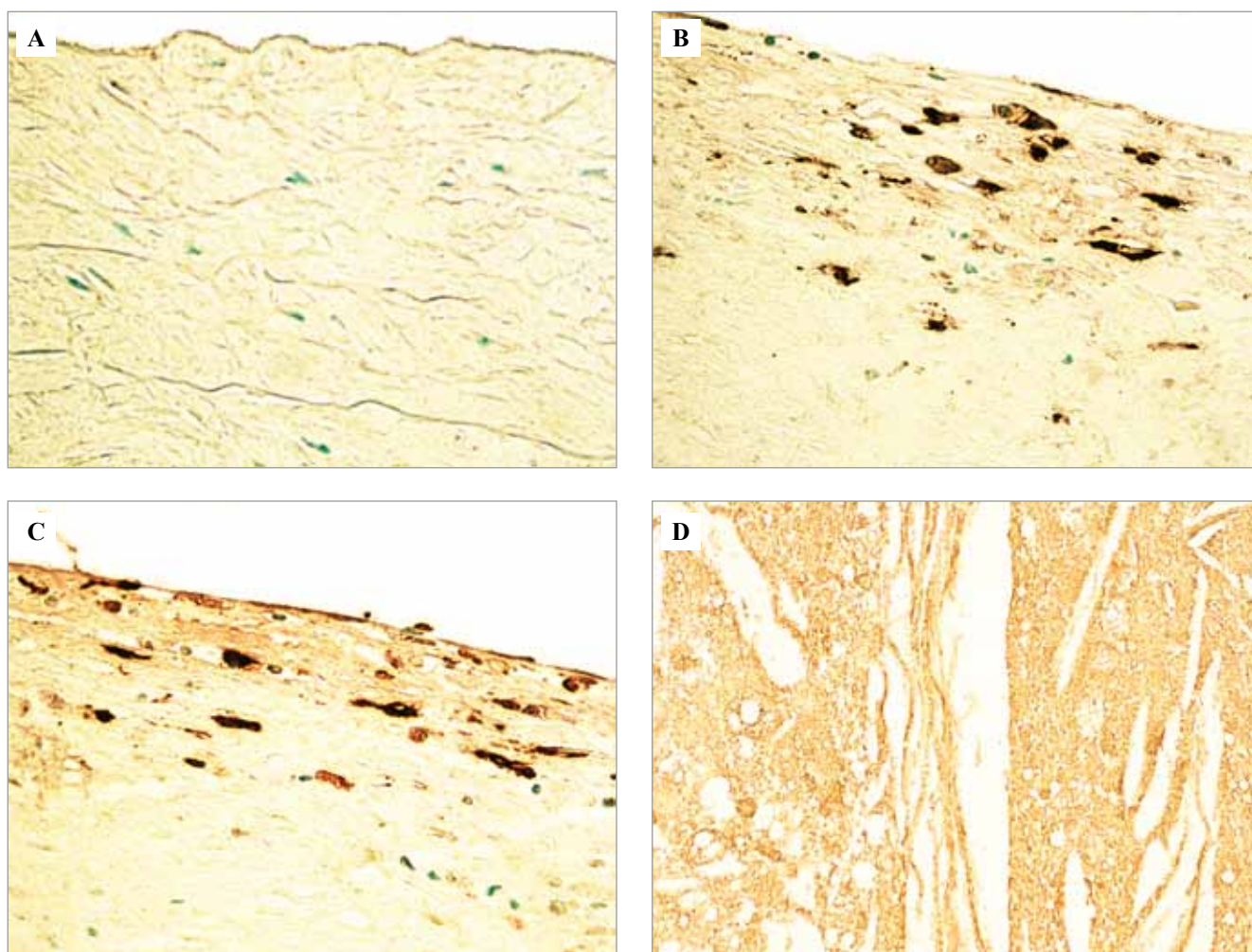


Рис. 1. Белок S100A8 в стенке артерий человека. Иммуногистохимическое окрашивание с использованием антител к белку S100A8. Визуализация реакции ДАБ, докрасивание ядер метиловым зеленым, $\times 700$

А – отсутствие клеток, экспрессирующих белок S100A8, в нормальном участке интимы аорты человека, В – многочисленные макрофаги, экспрессирующие белок S100A8, в покрышке липидно-фиброзной бляшки и в поврежденной покрышке нестабильной атеросклеротической бляшки (С), D – отсутствие клеток с S100A8 в атероматозном ядре липидно-фиброзной бляшки

Fig. 1. S100A8 protein in the wall of human arteries. Immunohistochemical staining with antibodies to S100A8. DAB, methyl green, $\times 700$

A – no cells expressing S100A8 protein in the normal area of human aortic intima, B – numerous macrophages expressing S100A8 protein in the cap of the lipid-fibrous plaque and the damaged cap of the unstable atherosclerotic plaque (C), D – no cells with S100A8 in the atheromatous core of the lipid-fibrous plaque

Данные морфометрического анализа подтвердили эти наблюдения (рис. 3).

Число мононуклеарных клеток в интиме нестабильного поражения возрастает в 5,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с нормой, в 3,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интимой стабильной бляшки, а также почти в 1,7 раза по сравнению с начальной стадией поражения (рис. 2 В, 3).

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что отложения белка S100A8 наблюдаются в поврежденной фиброзной покрышке нестабильных атероскле-

ротических поражений, в то время как в нормальных участках интимы изучаемых артерий и в покрышке стабильных атеросклеротических бляшек отложения отсутствуют. Эти данные подтверждают точку зрения, что внутриклеточная продукция S100A8 может вызывать миграцию фагоцитов в зону формирования атеросклеротического поражения, поскольку в покрышке нестабильных поражений обнаруживаются многочисленные макрофаги, экспрессирующие этот белок [9, 11, 12]. Важно, что очаги внутриклеточной локализации белка S100A8 окружены воспалительными мононуклеарноклеточными инфильтратами [13, 14]. Вероятно, белок S100A8 способствует активации им-

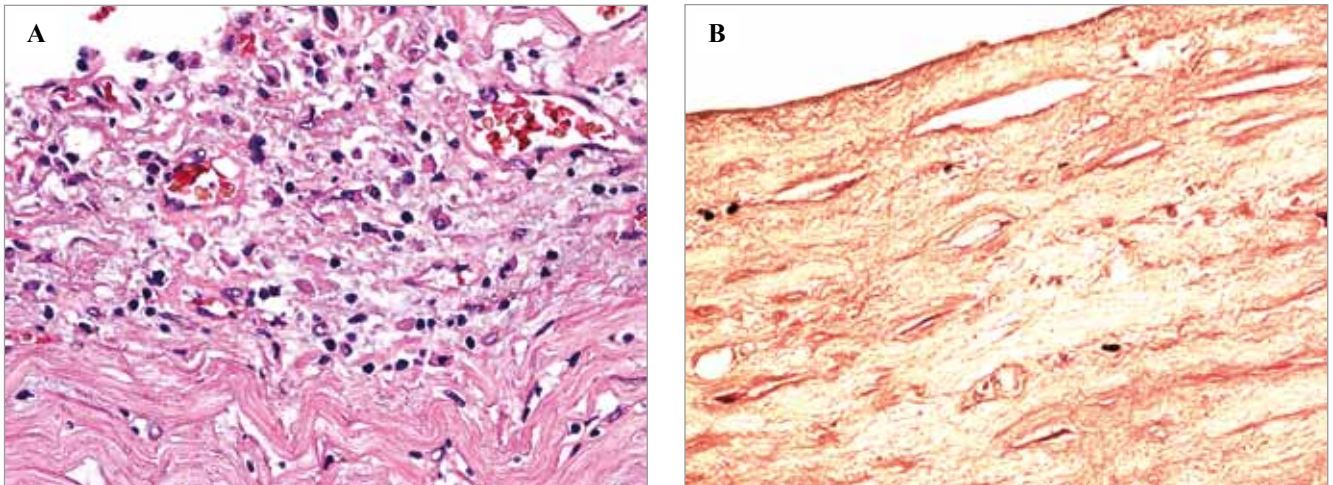


Рис. 2. Клеточные реакции в различных атеросклеротических поражениях. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 700$

А – многочисленные лимфоциты и макрофаги в районе поврежденной покрышки нестабильной атеросклеротической бляшки, В – отсутствие мононуклеарноклеточной инфильтрации в покрышке стабильной атеросклеротической бляшки

Fig. 2. Cellular reactions in various atherosclerotic lesions. H&E stain, $\times 700$

A – numerous lymphocytes and macrophages in the area of the damaged cap of unstable atherosclerotic plaque, B – no mononuclear cell infiltration in the cap of stable atherosclerotic plaque

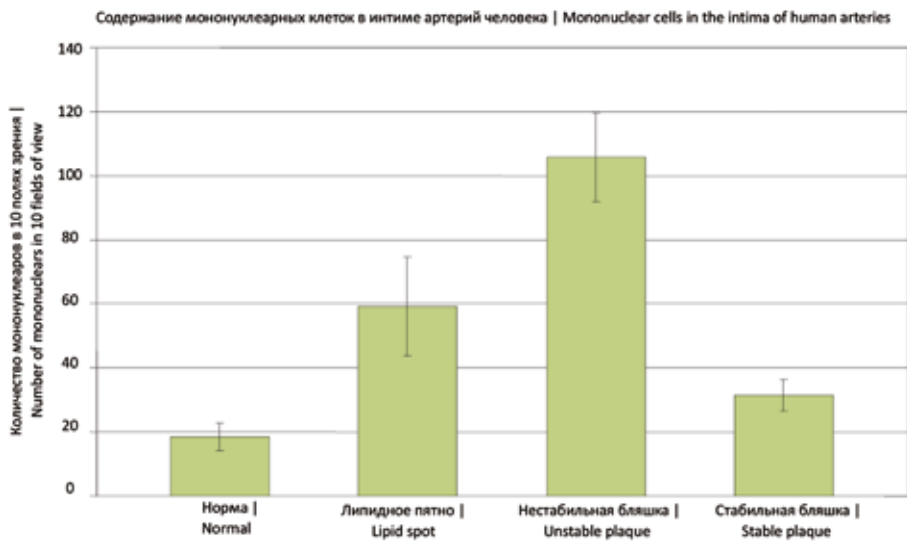


Рис. 3. Количественное содержание мононуклеарных клеток в норме и в различных типах атеросклеротических поражений интимы артерий

Fig. 3. The quantitative content of mononuclear cells in normal and in different types of atherosclerotic lesions of arterial intima

муновоспалительных реакций в сосудистой стенке, которые могут лежать в основе формирования нестабильных прогрессирующих атеросклеротических поражений и способствовать развитию острого инфаркта миокарда [15].

Таким образом, проведенное исследование позволяет расширить представления о роли S100A8 в атерогенезе. Не исключено, что в дальнейшем белки семейства S100A8 можно будет рассматривать в качестве клинического биомаркера и терапевтической мишени при сердечно-сосудистых заболеваниях [9, 16].

Заключение

В интима нестабильных атеросклеротических поражений обнаружена внутриклеточная локализация белка S100A8. Его экспрессия сосредоточивается преимущественно в цитоплазме макрофагов. В нормальных участках интимы аорты, коронарных артерий, *a. basilaris* и в покрышке стабильных атеросклеротических бляшек они отсутствуют. Одновременно в этих же участках сосудистой стенки выявляются многочисленные воспалительные мононуклеарноклеточные инфильтраты.

На основании полученных результатов выдвигается гипотеза, что белок S100A8 может способствовать активации иммуновоспалительных реакций в сосудистой стенке, которые могут лежать в основе формирования нестабильных прогрессирующих атеросклеротических поражений, приводящих к развитию острого коронарного синдрома. Не исключено, что в дальнейшем белки семейства S100 можно будет рассматривать в качестве клинического биомаркера и терапевтической мишени при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – П.В. Пигаревский.
Сбор и обработка материала – С.В. Мальцева, В.А. Снегова, Н.Г. Давыдова, О.Г. Яковлева.
Написание текста – П.В. Пигаревский, С.В. Мальцева.
Редактирование – П.В. Пигаревский, С.В. Мальцева, В.А. Снегова, Н.Г. Давыдова, О.Г. Яковлева.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – P.V. Pigarevsky.
Collected the data and performed the analysis – S.V. Maltseva, V.A. Snegova, N.G. Davydova, O.G. Yakovleva.
Wrote the paper – P.V. Pigarevsky, S.V. Maltseva.
Edited the manuscript – P.V. Pigarevsky, S.V. Maltseva, V.A. Snegova, N.G. Davydova, O.G. Yakovleva.

Литература/References

1. *Kakturskii LV*. Clinical morphology of acute coronary syndrome. *Arkh Patol*. 2007;69(4):16–9. PMID: 17926570.
2. *Пигаревский П.В., Мальцева С.В., Снегова В.А.* Прогрессирующие атеросклеротические поражения у человека. Морфологические и иммуновоспалительные аспекты. Цитокины и воспаление. 2013;12(1–2):5–12.
Pigarevsky PV, Maltseva SV, Snegova VA. Progressive atherosclerotic lesions in humans. Morphological and immunoinflammatory aspects. *Cytokines and Inflammation*. 2013;12(1–2):5–12 (In Russ.).
3. *Bhatia V, Bhatia R, Dhindsa S, Virk A*. Vulnerable plaques, inflammation and newer imaging modalities. *J Postgrad Med*. 2003;49(4):361–8. PMID: 14699240.
4. *Shah PK, Wang L, Sharifi B*. Tu-W18:1. New insights into molecular mechanisms of plaque instability. *Atheroscler Suppl*. 2006;7(3):156. DOI: 10.1016/S1567-5688(06)80612-4.
5. *Shah PK*. Pathophysiology of plaque rupture and the concept of plaque stabilization. *Cardiol Clin*. 2003;21(3):303–14. DOI: 10.1016/s0733-8651(03)00058-4.
6. *Miyamoto S, Ueda M, Ikemoto M, Naruko T, Itoh A, Tamaki S et al*. Increased serum levels and expression of S100A8/A9 complex in infiltrated neutrophils in atherosclerotic plaque of unstable angina. *Heart*. 2008;94(8):1002–7. DOI: 10.1136/hrt.2007.121640.
7. *Domschke G, Gleissner CA*. CXCL4-induced macrophages in human atherosclerosis. *Cytokine*. 2019;122:154141. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.08.021.
8. *Xiao X, Yang C, Qu SL, Shao YD, Zhou CY, Chao R et al*. S100 proteins in atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 2020;502:293–304. DOI: 10.1016/j.cca.2019.11.019.
9. *Schiopu A, Cotoi OS*. S100A8 and S100A9: DAMPs at the crossroads between innate immunity, traditional risk factors, and cardiovascular disease. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:828354. DOI: 10.1155/2013/828354.
10. *Buyukterzi Z, Can U, Alpaydin S, Guzelant A, Karaarslan S, Kocyigit D et al*. Enhanced S100A9 and S100A12 expression in acute coronary syndrome. *Biomark Med*. 2017;11(3):229–37. DOI: 10.2217/bmm-2016-0253.
11. *Erbel C, Wolf A, Lasitschka F, Linden F, Domschke G, Akhavanpoor M et al*. Prevalence of M4 macrophages within human coronary atherosclerotic plaques is associated with features of plaque instability. *Int J Cardiol*. 2015;186:219–25. DOI: 10.1016/j.ij-card.2015.03.151.
12. *Xia C, Braunstein Z, Toomey AC, Zhong J, Rao X*. S100 Proteins as an important regulator of macrophage inflammation. *Front Immunol*. 2018;8:1908. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01908.
13. *Пигаревский П.В.* Атеросклероз. Нестабильная атеросклеротическая бляшка (иммуноморфологическое исследование): Атлас. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2018. 148 с.
Pigarevskiy PV. Atherosclerosis. Unstable atherosclerotic plaque (immunomorphological study): Atlas. Saint Petersburg: SpecLit, 2018. 148 p. (In Russ.).
14. *Wang S, Song R, Wang Z, Jing Z, Wang S, Ma J*. S100A8/A9 in inflammation. *Front Immunol*. 2018;9:1298. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01298.
15. *Katashima T, Naruko T, Terasaki F, Fujita M, Otsuka K, Murakami S et al*. Enhanced expression of the S100A8/A9 complex in acute myocardial infarction patients. *Circ J*. 2010;74(4):741–8. DOI: 10.1253/circj.cj-09-0564.
16. *Cai ZL, Xie Q, Hu T, Yao Q, Zhao J, Wu Q et al*. S100A8/A9 in myocardial infarction: A promising biomarker and therapeutic target. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:603902. DOI: 10.3389/fcell.2020.603902.

Информация об авторах

Петр Валерьевич Пигаревский – доктор биологических наук, заведующий отделом общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Светлана Владимировна Мальцева – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Влада Андреевна Снегова – научный сотрудник отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Наталья Геннадьевна Давыдова – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Ольга Геннадьевна Яковлева – научный сотрудник отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Author information

Peter V. Pigarevsky – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Department of General and Special Morphology, Institute of Experimental Medicine.
<https://orcid.org/0000-0002-5906-6771>

Svetlana V. Maltseva – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department of General Morphology, Institute of Experimental Medicine.
<https://orcid.org/0000-0001-7680-8485>

Vlada A. Snegova – Researcher, Department of General and Special Morphology, Institute of Experimental Medicine.
<https://orcid.org/0000-0002-9925-2886>

Natalya G. Davydova – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of General and Special Morphology, Institute of Experimental Medicine.
<http://orcid.org/0000-0002-4522-6789>

Olga G. Yakovleva – Researcher, Department of General and Special Morphology, Institute of Experimental Medicine.
<http://orcid.org/0000-0002-6248-9468>

Changes in the cellular composition of the inflammatory infiltrate and connective tissue of the oral mucosa in rats during wound healing using a protective piezoelectric coating

A.D. Koniaeva¹, E.Y. Varakuta¹, A.E. Leiman¹, E.N. Bolbasov², K.S. Stankevich³

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

² National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

³ Montana State University, Bozeman, MT, USA

Abstract. Introduction. Wound healing is a process based on a complex mechanism of intercellular interaction. The aim was to study changes in the oral mucosa cellular composition during wound healing with and without a protective piezoelectric coating.

Materials and methods. The study was carried out on 50 Wistar rats divided into four groups: one control group of intact rats and experimental groups 1, 2, and 3. The rats of the experimental groups were subjected to excision of a lip mucous membrane flap with wound formation. In the animals of experimental group 1, the defect was open. In group 2, we used a polymer membrane with copper modification, and in group 3, the membrane was without copper modification. The animals were sacrificed on days 3, 7, and 12 of the study. We used light and electron microscopy to study the qualitative and quantitative changes in the composition of cell populations at the site of the defect.

Results. On day 3, there prevailed neutrophilic infiltration in all groups. In groups 2 and 3, we observed a large number of macrophages and fibroblasts that indicated the transition to the next phase of wound healing. On day 7, in group 1, there persisted extensive neutrophilic and macrophage infiltration, whereas, in groups 2 and 3, the signs of inflammation decreased, and wound healing was active. On day 12, in group 1, all values were significantly higher than in the control group and there was damage to the ultrastructure; in groups 2 and 3, all the studied parameters reached the control values.

Conclusion. We revealed the patterns of changes in the cellular composition of a wound during its healing. The use of the coating contributed to accelerated wound healing, which was found during the analysis of changes in the composition of cell populations. The closure of the oral mucosa wounds with polymer piezoelectric membranes was proven to have a good effect on tissue repair and was supposed to reduce the risk of postoperative complications.

Keywords: wound defect, mucous membrane, oral cavity, piezoelectrics, inflammation, regeneration, scaffolds, dentistry

Corresponding author: Anastasiia D. Koniaeva. E-mail: asyakonya95@gmail.com

For citation: Koniaeva A.D., Varakuta E.Y., Leiman A.E., Bolbasov E.N., Stankevich K.S. Changes in the cellular composition of the inflammatory infiltrate and connective tissue of the oral mucosa in rats during wound healing using a protective piezoelectric coating. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):50–61. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.50-61.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 27.12.2021. Received in revised form 25.01.2022. Accepted 28.02.2022.

