

КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Том 11 | № 3 | 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 «РНЦХ

им. акад. Б.В. Петровского»

119435, г. Москва,

Абрикосовский пер., д. 2

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: cem.journal@mail.ru

www.cem-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 № ФС77-83521
от 24 июня 2022 года.

© НИИ морфологии человека
им. акад. А.П. Авцына
ФГБНУ РНЦХ
им. акад. Б.В. Петровского

Главный редактор

Михалева Л.М., член-корреспондент РАН, доктор мед. наук, профессор

Почетный редактор

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

Заместители главного редактора

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

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

Ответственные секретари

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

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

Низяева Н.В., доктор мед. наук, 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

Кориунов 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., академик 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

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

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

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

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

Новоцадов 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

Volume **11** | No **3** | 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 “Petrovsky National
Research Centre of Surgery”
Abrikosovskiy lane, 2,
Moscow, 119435, 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 № ФС77-83521
dated June 24, 2022

© Avtsyn Research Institute
of Human Morphology of FSBSI
“Petrovsky National Research
Centre of Surgery”

Editor-in-chief

Mikhaleva, Lyudmila M., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,
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 secretaries

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

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

Nizyaeva, Natalia V., Dr. Sci. Med., 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

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., Academician
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

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

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

Editorial review board

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

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

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.

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ REVIEWS

- | | | |
|---|---|--|
| <i>А.К. Конюкова, С.Г. Шаповальяни,
А.И. Михалев, К.В. Болихов, А.В. Шулаев,
Н.А. Гутьрчик, Л.М. Михалева</i>
Морфологические и генетические предикторы
осложненного течения дивертикулеза
толстой кишки | 5 | <i>A.K. Konyukova, S.G. Shapovaliants,
A.I. Mikhalev, K.V. Bolikhov, A.V. Shulaev,
N.A. Gutyrchik, L.M. Mikhaleva</i>
Morphological and genetic predictors of the
complicated course of colon diverticulosis |
|---|---|--|

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ORIGINAL RESEARCH

- | | | |
|--|----|--|
| <i>Т.А. Гаркуша, Е.А. Быханова, В.А. Хоржевский,
С.В. Гаппоев, М.А. Фирсов, С.В. Излиев</i>
Частота встречаемости гломерулопатий
при новообразованиях почек в Красноярске | 15 | <i>T.A. Garkusha, E.A. Bykhanova, V.A. Khorzhevskii,
S.V. Gappoev, M.A. Firsov, S.V. Ivliev</i>
The incidence of glomerulopathies in kidney
neoplasms in Krasnoyarsk |
| <i>Е.М. Сперанская, Е.В. Москвичев, О.Ю. Кострова,
Е.М. Лузикова, Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко</i>
Межклеточные контакты, пролиферация
и апоптоз эпителия десны у пациентов
с пародонтитом после лазерной терапии | 22 | <i>E.M. Speranskaya, E.V. Moskvichev, O.Yu. Kostrova,
E.M. Luzikova, L.M. Merkulova, G.Yu. Struchko</i>
Intercellular junctions, proliferation, and apoptosis
of the gingival epithelium in patients with periodontitis
after laser therapy |
| <i>О.В. Воронова, А.П. Милованов, Л.М. Михалева</i>
Интеграционный подход в исследовании сосудов
плаценты при преэклампсии | 30 | <i>O.V. Voronova, A.P. Milovanov, L.M. Mikhaleva</i>
Integration approach to study placental vessels
in preeclampsia |
| <i>Е.Н. Борхунова, С.В. Позябин,
С.В. Сароян, А.И. Довгий</i>
Особенности репаративной регенерации
роговицы в условиях применения секретома
стволовых клеток | 45 | <i>E.N. Borkhunova, S.V. Pozyabin,
S.V. Saroyan, A.I. Dovgii</i>
Peculiarities of reparative corneal regeneration
applying stem cell secretome |

*A.D. Koniaeva, E.Y. Varakuta, A.E. Leiman,
E.N. Bolbasov, K.S. Stankevich*
Restoration of the microvasculature and
hemodynamics in the oral mucosa wound defects area
with and without a piezoelectric polymer membrane

56

*А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, А.Е. Лейман,
Е.Н. Больбасов, К.С. Станкевич*
Восстановление микроциркуляторного
русла и гемодинамики в области раневых
дефектов слизистой оболочки полости
рта при использовании полимерной
пьезоэлектрической мембраны и без нее

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ CASE STUDIES

Е.И. Иванова, С.Е. Соловьёва, О.В. Должанский
Сочетание светлоклеточного почечно-
клеточного рака и высокодифференцированной
нейроэндокринной опухоли почки

67

E.I. Ivanova, S.E. Solovyeva, O.V. Dolzhanskiy
Combination of clear cell renal cell carcinoma
with well-differentiated neuroendocrine tumor
of the kidney

*В.А. Смольяникова, А.Э. Карамова,
А.А. Воронцова, Л.Ф. Знаменская,
М.А. Неведова, К.М. Аулова*
Трудности дифференциальной диагностики
грибовидного микоза и псориаза:
клинико-морфологические сопоставления

73

*V.A. Smolyannikova, A.E. Karamova,
A.A. Vorontsova, L.F. Znamenskaya,
M.A. Nefedova, K.M. Aulova*
Problems in differential diagnosis of mycosis
fungoides and psoriasis: comparison of clinical and
morphological features

© Коллектив авторов, 2022

DOI: 10.31088/SEM2022.11.3.5-14

УДК: 616.34-007.64

Морфологические и генетические предикторы осложненного течения дивертикулеза толстой кишки

*А.К. Конюкова^{1,3}, С.Г. Шаповальянц^{2,3}, А.И. Михалев^{2,3}, К.В. Болихов²,
А.В. Шулаев³, Н.А. Гутьрчик^{1,4}, Л.М. Михалева^{1,3,5}*

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

² ФГАУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

³ ГБУЗ Городская клиническая больница № 31 Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

⁴ ФГАУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

⁵ ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Представленный обзор литературы посвящен дивертикулярной болезни толстой кишки, которая в настоящий момент является актуальной проблемой для здравоохранения многих стран ввиду своей распространенности и многообразия вариантов клинической картины заболевания. Дивертикулез толстой кишки имеет разные варианты течения: неосложненное и осложненное, а также разную степень тяжести состояния пациентов с данной патологией. К осложнениям относятся воспаление дивертикула (дивертикулит), абсцедирование, макро- и микроперфорация, кровотечение. Сегодня многие ученые рассматривают вопрос патогенеза и вариантов течения осложненного дивертикулеза толстой кишки с разных сторон, уделяя особое внимание местному иммунитету и микробиоте толстой кишки, патоморфологическим изменениям в стенке пораженной толстой кишки, а также генетическим полиморфизмам в геноме пациентов с осложненным течением дивертикулеза толстой кишки. В данной обзорной статье обозначены факторы риска заболевания, современное видение механизмов патогенеза, а также патоморфологические и генетические маркеры-предикторы осложненного течения дивертикулеза.

Ключевые слова: дивертикулез, дивертикулярная болезнь, осложнения заболевания, морфологические и генетические предикторы

Для корреспонденции: Александра Константиновна Конюкова. E-mail: have.to.study@yandex.ru

Для цитирования: Конюкова А.К., Шаповальянц С.Г., Михалев А.И., Болихов К.В., Шулаев А.В., Гутьрчик Н.А., Михалева Л.М. Осложненное течение дивертикулеза толстой кишки, морфологические и генетические предикторы. Клини. эксп. морфология. 2022;11(3):5–14. DOI: 10.31088/SEM2022.11.3.5-14.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Московского областного научно-исследовательского клинического института имени М.Ф. Владимирского (НИР № 70) и государственного задания Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (№ 122032100086-3).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 15.03.2022. Получена после рецензирования 06.04.2022. Принята в печать 25.04.2022.

Morphological and genetic predictors of the complicated course of colon diverticulosis

*A.K. Konyukova¹, S.G. Shapovaliants^{2,3}, A.I. Mikhalev^{2,3}, K.V. Bolikhov²,
A.V. Shulaev³, N.A. Gutyrchik^{1,4}, L.M. Mikhaleva^{1,3,5}*

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

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ City Clinical Hospital No. 31 of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

⁴ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

⁵ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract. This literature review discusses diverticulosis, which is currently a crucial issue for modern healthcare worldwide due to its prevalence and variety of clinical courses. Diverticulosis of the colon can be uncomplicated and complicated and vary in its severity in different patients. Complications include

inflammation of the diverticulum (i.e., diverticulitis), abscess formation, macro- and microperforation, and bleeding. Today, many researchers argue over pathogenesis and clinical course of complicated diverticulosis of the colon, a particular focus being on local immunity and colon microbiota, pathomorphological changes in the wall of the affected colon, as well as genetic alterations in patients with complicated diverticulosis. We describe risk factors and give modern overview of pathogenic mechanisms and pathological and predictive genetic markers of complicated diverticulosis.

Keywords: diverticulosis, diverticular disease, complications, morphological and genetic predictors

Corresponding author: Alexandra K. Konyukova. E-mail: have.to.study@yandex.ru

For citation: Konyukova A.K., Shapovaliants S.G., Mikhalev A.I., Bolikhov K.V., Shulaev A.V., Gutyrchik N.A., Mikhaleva L.M. Morphological and genetic predictors of the complicated course of colon diverticulosis. *Clin. exp. morphology.* 2022;11(3):5–14 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.5-14.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research Clinical Institute (Research project No. 70) and State Assignment to Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery” (No. №122032100086-3).

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

Received 15.03.2022. **Received in revised form** 06.04.2022. **Accepted** 25.04.2022.

Введение

Дивертикулез толстой кишки характеризуется формированием одиночных или множественных мешковидных выпячиваний стенки кишки на всем ее протяжении или в определенном сегменте. Проявлением дивертикулеза, как известно, являются псевдодивертикулы, то есть выпячивания только слизистого и подслизистого слоев в компрометированных участках стенки кишки, в то время как при истинных дивертикулах образуются выпячивания всех слоев стенки полого органа, включая мышечную [1, 2]. Как правило, поражается толстая кишка ввиду ее анатомических особенностей, а именно отсутствия полноценного наружного продольного мышечного слоя (имеется только полноценный внутренний циркулярный мышечный слой, а наружный слой мышечных волокон представлен в виде трех лент, называемых *teniae coli*). На уровне прямой кишки мышечные волокна формируют уже полноценный наружный мышечный слой, который препятствует образованию дивертикулов. Сосуды толстой кишки, кровоснабжающие слизистую и подслизистую оболочку стенки кишки, берут начало в брыжейке, затем разделяются и проникают сквозь циркулярный мышечный слой стенки кишки. Именно эти условия формируют слабое место в плане сопротивления внутрикишечному давлению в данной области и создают условия для формирования выпячиваний слизистого и подслизистого слоев стенки кишки через циркулярный мышечный слой [2–4]. Дивертикулез толстой кишки является одним из наиболее распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта, что обязывает здравоохранение разных стран выделять достаточно крупные финансовые средства на лечение данной нозологии [5–9]. В настоящее время показатель заболеваемости дивертикулезом толстой кишки с каждым годом увеличивается и напрямую коррелирует с возрастом пациентов. По данным литературы, в европейских странах дивертикулез выявляется у 5,3% пациентов в возрасте 30–39 лет, у 8,7% в возрасте 40–49 лет, у 19,4% в возрасте 50–59 лет, а максимальная

заболеваемость отмечается у пациентов старше 70 лет и варьирует в разных странах от 40,2 до 57,9% [10–12]. Кроме того, отмечено, что у представителей западных стран дивертикулезом, как правило, поражается левая часть толстой кишки, в то время как для жителей стран Азии и Африки более характерно вовлечение в патологический процесс правой половины толстой кишки, но с низким уровнем распространенности данной патологии [10, 13, 14]. До настоящего времени остается не до конца изученным механизм образования дивертикулов толстой кишки; вероятнее всего, это результат сложных взаимодействий между генетическими факторами, возрастом, рационом, изменениями в структуре толстой кишки и ее моторики [15]. Недавние исследования показали, что эндогенные половые гормоны могут быть связаны с повышенным риском развития дивертикулеза. Результаты скрининговой колоноскопии пациентов продемонстрировали, что данная нозология менее распространена у женщин в пременопаузе по сравнению с мужчинами этого же возраста [16]. Данное наблюдение предполагает, что стероидные гормоны яичников у женщин в пременопаузе могут снизить риск развития дивертикулеза, потенциально за счет благоприятного эффекта воздействия на коллаген и/или эластин [17]. В том же исследовании показано, что ожирение увеличивает риск формирования дивертикулеза у женщин в пременопаузальном периоде по сравнению с мужчинами, так как оно приводит к уменьшению циркулирующих эстрогенов и увеличению свободного тестостерона в сыворотке крови [16].

Патоморфологические особенности дивертикулеза толстой кишки

При сравнении патоморфологических исследований тканевых фрагментов стенки толстой кишки с дивертикулезом и без патологических процессов выявлен ряд изменений. Одна из наиболее распространенных патоморфологических характеристик дивертикулеза – утолщение обоих слоев мышечной оболочки. Утолщен-

ный мышечный слой характеризуется пониженной способностью к сокращению из-за сниженного количества тяжелых цепей миозина – одного из основных белков, отвечающих за сократительную функцию мышечного волокна, а также полями разрастания соединительной ткани, приводящими к ухудшению сократительной функции всего мышечного слоя и, как следствие, нарушению моторики толстой кишки [18].

В литературе имеются сведения о том, что в стенке кишки, пораженной дивертикулами, стабильный коллаген I типа заменяется менее эластичным коллагеном III типа, а также меняются спектр и соотношение ферментов, участвующих в метаболизме и ремоделировании соединительной ткани. Кроме этого, было показано увеличение содержания эластических волокон, в частности в продольном мышечном слое [18, 19]. Описанные изменения патоморфологической характеристики стенки толстой кишки объясняют снижение гибкости и упругости ее стенки, а эти слабые места кишки становятся еще более уязвимыми в отношении образования дивертикулов.

Детальное изучение нервной системы толстой кишки показало, что при дивертикулёзе уменьшается число нервных ганглиев в ее стенке в отличие от группы сравнения [20]. В ганглиях исследованных образцов выявлено сниженное количество нейронов по отношению к глиальным клеткам, а также уменьшение количества кишечных пейсмекеров – клеток-водителей ритма спонтанной моторики желудочно-кишечного тракта (клетки Кахаля) [20, 21]. Причиной этого, возможно, является сниженное количество нейротрофических факторов (например, нейротрофического фактора глиальной клеточной линии – *glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF*) у больных по сравнению с контрольной группой. GDNF участвует в дифференцировке нервной ткани и формировании кишечной нервной системы, поэтому его дефицит может привести к нарушению иннервации и моторики кишки [22–24].

Экспериментальные исследования выявили патологическую спонтанную сократимость, снижение способности к расслаблению и усиленный ответ на стимулирующие импульсы у образцов с дивертикулами толстой кишки [19, 25].

Дивертикулярная болезнь

Дивертикулярная болезнь – это наличие дивертикулов по всему желудочно-кишечному тракту, преимущественно вдоль толстой кишки, а также клинические проявления и осложнения. Наиболее часто распространенными кишечными симптомами дивертикулярной болезни являются боль, кровотечение и/или кишечная непроходимость. Осложненное течение заболевания часто характеризуется тяжелым состоянием пациентов и включает формирование перфорации, абсцесса, стриктуры, кишечной непроходимости и/или образование свищевого хода [26]. Осложненное течение дивертикулита возникает, по разным данным, в 12–25% слу-

чаев. Наиболее частое осложнение – абсцесс (примерно у 70% пациентов) с развитием перитонита [15, 27]. У меньшего числа пациентов (4–10%) развивается хронический или рецидивирующий дивертикулит [28, 29].

Факторы риска заболевания

В проспективных когортных исследованиях показано, что ожирение, так называемая западная диета (в том числе с низким содержанием пищевых волокон и высоким потреблением красного мяса), недостаточная физическая активность и курение повышают риск развития дивертикулита [30–34]. Неконтролируемый прием нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) повышает риск осложненного течения дивертикулёза [35], а длительная иммуносупрессия является фактором риска дивертикулита и его прогрессирования [36].

Возраст. Одним из первых факторов риска был установлен возраст пациентов: отмечено, что осложненное течение дивертикулёза чаще встречается у пожилых пациентов [27, 37].

Ожирение. На проблему ожирения и его влияния как фактора осложненного течения дивертикулита обращают внимание уже долгое время во многих исследованиях. Жировая ткань, как известно, способна секретировать цитокины, которые, в свою очередь, в избыточном количестве способствуют воспалению дивертикулов, а также нарушению микробиоты толстой кишки [38, 39].

Курение. Курение как фактор риска имеет множество механизмов воздействия на организм, которые как в частности, так и в совокупности значительно увеличивают риск развития дивертикулита [40, 41]. При курении развивается дисбаланс антиоксидантов и прооксидантов в тканях, в том числе увеличивается количество свободных радикалов, и нарушаются защитные механизмы от оксидативного стресса. Курение снижает регенеративные способности слизистой оболочки толстой кишки, что приводит к защитной и барьерной дисфункции эпителиальной выстилки [41, 42]. В дополнение к этому у курящих повышается секреция вазоинтестинального пептида, который усиливает перистальтику толстой кишки и способствует повышению внутрикишечного давления, что может привести к повреждению ее слизистой оболочки. Никотин ухудшает кровоснабжение всех слоев стенки толстой кишки. С другой стороны, ишемизация кишечной стенки дополнительно способствует серотонинопосредованной эндотелиальной вазоконстрикции, которую также провоцирует курение [41].

Проведенные крупные когортные исследования показали, что у курящих значительно больше шансов на тяжелое течение осложненного дивертикулёза по сравнению с никогда не курившими того же возраста [42].

Прием нестероидных противовоспалительных средств. НПВС являются ингибиторами циклооксигеназы, которые участвуют в образовании лейкотриенов, простагландинов и тромбоксанов. Нарушение синтеза

простагландинов приводит к сбою барьерной функции слизистой оболочки кишки и способствует распространению бактерий и их токсинов. Неконтролируемый прием НПВС связан как с осложненным, так и с неосложненным дивертикулитом [35, 43].

Физическая активность. Польза физической активности при дивертикулите и дивертикулярном кровотечении продемонстрирована в экспериментах, где пациенты выполняли ежедневные 30-минутные упражнения. Одно исследование показало, что мужчины с самым высоким показателем физической активности характеризовались сниженным риском развития осложнений на 25–46% по сравнению с мужчинами с самым низким показателем [39].

Изменения микробиоты толстой кишки. Микробиота толстой кишки существует в симбиозе с человеком, влияя на функциональное состояние ее эпителия и поддерживая защитную и барьерную функцию слизистой оболочки. Кроме того, бактерии ферментируют неперевариваемые пищевые волокна в короткоцепочечные жирные кислоты, которые обладают противовоспалительными свойствами, увеличивают выработку слизи и антимикробных пептидов, поддерживают оптимальный уровень клеточной пролиферации в слизистом слое толстой кишки. Таким образом, можно предположить, что нарушение баланса микробиоты кишки может привести к различным заболеваниям желудочно-кишечного тракта, включая осложненное течение дивертикулеза [38, 44, 45]. Изучение состава фекальной микробиоты толстой кишки у пациентов с осложненным течением дивертикулеза по сравнению с контрольной группой выявило, что в первой группе значительно увеличилось количество *Akkermansia muciniphila* и представителей типа *Proteobacteria*, а также рода *Bifidobacterium* и семейства *Enterobacteriaceae*. Бактерии рода *Akkermansia* являются представителями нормальной микрофлоры кишки, которые в процессе своей жизнедеятельности разлагают муцин, продуцируемый бокаловидными клетками слизистой оболочки толстой кишки. Соответственно, при повышении их активности снижается количество муцина, выступающего в роли барьера слизистой оболочки толстой кишки, что может спровоцировать воспалительные процессы. Кишечная палочка при неконтролируемом росте способна вызывать воспаление слизистой оболочки толстой кишки, а патогенные штаммы – эшерихиозы [34, 46–52]. С другой стороны, было выявлено, что повышенный риск осложненного течения дивертикулеза связан со значительным снижением количества представителей *Clostridium*, *Lactobacilli* и *Bacteroides*, так как данные бактерии и их жизнедеятельность, как правило, оказывают противовоспалительное влияние на слизистую оболочку толстой кишки [53]. В дополнение к сказанному выше прогноз течения дивертикулярной болезни может отличаться у пациентов с цитомегаловирусной инфекцией и без нее [54]. Можно сделать вывод, что состав и сбалансированность микробиоты

толстой кишки пациента играют важную роль в определении течения дивертикулеза и, соответственно, могут рассматриваться как критерий для более пристального контроля пациентов в плане осложненного течения данного заболевания [53, 55].

Патогенез развития осложнений дивертикулярной болезни толстой кишки

Дивертикулез кишки, а именно его осложненное течение, является полиэтиологичным заболеванием с такими осложнениями как дивертикулит, передивертикулярный абсцесс и кровотечение, что необходимо принимать во внимание при изучении его патогенеза. В последние годы выделяют два не исключающих друг друга механизма развития дивертикулита с последующими его осложнениями: травматический и ишемический [56]. Первый механизм подразумевает повреждение слизистой оболочки дивертикула уплотненными каловыми массами при повышенном внутрикишечном давлении. Такой механизм имеет место при крупных размерах дивертикула у пациентов более старшего возраста. Однако у молодых пациентов, как правило, дивертикулы небольшие, что препятствует проникновению уплотненного содержимого кишечника в их полость. В этом случае задействован ишемический механизм. Он реализуется за счет сдавления сосудов в области шейки дивертикула, приводя к очаговой ишемии стенки самого дивертикула. Сдавление сосудов чаще происходит из-за патологической перистальтики – длительных или часто повторяющихся сокращений мышечного слоя толстой кишки. Оба механизма могут встречаться как по отдельности, так и в комбинации в каждом конкретном случае дивертикулита [56].

Самое пристальное внимание обращает на себя нарушение перистальтики толстой кишки. У пациентов с дивертикулярной болезнью она, скорее всего, нарушена по многим причинам [57]. У мышечных волокон при этой патологии заметно снижается способность к расслаблению после сокращения, а также увеличена сократительная активность [35, 58]. Ряд нарушений обнаружен в энтеральной нервной системе. Выявлено, что количество клеток Кахала заметно снижается у пациентов с данной нозологией [59]. Описано, что количество мРНК и экспрессия рецепторов к гидрокситриптамины 4 (5HT-4R) как составляющие серотонинергической системы изменялись у данных пациентов. Экспрессия мРНК 5HT-4R снижалась в мышечных слоях толстой кишки [60]. В дополнение к этому были выявлены структурные изменения в ганглиях энтеральной нервной системы, которые характеризовались олигонейрональным гипоганглионозом в подслизистом и мышечном слоях толстой кишки, именно они могут быть причиной аномалий перистальтики у обследованных пациентов [61–66]. Считается, что важную роль в развитии дивертикулита играет нарушение микробиоты толстой кишки. Различные факторы влияют на развитие дисбиоза: нарушение соотношения бактерий

разных таксономических групп может привести к их патогенному действию на слизистую оболочку кишки. Такие изменения в последующем способны создать условия развития для микро- и макроперфорации и осложнений в виде абсцедирования и перитонита [67].

Патоморфологические особенности стенки кишки при осложненном течении дивертикулеза

При патоморфологическом исследовании тканевых образцов толстой кишки пациентов с осложненным течением дивертикулеза отмечены устойчивые изменения в ее стенке, которые можно зафиксировать на светооптическом уровне при рутинном исследовании гистологических срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, и при проведении иммуногистохимической реакции. В стенке дивертикулов у пациентов с осложненным течением (дивертикулит, абсцедирование, кровотечение) была выявлена умеренная или обильная лимфоплазмацитарная инфильтрация. Такое явление указывает на то, что воспаление в дивертикулах носит хронический характер даже в случаях острой клинической симптоматики [46, 68, 69]. О хроническом течении воспаления в осложненных случаях дивертикулеза говорят повышенный уровень матриксных металлопротеаз (ММП) и гистамина, а также снижение количества ингибиторов металлопротеаз (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP), которые были выявлены при проведении иммуногистохимической реакции в тканевых образцах толстой кишки. Особое внимание обращают на себя ММП-1, ММП-2, ММП-3, ММП-13 и TIMP-1, TIMP-2 [70–72]. Повышенный уровень матриксных металлопротеаз и сниженный уровень их ингибиторов приводит к активной перестройке архитектуры соединительной ткани в стенке пораженной кишки [73]. В дополнение к этому у пациентов с осложненным течением дивертикулярной болезни выявлены снижение количества эффекторных нейронов по сравнению с глиальными клетками в энтеральных ганглиях, а также дисбаланс нейротрофических факторов и нейромедиаторов, таких как серотонин и ацетилхолин [74].

Генетические предикторы осложненного течения дивертикулеза толстой кишки

Множественные исследования с использованием полногеномного секвенирования для определения генов-предикторов осложненного течения дивертикулеза с последующей ПЦР в реальном времени выявили группу генов, мутации которых достоверно могут привести к осложненному течению дивертикулярной болезни.

- *LAMB4* – ген, кодирующий адгезивный гликопротеин ламинин β4. Ламинины – важные компоненты внеклеточного матрикса, участвующие в формировании, развитии и функционировании кишечной нервной системы [60].
- *ARHGAP15* кодирует белок 15, активирующий ГТФ-азу. Данный белок активно экспрессируется

к иммунокомпетентным клеткам и входит в состав Ras-специфичного активирующего ГТФ-азу комплекса. Этот фермент важен для клеточной пролиферации, апоптоза, прикрепления и передвижения клеток, влияет на актиновый цитоскелет и морфогенез иммунокомпетентных клеток, играет роль в функционировании фагоцитов и нейтрофилов [75].

- *COLQ* – ген, кодирующий субъединицу коллагеноподобной молекулы, связанной с ацетилхолинэстеразой в базальной пластинке нервно-мышечного соединения. В то же время мутации в этом гене вызывают врожденные миастенические синдромы [76, 77].
- *PHGR1* – экспрессируется в большей степени в зрелых эпителиальных клетках в слизистой оболочке толстой кишки. Нарушение в гене, кодирующем этот белок, скорее всего, влияет на барьерную функцию эпителия толстой кишки и играет роль в развитии дивертикулита [78].
- *CALCB*. Кодируемый белок через кальций регулирует сократительную функцию гладкомышечных клеток мезентериальных сосудов, а также афферентную кальцийопосредованную иннервацию, нарушение которой приводит к патологии моторики толстой кишки [79].
- *S100A10* – кодирует одноименный кальцийсвязывающий белок А10, специфичен для глиальных клеток и экспрессируется в основном астроцитами. Отмечено, что после поражения нервной системы у пациентов повышается уровень S100A10. Белок также связан с ремоделированием внеклеточного матрикса посредством плазминзависимой активации матриксной металлопротеазы 9 (MMP-9) и инвазии плазминогензависимой ткани макрофагов [80]. S100A10 является частью клеточных структурных каркасов, которые взаимодействуют с белками плазматической мембраны и участвуют в эндо- и экзоцитозе опосредованно через F-актин [81].
- *TNFSF15* – ген, кодирующий один из цитокинов группы факторов некроза опухоли. В единичных исследованиях пациентов с осложненным течением дивертикулярной болезни отмечено, что полиморфизм в гене *TNFSF15* ассоциирован с тяжелым течением осложнений при дивертикулите [82].
- *FAM155A* – ген, мутации в котором достоверно связаны с осложненным течением дивертикулеза, но функция гена и кодируемого им белка до сих пор остаются под вопросом [83].

Оценив спектр генетических предикторов осложненного течения дивертикулеза, можно сделать вывод, что осложнения дивертикулярной болезни носят полиэтиологический характер. В их развитии участвует нарушение в энтеральной нервной системе, которое выражается в патологии передачи и восприятия нервного импульса и, как следствие, патологии перистальтики

толстой кишки. Наряду с этим важную роль, скорее всего, играют нарушения местного иммунитета, барьерной функции эпителия слизистой оболочки, а также поддерживающей функции соединительной ткани в стенке толстой кишки.

Заключение

Патогенез дивертикулярной болезни до конца не изучен. Понятна и доказана роль множества факторов риска, таких как возраст, ожирение, недостаточная двигательная активность, курение, прием нестероидных противовоспалительных средств и дисбаланс микробиоты толстой кишки. Определены некоторые механизмы патогенеза, но первичная причина возникновения осложнений и последовательности изменений остается неустановленной. Выявлены достоверные генетические маркеры осложненного течения дивертикулеза. Больше всего внимания исследователей на сегодняшний день уделяется генам *LAMB4*, *ARHGAP15*, *COLQ*, *PHGR1*, *CALCB*, *SI00A10*, *TNFSF15* и *FAM155A*. Все перечисленные данные могут в перспективе стать диагностическими критериями или мишенями для выбора современной терапии у пациентов с дивертикулярной болезнью. Это, несомненно, поможет профилактировать и предотвращать тяжелое течение осложнений данного заболевания.

Литература/References

1. Пузанов Д., Пузанова И., Половинкин В. Дивертикулез и дивертикулярная болезнь. *Врач*. 2017;10:11–14. Доступно по адресу: <https://vrachjournal.ru/sites/default/files/fulltext-pdf/25877305-2017-10-03.pdf> (получено 01.08.2022).
2. Puzanov D, Puzanova I, Polovinkin V. Diverticulosis and diverticular disease. *Vrach = The Doctor*. 2017;10:11–14 (In Russ.). Available from: <https://vrachjournal.ru/sites/default/files/fulltext-pdf/25877305-2017-10-03.pdf> (accessed 01.08.2022).
3. Commane DM, Arasaradnam RP, Mills S, Mathers JC, Bradburn M. Diet, ageing and genetic factors in the pathogenesis of diverticular disease. *World J Gastroenterol*. 2009;15(20):2479–88. DOI: 10.3748/wjg.15.2479.
4. Wedel T, Barrenschee M, Lange C, Cossais F, Böttner M. Morphologic basis for developing diverticular disease, diverticulitis, and diverticular bleeding. *Viszeralmedizin*. 2015;31(2):76–82. DOI: 10.1159/000381431.
5. Лысов Н.А., Осадчук М.М., Балашиов Д.В. Дивертикулярная болезнь толстого кишечника: современное состояние проблемы. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, врач и здоровье*. 2020;4:33–41. DOI: 10.20340/vmi-rvz.2020.4.3.
6. Lysov NA, Osadchuk MM, Balashov DV. Diverticular disease of the large intestine: current state of the problem. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ": Rehabilitation, doctor and health*. 2020;4:33–41 (In Russ.). DOI: 10.20340/vmi-rvz.2020.4.3.
7. Peery AF, Crockett SD, Murphy CC, Lund JL, Dellon ES, Williams JL et al. Burden and cost of gastrointestinal, liver, and pancreatic diseases in the United States: Update 2018. *Gastroenterology*. 2019;156(1):254–72.e11. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.08.063.
8. Biondo S, Golda T, Kreisler E, Espin E, Vallribera F, Oteiza F et al. Outpatient versus hospitalization management for uncomplicated diverticulitis: A prospective, multicenter randomized clinical trial (DIVER Trial). *Ann Surg*. 2014;259(1):38–44. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182965a11.
9. Peery AF, Crockett SD, Barritt AS, Dellon ES, Eluri S, Gangarosa LM et al. Burden of gastrointestinal, liver, and pancreatic diseases in the United States. *Gastroenterology*. 2015;149(7):1731–41.e3. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.08.045.
10. Иванов Г.А., Гарипова Ч.А., Стяжкина С.Н. Структура осложнений, характеристика и факторы риска развития дивертикулезной болезни толстой кишки. *Вестник науки и образования*. 2019;1–1(55):94–97. Доступно по адресу: <https://scientificjournal.ru/images/PDF/2019/VNO-55/struktura-oslozhnenij.pdf> (получено 21.07.2022).
11. Ivanov GA, Garipova ChA, Styazhkina SN. Structure of complications, characteristics and risk factors of development of diverticular disease of a colon. *Herald of Science and Education*. 2019;1–1(55):94–97 (In Russ.). Available from: <https://scientificjournal.ru/images/PDF/2019/VNO-55/struktura-oslozhnenij.pdf> (accessed 21.07.2022).
12. Морозов М.В., Макаров Ю.М., Ермолаев И.В., Михалик Д.С., Жуков Г.В. Дивертикулярная болезнь ободочной кишки. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2020;19(3):150–156. DOI: 10.37903/vsgma.2020.3.22.
13. Morozov MV, Makarov YuM, Ermolaev IV, Mikhailik DS, Zhukov GV. Diverticular colon disease. *Vestnik Smolenskoj Gosudarstvennoy Medicinskoy Akademii = Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2020;19(3):150–156 (In Russ.). DOI: 10.37903/vsgma.2020.3.22.
14. Tursi A. Diverticulosis today: Unfashionable and still under-researched. *Therap Adv Gastroenterol*. 2016;9(2):213–28. DOI: 10.1177/1756283X15621228.
15. Bates DDB, Fernandez MB, Ponchiardi C, von Plato M, Teich JP, Narsule C et al. Surgical management in acute diverticulitis and its association with multi-detector CT, modified Hinchey classification, and clinical parameters. *Abdom Radiol (NY)*. 2018;43(8):2060–5. DOI: 10.1007/s00261-017-1422-y.
16. Everhart JE, Ruhl CE. Burden of digestive diseases in the United States part II: Lower gastrointestinal diseases. *Gastroenterology*. 2009;136(3):741–54. DOI: 10.1053/j.gastro.2009.01.015.
17. Wang FW, Chuang HY, Tu MS, King TM, Wang JH, Hsu CW et al. Prevalence and risk factors of asymptomatic colorectal diverticulosis in Taiwan. *BMC Gastroenterol*. 2015;15:40. DOI: 10.1186/s12876-015-0267-5.
18. Lohsiriwat V, Suthikeeree W. Pattern and distribution of colonic diverticulosis: Analysis of 2877 barium enemas in Thailand. *World J Gastroenterol*. 2013;19(46):8709–13. DOI: 10.3748/wjg.v19.i46.8709.
19. Tursi A, Papa A, Danese S. Review article: The pathophysiology and medical management of diverticulosis and diverticular disease of the colon. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42(6):664–84. DOI: 10.1111/apt.13322.
20. Peery AF, Keil A, Jicha K, Galanko JA, Sandler RS. Association of obesity with colonic diverticulosis in women. *Clin*

- Gastroenterol Hepatol. 2020;18(1):107–14.e1. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.04.058.
17. *Leblanc DR, Schneider M, Angele P, Vollmer G, Docheva D.* The effect of estrogen on tendon and ligament metabolism and function. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017;172:106–16. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2017.06.008.
 18. *Hellwig I, Böttner M, Barrenschee M, Harde J, Egberts JH, Becker T et al.* Alterations of the enteric smooth musculature in diverticular disease. *J Gastroenterol.* 2014;49(8):1241–52. DOI: 10.1007/s00535-013-0886-y.
 19. *Golder M, Burleigh DE, Ghali L, Feakins RM, Lunniss PJ, Williams NS et al.* Longitudinal muscle shows abnormal relaxation responses to nitric oxide and contains altered levels of NOS1 and elastin in uncomplicated diverticular disease. *Colorectal Dis.* 2007;9(3):218–28. DOI: 10.1111/j.1463-1318.2006.01160.x.
 20. *Wedel T, Büsing V, Heinrichs G, Nohroudi K, Bruch HP, Roblick UJ et al.* Diverticular disease is associated with an enteric neuropathy as revealed by morphometric analysis. *Neurogastroenterol Motil.* 2010;22(4):407–14.e93–4. DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01445.x.
 21. *Gallego D, Espin F, Mikulka J, Smirg O, Gil V, Faun-dez-Zanuy M et al.* In vitro motor patterns and electrophysiological changes in patients with colonic diverticular disease. *Int J Colorectal Dis.* 2013;28(10):1413–22. DOI: 10.1007/s00384-013-1716-7.
 22. *Böttner M, Barrenschee M, Hellwig I, Harde J, Egberts JH, Becker T et al.* The GDNF system is altered in diverticular disease – implications for pathogenesis. *PLoS One.* 2013;8(6):e66290. DOI: 10.1371/journal.pone.0066290.
 23. *Barrenschee M, Böttner M, Hellwig I, Harde J, Egberts JH, Becker T et al.* Site-specific gene expression and localization of growth factor ligand receptors RET, GFR α 1 and GFR α 2 in human adult colon. *Cell Tissue Res.* 2013;354(2):371–80. DOI: 10.1007/s00441-013-1690-y.
 24. *Böttner M, Harde J, Barrenschee M, Hellwig I, Vogel I, Ebsen M et al.* GDNF induces synaptic vesicle markers in enteric neurons. *Neurosci Res.* 2013;77(3):128–36. DOI: 10.1016/j.neures.2013.08.012.
 25. *Tomita R.* Are there any functional differences of the enteric nervous system between the right-sided diverticular colon and the left-sided diverticular colon? An in vitro study. *Int J Colorectal Dis.* 2014;29(5):571–7. DOI: 10.1007/s00384-014-1837-7.
 26. *Rezapour M, Ali S, Stollman N.* Diverticular Disease: An update on pathogenesis and management. *Gut Liver.* 2018;12(2):125–32. DOI: 10.5009/gnl16552.
 27. *Bharucha AE, Parthasarathy G, Ditah I, Fletcher JG, Ewe-lukwa O, Pendlimari R et al.* Temporal trends in the incidence and natural history of diverticulitis: A population-based study. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(11):1589–96. DOI: 10.1038/ajg.2015.302.
 28. *Boostrom SY, Wolff BG, Cima RR, Merchea A, Dozois EJ, Larson DW.* Uncomplicated diverticulitis, more complicated than we thought. *J Gastrointest Surg.* 2012;16(9):1744–9. DOI: 10.1007/s11605-012-1924-4.
 29. *Daniels L, Ünlü Ç, de Korte N, van Dieren S, Stockmann HB, Vrouwenraets BC et al.* Randomized clinical trial of observational versus antibiotic treatment for a first episode of CT-proven uncomplicated acute diverticulitis. *Br J Surg.* 2017;104(1):52–61. DOI: 10.1002/bjs.10309.
 30. *Liu PH, Cao Y, Keeley BR, Tam I, Wu K, Strate LL et al.* Adherence to a healthy lifestyle is associated with a lower risk of diverticulitis among men. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(12):1868–76. DOI: 10.1038/ajg.2017.398.
 31. *Ma W, Jovani M, Liu PH, Nguyen LH, Cao Y, Tam I et al.* Association between obesity and weight change and risk of diverticulitis in women. *Gastroenterology.* 2018;155(1):58–66. e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.03.057.
 32. *Cao Y, Strate LL, Keeley BR, Tam I, Wu K, Giovannucci EL et al.* Meat intake and risk of diverticulitis among men. *Gut.* 2018;67(3):466–72. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-313082.
 33. *Strate LL, Keeley BR, Cao Y, Wu K, Giovannucci EL, Chan AT.* Western dietary pattern increases, and prudent dietary pattern decreases, risk of incident diverticulitis in a prospective cohort study. *Gastroenterology.* 2017;152(5):1023–30.e2. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.12.038.
 34. *Camilleri M, Sandler RS, Peery AF.* Etiopathogenetic mechanisms in diverticular disease of the colon. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2020;9(1):15–32. DOI: 10.1016/j.cjcmgh.2019.07.007.
 35. *Strate LL, Liu YL, Huang ES, Giovannucci EL, Chan AT.* Use of aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs increases risk for diverticulitis and diverticular bleeding. *Gastroenterology.* 2011;140(5):1427–33. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.004.
 36. *Sachar DB.* Diverticulitis in immunosuppressed patients. *J Clin Gastroenterol.* 2008;42(10):1154–5. DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181862ac1.
 37. *Böhm SK.* Risk factors for diverticulosis, diverticulitis, diverticular perforation, and bleeding: A plea for more subtle history taking. *Viszeralmedizin.* 2015;31(2):84–94. DOI: 10.1159/000381867.
 38. *Hall JF.* The microbiome and diverticulitis: A new target for medical therapy? *Dis Colon Rectum.* 2014;57(4):544–5. DOI: 10.1097/DCR.0000000000000077.
 39. *Strate LL.* Lifestyle factors and the course of diverticular disease. *Dig Dis.* 2012;30(1):35–45. DOI: 10.1159/000335707.
 40. *Humes DJ, Ludvigsson JF, Jarvholm B.* Smoking and the risk of hospitalization for symptomatic diverticular disease: A population-based cohort study from Sweden. *Dis Colon Rectum.* 2016;59(2):110–4. DOI: 10.1097/DCR.0000000000000515.
 41. *Turunen P, Wikström H, Carpelan-Holmström M, Kairaluoma P, Kruuna O, Scheinin T.* Smoking increases the incidence of complicated diverticular disease of the sigmoid colon. *Scand J Surg.* 2010;99(1):14–7. DOI: 10.1177/145749691009900104.
 42. *Diamant MJ, Schaffer S, Coward S, Kuenzig ME, Hubbard J, Eksteen B et al.* Smoking is associated with an increased risk for surgery in diverticulitis: A case control study. *PLoS One.* 2016;11(7):e0153871. DOI: 10.1371/journal.pone.0153871.
 43. *Dai L, King DW, Perera DS, Lubowski DZ, Burcher E, Liu L.* Inverse expression of prostaglandin E2-related enzymes highlights differences between diverticulitis and inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2015;60(5):1236–46. DOI: 10.1007/s10620-014-3478-7.

44. Makki K, Deehan EC, Walter J, Bäckhed F. The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell Host Microbe*. 2018;23(6):705–15. DOI: 10.1016/j.chom.2018.05.012.
45. Scarpignato C, Bertelé A, Tursi A. Probiotics for the treatment of symptomatic uncomplicated diverticular disease: Rationale and current evidence. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50 Suppl 1:S70–3. DOI: 10.1097/MCG.0000000000000641.
46. Barbara G, Scaïoli E, Barbaro MR, Biagi E, Laghi L, Cremon C et al. Gut microbiota, metabolome and immune signatures in patients with uncomplicated diverticular disease. *Gut*. 2017;66(7):1252–61. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312377.
47. Kvasnovsky CL, Leong LEX, Choo JM, Abell G, Papagrigroriadis S, Bruce KD et al. Clinical and symptom scores are significantly correlated with fecal microbiota features in patients with symptomatic uncomplicated diverticular disease: a pilot study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018;30(1):107–12. DOI: 10.1097/MEG.0000000000000995.
48. Tursi A, Mastromarino P, Capobianco D, Elisei W, Miccheli A, Capuani G et al. Assessment of fecal microbiota and fecal metabolome in symptomatic uncomplicated diverticular disease of the colon. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50 Suppl 1:S9–12. DOI: 10.1097/MCG.0000000000000626.
49. Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res*. 2017;4:14. DOI: 10.1186/s40779-017-0122-9.
50. Linninge C, Roth B, Erlanson-Albertsson C, Molin G, Toth E, Ohlsson B. Abundance of *Enterobacteriaceae* in the colon mucosa in diverticular disease. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2018;9(1):18–27. DOI: 10.4291/wjgp.v9.i1.18.
51. Schieffer KM, Sabey K, Wright JR, Toole DR, Drucker R, Tokarev V et al. The microbial ecosystem distinguishes chronically diseased tissue from adjacent tissue in the sigmoid colon of chronic, recurrent diverticulitis patients. *Sci Rep*. 2017;7(1):8467. DOI: 10.1038/s41598-017-06787-8.
52. Laghi L, Mastromarino P, Elisei W, Capobianco D, Zhu CL, Picchio M et al. Impact of treatments on fecal microbiota and fecal metabolome in symptomatic uncomplicated diverticular disease of the colon: A pilot study. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2018;32(5):1421–32. PMID: 30574746.
53. Ticinesi A, Nouvenne A, Corrente V, Tana C, Di Mario F, Meschi T. Diverticular disease: A gut microbiota perspective. *J Gastrointest Liver Dis*. 2019;28(3):327–37. DOI: 10.15403/jgld-277.
54. Schieffer KM, Kline BP, Harris LR, Deiling S, Koltun WA, Yochum GS. A differential host response to viral infection defines a subset of earlier-onset diverticulitis patients. *J Gastrointest Liver Dis*. 2018;27(3):249–55. DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.273.sch.
55. Ponziani FR, Zocco MA, D'Aversa F, Pompili M, Gasbarrini A. Eubiotic properties of rifaximin: Disruption of the traditional concepts in gut microbiota modulation. *World J Gastroenterol*. 2017;23(25):4491–9. DOI: 10.3748/wjg.v23.i25.4491.
56. Zullo A. Medical hypothesis: speculating on the pathogenesis of acute diverticulitis. *Ann Gastroenterol*. 2018;31(6):747–9. DOI: 10.20524/aog.2018.0315.
57. Espín F, Rofes L, Ortega O, Clavé P, Gallego D. Nitrergic neuro-muscular transmission is up-regulated in patients with diverticulosis. *Neurogastroenterol Motil*. 2014;26(10):1458–68. DOI: 10.1111/nmo.12407.
58. Tursi A. Current and evolving concepts on the pathogenesis of diverticular disease. *J Gastrointest Liver Dis*. 2019;28:225–35. DOI: 10.15403/jgld-184.
59. Bassotti G, Battaglia E, Bellone G, Dughera L, Fisogni S, Zambelli et al. Interstitial cells of Cajal, enteric nerves, and glial cells in colonic diverticular disease. *J Clin Pathol*. 2005;58(9):973–7. DOI: 10.1136/jep.2005.026112.
60. Böttner M, Barrenschee M, Hellwig I, Harde J, Egberts JH, Becker T et al. The enteric serotonergic system is altered in patients with diverticular disease. *Gut*. 2013;62(12):1753–62. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302660.
61. Barbaro MR, Cremon C, Fuschi D, Scaïoli E, Veneziano A, Marasco G et al. Nerve fiber overgrowth in patients with symptomatic diverticular disease. *Neurogastroenterol Motil*. 2019;31(9):e13575. DOI: 10.1111/nmo.13575.
62. Picchio M, Elisei W, Brandimarte G, Di Mario F, Malfertheiner P, Scarpignato et al. Mesalazine for the treatment of symptomatic uncomplicated diverticular disease of the colon and for primary prevention of diverticulitis: A systematic review of randomized clinical trials. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50 Suppl 1:S64–9. DOI: 10.1097/MCG.0000000000000669.
63. Tursi A, Picchio M. Mesalazine in preventing acute diverticulitis occurrence: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastrointest Liver Dis*. 2016;25(3):409–11. DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.253.msx.
64. Picchio M, Elisei W, Tursi A. Mesalazine to treat symptomatic uncomplicated diverticular disease and to prevent acute diverticulitis occurrence. A systematic review with meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *J Gastrointest Liver Dis*. 2018;27(3):291–7. DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.273.pic.
65. Tursi A, Picchio M, Elisei W, Di Mario F, Scarpignato C, Brandimarte G. Management of patients with diverticulosis and diverticular disease: Consensus statements from the 2nd International Symposium on Diverticular Disease. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50 Suppl 1:S101–7. DOI: 10.1097/MCG.0000000000000654.
66. Tursi A, Scarpignato C. Symptomatic uncomplicated diverticular disease: Chronic abdominal pain in diverticulosis is not enough to make the diagnosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(12):2001–2. DOI: 10.1016/j.cgh.2018.06.033.
67. Floch MH, White J. Diverticulitis: New concepts and new therapies. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39(5):355–6. DOI: 10.1097/01.mcg.0000159264.27986.1f
68. Tursi A, Brandimarte G, Elisei W, Giorgetti GM, Inchingolo CD, Aiello F. Faecal calprotectin in colonic diverticular disease: A case-control study. *Int J Colorectal Dis*. 2009;24(1):49–55. DOI: 10.1007/s00384-008-0595-9.
69. Tursi A, Brandimarte G, Elisei W, Giorgetti GM, Inchingolo CD, Danese S et al. Assessment and grading of mucosal inflammation in colonic diverticular disease. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42(6):699–703. DOI: 10.1097/MCG.0b013e3180653ca2.
70. Altadill A, Eiró N, González LO, Junquera S, González-Quintana JM, Sánchez MR et al. Comparative analysis of the expression of metalloproteases and their inhibitors in resected crohn's disease and complicated diverticular disease.

