

# КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Том 12 | № 1 | 2023

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, 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

Зайратьянц 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 **12** | No **1** | 2023

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 III № 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

*Saveliev, 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

- А.В. Лагурева, Н.Г. Плехова, В.И. Апанасевич*  
Оценка роли вирусов папилломы человека и Эпштейна–Барр в развитии эпителиальных опухолей молочной железы 5 *A.V. Lagureva, N.G. Plekhova, V.I. Apanasevich*  
Role of HPV and Epstein–Barr virus in the development of epithelial breast tumors
- А.Е. Прощина, А.С. Харламова, Ю.С. Кривова, С.В. Савельев*  
Современные тенденции картирования головного мозга 15 *A.E. Proshchina, A.S. Kharlamova, Yu.S. Krivova, S.V. Saveliev*  
Modern trends in brain mapping and atlasing

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ORIGINAL RESEARCH

- Т.Г. Траль, Г.Х. Толибова, И.Ю. Коган*  
Имплантационная несостоятельность эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения у пациенток с хроническим эндометритом 24 *T.G. Tral, G.Kh. Tolibova, I.Yu. Kogan*  
Endometrial implantation failure in cycles of *in vitro* fertilization in patients with chronic endometritis
- Н.М. Маркарян, Р.А. Вандышева, Н.В. Низяева, З.В. Гюева, С.А. Михалев, М.Б. Хамошина, Л.М. Михалева*  
Клинико-морфологическая оценка рубцов на матке после кесарева сечения у пациенток с гинекологическими и экстрагенитальными заболеваниями 34 *N.M. Markaryan, R.A. Vandysheva, N.V. Nizyaeva, Z.V. Gioeva, S.A. Mikhalev, M.B. Khamoshina, L.M. Mikhaleva*  
Clinical and morphological assessment of uterine scars after cesarean section in patients with gynecological and extragenital diseases
- Н.В. Данилова, А.В. Чайка, В.М. Хомяков, Н.А. Олейникова, В.В. Какоткин, Д.В. Вычужанин, Ю.Ю. Андреева, П.Г. Мальков*  
Аберрантная экспрессия p53 в карциноме желудка и ее связь с HER2 статусом 46 *N.V. Danilova, A.V. Chayka, V.M. Khomyakov, N.A. Oleynikova, V.V. Kakotkin, D.V. Vychuzhanin, Yu.Yu. Andreeva, P.G. Malkov*  
Aberrant expression of p53 in gastric carcinoma and its association with HER2 status

М.А. Попов, Д.В. Шумаков, Л.Е. Гуревич,  
Д.Н. Федоров, Д.И. Зыбин, В.Е. Ашевская,  
П.А. Коростелева, В.М. Тюрина  
Оценка функциональных свойств  
гибернирующего миокарда

59 M.A. Popov, D.V. Shumakov, L.E. Gurevich,  
D.N. Fedorov, D.I. Zybin, V.E. Ashevskaya,  
P.A. Korosteleva, V.M. Tyurina  
The evaluation of hibernating myocardium function

Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь  
Изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах  
мозга при экспериментальной церебральной  
ишемии

68 E.V. Uzlova, S.M. Zimatkin, E.I. Bon  
Changes in the content of ATP synthase in brain  
neurons during experimental cerebral ischemia

М.Н. Болтовская, Г.И. Табеева, Н.Б. Тихонова,  
В.В. Алексанкина, А.В. Асатурова, П.А. Вишнякова,  
Т.Х. Фатхудинов  
Разработка экспериментальной модели патологии  
эндометрия (синдрома Ашермана)

77 M.N. Boltovskaya, G.I. Tabeeva, N.B. Tikhonova,  
V.V. Aleksankina, A.V. Asaturova, P.A. Vishnyakova,  
T.Kh. Fatkhudinov  
Development of an experimental model of endometrial  
pathology (Asherman's syndrome)