УДК: 611.311

Изменения клеточного состава воспалительного инфильтрата и соединительной ткани слизистой оболочки полости рта крыс при регенерации раны с использованием защитного пьезоэлектрического покрытия

А.Д. Коняева¹, Е.Ю. Варакута¹, А.Е. Лейман¹, Е.Н. Больбасов², К.С. Станкевич³

¹ ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

² ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия

³ Государственный университет штата Монтана, Бозмен, Монтана, США

Введение. Заживление раневого дефекта – комплексный процесс, в основе которого лежит сложный механизм межклеточного взаимодействия. Целью исследования являлось изучение изменения клеточ-

ного состава слизистой оболочки полости рта в ходе регенерации раневого дефекта при использовании защитного пьезоэлектрического покрытия и без него.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 50 крысах линии Вистар, разделенных на четыре группы: контрольная – интактные животные, 1-я экспериментальная – животные с открытым раневым дефектом, 2-я и 3-я экспериментальные – животные с раневым дефектом, перекрытым полимерной мембраной без модификации и с медным напылением, соответственно. Забор материала для световой и электронной микроскопии проводили на 3-и, 7-е и 12-е сутки исследования. Изучали качественные и количественные изменения состава клеточных популяций на месте дефекта.

Результаты. На 3-и сутки исследования во всех группах преобладала нейтрофильная инфильтрация. Во 2-й и 3-й экспериментальных группах наблюдалось большое количество макрофагов и фибробластов, свидетельствующих о переходе на следующую стадию регенерации раны. На 7-е сутки в 1-й группе сохранялись обширная нейтрофильная и макрофагальная инфильтрация, во 2-й и 3-й группах признаки воспаления снижались, активно происходила регенерация раны. На 12-е сутки во 2-й и 3-й экспериментальных группах все исследуемые показатели достигали контрольных значений, в 1-й группе все значения были достоверно выше контрольных, имелись нарушения ультраструктурного строения клеток.

Заключение. В ходе исследования выявлены закономерности изменения клеточного состава раневого дефекта при его регенерации. Использование покрытия способствовало ускоренному заживлению раны, что было выяснено в ходе анализа изменения состава клеточных популяций. Доказано, что закрытие ран слизистой оболочки полости рта полимерными пьезоэлектрическими мембранами благоприятно влияло на восстановление целостности тканей и, предположительно, снижало риск возникновения послеоперационных осложнений.

Ключевые слова: раневой дефект, слизистая оболочка, полость рта, пьезоэлектрики, воспаление, регенерация, скаффолды, стоматология

Для корреспонденции: Анастасия Денисовна Коняева. E-mail: asyakonya95@gmail.com

Для цитирования: Коняева А.Д., Варакута Е.Ю., Лейман А.Е., Большасов Е.Н., Станкевич К.С. Изменения клеточного состава воспалительного инфильтрата и соединительной ткани слизистой оболочки полости рта крыс при регенерации раны с использованием защитного пьезоэлектрического покрытия. Клини. эксп. морфология. 2022;11(1):50–61 (англ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.50-61.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 27.12.2021. **Получена после рецензирования** 25.01.2022. **Принята в печать** 28.02.2022.

Introduction

Wound healing is a complex process that includes several stages: inflammation, regeneration, and reorganization of the scar [1]. The inflammatory process during wound healing is more pronounced with an open wound, in contrast to the situation when the defect is covered by a protective membrane [2]. This is due to the fact that the wounds of the oral cavity are constantly exposed to aggressive effects from mechanical, physical, chemical, and microbial factors, from which the wound covering protects [3, 4]. At the same time, the presence of piezoelectric properties in membranes favorably affects the prognosis of the regeneration process [5]. We suggested that the cellular composition in the wound defect area at various stages of healing differs depending on the method of injury management. The aim of this research was to study changes in the cellular composition of the oral mucosa during wound regeneration with and without a protective piezoelectric coating.

Materials and methods

The study was carried out on 50 Wistar rats divided into four groups: the control group of intact rats (n=5) and three experimental groups 1, 2, and 3, each group

including 15 rats. The study was approved by the local ethics committee of the Siberian State Medical University (No. 7693/1 from 26.8.2019). The study was carried out in compliance with the principles of humanity set out in the Council Directive (86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki. The rats from the experimental groups were subjected to excision of a lip mucous membrane flap with the formation of a wound being 7×4 mm. In the animals of experimental group 1, the defect was open, which corresponded to the traditional method of treating wound surfaces in the oral cavity. In animals of experimental groups 2 and 3, the wound defect was coated with a polymer membrane, fixed along the edges of the wound with simple interrupted sutures (Fig. 1). In the rats of experimental group 3, we used a polymer membrane modified with copper the side with sputtering being on the wound. Surgical intervention was performed under intramuscular sedation with “Zoletil.”

The animals were sacrificed on days 3, 7, and 12 of the study by introducing them into hypoxia in a CO₂ chamber. We carried out a visual assessment and a photo protocol of the wound with a microscope. Then, soft tissues were excised from the area of the formed defect to manufacture



Fig. 1. Surgical intervention: excision of the lip mucous membrane and subsequent coating of the wound with a polymer membrane

Рис. 1. Оперативное вмешательство – иссечение слизистой оболочки губы с закрытием раневого дефекта полимерной мембраной

histological specimens. Material for semi- and ultra-thin sections was taken from the distal part of the wound relative to the central incisors. After that, the material was placed on blocks and marked to define the topography of histological materials.

The materials were placed in a 2.5% glutaraldehyde solution in 0.2 M cacodylate buffer (1:9) for fixation and postfixed in a 1% OsO_4 solution for 4 hours in a refrigerator. Dehydration was carried out in ethanol with ascending concentration: the specimens were held in 70% ethanol overnight, then brought to 96% ethanol, and kept twice in acetone for 15 minutes. After dehydration, the specimens were poured into a mixture of epon and araldite M.

Semi- and ultra-thin sections were prepared on an LKB-4 ultratome (LKB Vertriebs GmbH, Sweden). The former were colored with toluidine blue and examined under an optical microscope; the latter sections were contrasted with uranyl acetate and lead citrate and studied using a JEM-1400 electron microscope (JEOL, Japan).

We performed qualitative and quantitative histological assessments and determined the number density (ND) of macrophages (MPs), neutrophils (NPs), fibroblasts (FBs), lymphocytes (LC), plasma cells (PCs), mast cells (MCs), and eosinophils (EPs) per 1 mm^2 of section. For each histological specimen, we analyzed 50 fields of view ($\times 900$). The indicators were calculated using the Image J program. We verified the normal distribution hypothesis using the Kolmogorov–Smirnov test. Since the distribution of the values of all quantitative traits did not correspond to the normality tests, we used the Kruskal–Wallis one-way analysis of variance with the median test to compare independent samples and the Wilcoxon signed-rank test for paired comparisons. The results were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results

On day 3, we visualized wound defects in all experimental groups with a macroscope. In experimental group 1, the defects were $21.3 \pm 2.3 \text{ mm}^2$ large. Visual examination showed asymmetry of the face with buccal region edema on the side of the wound. The surface of the wound was covered with a loose yellowish plaque. After debridement of the wound with a cotton swab moistened with a 0.05% solution of chlorhexidine, we observed bleeding and exposure of the wound surface. The mucous membrane surrounding the wound defect was hyperemic and edematous (Fig. 2A).

In rats of experimental groups 2 and 3, facial asymmetry was not expressed and swelling of the buccal region was not visualized. When we removed the membrane from the wound, we observed defects of $17.8 \pm 3.1 \text{ mm}^2$ and $16.2 \pm 2.2 \text{ mm}^2$ in the animals of groups 2 and 3, respectively. In both groups, there was a fibrinous plaque in the center of the wound and a smooth glossy bright pink tissue along the periphery. The plaque was easily removed from the surface of the wound after debridement with a cotton swab moistened with 0.05% chlorhexidine solution; there was no bleeding. Hyperemia and swelling were less pronounced than in group 1 (Fig. 2B).

Histologically, we observed extensive cellular infiltration in the defect areas in all experimental groups on day 3. It was represented by NP (1), MP (2), FB (3), MC (4), PC (5), LC (6), and EP (7). At wound edges, we determined necrotic debris containing fiber fragments and cells (CF) of connective tissue, rod-shaped and spherical bacterial cells (BCs) [Fig. 3A, Fig. 4A, Fig. 4B].

In experimental group 1, ND of NPs reached 2911.5 (2865.0; 2956.0) per 1 mm^2 of the section, which was 1.65 and 2.15 times significantly more than in experimental groups 2 and 3 ($p = 0.047$), respectively, and 242 times significantly more than in the control group ($p = 0.045$) (Table).

In the wound area, mature NPs predominated, which is evidenced by a clearly segmented nucleus (N) with peripherally condensed heterochromatin (HH); nucleoli were absent. Mature NPs were surrounded by fiber and cell fragments (CFs) of connective tissue and bacterial cells (BCs). The NP ultrastructure indicated their high phagocytic activity: multiple granules (Gr), glycogen clumps (Gl), phagolysosomes, and residual bodies (RB) were visualized in the cytoplasm, the cell membrane formed outgrowths (*). At the same time, such organelles as the Golgi complex, rough endoplasmic reticulum, mitochondria (M) were expressed weakly and almost not visualized (Fig. 4B).

In experimental group 1, the ND of MPs was 772.5 (750.2; 788.0) per 1 mm^2 of the section, which was 4.7 times higher than in the control group and 1.65 and 2.3 times lower than in experimental groups 2 and 3, respectively ($p = 0.039$) (Table).

On ultramicroscopic examination, MP, as well as NP (Fig. 4C) showed signs of high phagocytic activity: multiple outgrowths (*) formed by the cell membrane, a large number of lysosomes (L), phagolysosomes, and residual bodies (RBs) were visualized in the cytoplasm. We ob-

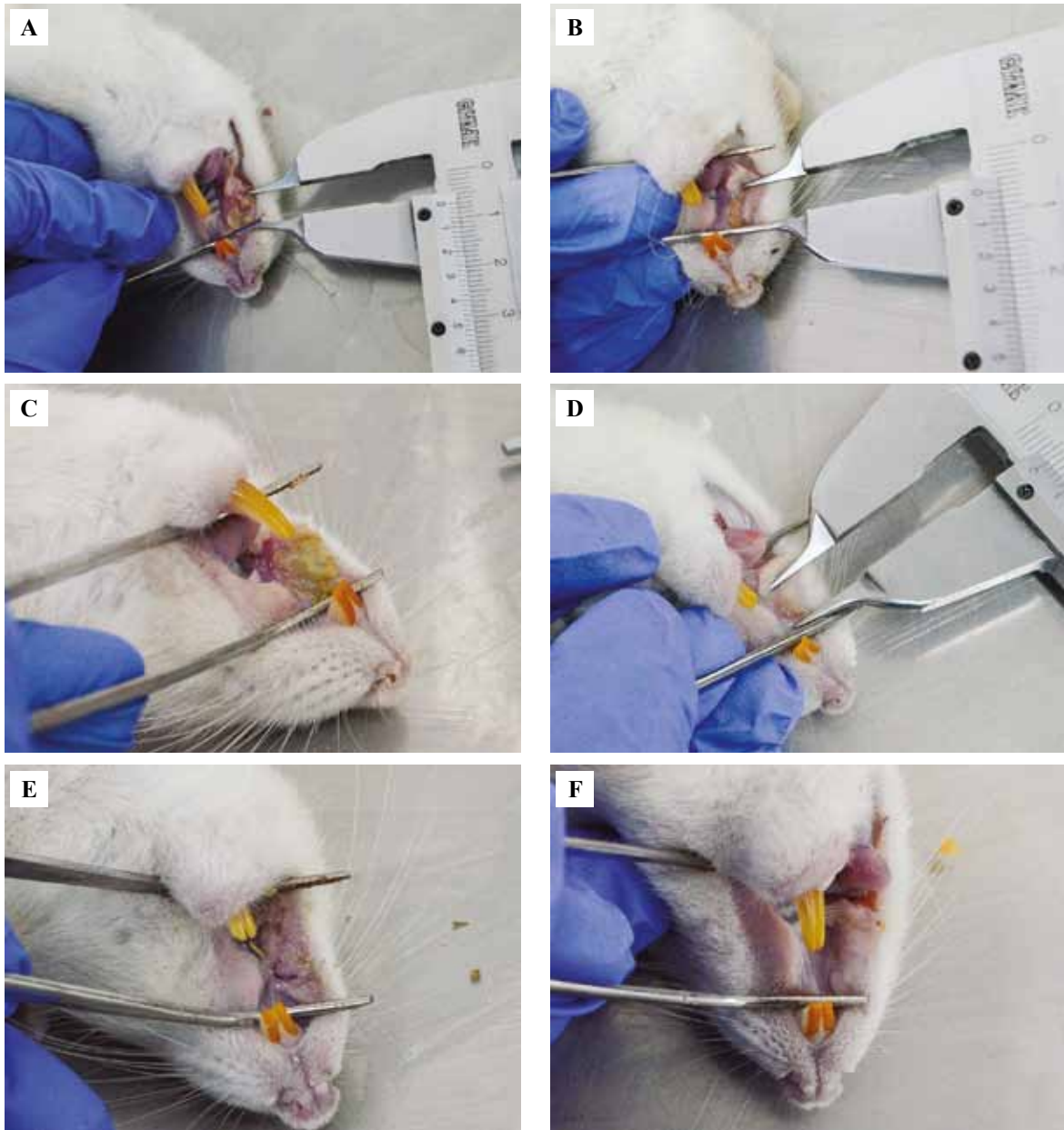


Fig. 2. Macrophotographs of the wound defect. A – the wound defect in the buccal area with a hyperemic mucous membrane along the periphery and a fibrinous plaque in the center. Experimental group 1. Day 3. B – the wound defect in the cheek area with a fibrinous plaque in the center. Macroscopic appearance, typical for groups with wound coverage. Experimental group 2. Day 3. C – the wound defect in the buccal area with hyperemic mucous membrane along the periphery and fibrinous plaque in the center. Experimental group 1. Day 7. D – the wound defect in the buccal area with a fibrinous coating in the center. Macroscopic appearance, typical of groups with wound coverage. Experimental group 3. Day 7. E – the scar at the site of a wound defect in the buccal mucosa. Decreased soft tissue volume. Experimental group 1. Day 12. F – the regenerated buccal mucosa at the site of a wound defect. Slight cicatricial deformity, unexpressed decrease in soft tissue volume. Macroscopic appearance, typical of groups with wound coverage. Experimental group 3. Day 12

Рис. 2. Макрофотографии раневого дефекта. А – раневой дефект в области щеки крысы с гиперемированной слизистой оболочкой по периферии и фибринозным налетом в центре. 1-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования. В – раневой дефект в области щеки крысы с фибринозным налетом в центре. Макроскопическая картина, характерная для групп с раневым покрытием. 2-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования. С – раневой дефект в области щеки крысы с гиперемированной слизистой оболочкой по периферии и фибринозным налетом в центре. 1-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования. D – раневой дефект в области щеки крысы с фибринозным налетом в центре. Макроскопическая картина, характерная для групп с раневым покрытием. 3-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования. E – рубец на месте раневого дефекта слизистой оболочки щеки крысы. Снижение объема мягких тканей. 1-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования. F – регенерировавшая слизистая оболочка щеки крысы на месте раневого дефекта. Незначительная рубцовая деформация, невыраженное снижение объема мягких тканей. Макроскопическая картина, характерная для групп с раневым покрытием. 3-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования

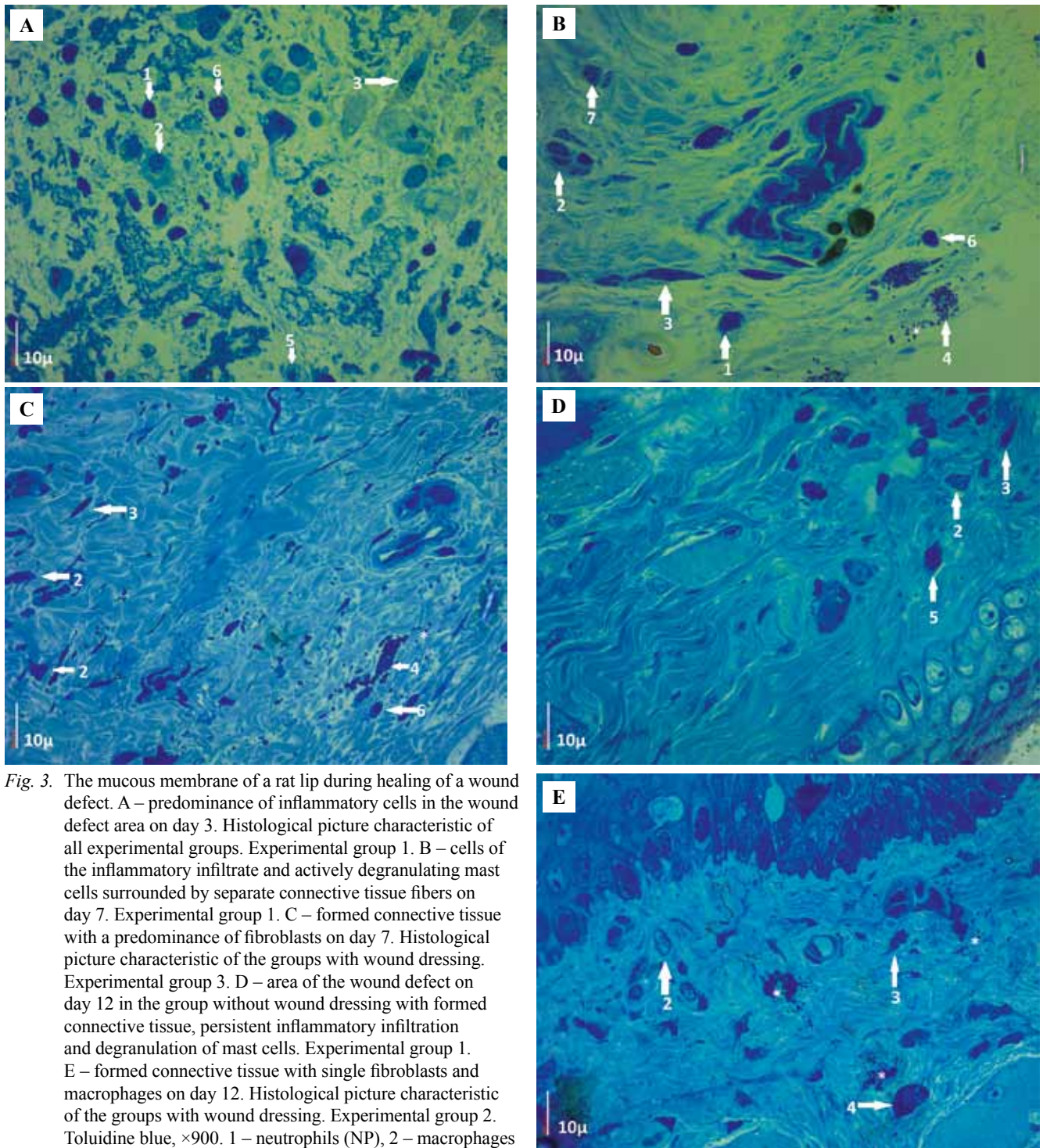


Fig. 3. The mucous membrane of a rat lip during healing of a wound defect. A – predominance of inflammatory cells in the wound defect area on day 3. Histological picture characteristic of all experimental groups. Experimental group 1. B – cells of the inflammatory infiltrate and actively degranulating mast cells surrounded by separate connective tissue fibers on day 7. Experimental group 1. C – formed connective tissue with a predominance of fibroblasts on day 7. Histological picture characteristic of the groups with wound dressing. Experimental group 3. D – area of the wound defect on day 12 in the group without wound dressing with formed connective tissue, persistent inflammatory infiltration and degranulation of mast cells. Experimental group 1. E – formed connective tissue with single fibroblasts and macrophages on day 12. Histological picture characteristic of the groups with wound dressing. Experimental group 2. Toluidine blue, $\times 900$. 1 – neutrophils (NP), 2 – macrophages (MP), 3 – fibroblasts (FB), 4 – mast cells (MC), 5 – plasma cells (PC), 6 – lymphocytes (LC), 7 – eosinophils (EP)