- Inflamm Bowel Dis. 2012;18(1):120–30. DOI: 10.1002/ibd.21682.
71. von Rahden BH, Jurowich C, Kircher S, Lazariotou M, Jung M, Germer CT et al. Allergic predisposition, histamine and histamine receptor expression (H1R, H2R) are associated with complicated courses of sigmoid diverticulitis. *J Gastrointest Surg.* 2012;16(1):173–82. DOI: 10.1007/s11605-011-1702-8.
 72. Ulmer TF, Rosch R, Mossdorf A, Alizai H, Binnebösel M, Neumann U. Colonic wall changes in patients with diverticular disease – is there a predisposition for a complicated course? *Int J Surg.* 2014;12(5):426–31. DOI: 10.1016/j.ijso.2014.03.014.
 73. Medina C, Radomski MW. Role of matrix metalloproteinases in intestinal inflammation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;318(3):933–8. DOI: 10.1124/jpet.106.103465.
 74. Coble JL, Sheldon KE, Yue F, Salameh TJ, Harris LR III, Deiling S et al. Identification of a rare LAMB4 variant associated with familial diverticulitis through exome sequencing. *Hum Mol Genet.* 2017;26(16):3212–20. DOI: 10.1093/hmg/ddx204.
 75. Maguire LH, Handelman SK, Du X, Chen Y, Pers TH, Speilotes EK. Genome-wide association analyses identify 39 new susceptibility loci for diverticular disease. *Nat Genet.* 2018;50(10):1359–65. DOI: 10.1038/s41588-018-0203-z.
 76. Cescon M, Gregorio I, Eiber N, Borgia D, Fusto A, Sabatelli P et al. Collagen VI is required for the structural and functional integrity of the neuromuscular junction. *Acta Neuropathol.* 2018;136(3):483–99. DOI: 10.1007/s00401-018-1860-9.
 77. Schafmayer C, Harrison JW, Buch S, Lange C, Reichert MC, Hofer P et al. Genome-wide association analysis of diverticular disease points towards neuromuscular, connective tissue and epithelial pathomechanisms. *Gut.* 2019;68(5):854–65. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-317619.
 78. Oltedal S, Skaland I, Maple-Grødem J, Tjensvoll K, Janssen E, Gilje B et al. Expression profiling and intracellular localization studies of the novel Proline-, Histidine-, and Glycine-rich protein 1 suggest an essential role in gastro-intestinal epithelium and a potential clinical application in colorectal cancer diagnostics. *BMC Gastroenterol.* 2018;18(1):26. DOI: 10.1186/s12876-018-0752-8.
 79. Chauhan M, Yallampalli U, Banadakappa M, Yallampalli C. Involvement of receptor activity-modifying protein 3 (RAMP3) in the vascular actions of adrenomedullin in rat mesenteric artery smooth muscle cells. *Biol Reprod.* 2015;93(5):116. DOI: 10.1095/biolreprod.115.134585.
 80. Madureira PA, O'Connell PA, Surette AP, Miller VA, Waisman DM. The biochemistry and regulation of S100A10: A multifunctional plasminogen receptor involved in oncogenesis. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:353687. DOI: 10.1155/2012/353687.
 81. Cossais F, Leuschner S, Barrenschee M, Lange C, Ebsen M, Vogel I et al. Persistent increased enteric glial expression of S100β is associated with low-grade inflammation in patients with diverticular disease. *J Clin Gastroenterol.* 2019;53(6):449–56. DOI: 10.1097/MCG.0000000000001011.
 82. Connelly TM, Choi CS, Berg AS, Harris L 3rd, Coble J, Koltun WA. Diverticulitis and Crohn's disease have distinct but overlapping tumor necrosis superfamily 15 haplotypes. *J Surg Res.* 2017;214:262–9. DOI: 10.1016/j.jss.2017.02.030.
 83. Mastoraki A, Schizas D, Tousia A, Chatzopoulos G, Gkiala A, Syllaios A et al. Evaluation of molecular and genetic predisposing parameters at diverticular disease of the colon. *Int J Colorectal Dis.* 2021;36(5):903–10. DOI: 10.1007/s00384-020-03812-7.

Информация об авторах

Александра Константиновна Конюкова – младший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ГКБ № 31.

Сергей Георгиевич Шаповальянц – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии № 2 РНИМУ им. Н.И. Пирогова, заведующий хирургическим отделением № 2 ГКБ № 31.

Александр Иванович Михалев – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной хирургии № 2 РНИМУ им. Н.И. Пирогова; врач-хирург ГКБ № 31.

Кирилл Валерьевич Болихов – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии № 2 РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Андрей Владимирович Шулаев – заведующий отделением онкологии, врач-хирург ГКБ № 31.

Никита Андреевич Гутырчик – ординатор лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии медицинского института РУДН.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», заведующая патологоанатомическим отделением ГКБ № 31, профессор кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

Author information

Alexandra K. Konyukova – Junior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Pathologist, Pathology Department, City Clinical Hospital No. 31. <https://orcid.org/0000-0001-5925-5196>

Sergei G. Shapovaliants – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Hospital Surgery No. 2, Pirogov Russian National Research University, Head of the Surgery Department, City Clinical Hospital No. 31. <https://orcid.org/0000-0003-2396-223X>

Alexander I. Mikhalev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Hospital Surgery No. 2, Pirogov Russian National Research University, Surgeon, City Clinical Hospital No. 31.

<https://orcid.org/0000-0002-9463-8229>

Kirill V. Bolikhov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Hospital Surgery No. 2, Pirogov Russian National Research University.

<https://orcid.org/0000-0002-9623-3962>

Andrey V. Shulaev – Head of the Oncology Department, Surgeon, City Clinical Hospital No. 31.

<https://orcid.org/0000-0003-3922-6210>

Nikita A. Gutyrchik – Resident, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Assistant, Department of Histology, Cytology and Embryology, Peoples’ Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-2352-278X>

Lyudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Head of the Pathology Department, City Clinical Hospital No. 31, Professor, Department of Pathological Anatomy, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.

<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

Частота встречаемости гломерулопатий при новообразованиях почек в Красноярске

Т.А. Гаркуша¹, Е.А. Быханова², В.А. Хоржевский^{1,2}, С.В. Гаппоев^{1,2}, М.А. Фирсов^{2,3}, С.В. Ивлиев^{2,3}

¹ КГБУЗ Красноярское краевое патологоанатомическое бюро, Красноярск, Россия

² ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск, Россия

³ КГБУЗ Краевая клиническая больница, Красноярск, Россия

Резюме. Введение. В России в 2019 году злокачественные опухоли почек составили 3,9% всех злокачественных новообразований, войдя в десятку самых распространенных. При злокачественных новообразованиях может возникать паранеопластический синдром, одним из проявлений которого являются паранеопластические нефропатии, а также гломерулопатии. Цель исследования – провести анализ архивных образцов почек для оценки частоты гломерулопатий при новообразованиях почек. **Материалы и методы.** Проведен анализ 122 образцов почек с опухолью после нефрэктомии в Красноярском краевом клиническом онкологическом диспансере им. А.И. Крыжановского. Для оценки клеточного состава клубочков, базальной мембраны применялось гистохимическое окрашивание: ШИК-реакция, трихромная окраска по Массону, метенамин серебро, конго-рот.

Результаты. Проанализированы 122 образца почек. Возраст пациентов находился в диапазоне от 28 до 84 лет. Злокачественные новообразования были диагностированы в 114 случаях (93,4%), диагноз доброкачественного новообразования установлен у восьми пациентов (6,6%). В 56 случаях выявлены гломерулопатии, что составило 45,9%. В 55 случаях гломерулопатии были выявлены при злокачественных новообразованиях (98,2%) и один случай обнаружен у пациента с доброкачественным новообразованием (1,8%). В 43 случаях выявлена диабетическая нефропатия, что составило 76,8%. У семи пациентов были обнаружены гломерулонефриты (12,5%), в шести случаях выявлен фокальный сегментарный гломерулосклероз (10,7%).

Заключение. Гломерулопатии при опухолях почек достаточно распространены, в связи с чем диагностика их важна при исследовании операционного материала.

Ключевые слова: почка, опухоль, гломерулопатии, паранеопластический синдром, диабетическая нефропатия, гломерулонефрит

Для корреспонденции: Татьяна Андреевна Гаркуша. E-mail: sapfiradracula@yandex.ru

Для цитирования: Гаркуша Т.А., Быханова Е.А., Хоржевский В.А., Гаппоев С.В., Фирсов М.А., Ивлиев С.В. Частота встречаемости гломерулопатий при новообразованиях почек в Красноярске. Клини. эксп. морфология. 2022;11(3):15–21. DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.15-21.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 11.01.2022. Получена после рецензирования 02.02.2022. Принята в печать 25.04.2022.

The incidence of glomerulopathies in kidney neoplasms in Krasnoyarsk

Т.А. Garkusha¹, Е.А. Bykhanova², V.A. Khorzhevskii^{1,2}, S.V. Gappoev^{1,2}, M.A. Firsov^{2,3}, S.V. Ivliev^{2,3}

¹ Krasnoyarsk Regional Pathoanatomical Bureau, Krasnoyarsk, Russia

² V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

³ Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk, Russia

Abstract. Introduction. Renal malignancies accounted for 3.9% of all malignant neoplasms in Russia in 2019 and were among the top ten most common. Paraneoplastic syndrome can occur in malignant neoplasms and manifest as paraneoplastic nephropathies and glomerulopathies. The aim of the study was to analyze archival renal specimens to assess the incidence of glomerulopathies in renal neoplasms.

Materials and methods. We analyzed 122 kidney samples with a tumor after nephrectomy in Krasnoyarsk regional clinical oncologic hospital named after A.I. Kryzhanovskiy. To assess the cellular composition of the glomeruli and basement membrane structure, the following histochemical stains were used: PAS reaction, Masson's trichrome stain, methenamine silver, and congo red stain.

Results. The age of the patients ranged from 28 to 84 years. Malignant neoplasms were diagnosed in 114 cases (93.4%), whereas benign neoplasms were detected in 8 patients (6.6%). Fifty-six cases (45.9%) showed glomerulopathies. In 55 cases, glomerulopathies were found in malignant neoplasms (98.2%) and one case was found in a patient with a benign neoplasm (1.8%). Diabetic nephropathy was detected in 43 cases, accounting for 76.8%. Glomerulonephritis was diagnosed in 7 patients (12.5%) and focal segmental glomerulosclerosis was revealed in 6 cases (10.7%).

Conclusion. Glomerulopathies in renal tumors are rather common and therefore their diagnosis is important in the study of the operative material.

Keywords: kidney, tumour, glomerulopathies, paraneoplastic syndrome, diabetic nephropathy, glomerulonephritis

Corresponding author: Tatyana A. Garkusha. E-mail: sapfiradricula@yandex.ru

For citation: Garkusha T.A., Bykhanova E.A., Khorzhevskii V.A., Gappoev S.V., Firsov M.A., Ivliev S.V. The incidence of glomerulopathies in kidney neoplasms in Krasnoyarsk. Clin. exp. morphology. 2022;11(3):15–21 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.15-21.

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

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

Received 11.01.2022. **Received in revised form** 02.02.2022. **Accepted** 25.04.2022.

Введение

В клинической практике основанием для выполнения нефрэктомии чаще всего является новообразование почки. Наиболее часто в почках встречаются почечно-клеточные карциномы (ПКК). По данным литературы, в России в 2019 году диагноз злокачественного новообразования почек был установлен у 13 831 человека, что составило 3,9% всех злокачественных новообразований [1]. По данным, приведенным в Международной гистологической классификации опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов, самым частым типом злокачественных опухолей почек является светлоклеточная ПКК [2].

В литературе описаны разнообразные изменения в ткани почки, возникающие в результате как механического, так и секреторного воздействия клеток опухоли [3, 4]. Одной из причин поражения почек при злокачественных новообразованиях является паранеопластический синдром (ПНС), представляющий собой изменения, вызванные секрецией продуктов опухолевых клеток – гормонов, антигенов опухолевых клеток, цитокинов, факторов роста, прямо не связанных с ростом, инвазией и метастазированием опухоли [3]. Частота диагностирования ПНС у пациентов с почечно-клеточными карциномами составляет 10–40% [4].

Одним из проявлений ПНС являются паранеопластические нефропатии [3–13], включающие гломеруло-нефрит, фокальный сегментарный гломерулосклероз (ФСГС), моноклональные поражения, амилоидоз, тромботическую микроангиопатию и ряд других. Морфологические изменения, обнаруживаемые в ткани почки при первичных и паранеопластических гломеруло-нефритах, не отличаются. Наиболее изученной из паранеопластических нефропатий является мембранозная нефропатия (МН). При отсутствии морфологических отличий идиопатическая и паранеопластическая МН отличаются механизмом развития. При идиопатической МН основную роль играют антитела к рецептору

фосфолипазы А2, у пациентов выявляются антитела класса IgG4 [5–11]. Обнаружение в крови этих двух факторов позволяет диагностировать идиопатическую МН. Предполагается, что в развитии паранеопластической МН основную роль играют циркулирующие иммунные комплексы, состоящие из антигенов опухоли и противоопухолевых антител, в первую очередь классов IgG1, IgG2 и IgG3 [5, 7–11]. Иммунные комплексы фиксируются на эндотелии сосудов и затем перемещаются в субподцитарное пространство [6, 7, 9, 11]. В большей части случаев у таких пациентов в крови не определяются антитела к рецептору фосфолипазы А2. Вместе с этим в литературе описаны случаи ПНС с развитием мембранозной нефропатии, при которых в крови были выявлены антитела к рецептору фосфолипазы А2 [7].

Другим гломеруло-нефритом, встречающимся при злокачественных новообразованиях, является IgA-нефропатия [3–5, 8–11]. Клетки светлоклеточной ПКК могут вырабатывать интерлейкин 6, который, в свою очередь, стимулирует выработку IgA [5, 6]. При этом в литературе отсутствуют данные об аномалиях секретруемого IgA. При первичной IgA-нефропатии имеются аномалии секретруемого IgA [6], в результате чего происходит выработка к нему иммуноглобулинов класса IgG. При взаимодействии IgG с аномальным IgA происходит формирование иммунных комплексов, которые оседают в мезангии. Иммунные комплексы стимулируют пролиферацию мезангиальных клеток и увеличение мезангиального матрикса. Также возможно наличие сегментарного склероза клубочков, формирования полулуний.

Гломерулярные поражения могут возникать в связи с метаболическими нарушениями [3, 6]. Наиболее частым метаболическим нарушением является гипергликемический синдром [3, 5, 6], способный приводить к развитию диабетической нефропатии [6]. При наличии гипергликемии у пациента происходит неферментативное гликозилирование, в процессе которого альдегидные группы

сахаров взаимодействуют с аминокеттоаминокислотами белков с образованием оснований Шиффа. В дальнейшем осуществляется перегруппировка Амадори с образованием гликозилированных белков [12]. Такие изменения возникают в том числе в коллагене, являющемся белком базальных мембран капиллярных петель клубочков и мезангиального матрикса, что приводит к утолщению базальных мембран капиллярных петель, увеличению количества мезангиального матрикса без пролиферации мезангиальных клеток. Другим механизмом воздействия гипергликемии является снижение сульфатирования гепаринсульфата [12]. Увеличение количества мезангиального матрикса может сопровождаться мезангиолизисом или мезангиальным склерозом с формированием узелков Киммельстилла–Уилсона [6].

Следует также отметить, что гломерулопатии (ГП) могут возникнуть до появления опухоли и являться самостоятельным заболеванием, больше того, L.F. Fried *et al.* в своей работе [13] утверждают, что риск развития злокачественного новообразования выше при наличии хронической болезни почек. Также у пациентов с опухолью почки одним из коморбидных заболеваний может быть сахарный диабет, в том числе с микроангиопатией в виде диабетической нефропатии.

Принимая во внимание успехи лечения опухолей почек у пациентов онкологического профиля, неопухольчатая патология почек может приобретать большую клиническую значимость. При этом традиционно при исследовании препаратов почки с опухолью морфологи акцентируют внимание на собственно опухолевом субстрате, зачастую упуская фоновую гломерулярную патологию.

В связи с этим нами была поставлена цель провести анализ архивных образцов пациентов, которым была выполнена нефрэктомия по поводу новообразования почки, для выявления случаев гломерулопатий.

Материалы и методы

В исследование включены 122 образца от пациентов с опухолями почек, которым была выполнена нефрэктомия в Красноярском краевом клиническом онкологическом диспансере им. А.И. Крыжановского. Все процедуры, выполненные в исследовании, соответствуют стандартам локального этического комитета, Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 1964 года и ее последующим изменениям. От каждого пациента, включенного в исследование, получено добровольное информированное согласие на проведение манипуляции. Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов [2]. Характеристика групп пациентов по нозологическим формам и клиническим показателям представлена в таблице 1. Для оценки структур клубочка проводилось исследование гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином с дополнительными методиками: конго-рот, трихромной окраской по Массону, ШИК-реакцией, импрегнацией метенамином серебром. Статистический анализ выполнен методами вариационной статистики для непараметрических величин с использованием программы Statistica 10, StatSoft. Значения приведены в медианах с указанием 25 и 75 перцентилей.

Таблица 1 | Table 1

Характеристика исследуемых пациентов | Characteristics of the studied patients

Критерий Variable	Значение показателя Value
Возраст, лет Age, years	
18–45	11 (9%)
46–60	42 (34,4%)
более 60 over 60	69 (56,7)
Пол Sex	
женский female	55 (45,1%)
мужской male	67 (54,9%)
Опухоль Tumor	
светлоклеточная карцинома clear cell renal cell carcinoma	100 (82%)
хромофобная карцинома chromophobe renal cell carcinoma	6 (4,9%)
папиллярная карцинома почки papillary renal cell carcinoma	2 (1,6%)
инвазивная уротелиальная карцинома infiltrating urothelial carcinoma	5 (4,1%)
ангиомиолипома angiomyolipoma	3 (2,5%)
онкоцитомы oncocytoma	4 (3,3%)
лейомиома leiomyoma	1 (0,8%)
лейомиосаркома leiomyosarcoma	1 (0,8%)

Результаты

Исследованы 122 образца почек с опухолевым поражением (табл. 1). Злокачественные новообразования были диагностированы в 114 случаях (93,4%), доброкачественные новообразования выявлены у восьми пациентов (6,6%). Среди 122 образцов выявлено 56 случаев ГП, что составило 45,9%. ГП в 55 случаях были выявлены при ПКК и один случай при ангиомиолипеме почки, что составило 98,2% и 1,8%, соответственно (табл. 2). В структуре ГП преобладала диабетическая нефропатия (76,8%), второе место заняли гломерулонефриты (12,5%), фокальный сегментарный гломерулосклероз выявлен в 10,7% случаев. Диабетическая нефропатия выявлена у 43 пациентов,

из них у 17 ранее был установлен диагноз сахарного диабета, в 26 случаях имелся гипергликемический синдром, что составило 39,5% и 60,5%, соответственно. Диабетическая нефропатия была выявлена преимущественно при светлоклеточной карциноме почки, по одному случаю обнаружено при папиллярной карциноме почки и хромофобной карциноме почки (95,4%, 2,3% и 2,3%, соответственно). Медиана возраста пациентов составила 61 год (56; 66). Чаше диабетическая нефропатия выявлялась у женщин, соотношение составило 1,75:1. Отчетливая корреляция между цитологической градацией, стадией светлоклеточной карциномы почки и классом диабетической нефропатии не выявлена (табл. 3).

Таблица 2 | Table 2

Распределение гломерулопатий при опухолях почек | Distribution of glomerulopathies in renal tumours

Гломерулопатии Glomerulopathies	Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома, гистологическая градация Clear cell renal cell carcinoma, histological grading				Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома, стадия Clear cell renal cell carcinoma, stage				Хромофобная почечно-клеточная карцинома, стадия Chromophobe renal cell carcinoma, stage				Папиллярная почечно-клеточная карцинома, стадия Papillary renal cell carcinoma, stage				Ангиомиолинома Angiomyolipoma
	1	2	3	4	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	
Диабетическая нефропатия Diabetic nephropathy*	1	30	8	2	29	6	6		1						1		
Мезангиопролиферативный гломерулонефрит Mesangioproliferative glomerulonephritis*		2	1		2	1											
Мембранозная нефропатия Membranous nephropathy*		2		1	1	1		1									
Мембранопролиферативный гломерулонефрит Membranoproliferative glomerulonephritis*				1			1										
ФСГС/FSGS*		4	1		1		4										1

* – число случаев

* – number of cases

Таблица 3 | Table 3

Распределение классов диабетической нефропатии при различных гистологических вариантах карциномы почки | Distribution of classes of diabetic nephropathy in different histological variants of renal cell carcinoma

Гистологический вариант опухоли Histological variant of the tumour	Диабетическая нефропатия, класс Diabetic nephropathy, class				
	I	IIa	IIb	III	IV
Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома G1 Clear cell renal cell carcinoma G1	1				
Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома G2 Clear cell renal cell carcinoma G2		22	7	1	
Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома G3 Clear cell renal cell carcinoma G3		5	2	1	
Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома G4 Clear cell renal cell carcinoma G4			1	1	
Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома, стадия I Clear cell renal cell carcinoma, stage I	1	24	3	1	
Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома, стадия II Clear cell renal cell carcinoma, stage II		4	1	1	
Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома, стадия III Clear cell renal cell carcinoma, stage III		5	1		
Хромофобная почечно-клеточная карцинома, стадия II Chromophobe renal cell carcinoma, stage II		1			
Папиллярная почечно-клеточная карцинома, стадия II Papillary renal cell carcinoma, stage II		1			

В структуре гломерулонефритов преобладали мембранозный и мезангиопролиферативный, составившие в совокупности 42,9%. В одном случае диагностирован мембранопролиферативный гломерулонефрит (14,2%). Случаи мембранозной нефропатии (три) были выявлены при светлоклеточной карциноме почки. Медиана возраста пациентов – 66 лет (63; 69). Соотношение мужчин и женщин – 2:1. Мезангиопролиферативный гломерулонефрит был выявлен в трех случаях, все наблюдались при светлоклеточной карциноме почки. Медиана возраста пациентов составила 47 лет (38; 60). Соотношение мужчин и женщин – 2:1. Был выявлен один случай мембранопролиферативного гломерулонефрита у мужчины 55 лет при светлоклеточной карциноме почки G4, III стадии. Фокальный сегментарный гломерулосклероз выявлен в шести случаях, встречался преимущественно при светлоклеточной карциноме почки (пять случаев – 83,3%); один случай обнаружен при ангиомиолипоме. Медиана возраста пациентов – 63 года (60; 68). Соотношение женщин и мужчин – 2:1.

Обсуждение

В литературе описаны как паранеопластические нефропатии, так и ГП, связанные с метаболическими нарушениями при злокачественных опухолях. Также ГП могут представлять собой самостоятельные заболевания. ГП независимо от этиологии характеризуются двухсторонним поражением почек.

Чаще при исследовании образцов почек, резецированных по поводу опухоли, патологоанатом оценивает опухоль, упуская неопухолевые заболевания почек из виду. В результате неопухолевое поражение почки остается недиагностированным и без должного лечения может прогрессировать. Многие ГП протекают бессимптомно или малосимптомно, в связи с чем пациенты не обращаются за медицинской помощью по поводу заболевания почки. Нередко такие пациенты поступают в специализированное отделение на стадии нефросклероза, при котором основными методами терапии являются хронический диализ или трансплантация почки. Следует отметить, что даже при наличии симптомов, в том числе протеинурии, для постановки диагноза и назначения терапии нужен анализ структурных изменений почки. Для проведения морфологического исследования в таких случаях необходимо выполнение тонкоигольной нефробиопсии. В части случаев, при возникновении после пункции кровотечения, может потребоваться удаление единственной оставшейся почки.

В настоящем исследовании был поставлен вопрос о прижизненной диагностике гломерулопатий у пациентов с опухолевым поражением почки по образцам резецированной почки. При исследовании архивных образцов почек, удаленных по поводу опухолевых заболеваний, практически в половине случаев были выявлены ГП. При этом ни в одном случае при исследовании операционного материала ГП не были диагностированы.

Подавляющее большинство ГП было выявлено при злокачественных новообразованиях почек, в основном при светлоклеточной карциноме почки, что, вероятно, связано с тем, что она является самым частым новообразованием почек. Среди выявленных ГП первое место занимает диабетическая нефропатия. Она наблюдалась как у пациентов с ранее поставленным диагнозом сахарного диабета, так и у пациентов с гипергликемическим синдромом. Гипергликемический синдром может представлять собой проявление опухоли, таким образом, и диабетическая нефропатия может быть рассмотрена как следствие воздействия неоплазии. У небольшой части пациентов были выявлены гломерулонефриты и ФСГС. Сложности вызывает и отсутствие морфологических признаков, позволяющих провести дифференциальную диагностику между паранеопластическими нефропатиями и ГП иной этиологии. Для решения этой проблемы А. Тоjo в 2013 году предложил критерии паранеопластического синдрома [5].

1. Зависимость ГП и злокачественного новообразования по времени.

2. Отсутствие явной этиологии при заболевании почек.

3. Разрешение заболевания почек при удалении опухоли.

4. Связь обострения ГП с рецидивом злокачественной опухоли.

Тем не менее клинико-лабораторные данные пациентов, вошедших в исследование, были получены при госпитализации в хирургическое отделение для удаления опухоли. Информация о давности отклонения лабораторных показателей от нормальных значений отсутствовала. Ни один пациент ранее не наблюдался в связи с заболеванием почек. Дальнейшее наблюдение за пациентами не проводилось. В связи с описанным выше невозможно однозначно сказать, связаны ли ГП с опухолью.

Заключение

Гломерулопатии при новообразованиях почек широко распространены, что демонстрирует важность их диагностики морфологом при исследовании операционного материала. Наличие у пациента мочевого синдрома должно настораживать лечащего врача и морфолога в отношении гломерулопатий. Настоящая работа позволяет высказать мнение о целесообразности углубленного исследования ткани почки при опухолевых процессах. Принимая во внимание тот факт, что исследование проводили на архивных образцах, выполнение полного спектра исследований, включающих иммунофлуоресцентное и электронномикроскопическое, не представлялось возможным. В связи с этим планируется продолжить отработку алгоритма единовременного изучения ткани почек, удаленных по поводу онкологических заболеваний, всем спектром исследований, регламентированных для диагностики гломерулопатий.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Т.А. Гаркуша, Е.А. Быханова, В.А. Хоржевский, С.В. Гаппоев.
Сбор и обработка материала – Т.А. Гаркуша, Е.А. Быханова, В.А. Хоржевский, С.В. Гаппоев.
Написание текста – Т.А. Гаркуша, Е.А. Быханова.
Редактирование – В.А. Хоржевский, С.В. Гаппоев, М.А. Фирсов, С.В. Ивлиев.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – T.A. Garkusha, E.A. Bykhanova, V.A. Khorzhevskii, S.V. Gappoev.
Collected the data and performed the analysis – T.A. Garkusha, E.A. Bykhanova, V.A. Khorzhevskii, S.V. Gappoev.
Wrote the paper – T.A. Garkusha, E.A. Bykhanova.
Edited the manuscript – V.A. Khorzhevskii, S.V. Gappoev, M.A. Firsov, S.V. Ivliev.

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 исследовательского 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.).
2. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs – Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol*. 2016;70(1):93–105. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.02.029.
3. Колина И.Б., Бобкова И.Н. Поражение почек при злокачественных новообразованиях. *Клиницист*. 2014;8(2):7–16. DOI: 10.17650/1818-8338-2014-2-7-16.
Kolina IB, Bobkova IN. Renal damage with malignant neoplasms. *The Clinician*. 2014;8(2):7–16 (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8338-2014-2-7-16.
4. Song F, Liu C, Zhang J, Hu Z. Renal cell carcinoma with nephrotic syndrome: A case report and literature review. *Trans Androl Urol*. 2020;9(3):1459–65. DOI: 10.21037/tau.2020.03.41.
5. Tojo A. Paraneoplastic glomerulopathy associated with renal cell carcinoma. In: J Chen (ed.). *Renal Tumor*. London: IntechOpen, 2013. P. 109–30. DOI: 10.5772/53534. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/42639> (accessed 12th May 2022).
6. Colvin RB, Chang A. *Diagnostic Pathology: Kidney Diseases*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier, 2016. P. 48–290.
7. Джумабаева Б.Т., Бирюков Л.С. Новые аспекты патофизиологии и патоморфологии поражений почек при злокачественных опухолях. *Клиническая онкогематология*. 2015;8(4):390–396. Доступно по адресу: <https://bloodjournal.ru/novye-aspekty-patofiziologii-i-patomorfologii-porazhenij-pochek-pri-zlokachestvennyh-opuholyah> (получено 12 мая 2022 года).
Dzhumabaeva BT, Biryukov LS. New aspects of pathophysiology and pathomorphology of renal lesions in malignant tumors. *Clinical oncohematology*. 2015;8(4):390–396. Available from: <https://bloodjournal.ru/novye-aspekty-patofiziologii-i-patomorfologii-porazhenij-pochek-pri-zlokachestvennyh-opuholyah> (accessed 12th May 2022).
8. Jhaveri KD, Shah HH, Calderon K, Campenot ES, Radhakrishnan J. Glomerular diseases seen with cancer and chemotherapy: A narrative review. *Kidney Int*. 2013;84(1):34–44. DOI: 10.1038/ki.2012.484.
9. Cambier JF, Ronco P. Onco-Nephrology: Glomerular Diseases with Cancer. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(10):1701–12. DOI: 10.2215/CJN.03770412.
10. Pani A, Porta C, Cosmai L, Melis P, Floris M, Piras D et al. Glomerular diseases and cancer: Evaluation of underlying malignancy. *J Nephrol*. 2016;29(2):143–52. DOI: 10.1007/s40620-015-0234-9.
11. Lien YH, Lai LW. Pathogenesis, diagnosis and management of paraneoplastic glomerulonephritis. *Nat Rev Nephrol*. 2011;7(2):85–95. DOI: 10.1038/nrneph.2010.171.
12. Жариков А.Ю., Щекочихина П.О. Диабетическая нефропатия. Современный взгляд на проблему. *Бюллетень медицинской науки*. 2018;2(10):24–31.
Zharikov AY, Shchekochikhina PO. Diabetic nephropathy. Modern view of the problem. *Bulletin of Medical Science*. 2018;2(10):22–28 (In Russ.).
13. Fried LF, Katz R, Sarnak MJ, Shlipak MG, Chaves PH, Jenny NS et al. Kidney function as a predictor of noncardiovascular mortality. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(12):3728–35. DOI: 10.1681/ASN.2005040384.

Информация об авторах

Татьяна Андреевна Гаркуша – врач-патологоанатом Красноярского краевого патологоанатомического бюро.

Елена Александровна Быханова – студентка 6-го курса Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого.

Владимир Алексеевич Хоржевский – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача Красноярского краевого патологоанатомического бюро, заведующий кафедрой патологической анатомии имени профессора П.Г. Подзолкова Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого.

Станислав Витальевич Гаппоев – заведующий лабораторией электронной и иммунофлуоресцентной микроскопии, врач-патологоанатом Красноярского краевого патологоанатомического бюро, ассистент кафедры патологической анатомии имени профессора П.Г. Подзолкова Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого.

Михаил Анагольевич Фирсов – кандидат медицинских наук, уролог краевой клинической больницы, заведующий кафедрой урологии, андрологии и сексологии ИПО Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого.

Сергей Викторович Ивлиев – кандидат медицинских наук, нефролог краевой клинической больницы, ассистент кафедры терапии ИПО Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого.

Author information

Tatyana A. Garkusha – Pathologist, Krasnoyarsk Regional Pathoanatomical Bureau.

<https://orcid.org/0000-0002-3343-6973>

Elena A. Bykhanova – 6-year student, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-2623-5310>

Vladimir A. Khorzhevskii – Cand. Sci. (Med.), Deputy Chief of the Krasnoyarsk Regional Pathoanatomical Bureau; Head of the P.G. Podzolkov Pathology Department, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-9196-7246>

Stanislav V. Gappoev – Head of the Laboratory of the Electron and Immunofluorescence Microscopy, Pathologist, Krasnoyarsk Regional Pathoanatomical Bureau; Teaching Assistant, P.G. Podzolkov Pathology Department, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-6789-4860>

Mikhail A. Firsov – Cand. Sci. (Med.), Urologist, Regional Clinical Hospital; Head of the Urology, Andrology and Sexology Department, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-0887-0081>

Sergey V. Ivliev – Cand. Sci. (Med.), Nephrologist, Regional Clinical Hospital; Teaching Assistant, Therapy Department, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-0606-872X>

Межклеточные контакты, пролиферация и апоптоз эпителия десны у пациентов с пародонтитом после лазерной терапии

Е.М. Сперанская¹, Е.В. Москвичев^{1,2}, О.Ю. Кострова¹,
Е.М. Лузикова¹, Л.М. Меркулова¹, Г.Ю. Стручко¹

¹ ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия

² АУ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Чувашии, Чебоксары, Россия

Резюме. *Введение.* E-кадгерин участвует в образовании межклеточных контактов и защищает эпителиоциты десны от апоптоза, регулируя в них процесс пролиферации. Недостаточно изученным остается вопрос о воздействии диодного лазера на межклеточные контакты, пролиферацию и апоптоз эпителиоцитов десны в разные возрастные периоды. Целью исследования стало проведение сравнительного анализа пролиферативной и апоптотической активности эпителиоцитов десны человека и их межклеточного взаимодействия при хроническом воспалении, а также при терапии диодным лазером в возрастном аспекте.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие пациенты без воспаления пародонта (n=30) и пациенты с хроническим пародонтитом (n=30). Исследуемые были разделены на две возрастные группы: в I группу вошли пациенты в возрасте 20–40 лет, во II группу – 41–60 лет. Каждая возрастная группа была поделена на подгруппы: контрольная подгруппа – пациенты без воспаления десны; подгруппа с воспалением пародонта – пациенты с хроническим пародонтитом; подгруппа после лазеротерапии – пациенты после терапии диодным лазером Prometeu с длиной волны 940 нм. Проводили иммуногистохимические исследования с применением моноклональных антител к Ki-67, p53, E-кадгерину, компьютерную морфометрию и статистический анализ данных.

Результаты. При пародонтите сочетается снижение количества пролиферирующих эпителиоцитов и уменьшение числа E-кадгеринпозитивных межклеточных контактов в базальном и шиповатом слоях эпителия десны у людей как молодого, так и зрелого возраста (p=0,00002). Воздействие диодного лазера положительно воздействует на пролиферативную активность эпителиоцитов и достоверно увеличивает количество E-кадгеринпозитивных межклеточных контактов в базальном слое (p=0,00002), но не влияет на экспрессию p53 (p=0,9) в эпителии десны во всех возрастных периодах.

Заключение. Воздействие диодного лазера вызывает увеличение индекса пролиферации/апоптоза в эпителии десны и приближает показатели экспрессии E-кадгерина к контрольным значениям.

Ключевые слова: эпителий десны, хронический пародонтит, диодный лазер, Ki-67, p53, E-кадгерин

Для корреспонденции: Екатерина Михайловна Сперанская. E-mail: katerina_dumspirospero@mail.ru

Для цитирования: Сперанская Е.М., Москвичев Е.В., Кострова О.Ю., Лузикова Е.М., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю. Межклеточные контакты, пролиферация и апоптоз эпителия десны у пациентов с пародонтитом после лазерной терапии. Клини. эксп. морфология. 2022;11(3):22–29. DOI: 10.31088/SEM2022.11.3.22-29.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 25.04.2022. Получена после рецензирования 10.06.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Intercellular junctions, proliferation, and apoptosis of the gingival epithelium in patients with periodontitis after laser therapy

Е.М. Speranskaya¹, Е.В. Moskvichev^{1,2}, О.Ю. Kostrova¹, Е.М. Luzikova¹, Л.М. Merkulova¹, G. Yu. Struchko¹

¹ IN Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

² Republic Clinical Oncology Dispensary of the Ministry of Health of Chuvashia, Cheboksary, Russia

Abstract. *Introduction.* E-cadherin participates in the formation of intercellular junctions and protects the epitheliocytes of the gums from apoptosis and regulates proliferation in them. The effect of a diode laser on intercellular contacts, proliferation, and apoptosis of gum epitheliocytes at various ages remains poorly

studied. The purpose of the paper was to conduct a comparative analysis of the proliferative and apoptotic activity of human gingival epitheliocytes and their intercellular interaction in chronic inflammation, as well as in age-related diode laser therapy.

Materials and methods. The study included patients with and without periodontal inflammation (30 patients in each group). The subjects were divided into 2 age groups: group I included patients aged 20–40 years, whereas group II – 41–60 years. Each age group was divided into subgroups: the control subgroup (patients without gingival inflammation); subgroup with periodontal inflammation (patients with chronic periodontitis); and subgroup after laser therapy (patients after therapy with 940-nm Prometey diode laser). We performed immunohistochemical studies using monoclonal antibodies to Ki-67, p53, E-cadherin; as well as computer morphometry and statistical data analysis.

Results. Periodontitis combines a decrease in the number of both proliferating epitheliocytes and E-cadherin-positive intercellular contacts in the basal and spiny layers of the gum epithelium in both young and mature adults ($p=0.00002$). Exposure of a diode laser has a positive effect on the proliferative activity of epithelial cells and significantly increases the number of E-cadherin-positive intercellular contacts in the basal layer ($p=0.00002$), but does not affect the expression of p53 ($p=0.9$) in the gum epithelium in all age groups.

Conclusion. Exposure of a diode laser increases the proliferation/apoptosis index in the gingival epithelium and brings the expression of E-cadherin closer to the control values.

Keywords: gingival epithelium, chronic periodontitis, diode laser, Ki-67, p53, E-cadherin

Corresponding author: Ekaterina M. Speranskaya. E-mail: katerina_dumspirospero@mail.ru

For citation: Speranskaya E.M., Moskvichev E.V., Kostrova O.Yu., Luzikova E.M., Merkulova L.M., Struchko G.Yu. Intercellular junctions, proliferation, and apoptosis of the gingival epithelium in patients with periodontitis after laser therapy. *Clin. exp. morphology.* 2022;11(3):22–29 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.22-29.

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

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

Received 25.04.2022. **Received in revised form** 10.06.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Эпителиальный барьер десны напрямую зависит от процессов апоптоза, пролиферации и состояния межклеточных контактов эпителиоцитов. Целостность эпителиального пласта обеспечивается белком клеточной адгезии E-кадгерином, участвующим в образовании межклеточных контактов сцепляющего типа. Молекула E-кадгерина защищает эпителиоциты от апоптоза, регулируя в них процесс пролиферации [1].

При старении в клетках базального и шиповатого слоев ослабевают межклеточные контакты [2]. Анаэробные бактерии, такие как *Porphyromonas gingivalis*, также отрицательно влияют на процессы межклеточной адгезии в эпителиоцитах десны [3–6]. При воздействии LPS *P. gingivalis* экспрессия E-кадгерина в эпителиальных клетках десны человека снижается, что повышает риск проникновения патогенных липополисахаридов. Следовательно, происходит разрушение эпителиального барьера десны, что приводит к развитию хронического пародонтита [3].

В последнее десятилетие в качестве дополнительного метода лечения хронического пародонтита активно используется излучение диодного лазера [7, 8]. Отсутствие данных о стандартной процедуре в отношении режима, уровня энергии или периода применения диодных лазеров, используемых при лечении пародонта, обуславливает актуальность настоящего исследования [8, 9].

Межклеточное взаимодействие эпителиальных клеток десны, их пролиферативная и апоптотическая активность в различные возрастные периоды человека недостаточно изучены.

Цель исследования – провести сравнительный анализ пролиферативной и апоптотической активности эпителиоцитов десны человека и их межклеточного взаимодействия при хроническом воспалении, а также при терапии диодным лазером в возрастном аспекте.

Материалы и методы

Работа выполнена на биопсийном материале десны человека, полученном от 30 пациентов без воспаления пародонта и 30 пациентов с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести. Возраст пациентов, участвовавших в исследовании, составил от 20 до 60 лет. Биопсийный материал был взят у пациентов, обратившихся в Республиканскую стоматологическую поликлинику Минздрава Чувашии (Чебоксары). Перед биопсией всем пациентам проводили инфильтрационную анестезию 2% раствором лидокаина. Все участники исследования подписали информированное добровольное согласие.

Пациенты были разделены на две группы, каждая из которых подразделялась на три подгруппы (табл. 1).

Биопсию десны в контрольных подгруппах проводили после удаления зубов по ортопедическим, хирургическим и ортодонтическим показаниям. В подгруп-

Распределение пациентов по группам | Patient distribution in groups

Группа и возраст Group and age	Подгруппа и число пациентов (n) Subgroup and number of patients (n)
I (молодой возраст, 20–40 лет) I (young age, 20–40 years)	Контрольная подгруппа 1 (n=15) – пациенты без воспаления пародонта Control subgroup 1 (n=15) – patients without periodontal inflammation
	Подгруппа с воспалением пародонта 1 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести Periodontal inflammation subgroup 1 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis
	Подгруппа после лазеротерапии 1 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести после воздействия диодным лазером Subgroup after laser therapy 1 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis after diode laser exposure
II (зрелый возраст, 41–60 лет) II (mature age, 41–60 years)	Контрольная подгруппа 2 (n=15) – пациенты без воспаления пародонта Control subgroup 2 (n=15) – patients without periodontal inflammation
	Подгруппа с воспалением пародонта 2 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести Periodontal inflammation subgroup 2 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis
	Подгруппа после лазеротерапии 2 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести после воздействия диодным лазером Subgroup after laser therapy 2 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis after diode laser exposure

пах с воспалением пародонта и в подгруппах после лазеротерапии биопсийный материал был получен после проведения закрытого кюретажа. В подгруппах пациентов с воспалением пародонта кюретаж проводили после профессиональной гигиены полости рта в первое посещение (1-й день лечения).

Пародонтальные карманы в полости рта пациентов подгрупп после лазеротерапии обрабатывали диодным лазером Prometeu (Spectrum International, США) с длиной волны 940 нм, мощностью 0,5 Вт, импульсно-периодическим режимом 10 Гц без инициации оптического волокна в течение 1 минуты 30 секунд в первое посещение – 1-й день лечения (после проведения закрытого кюретажа пародонтального кармана), во второе посещение – 3-й день лечения и третье посещение – 7-й день лечения. Биопсийный материал у пациентов данных подгрупп был взят после проведения лазеротерапии и закрытого кюретажа в третье посещение.

Исследование проводили на базе патологоанатомического отделения Республиканского клинического онкологического диспансера Минздрава Чувашии (Чебоксары).

В ходе исследования применяли иммуногистохимический метод, компьютерную морфометрию, статистическую обработку данных.

1. Иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител:

а) Ki-67 в разведении 1:400 (Dako, Дания);

б) p53 в разведении 1:800 (Leica, Германия);

в) E-кадгерин в готовом разведении (RTU) (Leica, Германия).