## ЮБИЛЕИ ANNIVERSARIES

К 80-летию со дня рождения  
Льва Владимировича Кактурского

87 To Lev Vladimirovich Kakturskiy  
on his 80th anniversary

К 60-летию со дня рождения  
Дмитрия Борисовича Никитюка

89 To Dmitry Borisovich Nikitjuk  
on his 60th anniversary

## Оценка роли вирусов папилломы человека и Эпштейна–Барр в развитии эпителиальных опухолей молочной железы

А.В. Лагурева<sup>1,2</sup>, Н.Г. Плехова<sup>2</sup>, В.И. Апанасевич<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ Приморский краевой онкологический диспансер, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, Владивосток, Россия

**Резюме.** Рак молочной железы (РМЖ) – ведущая причина онкологической заболеваемости женщин всего мира, однако его этиология окончательно не выяснена. Рассматривалась гипотеза о возможной связи между РМЖ и инфицированием вирусами – результаты одних исследований подтверждают это предположение, другие указывают на ее неубедительность. Цель обзора – изучить вопрос об инфицированности вирусом папилломы человека (ВПЧ) и вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) опухолевых тканей молочной железы (МЖ). Проанализированы данные более 100 публикаций, показывающих результаты исследования связи между присутствием ВПЧ и ВЭБ и опухолями МЖ различного генеза. Информация о наличии вирусных частиц была получена разными методами – иммуногистохимическим, ПЦР в режиме реального времени и *in situ* гибридизации, где в качестве объектов использовали фиксированные формалином ткани. Выявлялась ДНК ВПЧ и ВЭБ, изучалась экспрессия онкобелков ВПЧ (Е6, L1), латентных антигенов ВЭБ (*EBNA-1*, *EBNA-2*, *EBNA-3*, *LMP-1*). Анализ более 4000 случаев доброкачественных и злокачественных опухолей МЖ указывает на широкий диапазон распространенности ВПЧ до 86% и ВЭБ до 56% в тканях МЖ. Несмотря на выявленную связь между наличием вирусных частиц в тканях и последующим развитием опухолевого процесса, этиологическая роль ВПЧ и ВЭБ в возникновении и прогрессировании опухолей МЖ остается дискуссионной.

**Ключевые слова:** опухоль молочной железы, рак молочной железы, вирус папилломы человека (ВПЧ), вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), онковирусы

**Для корреспонденции:** Александра Викторовна Лагурева. E-mail: sandy767@mail.ru

**Для цитирования:** Лагурева А.В., Плехова Н.Г., Апанасевич В.И. Оценка роли вирусов папилломы человека и Эпштейна–Барр в развитии эпителиальных опухолей молочной железы. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):5–14. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.5-14.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 24.03.2022. Получена после рецензирования 12.04.2022. Принята в печать 25.04.2022.

## Role of HPV and Epstein–Barr virus in the development of epithelial breast tumors

A.V. Lagureva<sup>1,2</sup>, N.G. Plekhova<sup>2</sup>, V.I. Apanasevich<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Primorsky Regional Oncological Center, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup> Pacific State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Vladivostok, Russia

**Abstract.** Breast cancer is the leading cause of oncological morbidity in women worldwide, but its causes are still being investigated. The researchers hypothesized a possible association between breast cancer and viral infection. Some studies support this assumption, while others point out their inconclusiveness. The aim of the review was to study the association of human papillomavirus (HPV) and Epstein–Barr (EBV) infection in breast tumors. We analyzed the results of more than 100 publications demonstrating the relation between HPV and EBV infections and breast tumors of different origin. Data on the presence of viral particles were obtained by various methods: IHC, real-time PCR, and *in situ* hybridization, where formalin-fixed tissues were studied. We detected HPV and EBV DNA and studied the expression of HPV oncoproteins (E6, L1) and EBV latent antigens (*EBNA-1*, *EBNA-2*, *EBNA-3*, *LMP-1*). The analysis of more than 4,000 cases of benign and malignant breast tumors indicates a wide range of HPV and EBV prevalence in breast tissue (up to 86% and 56%, respectively). Despite the revealed relations between the presence of viral particles in tissues and the subsequent tumor development, the etiological role of HPV and EBV in the occurrence and progression of breast tumors remains debatable.

**Keywords:** breast tumor, breast cancer, human papillomavirus (HPV), Epstein–Barr virus (EBV), oncoviruses

**Corresponding author:** Alexandra V. Lagureva. E-mail: sandy767@mail.ru

**For citation:** Lagureva A.V., Plekhova N.G., Apanasevich V.I. Role of human papilloma virus and Epstein–Barr virus in the development of epithelial breast tumors. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):5–14 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.5-14.