Рис. 3. Слизистая оболочка губы крысы в ходе заживления раневого дефекта. А – преобладание клеток воспалительного инфильтрата в области раневого дефекта на 3-и сутки исследования. Гистологическая картина, характерная для всех экспериментальных групп. 1-я экспериментальная группа. В – клетки воспалительного инфильтрата и активно дегранулирующие тучные клетки в окружении отдельных соединительнотканых волокон на 7-е сутки исследования. 1-я экспериментальная группа. С – сформированная соединительная ткань с преобладанием клеток фибробластического ряда на 7-е сутки. Гистологическая картина, характерная для 2-й и 3-ей экспериментальных групп. 3-я экспериментальная группа. D – область раневого дефекта на 12-е сутки исследования со сформированной соединительной тканью, сохраняющейся воспалительной инфильтрацией и дегрануляцией тучных клеток. 1-я экспериментальная группа. E – сформированная соединительная ткань с единичными фибробластами и макрофагами на 12-е сутки исследования. Гистологическая картина, характерная для 2-ой и 3-ей экспериментальных групп. 3-я экспериментальная группа. Толуидиновый синий, $\times 900$ 1 – НФ, 2 – МФ, 3 – ФБ, 4 – ТК, 5 – ПЦ, 6 – ЛЦ, 7 – ЭФ

Table | Таблица

The number density of cellular components in the wound defect area of the oral mucosa (per 1 mm² of section) |Численная плотность клеточных элементов в области раневого дефекта слизистой оболочки полости рта (в 1 мм² среза)

	ND of NP ЧП НФ	ND of MP ЧП МФ	ND of FB ЧП ФБ	ND of MC ЧП ТК	ND of PC ЧП ПЦ	ND of LC ЧП ЛЦ	ND of EP ЧП ЭФ
Control Контроль	12.0 (10.0; 17.7)	163.0 (158.0; 165.0)	380.0 (376.0; 391.7)	45.00 (43.0; 46.0)	176.0 (173.2; 17.7)	12.0 (0; 14.0)	10.0 (0; 20.0)
Day 3 3-и сутки							
Group 1 1-я группа	2911.5* (2865.0; 2956.0)	772.5* (750.2; 788.0)	3782.0* (3721.0; 3849.5)	12.0* (12.0; 13.0)	197.0 (9.0; 10.7)	161.0* (159.0; 164.0)	75.0 * (73.0; 77.7)
Group 2 2-я группа	1765.0*# (1745.7; 1793.7)	1274.0*# (1251.7; 1294.0)	4464.0* (4418.5; 4505.5)	17.0* (16.0; 19.0)	192.0 (89.0; 94.0)	147.5* (144.0; 149.7)	55.0* (52.0; 56.0)
Group 3 3-я группа	1355.5*# (1294.0; 1366.5)	1750.0 *# (1735.2; 1785.5)	5378.5*# (5346.2; 5465.7)	17.0* (16.0; 20.0)	192.0 (88.0; 94.0)	149.0* (145.0; 152.7)	47.0* (45.0; 50.0)
Day 7 7-е сутки							
Group 1 1-я группа	1148.0* (1128.5; 1171.2)	1846.0* (1831.2; 1869.0)	4530.5* (4472.5; 4579.7)	127.0* (125.0; 131.0)	73.5* (71.2; 77.7)	323.0* (319.0; 327.0)	71.0* (67.2; 72.7)
Group 2 2-я группа	855.5* (791.7; 919.7)	1470.5* (1435.2; 1488.7)	5436.0* (5372.7; 5512.2)	224.5*# (220.2; 321.0)	98.0*# (95.2; 102.1)	548.0*# (544.5; 563.0)	42.0*# (38.0; 44.7)
Group 3 3-я группа	581.0*# (569.7; 585.7)	1128.0*# (1118.5; 1145.7)	6136.0*# (6126.0; 6145.0)	321.0*# (319.0; 327.0)	127.0# (122.0; 131.0)	629.0*# (627.2; 635.0)	29.0*# (25.2; 32.0)
Day 12 12-е сутки							
Group 1 1-я группа	457.0* (452.0; 465.0)	971.0* (947.0; 1138.2)	2746.5* (2639.0; 2906.0)	130.0* (125.2; 132.0)	100.0* (95.0; 102.0)	226.0* (223.0; 229.0)	18.0* (16.0; 19.0)
Group 2 2-я группа	99.5*# (95.0; 102.0)	159.0# (157.2; 163.7)	397.0# (392.2; 400.7)	45.0# (43.2; 46.0)	151.0# (145.2; 155.0)	109.0*# (108.0; 113.5)	10# (0; 10.0)
Group 3 3-я группа	12# (12.0; 13.0)	147,5# (143.0; 149.7)	397.5# (395.0; 402.0)	45.0# (43.0; 46.0)	175.0# (173.0; 177.0)	935*# (91.0; 95.0)	10# (10.0; 17.0)

* – significant differences compared to the control group ($p < 0.05$); # – significant differences compared to group 1 ($p < 0.05$)

ND – numeric density, NP – neutrophils, MP – macrophages, FB – fibroblasts, MC – mast cells, PC – plasma cells, LC – lymphocytes, EP – eosinophils

* – достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); # – достоверные различия по сравнению с 1-й группой ($p < 0,05$)

ЧП – численная плотность, НФ – нейтрофилы, МФ – макрофаги, ФБ – фибробласты, ТК – тучные клетки, ПЦ – плазматциты, ЛЦ – лимфоциты, ЭФ – эозинофилы

served a large number of mitochondria (M) with clearly structured crypts, as well as an extensive rough endoplasmic reticulum (RER) and the Golgi complex (GC).

In experimental group 1, the ND of granular MCs decreased to 17.0 (16.0; 19.0) per 1 mm² of section, which did not differ from that in experimental groups 2 and 3 ($p = 0.065$) (Table).

ND of EPs did not significantly differ between the experimental groups ($p = 0.089$) and reached 75.0 (73.0; 77.7) per 1 mm² of section for group 1, which was 7.5 times greater than in the control group ($p = 0.029$) (Table).

In all experimental groups, ND of PCs did not significantly differ from that in the control group being 176.0 (173.2; 178.7) per 1 mm² of section ($p = 0.087$) (Table).

In experimental group 1, ND of LCs was 161.0 (159.0; 164.0) per 1 mm² of section and did not differ significantly from that in other experimental groups ($p = 0.085$) but it was 13.4 times higher than in the control group ($p = 0.036$) (Table).

In experimental group 3, ND of FBs reached 5378.5 (5346.2; 5465.7) per 1 mm² of section which was 1.4 times higher than in groups 1 and 2, and 14 times higher than in the control group ($p = 0.041$) (Table).

In all groups, there prevailed young fusiform FBs with moderately developed synthesis organelles: rough endoplasmic reticulum (RER) and the Golgi complex (GC). In the nuclei with small invaginations, HH condensed along the periphery as osmiophilic lumps, and decondensed chromatin was distributed in the central part of the nuclei. Large mitochondria (M) with complexly structured crypts were visualized inside the cytoplasm. Vesicles (V) with suspected procollagen molecules were observed near the cell membrane (PM). On the periphery of the FBs, there were signs of extracellular edema and collagen protofibrils (Fig. 4D).

In animals of group 1, on day 7, there was no facial asymmetry and swelling of the buccal region on the side of the surgical intervention. The wound was 8.2±2.1 mm²,

in the center of which there was a loose fibrinous plaque, which was easily removed after the wound was debrided with a cotton swab moistened with 0.05% chlorhexidine solution. Bleeding from the wound was insignificant. Along the edge of the regenerating surface, we observed a rough matte pink tissue, sharply limited from the normal mucous membrane, which, in turn, was slightly hyperemic and edematous along the edges of the defect. There was a decrease in the soft tissue volume in the wound area which

is supposed to follow a consequence of cicatricial deformity of the wound (Fig. 2C).

In groups 2 and 3, there was no facial asymmetry; the wound under the membrane was clean and without plaque. The size of the defect was $4.8 \pm 2.1 \text{ mm}^2$, which is not significantly different ($p=0.065$). The mucous membrane around the wound defect was pale pink and nonedematous. Regeneration occurred with sufficient restoration of soft tissue volume (Fig. 2D).

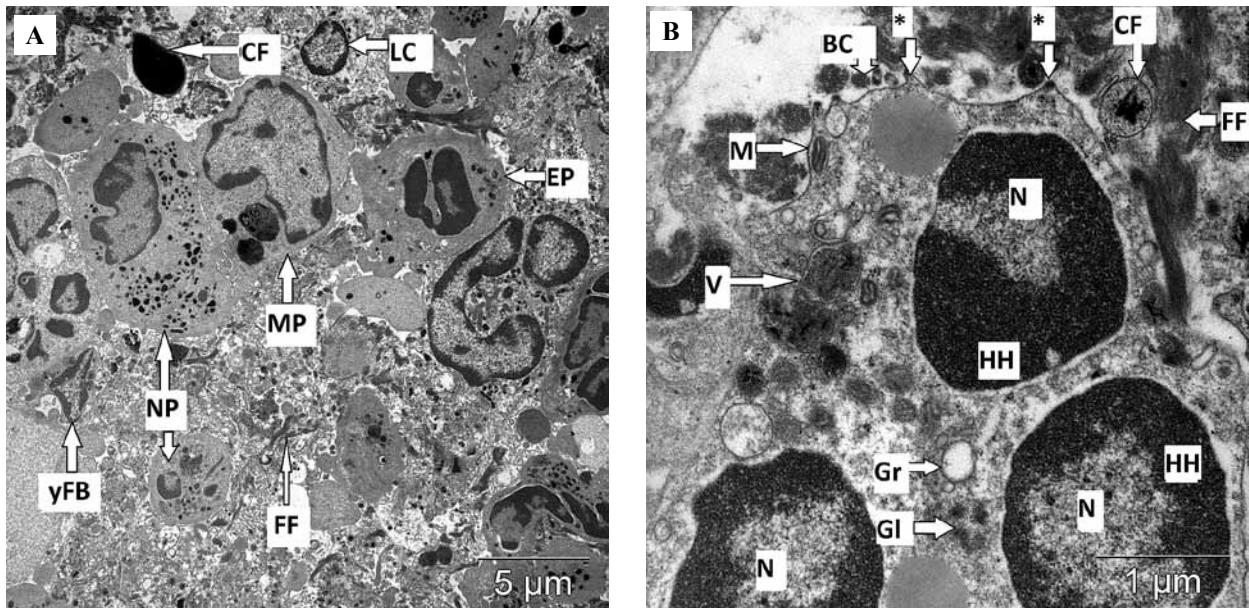


Fig. 4. Electron micrographs of cells from the wound defect area.

A – accumulation of inflammatory cells with predominance of polymorphonuclear leukocytes on day 3, $\times 5000$. B – neutrophil from the wound defect area with outgrowths of plasma membrane and phagolysosomes indicating high phagocytic activity on day 3, $\times 20000$. C – macrophage with multiple pronounced synthesis organelles, outgrowths of plasma membrane, phagolysosomes and residual bodies inside the cell on day 3, $\times 20000$. D – young fibroblast with signs of increasing synthetic activity: a large number of mitochondria and pronounced rough endoplasmic reticulum, cytoplasmic outgrowths on day 3, $\times 20000$. E – degranulating mast cell with low synthetic activity on day 7, $\times 20000$. F – mature fibroblasts with signs of high synthetic activity surrounded by formed collagen networks in groups with wound covering on day 7, $\times 20000$. G – formed connective tissue with fibrinoid areas at the wound defect site with cells of the fibroblastic and macrophage series on day 12, $\times 5000$.

N – nucleus, HH – heterochromatin, EU – euchromatin, RER – rough endoplasmic reticulum, GC – Golgi complex, M – mitochondria, R – ribosome, PM – plasma membrane, NM – nuclear membrane, L – lysosome, RB – residual bodies, V – vacuole, Vez – vesicle, Gr – granule, GI – glycogen, FF – fragments of fibers, CF – fragments of cells, FC – fibers of collagen, FIB – fibrinoid, BC – basal cell of epithelium, * – outgrowths of the cytoplasm

Рис. 4. Электронные микрофотографии клеток из области раневого дефекта.

A – скопление клеток воспалительного инфильтрата с преобладанием полиморфноядерных лейкоцитов на 3-и сутки исследования, $\times 5000$. B – нейтрофил из области раневого дефекта на 3-и сутки исследования с выростами плазматической мембраны и фаголизосомами, свидетельствующими о высокой фагоцитарной активности, $\times 20\ 000$. C – макрофаг с множественными выраженными органеллами синтеза, выростами плазматической мембраны, фаголизосомами и резидуальными тельцами внутри клетки на 3-и сутки исследования, $\times 20\ 000$. D – юный фибробласт с признаками нарастающей синтетической активности – большим количеством митохондрий и выраженной гЭПР, выростами цитоплазмы на 3-и сутки исследования, $\times 20\ 000$. E – дегранулирующая тучная клетка с низкой синтетической активностью на 7-е сутки исследования, $\times 20\ 000$. F – зрелые фибробласты с признаками высокой синтетической активности в окружении сформированных коллагеновых волокон во 2-й и 3-й экспериментальных группах на 7-е сутки исследования, $\times 20\ 000$. G – сформированная соединительная ткань с участками фибриноида на месте раневого дефекта с клетками фибробластического и макрофагального ряда на 12-е сутки исследования, $\times 5000$

N – ядро, HH – гетерохроматин, EU – эухроматин, RER – гранулярный эндоплазматический ретикулум, GC – комплекс Гольджи, M – митохондрия, R – рибосома, PM – плазматическая мембрана, NM – ядерная мембрана, L – лизосома, RB – резидуальные тельца, V – вакуоль, Vez – везикула, Gr – гранула, GI – гликоген, FF – обломки волокон, FC – обломки клеток, FC – коллагеновые волокна, FIB – фибриноид, BC – базальная клетка, * – выросты цитоплазмы

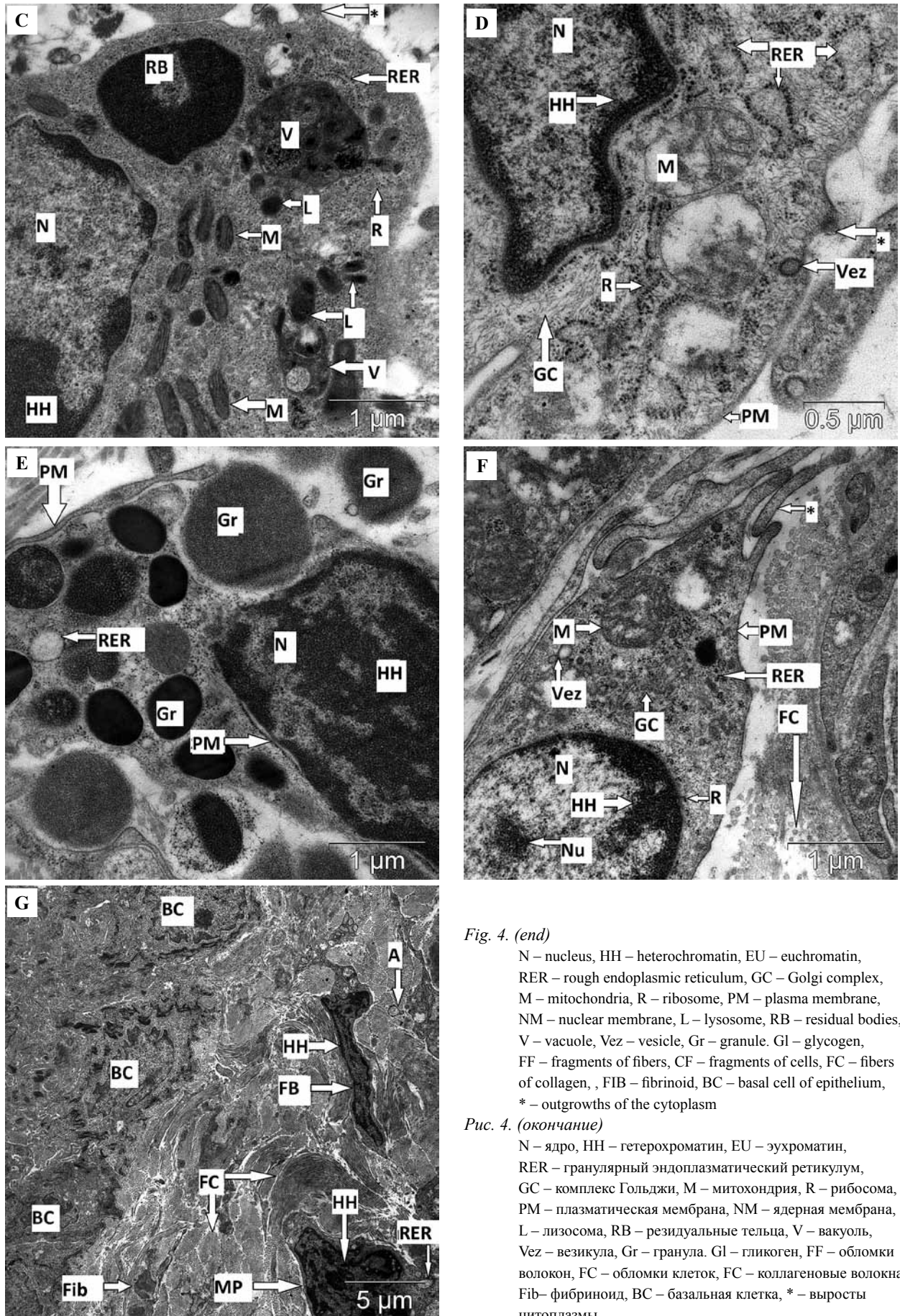


Fig. 4. (end)

N – nucleus, HH – heterochromatin, EU – euchromatin, RER – rough endoplasmic reticulum, GC – Golgi complex, M – mitochondria, R – ribosome, PM – plasma membrane, NM – nuclear membrane, L – lysosome, RB – residual bodies, V – vacuole, Vez – vesicle, Gr – granule. GI – glycogen, FF – fragments of fibers, CF – fragments of cells, FC – fibers of collagen, FIB – fibrinoid, BC – basal cell of epithelium, * – outgrowths of the cytoplasm

Рис. 4. (окончание)

N – ядро, HH – гетерохроматин, EU – эухроматин, RER – гранулярный эндоплазматический ретикулум, GC – комплекс Гольджи, M – митохондрия, R – рибосома, PM – плазматическая мембрана, NM – ядерная мембрана, L – лизосома, RB – резидуальные тельца, V – вакуоль, Vez – везикула, Gr – гранула. GI – гликоген, FF – обломки волокон, FC – обломки клеток, FC – коллагеновые волокна, Fib – фибриноид, BC – базальная клетка, * – выросты цитоплазмы

On day 7, there preserved cellular composition of the infiltrate (Fig. 3B, C), while the ND of cell populations changed.

We studied ND of NPs in all groups and compared the data to those of day 3. We detected a 2.3-fold decrease in groups 1 and 3 and a 2-fold decrease in group 2 ($p=0.042$).