Для иммуногистохимического исследования материал фиксировали в забуференном 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов. Далее его заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной

4 мкм. Срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре +37°C 18 часов. Иммуногистохимическое окрашивание, демаскировку проводили на автостейнере Leica DM 4000B (Leica, Германия). Неиммунизированная кроличья сыворотка служила контролем иммуногистохимической реакции. В каждом образце была исследована экспрессия Ki-67, p53, E-кадгерина. Ядра клеток докрашивали гематоксилином.

2. Компьютерную морфометрию проводили с использованием лицензионных программ Leica application suite 3.6.0 (Leica, Германия) и программного обеспечения «Микроанализ» (ООО «Микроанализ», Россия).

В эпителии десны подсчитывали число эпителиоцитов с позитивной экспрессией к Ki-67 и p53 на 100 клеток базального и шиповатого слоев в 10 полях зрения при $\times 400$. В результате определяли процент иммунопозитивных к Ki-67 и p53 эпителиоцитов и индекс отношения пролиферации к апоптозу ($I_{p/A} = \text{Ki-67-положительных эпителиоцитов} / \text{p53-положительных эпителиоцитов}$) [10].

Экспрессию E-кадгерина оценивали качественно и количественно. Качественная оценка основана на интенсивности окрашивания плазмолеммы: 0 баллов – окрашивание отсутствует; 1 балл – слабое окрашивание в бежевый цвет; 2 балла – окрашивание средней интенсивности в коричневый цвет; 3 балла – сильное окрашивание в темно-коричневый цвет [11].

Количественную оценку E-кадгерин-положительных эпителиоцитов с сильным окрашиванием межклеточных контактов на 100 клеток базального и шиповатого слоев многослойного плоского эпителия десны проводили в 10 полях зрения при $\times 400$.

3. Статистическую обработку данных проводили с использованием лицензионного пакета программ

Statistica Application версия 10.0.228.2 (StatSoft, США). В каждой подгруппе рассчитывали среднее арифметическое и стандартное отклонение. Нормальность распределения данных определяли с использованием теста Колмогоров-Смирнова и Лиллиефорса. Для определения значимости различий между группами был использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим тестом высокосignификантных различий Тьюки $p \leq 0,05$ [12].

Дизайн данного исследования одобрен этическим комитетом медицинского факультета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (протокол № 20/06 от 16.06.2020).

Результаты

При иммуногистохимическом исследовании обнаружено, что распределение Ki-67-положительных эпителиоцитов в I и II группах было неоднородным (рис. 1). Так, в группе пациентов молодого возраста (I группа, 20–40 лет) процент пролиферирующих клеток эпителия в подгруппах был распределен следующим образом: контрольная подгруппа 1 – 28,3% (рис. 1 А); подгруппа с воспалением пародонта 1 – 22,8% (рис. 1 В); подгруппа после лазеротерапии 1 – 38,5% (рис. 1 С).

Следовательно, в молодом возрасте (20–40 лет) при хроническом пародонтите снижается пролиферативная активность эпителиоцитов десны в 1,2 раза ($p=0,00002$) по сравнению с подгруппой контроля 1. Процент пролиферирующих эпителиальных клеток после терапии диодным лазером увеличивается в 1,7 раза по сравнению с подгруппой с воспалением пародонта 1 ($p=0,00002$).

Процентное содержание Ki-67-положительных клеток в эпителии десны группы пациентов зрелого возраста (II группа, 41–60 лет) было следующим (рис. 2 А–С): контрольная подгруппа 2 – 26,9%; подгруппа с воспалением пародонта 2 – 18,6%; подгруппа после лазеротерапии 2 – 37,7%.

Таким образом, у пациентов зрелого возраста при хроническом пародонтите (подгруппа с воспалением пародонта 2) уменьшается процент пролиферирующих клеток базального и шиповатого слоев в 1,4 раза ($p=0,00002$) по сравнению с подгруппой без воспаления пародонта (контрольная подгруппа 2). В образцах десны пациентов 41–60 лет после лазеротерапии процент Ki-67-положительных эпителиальных клеток достоверно увеличивается в 2 раза ($p=0,00002$) по сравнению с подгруппой с хроническим пародонтитом.

Белок p53 в образцах десны преимущественно локализовался в базальном и шиповатом слоях много-

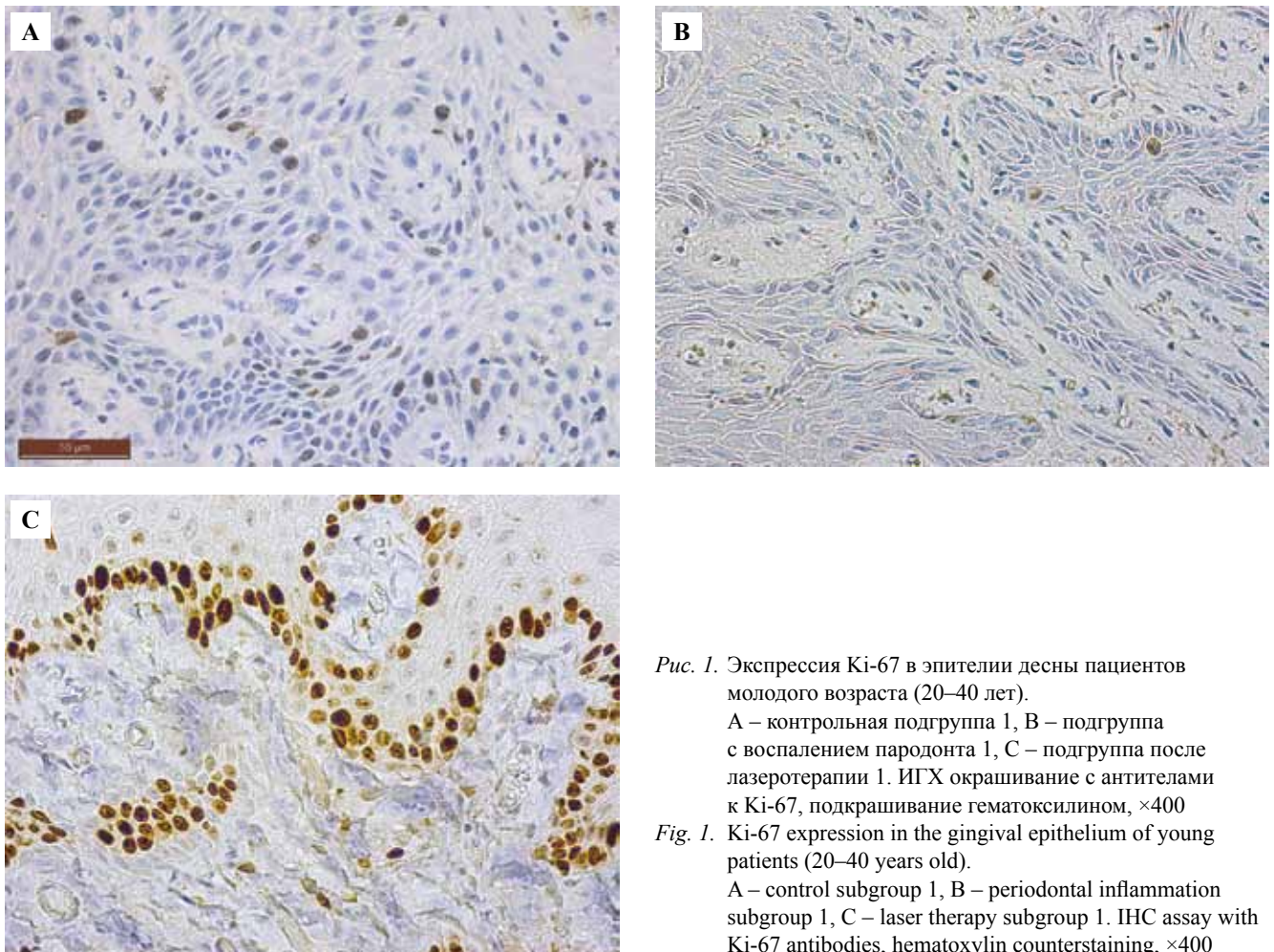


Рис. 1. Экспрессия Ki-67 в эпителии десны пациентов молодого возраста (20–40 лет).

А – контрольная подгруппа 1, В – подгруппа с воспалением пародонта 1, С – подгруппа после лазеротерапии 1. ИГХ окрашивание с антителами к Ki-67, подкрашивание гематоксилином, $\times 400$

Fig. 1. Ki-67 expression in the gingival epithelium of young patients (20–40 years old).

А – control subgroup 1, В – periodontal inflammation subgroup 1, С – laser therapy subgroup 1. IHC assay with Ki-67 antibodies, hematoxylin counterstaining, $\times 400$

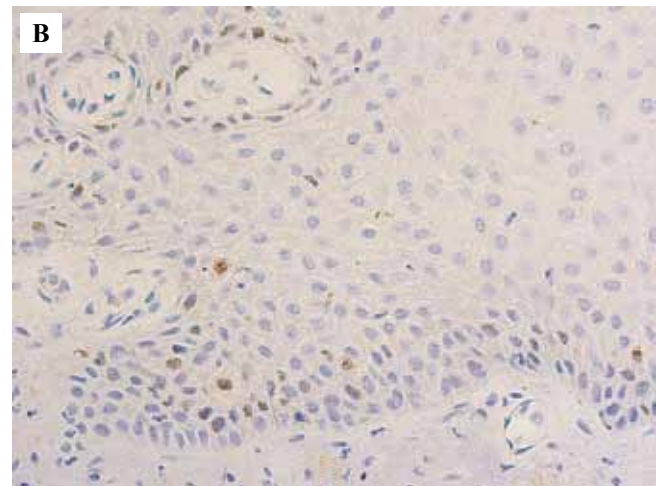
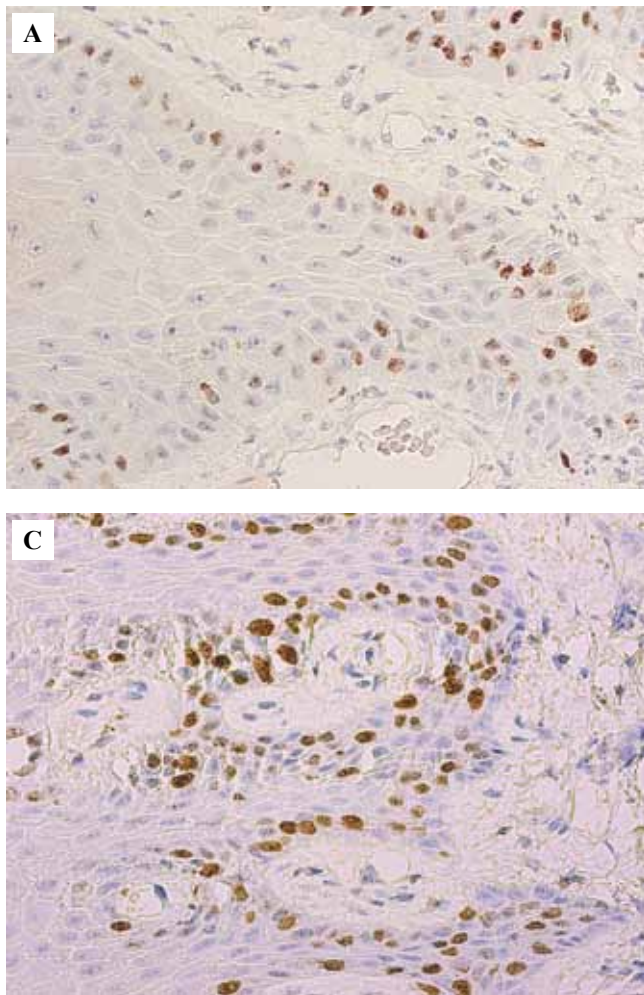


Рис. 2. Экспрессия Ki-67 в эпителии десны пациентов среднего возраста (41–60 лет).
А – контрольная подгруппа 2, В – подгруппа с воспалением пародонта 2, С – подгруппа после лазеротерапии 2. ИГХ окрашивание с антителами к Ki-67, подкрашивание гематоксилином, $\times 400$

Fig. 2. Ki-67 expression in the gingival epithelium of middle-aged patients (41–60 years old).
A – control subgroup 2, B – periodontal inflammation subgroup 2, C – laser therapy subgroup 2. IHC assay with Ki-67 antibodies, hematoxylin counterstaining, $\times 400$

слоистого плоского эпителия. Выявлено неравномерное распределение данного маркера в I (молодой возраст) и II (зрелый возраст) группах (рис. 3). В образцах десны пациентов молодого возраста наблюдали отсутствие достоверно значимых изменений экспрессии маркера p53 в подгруппах: контрольная подгруппа 1 – 12,8%; подгруппа с воспалением пародонта 1 – 13,5%; подгруппа после лазеротерапии 1 – 13,2% ($p=0,6$).

В группе пациентов 41–60 лет (II группа) имеют место различия в подгруппах по степени экспрессии p53: контрольная подгруппа 2 – 17,5%; подгруппа с воспалением пародонта 2 – 8,5%; подгруппа после лазеротерапии 2 – 8,8%.

Таким образом, наивысшую степень экспрессии маркера p53 наблюдали у пациентов зрелого возраста без воспаления пародонта. В образцах десны с хроническим пародонтитом пациентов 41–60 лет процент p53 положительных эпителиоцитов достоверно уменьшается в 2 раза ($p=0,00002$). В базальном и шиповатом слоях после терапии диодным лазером наблюдали незначительное увеличение экспрессии p53 в эпителиоцитах десны ($p=0,9$).

Экспрессия маркера межклеточной адгезии (Е-кадгерин) имела отличия между группами пациентов молодого и зрелого возраста. Так, в I группе (20–40 лет)

в базальном и шиповатом слоях многослойного эпителия десны распределение Е-кадгерин-положительных межклеточных контактов с интенсивной окраской в подгруппах неоднородно. При хроническом пародонтите (подгруппа с воспалением пародонта 1) процент межклеточных контактов с положительной окраской

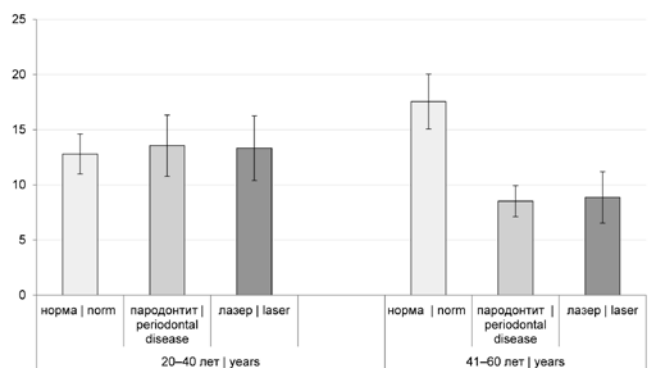


Рис. 3. Экспрессия p53 в эпителии десны пациентов молодого и среднего возраста. ИГХ окрашивание с антителами к p53, подкрашивание гематоксилином, $\times 400$

Fig. 3. p53 expression in the gingival epithelium of young and middle-aged patients. IHC assay with p53 antibodies, hematoxylin counterstaining, $\times 400$

Таблица 2 | Table 2

Е-кадгеринположительные межклеточные контакты в базальном и шиповатом слоях десны пациентов в I и II группах (M ± SD) | E-cadherin-positive intercellular contacts in basal and spiked gingival layers of patients in groups I and II (M ± SD)

Группа group	Подгруппа Subgroup / количество измерений, n number of measurements, n	Базальный слой, усл. ед. basal layer, cond. units	p, базальный слой basal layer	Шиповатый слой, усл. ед. spiked layer, cond. units	p, шиповатый слой spiked layer
I	Контрольная подгруппа 1 Control subgroup 1 / (n=150)	9,7±0,9	*p=0,00002 **p=0,000034	13,3±1,7	*p=0,00002 **p=0,43
	Подгруппа с воспалением пародонта 1 Inflammatory subgroup Periodontal 1 / (n=150)	7,3±0,8		8,8±0,5	
	Подгруппа после лазеротерапии 1 Laser therapy subgroup 1 / (n=150)	8,7±0,7		9,38±0,9	
II	Контрольная подгруппа 2 Control subgroup 2 / (n=150)	7,5±0,6	***p=0,00002 ****p=0,00002	9,48±0,7	***p=0,00002 ****p=0,00002
	Подгруппа с воспалением пародонта 2 Inflammatory subgroup Periodontal 2 / (n=150)	2,5±0,3		6,5±0,4	
	Подгруппа после лазеротерапии 2 Laser therapy subgroup 2 / (n=150)	5,4±0,4		8,5±0,7	

- * – сравнение подгруппы контроля 1 с подгруппой с воспалением пародонта 1
 ** – сравнение подгруппы с воспалением пародонта 1 с подгруппой после лазеротерапии 1
 *** – сравнение подгруппы контроля 2 с подгруппой с воспалением пародонта 2
 **** – сравнение подгруппы с воспалением пародонта 2 с подгруппой после лазеротерапии 2
 * – comparison of control subgroup 1 with subgroup with periodontal inflammation 1
 ** – comparison of periodontal inflammation subgroup 1 with laser therapy subgroup 1
 *** – comparison of control subgroup 2 with subgroup with periodontal inflammation 2
 **** – comparison of periodontal inflammation subgroup 2 with laser therapy subgroup 2

уменьшается в базальном слое в 1,3 раза, в шиповатом слое – в 1,5 раза по сравнению с контрольной подгруппой 1. При сравнении образцов десны пациентов подгруппы после лазеротерапии 1 с подгруппой с воспалением пародонта 1 показатели экспрессии Е-кадгерина в межклеточных контактах в базальном слое достоверно повышаются в 1,2 раза. В шиповатом слое в сравниваемых подгруппах статистически достоверная значимая разница не обнаружена (табл. 2).

В образцах десны пациентов зрелого возраста с воспалением пародонта уменьшается процент Е-кадгеринположительных межклеточных контактов с сильным окрашиванием в базальном слое в 3 раза,

в шиповатом слое – в 1,4 раза по сравнению с контрольной подгруппой 2. После лазеротерапии наблюдали повышение процента интенсивно окрашенных межклеточных контактов в 2,1 раза в базальном слое и в 1,3 раза в шиповатом (табл. 2).

Индекс отношения пролиферации и апоптоза свидетельствует об интенсивности регенеративных процессов в ткани десны. В своем исследовании мы наблюдали снижение интенсивности регенерации при пародонтите в молодом возрасте в 1,2 раза ($p=0,01$) и повышение в зрелом возрасте в 1,5 раза ($p=0,0004$) (рис. 4). При лечении диодным лазером отмечали увеличение интенсивности регенерации в молодом возрасте в 1,7 раза ($p=0,0003$), в зрелом – в 2,9 раза ($p=0,00002$) по сравнению с хроническим пародонтитом.

Обсуждение

В нашем исследовании проведен анализ изменений процессов пролиферации и апоптоза, а также числа Е-кадгеринположительных межклеточных контактов в эпителиоцитах десны человека в возрастном аспекте.

В результате проведенного исследования установлено, что в образцах десны пациентов без воспаления пародонта возраст не влияет на число пролиферирующих эпителиоцитов ($p=0,03$). Также установлено, что в данных образцах количество Е-кадгеринположительных межклеточных контактов в эпителии десны пациентов 20–40 лет достоверно больше в базальном слое – в 1,3 раза ($p=0,00002$) и в шиповатом слое – в 1,4 раза

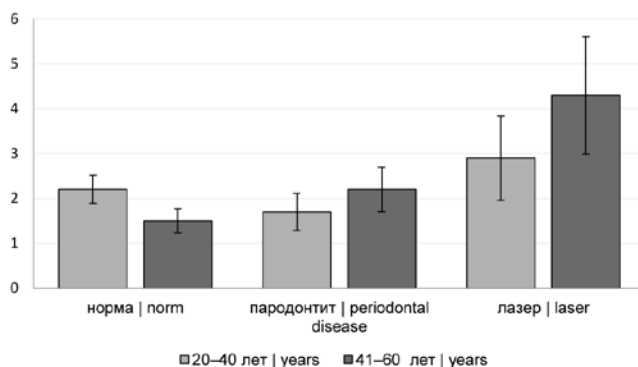


Рис. 4. Индекс отношения пролиферации и апоптоза ($I_{p/a}$) в исследуемых группах

Fig. 4. Index of the ratio of proliferation and apoptosis ($I_{p/a}$) in the studied groups

($p=0,00002$), чем у пациентов 41–60 лет. Высокая экспрессия E-кадгерина в здоровых деснах напрямую коррелирует с барьерными свойствами эпителия десны [12, 13].

Сниженная интенсивность пролиферации эпителиоцитов при пародонтите сочетается со сниженной экспрессией E-кадгерина в базальном и шиповатом слоях эпителия десны, что, вероятно, объясняет снижение барьерных свойств эпителия при пародонтите у людей как молодого, так и зрелого возраста ($p=0,00002$). Экспрессия E-кадгерина снижается при воспалении эпителия десны [14], что приводит к потере межклеточных соединений [15]. Полученные нами данные частично расходятся с результатами исследования P. Preethi et al., в котором низкая экспрессия белка Ki-67 наблюдалась в ткани здоровых десен, высокая – при хроническом пародонтите. Процентное соотношение Ki-67-положительных эпителиоцитов пациентов со здоровым пародонтом (18–26 лет) в данном исследовании совпадает с нашими результатами в группе пациентов молодого возраста без воспаления пародонта. В работе P. Preethi пациенты с пародонтитом не были разделены на возрастные группы, возраст участников исследования варьировал от 28 до 67 лет [16].

Диодный лазер, усиливая пролиферацию эпителиоцитов десны независимо от возраста человека, достоверно увеличивает количество E-кадгерин-позитивных межклеточных контактов в базальном слое эпителия молодых пациентов ($p=0,00003$), а также в базальном и шиповатом слоях в эпителии пациентов зрелого возраста ($p=0,00002$).

В группе пациентов без воспаления пародонта число р53-положительных эпителиоцитов десны в зрелом возрасте достоверно выше, чем в молодом, в 1,4 раза ($p=0,00002$).

Обращает на себя внимание тот факт, что в молодом возрасте ни пародонтит ($p=0,6$), ни воздействие диодного лазера ($p=0,9$) значимо не влияют на численность р53-положительных эпителиоцитов. Напротив, в зрелом возрасте при пародонтите достоверно уменьшается количество р53-положительных эпителиоцитов ($p=0,00002$), но при воздействии диодным лазером достоверные изменения не проявляются ($p=0,9$). Белок р53 ингибирует процесс воспаления, а его потеря вызывает развитие воспалительных реакций [17]. Следовательно, можно предположить, что лазерное излучение не влияет на процесс апоптоза в эпителиальных клетках десны при трехкратном воздействии на пародонтальные карманы диодным лазером с длиной волны 940 нм.

Заключение

Снижение индекса пролиферации/апоптоза и уменьшение количества E-кадгерина в межклеточных контактах эпителиоцитов свидетельствуют о деструктивных процессах в ткани десны. Терапия хронического пародонтита диодным лазером увеличивает индекс

пролиферации/апоптоза в эпителии десны и приближает показатели экспрессии E-кадгерина к контрольным значениям у пациентов как молодого, так и зрелого возраста.

Результаты нашего исследования могут быть использованы при лечении пациентов с хроническим пародонтитом диодным лазером в различные возрастные периоды, а также в экспериментальных исследованиях для оценки регенеративных процессов в тканях.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.М. Сперанская.

Сбор и обработка материала – Е.М. Сперанская, Е.В. Москвичев, Е.М. Лузикова.

Написание текста – Е.М. Сперанская, О.Ю. Кострова, Л.М. Меркулова.

Редактирование – Е.М. Сперанская, Е.В. Москвичев, Г.Ю. Стручко.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.M. Speranskaya.

Collected the data and performed the analysis – E.M. Speranskaya, E.V. Moskvichev, E.M. Luzikova.

Wrote the paper – E.M. Speranskaya, O.Yu. Kostrova, L.M. Merkulova.

Edited the manuscript – E.M. Speranskaya, E.V. Moskvichev, G.Yu. Struchko.

Литература/References

1. Zasadkevich YM, Brilliant AA, Sazonov SV. Role of cadherins in health and in developing breast cancer. *Arkh Patol.* 2015;77(3):57–64. DOI: 10.17116/patol201577357-64.
2. Wael Youssef E. Age-dependent differential expression of apoptotic markers in rat oral mucosa. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19(11):3245–50. DOI: 10.31557/APJCP.2018.19.11.3245.
3. Yost S, Duran-Pinedo AE, Krishnan K, Frias-Lopez J. Potassium is a key signal in host-microbiome dysbiosis in periodontitis. *PLoS Pathog.* 2017; 13(6):e1006457. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006457.
4. Bugueno IM, Batool F, Keller L, Kuchler-Bopp S, Benkirane-Jessel N, Huck O. *Porphyromonas gingivalis* bypasses epithelial barrier and modulates fibroblastic inflammatory response in an in vitro 3D spheroid model. *Sci Rep.* 2018;8(1):14914. DOI: 10.1038/s41598-018-33267-4.
5. Groeger S, Meyle J. Oral mucosal epithelial cells. *Front Immunol.* 2019;10:208. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00208.
6. Walkenhorst MS, Reyes L, Perez G, Progulsk-Fox A, Brown MB, Phillips PL. A uniquely altered oral microbiome composition was observed in pregnant rats with *Porphyromonas gingivalis* induced periodontal disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:92. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00092.
7. Yadwad KJ, Veena HR, Patil SR, Shivaprasad BM. Diode laser therapy in the management of chronic periodontitis – A clinico-microbiological study. *Interv Med Appl Sci.* 2017;9(4):191–8. DOI: 10.1556/1646.9.2017.38.
8. Malgikar S, Reddy SH, Sagar SV, Satyanarayana D, Reddy GV, Josephin JJ. Clinical effects of photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to scaling and root planing of chronic periodontitis: A split-mouth randomized controlled clinical trial. *Indian J Dent Res.* 2016;27(2):121–6. DOI: 10.4103/0970-9290.183130.

9. *Uslu MÖ, Eltas A, Marakoğlu İ, Dündar S, Şahin K, Özercan İH.* Effects of diode laser application on inflammation and mpo in periodontal tissues in a rat model. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170266. DOI: 10.1590/1678-7757-2017-0266.
10. *Кудинова Е.А., Боженко В.К., Кулинич Т.М., Джикия Е.Л., Захаренко М.В., Макарова М.В. и др.* Оценка соотношения пролиферации и апоптоза в ткани молочной железы в норме и при гиперпролиферативных процессах. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России.* 2019;19(2):25–39. Доступно по ссылке: http://vestnik.mrcr.ru/vestnik/v19/docs/kudinova_v2.pdf (получено 25.08.22). *Kudinova EA, Bozhenko VK, Kulnich TM, Dzhikiya EL, Zakharchenko MV, Makarova MV et al.* Evaluation of the ratio of proliferation and apoptosis in breast tissue in normal and hyperproliferative processes. *Vestnik (Herald) of the Russian Scientific Center of Roentgen Radiology.* 2019;19(2):25–39 (In Russ.). Available from: http://vestnik.mrcr.ru/vestnik/v19/docs/kudinova_v2.pdf (assessed 25.08.22)
11. *Новикова И.А., Кум О.И.* Особенности экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода – E-кадгерина и ZEB1 – при колоректальном раке. *Исследования и практика в медицине.* 2021;8(2):23–33. DOI: 10.17709/2410-1893-2021-8-2-2.
Novikova IA, Kit OI. Expression of epithelial-mesenchymal transition markers E-cadherin and ZEB1 in colorectal cancer. *Research and Practical Medicine Journal.* 2021;8(2):23–33 (In Russ.). DOI: 10.17709/2410-1893-2021-8-2-2.
12. *Arun R, Hemalatha R, Arun KV, Kumar T.* E-cadherin and CD1a expression in gingival epithelium in periodontal health, disease and post-treatment. *Indian J Dent Res.* 2010;21(3):396–401. DOI: 10.4103/0970-9290.70811.
13. *Abe-Yutori M, Chikazawa T, Shibasaki K, Murakami S.* Decreased expression of E-cadherin by Porphyromonas gingivalis-lipopolysaccharide attenuates epithelial barrier function. *J Periodontal Res.* 2017;52(1):42–50. DOI: 10.1111/jre.12367.
14. *Oh C, Kim HJ, Kim HM.* Vitamin D maintains E-cadherin intercellular junctions by downregulating MMP-9 production in human gingival keratinocytes treated by TNF-α. *J Periodontal Implant Sci.* 2019;49(5):270–86. DOI: 10.5051/jpis.2019.49.5.270.
15. *Arora H, Madapusi BT, Ramamurti A, Narasimhan M, Periasamy S, Rao SR.* Immunohistochemical localization of epithelial mesenchymal transition markers in Cyclosporine a induced gingival overgrowth. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(8):ZC48–52. DOI: 10.7860/JCDR/2016/20808.8271.
16. *Preethi PL, Rao SR, Madapusi BT, Narasimhan M.* Immunolocalization of Ki-67 in different periodontal conditions. *J Indian Soc Periodontol.* 2014;18(2):161–5. DOI: 10.4103/0972-124X.131315.
17. *Mijit M, Caracciolo V, Melillo A, Amicarelli F, Giordano A.* Role of p53 in the regulation of cellular senescence. *Biomolecules.* 2020;10(3):420. DOI: 10.3390/biom10030420.

Информация об авторах

Екатерина Михайловна Сперанская – старший преподаватель, аспирант кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

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.

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

Елена Михайловна Лузикова – кандидат биологических наук, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Лариса Михайловна Меркулова – доктор медицинских наук, профессор 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.

Author information

Ekaterina M. Speranskaya – Senior Lecturer, Postgraduate Student, Department of the General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0003-0946-3434>

Evgenij V. Moskvichev – Dr. Sci. (Med.), Professor, 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>

Olga Yu. Kostrova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of the Instrumental Diagnostics with Phthsiology Course, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>

Elena M. Luzikova – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0002-1217-0985>

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>

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>

Интеграционный подход в исследовании сосудов плаценты при преэклампсии

О.В. Воронова^{1,2}, А.П. Милованов², Л.М. Михалева^{2,3}

¹ ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-Медицина”», Ростов-на-Дону, Россия

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

³ ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. *Введение.* Проблема преэклампсии (ПЭ) сегодня занимает ключевое место в акушерской патологии, будучи одной из причин материнской и перинатальной заболеваемости, смертности. Это связано с трудностями диагностики, многоликостью клинической картины данного патологического процесса, а также тяжестью течения и высоким риском неблагоприятного исхода. Данная проблема требует особого внимания не только акушеров-гинекологов, но и патологоанатомов, осуществляющих прижизненную морфологическую диагностику последов от женщин с ПЭ. Цель исследования – морфологический, морфометрический и иммуногистохимический анализ облитерационной ангиопатии сосудов опорных ворсин плаценты при разной степени тяжести преэклампсии.

Материалы и методы. Проведено исследование 60 плацент, из них 40 от женщин, страдавших ПЭ разной степени тяжести, а также 20 плацент без патологии (группа сравнения). Для морфометрических исследований использована автоматизированная система гистологического анализа и аппаратно-программный модуль Leica Application Suite на базе микроскопа Leica DM4000B. Проведено иммуногистохимическое исследование с маркерами CD34, VEGF-A, эндотелиальной NOS.

Результаты. Установлена прямо пропорциональная связь между степенью преэклампсии и выраженностью облитерации просветов артериол стволовых ворсин, а соответственно, и степенью фетоплацентарной недостаточности. Наиболее выраженные нарушения фетоплацентарного кровообращения наблюдались при сочетании преэклампсии тяжелой степени с экстрагенитальной патологией.

Заключение. Полученные данные позволяют подтвердить значимость облитерационной ангиопатии в плацентах при преэклампсии как неотъемлемого компонента. Профилактика ишемических изменений в плаценте, где ведущую роль играет облитерационная ангиопатия сосудов ворсин, является актуальной проблемой медицины, требующей объективного подхода для прогноза состояния новорожденного.

Ключевые слова: преэклампсия, плацента, облитерационная ангиопатия, морфометрия, иммуногистохимическое исследование

Для корреспонденции: Ольга Владимировна Воронова. E-mail: voronova.olga_jaba@icloud.com

Для цитирования: Воронова О.В., Милованов А.П., Михалева Л.М. Интеграционный подход в исследовании сосудов плаценты при преэклампсии. Клини. эксп. морфология. 2022;11(3):30–44. DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.30-44.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 19.05.2022. Получена после рецензирования 30.05.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Integration approach to study placental vessels in preeclampsia

O.V. Voronova^{1,2}, A.P. Milovanov², L.M. Mikhaleva^{2,3}

¹ Clinical Hospital “RZHD-Medicine”, Rostov-on-Don, Russia

² Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”, Moscow, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Abstract. *Introduction.* Preeclampsia is key in obstetric pathology, which is one of the causes of maternal and perinatal morbidity and mortality. It is due to the difficulties of diagnosis, variable clinical picture, severity, and high risk of an unfavorable outcome. This problem requires special attention not only from obstetricians and gynecologists, but also from pathologists who make intravital morphological diagnosis of

placenta in women with preeclampsia. The purpose of the study was to perform a morphological, morphometric, and immunohistochemical analysis of obliterative angiopathy in the vessels of placental stem villi with preeclampsia of varying severity.

Materials and methods. We studied 60 placentas, 40 of which were from women having preeclampsia of varying severity, as well as 20 healthy placentas (the comparison group). For morphometric studies, an automated histological analysis system Leica Application Suite hardware and software module based on a Leica DM4000B microscope was used. The immunohistochemical study was carried out with markers CD34, VEGF-A, and endothelial NOS.

Results. We established a directly proportional relationship between the degree of preeclampsia and the severity of arteriole lumen obliteration of the stem villi, and accordingly the degree of placental insufficiency. The most pronounced disorders of fetoplacental circulation were observed in combined severe preeclampsia and extragenital pathology.

Conclusion. The data obtained allow us to confirm the significance of obliterative angiopathy in preeclamptic placentas as an integral component. Prevention of ischemic changes in the placenta, where obliterative angiopathy of the villus vessels plays a leading role, is an urgent medical problem that requires an objective approach to predict the condition of the newborn.

Keywords: preeclampsia, placenta, obliterative angiopathy, morphometric, immunohistochemical study

Corresponding author: Olga V. Voronova. E-mail: Voronova.olga_jaba@icloud.com

For citation: Voronova O.V., Milovanov A.P., Mikhaleva L.M. Integration approach to study placental vessels in preeclampsia. Clin. exp. morphology. 2022;11(3):30–44 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.30-44.

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

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

Received 19.05.2022. **Received in revised form** 30.05.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Развитие службы охраны материнства и детства – одно из приоритетных направлений деятельности Министерства здравоохранения Российской Федерации, и это отражено в основных целях национальных проектов «Здравоохранение» и «Демография» по снижению смертности среди трудоспособного населения, снижению младенческой смертности.

Преэклампсия (ПЭ) остается серьезной медико-социальной проблемой во всем мире и представляет собой мультисистемное заболевание, клинически проявляющееся развитием гипертензии и протеинурии после 20 недель беременности, которое может привести к полиорганной недостаточности [1, 2]. Преэклампсия является одной из причин материнской и перинатальной заболеваемости, смертности [3, 4].

Анализ показателей летальности от ПЭ и эклампсии свидетельствует о сохранении тенденции их снижения, тем не менее, несмотря на наметившееся уменьшение материнской смертности (МС), они остаются достаточно высокими. Это связано с трудностями диагностики, многоликостью клинической картины патологического процесса, а также тяжестью течения и высоким риском неблагоприятного исхода. Названная проблема требует особого внимания не только акушеров-гинекологов, но и патологоанатомов, осуществляющих прижизненную морфологическую диагностику последов от беременных женщин с ПЭ [5, 6].

Патогенез преэклампсии на сегодняшний день изучен достаточно хорошо, существует более 100 теорий ее возникновения. Так, некоторые авторы подразде-

ляют преэклампсию, в зависимости от патогенетических механизмов развития, на раннюю (20–33 недели) и позднюю (34–38 недель) [1]. Актуальные работы последних лет показывают, что ключевую роль в развитии ранней преэклампсии играют нарушение процессов инвазии цитотрофобласта и ремоделирование спиральных артерий. Прослеживается семейная предрасположенность именно к ранней преэклампсии, которая сочетается с незрелостью плода и неспособностью цитотрофобласта осуществить гестационную перестройку спиральных и радиальных артерий [7]. Развитие поздней преэклампсии в большей степени связывают со вторичными изменениями в материнском микроциркуляторном русле [8]. Основными клиническими проявлениями поздней преэклампсии являются метаболический синдром, различная соматическая патология матери [10–12].

Многие исследователи считают ПЭ комплексной дисфункцией эндотелия, при которой происходит нарушение роста, дифференцировки и функционирования сосудов плаценты, связанное с неадекватной продукцией сосудисто-эндотелиального фактора роста. Одной из главных причин развития ПЭ является дезорганизация процессов клеточной регуляции из-за нарушения продукции факторов роста, которые обеспечивают развитие плаценты и формирование ее сосудистых систем [13–16]. Доказано, что кровеносные сосуды плаценты деиннервированы, а регуляция сосудистого тонуса осуществляется молекулами, циркулирующими в кровотоке. Спазм сосудов ворсинчатого хориона плаценты может представлять собой один

из важнейших факторов при гипоксии плода и развитии ПЭ [8].

В настоящее время представлено немало научных работ, посвященных иммуногистохимическому и морфометрическому исследованию плацент, однако остаются не до конца изученными состояние сосудов опорных ворсин и их роль в развитии ПЭ [2, 14, 17, 18]. Имеются единичные работы, в которых дается морфометрическая характеристика облитерационного процесса в артериолах стволовых ворсин, а также предпринимаются попытки объяснить нарушения регуляторных процессов, приводящих к формированию гипертрофии мышечной стенки и суженного просвета артериол [5, 10, 16, 19]. Вместе с тем имеется ряд клинико-морфологических исследований, где степень облитерационной ангиопатии связывают с доплерометрически верифицированными нарушениями маточно-плацентарного и плодно-плацентарного кровотока [20–22]. Облитерационная ангиопатия как морфологическое понятие была описана Н.Г. Bender et al. в 1976 году и отражала постепенное сужение просвета вплоть до его полной облитерации в артериолах стволовых ворсин, морфогенез которого достоверно неизвестен до сих пор. Этот патологический процесс, встречающийся при разных состояниях плаценты, не является патогномичным признаком какой-то определенной нозологии [23].

Исходя из сказанного выше, цель настоящего исследования – морфологический, морфометрический и иммуногистохимический анализ облитерационной ангиопатии сосудов опорных ворсин плаценты при разной степени тяжести преэклампсии.

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе клинической больницы «РЖД-Медицина» (Ростов-на-Дону) в соответствии с разрешением комиссии по биоэтике Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (протокол № 38 (14) от 31 мая 2022 года). Проведен анализ историй родов 60 женщин – 20 здоровых (группа сравнения) и 40 родильниц, страдавших во время беременности преэклампсией. Материалом исследования послужили последы, полученные после родоразрешения пациенток. Критерии включения для исследования в группу преэклампсии: артериальная гипертензия (артериальное давление (АД) $\geq 140/90$ мм рт. ст.), протеинурия ($\geq 0,3$ г/л в суточной моче), отеки, симптоматика мультисистемной полиорганной недостаточности. При тяжелой преэклампсии симптоматика была следующей: АД – 160/100 мм рт. ст. и выше (измерения проводились не менее двух раз в горизонтальном положении беременной с интервалом 6 часов), протеинурия >5 г/сут, признаки мультисистемной дисфункции органов и систем. Критерии включения для всех беременных: одноплодная беременность, возраст

18–40 лет, наличие критериев преэклампсии, родоразрешение путем операции кесарева сечения, в плацентах – отсутствие воспалительной инфильтрации.

По тяжести преэклампсии все последы основной группы разделены на три подгруппы: первая подгруппа (10 случаев; последы от беременных с клиникой умеренной преэклампсии, 34–38 недель); вторая подгруппа (10 случаев; последы от женщин с симптоматикой тяжелой преэклампсии, 28–33 недели); третья подгруппа (20 случаев; последы от пациенток с картиной тяжелой преэклампсии в сочетании с экстрагенитальной патологией – артериальной гипертензией, хроническим пиелонефритом).

Патоморфологическое исследование начиналось в предельно ранние сроки после родов по общепринятой методике, с органометрии и макроскопического исследования [4].

Для гистоморфометрических исследований были использованы автоматизированная система гистологического анализа и аппаратно-программный модуль Leica Application Suite (LAS) на базе микроскопа Leica DM4000B (Leica, Германия) с цифровой камерой Leica DFC490 (Leica, Германия), предназначенные для измерения параметров тканевых и клеточных структур в автоматическом режиме.

Исследованы следующие морфометрические показатели: площади стволовых ворсин (S ств.в.); площади просвета артериол (Сапр), венул (Свпр) и их количество; диаметры просветов венул (Dв) и артериол (Dа); диаметры (Dат) и площади артериол (Sat), включая толщину их стенки.

В каждом случае проводили измерения в 20 стволовых ворсинах 1-го, 2-го и 3-го порядка, размеры которых варьировали от 200 до 3000 мкм [8], при увеличении объектива $\times 10$. Полученные морфометрические данные были использованы для вычисления процентного соотношения площади просвета сосудов (артериол и венул) и площади ворсин; определения степени облитерации артериол по коэффициенту $K_{со} = Sat/Sa$; коэффициентов элонгации (формы) просветов венул (КЭв) и артериол (КЭа), равных отношению большего диаметра к меньшему.

Для объективизации оценки сосудов стволовых ворсин плаценты в нашем исследовании использовали следующие иммуногистохимические маркеры: моноклональные антитела к CD34, клон QBEnd/10 (Leica, Германия) для более четкого выявления капиллярного русла ворсин; моноклональные антитела к VEGF (clone VG 1, разведение 1:100) (Dako, Дания) для оценки распределения указанного фактора роста сосудов в плаценте; моноклональное антитело к эндотелиальной Nitric Oxide Synthase: clone NOS-125 (Leica, Германия) для изучения распределения в структурах плаценты eNOS. Иммуногистохимическое исследование проводилось на иммуноштейнере Leica Bond-Max (Leica, Германия). Оценка иммуногистохимических реакций осуществлялась на микроскопе Leica DM4000B

(Leica, Германия). Интенсивность реакции оценивали в баллах: 0 – отсутствие реакции, 1 – слабая реакция, 2 – умеренная, 3 – сильная. Статистическая обработка данных с учетом характера распределения проводилась параметрическими (t-критерий Стьюдента) и непараметрическими (U-критерий Манна–Уитни) методами. Достоверность различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью этих критериев, поскольку распределение показателей отличалось от нормального. Все статистические процедуры проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Россия).

Результаты

Патоморфологическому исследованию подверглись 20 плацент от беременных женщин группы сравнения

в возрасте от 18 до 40 лет (средний возраст $27 \pm 1,2$ года). Изучение клинических данных подтвердило нормальное течение беременностей, в результате которых были рождены доношенные дети на сроке 38–40 недель массой от 3140 г до 3860 г с оценкой по шкале Апгар 8–9 баллов. При органометрии чаще всего плацента была овальной формы, в центре толщиной 2,5–3,0 см, с равномерным истончением в краевых зонах до 1,0 см (рис. 1 А). После отделения плодных оболочек и пуповины средняя масса плацент составила $481,1 \pm 2,78$ г, измерялись объем плацент и площадь материнской поверхности (ПМП), рассчитывался плодово-плацентарный коэффициент (ППК).

У беременных при наличии преэклампсии умеренной степени тяжести плаценты имели форму диска диаметром 17–20 см и толщиной 2,0–2,5 см, масса

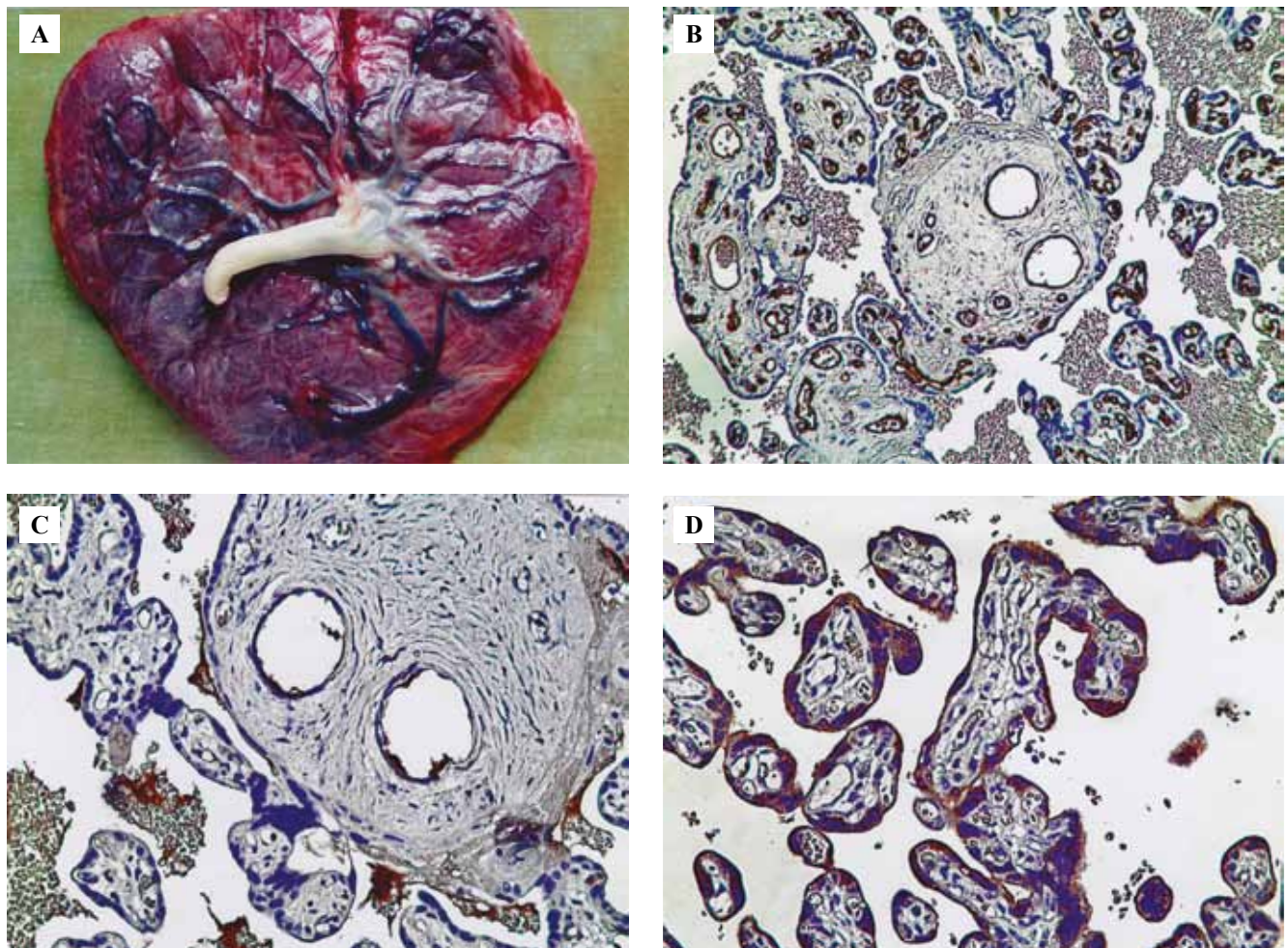


Рис. 1. Макроскопическая картина (А) и иммунофенотип (В–Д) плаценты при нормальной доношенной беременности.