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

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

**Received** 23.04.2022. **Received in revised form** 12.04.2022. **Accepted** 25.04.2022.

## Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), рак молочной железы (РМЖ) в 2020 году назван ведущей причиной глобальной онкологической заболеваемости женщин, РМЖ находится на 1-м месте по распространенности в большинстве стран (11,7% – 1 261 419 новых случаев заболевания) и является пятой причиной смертности (6,9% – 684 996 случаев) [1]. Высокий уровень заболеваемости в экономически развитых странах отражает повышенную распространенность репродуктивных и гормональных факторов риска, к которым относятся ранний возраст менархе, более поздний возраст менопаузы, поздний возраст первых родов, меньшее число детей, короткий срок грудного вскармливания, менопаузальная гормональная терапия, пероральные контрацептивы, а также факторов риска, связанных с образом жизни (потребление алкоголя, избыточная масса тела, отсутствие физической активности) [2]. По данным 2019 года, в России РМЖ также занимает 1-е место в структуре заболеваемости и смертности среди женского населения (21,2% – 73 918 новых случаев заболевания и 15,9% – 21 720 летальных исходов) [3]. Наследственные и генетические факторы риска развития этого заболевания, в том числе личный или семейный анамнез и наследственные мутации (гены *BRCA1*, *BRCA2* и другие), составляют от 5 до 10% случаев [4, 5]. Исходя из таких данных, очевидно, что основными причинами возникновения РМЖ являются ненаследственные факторы, к которым относятся возраст, индекс массы тела, гормональный статус и сниженная физическая активность. В последнее время появились данные, демонстрирующие индуцирующую роль в процессе малигнизации клеток эпителия протоков молочной железы вирусов семейства *Papillomaviridae* и *Herpesviridae*: вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска и вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) [6]. Кроме того, ведутся исследования по изучению онкогенного потенциала вируса опухоли молочной железы мышей (MMTV) и вируса лейкемии крупного рогатого скота (BLV) [7, 8]. Для каждого из этих вирусов подтвержден онкогенный потенциал в развитии опухолей различной локализации. Для ВПЧ доказана этиологическая роль в возникновении рака шейки матки, вульвы, полового члена, анального канала, мочевого пузыря, ободочной кишки и плоскоклеточного рака пищевода. ВЭБ, называемый официально вирусом герпеса человека 4 (HHV-4), связан с инфекционным мононуклеозом,

который является его наиболее частым клиническим проявлением. Кроме того, ВЭБ-позитивный рак желудка выделяют в особый подтип опухолей данной локализации. С ВЭБ ассоциированы и другие варианты карцином: назофарингеальная карцинома, лимфоэпителиоподобные карциномы пищевода, миндалин, слюнных желез, тимуса и легких. Несмотря на сложность патогенеза, вирусассоциированные опухоли не являются редкостью, в совокупности на их долю приходится не менее 10% от общей годовой заболеваемости раком в мире [9]. При этом вопрос об инфицированности указанными вирусами и связи между их присутствием и наличием злокачественного процесса в молочной железе до настоящего времени остается открытым. Тем не менее, являясь одной из предполагаемых этиологических причин эпителиальных опухолей различных локализаций, вирусы оправданно могут рассматриваться как этиологический фактор развития РМЖ.