In groups 1 and 2, the ND of MPs did not differ significantly and increased 2.4 and 1.3 times, respectively, compared to the figures of day 3 ($p=0.033$). In group 3 and the control group, this indicator was 1.6 and 11.1 times lower, respectively, than in groups 1 and 2 ($p=0.035$) (Table).

ND of PCs and LCs changed as well. ND of PCs decreased by 2.7, 1.9, and 1.5 times in experimental groups 1, 2, and 3, respectively ($p=0.043$). It was 2.4 times lower in group 1 and 1.8 times lower in groups 2 and 3 than in the control group ($p=0.034$). On the contrary, ND of LCs increased significantly 2, 3.7, and 4.2 times in experimental groups 1, 2, and 3, respectively ($p=0.04$). It was 27 times higher in group 1 and 52 times greater in groups 2 and 3 than in the control group ($p=0.04$) (Table).

ND of EPs decreased significantly only in experimental group 3 and was 29.0 (25.2; 32.0) per 1 mm² of section, which was 1.6 times lower compared to that on day 3, but 2.9 times higher than that in the control group ($p=0.029$) (Table). In experimental groups 1 and 2, there were no significant differences in comparison with day 3 ($p=0.079$).

ND of granulated MCs increased 10.6, 13.2, and 18.4 times in groups 1, 2, and 3, respectively, compared to that on day 3 ($p=0.022$). It was 2.7, 5, and 7.1 times higher in experimental groups 1, 2, and 3, respectively, than in the control group ($p=0.033$) (Table).

MCs were located mainly near the vessels. Inside the cells, we observed numerous granules of different electron densities, which were partially released into the surrounding tissue by exocytosis. In the cytoplasm, we detected only RER and well visualized mitochondria (M). The nuclei (N) were with a moderate amount of heterochromatin (HC) (Fig. 4E).

ND of FBs was 1.2 times higher compared to that in all experimental groups ($p=0.045$) on day 3. We observed a 12-fold, 14-fold, and 16-fold increase in FBs in groups 1, 2, and 3, respectively, compared to that in the control group ($p=0.047$) (Table). At the same time, this indicator in group 3 was 1.35 times higher ($p=0.039$), whereas the indicator in group 2 did not differ from the group without wound dressing.

In the groups with coating, the branched FBs had a high synthetic activity: euchromatin (Eu) occupied almost the entire area of the nucleus (N). In the cytoplasm, there visualized well-developed RER with dilated cisterns and homogeneous content of average electron density, free polysomes (P) and hypertrophied GC. Micropinocytic vesicles (Vez) migrated from RER and GC, which contained molecules procollagen. The plasma membrane (PM) formed numerous outgrowths (*) for exocytosis. In the surrounding tissues, we found clearly structured collagen fibers (CF) located in different planes (Fig. 4F). In the uncoated group,

young fibroblasts still predominated; their ultrastructure remained practically unchanged in comparison with that on day 3.

On day 12, there was no facial asymmetry in all experimental groups. At the site of the wound defect, we observed a scar 4.5±0.3 mm long in group 1 and 1.5±0.2 mm and 1.4±0.2 mm long in groups 2 and 3, respectively. The mucous membrane around the scar was pale pink and nonedematous. In group 1, there was a decrease in the soft tissue volume at the site of the wound defect. In groups 2 and 3, we visualized regeneration with full restoration of soft tissues (Fig. 3E, Fig. 3F).

On day 12, ND of MCs in groups 2 and 3 did not differ significantly from that in the control group and was 2.9 times higher than in group 1 ($p=0.025$). ND of FBs in the same groups reached control values and was 6.9 times greater than in the uncoated group ($p=0.021$) (Table). In groups 2 and 3, the cells were elongated and narrow. Heterochromatin (HH) was detected in the nuclei, indicating a decrease in the functional activity of cells. The organelles were well defined; the cisterns of the GC and RER were not dilated. We did not detect extracellular edema around the cells, but observed clearly organized collagen fibers, among which there were complexes of myelin-free nerve fibers united by Schwann cells (A) (Fig. 4F).

On day 12, neutrophilic infiltration was still preserved in experimental group 1 (Fig. 3E). Their ND was 4.6 times higher than in group 2 and 38 times higher than in group 3 and the control group ($p=0.012$). In groups 2 and 3, this indicator reached the control values (Table).

In groups 2 and 3, ND of MPs reached the control group values of 159.0 (157.2; 163.7) and 147.5 (143.0; 49.7), respectively, which was 6 times lower than in group 1 ($p=0.022$) (Table).

In the uncoated group, we detected macrophages (MPs) with signs of dysfunction: the nuclei contained fragmented heterochromatin (HH); organelles inside the cells were not expressed; GC and RER lay as separate cisterns; and there was a large number of phagolysosomes and residual bodies in the cytoplasm. MPs were located near clusters of fibrinoid (Fib) and surrounded by osmiphilic granules (presumably by mast cells and neutrophils) and in the lamina propria near the basal layer (BC) of the epithelium (Fig. 3G). The fibrinoid formed a coach for the migration of epithelial cells during re-epithelialization of the wound, which would subsequently undergo phagocytosis by macrophages. At the same time, their phagocytic activity decreased: invaginations and outgrowths of the cytoplasm decreased in size and there were practically no digestive vacuoles inside the cells.

ND of PCs in the coated groups did not significantly differ from that in the control group but was 1.75 times higher than in group 1 ($p=0.038$). Compared to the data obtained on day 7, ND of LCs decreased by 1.42 times in group 1, 5 times in group 2, and 6.7 times in group 3, respectively ($p=0.045$). However ND of LCs did not reach the control values (Table).

In groups 2 and 3, ND of EPs reached the control values and was 1.8 times greater than in group 1 ($p=0.038$) (Table).

Thus, on day 12, almost all the studied parameters reached the control values in groups with wound dressing, except for ND of NPs and LCs for group 2 and ND of LCs for group 3. In the group with no wound dressing, no indicators reached the control values.

Discussion

During the regeneration of the oral mucosa wound defect, there occurred a complex of intercellular interactions, the mechanism of which is still to be fully understood. These interactions aim at restoring the integrity of the tissue and protecting it from aggressive influence [6]. The defect restoration was carried out as a result of the coordinated activity of FBs, MPs, MCs, agranulocytes, and granulocytes [7].

The 1st stage of wound healing proceeded with a predominance of the inflammatory reaction for the first three days. It was aimed at limiting the defect containing necrotic tissues, microorganisms and elements of primary contamination from healthy tissues by removal of these pathological products and elimination of the consequences of damage [8].

Primarily, the main role in inflammation belonged to NPs, the ND of which increased significantly in all experimental groups. They almost did not occur in the intact mucous membrane. NPs cleaned the wound defect from tissue dendrite and microorganisms and secreted biologically active substances necessary for the migration of other cellular elements into the wound [6]. Electron microscopy showed an increase in their phagocytic activity.

According to modern concepts of the inflammatory process, neutrophilic infiltration was replaced by macrophage for the implementation of phagocytosis [6]. Releasing biologically active substances, MPs influenced the proliferation of FBs. In addition, they synthesized the extracellular matrix independently [9, 10].

When using a polymer membrane, especially in the group with copper spraying membrane, we observed a more active change from neutrophilic to macrophage infiltration, which can indicate a more rapid abatement of the inflammation phase. In addition to the active phagocytic processes, MPs had the ultrastructure signs indicating a high level of synthetic processes associated with the formation of biologically active substances determining inflammatory and regenerative processes [11].

A decrease in ND of MCs occurred as a result of their degranulation, during which biologically active substances were released to regulate the vascular wall tone and the migration of other cells to the inflammation focus [12, 13]. MPs were predominantly located near the lumen of the vessels with interstitial edema.

In all experimental groups, an increase in the NDs of PCs, LCs, and EPs was due to tissue metabolism and acid-base balance was disturbed as a result of edema, which led to the activation of these cell populations in the wound.

They participated in the destruction of microorganisms and due to the release of biologically active substances attracted cells of the inflammatory infiltrate into the wound. The role of EPs is not fully understood, but they are supposed to play a role in the anti-infectious protection of the wound [14–16].

Simultaneously with the inflammation phase, there occurred the formation of granulation tissue at the wound defect site. In this process, FBs produced the components of the intercellular substance. In this regard, their ND increased.

On day 7, the cellular composition of the infiltrate was preserved.

The leading role in the inflammatory process was passed to MPs, which became the dominant population in comparison with NPs. This was due to the fact that, in addition to the immune function, including phagocytosis of dead NPs [17], MPs influenced the proliferation of FBs, playing an important role in the development of connective tissue [18, 19].

At this stage, an increase in the ND of MCs was a result of their migration to the wound defect zone. Active migration of MCs into the wound was probably facilitated by the piezoelectric properties of the protective membrane; therefore, the cells of this population were more abundantly present in experimental groups 2 and 3 compared to those in the group group without coating. The appearance of MCs at the wound defect site in this phase was most likely due to the fact that they played a significant role in the formation of loose connective tissue [20].

On day 7, proliferation became the dominant process. In the groups where polymer membranes were used to protect the wound defect, the number of FBs increased in comparison with that in the group group with the conventional treatment, where the formation of loose fibrous connective tissue was violated by constant trauma because of chemical and mechanical irritators.

The next stage of wound regeneration occurring on day 12 was scar reorganization, where the interaction between MCs and FBs was of primary importance. With an increased content of the former, a pronounced formation of fibrous tissue and keloid scars were observed, which we detected in the group without wound defect protection [21]. The persistence of macrophage infiltration and their ultrastructural abnormalities in the uncoated group were a poor prognostic sign because they were prerequisites for the development of cicatrice changes [22]. LCs took part in the restructuring of the scar as well, releasing biologically active substances that affected the termination of the proliferation of FBs, that is why their ND increased in all experimental groups [23].

In all experimental groups, the wound healing process was based on a complex interaction of cell populations at the defect site, which determined the speed and quality of wound healing. Knowledge of these mechanisms and the ability to modulate them can optimize the process of wound management [4, 24, 25]. The present research

demonstrated that the use of polymer membranes, especially with copper deposition, contributed to a more physiological change from one cell population to another and their cascade interaction during wound healing.

Conclusion

We identified the patterns of changes in the cellular composition of a wound defect during regeneration. The use of wound dressing contributed to reduced regeneration time, which was observed during the analysis of changes in cell populations at different stages of healing. For example, in groups with wound dressing, the replacement of neutrophilic with macrophage infiltration was more intensive, and this indicated a decrease in the inflammation. When the wound defect was closed, the proliferation was more active, which can be argued based on changes in the number density of fibroblasts and their ultrastructural structure. Moreover, in the groups with wound dressing, on day 12, the numeral density of macrophages reached control values in contrast to the group without it. It was a marker of scar tissue formation in experimental group 1. Lymphocytes and plasma cells were active in groups with coating; they also participated in the reorganization of the scar at the final stages of wound healing.

Thus, the closure of the oral mucosa wounds with polymer piezoelectric membranes had a positive effect on the restoration of the qualitative and quantitative cellular composition of the tissue, and, supposedly, reduced the risk of postoperative complications.

Compliance with ethical principles

The study was approved by the local ethics committee of the Siberian State Medical University (No. 7693/1 from 26.8.2019). The study was carried out in compliance with the principles of humanity set out in the Council Directive (86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.D. Koniaeva, E.Yu. Varakuta, E.N. Bolbasov, K.S. Stankevich.

Collected the data and performed the analysis – A.D. Koniaeva, A.E. Leiman.

Wrote the paper – A.D. Koniaeva, E.Yu. Varakuta.

Edited the manuscript – A.D. Koniaeva, E.Yu. Varakuta, E.N. Bolbasov, K.S. Stankevich.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, Е.Н. Больбасов, К.С. Станкевич.

Сбор и обработка материала – А.Д. Коняева, А.Е. Лейман.

Написание текста – А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута.

Редактирование – А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, Е.Н. Больбасов, К.С. Станкевич.

References/Литература

1. *Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC.* Wound healing: A cellular perspective. *Physiol Rev.* 2019;99(1):665–706. DOI: 10.1152/physrev.00067.2017.
2. *Badaraev AD, Koniaeva AD, Krikova SA, Shesterikov EV, Bolbasov EN, Nemoykina AL, Tverdokhlebov SI.* Piezoelectric polymer membranes with thin antibacterial coating for the regeneration of oral mucosa. *Applied Surface Science.* 2020;504:144068. DOI: 10.1016/j.apsusc.2019.144068.
3. *da Silveria Teixeira D, de Figueiredo MAZ, Cherubina K, de Oliveira SD, Salum FG.* The topical effect of chlorhexidine and povidone-iodine in the repair of oral wounds. A review. *Stomatologija.* 2019;21(2):35–41. PMID:32108654.
4. *Konyaeva AD, Varakuta EY, Leiman AE, Badaraev AD, Bolbasov EN.* Effectiveness of non-woven piezoelectric polymer membrane application based on a co-polymer of vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene for oral wound closure. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2020;9(2):40–45 (In Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-40-45.
Коняева А.Д., Варакута Е.Ю., Лейман А.Е., Бадараев А.Д., Больбасов Е.Н. Эффективность использования нетканых пьезоэлектрических полимерных мембран на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом для закрытия раневых дефектов слизистой оболочки полости рта. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2020;9(2):40–45. DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-40-45.
5. *Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ.* Wound healing. *J Chin Med Assoc.* 2018;81(2):94–101. DOI: 10.1016/j.jcma.2017.11.002.
6. *Periera D, Sequera I.* A scarless healing tale: Comparing homeostasis and wound healing of oral mucosa with skin and oesophagus. *Front Cell Dev Biol.* 2021;(9):682143. DOI: 10.2289/fcell.2021682143.
7. *Xiao T, Yan Z, Xiao S, Xia Y.* Proinflammatory cytokines regulate epidermal stem cells in wound epithelialization. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):232. DOI: 10.1186/s13287-020-01755-y.
8. *Avishai E, Yeghiazaryan K, Golubnitschaja O.* Impaired wound healing: Facts and hypotheses for multi-professional considerations in predictive, preventive and personalised medicine. *EPMA J.* 2017;8(1):23–33. DOI: 10.1007/s13167-017-0081-y.
9. *Serra MB, Barroso WA, da Silva NN, Silva SDN, Borges ACR, Abreu IC et al.* From inflammation to current and alternative therapies involved in wound healing. *Int J Inflamm.* 2017;2017:3406215. DOI: 10.1155/2017/3406215.
10. *Kotwal GJ, Chien S.* Macrophage differentiation in normal and accelerated wound healing. *Results Probl Cell Differ.* 2017;62:353–64. DOI: 10.1007/978-3-319-54090-0_14.
11. *Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, Mardani F et al.* Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol.* 2018;233(9):6425–40. DOI: 10.1002/jcp.26429.
12. *Komi DEA, Rambasek T, Wöhrl S.* Mastocytosis: From a molecular point of view. *Clinic Rev Allerg Immunol.* 2018;54(3):397–411. DOI: 10.1007/s12016-017-8619-2.
13. *Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL.* A review of the contribution of mast cells in wound healing: Involved molecular and cellular mechanisms. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020;58(3):298–312. DOI: 10.1007/s12016-019-08729-w.
14. *Coden ME, Berdnikovs S.* Eosinophils in wound healing and epithelial remodeling: Is coagulation a missing link? *J Leukoc Biol.* 2020;108(1):93–103. DOI: 10.1002/JLB.3MR0120-390R.
15. *Wang X, Balaji S, Steen EH, Li H, Rae MM, Blum AJ et al.* T lymphocytes attenuate dermal scarring by regulating inflammation,

- neovascularization, and extracellular matrix remodeling. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2019;8(11):527–37. DOI: 10.1089/wound.2019.0981.
16. *Sîrbulescu RF, Boehm CK, Soon E, Wilks MQ, Ilies I, Yuan H et al.* Mature B cells accelerate wound healing after acute and chronic diabetic skin lesions. *Wound Repair Regen*. 2017;25(5):774–91. DOI: 10.1111/wrr.12584.
 17. *Rousselle P, Braye F, Dayan G.* Re-epithelialization of adult skin wounds: Cellular mechanisms and therapeutic strategies. *Adv Drug Deliv Rev*. 2019;146:344–65. DOI: 10.1016/j.addr.2018.06.019.
 18. *Kloc M, Ghobrial RM, Wosik J, Lewicka A, Lewicki S, Kubiak JZ.* Macrophage functions in wound healing. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019;13(1):99–109. DOI: 10.1002/term.2772.
 19. *Smigiel KS, Parks WC.* Macrophages, wound healing, and fibrosis: Recent insights. *Curr Rheumatol Rep*. 2018;20(4):17. DOI: 10.1007/s11926-018-0725-5.
 20. *Alim MA, Peterson M, Pejler G.* Do mast cells have a role in tendon healing and inflammation? *Cells*. 2020;9(5):1134. DOI: 10.3390/cells9051134.
 21. *Ud-Din S, Wilgus TA, Bayat A.* Mast cells in skin scarring: A review of animal and human research. *Front Immunol*. 2020;11:552205. DOI: 10.3389/fimmu.2020.552205.
 22. *Xu X, Gu S, Huang X, Ren J, Gu Y, Wei C et al.* The role of macrophages in the formation of hypertrophic scars and keloids. *Burns Trauma*. 2020;8:tkaa006. DOI: 10.1093/burnst/tkaa006.
 23. *Carlavan I, Bertino B, Rivier M, Martel P, Bourdes V, Motte M et al.* Atrophic scar formation in patients with acne involves long-acting immune responses with plasma cells and alteration of sebaceous glands. *Br J Dermatol*. 2018;179(4):906–17. DOI: 10.1111/bjd.16680.
 24. *Li P, Ruan L, Wang R, Liu T, Song G, Gao X et al.* Electrospun scaffold of collagen and polycaprolactone containing ZnO quantum dots for skin wound regeneration. *J Bionic Eng*. 2021;18(6):1378–90. DOI: 10.1007/s42235-021-00115-7.
 25. *Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC.* Wound healing: A cellular perspective. *Physiol Rev*. 2019;99(1):665–706. DOI: 10.1152/physrev.00067.2017.

Author information

Anastasiia D. Koniaeva – Teaching Assistant, Human Anatomy Department with a course of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Siberian State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0002-9708-1948>

Elena Yu. Varakuta – Dr. Sci. (Med.), Head of the Human Anatomy Department with a course of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Siberian State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0003-3173-5336>

Arina E. Leiman – 4th-year student, General Medicine Department, Siberian State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0002-9959-1546>

Eugeniy N. Bolbasov – Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher, Laboratory of Hybrid of Biomaterials, National Research Tomsk Polytechnic University.
<https://orcid.org/0000-0002-6113-1835>

Ksenia S. Stankevich – Master’s Degree Student, Chemistry and Biochemistry Department, Montana State University.
<https://orcid.org/0000-0002-6701-7582>

Информация об авторах

Анастасия Денисовна Коняева – ассистент кафедры анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии Сибирского государственного медицинского университета.

Елена Юрьевна Варакута – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии Сибирского государственного медицинского университета.

Арина Евгеньевна Лейман – студентка 4-го курса лечебного факультета Сибирского государственного медицинского университета.

Евгений Николаевич Большасов – кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории гибридных биоматериалов Национального исследовательского Томского политехнического университета.

Ксения Сергеевна Станкевич – магистрант факультета химии и биохимии, Государственный университет штата Монтана, США.

Сравнительное исследование морфологических изменений почки и мочеточника кролика при различных способах инфицирования

М.М. Тусупбекова¹, Е.А. Шарапатов¹, Е.А. Пронкин², А.В. Лавриненко³, Е.М. Тургунов¹

¹ НАО Медицинский университет Караганды, Караганда, Республика Казахстан

² ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

³ Научно-исследовательский центр НАО Медицинский университет Караганды, Караганда, Республика Казахстан

Резюме. Введение. Известны два основных пути проникновения инфекции в мочевыделительную систему – восходящий и гематогенный. При восходящем пути инфекционный агент проникает из внешней среды через наружные отверстия мочевыделительных органов. Роль транслокации бактерий в развитии воспалительного процесса в мочевыводящих органах до сих пор мало изучена. Целью исследования стало проведение сравнительного морфологического исследования почек и мочеточника при различных способах инфицирования.