А – макропрепарат плаценты, В – ИГХ реакция с антителами к CD34. Эндотелиальная выстилка в сосудах ворсин.

С – ИГХ реакция с антителами к VEGF-A. Экспрессия в эндотелии сосудов опорных ворсин, негативная реакция

в involutive syncytial kidneys. D – ИГХ реакция с антителами к eNOS. Экспрессия в syncytial kidneys and free symplasts, negative reaction in involutive syncytial kidneys. B–D – ИГХ окрашивание, $\times 100$

Fig. 1. Macroscopic picture (A) and immunophenotype (B–D) of placenta in normal full-term pregnancy.

A – specimen of the placenta. B – IHC reaction with antibodies to CD34. Endothelial lining in villi vessels. C – IHC reaction

with antibodies to VEGF-A. Expression in the vascular endothelium of stem villi, negative reaction in involutive syncytial

kidneys. D – IHC reaction with antibodies to eNOS. Expression in syncytial kidneys and free symplasts, negative reaction in

involutive syncytial kidneys. B–D – IHC assay, $\times 100$

была снижена относительно контрольных значений на 8,9%, а объем – на 15%. ППК хотя и варьировал в пределах нормы (0,13–0,14), но был ниже аналогичного показателя в контрольной группе на 18,1%. ПМП колебалась в диапазоне 215–230 см², ее среднее значение было снижено в сопоставлении с ПМП в группе сравнения на 8,4%.

При тяжелой преэклампсии плаценты имели неравномерную толщину, сглаженность котиледонов, небольшую массу (в среднем 384,2±4,12 г), ППК и ПМП были снижены относительно группы сравнения на 22,5 и 20,6%, соответственно. Материнская поверхность плацент была красного цвета, с диффузным отложением кальцинатов, множественными инфарктами, кровоизлияниями. Плодная поверхность плацент была тусклой, сосуды характеризовались неравномерно выраженным кровенаполнением. Пуповина таких плацент в большинстве случаев обладала краевым прикреплением (рис. 3 А).

Существенное влияние на снижение массы и объема плаценты, сокращение ПМП и снижение ППК оказывали сочетание тяжелой преэклампсии с экстрагенитальной патологией. При анализе массы и объема плацент третьей подгруппы показатели были снижены на 14,7 и 20,4% в сравнении с первой группой, а ПМП и ППК – на 18,2 и 23,8%, соответственно. Основные сравнительные данные органомерических показателей отражены в таблице 1.

Площадь просвета артериол (Sapр) в стволовых ворсинах при преэклампсии умеренной степени и тяжелом течении, а также при сочетании тяжелой преэклампсии с экстрагенитальной патологией достоверно снижалась при сопоставлении показателей основной группы с группой сравнения, прогрессивное уменьшение Sapр отмечалось по мере развития патологического процесса. Относительная величина (Sapр/S ств.в.), отражающая соотношение их площади к площади стволовых ворсин, повторяла структуру

изменений площади артериальных просветов среди клинических групп.

Артериолоспазм с уменьшением внутреннего диаметра и утолщением сосудистой стенки наблюдался уже при преэклампсии умеренной степени и прогрессировал при усилении процесса. Наибольшая выраженность артериолоспазма в стволовых ворсинах 1–2-го порядка отмечалась при сочетанных формах патологии. Сосудистое ремоделирование при умеренной преэклампсии приводило к последовательному снижению коэффициента элонгации (отношение большего диаметра просвета к меньшему), это свидетельствовало о том, что форма сосуда становилась более концентрической. При этом нарастала облитерация просветов артериол стволовых ворсин. Коэффициент облитерации достоверно повысился уже при умеренной преэклампсии и далее прогрессивно изменялся. Наибольшая выраженность облитерационной ангиопатии стволовых ворсин 1–2-го порядка наблюдалась при сочетании тяжелой преэклампсии с экстрагенитальной патологией.

Площадь стволовых ворсин при развитии умеренной преэклампсии имела тенденцию к снижению относительно нормальных значений группы сравнения на 3,6% (p<0,05), а при тяжелой преэклампсии и сочетанных формах снижалась на 18,5% (p<0,05) и 22,2% (p<0,05), соответственно. Сокращение площади артериальных просветов, а также достоверное снижение относительного коэффициента, отражающего удельный вес артериальных просветов к общей площади ворсин, наблюдалось уже при умеренной преэклампсии и в дальнейшем прогрессировало (табл. 2).

При микроморфометрии в группе сравнения наружный диаметр артериол в стволовых ворсинах 1-го и 2-го порядка колебался от 124 до 153 мкм, в среднем составил 136,2±2,11 мкм, а внутренний диаметр варьировал в диапазоне от 72 до 94 мкм при среднем значении 83,4±1,14 мкм. Толщина стенки артериол в стволовых ворсинах 1–2-го порядка составляла 52,8±1,26 мкм.

Таблица 1 | Table 1

**Органомерические показатели плацент при преэклампсии |
Organometric parameters of placentas in preeclampsia**

	Масса, г Weight, g	Объем, мл Volume, ml	ПМП, см ² MSA, cm ²	ППК FPR
Группа сравнения, n=20 Comparison group, n=20	481,1±2,78	462,4±3,16	246,2±2,17	0,16±0,004
Преэклампсия умеренной степени тяжести, n=10 Moderate preeclampsia, n=10	438,1±2,79*	393,1±2,68*	225,4±2,18*	0,131±0,008*
Преэклампсия тяжелого течения, n=10 Severe preeclampsia, n=10	384,2±4,12*	342,7±3,79*	195,6±2,89*	0,124±0,005*
Тяжелая преэклампсия в сочетании с экстрагенитальной патологией, n=20 Severe preeclampsia combined with extragenital pathology, n=20	345,4±4,12*	321,9±3,29*	187,4±2,68*	0,129±0,006*

*p<0,05

MSA – maternal surface area, FPR – fetal-placental ratio

Таблица 2 | Table 2

**Микроморфометрические показатели площадей створовых ворсин 1-го и 2-го порядка и их сосудов при преэклампсии |
Micromorphometric indicators of the areas of stem villi of the 1st and 2nd order and their vessels in preeclampsia**

	S ств.в, мм ² Sstm.v., mm ²	Sat, (мм ²) Sart., mm ²	Saпр., мм ² Salum., mm ²	Св., мм ² Sv., mm ²	Свпр., мм ² Svlum., mm ²	Saпр/S ств.в. Salum/ S stm.v.
Группа сравнения, n=20 Comparison group, n=20	1,65 ±0,09	0,024 ±0,001	0,019 ±0,002	0,116 ±0,02	0,10 ±0,03	1,15 ±0,004
Преэклампсия умеренной степени тяжести, n=10 Moderate preeclampsia, n=10	1,61 ±0,11	0,019 ±0,004	0,013 ±0,001*	0,125 ±0,04	0,112 ±0,01	0,79 ±0,006*
Преэклампсия тяжелого течения, n=10 Severe preeclampsia, n=10	1,46 ±0,14	0,018 ±0,002*	0,011 ±0,002*	0,182 ±0,06*	0,167 ±0,05*	0,75 ±0,002*
Тяжелая преэклампсия в сочетании с экстрагенитальной патологией, n=20 Severe preeclampsia combined with extragenital pathology, n=20	1,41 ±0,13*	0,017 ±0,002*	0,009 ±0,001*	0,172 ±0,02*	0,164 ±0,07*	0,64 ±0,005*

* p<0.05

Square stem villi (Sstm.v.), Square arteries (Sart), Square arterial lumen (Salum.), Square veins (Sv). Square vein lumen (Svlum).

Коэффициент элонгации артериол в створовых ворсинах в среднем соответствовал $1,35 \pm 0,04$ и, поскольку был более 1, отражал сохраненную способность изучаемых сосудов к растяжению. Коэффициент облитерации (отношение площади артериол со стенкой к площади ее просветов) колебался в диапазоне 1,1–1,4, в среднем составил $1,26 \pm 0,06$.

В группе сравнения наружный диаметр венул в створовых ворсинах 1–2-го порядка колебался от 185 до 215 мкм, в среднем составил $194,8 \pm 2,57$ мкм, а внутренний диаметр варьировал в диапазоне от 152 до 183 мкм при среднем значении $168,2 \pm 2,95$ мкм. Коэффициент элонгации венул в створовых ворсинах в среднем соответствовал $2,72 \pm 0,04$ и отражал их эллипсовидную форму. Коэффициент облитерации в среднем составил $1,12 \pm 0,001$.

Также в группе сравнения наружный диаметр артериол в створовых ворсинах 3-го порядка колебался от 29 до 41 мкм, в среднем составил $34,5 \pm 0,9$ мкм, а внутренний диаметр варьировал в диапазоне от 18 до 27 мкм при среднем значении $22,1 \pm 0,6$ мкм. Толщина стенки артериол в этих ворсинах в среднем составляла $12,3 \pm 0,6$ мкм, артериолы створовых ворсин 3-го порядка в норме имели свободный округлый просвет, венулы – слегка удлинённый.

В группе сравнения наружный диаметр венул в створовых ворсинах 3-го порядка колебался от 35 до 59 мкм, в среднем составил $47,2 \pm 0,9$ мкм, а внутренний диаметр варьировал в диапазоне от 32 до 51 мкм при среднем значении $43,1 \pm 1,2$ мкм. Коэффициент элонгации венул в створовых ворсинах 3-го порядка в среднем соответствовал $2,94 \pm 0,003$, а коэффициент облитерации в среднем составил $1,28 \pm 0,005$.

Венодилатация в створовых ворсинах 1–2-го порядка с одновременным увеличением наружного

и внутреннего диаметров была отмечена при умеренной и тяжелой степени преэклампсии. Наибольшие изменения определялись при сочетанных формах патологии. При умеренной форме преэклампсии изменения просветов венул в створовых ворсинах были незначительными. По мере развития патологического процесса последовательно повышались значения коэффициента элонгации. Артериолоспазм с уменьшением внутреннего диаметра и утолщением сосудистой стенки наблюдался при умеренной преэклампсии в сосудах створовых ворсин 3-го порядка, прогрессировал при тяжелых формах преэклампсии. Статистически значимое утолщение сосудистой стенки наблюдалось при умеренной преэклампсии. Наибольшая выраженность артериолоспазма в створовых ворсинах 3-го порядка наблюдалась при сочетании тяжелой преэклампсии с экстрагенитальной патологией. При тяжелой преэклампсии и сочетанной патологии форма артериол была относительно круглой (значение коэффициента элонгации близко к 1,0), что отражало концентрический тип ремоделирования и свидетельствовало о сниженной способности артериол к растяжению. При этом нарастала облитерация просветов артериол створовых ворсин 3-го порядка. Коэффициент облитерации достоверно повысился уже при умеренной степени тяжести преэклампсии и далее прогрессивно ухудшался (табл. 3).

Наибольшая степень венодилатации (коэффициента элонгации) в створовых ворсинах 3-го порядка наблюдалась в группе преэклампсии тяжелой степени с экстрагенитальной патологией. При умеренной степени тяжести преэклампсии изменения просветов венул в створовых ворсинах 3-го порядка были незначительными и по морфометрическим изменениям соответствовали таковым в опорных ворсинах 1-го

Таблица 3 | Table 3

**Микроморфометрические показатели артериол стволовых ворсин 1-го и 2-го порядка плаценты при преэклампсии |
Micromorphometric parameters of arterioles of stem villi of the 1st and 2nd order in preeclampsia**

	Наружный диаметр, мкм Outer Diameter, μm	Внутренний диаметр, мкм Inner diameter, μm	Толщина стенки, мкм Wall thickness, μm	Коэффициент элонгации Elongation coefficient	Коэффициент облитерации Obliteration coefficient
Группа сравнения, n=20 Comparison group, n=20	136,2 \pm 2,11	83,4 \pm 1,14	52,8 \pm 1,26	1,35 \pm 0,04	1,26 \pm 0,06
Преэклампсия умеренной степени тяжести, n=10 Moderate preeclampsia, n=10	127,6 \pm 1,89*	52,2 \pm 1,06*	75,4 \pm 1,39*	1,21 \pm 0,05	1,69 \pm 0,02*
Преэклампсия тяжелого течения, n=10 Severe preeclampsia, n=10	124,2 \pm 1,47*	45,3 \pm 1,03*	78,9 \pm 1,64*	1,15 \pm 0,02*	1,82 \pm 0,05*
Тяжелая преэклампсия в сочетании с экстрагенитальной патологией, n=20 Severe preeclampsia combined with extragenital pathology, n=20	118,9 \pm 1,86*	41,2 \pm 1,18*	77,7 \pm 1,52*	1,18 \pm 0,06*	2,11 \pm 0,04*

*p<0,05

Таблица 4 | Table 4

**Микроморфометрические показатели венул стволовых ворсин 3-го порядка плаценты при преэклампсии |
Micromorphometric parameters of stem villi venules of the 3rd order in preeclampsia**

	Наружный диаметр, мкм Outer Diameter, μm	Внутренний диаметр, мкм Inner diameter, μm	Толщина стенки, мкм Wall thickness, μm	Коэффициент элонгации Elongation coefficient	Коэффициент облитерации Obliteration coefficient
Группа сравнения, n=20 Comparison group, n=20	194,8 \pm 2,57	168,2 \pm 2,95	25,7 \pm 0,82	2,72 \pm 0,06	1,12 \pm 0,001
Преэклампсия умеренной степени тяжести, n=10 Moderate preeclampsia, n=10	222,3 \pm 2,56*	199,1 \pm 2,14*	23,2 \pm 0,49	3,78 \pm 0,05*	1,10 \pm 0,003
Преэклампсия тяжелого течения, n=10 Severe preeclampsia, n=10	262,4 \pm 2,79*	238,4 \pm 2,47*	24,0 \pm 0,62	4,18 \pm 0,09*	1,09 \pm 0,002
Тяжелая преэклампсия в сочетании с экстрагенитальной патологией, n=20 Severe PE combined with extragenital pathology, n=20	261,3 \pm 2,39*	240,9 \pm 2,36*	20,4 \pm 0,59*	4,27 \pm 0,06*	1,05 \pm 0,001*

*p<0,05

и 2-го порядка (табл. 4). По мере прогрессирования патологического процесса также повышались значения коэффициента элонгации, просветы венул еще более резко деформировались, в некоторых случаях регистрировались внутрисосудистые септы, инвагинации.

Важную дополнительную информацию в оценке сосудистого русла ворсинчатого дерева дает ИГХ исследование, в частности использование антител к CD34 для визуализации эндотелия артериол и венул, капиллярной сети промежуточных и терминальных ворсин. Особенно четко визуализируются парасосудистое капиллярное русло в опорных ворсинах

и их протяженная система в терминальных ворсинах, в том числе в составе синцитиокапиллярных мембран (рис. 1 В).

Визуализация маркера VEGF-A – важного фактора роста, стимулирующего ангиогенез в ворсинчатом дереве плаценты, наблюдается в тонком слое эндотелия артериол и венул опорных ворсин 1–3-го порядка. Вместе с тем не прослеживается его экспрессия в синцитиальных почках и синцитиотрофобласте, относящихся к инволютивным формам, негативная реакция определяется в эндотелиоцитах капиллярной сети (рис. 1 С).

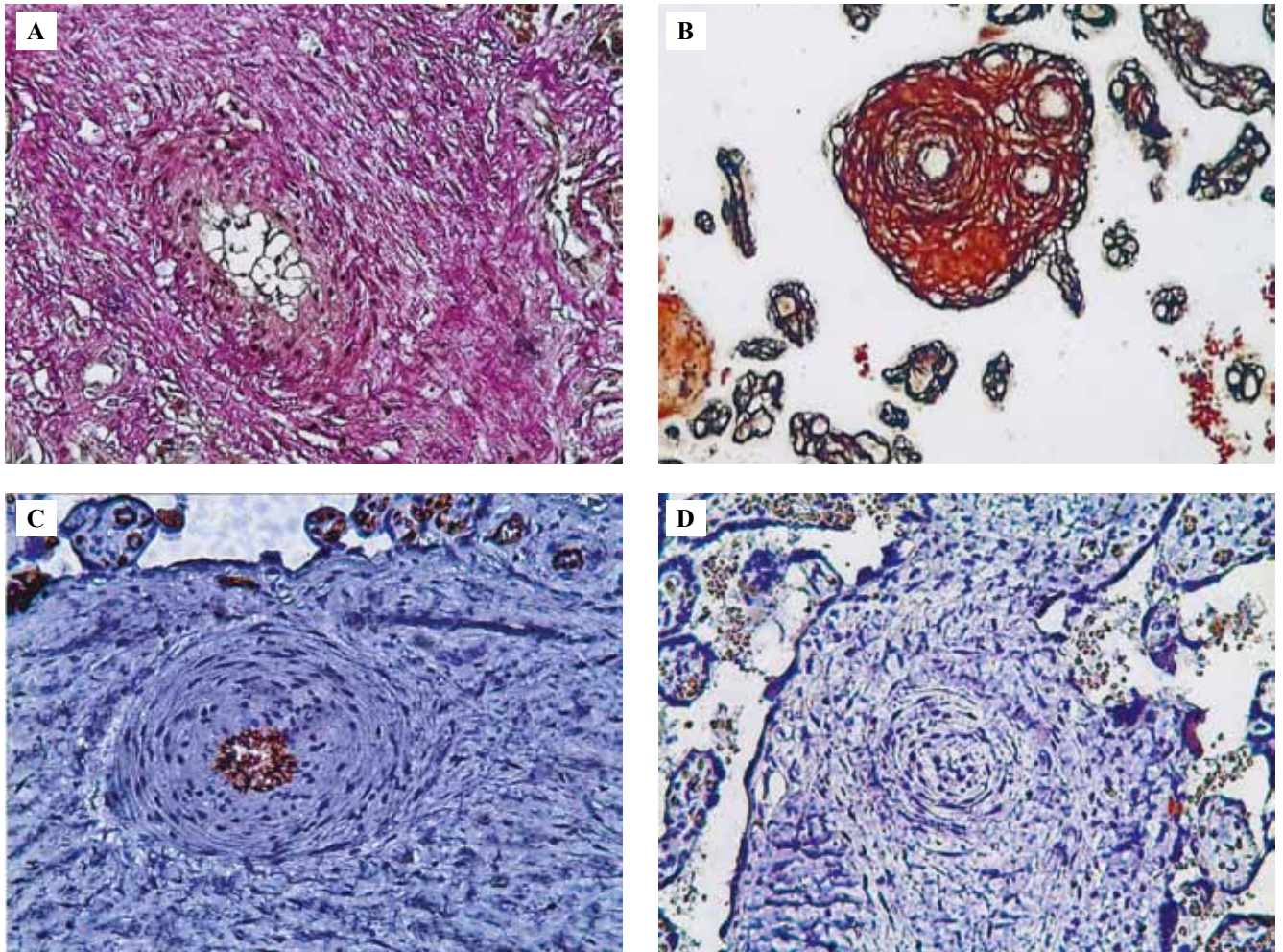


Рис. 2. Морфологическая (А, В) и иммуногистохимическая (С, D) характеристика опорных ворсин в плаценте родильницы с преэклампсией умеренной степени тяжести.

А – артериола с выраженной десквамацией эндотелия, образующего сеть внутри просвета сосуда. В – расслоение ретикулярных волокон в составе мышечной оболочки артериолы и окружающих коллагеновых волокон в опорной ворсине за счет отека. С – гиперплазия эндотелиальных клеток. D – тотальная облитерация просвета артериолы с гипертрофированной мышечной стенкой в опорной ворсине со следами его экспрессии. А – окрашивание по ван Гизону, $\times 200$, В – окрашивание по Футу, $\times 100$, С – ИГХ окрашивание с антителами к CD34, $\times 200$, D – ИГХ окрашивание с антителами к VEGF-A, $\times 100$

Fig. 2. Morphological (A, B) and immunohistochemical (C, D) characteristics of stem villi in the placenta of a puerperal woman with moderate preeclampsia.

A – arteriole with pronounced desquamation of the endothelium, forming a network inside the lumen of the vessel. B – stratification of reticular fibers in the composition of the muscular membrane of the arteriole and surrounding collagen fibers in the stem villi due to edema. C – hyperplasia of endothelial cells. D – total obliteration of arteriole lumen with a hypertrophic muscular wall in the stem villus with traces of its expression. A – van Gieson staining, $\times 200$, B – Foote staining, $\times 100$, C – IHC assay with antibodies to CD34, $\times 200$, D – IHC assay with antibodies to VEGF-A, $\times 100$

Важным регуляторным фактором, определяющим тонус плацентарных сосудов, в том числе опорных ворсин, является эндотелиальная NOS. В доношенной плаценте иммуноэкспрессия eNOS четко выявляется в синцитиотрофобласте, свободных симпластах, активных синцитиальных почках, однако данный маркер не обнаруживается в их инволютивных вариантах. В опорных ворсинах ее экспрессия минимальна, выявлена слабопозитивная экспрессия в зоне эндотелия сосудов опорных ворсин (рис. 1 D).

При изучении сосудов опорных ворсин группы преэклампсии умеренной степени тяжести выявлены тенденция к утолщению мышечной оболочки артериол и патология эндотелия с субтотальной его отслойкой, иногда в виде сетчатых структур в просвет артериол (рис. 2 А). Кроме того, в опорных ворсинах 2-го и 3-го порядка часто регистрировался отек мышечной оболочки с образованием разнокалиберных «пустот» в составе миоцитов и ближайшей коллагеновой строме, уплотнение которой четко выявлено

при серебрении по Футу (рис. 2 В). В этой группе при визуализации с антителами к CD34 отмечалась эктазия просвета венулы с истончением эндотелия, в отдельных артериолах (примерно 25–30% от всех артериол) обнаруживалась либо гиперплазия эндотелия, либо тотальная его десквамация с уменьшением просвета артериол, что подтверждено морфометрическими данными (табл. 3, 4) (рис. 2 С). При ИГХ исследовании с антителами к VEGF-A выявлена лишь слабая положительная реакция в данной группе по-

следов, складывается впечатление, что он утрачивает активность в сосудах опорных ворсин и сохраняет ее в структурах, которые омываются материнской кровью (синцитиотрофобласт, свободные симпласты и клеточные островки) (рис. 2 D). Особый интерес представляет распределение eNOS в ворсинах данной группы плацент – очень слабая экспрессия в синцитиотрофобласте терминальных ворсин, но высокая экспрессия в свободных симпластах, как и в группе сравнения.

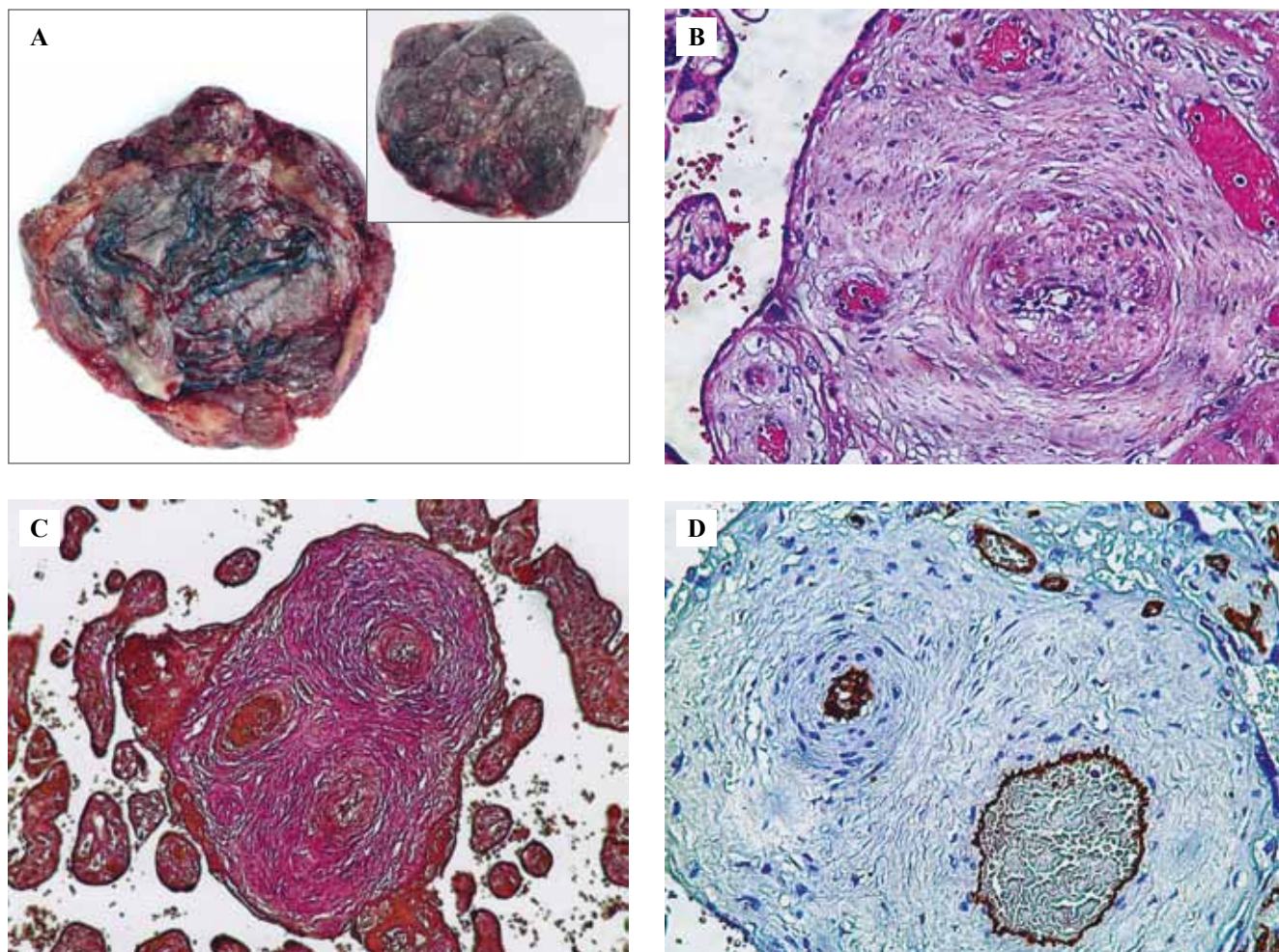


Рис. 3. Морфологическая (А–С) и иммуногистохимическая (D–F) характеристика опорных ворсин в плаценте родильницы с преэклампсией тяжелой степени.

А – макропрепарат плаценты с валиком, «завернутыми краями» и краевым прикреплением пуповины.

В – морфологическая картина опорной ворсины с субтотальной облитерацией просвета артериолы и гипертрофией мышечной оболочки. С – соотношение двух артериол и одной расширенной венулы, аналогичное строение сосудистой сети в пуповине в опорной ворсине, циркулярные коллагеновые муфты вокруг сосудов. D – гиперплазия эндотелиоцитов в узком просвете артериолы, «частокольное» расположение эндотелиоцитов в венуле. В – окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 100$, С – окрашивание по ван Гизону, $\times 100$, D – ИГХ реакция с антителами к CD34

Fig. 3. Morphological (A–C) and immunohistochemical (D–F) characteristics of the stem villi in the placenta of a puerperal woman with severe preeclampsia.

A – placental gross specimen with “rolled edges” and marginal attachment of the umbilical cord. B – morphological picture of the stem villi with subtotal obliteration of the arteriole lumen and hypertrophy of the muscular membrane. C – comparison of two arterioles and one dilated venule, a similar vascular network structure in the umbilical cord of the stem villi, circular collagen sleeves around the vessels. D – hyperplasia of endothelial cells in the narrow lumen of the arteriole, “palisade” arrangement of endothelial cells in the venule. B – H&E stain, $\times 100$, C – van Gieson stain, $\times 100$, D – IHC assay with antibodies to CD34

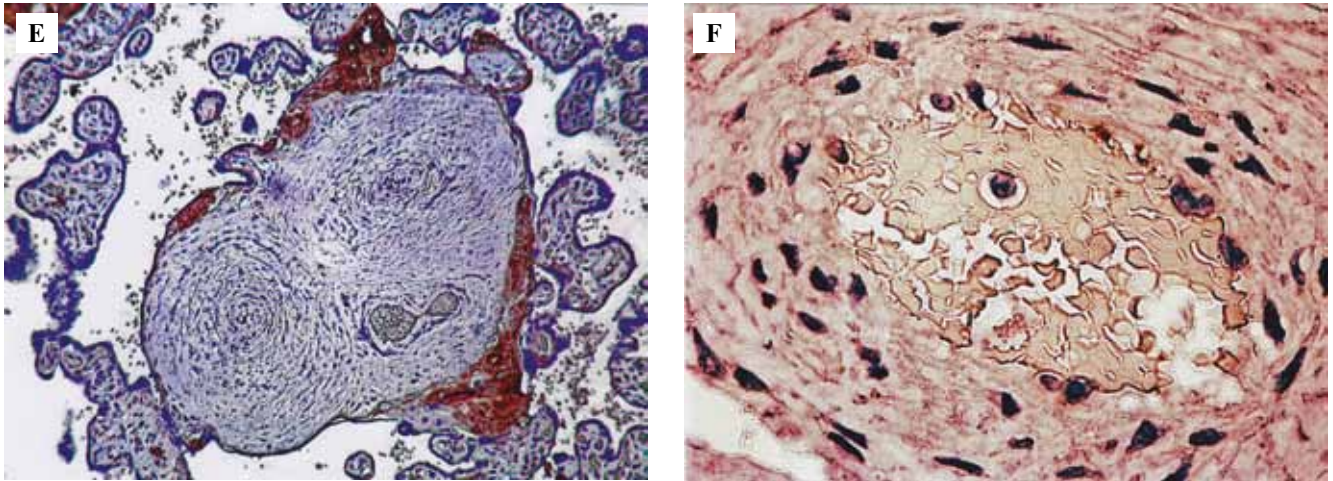


Рис. 3 (окончание). E – положительная реакция в фибриноиде, замещающем дефекты синцитиотрофобласта вокруг опорной ворсины с тотальной облитерацией двух артериол при сохранном просвете венулы. F – слабая экспрессия в эндотелиоцитах артериолы опорной ворсины, рыхлый пристеночный тромб из гемолизированных плодных эритроцитов. E – ИГХ реакция с антителами к VEGF-A, $\times 100$, F – ИГХ-реакция с антителами к eNOS, $\times 200$

Fig. 3 (end). E – a positive reaction in the fibrinoid that replaces the syncytiotrophoblast defects around the stem villus with total obliteration of 2 arterioles with a preserved venule lumen. F – weak expression in endothelial cells of the arteriole of stem villi, a loose parietal thrombus from hemolyzed fetal erythrocytes. E – IHC assay with antibodies to VEGF-A, $\times 100$, F – IHC assay with antibodies to eNOS, $\times 200$

В группе преэклампсии тяжелой степени при изучении сосудов опорных ворсин во всех случаях определялась облитерационная ангиопатия с узким, щелевидным просветом, десквамацией эндотелиоцитов, гипертрофией мышечной оболочки с признаками отека (рис. 3 В). Интересной находкой стало выявление в восьми плацентах из десяти (80%) увеличения числа сосудов опорных ворсин (две артериолы с явным щелевидным просветом и одной эктазированной венулой), то есть соотношение этих сосудов соответствовало аналогичному соотношению сосудов пуповины (рис. 3 С, D). Важным структурным феноменом было также явное расширение капиллярного русла вокруг облитерированной артериолы и расширенной венулы капиллярной сети, представленных капиллярами-синусоидами в непосредственной близости от эпителиального покрова опорной ворсины (имитация синцитиокапиллярных мембран). Субтотальная, а местами и тотальная облитерация артериол подтверждается тяжелой гипоксией плода, которая морфологически обусловлена преобладанием в строме ворсин большого количества фибробластов. При иммуногистохимической реакции с антителами к CD34 определялись четкая визуализация эндотелиоцитов, заполняющих узкий просвет артериол, и более сохранное состояние эндотелиоцитов в составе выстилки венул, где они имеют «частокольное» расположение (рис. 3 D). Данный маркер выявляет также более ярко парасосудистую капиллярную сеть под эпителиальным покровом створчатых ворсин, при выраженной коллагенизации их стромы.

При анализе реакции с антителами к VEGF-A обнаружено, что в плацентах данной группы иммуно-

экспрессия этого фактора роста сосудов резко снижена относительно показателей группы сравнения. Отмечается его экспрессия в инволютивных синцитиальных почках и клеточных островках (рис. 3 E).

Слабая экспрессия маркера eNOS видна в покровном эпителии некоторых ворсин, определяется несомненная связь степени облитерации артериол со снижением продукции eNOS в истонченном покровном эпителии опорных ворсин 2-го порядка, уменьшением количества клеток-продуцентов eNOS (рис. 3 F).

В третьей группе – плаценты беременных с преэклампсией тяжелой степени в сочетании с экстрагенитальной патологией (артериальная гипертензия, хронический пиелонефрит) определялись признаки патологической и относительной незрелости ворсинчатого дерева, в 17 (85%) из них преобладал вариант промежуточных дифференцированных ворсин со слабой васкуляризацией (рис. 4 А). Система опорных ворсин в этой группе плацент в целом соответствует показателям второй группы, но по частоте выявления облитерационной ангиопатии она вышла на первое место, во всех исследуемых плацентах присутствовали ее признаки. Обнаружены нарушения соотношения артериол и венул, в артериолах часто выявлялись субэндотелиальные подушки (рис. 4 B).

Имуногистохимическое исследование с антителами к CD34 позволило выявить процессы дестабилизации эндотелиоцитов с «замуровыванием» просвета артериол, четко визуализировалось нарушение количественного соотношения сосудов: одной

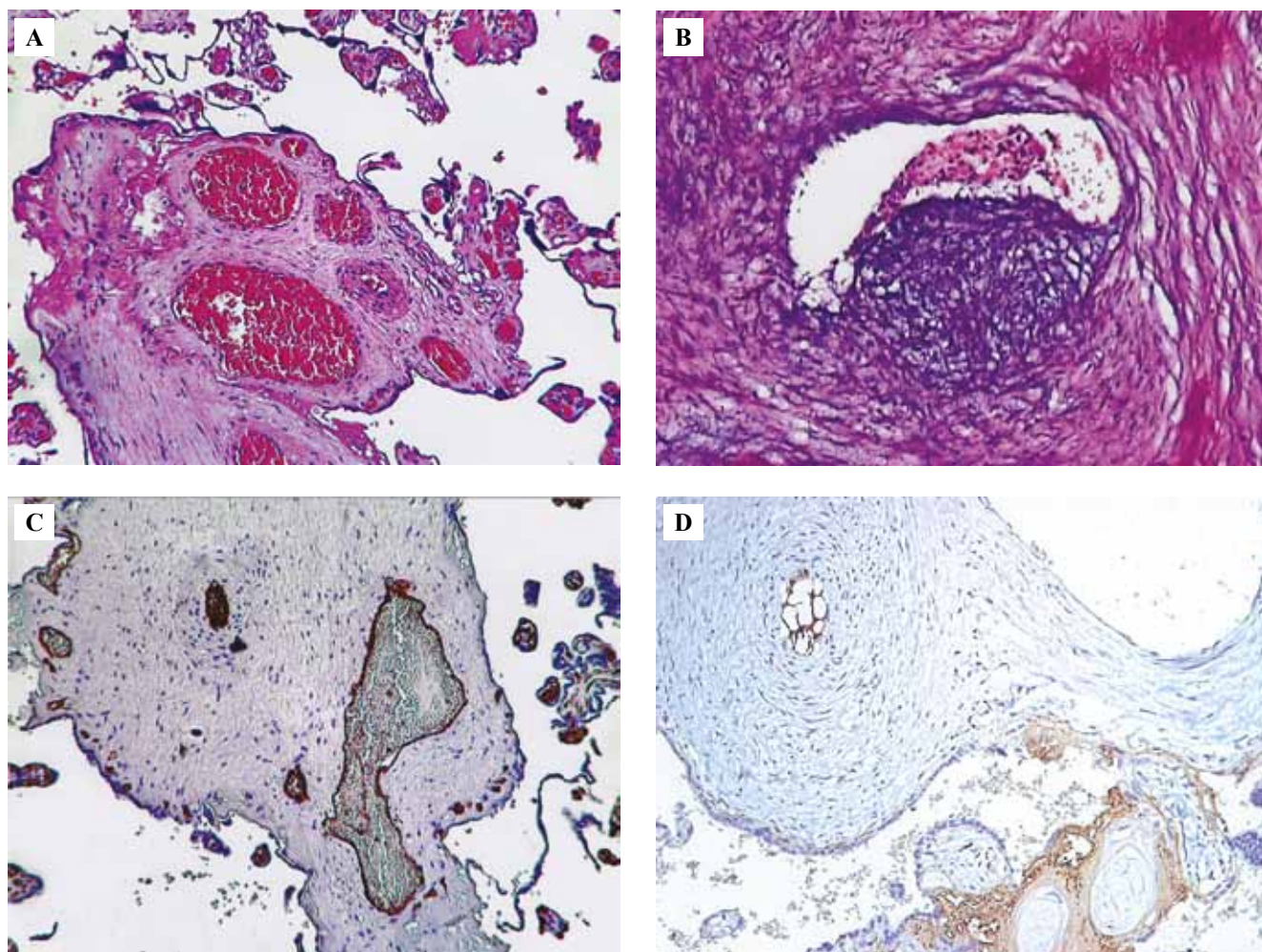


Рис. 4. Морфологическая (А, В) и иммуногистохимическая (С, D) характеристика опорных ворсин в плаценте родильницы с преэклампсией тяжелой степени в сочетании с экстрагенитальной патологией.

А – аномалия в распределении сосудов при наличии одной артериолы и трех эктазированных венул.

В – сужение просвета артериолы за счет формирования субэндотелиальной «подушки», неравномерность толщины мышечной оболочки артериолы. С – пролиферация эндотелиоцитов в узком просвете артериолы при наличии двух эктазированных венул, расширение парасосудистого капиллярного русла. D – умеренная экспрессия в эндотелии сосудов в опорной ворсине с формированием интравасальных септ (плацентарный эндотелиоз) с резкой эктазией венулы и субтотальной десквамацией эндотелия.

А – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$, В – $\times 200$, С – ИГХ реакция с антителами к CD34, $\times 100$, D – ИГХ реакция с антителами к VEGF-A, $\times 50$

Fig. 4. Morphological (A, B) and immunohistochemical (C, D) characteristics of stem villi in the placenta of a puerperal woman with severe preeclampsia in combination with extragenital pathology (EGP).

A – anomaly in the distribution of vessels with one arteriole and three ectatic venules. B – narrowing of the lumen of the arteriole due to the formation of a subendothelial “cushion”, uneven thickness of the muscular membrane of the arteriole.

C – proliferation of endothelial cells in the narrow lumen of the arteriole with two ectatic venules, expansion of the paravascular capillary bed. D – moderate expression in the vascular endothelium in the stem villus with the formation of an intravascular septa (placental endotheliosis) with severe venule ectasia and subtotal desquamation of the endothelium. A – H&E stain, $\times 100$, B – $\times 200$, C – IHC assay with antibodies to CD34, $\times 100$, D – IHC assay with antibodies to VEGF-A, $\times 50$

артериолы и двух расширенных венул при наличии парасосудистой капиллярной сети (рис. 4 С). При анализе иммунной реакции с антителами к VEGF-A отмечено, что в плацентах у женщин с преэклампсией тяжелой степени в сочетании с различной экстрагенитальной патологией наблюдается сниженная неравномерная экспрессия этого фактора роста сосудов в эндотелиоцитах артериол с формированием

сетчатых структур в опорных ворсинах разного уровня (рис. 4 D).

В опорных ворсинах экспрессия eNOS определялась в виде «следов» в покровном эпителии ворсин, в единичных эндотелиоцитах артериол, выявлено некоторое усиление ее экспрессии в зоне активных синцитиальных почек и покровном эпителии терминальных ворсин этой группы.

Обсуждение

Работы ученых, занимающихся патологией последа при ПЭ, показали, что причиной ее развития является плацента, а не плод, запускающая каскад реакций с последующим ответом материнского организма. В исследованиях последних лет обсуждаются данные о роли аномальной плацентации и плацентарных факторов в патогенезе материнского синдрома преэклампсии [24, 25]. В источниках литературы изменения при ПЭ характеризуются напряженностью компенсаторно-приспособительных реакций: сочетанием гипоплазии ворсин с признаками опережения их развития, преобладанием разветвленного ангиогенеза, увеличением синцитиально-капиллярных мембран и клеточных островков, снижением площади поперечного сечения ворсин хориона, наличием выраженных синцитиальных узелков, формированием микрокист в септах [26, 27]. Однако в научных и клинических работах, посвященных изучению стволых ворсин и их сосудистого русла, данные представлены в небольшом количестве и противоречивы [8, 11, 24, 26].

В ходе нашего исследования проанализирована динамика органомерических, микроморфометрических показателей стволых ворсин и их сосудов при преэклампсии разной степени тяжести в сочетании с иммуногистохимическим анализом экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста, эндотелиальной NO-синтазы, CD34. Проведенный комплексный анализ позволил объективизировать и сопоставить компоненты структурной организации плацент при преэклампсии в свете особенностей компенсаторно-приспособительных реакций сосудистого русла стволых ворсин.

По мере усиления патологического процесса площадь стволых ворсин плацент достоверно уменьшалась. Так, при сочетании тяжелых форм преэклампсии с экстрагенитальной патологией площадь стволых ворсин была снижена по отношению к показателям группы сравнения на 22,2% ($p < 0,05$). Площади артериальных просветов в стволых ворсинах при преэклампсии тяжелой степени, а также при сочетанных формах имели существенную тенденцию к уменьшению показателей. Наибольшая выраженность артериолоспазма в стволых ворсинах наблюдалась при сочетании преэклампсии тяжелой степени с экстрагенитальной патологией. Сосудистое ремоделирование при преэклампсии приводило к последовательному увеличению коэффициента облитерации и коэффициента элонгации, что отражалось на состоянии периферической части ворсинчатого хориона с выраженной гиповаскуляризацией и частичной редукцией сосудистого русла в промежуточных и терминальных ворсинах, что подтверждается снижением экспрессии VEGF-A, eNOS. Венодилатация в стволых ворсинах с одновременным увеличением наружного и внутреннего диаметров также прогрессировала при усилении патологического процесса, при этом отмечалось доми-

нирование склерозированных ворсин с явным отставанием развития их капиллярного русла в концевых отделах ворсинчатого хориона.

Длительно существующая облитерационная ангиопатия стволых ворсин ведет к уменьшению объема капиллярной крови, образованию нефункциональных групп ворсин и нарушениям гемодинамики, тромбообразованию и ишемическим инфарктам плаценты. Исходом этого процесса является прогрессирование плацентарной недостаточности, задержка внутриутробного развития плода, обусловленная угнетением различных функций плаценты.

Облитерационная ангиопатия опорных ворсин плаценты – неотъемлемый структурный компонент фетоплацентарной недостаточности при разнообразных формах акушерской патологии: гипертрофия мышечной оболочки и облитерация просвета артериол прогрессируют в зависимости от длительности и тяжести течения преэклампсии. Структурными предпосылками возникновения облитерационной ангиопатии в опорных ворсинах являются ранние нарушения плацентации, а также аномалии расположения и взаимоотношения артериол и венул, нарушения васкуло- и ангиогенеза, которые со второй половины беременности усугубляют течение преэклампсии.

Облитерационная ангиопатия – это развернутый во времени процесс, который начинается прогрессирующей гипертрофией мышечной оболочки артериол без сужения их просвета, локальной десквамацией эндотелиоцитов и реакцией медиального слоя стенки, продолжается нарастанием коэффициента облитерации, прогрессирующей «псевдогиперплазией» эндотелия сетчатого типа с формированием тромбов в просвете артериол, что сопровождается развитием «плацентарного эндотелиоза» (субтотальная форма облитерационной ангиопатии). Все эти изменения приводят к облитерации просвета артериол (тотальная форма облитерационной ангиопатии).