Материалы и методы. В эксперименте на кроликах (n=45) изучено структурное состояние почек и мочеточника в зависимости от патогенеза острого пиелонефрита. Животные в случайном порядке были разделены на группы: две опытные и три контрольные. В опытных группах (I и II) моделировали обструктивный пиелонефрит путем перевязки мочеточника. В контрольных группах (III и IV) вводили инфекционный агент аналогично тому, как это делали в опытных группах, но без создания модели обструктивного пиелонефрита. В V группе была выполнена лапаротомия без перевязывания мочеточника и без инъекционного введения бактерий (sham операция). Морфологическое исследование проводилось методом оптической микроскопии гистологических препаратов с использованием компьютеризированного микроскопа с цифровым микрофотографированием.

Результаты. В I группе на 3-и сутки воспалительную инфильтрацию выявили в 80% наблюдений, а на 5-е сутки в 100%. Во II группе на 3-и и 5-е сутки в ткани мочеточника воспалительный процесс установлен в 100% случаев. У животных III и V групп морфологические изменения в почке и мочеточнике не выявлены. В IV группе на 3-и и 5-е сутки эксперимента частота воспалительной инфильтрации составила 80%.

Заключение. Характер морфологических изменений почек и мочеточника при остром пиелонефрите зависит как от путей инфицирования, так и от сроков обструкции мочеточника. При энтероренальной транслокации выраженность морфологических изменений наступает позднее.

Ключевые слова: обструкция мочевыводящих путей, острый пиелонефрит, кишечная транслокация, восходящая инфекция

Для корреспонденции: Ержан Акдилдаулы Шарапатов. E-mail: sh.erzhan92@mail.ru

Для цитирования: Тусупбекова М.М., Шарапатов Е.А., Пронкин Е.А., Лавриненко А.В., Тургунов Е.М. Сравнительное исследование морфологических изменений почки и мочеточника кролика при различных способах инфицирования. Клини. эксп. морфология. 2022;11(1):62–72. DOI: 10.31088/СЕМ2022.11.1.62-72.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 08.07.2021. Получена после рецензирования 05.08.2021. Принята в печать 16.12.2021.

Comparative study of morphological changes in the kidney and ureter of a rabbit with various methods of infection

М.М. Tusupbekova¹, Y.A. Sharapatov¹, E.A. Pronkin², A.V. Lavrinenko³, Y.M. Turgunov¹

¹ Medical University of Karaganda, Karaganda, Republic of Kazakhstan

² Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russia

³ Scientific Research Center of the Medical University of Karaganda, Karaganda, Republic of Kazakhstan

Abstract. Introduction. There are two main routes of urinary tract infection: ascending and hematogenous. In the ascending route, the infectious agent penetrates from the external environment through the external

openings of the urinary organs. The role of bacterial translocation in the development of the inflammatory process in the urinary organs is still poorly understood.

Materials and methods. We conducted an experiment on rabbits (n=45) and studied the structural changes in the kidneys and ureter depending on the pathogenesis of acute pyelonephritis. The animals were randomly divided into 5 groups: 2 experimental and 3 control. In experimental groups I and II, we modeled obstructive pyelonephritis by ligation of the ureter. In control groups III and IV, an infectious agent was administered similarly to that in the experimental groups, but without creating a model of obstructive pyelonephritis. In control group V, a laparotomy was performed without ligation of the ureter and without injection of bacteria. The morphological study was carried out with optical microscopy.

Results. In group I, on day 3, the inflammatory infiltration was detected in 80% of cases and on day 5, in 100%. In group II, on days 3 and 5, the inflammatory process in the ureteral tissue developed in all cases. There were no morphological changes in the kidneys and ureter in groups III and V. In group IV, on days 3 and 5, the frequency of inflammatory infiltration was 80%.

Conclusion. The nature of morphological changes in the kidneys and ureter in acute pyelonephritis depends on both the ways of infection and the timing of ureteral obstruction. In enterorenal translocation, the severity of morphological changes occurs later.

Keywords: urinary tract obstruction, acute pyelonephritis, intestinal translocation, ascending infection

Corresponding author: Yerzhan A. Sharapatov. E-mail: sh.erzhan92@mail.ru

For citation: Tusupbekova M.M., Sharapatov Y.A., Pronkin E.A., Lavrinenko A.V., Turgunov Y.M. Comparative study of morphological changes in the kidney and ureter of a rabbit with various methods of infection. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):62–72 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.62-72.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 08.07.2021. **Received in revised form** 05.08.2021. **Accepted** 16.12.2021.

Введение

Инфекционная патология занимает лидирующую позицию среди болезней почек и составляет 11,1% от общего числа заболеваний мочевыделительной системы. В роли основного этиологического фактора выделяются *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* [1], что вызывает ряд вопросов об этиологии и о патогенезе инфекции мочевыделительной системы [1, 2]. Известны два основных пути проникновения инфекции в мочевыделительную систему – восходящий и гематогенный [3]. При восходящем пути инфекционный агент проникает из внешней среды через наружные отверстия мочевыделительных органов, потом перемещается в верхние отделы, путем инвазии в стенки органов. Основным опосредующим фактором в данном механизме инфицирования является уростаз на любом уровне процесса мочеиспускания. Застаиваясь, моча выступает в роли питательной среды и способствует росту микроорганизмов с последующей интенсификацией процесса воспаления [4–6]. Второй механизм связан с проникновением микроорганизмов путем транслокации из других органов. Есть исследования, показавшие, что бактериальная транслокация микрофлоры кишечника в небольших концентрациях может происходить даже у практически здоровых людей без последствий в виде развития почечной инфекции. В экспериментах на животных самая высокая концентрация транслокации из кишечника бактерий была зафиксирована в мезентериальных лимфатических узлах, печени, селезенке, легких, мягких тканях [7–9]. В то же время при возникновении пиелонефрита вы-

явлена прямая зависимость степени энтеропочечной транслокации от концентрации бактерий и длительности обструкции мочевыводящих путей. После преодоления микроорганизмами иммунологических барьеров хозяина, прорыва в сосудистое русло при наличии определенных условий происходит гематогенная диссеминация, которая завершается инфицированием почечной ткани [9–11]. При экспериментальном моделировании острого пиелонефрита в проведенных исследованиях большинство авторов использовали крыс и кроликов. Использование кроликов в эксперименте обусловлено технической простотой исполнения и высокой выживаемостью животных после манипуляции [12–14]. Роль транслокации бактерий в развитии воспалительного процесса в мочевыводящих органах до сих пор мало изучена. Сравнительные исследования о роли транслокации кишечной флоры и патогенезе восходящей инфекции мочевыделительной системы остаются актуальными.

Цель исследования – проведение сравнительного морфологического исследования почек и мочеточника кролика при различных способах инфицирования.

Материалы и методы

Проведено экспериментальное исследование на кроликах в условиях вивария Некоммерческого акционерного общества «Медицинский университет Караганды» (НАО «МУК»). Содержание, питание, уход за животными во время эксперимента и после выведения из него осуществлялись в соответствии с международными требованиями к охране животных, используемых

в научных целях [15, 16]. В экспериментальном исследовании были задействованы 45 беспородных кроликов в возрасте старше 3 месяцев массой $3,0 \pm 0,5$ кг. Все животные содержались при сходных условиях: температура воздуха $+20-23^\circ\text{C}$, влажность 70–75%, освещение с 12-часовым циклом свет–темнота, соответствующий рацион питания. Дизайн данного исследования одобрен этической комиссией при НАО «МУК» (протокол № 10 от 16.03.2020). В качестве маркера инфицирования мочевыводящих путей использовали лабораторный штамм *E. coli* № 49579, который был получен от пациента с урологической инфекцией. Используемый штамм в эксперименте характеризовался устойчивостью к цефепиму, ципрофлоксацину, тетрациклину. Для эксперимента готовили взвесь 0,5 по McFarland из суточной культуры штамма *E. coli* № 49579, который был культивирован при температуре $+37^\circ\text{C}$ в течение 24 часов на мясо-пептонном агаре. Все животные оперированы под общей анестезией кетаминном внутримышечно в дозе 15 мг/кг массы тела. Животные в случайном порядке разделены на четыре группы: I группа (опытная, $n=10$) – модель острого обструктивного пиелонефрита (ООП) для изучения транслокации из кишечника антибиотикоустойчивых *E. coli*: проводили верхнесрединную лапаротомию (разрез длиной 4 см), вводили взвесь бактерий в количестве 10^8 КОЕ/мл в тонкую кишку, 3 см от связки Трейца через иглу 26G. После визуализации левого мочеточника на уровне средней трети он перевязан нитью 3/0. II группа (опытная, $n=10$) – модель ООП для изучения восходящей инфекции антибиотикоустойчивых *E. coli*: проводили верхнесрединную лапаротомию (разрез длиной 4 см), после визуализации левого мочеточника, на уровне средней трети, вводили взвесь микроорганизмов в количестве 10^8 КОЕ/мл через иглу 26G в его среднюю треть, после чего мочеточник перевязывали выше зоны прокола нитью 3/0. III группа (контрольная, $n=10$) – sham операция: проводили верхнесрединную лапаротомию длиной 4 см, вводили взвесь бактерий в количестве 10^8 КОЕ/мл в тонкую кишку, 3 см от связки Трейца, через иглу 26G в том же месте, как и в I группе, выделяли левый мочеточник на уровне средней трети, но не перевязывали его. IV группа (контрольная, $n=10$) – sham операция: проводили верхнесрединную лапаротомию (разрез длиной 4 см), после визуализации левого мочеточника на уровне средней трети вводили взвесь микроорганизмов в количестве 10^8 КОЕ/мл через иглу 26G в его среднюю треть, после чего выделяли левый мочеточник на уровне средней трети без его перевязывания. V группа (контрольная, $n=5$) – sham операция: проводили верхнесрединную лапаротомию без перевязывания мочеточника и без инъекционного введения бактерий. В каждой группе животных выводили из эксперимента на 3-и и 5-е сутки путем обескровливания под общей анестезией согласно международным рекомендациям [17] и производили забор материала для морфологических исследований.

Морфологические исследования проводили в патоморфологической лаборатории кафедры патологии НАО «МУК». Для гистологического исследования материал из мочеточника забирали выше зоны обструкции, материал из почки – путем разреза органа в средней части правой почки через все слои с охватом ее ворот. Материал фиксировали в забуференном 10% растворе нейтрального формалина с последующим проведением по общепринятой методике для гистологического исследования с заливкой в парафин–воск. Изготовленные парафиновые срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином [18]. Материал изучали на компьютеризированном микроскопе с цифровым микрофотографированием гистологических препаратов с использованием камеры Leica DFC320 и микроскопа Leica DM1000 (Leica Microsystems, Германия) при $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$. Материал для морфологического исследования забирали с использованием метода ослепления – каждому образцу присваивали условное цифровое обозначение без указания характеристики групп, после проведения гистологического описания препаратов проводили расшифровку групп и последующий сравнительный анализ морфологической картины. Статистическую обработку данных выполняли с использованием программы Statistica 8.1 (Statsoft). Для определения статистической значимости между группами по исследуемым параметрам был использован точный критерий Фишера. Статистически значимыми результаты были при $p \leq 0,05$.

Результаты

В ходе исследования обнаружено, что характер морфологических изменений во всех группах был неоднотипным (табл. 1). На 3-и и 5-е сутки по параметрам воспалительная инфильтрация, отек чашечно-лоханочной системы (ЧЛС) в I и III группах выявлены статистически значимые различия. На 5-е сутки по всем параметрам морфологической характеристики между группами имелись значимые отличия, но при сравнении инфильтрации в корковом слое почки между группами различий не было. В I группе на 3-и сутки выявлены воспалительная лимфолейкоцитарная инфильтрация и отек стромы ЧЛС в четырех наблюдениях, а также в двух случаях встречались отек стромы и инфильтрация в корковом слое почки. В этой же группе на 5-е сутки характер морфологических изменений был более выраженным. Следует отметить, что отличительными особенностями от показателей 3-х суток являются наличие инфильтрации в мозговом слое почки, сужение просвета мочеточника, гнойный экссудат в просвете мочеточника и канальцев. В III группе на 3-и и 5-е сутки морфологические изменения не выявлены.

На 3-и сутки при сравнении отмечали сужение просвета канальцев, на 5-е сутки по двум показателям – отек чашечно-лоханочной системы и гнойный экссудат в просвете мочеточника и канальцах – между II и IV группами выявлены статистически значимые

Таблица 1 | Table 1

**Частота развития морфологических изменений в почке и мочеточнике экспериментальных животных в I и III группах |
The frequency of morphological changes in the kidneys and ureter of experimental animals in groups I and III**

Группа Group	Сутки Day	N	Морфологические характеристики Morphological characteristics						
			воспалительная инфильтрация inflammatory infiltration	отек чашечно-лоханочной системы edema of the pelvicalyceal system	отек стромы мочеточника swelling of the ureteral stroma	инфильтрация в корковом слое почек infiltration in the renal cortex	инфильтрация в мозговом слое почек infiltration in the medulla	сужение просвета канальцев narrowing of the tubule lumen	гнойный экссудат в просвете мочеточника и канальцах purulent exudate in the ureteral lumen and tubules
I группа Group I	3	5	4 (80%)*	4 (80%)*	2 (40%)	2 (40%)	0	0	0
	5	5	5 (100%)*	5 (100%)*	5 (100%)*	0	5 (100%)*	5 (100%)*	5 (100%)*
III группа Group III	3	5	0	0	0	0	0	0	0
	5	5	0	0	0	0	0	0	0
p	3		p=0,023	p=0,023	p=0,222	p=0,222	–	–	–
	5		p=0,004	p=0,004	p=0,004	–	p=0,004	p=0,004	p=0,004

* Статистически значимые отличия опытной группы (I группа) от группы контроля (III группа) ($p \leq 0,05$)

* Significant differences between experimental group I and control group III ($p \leq 0.05$)

различия, по остальным параметрам различий не было. Во II группе, при моделировании восходящей инфекции, на 3-и сутки у всех животных отмечены выраженная инфильтрация, отек ЧЛС, инфильтрация мозгового слоя почки, сужение просвета мочеточника и гнойный экссудат в просвете мочеточника и канальцев, аналогичные морфологические изменения были на 5-и сутки, но более интенсивные. В отличие от микроскопических изменений на 3-и сутки у всех

животных выявлены отек стромы мочеточника и инфильтрация в корковом слое почки. В IV группе морфологическая картина характеризовалась развитием отека в ЧЛС у четырех животных на 3-и сутки и у одного на 5-е. Также отличительной особенностью морфологических изменений на 5-и сутки от аналогичных показателей на 3-и сутки в данной группе является наличие инфильтрации как в мозговом, так и в корковом слое почки (табл. 2).

Таблица 2 | Table 2

**Частота развития морфологических изменений в почке и мочеточнике экспериментальных животных в группах II и IV |
The frequency of morphological changes in the kidneys and ureter of experimental animals in groups II and IV**

Группа Group	Сутки Day	N	Морфологические характеристики Morphological characteristics						
			воспалительная инфильтрация inflammatory infiltration	отек чашечно-лоханочной системы edema of the pelvicalyceal system	отек стромы мочеточника swelling of the ureteral stroma	инфильтрация в корковом слое почек infiltration in the renal cortex	инфильтрация в мозговом слое почек infiltration in the medulla	сужение просвета канальцев narrowing of the tubule lumen	гнойный экссудат в просвете мочеточника и канальцах purulent exudates in the ureteral lumen and tubules
II группа Group II	3	5	5 (100%)	5 (100%)	0	0	5 (100%)	5 (100%)*	5 (100%)
	5	5	5 (100%)	5 (100%)*	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	–	5 (100%)*
IV группа Group IV	3	5	4 (80%)	4 (80%)	0	0	4 (80%)	0	4 (80%)
	5	5	4 (80%)	1 (20%)	20%	4 (80%)	4 (80%)	–	1 (20%)
p	3		p=0,500	p=0,500	–	–	p=0,500	p=0,004	p=0,500
	5		p=0,500	p=0,023	p=0,500	p=0,500	p=0,500	–	p=0,023

* Статистически значимые отличия опытной группы (II группа) от группы контроля (IV группа) ($p \leq 0,05$)

* Significant differences between experimental group II and control group IV ($p \leq 0.05$)

До получения материала для морфологического исследования была оценена макроморфология брюшной полости. При оценке во всех исследуемых группах признаки воспалительного заболевания брюшной полости не выявлены. Следует отметить, что интенсивность патологических изменений даже в одной подгруппе отличалась у разных животных. Так, в I группе на 3-и сутки в одном наблюдении из пяти (20%) при гистологическом исследовании установлено, что стенка мочеточника и чашечно-лоханочной системы интактна, морфологическая структура сохранена, воспалительная инфильтрация не выявлена (рис. 1 А). В двух наблюде-

ниях (40%) в чашечно-лоханочной системе почек выявлены отек стромы и рассеянная лимфоцитарная инфильтрация. Обращает внимание то, что инфильтрация локализуется преимущественно в периваскулярных зонах, характерны отек интерстиция и полнокровие сосудов с эритродиapedезом. При этом отмечалась тенденция лимфолейкоцитарной инфильтрации и вокруг почечной артерии (рис. 1 В). В оставшихся двух наблюдениях (40%) данной группы эксперимента обнаружен более выраженный воспалительный процесс в органах мочевыделительной системы. На фоне отека стромы стенки мочеточника отмечали диффузную и более вы-