Заключение

Полученные данные подтверждают значимость облитерационной ангиопатии сосудов стволых ворсин в плацентах при преэклампсии. Необратимые структурные изменения сосудов ворсин и плодной части плаценты могут объективно препятствовать улучшению состояния плода при применении лекарственного воздействия на сосуды матки и плаценты. Профилактика ишемических изменений в плаценте, где ведущую роль играет облитерационная ангиопатия сосудов ворсин, является актуальной проблемой в медицине, требующей наличия объективной модели для оценки состояния и прогноза развития новорожденного. Интеграционный подход в исследовании плаценты позволит максимально верно оценить состояние пациенток и плодов, а также реализовать мероприятия по предупреждению гипоксических нарушений у новорожденных.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.П. Милованов, Л.М. Михалева.

Сбор и обработка материала – О.В. Воронова.

Написание текста – О.В. Воронова.

Редактирование – Л.М. Михалева.

Author contributions

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

Collected the data and performed the analysis – O.V. Voronova.

Wrote the paper – O.V. Voronova.

Edited the manuscript – L.M. Mikhaleva.

Литература/References

1. Кулида Л.В., Рокотьянская Е.А., Панова И.А., Малышкина А.И., Проценко Е.В., Майсина А.И. Морфологические и иммуногистохимические параметры хронической плацентарной недостаточности при преэклампсии. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2020;28(4):449–461. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2020284449-461.
Kulida LV, Rokotyanskaya EA, Panova IA, Malyshkina AI, Protsenko EV, Maisina AI. Morphological and immunohistochemical parameters of chronic placental insufficiency in preeclampsia. I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. 2020; 28(4):449–461 (In Russ.). DOI: 10.23888/PAVLOVJ2020 284449-461.
2. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Линева О.И., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Мартынова Н.В. и др. Патогенетические механизмы формирования плацентарной недостаточности и преэклампсии. Акушерство и гинекология. 2017;9:64–71. DOI: 10.18565/aig.2017.9.64-71.
Lipatov IS, Tezikov YV, Lineva OI, Tyutyunnik VL, Kan NE, Martynova NV et al. Pathogenetic mechanisms of placental insufficiency and preeclampsia development. Akusherstvo i Ginekologiya = Obstetrics and Gynecology. 2017;9:64–71 (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2017.9.64-71.
3. Михалева Л.М., Коноплянников А.Г., Кудрявцева Я.Ю., Оленев А.С., Грачева Н.А., Бирюков А.Е. и др. Экстрагенитальная неинфекционная патология в структуре материнской смертности г. Москвы. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(2):21–31. DOI: 10.31088/CEM2021.10.2.21-31.
Mikhaleva LM, Konoplyannikov AG, Kudryavtseva YY, Olenev AS, Gracheva NA, Biryukov AE et al. Extragenital noninfectious pathology in the maternal mortality structure in Moscow. Clinical and experimental morphology. 2021;10(2):21–31 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.2.21-31.
4. Милованов А.П. Патология системы мать–плацента–плод: Руководство для врачей. Москва: Медицина, 1999. 448 с.
Milovanov AP. Pathology of mother–placenta–fetus system. A guide for physicians. Moscow: Medicine, 1999. 448 p. (In Russ.).
5. Перетатко Л.П., Никифорова Н.В., Кузнецов Р.А., Керимкулова Н.В., Малышкина А.И. Патоморфология последствий, осложнения беременности, родов и исходы для новорожденных у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани. Российский вестник акуше-
Peretyatko LP, Nikiforova NV, Kuznetsov RA, Kerimkulova NV, Malyshkina AI. Placental pathomorphology, pregnancy and labor complications, and neonatal outcomes in patients with undifferentiated connective tissue dysplasia. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2018;18(1):4–9 (In Russ.). DOI: 10.17116/rosakush20181814-9.
6. Aranda F, Udry S, Perés Wingeyer S, Amshoff LC, Bogdanova N, Wieacker P et al. Maternal carriers of the ANXA5 M2 haplotype are exposed to a greater risk for placenta-mediated pregnancy complications. J Assist Reprod Genet. 2018;35(5):921–8. DOI: 10.1007/s10815-018-1142-4.
7. Новикова О.Н., Ушакова Г.А., Мустафина Л.Р., Логвинов С.В. Гравидарный гомеостаз неосложненной беременности третьего триместра. Фундаментальная и клиническая медицина. 2017;2(2):14–26. DOI: 10.23946/2500-0764-2017-2-2-14-26.
Novikova ON, Ushakova GA, Mustafina LR, Logvinov SV. Homeostasis of uncomplicated pregnancy in third trimester. Fundamental and Clinical Medicine. 2017;2(2):14–26 (In Russ.). DOI: 10.23946/2500-0764-2017-2-2-14-26.
8. Baergen RN, Burton GJ, Kaplan CG. Benirschke's Pathology of the Human Placenta. 7th ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2022. 954 p. <https://www.mebooksfree.net/2021/5265123651265.html>
9. Nasyrov RA, Sidorova NA, Melnikova VF, Fedotova EP. Morphological and immunohistochemical features of placental damage in cases of perinatal death: Institutional experience with emphasis on viral etiology. Ann Clin Lab Sci. 2020;50(6):754–60. PMID: 33334790.
10. Рудюк Л.А., Решетникова О.С. Факторы ангиогенеза в плаценте беременных с врожденными пороками сердца. Архив патологии. 2019;81(4):33–38. DOI: 10.17116/patol20198104133.
Rudyuk LA, Reshetnikova OS. Angiogenesis-related factors in the placenta of pregnant women with congenital heart diseases. Arkhiv Patologii = Archive of Pathology. 2019;81(4):33–38 (In Russ.). DOI: 10.17116/patol20198104133.
11. Щеголев А.И., Туманова У.Н., Ляпин В.М. Нарушения структуры и васкуляризации ворсин плаценты при преэклампсии. Гинекология. 2018;20(4):12–18. DOI: 10.26442/2079-5696_2018.4.12-18.
Shchegolev AI, Tumanova UN, Lyapin VM. Disorder of the structure and vascularization of the villi of placenta at the preeclampsia. Gynecology. 2018;20(4):12–18 (In Russ.). DOI: 10.26442/2079-5696_2018.4.12-18.
12. Heerema-McKenney A. Defense and infection of the human placenta. APMIS. 2018;126(7):570–88. DOI: 10.1111/apm.12847.
13. Захаров С.М., Чечнева М.А., Будыкина Т.С. Возможности ультразвуковой диагностики структурных нарушений плаценты. Российский вестник акушера-гинеколога. 2019;19(6):16–22. DOI: 10.17116/rosakush20191906116.
Zakharov SM, Chechneva MA, Budykina TS. Possibilities of ultrasound diagnostics of structural disorders of placenta. Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin

- of Obstetrician-Gynecologist. 2019;19(6):16–22 (In Russ.). DOI: 10.17116/rosakush20191906116.
14. Мельникова В.Ю., Додхоева М.Ф. Иммуногистохимические маркеры и гистологические и морфологические изменения в плаценте женщин, родивших детей с анэнцефалией. Вестник Авиценны. 2020;22(1):22–27. DOI: 10.25005/2074-0581-2020-22-1-22-27.
Melnikova VYu, Dodkhoeva MF. Immunohistochemical markers and histological and morphological changes in the placenta of women, who gave birth to children with anencephaly. Vestnik Avitsenny = Avicenna Bulletin. 2020;22(1):22–27 (In Russ.). DOI: 10.25005/2074-0581-2020-22-1-22-27.
 15. Низяева Н.В., Амирасланов Э.Ю., Ломова Н.А., Павлович С.В., Савельева Н.А., Наговицына М.Н. и др. Ультроструктурные и иммуногистохимические особенности плаценты при преэклампсии в сочетании с задержкой роста плода. Акушерство и гинекология. 2019;11:97–106. DOI: 10.18565/aig.2019.11.97-106.
Nizyaeva NV, Amiraslanov EYu, Lomova NA, Pavlovich SV, Savel'eva NA, Nagovitsyna MN et al. Placental ultrastructural and immunohistochemical changes in preeclampsia with concomitant fetal growth restriction. Akusherstvo i Ginekologiya = Obstetrics and Gynecology. 2019;11:97–106 (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2019.11.97-106.
 16. Хлестова Г.В., Карапетыан А.О., Шакая М.Н., Романов А.Ю., Баев О.Р. Материнские и перинатальные исходы при ранней и поздней преэклампсии. Акушерство и гинекология. 2017;(6):41–47. DOI: 10.18565/aig.2017.6.41-7.
Khlestova GV, Karapetyan AO, Shakaya MN, Romanov AYU, Baev OR. Maternal and perinatal outcomes in early and late preeclampsia. Akusherstvo i Ginekologiya = Obstetrics and Gynecology. 2017;(6):41–47 (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2017.6.41-7.
 17. Гориков И.Н., Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Довжикова И.В. Архитектоника вен плодной части плаценты при цитомегаловирусной инфекции во II триместре беременности. Архив патологии. 2019;81(4):43–47. DOI: 10.17116/patol20198104143.
Gorikov IN, Andrievskaya IA, Ishutina NA, Dovzhikova IV. The architectonics of fetal placental veins in second-trimester cytomegalovirus infection. Arkhiv Patologii = Archive of Pathology. 2019;81(4):43–47 (In Russ.). DOI: 10.17116/patol20198104143.
 18. Inoue A, Horinouchi T, Yoshizato T, Kojiro-Sanada S, Kozuma Y, Ushijima K. Peculiar blood flow profiles among placental chorionic villous vessels of an abnormally thick placenta in a case of systemic lupus erythematosus characterized using microvascular imaging. J Obstet Gynaecol Res. 2020;46(12):2684–90. DOI: 10.1111/jog.14502.
 19. Rathbun KM, Hildebrand JP. Placenta Abnormalities. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. PMID: 29083591. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459355/>
 20. Буркитова А.М., Полякова В.О., Болотских В.М., Кветной И.М. Особенности строения плаценты при переносенной беременности. Журнал акушерства и женских болезней. 2019;68(6):72–85. DOI: 10.17816/JOWD68673-860.
Burkitova AM, Polyakova VO, Bolotskikh VM, Kvetnoy IM. Features of the placenta structure in post-term pregnancy. Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2019;68(6):72–85. DOI: 10.17816/JOWD68673-860.
 21. Низяева Н.В., Приходько А.М., Евграфова А.В., Тысячный О.В., Баев О.Р. Клинико-морфологические особенности плаценты при острой внутриутробной гипоксии в родах. Акушерство и гинекология. 2019;12:96–104. DOI: 10.18565/aig.2019.12.96-104.
Nizyaeva NV, Prikhodko AM, Evgrafova AV, Tsyachnyi OV, Baev OR. Clinical and morphological features of the placenta in acute intrauterine hypoxia during childbirth. Akusherstvo i Ginekologiya = Obstetrics and Gynecology. 2019;12:96–104 (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2019.12.96-104.
 22. Sato Y. Inflammatory lesions in placental pathology. J Obstet Gynaecol Res. 2022;48(1):58–65. DOI: 10.1111/jog.14932.
 23. Redline RW, Boyd TK, Roberts DJ. Placental and gestational pathology. Cambridge University Press, 2018. 350 p. DOI: 10.1017/9781316848616.
 24. Burton GJ, Redman CW, Roberts JM, Moffett A. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. BMJ. 2019;366:1–15. DOI:10.1136/bmj.l2381
 25. Rana S, Lemoine E, Granger J, Karumanchi SA. Preeclampsia. Circulation Research. 2019;124(7):1094–112. DOI:10.1161/circresaha.118.313276
 26. Brosens I, Puttemans P, Benagiano G. Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. American journal of obstetrics and gynecology. 2019;221(5):437–56. DOI: 10.1016/j.ajog.2019.05.044.
 27. Redline RW, Ravishankar S, Bagby CM, Saab ST, Zarei Sh. Four major patterns of placental injury: a stepwise guide for understanding and implementing the 2016 Amsterdam consensus. Modern Pathology. 2021; 34(6):1074–92. DOI: 10.1038/s41379-021-00747-4.

Информация об авторах

Ольга Владимировна Воронова – врач-патологоанатом, заведующая отделением патологической анатомии клинической больницы «РЖД-Медицина».

Андрей Петрович Милованов – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», профессор кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

Author information

Olga V. Voronova – Pathologist, Head of the Pathology Department, Clinical Hospital “RZhD-Medicine”.

<https://orcid.org/0000-0003-0542-6900>

Andrey P. Milovanov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-8804-0258>

Lyudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”, Professor, Department of Pathological Anatomy, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.

<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

Особенности репаративной регенерации роговицы в условиях применения секрета стволовых клеток

Е.Н. Борхунова¹, С.В. Полябин¹, С.В. Сароян¹, А.И. Довгий²

¹ ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени академика К.И. Скрябина, Москва, Россия

² ООО «Г-Хелпер Клеточные Технологии», Москва, Россия

Резюме. *Введение.* Одним из перспективных и активно развивающихся научных направлений является регенеративная биология и медицина. В рамках этого направления происходит изучение механизмов действия препаратов регенеративной медицины, из которых в настоящее время большое внимание уделяется секретомам – комплексам цитокинов – белков и пептидов, выполняющих в тканях регуляторную функцию. Большинство современных работ, посвященных изучению биологических эффектов отдельных цитокинов и их комплексов при репаративной регенерации, проведено *in vitro*. Морфологические исследования, позволяющие оценить структурные изменения в тканях и выявить особенности течения репарации под влиянием цитокинов, фрагментарны и недостаточны. В статье представлены результаты изучения репаративной регенерации роговицы под влиянием секрета мезенхимальных стволовых клеток.

Материалы и методы. Работа проведена на морских свинках (n=30, опытная группа, группа сравнения и контроль), которым под изофлюрановым наркозом наносили обширный глубокий дефект роговицы диаметром 5 мм, распространяющийся на 2/3 толщины роговицы. Животные находились под динамическим наблюдением и ежедневно подвергались офтальмологическому осмотру. Животных выводили из эксперимента спустя 1, 5, 11, 28 суток после операции путем передозировки наркоза и брали материал для гистологических и микроморфометрических исследований.

Результаты. Показано, что под влиянием цитокинов репарация роговицы происходит на фоне менее выраженного воспаления и экссудации, завершается восстановлением кривизны роговицы и частичным восстановлением прозрачности. Микроскопически отмечены меньшая воспалительная инфильтрация, более ранняя эпителизация, восстановление толщины регенерата, меньшая выраженность рубцовых изменений роговицы, чем в группе сравнения и контроле. Весьма интересным представляется появление гиповаскулярных и аваскулярных очагов в структуре соединительнотканного регенерата, что может быть связано с ремоделированием. По-видимому, этот фактор и обуславливает частичное восстановление прозрачности роговицы.

Заключение. Секретом стволовых клеток оказывает положительное действие на заживление раны роговицы: репарация протекает на фоне умеренно выраженной воспалительной инфильтрации и завершается формированием регенерата по типу нубекулы с частичным восстановлением прозрачности роговицы.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, секретом, цитокины, роговица, рана, репаративная регенерация

Для корреспонденции: Елена Николаевна Борхунова. E-mail: borhunova@mail.ru

Для цитирования: Борхунова Е.Н., Полябин С.В., Сароян С.В., Довгий А.И. Особенности репаративной регенерации роговицы в условиях применения секрета стволовых клеток. Клини. эксп. морфология. 2022;11(3):45–55. DOI: 10.31088/СЕМ2022.11.3.45-55.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 21.03.2022. Получена после рецензирования 30.03.2022. Принята в печать 25.04.2022.

Peculiarities of reparative corneal regeneration applying stem cell secretome

E.N. Borkhunova¹, S.V. Pozyabin¹, S.V. Saroyan¹, A.I. Dovgii²

¹ K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

² T-Helper Cell Technologies, LLC, Moscow, Russia

Abstract. Introduction. Regenerative medicine is a promising and actively developing scientific area. Of particular interest are studies related to the mechanisms of biological drug action, a particular focus being on secretomes. The term “secretomes” refers to numerous cytokines, growth factors, and other proteins and peptides that are secreted by cells and regulate biological processes. Most published literature on biological effects of individual cytokines and cell secretomes during reparative regeneration processes have been carried out *in vitro*. Studies describing morphological control, i.e. assessing structural changes in tissue and identifying the key processes influenced by cytokines during regeneration, are scarce, and further research is needed. This article presents the results of evaluating the reparative corneal regeneration with secretome produced by mesenchymal stem cells (MSCs).

Materials and methods. We divided guinea pigs (N=30) into three groups (experimental, comparison, and control). Under isoflurane anesthesia, each animal received a mechanical corneal defect 5 mm in diameter affecting 2/3 of the cornea in depth. We observed the animals and performed daily ophthalmological examinations. Animals were sacrificed on days 1, 5, 11, and 28 after the manipulation with an overdose of anesthesia. Then, we performed histological and micromorphometric evaluation.

Results. We revealed that under the influence of cytokines, corneal regeneration was with less pronounced inflammation and exudation. The restoration of corneal curvature was full whereas that of corneal transparency was partial. Microscopic examination of the samples obtained from the animals of the experimental group showed that they had a lower inflammatory cell response, earlier epithelialization, restored thickness of the regenerate, and less scar-like tissue formation in the cornea than those in the comparison and control groups. We observed the appearance of hypovascular and avascular foci in the structure of the regenerate connective tissue, which may be associated with the remodeling process. This factor may also be responsible for the observed partial restoration of corneal transparency.

Conclusion. The secret of stem cells has a positive effect on the healing of corneal wounds. The inflammation is moderate. The corneal regenerate is of nubecula type; corneal transparency is partially restored.

Keywords: mesenchymal stem cells, secretome, cytokines, cornea, wound, reparative regeneration

Corresponding author: Elena N. Borkhunova. E-mail: borhunova@mail.ru

For citation: Borkhunova E.N., Pozyabin S.V., Saroyan S.V., Dovgii A.I. Peculiarities of reparative corneal regeneration applying stem cell secretome. Clin. exp. morphology. 2022;11(3):45–55 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.45-55.

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

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Received 21.03.2022. **Received in revised form** 30.03.2022. **Accepted** 25.04.2022.

Введение

Актуальным вопросом регенеративной биологии и медицины является изучение эффектов регенеративных препаратов. Особое место занимают секретомы – вещества, в которых содержится комплекс цитокинов.

Цитокины – это белки и пептиды, выделяемые клетками и регулирующие межклеточные взаимодействия паракринным способом [1–4]. Цитокины регулируют все этапы репаративной регенерации тканей и дальнейшее ремоделирование регенерата [4–11]. Это происходит за счет мобилизации собственного репаративного потенциала тканей, в частности прогениторных клеток [1, 2, 11, 12]. Считается, что секретомы мезенхимальных стволовых клеток ввиду комплексного эффекта могут оказать выраженное положительное влияние на заживление тканей, стимулируя этот процесс и оп-

тимизируя хирургический и эстетический результат лечения [1–7].

Известно, что действие клеточных продуктов в регенеративной медицине обусловлено именно цитокинетическими взаимодействиями. Это подтверждено экспериментальными данными, полученными при изучении заживления ран кожи и роговицы [4–17]. Секретом мезенхимальных стволовых клеток оказывает иммуносупрессивное и противовоспалительное действие благодаря ряду цитокинов: фактору некроза опухоли $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), интерлейкинам 1, 6, 7, 10, 12, 13, 18, 27, IL18BP, нейротрофину 3 (НТ-3). Обнаружено, что MSC-СМ продуцируют провоспалительные цитокины, такие как IL-1, IL-6, IL-8 и IL-9 [3–7]. Именно сбалансированность и своевременность действия про- и противовоспалительных цитокинов определяют

благоприятный исход защитно-компенсаторной реакции [1, 2, 7, 8, 10]. Цитокины предотвращают гибель клеток путем восстановления местного микроокружения при ингибировании апоптоза. В процессе заживления ран секретом мезенхимальных стволовых клеток влияет на важнейший процесс ангиогенеза, индуцируя пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, способствуя неоваскулогенезу, а также предотвращает апоптоз эндотелиальных клеток *in vitro* и избыточное склерозирование тканей при заживлении, что представляет большой практический интерес. При этом в секрете мезенхимальных стволовых клеток идентифицированы не только стимуляторы, но и ингибиторы ангиогенеза, представляющие собой сбалансированное сочетание биологически активных веществ, способствующих оптимальному ангиогенезу и своевременному регрессу сосудов [5, 7, 11].

Несмотря на то, что в литературе представлены данные о положительных результатах экспериментального изучения и клинического применения регенеративных препаратов [9–17], сведения о морфологическом контроле заживления тканей при использовании секретомов фрагментарны. Это определяет необходимость дальнейших детальных исследований эффектов таких регенераторных препаратов как *in vitro*, так и *in vivo*.

В Российской Федерации в 2017 году зарегистрирован регенеративный препарат на основе кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток – Репарин-Хелпер, содержащий стандартизированный комплекс цитокинов [18]. Влияние этого секрета на

процесс репарации роговицы будет проанализировано в статье.

Цель исследования – на экспериментальной модели изучить особенности течения репаративной регенерации роговицы после индуцирования раны в условиях применения препарата, содержащего секретом стволовых клеток.

Материалы и методы

Работа проведена на морских свинках (самцы, 6 месяцев), которых разделили на три группы (по 10 животных в каждой). Всем животным под общей анестезией (изофлюран) с помощью роговичного трепана проводили кератэктомию, формируя односторонний дефект роговицы диаметром 5 мм, распространяющийся на 2/3 толщины роговицы (рис. 1). Нанесение препаратов на поверхность глаза начинали сразу после формирования дефекта и продолжали в течение всего периода наблюдения – ежедневно, 4 раза в сутки с интервалом 3 часа.

В группе I репарация роговицы происходила под влиянием цитокинов, содержащихся в препарате Репарин-Хелпер, который применяли в форме капель. В группе II (группа сравнения) использовали кератопротектор на основе дексапантенола в форме геля. В группе III (контрольной) в качестве капель использовали физиологический раствор. Во всех группах обработка проводилась 4 раза в день в течение срока эксперимента (28 суток), при этом животные находились под динамическим наблюдением. Клинические исследования проводили с помощью методов общего

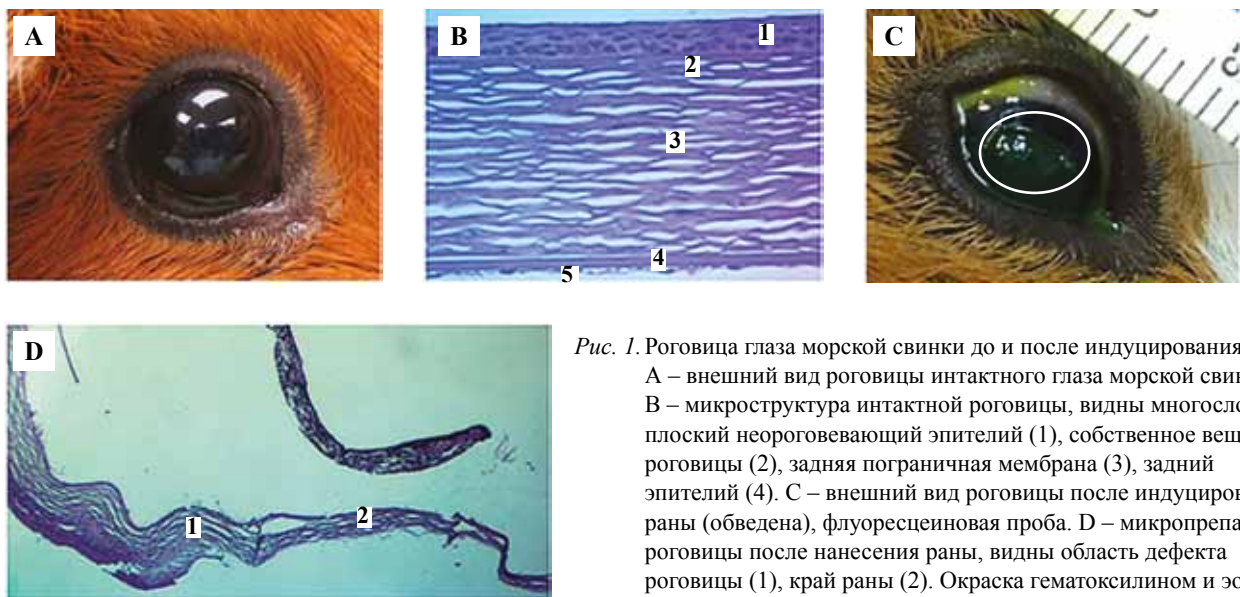


Рис. 1. Роговица глаза морской свинки до и после индуцирования раны. А – внешний вид роговицы интактного глаза морской свинки. В – микроструктура интактной роговицы, видны многослойный плоский неороговевающий эпителий (1), собственное вещество роговицы (2), задняя пограничная мембрана (3), задний эпителий (4). С – внешний вид роговицы после индуцирования раны (обведена), флуоресцеиновая проба. Д – микропрепарат роговицы после нанесения раны, видны область дефекта роговицы (1), край раны (2). Окраска гематоксилином и эозином. В – $\times 400$, Д – $\times 40$

Fig. 1. The cornea of Guinea pig before and after wound induction.

A – the appearance of the intact cornea. B – the microstructure of the intact cornea: nonkeratinized stratified squamous epithelium (1), the stroma of the cornea (2), the Descemet's membrane (3), and the corneal endothelium (4). C – the appearance of the corneal wound (circled), a fluorescein test. D – microphotograph of the cornea after wounding: area of the corneal defect (1), wound edge (2). H&E stain. B – $\times 400$, D – $\times 40$

офтальмологического осмотра и щелевой биомикроскопии.

Через 1, 5, 11, 28 суток после операции брали материал для гистологических исследований. Животных выводили из эксперимента путем передозировки наркотика (изофлюран). Фрагменты роговицы фиксировали в 10% растворе формалина, заливали в парафин по общепринятой методике и после окрашивания гематоксилином и эозином и по ван Гизону изучали с помощью метода световой микроскопии и микроскопической морфометрии. При этом определяли общую морфологическую картину, а также толщину регенерата роговицы, толщину пучков коллагеновых волокон регенерата основы роговицы, количество фибробластов и гемокапилляров в стандартном поле зрения (ПЗ) при $\times 400$. Исследования проводили с использованием микроскопа Jenamed-2 (Carl Zeiss, Германия), совмещенного с программой цифрового анализа микроскопического изображения ImageScore 4,0 (Leica Biosystems, США). Цифровой материал подвергали статистической обработке в программе Statistica 8.1 (Statsoft, США). Для выявления отличительных количественных характеристик регенерата в группе I на разных этапах репарации по сравнению с группами II и III использовали критерий Краскела-Уоллиса и критерий Тьюки, различия считали значимыми при значении $p \leq 0,05$.

Все манипуляции с лабораторными животными проводили согласно директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

Результаты

Результаты клинических наблюдений

При клинических исследованиях в группе I установлено, что в течение первых 2 суток развивался незначительный отек, который разрешался к 4-м суткам. К 7-м суткам определяли признаки неоваскуляризации (рис. 2 А), выраженные в меньшей степени по сравнению с другими группами. Явления экссудации, блефароспазма, фотофобии не отмечали. К 14-м суткам на фоне неоваскуляризации вновь появлялся незначительный отек (рис. 2 В), который исчезал к 21-м суткам. Через 28 суток отмечали полное заживление дефекта с формированием рубца по типу нубекулы и частичным восстановлением прозрачности роговицы (рис. 2 С).

В группе II на 2-е сутки после операции как в области дефекта, так и перифокально развивался выраженный отек, который регистрировали до последнего срока эксперимента. К 7-м суткам (рис. 2 D) у всех животных наблюдали отек роговицы, неоваскуляризацию, а также блефароспазм и фотофобию. Неоваскуляризация, выраженная в большей степени, чем в группе I, отмечалась с 3-х суток эксперимента и прогрессировала до 14-х (рис. 2 E). К 28-м суткам отмечали полное заживле-

ние дефекта с образованием рубца по типу лейкомы (рис. 2 F).

У животных группы III на 2-е сутки после операции регистрировали выраженный отек роговицы, блефароспазм и фотофобию, а на 3-и сутки – экссудацию. На этом фоне на 7-е сутки развивалась обильная неоваскуляризация (рис. 2 G), которая прогрессировала к 14-м суткам (рис. 2 H). На 28-е сутки отмечали формирование макулы или лейкомы (рис. 2 I), что указывало на незавершенность процесса репарации.

Результаты гистологических исследований

При исследовании микропрепаратов через 1 сутки в области дефекта отмечали некроз ткани основы роговицы, при этом в группе I отек и клеточная инфильтрация были умеренными, а в составе инфильтрата наблюдали сегментоядерные нейтрофилы и макрофаги. Больше того, в области дефекта регистрировали фибробласты. В группах II и III определяли выраженный отек, обильную клеточную инфильтрацию, формирование детрита (рис. 3 А–С).

К 5-м суткам дефект роговицы восполнялся за счет эпителизированных грануляций. В группе I его толщина была неравномерна и характеризовалась утолщением в центре (рис. 4 А, табл. 1), в его основе находилась грануляционная ткань, богатая кровеносными сосудами и фибробластами (табл. 2); клеточный инфильтрат диффузный, умеренный, представлен главным образом макрофагами с единичными сегментоядерными нейтрофилами.

В группах II и III в этот срок в области дефекта отмечены отек и обильная инфильтрация грануляционной

Таблица 1 | Table 1

Динамика толщины регенерата роговицы (мкм), Me (Q_1, Q_3) | Changes in the cornea thickness during regeneration (μm), Me (Q_1, Q_3)

Срок эксперимента Experiment day	Группы Groups		
	группа I group I	группа II group II	группа III group III
1 сутки Day 1	64 (62÷65)	65 (63÷67)	63 (62÷64)
5 суток Day 5	174* (170÷176)	221 (219÷224)	185 (182÷187)
11 суток Day 11	217 (214÷221)	260 (254÷263)	175 (172÷178)
28 суток Day 28	194* (189÷195)	164 (162÷165)	154 (151÷155)

* Статистически значимые отличия группы I от групп II и III ($p \leq 0,05$) | Statistically significant differences between groups I, II, and III ($p \leq 0,05$)

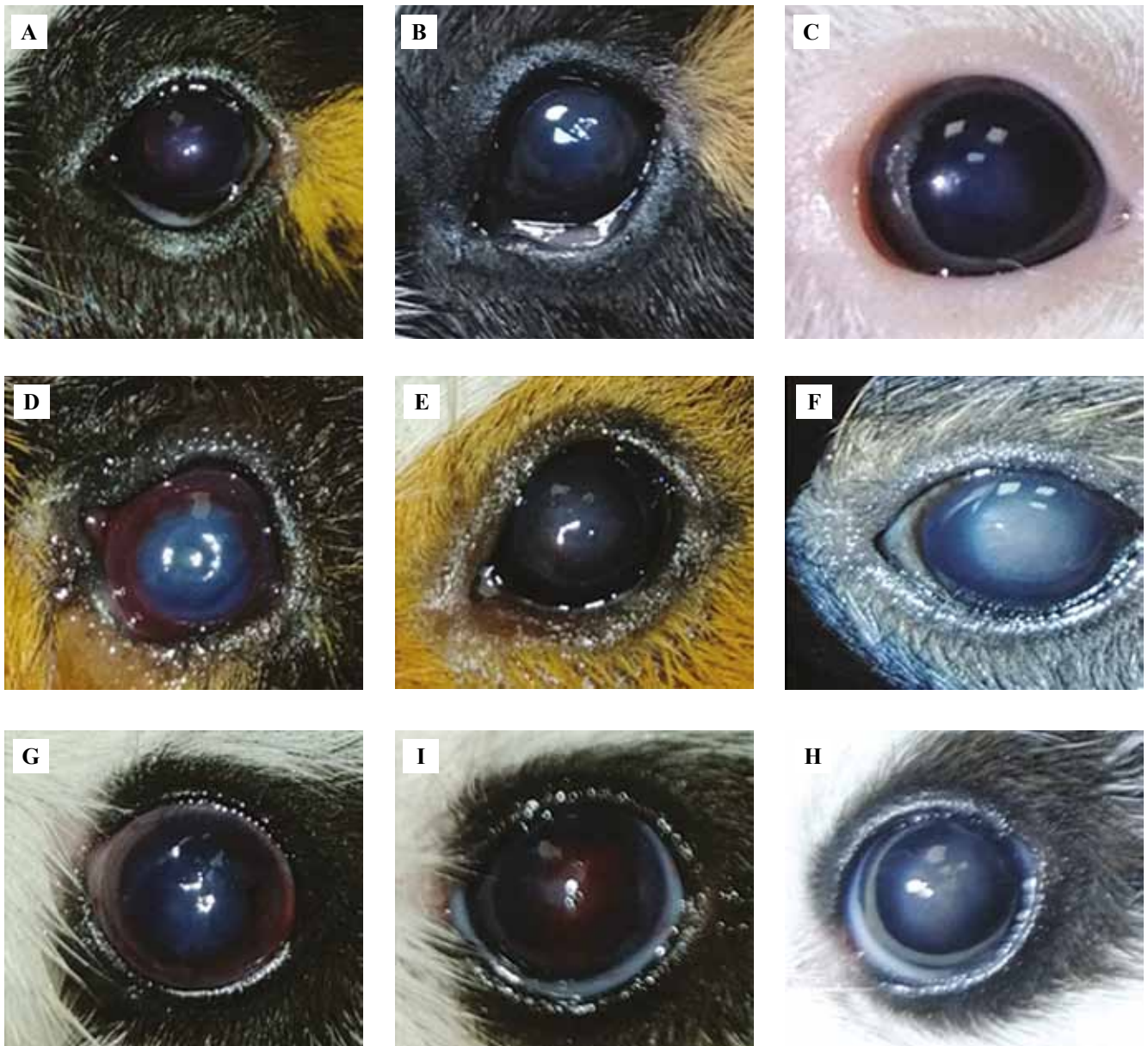


Рис. 2. Состояние роговицы в области индуцированной язвы на разных сроках эксперимента.

Группа I: А – через 5 суток виден небольшой отек, В – через 11 суток наблюдаются умеренные отек и неоваскуляризация роговицы, С – через 28 суток отмечается заживление по типу нубекулы с частичным восстановлением прозрачности роговицы. Группа II: D – через 5 суток наблюдаются ярко выраженные отек и экссудация, Е – через 11 суток отмечаются неоваскуляризация и сохранение экссудации, F – через 28 суток наблюдается заживление по типу лейкомы с выраженным помутнением роговицы. Группа III: G – через 5 суток определяются отек и экссудация, H – через 11 суток происходит выраженная неоваскуляризация роговицы, I – через 28 суток формируется регенерат по типу лейкомы с выраженным помутнением роговицы

Fig. 2. The cornea in the induced ulcer area at different stages of the experiment.

Group I: A – day 5: small swelling, B – day 11: moderate swelling and neovascularization of the cornea, C – day 28: nubecula-type healing with partial restoration of corneal transparency. Group II: D – day 5: pronounced swelling and exudation, E – day 11: neovascularization and preservation of exudation, F – day 28: leukoma-type healing with pronounced corneal haze. Group III: G – day 5: swelling and exudation, H – day 11: pronounced neovascularization of the cornea, I – 28 day: formation of the leukoma-type regenerate, pronounced corneal haze

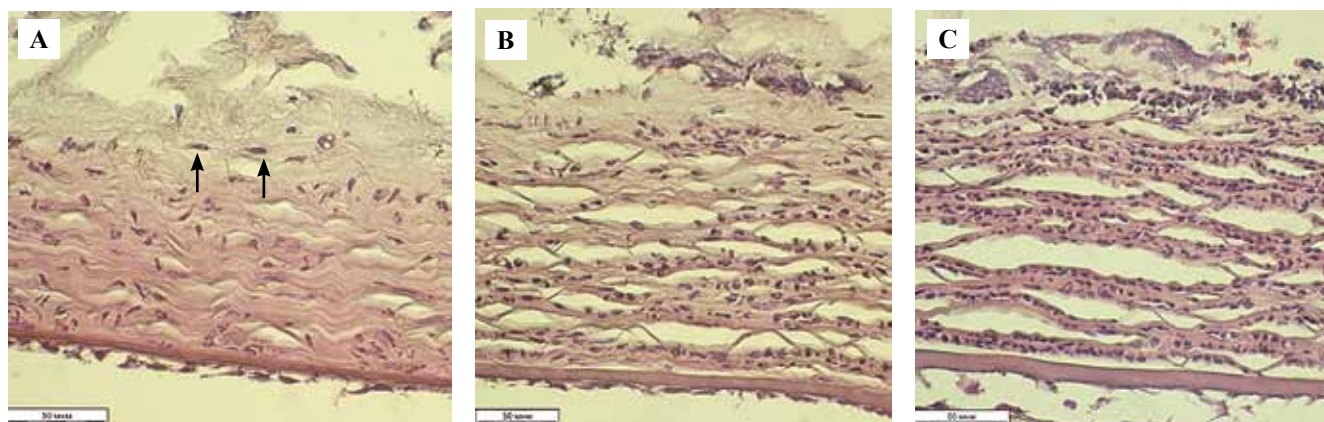


Рис. 3. Состояние тканей в области дефекта роговицы через 1 сутки после операции.

А – группа I: в зоне деструкции наблюдаются отек, некроз соединительной ткани, умеренный макрофагально-нейтрофильный инфильтрат. Среди пучков коллагеновых волокон видны единичные фибробласты (*стрелки*).
 В – группа II, в области некроза наблюдается отек, видна макрофагально-нейтрофильная инфильтрация.
 С – группа III, в области воздействия визуализируются отек и диффузная инфильтрация сегментоядерными нейтрофилами. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 3. Corneal defect area 1 day after surgery.

A – group I: edema, connective tissue necrosis, and moderate macrophage-neutrophilic infiltrate in the destruction zone. Single fibroblasts (*arrows*) among the collagen fiber bundles. B – group II: edema in the necrosis area, macrophage-neutrophilic infiltration. C – group III: edema and diffuse infiltration by segmented neutrophils in the defect area. H&E stain, $\times 400$

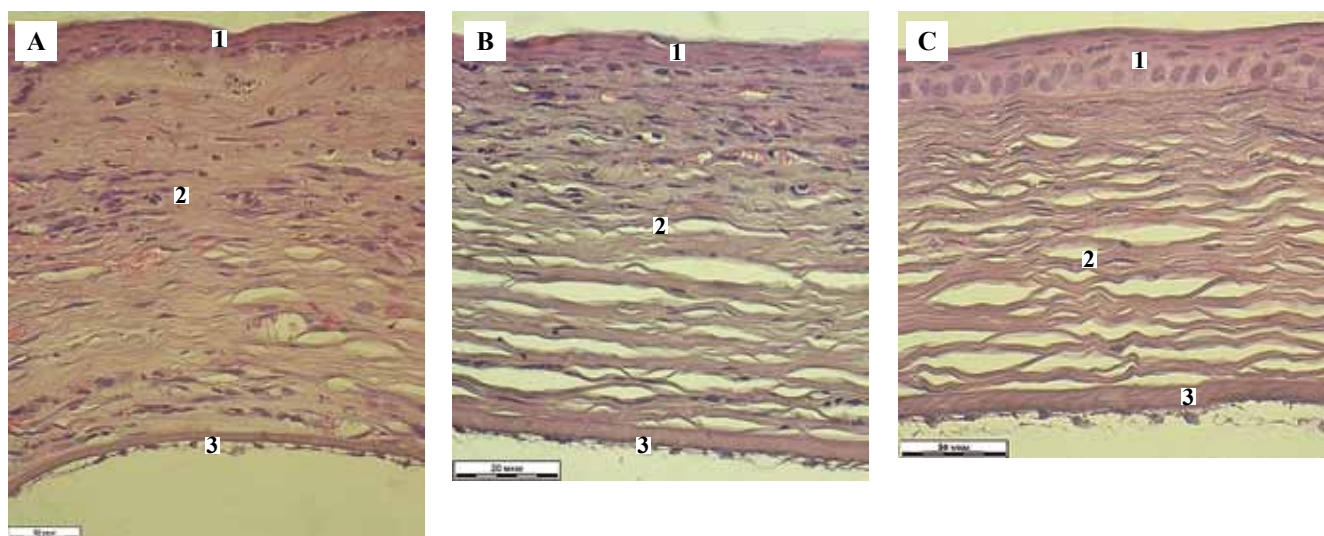


Рис. 4. Структура регенерата роговицы на разных сроках эксперимента.

Группа I. А – через 5 суток регенерат эпителизован (1), в строме (2) наблюдаются отек и умеренная клеточная инфильтрация. В – через 11 суток в структуре регенерата видны эпителий (1), соединительная ткань с кровеносными сосудами (2), в которой определяются признаки умеренной воспалительной инфильтрации. С – через 28 суток регенерат эпителизован (1), пучки коллагеновых волокон стромы (2) хорошо структурированы, видны единичные гемокапилляры. Внутренняя пограничная мембрана (3) сохранна на всех сроках эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 4. The structure of the corneal regenerate at different stages of the experiment.

Group I. A – day 5: epithelized regenerate (1), swelling and moderate cellular infiltration in the stroma (2). B – day 11: the epithelium (1), connective tissue with blood vessels (2) in the regenerate, signs of moderate inflammatory infiltration. C – day 28: epithelized regenerate (1), well-structured collagen fiber bundles of the stroma (2), single blood capillaries. The internal limiting membrane (3) is preserved throughout the experiment. H&E stain, $\times 400$

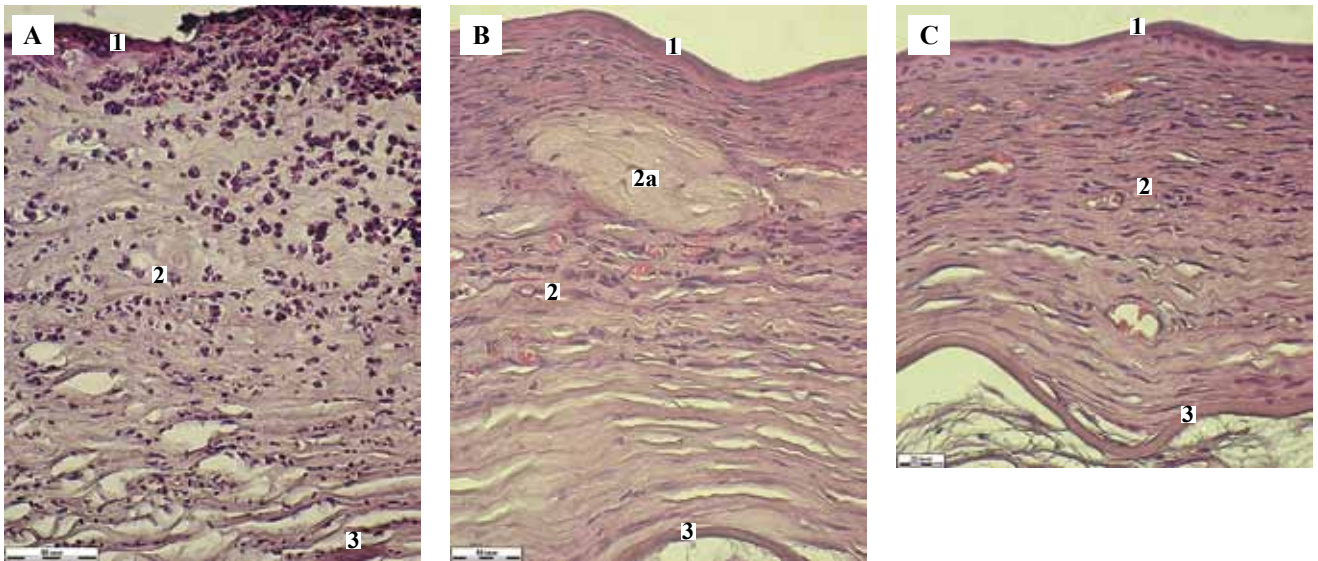


Рис. 5. Структура регенерата роговицы на разных сроках эксперимента.

Группа II. А – через 5 суток регенерат эпителизирован (1), визуализируется выраженная воспалительная инфильтрация стромы (2). В – через 11 суток в структуре регенерата видны эпителий (1) и соединительная ткань с плотно расположенными пучками коллагеновых волокон, богатая гемокapиллярами и фибробластами (2). Видны очаги некроза (2а). 3 – внутренняя пограничная мембрана. С – через 28 суток регенерат эпителизирован (1), в поверхностных слоях стромы наблюдается хорошо васкуляризованная рубцовая ткань с плотно расположенными пучками коллагеновых волокон (2), в глубоких слоях их упаковка более рыхлая. Внутренняя пограничная мембрана (3) сохранна на всех сроках эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 5. The corneal regenerate at different stages of the experiment.

Group II. A – day 5: epithelized regenerate (1) with pronounced inflammatory infiltration of the stroma (2). B – day 11: the epithelium (1) and connective tissue in the regenerate; tightly arranged collagen fiber bundles, numerous blood capillaries and fibroblasts (2); necrosis foci (2a); preserved internal limiting membrane (3). C – day 28: epithelized regenerate (1), well-vascularized scar tissue with densely arranged collagen fiber bundles in the surface layers of the stroma, their loose packaging in the deep layers (2). The internal boundary membrane (3) is preserved. H&E stain, $\times 400$

ткани сегментоядерными нейтрофилами (рис. 5 А, рис. 6 А) которые, очевидно, и определяют выраженное утолщение регенерата. При этом васкуляризация грануляционной ткани в группе II почти не отличается от таковой в группе I, тогда как в группе III она была существенно ниже (табл. 2). Количество фибробластов в группе I больше, чем в группах II и III (табл. 2). Все это свидетельствует о меньшей выраженности воспаления и более активном репаративном процессе после применения секретомата стволовых клеток на данном сроке эксперимента.

К 11-м суткам толщина регенерата увеличивалась во всех исследованных группах, однако оставалась неравномерной, а его поверхность была шероховатой. При этом в группе I (рис. 4 В) регенерат отличался от такового в группах II (рис. 5 В) и III (рис. 6 В) большей упорядоченностью расположения хорошо структурированных пучков коллагеновых волокон фиброзной ткани. В его соединительнотканной части значительно снижалось количество фибробластов и гемокapилляров (табл. 2), вплоть до появления гиповаскулярных очагов ($1,0 \pm 0,5$ гемокapилляра в ПЗ).

В группе II (рис. 5 В) в структуре соединительнотканной части регенерата определялась фиброзная

ткань, толщина пучков коллагеновых волокон в которой не отличалась от таковой в группе I (табл. 2). Наряду с этим сохранялись очаги некроза, а также очаговая макрофагально-нейтрофильная инфильтрация. Примечательно, что не снижалось, а напротив, возрастало количество фибробластов и гемокapилляров (табл. 2), что соответствовало клинически выявленной неоваскуляризации роговицы.

В группе III (рис. 6 В) отчетливо видно, что соединительнотканная часть регенерата имеет два слоя: поверхностный, сформированный хорошо васкуляризованными созревающими грануляциями, и глубокий, образованный более зрелой соединительной тканью. Показатель толщины пучков коллагеновых волокон увеличивался, но не имел статистически значимых отличий от показателей групп I и II (табл. 2). Количество фибробластов не отличалось от такового в группе I, а гемокapилляров уступало ему почти вдвое (табл. 2).

Итак, к 11-м суткам эксперимента в группе I определялись признаки созревания регенерата. В группах II и III эти признаки не выявлены, а регистрируемые в образцах данных групп морфологические изменения хорошо коррелируют с клинически выявленной неоваскуляризацией роговицы.

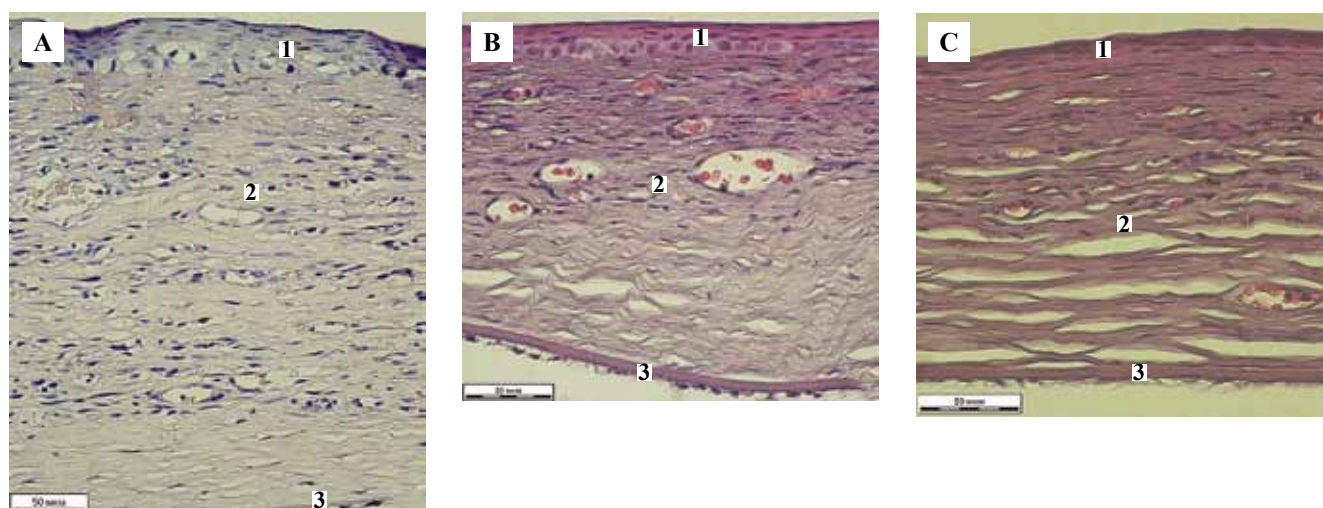


Рис. 6. Структура регенерата роговицы на разных сроках эксперимента.

Группа III (контрольная). А – через 5 суток регенерат эпителизирован (1), строма (2) отечна, виден умеренный клеточный инфильтрат. В – через 11 суток в структуре регенерата наблюдаются эпителий (1) и рубцовая ткань, обильно васкуляризованная и богатая фибробластами в поверхностном слое, более зрелая в глубоком слое (2). Внутренняя пограничная мембрана (3) сохранна. С – через 28 суток регенерат эпителизирован (1), в строме наблюдаются рубцовые изменения, визуализируются кровеносные сосуды. Внутренняя пограничная мембрана (3) сохранна. Окраска гематоксилином и эозином, ×400

Fig. 6. Corneal regenerate at different stages of the experiment.

Group III (control). A – day 5: epithelized regenerate (1), swollen stroma (2), cell infiltrate (2) in its surface layers. B – day 11: the epithelium (1) and scar tissue are more vascularized and rich in fibroblasts in the surface layer (2), while more mature in the deep layer (3). The internal limiting membrane (4) is preserved. C – day 28: epithelized regenerate (1), scar changes in the stroma, blood vessels. Internal limiting membrane (3) is preserved. H&E stain, ×400

Таблица 2 | Table 2

Сравнительная характеристика соединительнотканной части регенератов по динамике показателей количества фибробластов и гемокapилляров (в поле зрения при ×400) и толщине пучков коллагеновых волокон (мкм), Me (Q₁, Q₃) | Comparative characteristics of the connective tissue part of regenerates with the number of fibroblasts and blood capillaries (in a field of vision at ×400) and the thickness of the collagen fiber bundles (μm), Me (Q₁, Q₃)

Сроки эксперимента и группы Experiment day and studied group	Показатели Indicators		
	количество фибробластов number of fibroblasts	количество гемокapилляров number of blood capillaries	толщина пучков коллагеновых волокон, мкм collagen fiber bundle thickness, μm
5 суток Day 5			
Группа I Group I	23* (19÷25)	12 (9÷14)	2,0 (1,9÷2,2)
Группа II Group II	7 (5÷8)	10 (9÷12)	2,2 (1,9÷2,3)
Группа III Group III	6 (4÷8)	7 (5÷8)	1,9 (1,8÷2,2)
11 суток Day 11			
Группа I Group I	13 (10÷15)	7* (5÷9)	3,2 (3,1÷ 3,5)
Группа II Group II	21 (18÷24)	16 (14÷18)	3,4 (3,2÷3,6)
Группа III Group III	12 (10÷14)	12 (9÷14)	3,7 (3,3÷3,8)
28 суток Day 28			
Группа I Group I	11* (10÷12)	1* (1÷3)	4,2 (3,8÷4,5)
Группа II Group II	31 (27÷34)	9 (8÷11)	4,1 (3,7÷4,3)
Группа III Group III	23 (18÷28)	6 (4÷7)	4,9 (4,5÷5,1)

* Статистически значимые отличия группы I от групп II и III (p≤0,05) | Statistically significant differences between group I, II, and III (p≤0.05)

К 28-м суткам в группе I толщина регенерата становилась равномерной и соответствовала таковой интактной роговицы, причем восстанавливалась ее сферическая форма. Эпителий имел обычное строение. Передняя пограничная мембрана склерозирована, задняя пограничная мембрана сохранна (рис. 4 С). Регенерат основы роговицы сформирован фиброзной тканью с хорошо структурированными пучками коллагеновых волокон, имеющих взаимопараллельное расположение. По сравнению с предыдущим сроком количество фибробластов и гемокапилляров здесь снижалось (табл. 2). Важно отметить, что васкуляризация была меньше также и по сравнению с группами I и II (табл. 2), при этом определялись гиповаскулярные области (0–1 гемокапилляр в 1–2 ПЗ). На этом фоне сохранялась диффузная макрофагальная инфильтрация, что может свидетельствовать о продолжающемся ремоделировании регенерата.

В группе II (рис. 5 С) толщина регенерата меньше толщины роговицы, поверхность его была шероховатой, неровной. Кривизна роговицы не восстанавливалась. Наблюдали склероз передней пограничной мембраны, основа роговицы замещена рубцовой тканью с хорошо структурированными, плотно расположенными пучками коллагеновых волокон и большим количеством фибробластов (табл. 2), что указывает на фиброз. Количество гемокапилляров оставалось значительным (табл. 2).

В группе III (рис. 6 С) в области дефекта роговица была истончена, сферичность утрачена, кривизна сглажена. В структуре регенерата определялся эпителий обычного строения. Наблюдался склероз передней пограничной мембраны, в основе роговицы определялась хорошо васкуляризованная фиброзная ткань с толстыми, плотно упакованными пучками коллагеновых волокон. По показателям количества фибробластов и гемокапилляров регенерат занимал промежуточное положение по сравнению с группами I и II.

Морфометрические показатели регенератов роговицы представлены в таблицах 1 и 2.

При оценке межгрупповых отличий показано, что в процессе репарации статистически значимые различия толщины регенерата появлялись между группами I–II на 5-е и 28-е сутки эксперимента, между группами I–III на 28-е сутки эксперимента, при том, что отличия между группами II–III выявлены только на 5-е и 11-е сутки. Количественное представительство фибробластов в ткани регенерата имело статистически значимые отличия между группами I–II на 5-е, 11-е и 28-е сутки эксперимента, между группами I–III на 5-е и 28-е сутки, тогда как между группами II–III значимые отличия можно видеть лишь на 11-е сутки. По показателю количества гемокапилляров статистически значимые отличия установлены между группами I–II на 11-е и 28-е сутки, между группами I–III на 28-е сутки, в то время как между группами II–III они не отмечены. Толщина пучков коллагеновых волокон

статистически значимых межгрупповых отличий не имела (тест Тьюки, $p \leq 0,05$).

Обсуждение

Результаты, полученные в наших исследованиях, подтверждают данные работ [6–8, 10, 14, 17, 25, 28], в которых отмечают более раннее начало ремоделирования регенерата и уменьшение рубцовых изменений при использовании цитокинов. В то же время нами получены и оригинальные данные. Так, в исследованиях [8, 14] деструкции подвергали только эпителий роговицы, в то время как в нашем эксперименте глубина раны распространялась на 2/3 ее толщины. Кроме того, в большинстве работ изучены эффекты лишь отдельных цитокинов, в то время как в нашем исследовании использовался стандартизированный раствор комплекса цитокинов, выделяемых мезенхимальными стволовыми клетками [11].

Использование комплекса цитокинов (секретома стволовых клеток) в ситуации с глубокой и обширной деструкцией роговицы, по нашим данным, приводит к раннему ферментативному очищению области повреждения с помощью сегментоядерных нейтрофилов и макрофагов, которое протекает более активно, чем в контроле. В дальнейшем репаративный процесс характеризуется ранним появлением фибробластов, незначительно выраженными признаками воспаления. На 7-е сутки регенерат лучше васкуляризован и более богат фибробластами, чем в группах сравнения, что обуславливает и более раннее закрытие дефекта. Этому способствует и незначительная воспалительная реакция. К 14-м суткам регенерат в отличие от такового в контроле и группе сравнения имеет признаки созревания, проявляющиеся упорядоченным расположением пучков коллагеновых волокон, снижением количества фибробластов и гемокапилляров. К 30-м суткам в области дефекта восстанавливаются толщина роговицы и ее кривизна. Этот факт наряду с упорядоченным расположением пучков коллагеновых волокон регенерата и снижением васкуляризации его ткани приводит к минимальным клиническим последствиям заживления раны роговицы в виде нубекулы с частичным восстановлением прозрачности роговицы.

Заключение

Таким образом, результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о положительном влиянии секретомы стволовых клеток на заживление обширных и глубоких ран роговицы, что проявляется быстрой эпителизацией дефекта и формированием регенерата, в структуре соединительнотканной части которого находятся рыхло расположенные, тонкие пучки коллагеновых волокон. Кроме того, выявленная редукция гемокапилляров обуславливает частичное восстановление прозрачности роговицы, что является наиболее желательным клиническим эффектом при лечении ран и язв роговицы.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.Н. Борхунова, С.В. Позябин, С.В. Сароян, А.И. Довгий.
Сбор и обработка материала – Е.Н. Борхунова, С.В. Позябин, С.В. Сароян, А.И. Довгий.
Написание текста – Е.Н. Борхунова.
Редактирование – Е.Н. Борхунова, С.В. Позябин, С.В. Сароян, А.И. Довгий.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.N. Borkhunova, S.V. Pozyabin, S.V. Saroyan, A.I. Dovgii.
Collected the data and performed the analysis – E.N. Borkhunova, S.V. Pozyabin, S.V. Saroyan, A.I. Dovgii.
Wrote the paper – E.N. Borkhunova
Edited the manuscript – E.N. Borkhunova, S.V. Pozyabin, S.V. Saroyan, A.I. Dovgii.

Литература/References

1. В.В. Серов, В.С. Пауков (ред.). Воспаление: Руководство для врачей. Москва: Медицина, 1995. 640 с.
VV Serov, VS Paukov (eds.). Inflammation: Clinical guidelines. Moscow: Medicine, 1995. 640 p. (In Russ.).
2. Макаревич П.И., Ефименко А.Ю., Ткачук В.А. Биохимическая регуляция регенеративных процессов факторами роста и цитокинами: основные механизмы и значимость для регенеративной медицины. Биохимия. 2020;85(1):15–33. DOI: 10.31857/S0320972520010029.
Makarevich PI, Efimenko AYU, Tkachuk VA. Biochemical regulation of regenerative processes by growth factors and cytokines: basic mechanisms and relevance for regenerative medicine. Biochemistry. 2020;85(1):15–33 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0320972520010029.
3. Воротников А.В., Суздальцева Ю.Г., Рубцов Ю.П., Аниол Н.В., Горюнов К.В., Кудряшова Т.В. и др. Направленная миграция и мезенхимальные прогениторные клетки: участие в воспалении, репарации и регенерации ткани. В сб.: Стволовые клетки и регенеративная медицина / Под ред. В.А. Ткачука. Москва: МаксПресс, 2012. С. 57–91.
Vorotnikov AV, Suzdaltseva YuG, Rubtsov YuP, Aniol NV, Goryunov KV, Kudryashova TV et al. Directed migration and mesenchymal progenitor cells: participation in inflammation, repair, and tissue regeneration. In: VA Tkachuk (ed.). Stem cells and regenerative medicine / Moscow: MaxPress, 2012. P. 57–91 (In Russ.).
4. Barrientos S, Brem H, Stojadinovic O, Tomic-Canic M. Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. Wound Repair Regen. 2014;22(5):569–78. DOI: 10.1111/wrr.12205.
5. Bohnsack BL, Hirschi KK. The FAKs about blood vessel assembly. Circ Res. 2003;92(3):255–7. DOI: 10.1161/01.res.0000059260.91342.6e.
6. Pawitan JA. Prospect of stem cell conditioned medium in regenerative medicine. Biomed Res Int. 2014;2014:965849. DOI: 10.1155/2014/965849.
7. Grellner W, Georg T, Wilske J. Quantitative analysis of proinflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) in human skin wounds. Forensic Sci Int. 2000;113(1–3):251–64. DOI: 10.1016/S0379-0738(00)00218-8.
8. Martins-Green M, Petreaca M, Wang L. Chemokines and their receptors are key players in the orchestra that regulates wound healing. Adv Wound Care (New Rochelle). 2013;2(7):327–47. DOI: 10.1089/wound.2012.0380.
9. Penn JW, Grobbelaar AO, Rolfe KJ. The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: A review. Int J Burns Trauma. 2012;2(1):18–28. PMID: 22928164.
10. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiol Rev. 2003;83(3):835–70. DOI: 10.1152/physrev.2003.83.3.835.
11. Johnson KE, Wilgus TA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair. Adv Wound Care (New Rochelle). 2014;3(10):647–61. DOI: 10.1089/wound.2013.0517.
12. Tandon A, Tovey JC, Sharma A, Gupta R, Mohan RR. Role of transforming growth factor beta in corneal function, biology and pathology. Curr Mol Med. 2010;10(6):565–78. DOI: 10.2174/1566524011009060565.
13. Arranz-Valsero I, Soriano-Romani L, Garcia-Posadas L, Lopez-Garcia A, Diebold Y. IL-6 as a corneal wound healing mediator in an in vitro scratch assay. Exp Eye Res. 2014;125:183–92. DOI: 10.1016/j.exer.2014.06.012.
14. Park GW, Heo J, Kang JY, Yang JW, Kim JS, Kwon KD et al. Topical cell-free conditioned media harvested from adipose tissue-derived stem cells promote recovery from corneal epithelial defects caused by chemical burns. Sci Rep. 2020;10(1):12448. DOI: 10.1038/s41598-020-69020-z.
15. Zeppieri M, Salvat ML, Beltrami A, Cesselli D, Russo R, Alcalde I et al. Adipose derived stem cells for corneal wound healing after laser induced corneal lesions in mice. J Clin Med. 2017;6(12):115. DOI: 10.3390/jcm6120115.
16. Liu G, Zhang W, Xiao Y, Lu P. Critical role of IP-10 on reducing experimental corneal neovascularization. Curr Eye Res. 2015;40(9):891–901. DOI: 10.3109/02713683.2014.968934.
17. Сароян С.В., Комаров С.В. Оценка эффективности применения секретом мезенхимальных стволовых клеток в послеоперационной терапии корнеального секвестра. Систематизация клинического опыта. Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2021;248(4):196–203. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-248-4-196-203.
Saroyan SV, Komarov SV. Estimation of the efficiency mesenchymal stem cell secretome using in post-operative corneal sequestrum therapy clinical treatment results. Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine. 2021;248(4):196–203 (In Russ.). DOI: 10.31588/2413-4201-1883-248-4-196-203.
18. А.А. Соколов, А.И. Довгий, А.И. Колесникова. Материал стволовых клеток и способ его получения. Патент Российской Федерации 2644650. Заявитель и патентообладатель ООО «Т-Хелпер Клеточные Технологии» – № 2014148251. Заявлено 01.12.2014; опубликовано 27.06.2016. Бюллетень. № 18. AA Sokolov, AI Dovgii, AI Kolesnikova. Stem cell material and method for its production. Patent № 2644650 Russian Federation. Applicant and patent holder LLC “T-Helper Cellular Technologies” – No. 2014148251. Application 12.01.2014; publ. 06/27/2016. Bul. No. 18.

Информация об авторах

Елена Николаевна Борхунова – доктор биологических наук, профессор кафедры анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина.

Сергей Владимирович Позыбин – доктор ветеринарных наук, профессор, ректор Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, заведующий кафедрой ветеринарной хирургии.

Сергей Вартанович Сароян – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной хирургии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина.

Андрей Игоревич Довгий – кандидат биологических наук, генеральный директор ООО «Т-Хелпер Клеточные Технологии».

Author information

Elena N. Borkhunova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Animal Anatomy and Histology, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology.

<https://orcid.org/0000-0003-2355-8616>

Sergey V. Pozyabin – Dr. Sci. (Vet.), Professor, Rector of the Academy, Head of the Department of Veterinary Surgery, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology.

<https://orcid.org/0000-0002-3825-6082>

Sergey V. Saroyan – Cand. Sci. (Vet.), Associate Professor, Department Veterinary Surgery, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology.

<https://orcid.org/0000-0001-6097-231X>

Andrew I. Dovgii – Cand. Sci. (Biol.), General Director, LLC “T-Helper Cell Technologies”.

<https://orcid.org/0000-0001-9510-7078>

Restoration of the microvasculature and hemodynamics in the oral mucosa wound defects area with and without a piezoelectric polymer membrane

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. Restoration of blood supply to tissues is crucial for the regeneration of wound defects. The purpose of this research was to study the effect of piezoelectric polymers on the restoration of microcirculation and hemodynamics in the area of oral mucosa wound defects.

Materials and methods. The study was carried out on 60 Wistar rats divided into four groups (15 rats each): control (intact) and 3 experimental groups. In group 1, the animals had an open wound defect. In groups 3 and 2, the rats had a wound defect covered with a membrane with and without copper modification, respectively. The specimens for subsequent light and electron microscopy were collected on days 3, 7, and 12. We studied qualitative and quantitative indicators of microcirculation and hemodynamics restoration.

Results. Day 3: in all experimental groups, the arteriolo-venular relationship and the pericapillary diffusion index significantly decreased, while the Kernogan index increased. We also observed a significant increase in VEGF expression. Day 7: in experimental group 3, the values of the Kernogan index and the arteriolo-venular relationship were restored, and the pericapillary diffusion index remained significantly higher than in the control group. In the groups 1 and 2, none of the indicators reached the control values. VEGF expression decreased in all groups. On day 12 in group 1, the arteriolo-venular relationship, the Kernogan index and the index of pericapillary diffusion differed from the control group, in contrast to groups 2 and 3, where all the studied parameters were restored. Expression of VEGF in group 1 was significantly less than the control values, and in groups 2 and 3 it was significantly higher.

Conclusion. We revealed that closing of oral mucosa wound defects by a piezoelectric polymer membrane led to the restoration of hemodynamic parameters and promoted active vascular formation.

Keywords: wound defect, oral cavity, inflammation, regeneration, microcirculation, neoangiogenesis

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. Restoration of the microvasculature and hemodynamics in the oral mucosa wound defects area with and without a piezoelectric polymer membrane. Clin. exp. morphology. 2022;11(3):56–66 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.56-66

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

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

Received 26.05.2022. Received in revised form 21.06.2022. Accepted 15.09.2022.

УДК: 611.311

Восстановление микроциркуляторного русла и гемодинамики в области раневых дефектов слизистой оболочки полости рта при использовании полимерной пьезоэлектрической мембраны и без нее

A.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

Резюме. Введение. Восстановление кровоснабжения тканей – неотъемлемая часть регенерации раневых дефектов. Целью исследования являлось изучение влияния использования полимерной пьезоэлектрической мембраны на восстановление микроциркуляции и гемодинамики в области раневых дефектов слизистой оболочки полости рта.

Материалы и методы. Исследование проведено на 60 крысах линии Вистар, разделенных на четыре группы: контрольная (n=15) – интактные животные, 1-я экспериментальная (n=15) – животные с открытым раневым дефектом, 2-я (n=15) и 3-я (n=15) экспериментальные – животные с раневым дефектом, перекрытым полимерной мембраной без модификации и с медным напылением. Забор материала для световой и электронной микроскопии проводили на 3-и, 7-е и 12-е сутки. Изучали качественные и количественные показатели восстановления микроциркуляции и гемодинамики на месте дефекта.

Результаты. На 3-и сутки исследования во всех экспериментальных группах показатели гемодинамики достоверно отличались от контрольных значений – артериоло-венулярное взаимоотношение и индекс перикапиллярной диффузии достоверно уменьшались, а индекс Керногана увеличивался. Значимо увеличивалась экспрессия. На 7-е сутки в 3-й экспериментальной группе восстанавливались значения индекса Керногана и артериоло-венулярного взаимоотношения, а индекс перикапиллярной диффузии оставался значимо больше, чем в группе контроля. В 1-й и во 2-й группах ни один из показателей не достигал контрольных значений. Экспрессия VEGF снижалась во всех группах. На 12-е сутки в 1-й группе артериоло-венулярное взаимоотношение, индекс Керногана и индекс перикапиллярной диффузии в группе контроля отличались показателей от 2-й и 3-й групп, где все исследуемые показатели восстанавливались. Экспрессия VEGF в 1-й группе была значимо меньше, чем контрольные значения, а во 2-й и в 3-й значимо больше.

Заключение. Закрытие ран слизистой оболочки полости рта полимерной пьезоэлектрической мембраной приводило к восстановлению показателей гемодинамики и способствовало активному сосудобразованию.

Ключевые слова: раневой дефект, полость рта, воспаление, регенерация, микроциркуляция, неоангиогенез

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. Восстановление микроциркуляторного русла и гемодинамики в области раневых дефектов слизистой оболочки полости рта при использовании полимерной пьезоэлектрической мембраны и без нее. Клини. экп. морфология. 2022;11(3):56–66. DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.56-66.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 26.05.2022. **Получена после рецензирования** 21.06.2022. **Принята в печать** 15.09.2022.

Introduction

Wound healing is a complex dynamic process that is based on the coordinated interaction of connective tissue cells and microvasculature, due to which damaged tissue is effectively restored [1]. Wound regeneration is accompanied by formation of blood vessels in the granulation tissue, which provides nutrition to the wound bed and contributes to the organization of the extracellular matrix [2]. Impaired neoangiogenesis leads to delayed regeneration and negative consequences, i.e., scar tissue deformation at the site of injury [3, 4, 5]. To protect a wound defect from external traumas and thus create favorable conditions for angiogenesis, a number of wound dressings, e.g., hydrogels, films, plates, nanofibers, foams, plasters, sponges, and dressings, can be applied [6]. To close wound defects of the oral mucosa, biosynthetic substitutes for mucosal flaps and skin are used, such as epidermal (for example, Apligraf®), dermal (e.g., Alloderm®, Matriderm®), and composite membranes (e.g., Integra®, Biobrane®, Dermagraft®). However, none of them has all properties of an ideal material for closing wound defects of the oral mucosa [7]. Piezoelectric polymer membranes based on vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene have been used to close wound defects of the oral mucosa. It contributes to the restoration of the fibrous component and

reduced inflammatory response if wound damage to the oral mucosa has been proven [8].

Thus, the purpose of this research was to study the effect of a piezoelectric polymer membrane based on vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene on the restoration of microcirculation and hemodynamics in the area of oral mucosa wound defects.

Materials and methods

The study was carried out on 60 Wistar rats divided into four groups (the control group of intact rats and three experimental groups), each one 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 performed in compliance with the principles of humanity set out in the Council Directive (86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki.

In animals of the experimental groups, we made an excision of a lip mucous membrane flap of 7 × 4 mm. In the animals of experimental group 1, the defect was not covered, while in those of experimental groups 3 and 2, the wound defect was coated with a polymer membrane with and without copper coating, respectively. The surgical intervention technique as well as specimen processing were described in our previous study [8].

The animals were sacrificed on days 3, 7, and 12 of the study by introducing them into hypoxia in a CO₂ chamber. Then, we prepared histological slides and semi- and ultra-thin sections for light and electron microscopy as described in the earlier article [9]. Afterward, we examined the samples with Karl Zeiss Observer D1 light microscope (Karl Zeiss, Germany) and a Zeiss AxioCam ICc5 light microscopy camera (Karl Zeiss, Germany).

To carry out an immunohistochemical study, we prepared serial paraffin sections 4–6-µm thick, then deparaffinized them, and stained with VEGF rabbit recombinant polyclonal antibodies and isotype IgG (Abcam, US). We scored the staining intensity of three cohorts of 100 cells in different fields of view (×400) using the following formula:

Histochemical scores = $\sum P(i) \times i$, where P(i) is the percentage of cells stained with different intensity and *i* is the staining intensity assessed on a 5-point scale from 0 to 4, where 0—no staining, 1—weak staining, 2—moderate staining, 3—strong staining, and 4—very strong staining.

We performed morphometric analysis using 3 parameters: the pericapillary diffusion index, the Kernogan index, and the arterio-venous relationship. The pericapillary diffusion index is a tissue area supplied by one capillary, i.e., the ratio of an average diameter of the capillary to a

specific tissue area. The Kernogan index is an indicator of the throughput of the microvasculature, i.e., the ratio of vascular wall thickness to the radius of its lumen. Finally, the arterio-venous relationship was measured using image processing programs Axio Vision (Carl Zeiss, Germany) and ImageJ, version 1.52u (National Institute of Health, USA).

We used ultrathin sections to study the ultrastructure of the microvasculature.

We verified the normal distribution hypothesis with the Kolmogorov–Smirnov test. Since the distribution of the values of all quantitative features 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, in all experimental groups, we visualized arterioles, capillaries, and venules with perivascular edema and sludge of formed elements on the wound defect periphery. The vessels were surrounded by separate disorganized bundles of collagen fibers and cells of the inflammatory infiltrate (Fig. 1A, 3A).

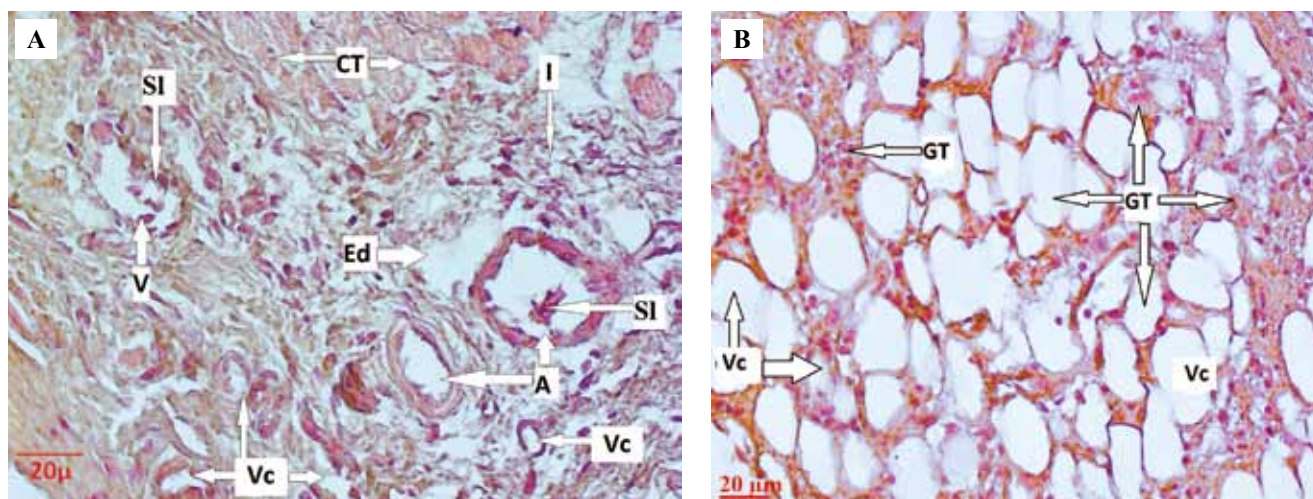


Fig. 1. The mucous membrane of the oral cavity.

A – vessels of the microvasculature with signs of sludge surrounded by lymphohistiocytic infiltration on the wound defect periphery. Histological picture characteristic of all experimental groups on day 3. Experimental group 1. B – newly formed vessels of granulation tissue. Histological picture characteristic of all experimental groups on day 3. Experimental group 3. H&E stain, ×400

Vc – capillary, V – venule, A – arteriole, I – lymphohistiocytic infiltration, GT – granulation tissue, CT – connective tissue, SI – sludge, T – thrombosis, Ed – edema, Ep – epithelium, BC – cells of the epithelium basal layer, SC – cells of the epithelium spiny layer, GT – layer of superficial epithelial cells, NK – hyperkeratosis, P – papillae

Рис. 1. Слизистая оболочка полости рта крысы.

A – сосуды микроциркуляторного русла с явлениями сладжа, окруженные лимфогистиоцитарной инфильтрацией на периферии раневого дефекта. Гистологическая картина, характерная для всех экспериментальных групп. 1-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования. В – новообразованные сосуды грануляционной ткани.

Гистологическая картина, характерная для всех экспериментальных групп. 3-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования. Окраска гематоксилином и эозином, ×400

Vc – капилляр, V – венула, A – артериола, I – лимфогистиоцитарная инфильтрация, GT – грануляционная ткань, CT – соединительная ткань, SI – сладж, T – тромбоз, Ed – отек, Ep – эпителий, BC – клетки базального слоя эпителия, SC – клетки шиповатого слоя эпителия, GT – слой поверхностных клеток эпителия, НК – гиперкератоз, P – сосочки

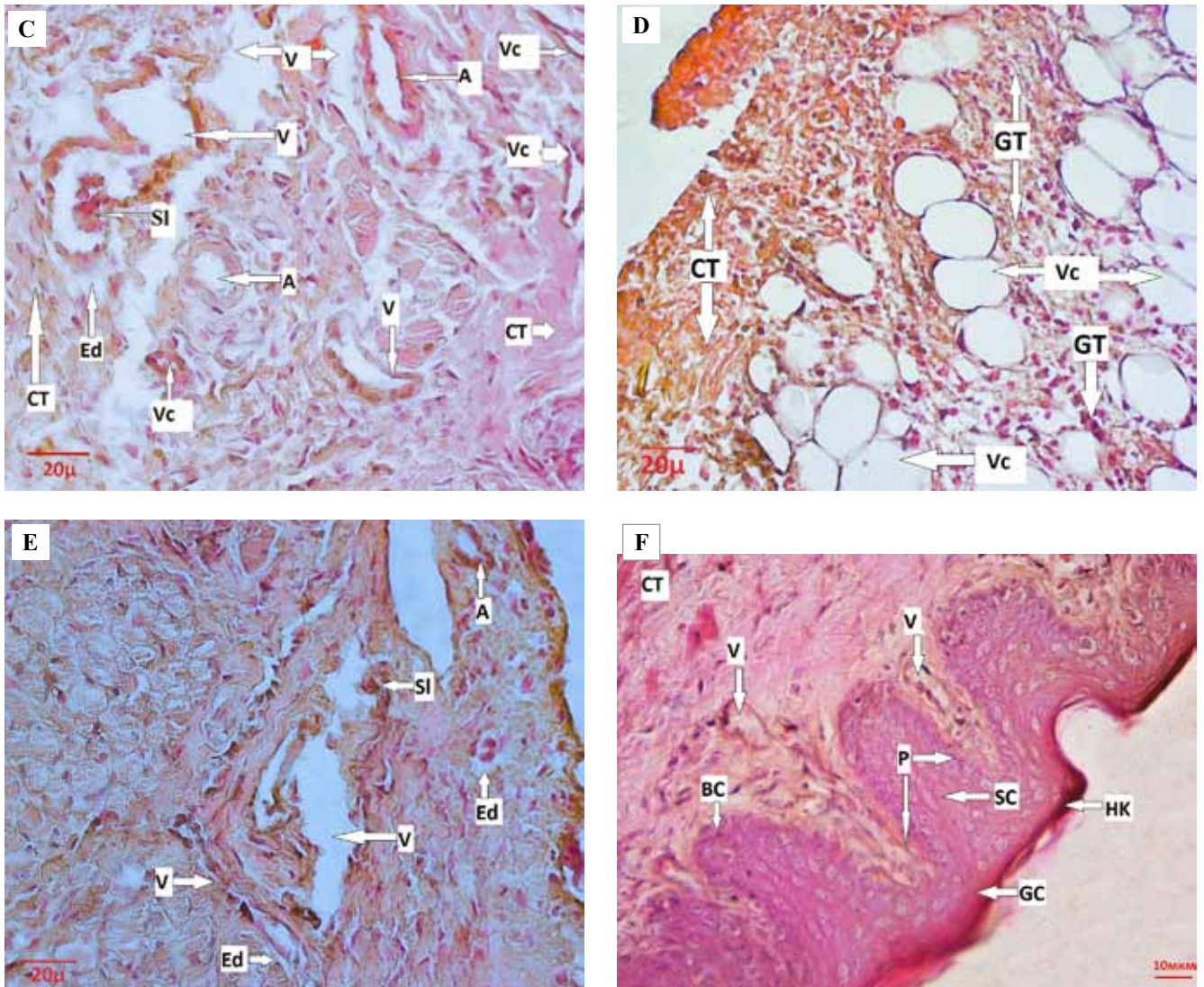


Fig. 1 (end). C – vessels of the microvasculature with sludge and perivascular edema on day 7. Experimental group 1. D – newly formed vessels of granulation tissue on day 7. Experimental group 2. E – vessels with sludge and perivascular edema at the site of the wound defect on day 12. Experimental group 1. F – newly formed vessels at the site of a regenerated wound defect without pathological changes. Histological picture characteristic of experimental groups 2 and 3 on day 12. Experimental group 2. H&E stain, $\times 400$

Vc – capillary, V – venule, A – arteriole, I – lymphohistiocytic infiltration, GT – granulation tissue, CT – connective tissue, SI – sludge, T – thrombosis, Ed – edema, Ep – epithelium, BC – cells of the epithelium basal layer, SC – cells of the epithelium spiny layer, GT – layer of superficial epithelial cells, NK – hyperkeratosis, P – papillae

Рис. 1 (окончание). C – сосуды микроциркуляторного русла с явлениями сладжа и периваскулярного отека.

1-я экспериментальная группа. 7-и сутки исследования. D – новообразованные сосуды грануляционной ткани.

2-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования. E – сосуды с периваскулярным отеком и сладжем на месте

раневого дефекта. 1-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования. F – новообразованные сосуды

на месте регенерировавшего раневого дефекта без патологических изменений. Гистологическая картина, характерная для 2-й и 3-й экспериментальных групп. 2-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования.

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Vc – капилляр, V – венула, A – артериола, I – лимфогистиоцитарная инфильтрация, GT – грануляционная ткань.

CT – соединительная ткань, SI – сладж, T – тромбоз, Ed – отек, Ep – эпителий, BC – клетки базального слоя эпителия,

SC – клетки шиповатого слоя эпителия, GT – слой поверхностных клеток эпителия, НК – гиперкератоз, P – сосочки

Qualitative changes in the vessels were accompanied by quantitative hemodynamic disorders and impaired microcirculation. We observed luminal narrowing of the arterioles and lumen expansion of the venules and capillaries. In this regard, in all experimental groups, the arterio-venous relationship decreased 1.9 times compared to that in the control group [$p=0.035$] (Table).

Pericapillary diffusion showed a 1.7-fold reduction compared to the intact tissue in all experimental groups ($p=0.032$), which indicated tissue ischemia (Table). The Kernogan's index increased twice in group 1, 1.8 times in group 2, and 1.6 times in group 3 [$p=0.038$, $p=0.032$, $p=0.047$, respectively] (Table). This indicates an impaired blood flow capacity in the arterioles due to luminal narrowing and wall thickening of the vessel.

We observed new thin-walled vessels in the newly formed granulation tissue (Fig. 1B), their endothelial cells actively expressing VEGF (Fig. 2A, Fig. 2B). At the same time, H-score did not significantly differ between groups 2 and 3 ($p=0.077$), but it was 1.4 and 4.7 times higher than in group 1 and the control group [$p=0.022$] (Table).

In the group without wound coating, the endothelial cells of the newly formed vessels did not form microvilli on the luminal side, which indicates impaired transcapillary metabolism. The endothelium and basement membrane of the granulation tissue capillaries were thin; the interendothelial space was enlarged. Endothelial cells were poor in orga-

nelles: the endoplasmic reticulum and the Golgi complex were expressed weakly, polysomes were rare, and mitochondria were edematous and increased in size (Fig. 3B).

In experimental groups 2 and 3, there was a large number of micropinocytic vesicles and microvilli in the luminal edge of endothelial cells, which indicated active transcapillary metabolism. Mitochondria, granular endoplasmic reticulum, and Golgi complex were well visualized in the cytoplasm (Fig. 3C).

On day 7 in experimental group 1, we still observed perivascular edema, as well as thrombosis, stasis, and sludge of formed elements (Fig. 1C, Fig. 3D). In groups 2 and 3, we almost did not detect these pathological changes (Fig. 1D).

In experimental group 1, on the ultrastructural level, endothelial cells in the newly formed vessels showed signs of functional immaturity. The granular endoplasmic reticulum and the Golgi complex were practically not visualized; polysomes were rare; in separate clusters, mitochondrial cristae were destroyed (Fig. 3E).

In the groups with wound coating, well-pronounced synthesis organelles and a large number of mitochondria with structured cristae were observed in endothelial cells. Signs of a high transcapillary exchange were preserved. There were multiple microvilli on the luminal surface of endothelial cells, many micropinocytic vesicles; intercellular contacts were formed between pericytes and endothelial

Table | Таблица

Indicators of hemodynamics of the oral mucosa vessels depending on treatment, conventional units, M (Q1:Q3) |

Показатели гемодинамики сосудов слизистой оболочки полости рта в зависимости от методики лечения, усл. ед., M (Q1 : Q3)

	Arteriolo-venular relationship Артериоло-венулярное взаимоотношение	Pericapillary diffusion index Индекс перикапиллярной диффузии	Kernogan index Индекс Керногана	VEGF
Control Контроль	0.72 (0.67;0.76)	6.04 (4.65;8.29)	0.61 (0.56;0.65)	80.0 (75.0;85.0)
Day 3 3-и сутки				
Group 1 1-я группа	0.38 (0.37;0.39)*	3.6 (3.4;3.8)*	1.22 (1.18;1.28)*	275.0 (265.0;290)*
Group 2 2-я группа	0.4 (0.39;0.41)*	3.8 (3.6;4.01)*	1.12 (1.1;1.14)*	365.0 (360.0;372.5)*#
Group 3 3-я группа	0.44 (0.44;0.45)*	3.6 (3.4;3.75)*	1.01 (1.0;1.04)*	375.0 (370.0;380.0)*#
Day 7 7-е сутки				
Group 1 1-я группа	0.45 (0.44;0.46)*	3.0 (2.8;3.1)*	1.16 (1.12;1.21)*	165.0 (155.0;175.0)*
Group 2 2-я группа	0.52 (0.51;0.53)*	4.3 (4.1;4.4)*#	0.83 (0.81;0.84)*#	255.0 (250.0;265.0)*#
Group 3 3-я группа	0.76 (0.74;0.77)#	3.6 (3.5;3.9)*#	0.56 (0.55;0.57)#	275.0 (362.5;282.5)*#
Day 12 12-е сутки				
Group 1 1-я группа	0.57 (0.56;0.59)*	3.8 (3.1;4.5)*	0.83 (0.82;0.85)*	55.0 (55.0;60.0)*
Group 2 2-я группа	0.7 (0.67;0.72)#	4.6 (4.2;4.9)#	0.59 (0.55;0.61)#	130.0 (125.0;140.0)*#
Group 3 3-я группа	0.77 (0.75;0.79)#	4.85 (4.59;4.15)#	0.53 (0.52;0.55)#	120.0 (125.0;135.0)*#

* – significant differences compared to the control group ($p<0.05$)# – significant differences compared to group 1 ($p<0.05$)* – достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$)# – достоверные различия по сравнению с 1-й группой ($p<0,05$)

cells. The basement membrane of the vessels was continuous and of uniform thickness (Fig. 3F).

On day 7, in the area of the wound defect, the figures of quantitative indicators of microcirculation gradually turned back to normal.

In experimental group 3, the arterio-venous relationship and the Kernogan's index returned to control values, the latter being twice lower than in group 1 [$p=0.045$] (Table).

In experimental group 2, the arterio-venous relationship did not change significantly compared to that on day 3 ($p=0.065$) and was 1.4 times lower than the same indicator in the control group and group 3 ($p=0.035$). In group 2,

the Kernogan's index was 1.4 times lower than in group 1 ($p=0.035$) and 1.4 times higher than in the control group [$p=0.041$] (Table).

The index of pericapillary diffusion in experimental groups 2 and 3 was 1.4 and 1.2 times higher than in group 1 ($p=0.033$), but still differed significantly from the control values [$p=0.039$] (Table).

In the uncoated group, none of these indicators reached the control values. The arterio-venous relationship did not change significantly compared to the figures on day 3 ($p=0.088$) and was 1.6 times significantly lower than the same indicator in the control group [$p=0.032$] (Table).

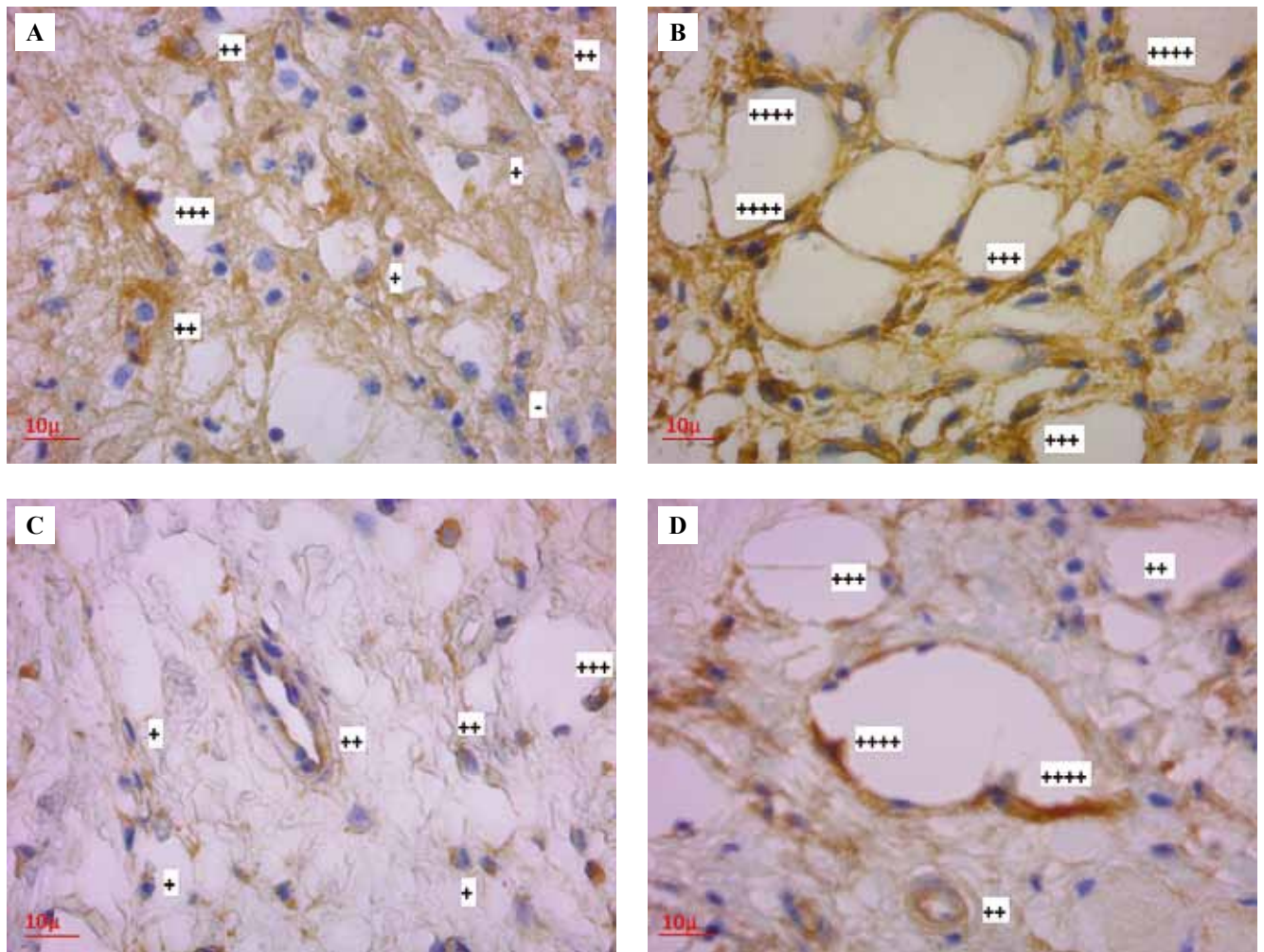


Fig. 2. VEGF expression in endothelial cells of granulation tissue, staining of nuclei with hematoxylin.