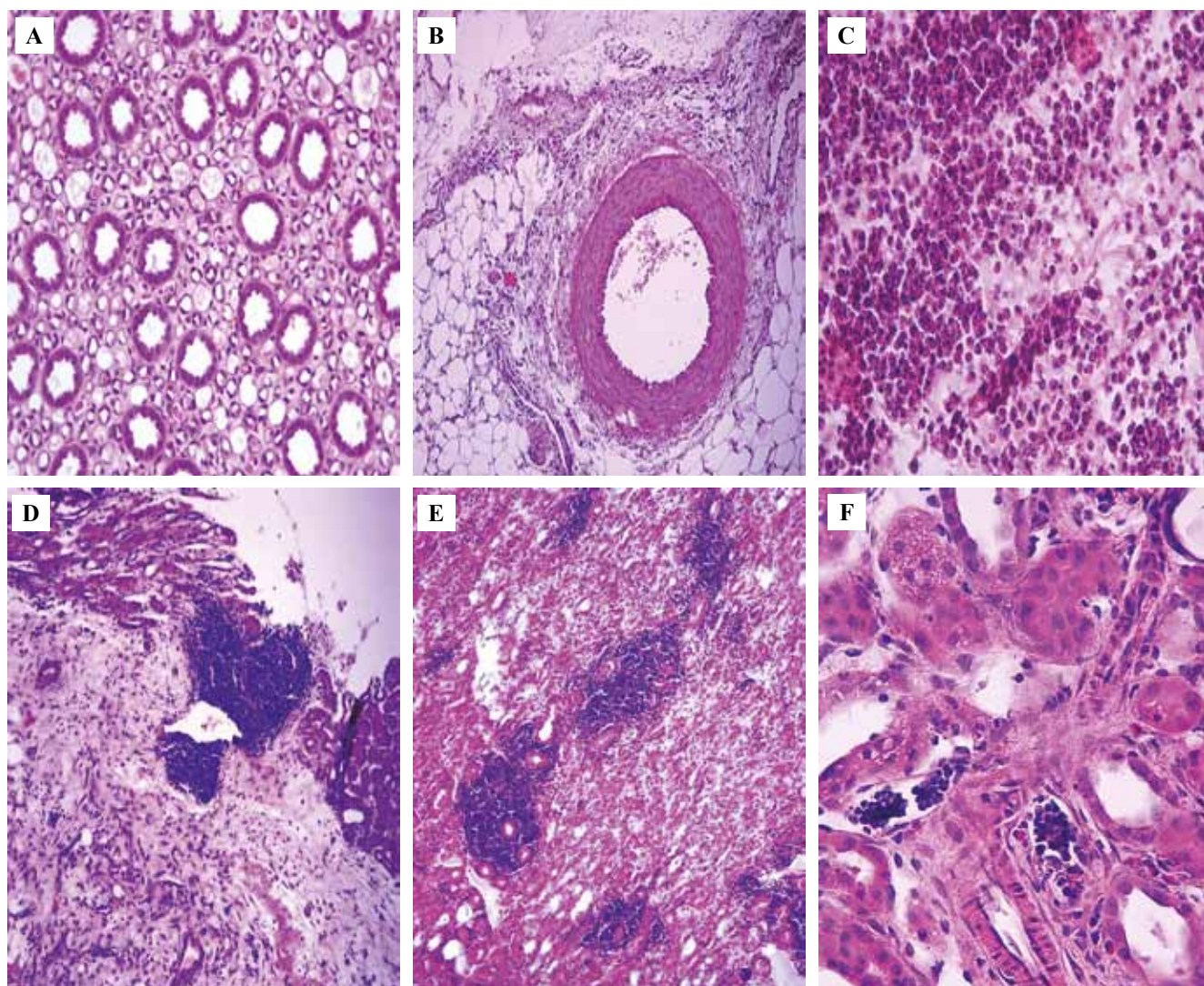


Рис. 1. I группа. А – чашечно-лоханочная система интактна, структура сохранена, В – единичная лимфолейкоцитарная инфильтрация вокруг почечной артерии, С – фрагмент стенки мочеточника с выраженной периваскулярной лимфолейкоцитарной инфильтрацией интерстиция, D – чашечно-лоханочные структуры, отмечается диффузная лимфолейкоцитарная инфильтрация с формированием абсцессов, E – очаги периваскулярной лимфолейкоцитарной инфильтрации в мозговом слое почек, F – бактериальные эмболы в просвете сосудов мозгового слоя почек. Окраска гематоксилином и эозином. А, D, E – $\times 200$, B, C, F – $\times 400$

Fig. 1. Group I. A – the pyelocaliceal system, intact, the structure is preserved, B – a single lymphocyte and leukocyte infiltration around the renal artery, C – a fragment of the wall of the ureter with pronounced perivascular lymphocyte and leukocyte infiltration of the interstitium, D – pyelocaliceal structures, diffuse lymphocyte and leukocyte infiltration with the formation of abscesses, E – foci of perivascular lymphocyte and leukocyte infiltration in the renal capsule, F – bacterial emboli in the lumen of the vessels of the renal capsule. H&E stain. A, D, E – $\times 200$, B, C, F – $\times 400$

раженную периваскулярную лимфолейкоцитарную инфильтрацию на протяжении сосуда (рис. 1 С). У этих же животных выявлялись периваскулярная лимфолейкоцитарная инфильтрация и в корковом слое почек, полнокровие сосудов, просвет канальцев был сужен за счет набухания нефротелия.

При увеличении экспозиции обструкции мочеточника до 5-х суток в I группе гистологические изменения чашечно-лоханочной системы характеризовались рассеянной лимфолейкоцитарной инфильтрацией подслизистого слоя с формированием единичных абсцессов с четкими границами (рис. 1 D), в просвете канальцевой системы содержалось незначительное количество гнойного экссудата, просветы их расширены. Наиболее выраженные изменения выявлялись в юкстамедуллярной зоне мозгового слоя почек в виде очаговой лимфолейкоцитарной инфильтрации с зонами абсцедирования и периваскулярной лимфолейкоцитарной инфильтрацией (рис. 1 E). В других наблюдениях этой группы в стенке мочеточника отмечались отек стромы и рассеянная лимфолейкоцитарная инфильтрация с формированием четко очерченных множественных микроабсцессов, в полостях чашечно-лоханочной системы содержался гнойный экссудат. В паранефральной клетчатке отмечена слабо выраженная лимфолейкоцитарная инфильтрация. Следует отметить, что в просвете сосудов мозгового слоя выявлены бактериальные эмболы, эпителий почечных канальцев был в состоянии гидропической дистрофии (рис. 1 F).

Во II группе на 3-и сутки отмечено наличие в просвете мочеточника и полости чашечно-лоханочной си-

стемы густого гнойного экссудата с примесью эритроцитов и слизи, слизистая местами десквамирована, также обнаружены стромальный отек и диффузная лимфолейкоцитарная инфильтрация с формированием абсцессов. В этой серии эксперимента отличительным было вовлечение в патологический процесс не только мочеточника и чашечно-лоханочной системы, но и мозгового слоя юкстамедуллярной зоны почек в виде рассеянной и очаговой лимфолейкоцитарной инфильтрации, вовлечение в процесс канальцевой системы почек (рис. 2 A) с появлением в просветах прямых и извитых канальцев лейкоцитарного экссудата, в некоторых канальцах отмечено скопление геморрагического экссудата. Наряду с этим наблюдалось нарушение кровообращения на уровне сосудов микроциркуляторного русла юкстамедуллярной зоны со множественными очагами диапедезных кровоизлияний, гломерулы были коллабированы. Во II группе на 5-е сутки после завершения эксперимента при гистологическом исследовании установлено, что имеет место как интенсивное развитие воспалительного процесса в мочеточнике и чашечно-лоханочной системе, так и вовлечение в процесс мозгового и коркового слоев почек, характерно системное повреждение микроциркуляторного русла в виде диапедезных кровоизлияний, тромбоза сосудов (рис. 2 B). Кроме того, во всех случаях наблюдения в этой группе выявлена периваскулярная лимфолейкоцитарная инфильтрация в мозговом и корковом слоях почек (рис. 2 C).

В III группе на 3-и сутки просвет мочеточника был свободный, в интерстиции чашечно-лоханочной

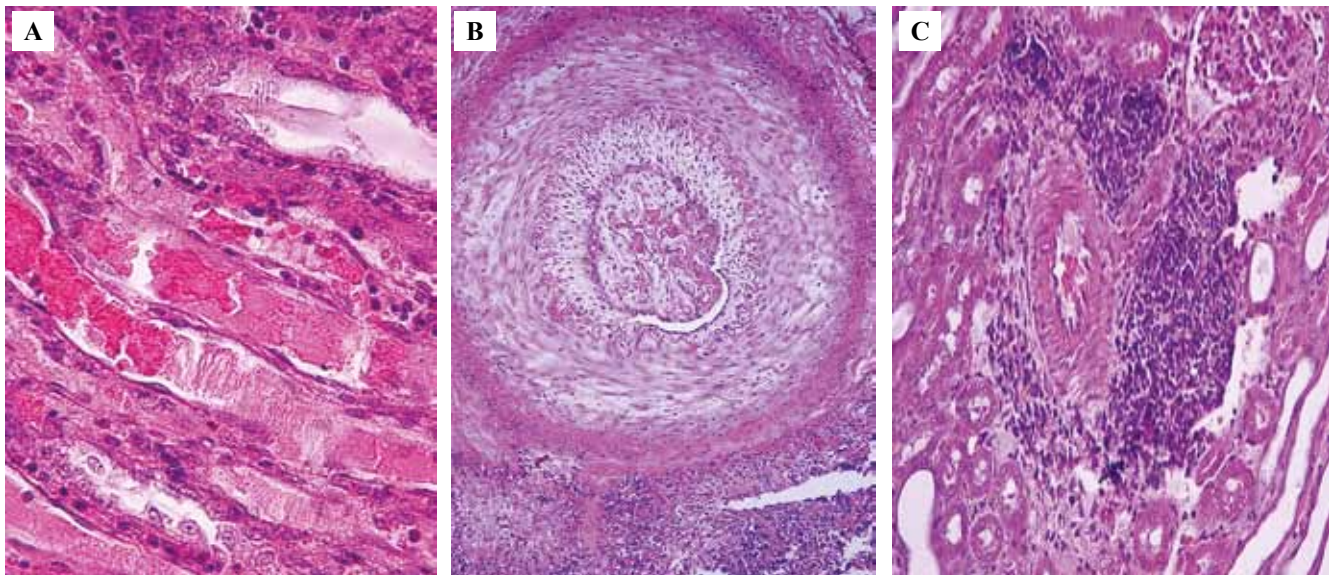


Рис. 2. II группа. А – в интерстиции мозгового слоя юкстамедуллярной зоны рассеянная очаговая лимфолейкоцитарная инфильтрация, в просвете прямых и извитых канальцев лейкоцитарный экссудат, В – организующийся обтурирующий тромб в просвете артерии, С – периваскулярная лимфолейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. А – $\times 200$, В, С – $\times 400$

Fig. 2. Group II. A – scattered focal lymphocyte and leukocyte infiltration in the interstitium of the medullary region, leukocyte exudate in the lumen of the straight and convoluted tubules, B – an organized obstructing thrombus in the lumen of the artery, C – perivascular lymphocyte and leukocyte infiltration. H&E stain A – $\times 200$, B, C – $\times 400$

системы отмечалась единичная лимфоидная инфильтрация (рис. 3 А). В юкстамедуллярной зоне мозгового слоя почек наблюдалось полнокровие сосудов микроциркуляторного русла (рис. 3 В), гистоструктура коркового слоя сохранена, интактна, эпителий почечных канальцев и структура гломерул не изменены. В этой же группе на 5-е сутки ткани мочеточника и почек были без каких-либо глубоких структурных изменений. Микроскопически просвет мочеточника свободный, воспалительная реакция отсутствовала, структура чашечно-лоханочной системы интактна. При гистологическом исследовании почек мозгового и коркового слоев гистоструктура сохранена, фиброз-

ная капсула и околопочечная клетчатка также были без каких-либо признаков воспаления.

В IV группе на 3-и сутки эксперимента в стенке мочеточника и чашечно-лоханочной системе отмечена периваскулярная лимфолейкоцитарная инфильтрация. В этой же группе наблюдались скопление гнойного экссудата в просвете мочеточника и лимфолейкоцитарная инфильтрация стромы подслизистого слоя (рис. 3 D). Следует отметить, что имело место скопление значительного количества гнойного экссудата в прямых канальцах, просвет их был расширен, в некоторых до кистозно измененных. В этой группе обращает на себя внимание выраженная лимфолей-

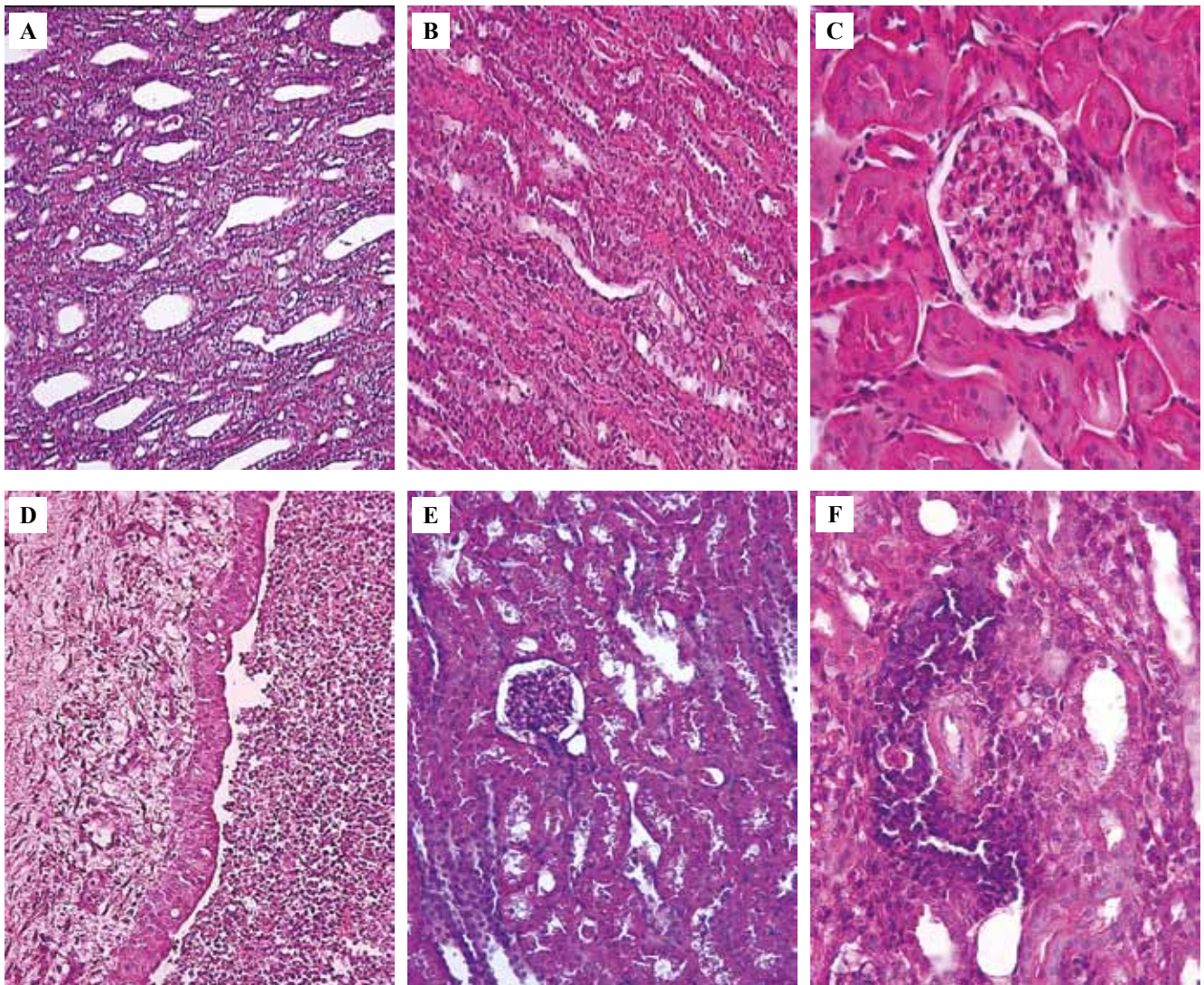


Рис. 3. III группа. А – чашечно-лоханочная зона с единичной лимфоидной инфильтрацией, В – полнокровие микроартерий юкстамедуллярной зоны мозгового слоя, С – корковый слой интактный, гистоструктура сохранена.

IV группа. D – просвет мочеточника заполнен гнойным экссудатом, E – паренхиматозная дистрофия эпителия почечных канальцев, F – в мозговом слое выраженная периваскулярная лимфолейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. А, В, D, E – $\times 200$, C, E – $\times 400$

Fig. 3. Group III. A – pyelocaliceal region with a single lymphoid infiltration, B – hyperemia of microvessels of the juxtamedullary region of the renal capsule, C – the renal cortex is intact, the histological structure is preserved.

Group IV. D – the ureteral lumen is filled with purulent exudate, E – parenchymal dystrophy of the epithelium of the renal tubules, F – pronounced perivascular lymphocyte and leukocyte infiltration in the renal cortex. H&E stain. A, B, D, E – $\times 200$, C, E – $\times 400$

коцитарная инфильтрация с преимущественной локализацией в периваскулярной зоне. Эпителий почечных канальцев находился в состоянии паренхиматозной дистрофии с очагами фокального некроза, в просвете канальцев выявлялись белковые глыбки, капиллярные петли гломерул были коллабированы, формируя лапчатые структуры. При гистологическом исследовании фиброзной капсулы и паранефральной клетчатки отмечены отек стромы и умеренная лимфолейкоцитарная инфильтрация.

В IV группе в одном наблюдении на 5-е сутки при гистологическом исследовании в подслизистых слоях стенки мочеточника и чашечно-лоханочной системы отмечены очаговая и рассеянная лимфолейкоцитарная инфильтрация, отек стромы, полнокровие сосудов, в просвете мочеточника слизь и гнойный экссудат.

Однако изменения в канальцевой системе почек коркового слоя почек не выявлены, эпителий почечных канальцев набухший, в состоянии паренхиматозной дистрофии (рис. 3 E). В остальных наблюдениях на 5-е сутки исследования отмечено, что происходят лимфолейкоцитарная инфильтрация стенки мочеточника и чашечно-лоханочной системы, васкуляризация стромы с периваскулярной инфильтрацией и формирование очагов микроабсцедирования. В мозговом и корковом слоях почек отмечена диффузная лимфолейкоцитарная инфильтрация интерстиция с наличием сливающихся между собой очагов абсцедирования (рис. 3 F), в просвете канальцевой системы определялся гнойный экссудат. В V группе у всех животных при гистологическом исследовании почек и мочеточника патологические изменения не выявлены (рис. 4).

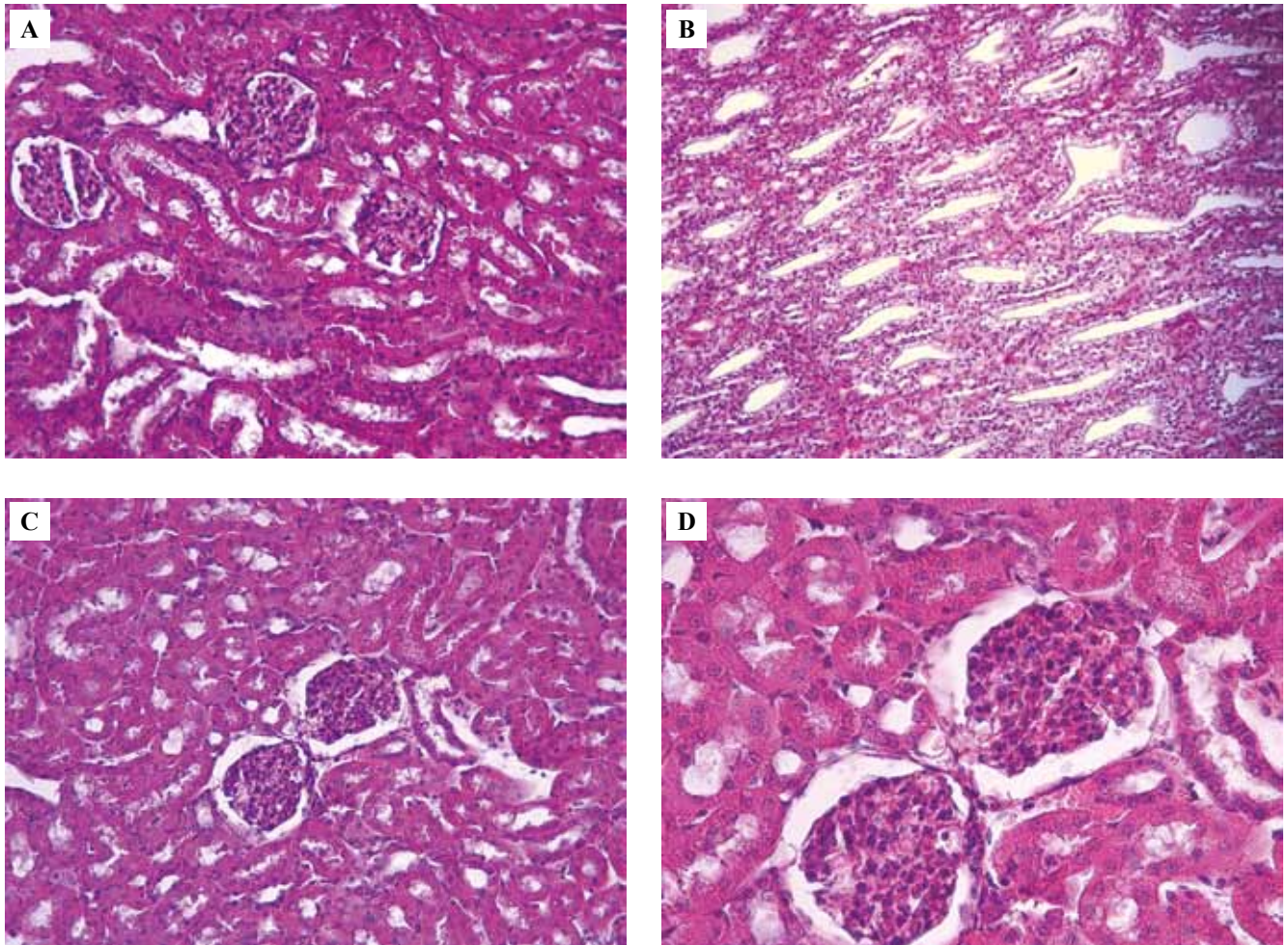


Рис. 4. Почки кролика: V группа (контрольная).