A – experimental group 1 on day 3. B – histological picture characteristic of experimental groups 2 and 3 on day 3. Experimental group 3. C – histological picture characteristic of experimental groups 2 and 3 on day 7. Experimental group 2. D – experimental group 1 on day 7. $\times 900$

++++ – very strong staining, +++ – strong staining, ++ – moderate staining, + – weak staining, – – no staining

Рис. 2. Экспрессия VEGF в эндотелиоцитах грануляционной ткани, докрасивание ядер гематоксилином.

A – 1-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования. B – гистологическая картина, характерная для 2-й и 3-й экспериментальных групп. 3-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования. C – гистологическая картина, характерная для 2-й и 3-й экспериментальных групп. 2-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования. D – 1-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования. $\times 900$

++++ – очень сильное окрашивание, +++ – сильное окрашивание, ++ – умеренное окрашивание, + – слабое окрашивание, – – нет окрашивания

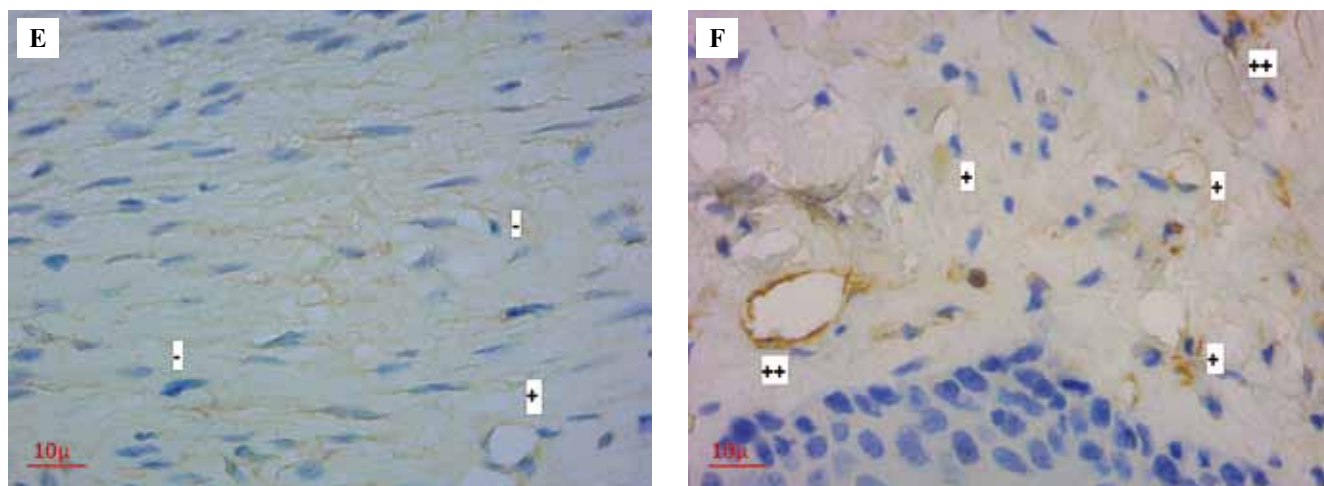


Fig. 2 (end). E – experimental group 1 on day 12. F – histological picture characteristic of experimental groups 2 and 3 on day 12. Experimental group 3. $\times 900$

++++ – very strong staining, +++ – strong staining, ++ – moderate staining, +- – weak staining, -- – no staining

Рис. 2 (окончание). Е – 1-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования. F – гистологическая картина, характерная для 2-й и 3-й экспериментальных групп. 3-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования. $\times 900$

++++ – очень сильное окрашивание, +++ – сильное окрашивание, ++ – умеренное окрашивание, +- – слабое окрашивание, -- – нет окрашивания

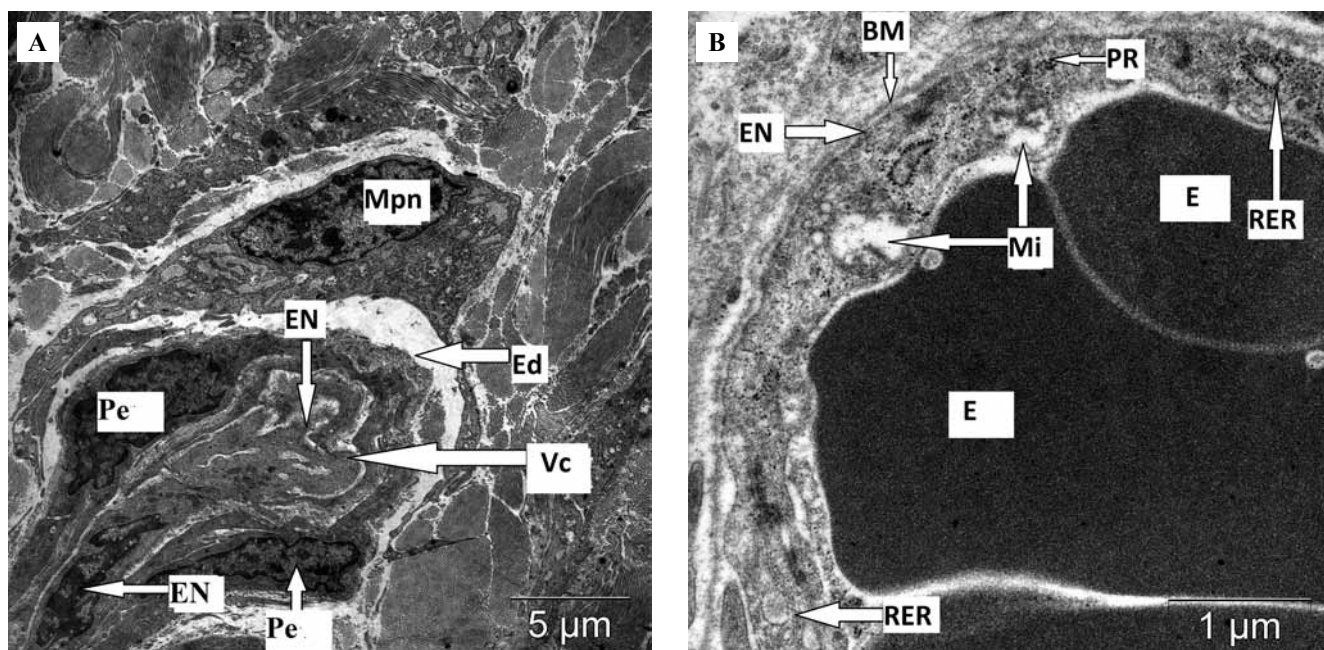


Fig. 3. Electron micrographs of vessels in the area of the oral mucosa wound defect.

A – narrowed postcapillary on the periphery of the wound defect with signs of perivascular edema on day 3. Experimental group 3, $\times 5000$. B – capillary with sludge in the emerging granulation tissue with thinned endothelial lining and signs of transcapillary metabolism disorders on day 3. Experimental group 1, $\times 20\ 000$

Vc – capillary, Mpn – macrophage, Pe – pericyte, EN – endothelial cells, Ed – perivascular edema, E – erythrocyte, BM – basement membrane, RER – granular endoplasmic reticulum, Mi – mitochondria, PR – polysomes, C – intercellular contact, MV – microvilli, Vs – micropinocytotic vesicles, G – Golgi complex, CF – collagen fibers

Рис. 3. Электронные микрофотографии сосудов микроциркуляторного русла в области раневого дефекта слизистой оболочки полости рта крысы.

A – суженный посткапилляр на периферии раневого дефекта с признаками периваскулярного отека. 3-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования, $\times 5000$. B – капилляр со сладжем в формирующейся грануляционной ткани с истонченной эндотелиальной выстилкой и признаками нарушения транскапиллярного обмена. 1-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования, $\times 20\ 000$

Vc – капилляр, Mpn – макрофаг, Pe – перицит, EN – эндотелиоцит, Ed – периваскулярный отек, E – эритроцит, BM – базальная мембрана, RER – гранулярный эндоплазматический ретикулум, Mi – митохондрия, PR – полисомы, C – межклеточный контакт, MV – микроворсинки, Vs – микропиноцитозные пузырьки, G – комплекс Гольджи, CF – коллагеновые волокна

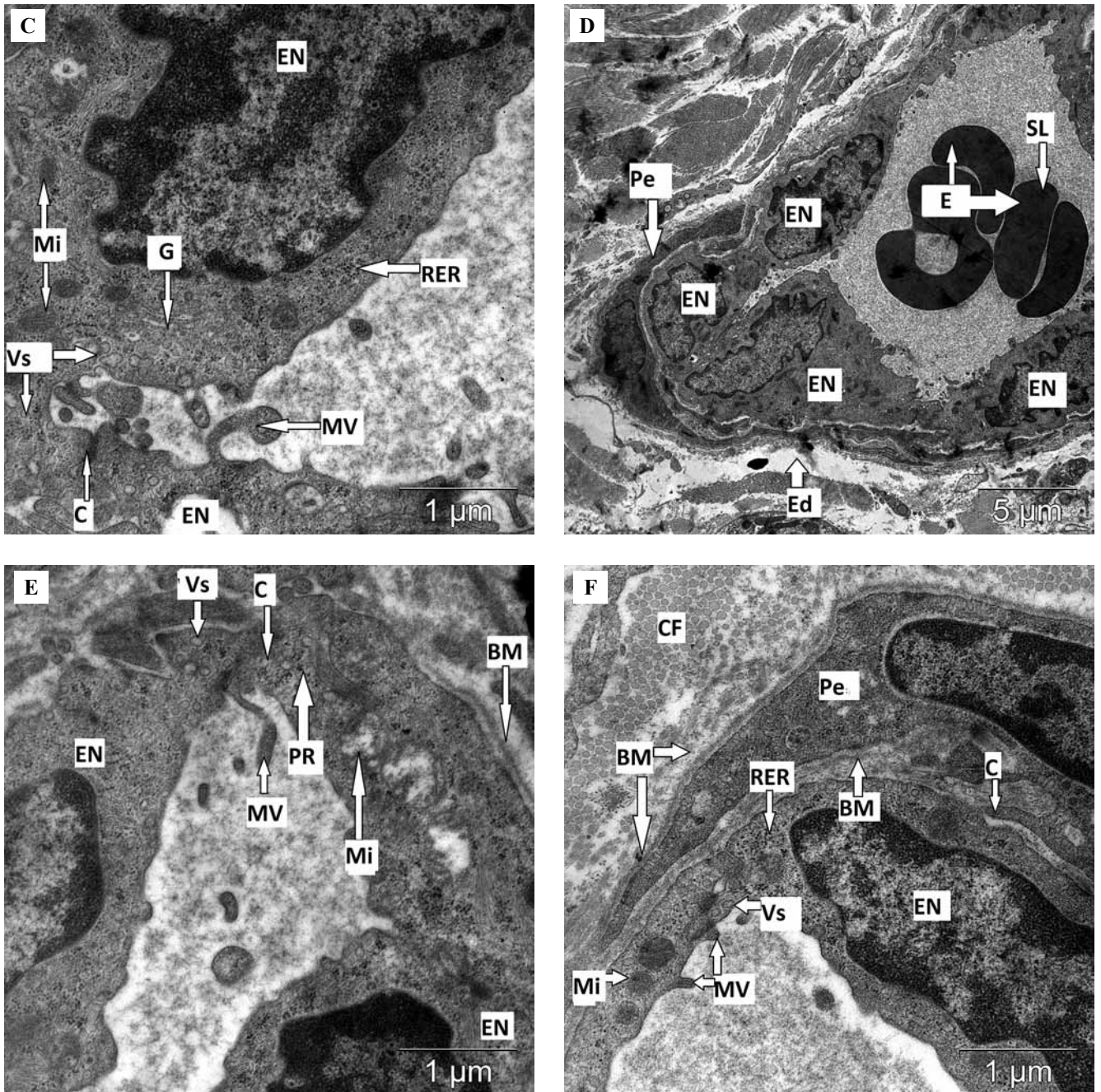


Fig. 3 (continuation). C – capillaries of granulation tissue with signs of activation of transcapillary exchange and synthetic processes. Histological picture characteristic of groups 2 and 3 on day 3. Experimental group 3, $\times 20\,000$. D – venule in the area of the regenerating wound defect with the sludge of formed elements and perivascular edema on day 7. Experimental group 1, $\times 5000$. E – narrowed capillary with mitochondrial destruction and thinned basement membrane on day 7. Experimental group 1, $\times 5000$. F – interdigitation between the capillary endothelial cell and pericyte at the site of the wound defect. Experimental group 2, $\times 20\,000$

Рис. 3 (продолжение). C – капилляры грануляционной ткани с признаками активации транскапиллярного обмена и синтетических процессов. Микроскопическая картина, характерная для 2-й и 3-й экспериментальных групп. 3-я экспериментальная группа. 3-и сутки исследования, $\times 20\,000$. D – венула в области регенерирующего раневого дефекта со сладжем форменных элементов и периваскулярным отеком. 1-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования, $\times 5000$. E – суженный капилляр с деструкцией митохондрий и истонченной базальной мембраной. 1-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования, $\times 5000$. F – интердигитация между эндотелиоцитом и перицитом капилляра на месте раневого дефекта. 2-я экспериментальная группа, $\times 20\,000$

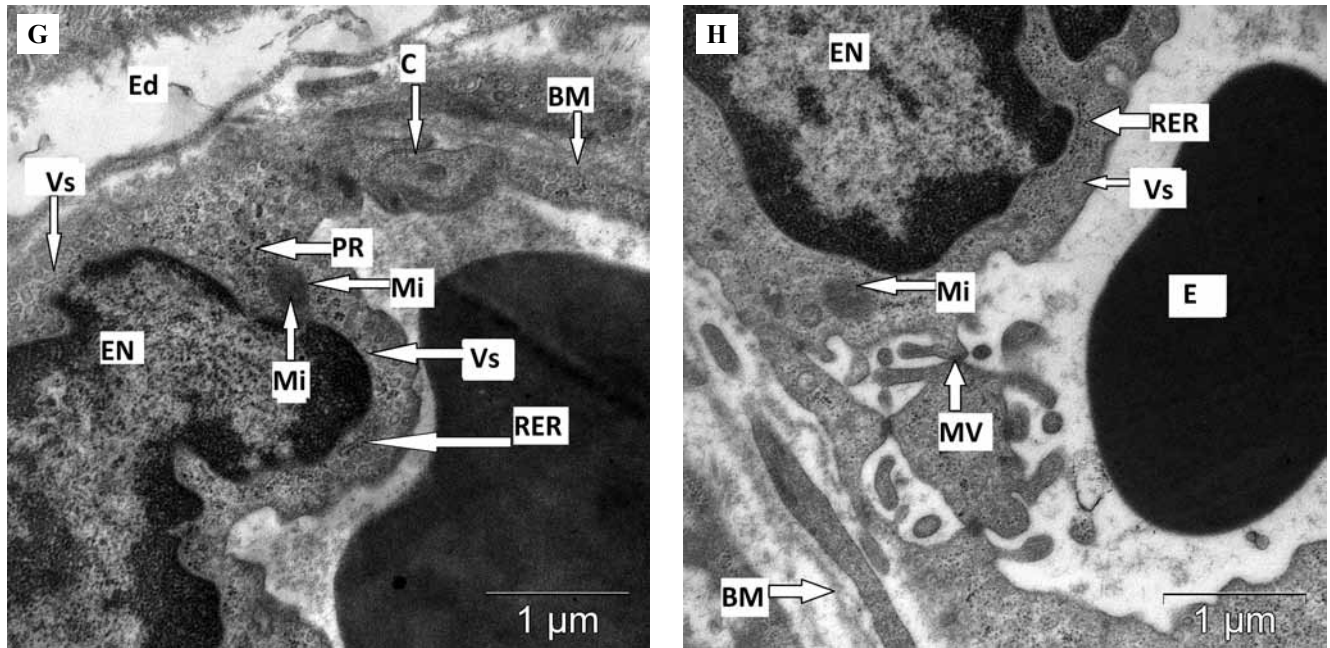


Fig. 3 (end). G – capillary in the area of the wound defect with signs of perivascular edema on day 12. Experimental group 1, $\times 20\,000$.

H – capillary with signs of high transcapillary exchange at the site of the wound defect on day 12. Histological picture characteristic of groups 2 and 3. Experimental group 3, $\times 20\,000$

Рис. 3 (окончание). G – капилляр в области раневого дефекта с признаками периваскулярного отека. 1-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования. $\times 20\,000$. H – капилляр с признаками высокого транскапиллярного обмена на месте раневого дефекта. Гистологическая картина, характерная для 2-й и 3-й экспериментальных групп. 3-я экспериментальная группа. 12-е сутки исследования, $\times 20\,000$

VEGF expression decreased in comparison with that on day 3, being insignificantly different between experimental groups 2 and 3 [Fig. 2C] ($p=0.079$). However, it was 1.7 and 3.6 times significantly higher than in group 1 (Fig. 2D) and control group [$p=0.038$, $p=0.035$] (Table).

On day 12, in the uncoated group, we observed the narrowing and plethora of the vessels, as well as perivascular edema (Fig. 1E). The basement membrane of the capillaries was thin. In endothelial cells, the number of microvilli and micropinocytic vesicles was small (Fig. 3G).

In the coated groups, the newly formed vessels were detected in the connective tissue at the site of the wound defect, being especially developed in the area of the lamina propria papillary layer (Fig. 1F). In mature vessels, there were no morphological signs of hemodynamic disorders (i.e., thrombosis, sluggishness, and stasis). The mature vessels were surrounded by structured connective tissue fibers; there was no perivascular edema. We visualized a continuous basement membrane of uniform thickness. In endothelial cells, the quantity of organelles was sufficient, and they were of a typical structure. There was an active transcapillary exchange, as evidenced by a large number of micropinocytic vesicles and microvilli on the luminal surface of endothelial cells (Fig. 3H).

In groups 2 and 3, all the discussed quantitative hemodynamic parameters reached control values (Table).

In group 1, the arteri-venous relationship and the pericapillary diffusion index were 1.3 and 1.6 times lower

than the control values, respectively ($p=0.034$, $p=0.042$), and the pericapillary diffusion index was 1.6 times higher ($p=0.045$) than in the control group (Table).

On day 12, in all experimental groups, VEGF expression decreased compared to that on day 7. In experimental group 1, The H-score VEGF index became 1.45 times lower than the control values [$p=0.035$] (Fig. 2E). Between groups 2 and 3 this indicator did not differ significantly [$p=0.077$] (Fig. 2F), but was 1.6 and 2.4 times significantly higher than in group 1 and control group [$p=0.035$, $p=0.042$] (Table).

Discussion

In this study, we identified the main mechanisms of microvasculature and the restoration of hemodynamics in the area of the oral mucosa wound defect with and without the use of a piezoelectric polymer membrane.

On day 3, the vascular response indicated the first phase of wound defect regeneration, i.e., inflammation [9]. So, in all experimental groups, on day 3, we observed expanded venules and capillaries, as well as luminal narrowing of the arterioles on the periphery of the wound defect. It resulted in a changed arterio-venous relationship and contributed to the progression of congestion and tissue ischemia in the wound area. A decrease in the index of pericapillary diffusion due to luminal narrowing of the capillary and an increase in the Kernogan index due to wall thickening and luminal narrowing of the arterioles, which occurred due

to edema of their intima, also led to an increase in edema and tissue ischemia. As a result, acidosis developed and free radicals accumulated in the wound defect area, which was a signal for the cells of the lymphohistiocytic series migration to the inflammation focus. The cells exit from the bloodstream into the surrounding tissues was facilitated by the expansion of postcapillary venules and, as a result, the thinning of their walls [10].

The VEGF signaling pathway was induced under hypoxia and acidosis, which was indirectly evidenced by the studied hemodynamic parameters, i.e., - a reduced index of pericapillary diffusion, reflecting a decrease in the area of tissue supplied by one capillary; an increased index of pericapillary diffusion, indicating a deterioration in the throughput of arterioles; and an altered arteriole-venular relationship indicating venous congestion [11]. In turn, an increased concentration of VEGF also contributed to an increment in vascular permeability and an accretion in edema [12].

At the same time, granulation tissue formed in the area of the wound defect, where we visualized a large number of newly formed vessels. An increase in VEGF expression indicated neoangiogenesis [13]. Simultaneously, in the coated groups, VEGF expression was more pronounced, indicating more active vascular formation, which was due to the protection of the wound defect from the effects of traumatic factors through a polymer membrane. Angiogenesis depended on the inflammatory response, since VEGF was synthesized not only by endothelial cells, but also by the cells of lymphohistiocytic infiltration, therefore, VEGF expression was maximum in all groups on day 3, which corresponded to the 1st phase of wound regeneration, i.e., the inflammation [14].

On day 7, in groups treated with a piezoelectric polymer membrane, the values of the Kernogan index, pericapillary diffusion index, and arteriole-venular relationship gradually returned back to normal. In this regard, the severity of edema and congestion decreased, which led to the normalization of acid-base balance. In the uncoated group, these indicators differed significantly from the control values, there was perivascular edema and altered vessels with thrombosis and sludge of formed elements in many fields of vision. On the ultrastructural level, we observed signs of impaired capillary exchange, which were not detected in the coated groups. VEGF expression decreased in comparison with that on day 3, confirming that the phase of active angiogenesis in the area of the wound defect turned to the stage of maturation. A decrease in VEGF synthesis was associated with the restoration of hemodynamics, especially in the coated groups, since an increase in its concentration was due to tissue hypoxia during its prolonged ischemia [15].

On day 12, hemodynamic parameters turned back to normal values in the coated groups. We visualized altered vessels of typical ultrastructure with sludge and thrombosis. Regression of granulation tissue capillaries was a logical step in wound regeneration. It included selective apoptosis of cells of the newly formed vessels [16]. Since neoangiogenesis slowed down at the final stage of wound

regeneration, VEGF expression was still higher than the control values.

In the uncoated group, there were signs of impaired microcirculation in the wound defect area: none of the morphological parameters of hemodynamics reached the control values, which indicated impaired blood supply to the tissues. VEGF expression was lower than in the control group, where it was secreted in small amounts by cells in the intact mucosa, such as macrophages and fibroblasts [17]. A decrease in VEGF activity probably led to increased apoptosis of pericytes and endothelial cells, which resulted in the involution of vessels in the area of the wound defect and the formation of poorly vascularized scar tissue [18].

Conclusion

We revealed that closing oral mucosa wounds with a piezoelectric polymer membrane led to the restoration of hemodynamic parameters and promoted active vascular formation, in contrast to the situation when the defect remained open and continued to be subjected to traumatic effects from aggressive environmental factors.

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. *Wilkinson HN, Hardman MJ.* Wound healing: Cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol.* 2020;10(9):200223. DOI: 10.1098/rsob.200223.
2. *Huang S, Hu Z, Wang P, Zhang Y, Cao X, Dong Y et al.* Rat epidermal stem cells promote the angiogenesis of full-thickness wounds. *Stem Cell Res Ther.* 2020;(11):344. DOI:10.1186/s13287-020-01844-y.
3. *Okonkwo UA, DiPietro LA.* Diabetes and wound angiogenesis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):E1419. DOI: 10.3390/ijms18071419.
4. *Velnar T, Gradisnik L.* Tissue augmentation in wound healing: the role of endothelial and epithelial cells. *Med Arch.* 2018;72(6):444–8. DOI: 10/5455/medarh.2018.72.444-448.

5. Cheng B, Fu X. The focus and target: Angiogenesis in refractory wound healing. *Int J Low Extrem Wounds*. 2018;17:301–3. DOI: 10.1177/1534734618813229.
6. Alven S, Aderibigbe BA. Chitosan and cellulose-based hydrogels for wound management. *Int J Mol Sci*. 2018;21(24):9656. DOI:10.3390/ijms21249656.
7. Srivastava A, Maniakas A, Myers J, Chambers MS, Cardoso R. Reconstruction of intraoral oncologic surgical defects with Integra® bilayer wound matrix. *Clin Case Rep*. 2020;9(1):213–9. DOI:10.1002/ccr3.3501.
8. Koniaeva AD, Varakuta EY, Leiman AE, Bolbasov EN, Stankovich KS. 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. *Clinical and experimental morphology*. 2022;11(1):50–61. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.50-61.
9. Pereira D, Sequeira 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:10.3389/fcell.2021.682143.
10. Bao P, Kodra A, Tomic-Cacin M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *J Surg Res*. 2009;153(2):347–58. DOI:10.1016/j.jss.2008.04.023.
11. Shegolev AI, Tumanova UN. Endothelial hepatic cells in normal and with development of hepatocellular carcinoma. Success of modern biology. 2020;140(5):478–93 (In Russ.). DOI:10.31857/S004213420050063.
12. Corliss BA, Azimi MS, Munson JM, Peirce SM, Murfee WL. Macrophages: An inflammatory link between angiogenesis and lymphangiogenesis. *Microcirculation*. 2016;23(2):95–121. DOI:10.1111/micc.12259.
13. Zhao N, Suzuki A, Zhang X, Shi P, Abune L, Coyne J et al. Dual aptamer-functionalized in situ injectable fibrin hydrogel for promotion of angiogenesis via co-delivery of VEGF and PDGF-BB. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2019;11(20):18123–18132. DOI:10.1021/acsami.9b02462.
14. DiPietro LA. Angiogenesis and wound repair: when enough is enough. *J Leukoc Biol*. 2009;100:979–84. DOI:10.1189/jlb.4mr0316-102r.
15. Borzilova YuA, Boldyreva LA, Shlyk IV. Vascular endothelial growth factors (VEGF): role in pathological processes. *Vestnik Oftalmologii*. 2016;132(4):98–103 (In Russ.). DOI:10.17116/oftalma2016132498-103.
16. Yang Z, Mo X, Gong Q, Pan Q, Yang X, Cai W et al. Critical effect of VEGF in the process of endothelial cell apoptosis induced by high glucose. *Apoptosis*. 2008;13(11):1331–43. DOI:10.1007/s10495-008-0257-y.
17. Sekiguchi K, Ito Y, Hattori K, Inoue T, Hosono K, Honda M et al. VEGF receptor 1-expressing macrophages recruited from bone marrow enhances angiogenesis in endometrial tissues. *Sci Rep*. 2019;9(1):7037. DOI: 10.1038/s41598-019-43185-8.
18. Pakhomov DV, Blinova EV, Shimanovsky DN, Kilmyashkina MF, Kazaeva MA, Blinov DS et al. Evidence-based aspects of stimulating uncomplicated wound healing with local use of acexam-ic acid silver salt. *Russian Journal of Operative Surgery and Clinical Anatomy*. 2020;4(1):19–25 (In Russ.). DOI:10.17116/perhirurg2020401119.

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.

Сочетание светлоклеточного почечно-клеточного рака и высококодифференцированной нейроэндокринной опухоли почки

Е.И. Иванова, С.Е. Соловьева, О.В. Должанский

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Резюме. Приводится редкое сочетание у мужчины 67 лет в одном опухолевом узле светлоклеточного почечно-клеточного рака и высококодифференцированной нейроэндокринной опухоли (НЭО) почки. Данная комбинация образований в отечественной литературе описывается впервые, в англоязычных источниках имеется всего одно аналогичное нашему наблюдению.

Образование почки у пациента было обнаружено случайно при ультразвуковом исследовании органов брюшной полости. Активные жалобы пациент не предъявлял, клинические признаки карциноидного синдрома не отмечались, в анамнезе каких-либо образований не было. При мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) в верхнем сегменте левой почки выявлена опухоль с неоднородной структурой размерами 35×35×30 мм, деформирующая контур почки, без признаков инвазии в чашечно-лоханочную систему. Пациенту проведена робот-ассистированная резекция левой почки с тепловой ишемией. Послеоперационный период протекал без осложнений. Макроскопически образование было представлено как округлый узел пестрого строения, покрытый псевдокапсулой. При микроскопическом исследовании опухоль состояла из крупных клеток со светлой цитоплазмой и мономорфными мелкими ядрами (ядрышки определялись при ×400). В некоторых препаратах имелся участок, представленный мелкими полигональными клетками с овоидными ядрами с мелкогранулярным хроматином, формирующими солидные, лентовидные структуры, а также веретеновидноклеточные паттерны. При иммуногистохимическом исследовании в нейроэндокринном компоненте выявлялась положительная экспрессия следующих маркеров: хромогранин А, синаптофизин, CD56, S-100, панцитокератин, СК7. В результате патологогистологического и иммуногистохимического исследования операционного материала поставлен диагноз «светлоклеточный почечно-клеточный рак Grade I–II по Fuhrman в сочетании с нейроэндокринной опухолью почки Grade I (нейроэндокринный компонент размерами 7×3 мм, индекс пролиферации Ki-67 менее 1,0%, митотический индекс менее 2 ×10 HPF), pT1aN0».

В дальнейшем необходимо динамическое наблюдение за пациентом, так как НЭО почки встречаются редко и обладают более злокачественным потенциалом, чем почечно-клеточный рак.

Ключевые слова: онкоурология, опухоль почки, светлоклеточный почечно-клеточный рак, нейроэндокринная опухоль, иммуногистохимическое исследование

Для корреспонденции: Елена Ильинична Иванова. E-mail: ellen151@ Rambler.ru

Для цитирования: Иванова Е.И., Соловьева С.Е., Должанский О.В. Сочетание светлоклеточного почечно-клеточного рака и высококодифференцированной нейроэндокринной опухоли почки. Клиническая морфология. 2022;11(3):67–72. DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.67-72.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 21.02.2022. Получена после рецензирования 22.03.2022. Принята в печать 25.04.2022.

Combination of clear cell renal cell carcinoma with well-differentiated neuroendocrine tumor of the kidney

E.I. Ivanova, S.E. Solovyeva, O.V. Dolzhanskiy

Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

Abstract. We present a rare combination of two tumors (clear cell renal cell carcinoma with well-differentiated renal neuroendocrine tumour) in a 67-year-old man. To the best of our knowledge, English literature presents only one similar clinical case and we are the first to describe this tumor combination in Russian.

The renal tumor was discovered accidentally on abdominal ultrasound. The patient had neither complaint, nor clinical signs of carcinoid syndrome, nor tumours in his medical history. CT scan showed a heterogeneous tumor, being 35×35×30 mm in size. It was in the upper segment of the left kidney, deforming the contour of the kidney, without renal pelvis expansion. We performed nephrectomy using the da Vinci Surgical System. The postoperative period was uneventful; no complications were reported. Macroscopically the tumour presented as a round encapsulated node of a variegated structure. Microscopic examination showed that the tumor consisted of large cells with clear cytoplasm and monomorphic small round nuclei (nucleoli were determined at ×400). In some regions of the tumor, we detected small polygonal cells, with ovoid nuclei with granular chromatin, forming solid, ribbon-shaped structures and spindle-cell patterns. The neuroendocrine component revealed strong expression of chromogranin A, synaptophysin, CD56, S-100, pancytokeratin, and CK7. Histological and immunohistochemical studies, we diagnosed a combination of clear cell renal cell carcinoma (Grade I–II by Fuhrman classification) and renal neuroendocrine tumour (Grade I), pT1aN0. The size of the neuroendocrine component was of 7×3 mm; the index of proliferation Ki-67 was less than 1.0%; and the mitotic index was less than 2 ×10 HPF.

After nephrectomy this patient needed close monitor because renal neuroendocrine tumours are very rare and have a higher malignant potential than renal cell carcinoma.

Keywords: urological pathology, kidney tumor, clear cell renal cell carcinoma, neuroendocrine tumor, immunohistochemistry

Corresponding author: Elena I. Ivanova. E-mail: ellen151@rambler.ru

For citation: Ivanova E.I., Solovyeva S.E., Dolzhanskiy O.V. Combination of clear cell renal cell carcinoma with well-differentiated neuroendocrine tumor of the kidney. (In Russ.). 2022;11(3):67–72 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.67-72.

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

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

Received 21.02.2022. **Received in revised form** 22.03.2022. **Accepted** 25.04.2022.

Введение

Почечно-клеточный рак (ПКР) – опухоль, развивающаяся из эпителия почечных канальцев, составляет 2–3% в мировой структуре злокачественных образований [1, 2]. Светлоклеточный тип – наиболее часто встречающийся гистологический вариант почечно-клеточной карциномы составляет 85–90% случаев. Классическое описание светлоклеточного почечно-клеточного рака дал в 1883 году П. Гравиц, назвав его гипернефроидным [2].

Нейроэндокринная опухоль (НЭО) – это эпителиальное злокачественное новообразование, происходящее из клеток диффузной нейроэндокринной системы (APUD-системы). Впервые НЭО описал С. Оберндорфер в 1907 году и ввел использовавшийся ранее термин «карциноид», в настоящее время считающийся архаичным и в качестве исключения применяющийся только для НЭО бронхолегочной системы [3]. Чаще всего поражаются желудочно-кишечный тракт и дыхательные пути, в почках первичные НЭО обнаруживаются крайне редко, около 0,3% случаев от всех опухолей почки [3, 4]. НЭО почки как самостоятельное заболевание были выделены в классификации ВОЗ в 2004 году. Впервые почечная НЭО описана М.Е. Resnick в 1966 году [5].

Сочетание светлоклеточного почечно-клеточного рака с высокодифференцированной нейроэндокринной опухолью почки отмечается крайне редко. Нами изучены данные англоязычной литературы и обнаружен всего лишь один аналогичный клинический случай [7].

В отечественной литературе это сочетание описывается впервые.

Клинический случай

При амбулаторном обследовании у пациента 67 лет выявлено образование левой почки при УЗИ. При мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) в верхнем сегменте левой почки по задней губе визуализировано образование с неоднородной структурой размерами 35×35×30 мм, деформирующее контур почки, без признаков инвазии в чашечно-лоханочную систему; также в обеих почках выявлено множество простых кист. Активных жалоб пациент не предъявлял, признаки карциноидного синдрома не отмечались. В анамнезе ишемическая болезнь сердца, проявляющаяся нарушениями ритма, и гипертоническая болезнь, признаков почечной недостаточности, опухолевых поражений других органов нет. С диагнозом «опухоль левой почки сT1aN0M0, кисты почек по Bosniak I» пациент был госпитализирован в стационар в плановом порядке для оперативного лечения, где ему проведена робот-ассистированная резекция левой почки с тепловой ишемией (14 минут). Послеоперационный период протекал без особенностей.

Операционный материал направлен на патологогистологическое исследование. Макропрепарат описан следующим образом: мягкий сероватый узел, покрытый блестящей псевдокапсулой с элементами жировой клетчатки, размерами 3,8×2,8×2,2 см. На

разрезе узел размерами 3×2,5×2,5 см, пестрого вида: темно-красные участки чередуются с желтоватыми и сероватыми. По краю узла имеется прослойка паренхимы почки длиной 1,8 см и шириной 0,5–0,6 см. При микроскопическом исследовании – в паренхиме почки имеется злокачественное образование, по строению соответствующее светлоклеточной почечно-клеточной карциноме. Опухоль состоит из крупных клеток со светлой цитоплазмой, формирующих тубулярные и ацинарные структуры. Ядра монотипные, округлые, ядрышки определяются при ×400. Некрозов,

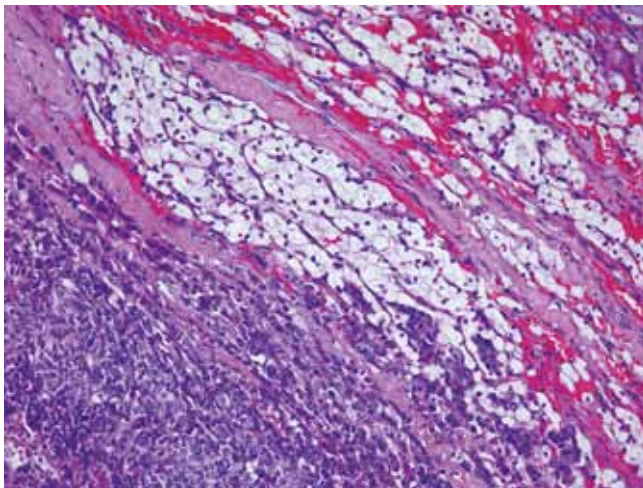


Рис. 1. Светлоклеточный почечно-клеточный рак (справа) в сочетании с нейроэндокринной опухолью почки (слева). Окраска гематоксилином и эозином, ×200

Fig. 1. Clear cell renal cell carcinoma (in the right) with well-differentiated renal neuroendocrine tumour (in the left), H&E stain, ×200

патологических митозов, клеточного и ядерного полиморфизма нет. Обнаруживаются очаги кровоизлияний, а также небольшие кистозные образования, заполненные гомогенным эозинофильным содержимым. Прорастания в капсулу почки не отмечается, линия резекции интактна. В одном из препаратов имеется отличающийся по строению участок, представленный мелкими полигональными клетками, с базофильной цитоплазмой и овоидными ядрами с мелкогранулярным хроматином («соль и перец»), формирующими солидные, лентовидные и трабекулярные структуры, встречаются веретеновидноклеточные паттерны. В данном участке некрозы, кровоизлияния не выявлены, митозов менее 2 на 10 HPF (полей зрения) (рис. 1). В связи с наличием недифференцированного участка для определения диагноза и степени дифференцировки было назначено проведение иммуногистохимического исследования. Выявлена экспрессия следующих маркеров в нейроэндокринном компоненте: хромогранин А (+++), синаптофизин (++) , CD56 (+++), S-100 (++) , панцитокератин (очаговая реакция, ++), СК7 (+++) (рис. 2–4), где + – слабо-выраженное окрашивание, а +++ – интенсивное. Отрицательная реакция со следующими маркерами: vimentin, HMB-45, melanA, WT-1, Myf-4, CD34, CD10, desmin, RCC, TTF-1, CK5/6, p63, villin, cdx2, CD99. В результате патологогистологического и иммуногистохимического исследования поставлен диагноз «светлоклеточный почечно-клеточный рак (Grade I–II по Fuhrman) в сочетании с нейроэндокринной опухолью почки (Grade I) (нейроэндокринный компонент размерами 7×3 мм, индекс пролиферации Ki67 менее 1,0%, митотический индекс менее 2 ×10 HPF), pT1aN0».

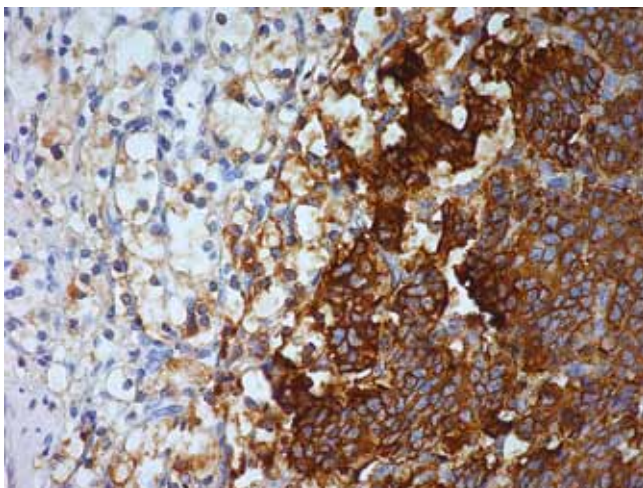


Рис. 2. Экспрессия хромогранина А в нейроэндокринном компоненте. Иммуногистохимическая реакция, ×400

Fig. 2. Expression of Chromogranin A in neuroendocrine tumour. IHC assay, ×400

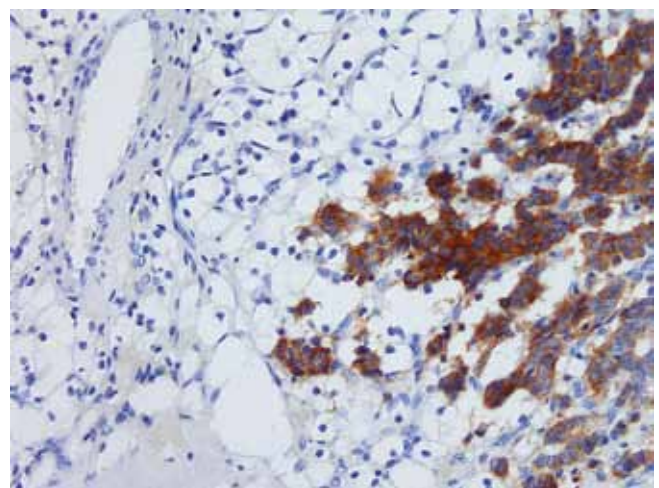


Рис. 3. Экспрессия синаптофизина в нейроэндокринном компоненте. Иммуногистохимическая реакция, ×400

Fig. 3. Expression of Synaptophysin in neuroendocrine tumour. IHC assay, ×400

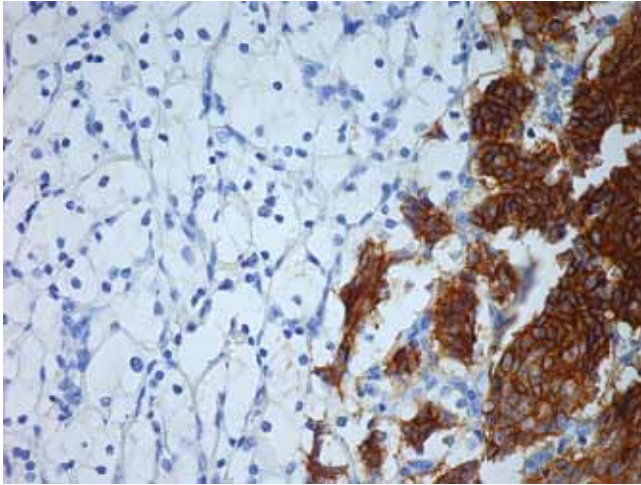


Рис. 4. Экспрессия CD56 в нейроэндокринном компоненте. Иммуногистохимическая реакция, $\times 400$

Fig. 4. Expression of CD56 in neuroendocrine tumour. IHC assay, $\times 400$

Обсуждение

Сочетание двух опухолей в одном узле в почке встречается довольно редко. Французскими учеными был описан светлоклеточный почечно-клеточный рак в комбинации с высокодифференцированной НЭО почки. Однако в отличие от нашего случая в этом клиническом наблюдении имела место поздняя диагностика заболевания: у пациента с симптомами холестаза были обнаружены опухоль почки диаметром 6 см, а также метастазы в регионарные лимфатические узлы, позвоночник и печень [6]. Daniel A. Anderson, Magia S. Tretiakova описывают сочетание светлоклеточной папиллярной почечно-клеточной карциномы, новой нозологической единицы, введенной в 2016 году в классификацию ВОЗ, и высокодифференцированной НЭО почки в одном опухолевом узле [7].

ПКР встречается в 2 раза чаще у мужчин, чем у женщин, средний возраст пациентов – 65 лет [2]. НЭО почки выявляются у людей как молодого, так и пожилого возраста, в равном соотношении у мужчин и женщин [4].

Гистогенез почечных НЭО неясен, существует несколько теорий. Считается, что в нормальной почечной паренхиме клетки APUD-системы отсутствуют, однако их можно обнаружить в чашечно-лоханочной системе. Некоторые ученые полагают, что НЭО исходят из типотентной стволовой клетки метанефрона, которая впоследствии приобретает несвойственную ей в норме нейроэндокринную дифференцировку из-за активации абберантных генов. А.К. El-Naggar et al. в своей статье сообщают, что потеря гетерозиготности в локусе *D3F15S2* хромосомы *3p21* может приводить к развитию НЭО почки, хотя, как правило, эта мутация выявляется при почечно-клеточной карциноме [8]. Кроме того, они выдвигают предположение, что мутация такого типа может быть общей для всех опухолей почки. Су-

ществует мнение, что НЭО почки вторичны, являются метастазами первичной никак себя не проявляющей опухоли. Довольно часто первичные НЭО развиваются в подковообразных почках, что может быть связано с миграцией клеток в эмбриогенезе, а также у пациентов с поликистозом почки или на фоне почечных тератом [4, 9]. Н.В. Armah et al. приводят наблюдение, где в подковообразной почке обнаружены синхронные первичные НЭО почки и умеренно дифференцированная аденокарцинома, возникшие на фоне тератомы [10]. Также в литературе имеются данные о конкурентных (сочетанных) светлоклеточной почечно-клеточной карциноме с почечной НЭО в подковообразной почке, фоном для которых служила кистозная тератома [11]. Японскими учеными описан клинический случай, в котором в почке имелись два прилежащих друг к другу образования: многокамерное кистозное и округлое солидное. Кистозное образование имело строение муцинозной цистаденомы с небольшим нейроэндокринным компонентом, а солидное – НЭО почки, которая после проведения иммуногистохимического исследования была расценена как соматостатинома [12]. Иногда НЭО почки имеют небольшие по размеру включения эпителиальных злокачественных структур новообразований, таких как аденокарцинома или плоскоклеточный рак [3]. М.К. Deshmukh et al. приводят клиническое наблюдение с нейроэндокринной карциномой почки с компонентами аденокарциномы [13]. Светлоклеточные ПКР нередко сопряжены с делецией в *3p* хромосоме, эта мутация выявляется в 78% случаев. Также ПКР связан с наследственными синдромами, такими как синдром фон Гиппеля–Линдау, синдром Риды или синдром Берта–Хога–Дьюба. Повреждения хромосомы *3p* приводят к активации сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и тромбоцитарного фактора роста (PDGF), что обуславливает ангиогенез, гликолиз, пролиферацию эпителия и миграцию клеток [2].