При обзорном исследовании хорошо просматриваются мочевые канальцы, представленные собирательными трубками и сосочковыми канальцами и расположенные в мозговом слое (A, B). Эпителий почечных канальцев высокий, ядра расположены базально, просвет их свободный. В корковом слое отмечается равномерное распределение гломерул почек, полость капсулы Шумлянско-Баумена свободна (C, D). Окраска гематоксилином и эозином. A, B – $\times 200$, C, D – $\times 400$

Fig. 4. Rabbit kidneys: Group V, intact animals.

The urinary tubules are clearly visible, represented by collecting tubes and papillary tubules located in the renal cortex (A, B). The epithelium of the renal tubules is high, the nuclei are located basally, their lumens are free. There is a uniform distribution of kidney glomeruli in the renal cortex, the cavity of the Bowman capsule is free. H&E stain. A, B – $\times 200$, C, D – $\times 400$

Обсуждение

В настоящее время доказаны два механизма в развитии обструктивного пиелонефрита – восходящая инфекция и гематогенный путь инфицирования. В то же время роль транслокации кишечной микрофлоры в развитии обструктивного пиелонефрита изучена недостаточно, доказательством этому служит небольшое число статей в мировой литературе по данной проблеме.

В нашем исследовании проведен сравнительный анализ двух механизмов развития обструктивного пиелонефрита с учетом характера патоморфологических изменений почек и мочеточников. Выявленные гистологические изменения почек и мочеточников в группах эксперимента на модели восходящей инфекции оказались сходными с таковыми, описанными другими исследователями. Так, в работе Ю.А. Аносовой с соавторами охарактеризованы морфологические изменения в ткани почки при модели острого гнойного пиелонефрита на собаках на 3-и, 6-е, 9-е сутки. Модель проведена по другому методу: путем формирования уретерокутанеостомы. По катетеру в лоханку вводили 1 мл взвеси *E. coli*, 10^8 КОЭ/мл. На устье мочеточника накладывали П-образный шов. После удаления катетера П-образный шов затягивали, рану послойно ушивали. Авторы отметили на 3-и сутки выраженные морфологические изменения в ткани почки, а также проявления экссудативных изменений. Выявлены морфологические изменения в корковом слое, эпителий проксимальных канальцев в состоянии гиалиново-капельной дистрофии. В просвете некоторых канальцев обнаружены белковые цилиндры, выраженное полнокровие сосудов, интерстиций с отеком. На 6-и сутки данного опыта морфологические изменения соответствовали фазе пролиферации воспалительного процесса. В корковом слое – гиалиново-капельная дистрофия проксимальных канальцев, полнокровие сосудов, утолщение базальных мембран дистальных канальцев, эпителий дистальных канальцев уплощен. В интерстиции выявлены очаговые инфильтраты из лимфоцитов и плазмочитов. Как и в нашем исследовании, выявлена связь выраженности степени морфологических изменений в почках с длительностью воспалительного процесса [19]. В исследовании Д.Г. Пасечника с коллегами изучалась причастность неклостридиальных анаэробных бактерий к этиологии острого обструктивного пиелонефрита. Животных (кролики) выводили из эксперимента на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 21-е сутки. Если сравнить результаты с нашими, сходным было то, что на 3-и сутки авторы отмечали в стенке лоханки и в еще большей степени в клетчатке почечного синуса очаги гнойного воспаления, септического флебита. Также выявлено, что в последующем гнойное воспаление прогрессировало, захватывая паранефрий и систему собирательных протоков, интерстиций мозгового вещества [20].

Наше исследование подтвердило роль восходящей инфекции в развитии обструктивного пиелонефрита, что не вызывает никаких сомнений. В то же время мы не нашли работ, показывающих влияние транслокации кишечной микрофлоры на патоморфологические изменения при остром пиелонефрите. Наряду с этим существуют исследования роли транслокации кишечной микрофлоры в развитии других заболеваний. Так, на модели обтурационной кишечной непроходимости изучался феномен транслокации GFP-продуцирующих штаммов *E. coli* из кишечника в другие органы. Наибольшая обсемененность наблюдалась в гомогенатах почек и легких, а наименьшая – в гомогенатах брыжейки и селезенки [9].

В результате проведенного нами исследования установлено, что кишечная транслокация играет важную роль в развитии обструктивного пиелонефрита, на 3-и сутки морфологическая картина изменения в тканях почки и мочеточника в группе восходящей инфекции была более выраженной, чем в группе энтероренальной транслокации, тогда как на 5-е сутки выраженные воспалительные изменения ткани почки и мочеточника присутствовали в обеих группах.

Заключение

Причастность транслокации кишечной микрофлоры к патогенезу острого обструктивного пиелонефрита и развитию воспалительных изменений в почках получила морфологическое обоснование. В отличие от восходящей инфекции мочевых путей при энтероренальной транслокации выраженность морфологических изменений наступает позднее.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – М.М. Тусупбекова, Е.М. Тургунов.
Сбор и обработка материала – Е.А. Шарапатов, А.В. Лавриненко.
Написание текста – Е.А. Шарапатов.
Редактирование – Е.А. Пронкин, М.М. Тусупбекова, Е.М. Тургунов.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – М.М. Tusupbekova, Y.M. Turgunov.
Collected the data and performed the analysis – Y.A. Sharapatov, A.V. Lavrinenko.
Wrote the paper – Y.A. Sharapatov.
Edited the manuscript – E.A. Pronkin, M.M. Tusupbekova, Y.M. Turgunov.

Литература/References

1. Hudson C, Mortimore G. The diagnosis and management of a patient with acute pyelonephritis. Br J Nurs. 2020;29(3):144–50. DOI:10.12968/bjon.2020.29.3.144.
2. Yamamichi F, Shigemura K, Kitagawa K, Fujisawa M. Comparison between non-septic and septic cases in stone-related obstructive acute pyelonephritis and risk factors for septic

- shock: A multi-center retrospective study. *J Infect Chemother.* 2018;24(11):902–6. DOI: 10.1016/j.jiac.2018.08.002.
3. Lee EH, Kim SH, Shin JH, Park SB, Chi BH, Hwang JH. Effects on renal outcome of concomitant acute pyelonephritis, acute kidney injury and obstruction duration in obstructive uropathy by urolithiasis: A retrospective cohort study. *BMJ Open.* 2019;9(11):e030438. DOI: 10.1136/bmjopen-2019-030438.
 4. Bethel J. Acute pyelonephritis: Risk factors, diagnosis and treatment. *Nurs Stand.* 2012;27(5):51–6. DOI: 10.7748/ns2012.10.27.5.51.e9334.
 5. Hannan TJ, Mysorekar IU, Hung CS, Isaacson-Schmid ML, Hultgren SJ. Early severe inflammatory responses to uropathogenic *E. coli* predispose to chronic and recurrent urinary tract infection. *PLoS Pathog.* 2010;6(8):e1001042. DOI: 10.1371/journal.ppat.1001042.
 6. Sullivan MJ, Ulett GC. Evaluation of hematogenous spread and ascending infection in the pathogens is of acute pyelonephritis due to group B streptococcus in mice. *Microb Pathog.* 2020;138:103796. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103796.
 7. Owringi B, Masters N, Kuballa, O'Dea C, Vollmerhausen TL, Katouli M. Invasion and translocation of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from urosepsis and patients with community-acquired urinary tract infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(5):833–9. DOI: 10.1007/s10096-017-3176-4.
 8. Krawczyk B, Śledzińska A, Szemiako K, Samet A, Nowicki B, Kur J. Characterisation of *Escherichia coli* isolates from the blood of haematological adult patients with bacteraemia: Translocation from gut to blood requires the cooperation of multiple virulence factors. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34(6):1135–43. DOI:10.1007/s10096-015-2331-z.
 9. Amanova DY, Lavrinenko AV, Kalieva DK, Matyushko DN, Ivachyov PA, Turgunov YM. Comparative evaluation of translocation of GFP producing *Escherichia coli* strains in acute intestinal obstruction. *Bull Exp Biol Med.* 2019;167(5):660–2. DOI: 10.1007/s10517-019-04593-y.
 10. Подопригора Г.И., Кафарская Л.И., Байнов Н.А., Шкопоров А.Н. Бактериальная транслокация из кишечника: микробиологические, иммунологические и патофизиологические аспекты. *Вестник РАМН.* 2015;70(6):640–50. DOI: 10.15690/vramn564.
Podoprigora GI, Kafarskaya LI, Baynov NA, Shkoporov AN. Bacterial translocation from intestine: microbiological, immunological and pathophysiological aspects. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015;70(6):640–650. DOI: 10.15690/vramn564.
 11. Vaishnavi C. Translocation of gut flora and its role in sepsis. *Indian J Med Microbiol.* 2013;31(4):334–42. DOI: 10.4103/0255-0857.118870.
 12. Pasechnik DG, Kogan MI, Mitusova EV, Naboka YuL, Gazayev ZI, Ibishev KhS et al. Do non-clostridial anaerobic bacteria cause of acute pyelonephritis in ureter obstruction? *Medical News of North Caucasus.* 2016;11(2):207–10. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11038.
 13. Н.И. Аверьянова, В.В. Звездаков, Н.А. Зимущкина, П.В. Косарева, И.А. Логинова, Е.И. Самоделкин и др. Способ моделирования острого пиелонефрита. Патент Российской Федерации на изобретение № 2349965. Заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО «Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н. Прянишникова» – № 2007127373/14. Заявлено 17.07.2007; опубликовано 20.03.2009. Бюллетень № 8.
NI Aver'janova, VV Zvezdakov, NA Zimushkina, PV Kosareva, IA Loginova et al. Method of modeling pyelonephritis. Patent No. 2349965 Russian Federation. Applicant and patent holder is FSBEI HE "Perm State Agricultural Academy named after Academician D.N. Pryanishnikov" – No. 2007127373/14. Application 17.07.2007; publ. 20.03.2009, Bul. No. 8.
 14. Sabetkish S, Sabetkish N, Talebi MA, Halimi S, Kajbafzadeh AM. The role of nonautologous and autologous adipose-derived mesenchymal stem cell in acute pyelonephritis. *Cell Tissue Bank.* 2018;19(3):301–9. DOI: 10.1007/s10561-017-9674-x.
 15. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington: National Academies Press, 2011. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>. DOI: 10.17226/12910.
 16. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 18.III.1986. European Treaty Series; No. 123. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>. (Accessed 08.02.2022).
 17. American Veterinary Medical Association. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Available from: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf>. (Accessed 08.02.2022).
 18. Тусупбекова М.М. Клиническая патоморфология: Учебное пособие. Алматы: Эверо, 2012. 184 с.
Tusupbekova MM. Clinical pathomorphology: Textbook. Almaty: Evero, 2012. 184 p. (In Russ.).
 19. Аносова Ю.А., Золотухин О.В., Кузьменко В.В. Морфологические изменения в ткани почки при остром гнойном пиелонефрите на животных. *Вестник новых медицинских технологий.* 2010;17(2):16–18.
Anosova JA, Zolotukhin OV, Kuzmenko VV. Morphological changes in kidney tissues with acute purulent pyelonephritis in experimental animals. *Journal of New Medical Technologies.* 2010;17(2):16–18 (In Russ.).
 20. Пасечник Д.Г., Набока Ю.Л., Митусова Е.В., Ибишев Х.С., Газаяев З.И. Сравнительный анализ течения экспериментального острого обструктивного пиелонефрита, вызванного различными неклостридиально-анаэробными бактериями. *Вестник урологии.* 2013;1:8–20. DOI: 10.21886/2308-6424-2013-0-1-8-20.
Pasechnik DG, Naboka YL, Mitusova EV, Ibishev HS, Gazayev ZI. A comparative analysis of development of the experimental acute pyelonephritis caused by different nonclostridial anaerobes. *Bulletin of Urology.* 2013;1:8–20 (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2013-0-1-8-20.

Информация об авторах

Майда Масхаповна Тусупбекова – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологии Медицинского университета Караганды.

Ержан Акдилдаулы Шарапатов – врач-уролог, докторант третьего года обучения по специальности «медицина» кафедры хирургических болезней Медицинского университета Караганды.

Евгений Артурович Пронкин – кандидат медицинских наук, доцент кафедры урологии Центральной государственной медицинской академии Управления делами Президента Российской Федерации.

Алена Владимировна Лавриненко – магистр медицины, научный сотрудник Научно-исследовательского центра Медицинского университета Караганды.

Ермек Мейрамович Тургунов – доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургических болезней Медицинского университета Караганды.

Author information

Maida M. Tusupbekova – Dr. Sci. (Med.), Professor of the Pathology Department, Karaganda Medical University.
<https://orcid.org/0000-0003-3105-4450>

Yerzhan A. Sharapatov –Urologist, 3rd year Doctoral Student of the Department of Surgical Diseases, Karaganda Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-8124-8582>

Evgeny A. Pronkin – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Urology, Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs of the Russian Federation.
<https://orcid.org/0000-0001-9011-2150>

Alyona V. Lavrinenko – Master of Medicine, Researcher, Research Center of the Karaganda Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-9436-8778>

Yermek M. Turgunov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor of the Surgery Department, Karaganda Medical University.
<https://orcid.org/0000-0002-6486-3847>

Оценка информативности морфологических изменений эритроцитов при гипервитаминозе А и выбор прогностических признаков его возникновения

Т.А. Ломановская, Т.В. Боронихина, А.Н. Яцковский

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. *Введение.* При анализе результатов экспериментальных исследований часто используются морфометрические методы, позволяющие количественно оценить изменения множества параметров изучаемых гистологических объектов. Отбор более ограниченного числа параметров, характеризующихся диагностически значимыми признаками этих изменений, возможен с помощью анализа их информативности. Цели исследования – оценка информативности изменений морфоденситометрических параметров эритроцитов при гипервитаминозе А и выбор признаков, позволяющих прогнозировать его возникновение.

Материалы и методы. В исследовании использованы крысы – самцы линии Вистар, рандомизированные на две группы по девять животных в каждой. Гипервитаминоз А вызывали путем ежедневного введения масляного раствора ретинола пальмитата перорально. В контрольной группе животные получали масляную основу. В мазках крови измеряли морфоденситометрические параметры эритроцитов. Оценивали и сравнивали информативность различий средних значений параметров и информативность различий их частотных характеристик в выборках.

Результаты. При введении ретинола пальмитата морфоденситометрические параметры эритроцитов изменялись. Значения ряда параметров достоверно отличались от показателей в контроле еще до возникновения признаков гипервитаминоза А. Из числа таких параметров выделен перечень информативных и отобраны прогностические критерии передозировки ретинола пальмитата: снижение площади поверхности и увеличение кривизны нисходящей части тора – периферического выпуклого участка – эритроцитов. При оценке информативности различий частотных распределений морфоденситометрических параметров получено более ограниченное число диагностически значимых признаков.

Заключение. В морфометрических исследованиях наряду с оценкой информативности различий усредненных показателей можно использовать оценку информативности различий их частотных характеристик, что позволяет уменьшить количество параметров, измеряемых в аналогичных условиях эксперимента.

Ключевые слова: гипервитаминоз А, эритроциты, морфоденситометрия, оценка информативности
Для корреспонденции: Александр Никодимович Яцковский. E-mail: alnik45@mail.ru

Для цитирования: Ломановская Т.А., Боронихина Т.В., Яцковский А.Н. Оценка информативности морфологических изменений эритроцитов при гипервитаминозе А и выбор прогностических признаков его возникновения. Клини. эксп. морфология. 2022;11(1):73–78. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.73-78.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования и при поддержке АО «Ретиноиды».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 24.01.2022. Получена после рецензирования 10.02.2022. Принята в печать 28.02.2022.

Assessment of the informative value of erythrocyte morphological changes in hypervitaminosis A and choice of prognostic signs of its onset

T.A. Lomanovskaya, T.V. Boronikhina, A.N. Yatskovskiy

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract. *Introduction.* Morphometric methods allowing quantitative estimation of changes in a variety of parameters of studied histological objects are often used to evaluate the results of experimental research. The selection of a more limited number of parameters characterized by diagnostically significant evidence of these changes is based on their informative value. The aims of the study were to evaluate the informative

value of changes in morpho-densitometric parameters of erythrocytes under hypervitaminosis A and select signs to predict its clinical occurrence.

Materials and methods. We used male Wistar rats randomized into two groups of 9 animals each. Hypervitaminosis A was induced by oral daily administration of an oily solution of retinol palmitate. The animals of the control group received an oil base. The morphodensitometric parameters of erythrocytes were measured in blood smears. We compared and evaluated the informativeness of differences in both mean values and t frequency distributions of the parameters in the samples.

Results. Erythrocyte morphodensitometric parameters altered with retinol palmitate administration. The values of a number of measured parameters differed significantly from those in the control even before the onset of signs of hypervitaminosis A. We identified a list of informative parameters and selected prognostic criteria for retinol palmitate overdose, namely reduced erythrocyte surface area and increased curvature of the descending torus. A more limited number of diagnostically significant signs were obtained when assessing the informative value of differences in the frequency distributions of morphodensitometric parameters.

Conclusion. In morphometric studies, in addition to estimating the informativeness of differences in averaged values, that of differences in their frequency distribution can be used, thus limiting the number of parameters measured under similar experimental conditions.

Keywords: hypervitaminosis A, erythrocytes, morphodensitometry, assessment of informativeness

Corresponding author: Alexander N. Yatskovskiy. E-mail: alnik45@mail.ru

For citation: Lomanovskaya T.A., Boronikhina T.V., Yatskovskiy A.N. Assessment of the informative value of erythrocyte morphological changes in hypervitaminosis A and choice of prognostic signs of its onset. Clin. exp. morphology. 2022;11(1):73–78 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.73-78.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding and supported by JSC “Retinoids”.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24.01.2022. **Received in revised form** 10.02.2022. **Accepted** 28.02.2022.

Введение

Использование в научных исследованиях морфометрических методов предполагает оценку значимости различий между количественными характеристиками изучаемых объектов, что позволяет объективизировать выводы об их структурных перестройках. Нередко число измеряемых морфометрических (МДМ) и денситометрических параметров достаточно велико [1–3], а их изменения при различных состояниях организма зачастую однотипны и неспецифичны [4]. В таких случаях возникает необходимость выбрать из множества параметров, имеющих статистически значимые расхождения в сравниваемых группах, ограниченное число наиболее значимых и информативных признаков этих различий. Помимо надежной диагностической оценки это дает возможность в последующем уменьшить объем измерений в аналогичных экспериментальных и клинических исследованиях.

Как критерий информативности признаков используется информационная мера Кульбака, свидетельствующая не о статистической значимости различий между распределениями, а о степени этих различий [5]. Обоснование и примеры использования критерия Кульбака для оценки информативности различий усредненных абсолютных показателей и диагностической информативности признаков, измеряемых относительными величинами, изложены в публикациях Л.В. Кактурского и соавт. [4, 6]. Информативность различий частотных характеристик признака оценивается чаще в клинических исследованиях. При экспериментальных исследованиях с использованием морфометрических методов,

как правило, оценивается информативность различных средних величин. Целями работы являлись оценка информативности изменений МДМ параметров эритроцитов при гипervитаминозе А и выбор признаков, позволяющих прогнозировать его развитие.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 18 крысах – самцах линии Вистар массой тела 120,9±2,6 грамма, полученных из филиала «Столбовая» НЦБМТ ФМБА России. Работу с животными выполняли в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и на основании заключения локального этического комитета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (протокол № 02-20 от 05.02.2020). Животных рандомизировали на две группы по девять крыс в каждой. Для моделирования гипervитаминоза А использовали масляный раствор ретинола пальмитата (РП). Препарат в дозе 150 000 МЕ, содержащихся в 0,3 мл раствора, вводили крысам экспериментальной группы с помощью мягкого зонда *per os* в течение 6 дней. Учитывая воздействие на эритроциты масляной основы раствора РП [7], в контрольную группу включили крыс, получавших ее в том же объеме. Оба препарата предоставлены АО «Ретиноиды». До начала использования препаратов и в последующие дни перед их очередным введением приготавливали мазки крови, в которых измеряли МДМ параметры эритроцитов (дискоцитов). Приготовление мазков крови и процедуру измерения МДМ параметров проводили по ранее описанным методам [7]. Перечень параметров приведен в таблице 1.

Таблица 1 | Table 1

**Названия и символы измеренных морфоденситометрических параметров эритроцитов |
Names and symbols of measured erythrocyte morphodensitometric parameters**

Название параметра Parameter definition*	Символ Symbol
Площадь проекции на плоскость Area of projection onto a plane	Area
Средняя оптическая плотность Average optical density	Od
Интегральная оптическая плотность Integrated optical density	Iod
Градиент оптической плотности восходящей части тора Optical density gradient of the ascending torus [#]	Grad1
Кривизна восходящей части тора Curvature of the ascending torus	Cur1
Градиент оптической плотности нисходящей части тора Optical density gradient of the descending torus	Grad2
Кривизна нисходящей части тора Curvature of the descending torus	Cur2
Градиент оптической плотности пэллаора Pallor optical density gradient [†]	Grad3
Кривизна пэллаора Pallor curvature	Cur3
Показатель контрастности Contrast index	Dy
Показатель формы (асимметрии) Form factor (asymmetry)	Dx
Длина профиля Profile length	L_er
Площадь поверхности Surface area	Surface
Объем Volume	Volume

* – единицы измерения: значения Area – в мкм², остальных параметров – в условных единицах

тор – периферический выпуклый участок эритроцита

† пэллаор – центральный вогнутый участок эритроцита

* – measurement units: Area values – in μm², other parameters – in conventional units

torus – peripheral convexity of an erythrocyte

† pallor – central concave portion of an erythrocyte

Проверяли характер распределения переменных (тест Колмогорова–Смирнова) и равенство дисперсий (тест Левена) в выборках. Центральные тенденции и распределение количественных признаков описывали средним арифметическим (\bar{X}_0), средним квадратическим отклонением (σ) и стандартной ошибкой среднего (SD). Статистическую значимость различий в выборках оценивали по критерию Манна–Уитни. Доверительная вероятность различий была принята на уровне $p \leq 0,05$.

Для оценки информативности признака использовали меру Кульбака. Признаком считали статистически значимое увеличение или уменьшение среднего значения МДМ параметра эритроцитов у крыс, получавших РП, в сравнении с животными контрольной группы.

Информативность разницы между средними значениями параметров рассчитывали по формуле:

$$I = 1,0857 \times [(\sigma_1/\sigma_2)^2 + (\sigma_2/\sigma_1)^2 - 2 + (1/\sigma_1^2 + 1/\sigma_2^2) \times (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2] \quad (1),$$

где I – информативность (в битах), σ_1 и σ_2 – средние квадратические отклонения, \bar{X}_1 и \bar{X}_2 – средние арифметические в выборках.

Для определения информативности различий частотных характеристик параметров использовали формулу Кульбака, видоизмененную Гублером [5]:

$$I = 10 \log P_1 / P_2 \times 0,5(P_1 - P_2) \quad (2),$$

где P_1 – относительная частота признака в экспериментальной группе, P_2 – относительная частота признака в контрольной группе.

Частотной характеристикой признака служила доля эритроцитов со значениями МДМ параметра, распределенными выше или ниже доверительных интервалов (tm) среднего арифметического, рассчитанного до начала эксперимента для выборки, включавшей всех использованных в работе животных. Если значение МДМ параметра в экспериментальной группе снижалось в сравнении с контролем, в обеих группах учитывали долю эритроцитов с распределением ниже $\bar{X}_0 - tm$. При увеличении значения МДМ параметра находили долю дискоцитов с распределением выше $\bar{X}_0 + tm$. При расчете I попарно сравнивали доли дискоцитов с изменившимися значениями МДМ параметров. Информативным считали признак с величиной $I \geq 0,5$.

Результаты и обсуждение

У животных, получавших РП, на 5-й и 6-й день введения препарата наряду со сниженной двигательной активностью и учащенным дыханием масса тела уменьшилась и составила, соответственно, 87% и 80% от уровня в контрольной группе. Это является одним из первых неспецифических признаков развивающегося гипервитаминоза А [8, 9]. Следовательно, использованная доза РП была достаточной для моделирования у крыс данного состояния за относительно короткий период времени.

Анализ МДМ параметров эритроцитов позволил оценить динамику их изменений, возникающих на фоне введения РП. К концу опыта средние значения большинства измеренных МДМ параметров эритроцитов существенно отличались от показателей в контроле ($p=0,001-0,002$). Значения восьми из 14 анализируемых параметров (Grad1, Grad2, Grad3, Cur2, Dy, L_er, Surface, Volume) статистически значимо изменились в сравнении с контролем уже на 3–4-й день эксперимента, то есть до возникновения начальных симптомов передозировки РП. Это подтверждает данные о воздействии ретинола на клетки на доклинической стадии гипервитаминоза А [10].

Использование информационного анализа позволило отобрать признаки, являющиеся в условиях нашего эксперимента диагностически значимыми для прогноза развития моделируемого состояния (табл. 2).

Информативность различий средних значений перечисленных выше восьми параметров, за исключением Grad2, рассчитанная на 4-й день опыта (до появления

признаков передозировки РП), превышала допустимый уровень $I \geq 0,5$. Следовательно, изменения этих МДМ параметров на доклинической стадии гипервитаминоза А могут быть прогностическими.

Вместе с тем при оценке информативности различных частотных характеристик тех же МДМ параметров более высокие, чем в первом случае, коэффициенты Кульбака имело лишь ограниченное число признаков: снижение Surface, увеличение Cur2 и снижение Dy. Информативность остальных признаков оказалась ниже допустимого уровня. При диагностической оценке различий усредненных значений МДМ параметров третьим по величине I оказался признак «снижение Volume», который при оценке информативности различий относительных величин параметров не имел диагностической значимости. Признак «снижение Dy» с высоким коэффициентом информативности, оцененной по различиям частотных характеристик, имел наименьший коэффициент, рассчитанный по формуле для абсолютных показателей.

Таким образом, оба варианта информационного анализа позволили выделить одинаковые наиболее информативные прогностические критерии передозировки РП, а именно – снижение Surface и увеличение Cur2 эритроцитов. Следовательно, при проведении морфометрических исследований оценка информативности различия показателей, выраженных в усредненной форме, равно как и информативности различия показателей, выраженных в относительных величинах, позволяет выбрать из массива данных наиболее диагностически значимые признаки структурных изменений.

Таблица 2 | Table 2

Прогностические признаки, средние значения \bar{X} (SD) морфоденситометрических параметров эритроцитов в контрольной (К) и экспериментальной (Э) группах, значимость и информативность различий на 4-й день введения ретинола пальмитата |

Prognostic signs, mean values \bar{X} (SD) of erythrocyte morphodensitometric parameters in control (C) and experimental (E) groups, significance and informativeness of differences on day 4 of retinol palmitate administration

Признак Sign	К C \bar{X} (SD)	Э E \bar{X} (SD)	p = *	I (1) [#]	I (2) [#]
Снижение Surface Surface decrease	3112,1±52,2	2788,8±46,7	0,02	1,01	4,61
Увеличение Cur2 Cur2 increase	-106,4±2,2	-122,0±2,9	0,001	0,98	4,14
Снижение Volume Volume decrease	1495,5±26,9	1312,5±22,4	0,01	0,92	0,32
Снижение L_er L_er decrease	125,9±1,6	114,4±1,6	0,01	0,89	0,04
Снижение Grad3 Grad3 decrease	-24,3±0,5	-20,3±0,6	0,001	0,77	0,00
Снижение Dy Dy decrease	0,156±0,006	0,119±0,006	0,001	0,71	4,13
Увеличение Grad1 Grad1 increase	45,3±0,9	53,6±1,1	0,02	0,63	0,32
Снижение Grad2 Grad2 decrease	-36,5±0,7	-30,8±0,6	0,001	0,00	0,00

* – значимость различий между группами, критерий Манна–Уитни

– коэффициенты информативности, рассчитанные по формулам (1) и (2)

* – significance of differences between groups, Mann–Whitney U-test

– coefficients of informativeness computed by formulas (1) and (2)

Тем не менее при оценке информативности различных частотных характеристик МДМ параметров число диагностически значимых признаков оказалось более ограниченным, поэтому данный способ информационного анализа представляется более надежным и предпочтительным и позволяет при необходимости сократить количество параметров, измеряемых в повторяющихся условиях эксперимента.

Заключение

На фоне развивающегося гипervитаминоза А, вызванного у крыс введением ретинола пальмитата, морфоденситометрические параметры эритроцитов изменяются. Наиболее информативными признаками передозировки ретинола пальмитата являются изменения, возникающие до появления симптомов гипervитаминоза А, – снижение площади поверхности и увеличение кривизны нисходящей части тора эритроцитов. В морфометрических исследованиях наряду с оценкой информативности различий усредненных показателей можно использовать оценку информативности различий их частотных характеристик.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.Н. Яцковский, Т.В. Боронихина.

Сбор и обработка материала – Т.А. Ломановская.

Написание текста – Т.А. Ломановская, А.Н. Яцковский.

Редактирование – Т.В. Боронихина, А.Н. Яцковский.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.N. Yatskovskiy, T.V. Boronikhina.

Collected the data and performed the analysis – T.A. Lomanovskaya.

Wrote the paper – T.A. Lomanovskaya, A.N. Yatskovskiy.

Edited the manuscript – T.V. Boronikhina, A.N. Yatskovskiy.

Литература/References

1. Цибулевский А.Ю., Дубовая Т.К., Соколинский Б.З. Сравнительное исследование реакции эритроцитов крови молодых и старых крыс на интоксикацию четыреххлористым углеродом при ваготомии. Успехи современного естествознания. 2015;(3):151–155.
Tsibulevskiy AY, Dubovaya TK, Sokolinskiy BZ. A comparative investigation of the response of blood erythrocytes of young and old vagotomized rats to tetrachloromethane intoxication. Advances in Current Natural Sciences. 2015;(3):151–155 (In Russ.).
2. Щербakov И.Т., Леонтьева Н.И., Грачева Н.М., Соловьева А.И., Виноградов Н.А., Бабаева Р.Э. Морфология и морфометрические показатели слизистой оболочки различных отделов кишечника пациентов с постхолецистэктомическим синдромом. Морфологические ведомости. 2020;28(3):58–64. DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(3):58-64.
Shcherbakov IT, Leontieva NI, Grachiova NM, Soloviova AI, Vinogradov NA, Babaeva RE. Morphology and morphometric
3. indicators of the mucous membrane of various parts of the intestine of patients with postcholecystectomy syndrome. *Morphological newsletter. 2020;28(3):58–64 (In Russ.). DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(3):58-64.*
3. Гундарова О.П., Федоров В.П., Кварацхелия А.Г., Маслов Н.В. Сравнительная характеристика изменений нейронов головного мозга при однократном и пролонгированном радиационном воздействии. Журнал анатомии и гистопатологии. 2021;10(3):35–46. DOI: 10.18499/2225-7357-2021-10-3-35-46.
Gundarova OP, Fedorov VP, Kvaratskheliya AG, Maslov NV. Comparative characteristics of cerebral neuronal patterns after single and prolonged radiation exposure. Journal of Anatomy and Histopathology. 2021;10(3):35–46 (In Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2021-10-3-35-46.
4. Копьева Т.Н., Кактурский Л.В. Определение диагностической информативности неспецифических морфологических признаков. Архив патологии. 1976;38(12):60–63.
Kop'eva TN, Kakturskiy LV. Determination of the diagnostic informativeness of non-specific morphological signs. Arkhiv Patologii = Archive of Pathology. 1976;38(12):60–63 (In Russ.).
5. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Ленинград: Медицина, 1973. 144 с.
Gubler EV, Genkin AA. Application of non-parametric statistical criteria in biomedical research. Leningrad: Medicina, 1973. 144 p. (In Russ.).
6. Кактурский Л.В., Свищев А.В. Определение информативности различия средних показателей в морфометрических исследованиях. Архив патологии. 1982;44(7):78–79.
Kakturskiy LV, Svishchev AV. Determination of the informativeness of differences in mean values in morphometric studies. Arkhiv Patologii = Archive of Pathology. 1982;44(7):78–79 (In Russ.).
7. Ломановская Т.А., Боронихина Т.В., Пьявченко Г.А., Яцковский А.Н. Влияние масляной основы ретинола пальмитата на морфологию эритроцитов. Морфологические ведомости. 2021;29(3):48–54. DOI: 10.20340/mv-mn.2021.29(3).610.
Lomanovskaya TA, Boronikhina TV, Pyavchenko GA, Yatskovskiy AN. The effect of the oil base of retinol palmitate solution on red blood cells morphology. Morphological newsletter. 2021;29(3):48–54 (In Russ.). DOI: 10.20340/mv-mn.2021.29(3).610.
8. Raoofi A, Asadi A, Mardjanmehr SH, Kazempoor R. The effects of hypervitaminosis A in sheep following intramuscular administrations of vitamin A. *Food Chem Toxicol. 2010;48(1):193–5. DOI:10.1016/j.fct.2009.09.038.*
9. Lionikaite V, Gustafsson KL, Westerlund A, Windahl SH, Koskela A, Tuukkanen J et al. Clinically relevant doses of vitamin A decrease cortical bone mass in mice. *J Endocrinol. 2018;239(3):389–402. DOI: 10.1530/JOE-18-0316.*
10. Lind PM, Johansson S, Rönn M, Melhus H. Subclinical hypervitaminosis A in rat: Measurements of bone mineral density (BMD) do not reveal adverse skeletal changes. *Chem Biol Interact. 2006;159(1):73–80. DOI: 10.1016/j.cbi.2005.10.104.*

Информация об авторах

Татьяна Александровна Ломановская – старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова.

Татьяна Владимировна Боронихина – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова.

Александр Никодимович Яцковский – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова.

Author information

Tatiana A. Lomanovskaya – Senior Lecturer, Histology, Cytology and Embryology Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0001-7604-9415>

Tatiana V. Boronikhina – Dr. Sci. (Med.), Professor, Histology, Cytology and Embryology Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0001-9532-7898>

Alexander N. Yatskovskiy – Dr. Sci. (Med.), Professor, Histology, Cytology and Embryology Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0003-4387-7307>

I научно-практическая конференция Межрегионального танаторадиологического общества «Перспективы междисциплинарного взаимодействия для развития патологической анатомии и судебной медицины», посвященная памяти Н.М. Крупнова

I scientific and practical conference of the Interregional thanatoradiological society
“Prospects for interdisciplinary interaction in the development of pathological anatomy
and forensic medicine” dedicated to the memory of N.M. Krupnov

1 октября 2021 года в Рязани в очном формате прошла I научно-практическая конференция Межрегионального танаторадиологического общества (МТО) под тематическим названием «Перспективы междисциплинарного взаимодействия для развития патологической анатомии и судебной медицины», посвященная вопросам истории развития, преимуществам и проблемам совместной работы патологоанатомической и судебно-медицинской служб, возможностям и преимуществам посмертных лучевых исследований, перспективам развития и внедрению новых технологий в работу патологоанатомических отделений и бюро судебно-медицинской экспертизы, созданию МТО, а также памяти нашего коллеги, профессионала высокого класса, достойнейшего гражданина, светлого человека и одного из основателей нашего Общества – Николая Михайловича Крупнова. В работе конференции приняли участие более 70 специалистов преимущественно из Москвы, городов Центрального федерального округа, а также коллеги из Киргизской Республики. Конференция была направлена на организацию продуктивного взаимодействия специалистов патологической анатомии, судебно-медицинской экспертизы и лучевой диагностики. В мероприятии приняли участие ведущие



специалисты, в том числе член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский, профессора О.В. Зайратьянц, А.В. Ковалев, В.А. Клевно, Ф.Г. Забозлаев, Е.М. Кильдюшов. Лучевую диагностику на

конференции представили вице-президент МТО врач-рентгенолог, ведущий научный сотрудник патологоанатомического отделения Научного центра рентгенологии кандидат медицинских наук У.Н. Туманова и врач-рентгенолог МОНИКИ имени М.Ф. Владимирского кандидат медицинских наук С.Э. Дуброва. Была признана целесообразность и оценены перспективы посмертной лучевой диагностики в работе судебно-медицинской экспертизы и патологической анатомии. Представлены доклады о возможностях и особенностях технического оснащения и практической реализации посмертной лучевой диагностики с учетом профиля медицинских организаций. Определено место посмертной лучевой диагностики не как самостоятельной дисциплины, а как высокоэффективного диагностического метода, входящего в структуру патологоанатомического или судебно-медицинского исследования, где решающее слово и формирование окончательного диагноза остаются за патологоанатомом или судебно-медицинским экспертом. Отмечена необходимость разработки нормативной базы по порядку проведения посмертных лучевых исследований.

В ряде докладов коллег и друзей Николая Михайловича Крупнова были освещены основные этапы жизненного и творческого пути этой яркой, светлой личности.



*А.И. Щеголев,
президент Межрегионального
танаторадиологического общества,
доктор медицинских наук, профессор
Д.Н. Услонцев,
организационный секретарь
Межрегионального танаторадиологического
общества*



КОНСУЛЬТАТИВНО- ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР



НАУЧНО- ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ РАБОТЫ

КОНСУЛЬТАТИВНЫЕ УСЛУГИ НАУЧНЫМ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИМ ОРГАНИЗАЦИЯМ

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Патоморфологические исследования биопсийного и операционного материала
- Патоморфологическое исследование материала ветеринарных клиник и экспериментального материала
- Иммуногистохимические исследования
- Иммуноферментный анализ гормонов тиреоидной и репродуктивной панели, онкомаркеров, цитокинов, факторов роста, иммуноглобулинов
- Биохимические исследования ферментов и метаболитов
- Проточная цитофлуориметрия субпопуляций лимфоцитов и маркеров активации
- Фотодокументирование результатов исследования
- Оценка эффективности лекарственных средств на экспериментальных моделях заболеваний человека

НАШИ ПРИОРИТЕТЫ:

- ВЫСОКОЕ КАЧЕСТВО морфологических ИССЛЕДОВАНИЙ
- ПРОФЕССИОНАЛИЗМ сотрудников и СООТВЕТСТВИЕ оборудования и методов научных исследований МЕЖДУНАРОДНЫМ СТАНДАРТАМ

Контакты:

Адрес: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3

Телефон: (499)120-94-79

Телефон/факс: (499)120-80-65

E-mail: morfolhum@mail.ru

www.morfolhum.ru

Лицензия Федеральной службы надзора
в сфере здравоохранения и социального развития
№ ФС-99-01-007950 от 10 апреля 2012