В зависимости от гистологического строения и экспрессируемых маркеров НЭО почки делятся на нейроэндокринную опухоль Grade I (карциноид), нейроэндокринную опухоль Grade II, крупноклеточный нейроэндокринный рак и мелкоклеточный нейроэндокринный рак. НЭО Grade I построена из базофильных клеток, формирующих трабекулярные и лентовидные структуры, ядра клеток округлые с конденсированным хроматином. Некрозы, митозы не выявляются, пролиферативная активность низкая. В крупноклеточном нейроэндокринном раке злокачественный потенциал несколько выше, опухоль солидная, построена из крупных клеток с легко различимыми ядрышками и везикулярным хроматином. Ядерно-цитоплазматический индекс низкий. Часто выявляются поля некрозов опухолевой ткани, митозов от 2 до 50 на 10 полей зрения. Мелкоклеточный нейроэндокринный рак имеет солидную структуру, обладает низкой степенью дифференцировки и высоким злокачественным потенциалом. Состоит из мелких базофильных клеток

со скудной цитоплазмой, бледные ядрышки содержат мелкогранулярный хроматин. Для этого типа характерны обширные некрозы и высокий митотический индекс (более 50 на 10 полей зрения) [4]. Классический светлоклеточный ПКР построен из крупных полигональных клеток со светлой цитоплазмой, формирующих солидные и ацинарные структуры. Ядра клеток, как правило, округлые, от их характеристик зависит градация опухоли согласно классификации Fuhrman или по WHO/ISUP. Иногда выявляются кистозные или тубулярные паттерны [2].

При иммуногистохимическом исследовании маркерами, выявляющимися в разных подтипах почечных НЭО, являются синаптофизин, хромогранин А, нейроспецифическая енолаза и CD56. В крупноклеточном нейроэндокринном раке обнаруживается фокальная экспрессия маркера CD10. В ПКР чаще всего экспрессируются высокомолекулярные цитокератины, CD10, vimentin, MUC-1 и GST-α.

НЭО могут обладать секреторной активностью и продуцировать серотонин, брадикинин, калликреин, гистамин, простагландины, нейропептид К, нейрокин А и т.д. Клинически гиперпродукция гормонально активных веществ может проявляться приливами, сопровождающимися покраснением и отеком кожи лица и шеи, тахикардией, диспноэ, диареей, болью в животе, тошнотой. Тем не менее карциноидный синдром отмечается только в 12,8% случаев. Чаще всего НЭО почки протекают бессимптомно и являются случайными находками, как и в нашем наблюдении. В связи с этим опухоль обнаруживается на поздней стадии, на момент установки диагноза 45,6% пациентов имеют отдаленные метастазы, а в 60% случаев размер первичного узла превышает 4 см. При таких новообразованиях пациенты жалуются на боли в животе или поясничной области, макрогематурию, наличие пальпируемого образования [8]. Аналогичные данные характерны и для ПКР. Как правило, опухоли со стадией T1_{A-B} не имеют клинических проявлений, что затрудняет их диагностику. Однако чаще всего ПКР обнаруживается, когда опухоль проникает в фасцию Героты, имеет крупный размер, отдаленные метастазы, что обуславливает развитие яркой клинической картины [2].

Хирургическое лечение в объеме резекции почки или нефрэктомии с регионарными лимфатическими узлами (в зависимости от размеров образования) является достаточным как для светлоклеточного ПКР, так и для высококодифференцированной НЭО. Для двух других типов НЭО почки требуется проведение химио- или лучевой терапии после операции [4]. В литературе имеются данные об успешной таргетной терапии моноклональными антителами поздних стадий различных опухолей почки. Используют ингибиторы сосудистого эндотелиального фактора роста, а также блокаторы его рецепторов, что приводит к подавлению ангиогенеза в опухоли и замедляет клеточную пролиферацию [14].

Прогноз при НЭО почки не всегда благоприятный, 5-летняя выживаемость в среднем для всех пациентов с НЭО составляет 50,4±6,4% [3]. Часто выявляются метастазы. Как правило, скорость метастазирования коррелирует с размером первичной НЭО почки [4, 8]. В одном из клинических случаев были выявлены первичная НЭО левой почки диаметром 6 см и синхронные метастазы в два регионарных лимфатических узла и три узла в правой почке диаметром от 0,6 до 3,5 см, аналогичных по строению узлу в левой [4, 8]. Есть данные, что чем моложе пациент, тем НЭО почки протекает агрессивнее, также ухудшают прогноз распространение опухоли за пределы почки, большой размер образования, его высокий митотический индекс [4]. Схожие показатели наблюдаются при ПКР, 5-летняя выживаемость несколько выше и составляет 62% случаев поздней диагностики. При раннем обнаружении ПКР и после удаления опухоли диаметром до 2,5 см, имеющей Grade I–II по Fuhrman, 10-летняя выживаемость составляет 95–99% [2].

Заключение

Описанное наблюдение демонстрирует редкий клинический случай сочетания светлоклеточного почечно-клеточного рака с высококодифференцированной нейроэндокринной опухолью почки. Важность этого наблюдения также заключается в том, что нейроэндокринная опухоль почки имеет менее благоприятный прогноз, чем светлоклеточный почечно-клеточный рак, и требует тщательного контроля за пациентом в послеоперационном периоде.

Литература/References

1. JN Eble, G Sauter, JI Epstein, IA Sesterhenn (eds.). World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of the Urinary System and Male Genital System. Lyon: IARC Press, 2004. 359 p.
2. JJMCH de la Rosette, CN Sternberg, HPA van Poppel (eds.). Renal Cell Cancer: Diagnosis and Therapy. London: Springer-Verlag, 2008. 582 p. DOI: 10.1007/978-1-84628-763-3.
3. Oronsky B, Ma PC, Morgensztern D, Carter CA. Nothing but NET: A review of neuroendocrine tumors and carcinomas. *Neoplasia*. 2017;19(12):991–1002. DOI: 10.1016/j.neo.2017.09.002.
4. Lane BR, Jour G, Zhou M. Renal neuroendocrine tumors. *Indian J Urol*. 2009;25(2):155–60. DOI:10.4103/0970-1591.52905.
5. Resnick ME, Unterberger H, McLoughlin PT. Renal carcinoma producing the carcinoid syndrome. *Med Times*. 1966;94(8):895–6. PMID: 5938842.
6. Bressenot A, Delaunay C, Gauchotte G, Oliver A, Boudrant G, Montagne K. Composite renal cell carcinoma with clear cell renal cell carcinomatous and carcinoid tumoral elements: A first case report. *J Clin Pathol*. 2010;63(2):174–6. DOI:10.1136/jcp.2009.070292.
7. Anderson DA, Tretiakova MS. Primary renal carcinoid with bilateral multiple clear cell papillary renal cell carcinomas. *Case Rep Pathol*. 2017;2017:9672368. DOI: 10.1155/2017/9672368.

8. *el-Naggar AK, Troncoso P, Ordonez NG.* Primary renal carcinoid tumor with molecular abnormality characteristic of conventional renal neoplasms. *Diagn Mol Pathol.* 1995;4(1):48–53. DOI: 10.1097/00019606-199503000-00009.
9. *Romero FR, Rais-Bahrani S, Permpongkosol S, Fine SW, Kohanim S, Jarrett TW.* Primary carcinoid tumors of the kidney. *J Urol.* 2006;176(6 Pt 1):2359–66. DOI: 10.1016/j.juro.2006.07.129.
10. *Armah HB, Parwani AV, Perepletchikov AM.* Synchronous primary carcinoid tumor and primary adenocarcinoma arising within mature cystic teratoma of horseshoe kidney: A unique case report and review of the literature. *Diagn Pathol.* 2009;4:17. DOI: 10.1186/1746-1596-4-17.
11. *Sun K, You Q, Zhao M, Yao H, Xiang H, Wang L.* Concurrent primary carcinoid tumor arising within mature teratoma and clear cell renal cell carcinoma in the horseshoe kidney: Report of a rare case and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(11):2578–84. PMID: 24228123.
12. *Takashi M, Matsuyama M, Furuhashi K, Kodama Y, Shinzato M, Shamoto M et al.* Composite tumor of mucinous cystadenoma and somatostatinoma of the kidney. *Int J Urol.* 2003;10(11):603–6. DOI: 10.1046/j.1442-2042.2003.00698.x.
13. *Deshmukh MK, Epari S, Menon S, Desai SB, Tongaukar H.* Composite epithelial kidney tumor comprising of adeno and neuroendocrine carcinomatous components: An unusual variant of renal cell carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol.* 2011;54(4):809–13. DOI: 10.4103/0377-4929.91528.
14. *Носов Д.А., Ворошилова Е.А., Саяпина М.С.* Современное представление об алгоритме лекарственного лечения и оптимальной последовательности использования таргетных препаратов. *Онкоурология.* 2014;10(3):12–21. DOI: 10.17650/1726-9776-2013-9-3-37-42.
- Nosov DA, Voroshilova EA, Sayapina MS.* Current idea of an algorithm for drug treatment and optimal succession of using targeted drugs. *Cancer Urology.* 2014;10(3):12–21 (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2013-9-3-37-42.

Информация об авторах

Елена Ильинична Иванова – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения I (патоморфологического) РНЦХ имени академика Б.В. Петровского.

Светлана Евгеньевна Соловьева – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения I (патоморфологического) РНЦХ имени академика Б.В. Петровского.

Олег Владимирович Должанский – доктор медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением I (патоморфологическим) РНЦХ имени академика Б.В. Петровского.

Author information

Elena I. Ivanova – Pathologist, Department of Pathological Anatomy, Petrovsky National Research Centre of Surgery. <https://orcid.org/0000-0002-5601-0465>

Svetlana E. Solovyeva – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, Department of Pathological Anatomy, Petrovsky National Research Centre of Surgery. <https://orcid.org/0000-0001-8655-3340>

Oleg V. Dolzhanskiy – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Pathological Anatomy, Petrovsky National Research Centre of Surgery. <https://orcid.org/0000-0003-1437-7645>

© Коллектив авторов, 2022

DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.73-80

УДК: 616.5; 616.97

Трудности дифференциальной диагностики грибовидного микоза и псориаза: клинко-морфологические сопоставления

*В.А. Смольяникова^{1,2}, А.Э. Карамова¹, А.А. Воронцова¹,
Л.Ф. Знаменская¹, М.А. Нефедова¹, К.М. Аулова¹*

¹ ФГБУ Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии Минздрава России, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Грибовидный микоз – это эпидермотропная первичная Т-клеточная лимфома кожи, представленная малыми и средними лимфоидными клетками с церебриформными ядрами. Дифференциальная диагностика Т-клеточных лимфом кожи и хронических аутоиммунных дерматозов, в том числе псориаза, в ряде случаев может представлять значительные сложности. Проанализировано три клинических наблюдения грибовидного микоза, которые первоначально расценивались как псориаз. Проведены гистологическое и иммуногистохимическое исследования с панелью антител CD4 CD8, CD2, CD5, CD7, CD3, определена моноклональная популяция Т-лимфоцитов методом ПЦР. Предложен алгоритм постановки диагноза.

Ключевые слова: грибовидный микоз, псориаз, морфология, иммуногистохимическое исследование, диагноз

Для корреспонденции: Анастасия Александровна Воронцова. E-mail: nastasia08@bk.ru

Для цитирования: Смольяникова В.А., Карамова А.Э., Воронцова А.А., Знаменская Л.Ф., Нефедова М.А., Аулова К.М. Трудности дифференциальной диагностики грибовидного микоза и псориаза: клинко-морфологические сопоставления. Клин. эксп. морфология. 2022;11(3):73–80. DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.73-80.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России (№ АААА-А18-118040290097-5).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 10.06.2022. Получена после рецензирования 18.07.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Problems in differential diagnosis of mycosis fungoides and psoriasis: comparison of clinical and morphological features

*V.A. Smolyannikova^{1,2}, A.E. Karamova¹, A.A. Vorontsova¹,
L.F. Znamenskaya¹, M.A. Nefedova¹, K.M. Aulova¹*

¹ State Research Center of Dermatology, Venereology, and Cosmetology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Abstract. Mycosis fungoides is an epidermotropic primary cutaneous T-cell lymphoma, represented composed of small and medium-sized lymphocytes with cerebriform nuclei. Differential diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma and chronic autoimmune dermatoses, including psoriasis, may present significant challenges in some cases. We analyzed three clinical cases of mycosis fungoides, in which psoriasis was initially diagnosed. Histological and immunohistochemical studies with a wide panel of antibodies (CD4 CD8, CD2, CD5, CD7, CD3) were performed, and monoclonal T-lymphocyte populations were determined with PCR. We propose an algorithm for diagnosing mycosis fungoides.

Keywords: mycosis fungoides, psoriasis, morphology, immunohistochemical study, diagnosis

Corresponding author: Anastasiia A. Vorontsova. E-mail: nastasia08@bk.ru

For citation: Smolyannikova V.A., Karamova A.E., Vorontsova A.A., Znamenskaya L.F., Nefedova M.A., Aulova K.M. Problems in differential diagnosis of mycosis fungoides and psoriasis: comparison of clinical and morphological features. Clin. exp. morphology. 2022;11(3):73–80 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.73-80.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to State Research Center of Dermatology and Cosmetology of the Ministry of Health of Russia (No. АААА-А18-118040290097-5).

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

Received 10.06.2022. Received in revised form 18.07.2022. Accepted 15.09.2022.

Введение

Грибовидный микоз – это эпидермотропная первичная Т-клеточная лимфома кожи, представленная малыми и средними лимфоцитами с церебриформными ядрами [1]. Особенностью грибовидного микоза является то, что нередко он может клинически и морфологически напоминать другие заболевания кожи неопухолевого генеза, в том числе псориаз. В патогенезе псориаза и грибовидного микоза имеются общие патогенетические механизмы, в частности присутствует аномальная активация Т-клеточного звена иммунитета, точный механизм стимуляции которого до конца не изучен; при псориазе и на ранних стадиях грибовидного микоза в коже преобладает фенотип Th1-типа. Однако, по данным последних исследований, ведущую роль в иммунном ответе следует отнести Th17 с экспрессией цитокинов семейства IL17 за счет активации внутриклеточного сигнального пути JAK3/STAT3 [2, 3].

Описан повышенный риск возникновения злокачественных лимфом при иммуноопосредованных заболеваниях, включая псориаз. Результаты двух крупных популяционных исследований свидетельствуют о более высоких показателях заболеваемости лимфомой Ходжкина и неходжкинскими лимфомами, в том числе кожными Т-клеточными лимфомами, у пациентов с псориазом по сравнению с популяцией [4, 5]. F. Bellinato et al. [6] провели оценку риска развития лимфогемопоэтических опухолей у пациентов с псориазом средней и тяжелой степени по сравнению с контрольной группой. Авторы продемонстрировали 6-кратное увеличение риска Т-клеточной лимфомы Ходжкина/грибовидного микоза, 1,7-кратное – лимфомы Ходжкина и 1,3-кратное – неходжкинских лимфом [6].

Схожие клинические, иммунологические и гистологические характеристики в ряде случаев затрудняют дифференциальную диагностику этих двух заболеваний как для клиницистов, так и для морфологов [2].

Приводим собственные клинические наблюдения.

Материалы и методы

Представлены ретроспективные клинические и морфологические данные трех пациентов с установленным диагнозом «грибовидный микоз» и псориазом в анамнезе, наблюдавшихся в Государственном научном центре дерматовенерологии и косметологии Минздрава России в период с 2018 по 2021 год. Морфологические исследования проводили на парафиновых блоках, гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили стрептавидин-биотин-пероксидазным методом по общепринятой схеме на срезах толщиной 5 мкм мышинными моноклональными антителами к CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD3 (BOND RTU, Leica Biosystems, Германия). В качестве позитивного и негативного контроля в каждом случае использовали рекомендованные производителями образцы тканей.

Результаты оценивали с помощью светового микроскопа Leica DM4000B (Leica, Германия) при $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$.

Результаты

В Государственном научном центре дерматовенерологии и косметологии Минздрава России за период с 2018 по 2021 год под наблюдением находились 34 пациента с грибовидным микозом, из которых трое (8,8%) ранее наблюдались с диагнозом «псориаз» в других учреждениях: пациент Б., 68 лет, пациент Ф., 44 лет, и пациентка О., 27 лет. Пациенту Б. диагноз «псориаз» был поставлен на основании клинической картины, у пациента Ф. и пациентки О. диагноз подтвержден гистологически. Для лечения псориаза в анамнезе у всех пациентов использовались преимущественно топические и системные глюкокортикостероиды, пациент Б. получал также ПУВА-терапию; иммуносупрессивные препараты (метотрексат, циклоспорин) и генно-инженерные биологические не применялись. Промежуток времени от появления первых высыпаний, расцененных как псориаз, и до установки диагноза «грибовидный микоз» составил в среднем 6 лет (от 3 до 8 лет).

При обращении в Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии Минздрава России у всех пациентов клинически наблюдались распространенные полиморфные высыпания с преобладанием инфильтративно-бляшечных очагов с шелушением на поверхности (рис. 1 А–С). У пациентки О. в клинической картине помимо бляшек отмечалась неравномерная пигментация кожных покровов серовато-коричневого цвета, развившаяся на фоне проводимых неоднократных курсов полихимиотерапии по поводу Т-клеточной неходжкинской лимфомы, неспецифизированной (рис. 1 С), которая в дальнейшем не подтвердилась.

Во всех трех наблюдениях постановка диагноза «грибовидный микоз» вызвала значительные трудности как со стороны клиники, так и при морфологических исследованиях, поскольку во всех случаях присутствовали признаки обоих заболеваний.

У всех пациентов подтверждение диагноза «грибовидный микоз» потребовало повторных гистологических и иммуногистохимических исследований. У пациентки О. на основании результатов гистологического и ИГХ исследований лимфатического узла первоначально была диагностирована Т-клеточная неходжкинская лимфома, неспецифизированная. Изменения кожи клинически были расценены как псориаз, что подтверждено при первичном гистологическом исследовании в кожно-венерологическом диспансере по месту жительства. В связи с отсутствием положительной динамики кожного процесса на фоне проводимой терапии пациентка О. была направлена на консультацию и лечение в Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии Минздрава Рос-

сии, где при пересмотре гистологических препаратов кожи и повторном исследовании диагноз «псориаз» не подтвердился, а морфологические изменения соответствовали картине грибовидного микоза (рис. 2 С). При пересмотре препаратов лимфатического узла в НМИЦ гематологии Минздрава России диагноз «Т-клеточная неходжкинская лимфома, неспецифизированная» также не подтвердился.

При морфологическом исследовании, проведенном в Государственном научном центре дерматовенерологии и косметологии Минздрава России, в материале пациента Б. и пациентки О. морфологическая картина

была схожей (рис. 2). Со стороны эпидермиса отмечалось резкое утолщение с выраженным акантозом, умеренным гиперкератозом с участками паракератоза, истончением или отсутствием зернистого слоя, очаговой вакуольной дистрофией преимущественно клеток базального слоя. Дерма была отечна, в сосочковом слое выявлялся плотный полосовидный инфильтрат из лимфоцитов с наличием эозинофилов и плазматических клеток. Среди лимфоцитов присутствовало значительное количество клеток малого и среднего размера. Клетки инфильтрата обладали выраженным эпидермотропизмом с расположением вдоль базаль-



Рис. 1. Клиническая картина у пациентов с грибовидным микозом при обращении.

А – пациент Б., В – пациент Ф., С – пациентка О.

Fig. 1. Clinical picture of patients with mycosis fungoides on admission.

А – patient B., В – patient F., С – patient O.

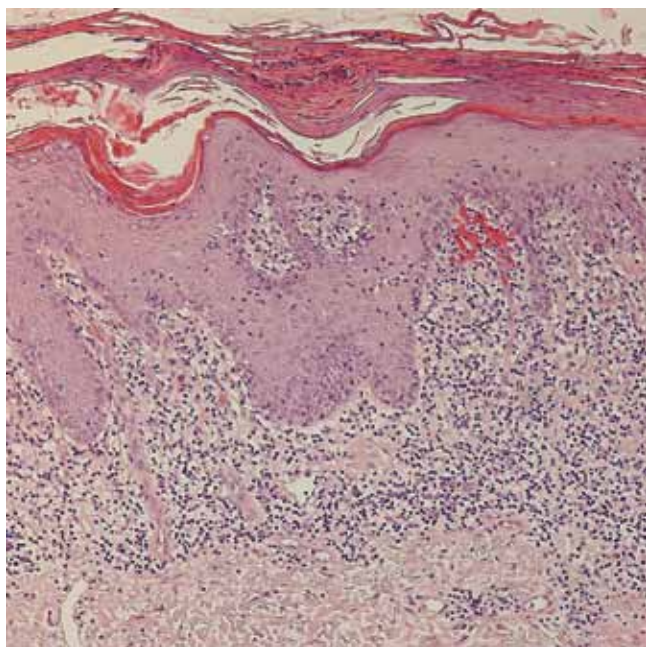


Рис. 2. Морфологическая картина при взятии у пациентов биопсии кожи из области бляшек. Выраженный акантоз, паракератоз и исчезновение зернистого слоя в эпидермисе, массивный лимфоцитарный инфильтрат в дерме, экзоцитоз лимфоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Fig. 2. Morphological picture of skin biopsies from the plaques taken from the patients. Pronounced acanthosis, parakeratosis, and disappearance of the granular layer in the epidermis, massive lymphocytic infiltrate in the dermis, exocytosis of lymphocytes. H&E stain, $\times 100$

ной мембраны. Отмечалась различная выраженность экзоцитоза лимфоцитов с тенденцией к формированию микроабсцессов Потрие. Первоначально для пациента Б. и пациентки О. было сформулировано следующее заключение: выявленные изменения могут наблюдаться в начальной стадии Т-клеточной лимфомы кожи, для уточнения диагноза необходимо ИГХ исследование.

В третьем наблюдении, у пациента Ф., первоначально признаки грибовидного микоза обнаружены не были, картина в большей степени соответствовала псориазу. Отмечались выраженный акантоз с расширением гребней Ретейна, паракератоз с исчезновением зернистого слоя, истончение эпидермиса над сосочками дермы, инфильтрат, несмотря на значительную выраженность, был достаточно полиморфным, в большом количестве содержал нейтрофилы, отмечался умеренный экзоцитоз (рис. 3 А). Тем не менее пациенту Ф. было проведено ИГХ исследование, результаты которого оказались сомнительными: соотношение CD4+ и CD8+ клеток составляло примерно 1:1, экспрессия маркеров CD2, CD5 и CD7 была сохранена, однако отмечалось эпидермально-дермальное несоответствие экспрессии CD3+ – не более 1/3 Т-клеток в эпидермисе экспрессировало CD3, тогда как около 2/3 экспрессировало CD2 и большая часть – CD5 (рис. 4 А, В). Результаты ПЦР исследования также были сомнительными, и диагноз грибовидного микоза поставлен не был.

В связи с отсутствием положительной динамики через год пациент был госпитализирован повторно, при гистологическом исследовании отмечались большая

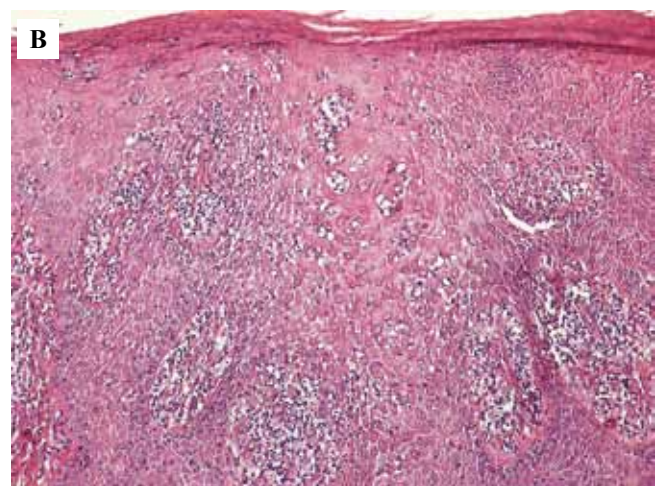
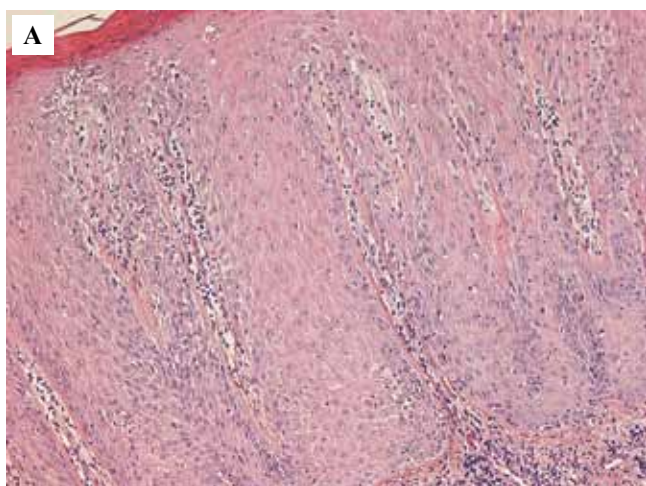


Рис. 3. Результаты морфологических исследований биопсийного материала кожи пациента Ф. Первичное (А) и повторное (В) биопсийное исследование кожи. А – выраженный акантоз, паракератоз, умеренный полиморфный воспалительный инфильтрат в дерме, экзоцитоз лимфоцитов не выражен. В – выраженный акантоз, умеренный паракератоз, зернистый слой местами сохранен, в дерме диффузный лимфоцитарный инфильтрат с выраженным экзоцитозом и формированием микроабсцессов Потрие

Fig. 3. Results of morphological analyses of skin biopsy material (patient F.). First (A) and repeat (B) biopsy. A – pronounced acanthosis, parakeratosis, moderate polymorphic inflammatory infiltrate in the dermis, lymphocyte exocytosis is not expressed. B – pronounced acanthosis, moderate parakeratosis, granular layer preserved in some areas, diffuse lymphocytic infiltrate in the derma with pronounced exocytosis and formation of Pautrier's microabscesses

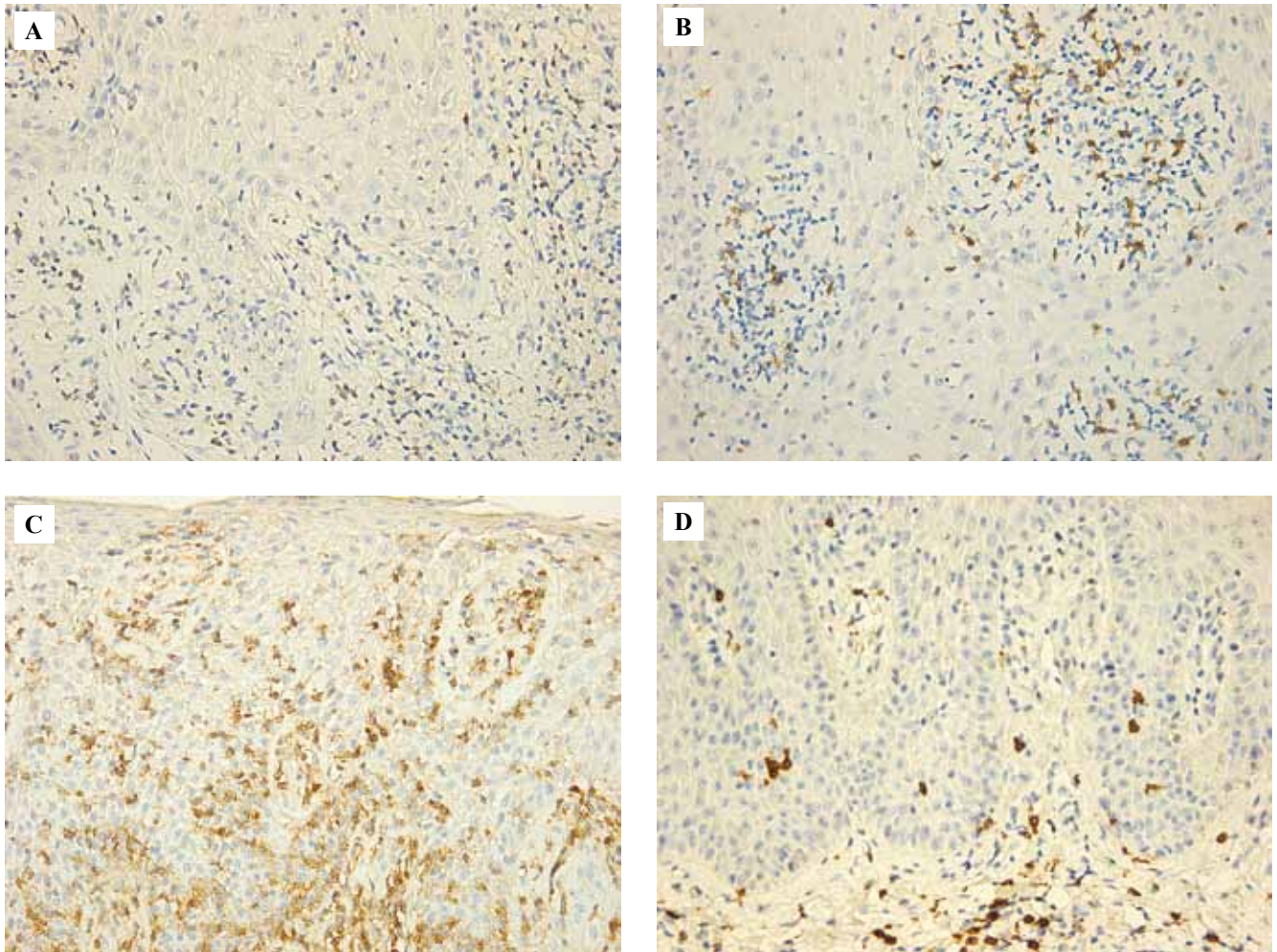


Рис. 4. Результаты иммуногистохимического окрашивания биопсийного материала кожи пациента Ф.

Результаты первого (А, В) и второго иммуногистохимического окрашивания биопсийного материала кожи (С, D), взятого у пациента Ф. А, С – окрашивание маркером CD4, $\times 200$, В, D – окрашивание маркером CD8, $\times 200$

Fig. 4. Results of immunohistochemical stainings of skin biopsy material (patient F).

A, B – results of the first immunohistochemical staining; C, D – results of the second staining. A, C – staining with CD4 marker, $\times 200$, B, D – staining with CD8 marker, $\times 200$

выраженность и мономорфность инфильтрата, усилился экзцитоз лимфоцитов (рис. 3 В). Проведенное ПЦР исследование по-прежнему было сомнительным. При повторном ИГХ исследовании отмечалась резко выраженная экспрессия CD4 с соотношением CD4 и CD8 около 10:1, а экспрессия маркеров CD2, CD5 и CD7 наблюдалась не более чем в 50% Т-клеток дермального пролиферата (рис. 4 С, D). На основании ИГХ картины при повторном исследовании диагноз грибковидного микоза был подтвержден.

Обсуждение

В последнее время в литературе активно обсуждается вопрос взаимосвязи и/или возможной коморбидности Т-клеточной лимфомы кожи и псориаза. V. Nikolaou et al. полагают, что кроме пациентов с ранним грибковидным микозом, который ошибочно диагностируется как псориаз, есть группа с клинико-

морфологическими признаками двух заболеваний, а также ряд пациентов, у которых, возможно, происходит трансформация псориаза в грибковидный микоз, особенно на фоне применения иммуносупрессивной терапии (циклоспорин, метотрексат, ингибиторы ФНО- α) [2, 5, 7–9]. Иммунное воспаление, которое лежит в основе развития псориаза, в частности нарушение соотношения CD4/CD8 лимфоцитов дермы, длительность заболевания и, как следствие, продолжительная стимуляция иммунной системы могут привести к усиленной пролиферации лимфоцитов, появлению доминантного клона клеток [5, 10] и, вероятно, развитию Т-клеточной лимфомы кожи.

Морфологическая диагностика ранних форм лимфом кожи представляет значительные трудности, по данным разных авторов, ошибки могут достигать 40% и более [11, 12]. С чем связан такой высокий процент ошибок? Грибковидный микоз – первичная перифериче-

ская Т-клеточная лимфома, развивающаяся из зрелых посттимических Т-лимфоцитов, поэтому опухолевые клетки мало отличаются от нормальных лимфоцитов. Атипичные клетки, как правило, меньших размеров и могут иметь церебриформные ядра, однако их количество в инфильтрате на начальных этапах невелико [1]. При диагностике ранних стадий лимфом кожи необходима оценка не только характера инфильтрата – его интенсивности, состава, наличия митозов, но и взаимоотношения его с другими структурами кожи. В типичных бляшечных элементах, как правило, наиболее выражен эпидермотропизм с формированием микроабсцессов Потрие, последние, однако, встречаются далеко не во всех случаях. На опухолевой стадии, несмотря на большую выраженность инфильтрата, эпидермотропизм может уменьшаться, а в некоторых случаях полностью исчезать [1]. На ранней стадии заболевания, при клинических проявлениях в виде пятен, количество собственно опухолевых клеток невелико, и в инфильтрате наряду с ними присутствуют зрелые лимфоидные элементы и клетки неспецифического воспаления, которые могут преобладать, эпидермотропизм слабо выражен – все это в значительной степени затрудняет диагностику. В то же время необходимо отметить, что при обострении различных дерматозов – псориаза, атопического дерматита – воспаление может быть также очень выраженным и не только располагаться вокруг сосудов, но и приобретать диффузный характер. В этих случаях для дифференциальной диагностики, казалось бы, ключевым моментом становятся определение количества в инфильтрате клональных клеток методом ПЦР и иммуногистохимическое исследование. Тем не менее использование этих современных методов не всегда дает возможность 100% правильной диагностики. По данным С. Massone et al., выявление моноклональной популяции Т-лимфоцитов методом ПЦР при лимфомах кожи составляет около 50% [13], что подтверждают полученные результаты двух таких исследований, проведенных у одного из наших пациентов. Необходимо отметить, что при длительно текущих хронических дерматозах, в частности псориазе, в инфильтрате могут появляться клональные Т-лимфоциты [8]. ИГХ исследование позволяет определить качественный состав инфильтрата и уровень пролиферативной активности клеток. Применение этого метода необходимо, когда морфолог при рутинном гистологическом исследовании выявляет достаточно выраженную воспалительную реакцию. Как правило, используется широкая панель антител – CD45RO, TCR β , CD2, CD3, CD4, CD8, CD5, CD7, CD30. Преобладание в клетках инфильтрата CD4+ лимфоцитов, особенно при их тропности к эпидермису, а также позитивная реакция с CD2, CD3, TCR β , CD5 и отрицательная с CD8 позволяют диагностировать грибовидный микоз. В некоторых случаях может встречаться CD8 позитивный фенотип грибовидного микоза, но этот вариант достаточно редкий и более характерен для педиатрической практики [1]. В случаях, когда

воспаление выражено слабо или биоптат взят в зоне с явными вторичными изменениями, метод может себя не оправдывать из-за недостаточного количества анализируемых клеток или, наоборот, преобладания клеток неспецифического воспаления [14].

Еще одним компонентом диагноза лимфомы кожи являются изменения эпидермиса. Для Т-клеточной лимфомы кожи характерны утолщение эпидермиса, акантоз, очаговый паракератоз, истончение или очаговое исчезновение зернистого слоя. Эти изменения имеют вторичный характер и связаны с продукцией зрелыми лимфоцитами и опухолевыми клетками цитокинов, стимулирующих пролиферацию эпидермиса, и приводящих к нарушениям клеточной дифференцировки. Тем не менее аналогичные изменения могут возникать при псориазе, атопическом дерматите и других дерматозах, в основе которых лежит иммунный характер воспаления, что, в свою очередь, затрудняет постановку диагноза. В таких случаях при диагностике псориаза необходимо учитывать не только изменения в эпидермисе – акантоз с расширением гребней Ретейна, паракератоз с исчезновением зернистого слоя, истончение эпидермиса над сосочками дермы, но и дермальным компонент – характер изменения сосудов, в частности их извитость и расположение вблизи базальной мембраны эпидермиса, характер и выраженность воспалительного инфильтрата. Характерные морфологические изменения при псориазе развиваются в прогрессирующей стадии, когда в инфильтрате появляются нейтрофилы и в ряде случаев формируются микроабсцессы Мунро. Однако в этот период и наиболее выраженным бывает воспалительный инфильтрат, что может опять же имитировать лимфому кожи, особенно при отсутствии микроабсцессов Мунро [2, 15].

В работе М. Santucci et al. при исследовании биопсий с подозрением на лимфому кожи было предложено выделить четыре группы: 1) лимфома; 2) вероятная лимфома: гистологические признаки соответствуют Т-клеточной лимфоме кожи (ТКЛК), но диагноз не может быть уверенно установлен; 3) возможная лимфома: гистологические признаки не соответствуют ТКЛК, но диагноз лимфомы не может быть уверенно исключен; 4) не лимфома [16]. Подобный подход, с нашей точки зрения, вполне оправдан. Вторая и третья группа являются так называемой серой зоной, когда морфолог не может с уверенностью ни подтвердить, ни опровергнуть диагноз лимфомы кожи, даже несмотря на использование современных методов диагностики – ПЦР и ИГХ исследований. В этой ситуации необходимо динамическое наблюдение с проведением повторных биопсий, как в описанных нами клинических наблюдениях. Здесь же стоит отметить, что гипердиагностика Т-клеточной лимфомы кожи может приводить к необоснованно агрессивной тактике лечения этих пациентов с развитием у них различных осложнений полихимиотерапии вплоть до летального исхода, что мы, к сожалению, наблюдали в описанном нами слу-

чае с гипердиагностикой Т-клеточной неходжкинской лимфомы, неспецифизированной.

Таким образом, нередко дифференциальная диагностика между псориазом и лимфомой кожи представляет значительные трудности. Нельзя исключить, что на каком-то этапе заболевания одновременно могут существовать как проявления псориаза, так и начальные признаки Т-клеточной лимфомы кожи. Особо стоит отметить, что в рутинной клинической практике диагноз псориаза не так часто имеет гистологическое подтверждение и устанавливается на основании клинических проявлений.

Заключение

Дифференциальная диагностика Т-клеточных лимфом кожи и доброкачественных воспалительных кожных заболеваний – актуальная проблема современной дерматологии. Трактовка морфологических изменений должна проводиться обязательно с учетом клинической картины и динамики процесса. При несоответствии клинических проявлений грибовидного микоза и гистологической картины, в частности при недостаточной выраженности клеточного инфильтрата, отсутствии клеточной атипии, эпидермотропизма и микроабсцессов Потрие, рационально определять наличие моноклональной популяции Т-лимфоцитов методом ПЦР, при положительной реакции – проводить иммуногистохимическое исследование с широкой панелью антител. В тех случаях, когда указанные методы исследования дают отрицательный результат, необходимо динамическое наблюдение с проведением повторных биопсий. Учитывая то, что в большинстве случаев Т-клеточные лимфомы кожи имеют длительное торпидное течение, подобный подход вполне оправдан. При этом морфологические изменения обязательно должны трактоваться патологом комплексно, с учетом как динамики клинической картины, так и изменений, выявленных при предыдущих гистологических исследованиях.

Литература/References

1. Elder DE, Massi D, Scolyer RA, Willemze R. WHO Classification of Skin Tumours. V. 11. 4th ed. Lyon: IARC, 2018. 225 p.
2. Nikolaou V, Marinos L, Moustou E, Papadavid E, Economidi A, Christofidou E et al. Psoriasis in patients with mycosis fungoides: a clinicopathological study of 25 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2017;31(11):1848–52. DOI: 10.1111/jdv.14365.
3. Yoo J, Shah F, Velangi S, Stewart G, Scarisbrick JS. Secukinumab for treatment of psoriasis: Does secukinumab precipitate or promote the presentation of cutaneous T-cell lymphoma? *Clin Exp Dermatol.* 2019;44(4):414–7. DOI:10.1111/ced.13777.
4. Kamstrup MR, Skov L, Zachariae C, Thyssen JP, Egeberg A. Psoriasis and risk of malignant lymphoma: A population-based cohort study. *Br J Dermatol.* 2018;178(6):1435–6. DOI:10.1111/bjd.16245.
5. Gelfand JM, Shin DB, Neimann AL, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. The risk of lymphoma in patients with psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2006;126(10):2194–201. DOI:10.1038/sj.jid.5700410.
6. Bellinato F, Gisondi P, Girolomoni G. Risk of lymphohematologic malignancies in patients with chronic plaque psoriasis: A systematic review with meta-analysis. *J Am Acad Dermatol.* 2022;86(1):86–96. DOI: 10.1016/j.jaad.2021.07.050.
7. Biondo G, Cerroni L, Brunasso AMG, Sola S, Cota C, Javor S et al. Risk of mycosis fungoides in psoriatic patients: A critical review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34(6):1186–95. DOI:10.1111/jdv.16160.
8. Nashed D, Faulhaber D, Ständer S, Luger TA, Stadler R. Mycosis fungoides: A dermatological masquerader. *Br J Dermatol.* 2007;156(1):1–10. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2006.07526.x.
9. Donigan JM, Snowden C, Carter JB, Kimball AB. The temporal association between cutaneous T-cell lymphoma and psoriasis: Implications for common biologic processes. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2016;30(10):e31–e32. DOI: 10.1111/jdv.13281.
10. Papatthemeli D, Georgiou E, Koletsis T, Sotiriadis D, Patsatsi A. Mycosis fungoides in patients with psoriasis: An ongoing issue. *Eur J Dermatol.* 2018;28(2):235–6. DOI: 10.1684/ejd.2017.3201.
11. Reddy K, Bhawan J. Histologic mimickers of mycosis fungoides: a review. *J Cutan Pathol.* 2007;34(7):519–25. DOI: 10.1111/j.1600-0560.2006.00662.x.
12. Kelati A, Gallouj S, Tahiri L, Harmouche T, Mernissi FZ. Defining the mimics and clinico-histological diagnosis criteria for mycosis fungoides to minimize misdiagnosis. *Int J Womens Dermatol.* 2017;3(2):100–6. DOI: 10.1016/j.ijwd.2016.11.006.
13. Massone C, Kodama K, Kerl H, Cerroni L. Histopathologic features of early (patch) lesions of mycosis fungoides: a morphologic study on 745 biopsy specimens from 427 patients. *Am J Surg Pathol.* 2005;29(4):550–60. DOI: 10.1097/01.pas.0000153121.57515.c6.
14. Shamim H, Johnson EF, Gibson LE, Comfere N. Mycosis fungoides with spongiosis: A potential diagnostic pitfall. *J Cutan Pathol.* 2019;46(9):645–52. DOI: 10.1111/cup.13477.
15. Hodak E, Amitay-Laish I. Mycosis fungoides: A great imitator. *Clin Dermatol.* 2019;37(3):255–67. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2019.01.004.
16. Santucci M, Biggeri A, Feller AC, Burg G. Accuracy, concordance, and reproducibility of histologic diagnosis in cutaneous T-cell lymphoma: An EORTC Cutaneous Lymphoma Project Group Study. *European Organization for Research and Treatment of Cancer. Arch Dermatol.* 2000;136(4):497–502. DOI: 10.1001/archderm.136.4.497.

Информация об авторах

Вера Анатольевна Смольяникова – профессор, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отдела дерматологии группы патоморфологической диагностики дерматозов Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России, профессор Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет).

Арфеня Эдуардовна Карамова – кандидат медицинских наук, заведующая отделом дерматологии Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России.

Анастасия Александровна Воронцова – младший научный сотрудник отдела дерматологии Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России.

Людмила Федоровна Знаменская – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела дерматологии Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России.

Мария Андреевна Нефедова – младший научный сотрудник отдела дерматологии Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России.

Ксения Максимовна Аулова – клинический ординатор Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России.

Author information

Vera. A. Smolyannikova – Professor, Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Group of Pathomorphological Diagnostics of Dermatoses, Department of Dermatology, State Research Center of Dermatovenerology and Cosmetology; Professor, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0002-7759-5378>

Arfenya E. Karamova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Dermatology, State Research Center of Dermatovenerology and Cosmetology.

<http://orcid.org/0000-0003-3805-8489>

Anastasiia A. Vorontsova – Junior Researcher, Department of Dermatology, State Research Center of Dermatovenerology and Cosmetology.

<http://orcid.org/0000-0002-3129-0050>

Lyudmila F. Znamenskaya – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Dermatology, State Research Center of Dermatovenerology and Cosmetology.

<http://orcid.org/0000-0002-2553-0484>

Maria A. Nefedova – Junior Researcher, Department of Dermatology, State Research Center of Dermatovenerology and Cosmetology.

<http://orcid.org/0000-0003-1141-9352>

Kseniya M. Aulova – Clinical Resident, Department of Dermatology, State Research Center of Dermatovenerology and Cosmetology.

<http://orcid.org/0000-0002-2924-3036>