## Вирусы папилломы человека

Вирусы папилломы эпителиотропные, гетерогенные, относятся к семейству *Papillomaviridae*. Таксономически вирусы папилломы подразделяют на роды, обозначаемые греческими буквами ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и так далее) и на типы (6, 11, 16, 18 и так далее). Идентифицировано более 200 типов вирусов папилломы, из них 120 относятся к вирусам папилломы человека (ВПЧ, human papillomaviruses, HPV) [10]. ВПЧ, относящиеся к  $\beta$ -роду и  $\gamma$ -роду, поражают кожный покров, вирусы  $\alpha$ -рода инфицируют слизистые оболочки половых органов, аногенитальной области и ротоглотки. Некоторые типы  $\alpha$ , такие как ВПЧ-6 и ВПЧ-11, вызывают образование доброкачественных кондилом. По степени риска развития онкологических заболеваний ВПЧ делят на две основные группы – высокого (high-risk human papillomaviruses, HR-HPV) и низкого (low-risk human papillomaviruses, LR-HPV) канцерогенного риска. Наибольшее клиническое значение имеют генотипы ВПЧ высокого канцерогенного риска: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, которые обнаруживают у пациенток со злокачественными эпителиальными опухолями шейки матки. ВПЧ высокого риска ассоциированы с 99,7% случаев рака шейки матки, а также рака влагалища и вульвы, полового члена и анальной области [11]. К группе низкого риска относят 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81 типы ВПЧ. Остальные типы относят к категории неустановленного риска [11, 12].

Исследования этиологической роли ВПЧ в развитии злокачественных опухолей молочной железы показывают противоречивые результаты. Впервые предположение о роли ВПЧ в канцерогенезе РМЖ высказал А. DiLorenzo в 1992 году, обнаружив наличие ДНК ВПЧ-16 в 29,4% биопсий [13]. По данным сервера PubMed, в период с 1990 по 2022 год отмечено 69 публикаций, представляющих результаты исследования связи между присутствием ВПЧ и наличием опухолей в молочной железе различного генеза. На предмет наличия ДНК и вирусных белков ВПЧ изучались ткани доброкачественных и злокачественных опухолей молочных желез (фиброаденомы, внутрипротоковые папилломы, филоидные, фиброзно-кистозные опухоли). Показана высокая распространенность ДНК ВПЧ в опухолевой ткани при раке в сравнении с доброкачественными опухолями и нормальными тканями. Так, в исследовании распространенности ДНК ВПЧ у мексиканок из 51 случая РМЖ обнаружено 15 положительных образцов вирусной ДНК (29,4%) и 36 (70,5%) отрицательных, а из 43 доброкачественных новообразований (филоидные опухоли, фиброаденомы и фиброзно-кистозные заболевания) не выявлено ни одного положительного образца [14]. Преимущественно были отмечены ВПЧ-16 (66,6%) и ВПЧ-18 (20%), а также их совместное присутствие в 13,3% случаев. Ряд похожих исследований провели иранские ученые в период 2014–2018 годов, в которых изучили суммарно 302 образца РМЖ и 270 образцов тканей доброкачественных опухолей молочных желез, приготовленных из парафиновых блоков [15–18]. В группе РМЖ в среднем 13,7% образцов (от 2,6 до 25,9%) было положительными на ВПЧ, выявленный методом ПЦР в режиме реального времени. Типирование показало, что наиболее распространенными (40%) были ВПЧ-1 и ВПЧ-18. Другими встречающимися типами ВПЧ были 6, 11, 31, 43, 124. При этом в группе доброкачественных опухолей два исследования показали наличие ВПЧ-положительных образцов – ВПЧ-31 и ВПЧ-43, еще в двух исследованиях не было выявлено ни одного положительного результата.

В систематическом обзоре по эпидемиологии инфекции, вызванной ВПЧ (1990–2011 годы, 29 исследований, включающие суммарно 2211 образцов), выявлено, что 26% биопсий было позитивными в отношении ДНК ВПЧ. Для Европы этот показатель составил 13,4%, для Северной Америки и Австралии – 42,9% [19]. Примерно такие же данные (42%) были получены у женщин в Великобритании [20], а среди иранок распространенность ВПЧ в опухолевых тканях молочной железы составила 23,6% [21]. Распространенность ВПЧ у женщин с наличием доброкачественных опухолей молочных желез составила в среднем 12,9%.

Приведенные исследования демонстрируют, что демографические особенности или этнические факторы могут оказывать влияние на распространенность ВПЧ-инфекции при РМЖ. Данный вывод подтверж-

дают исследования в Китае, где вирусная ДНК выявлена в 17,3% биопсий (14 случаев карциномы молочной железы из 81). Из 14 положительных случаев в 12 диагностирована инвазивная карцинома, а в двух образцах – карцинома *in situ* [22]. Необходимо отметить, что все перечисленные исследования по выявлению вирусной ДНК были проведены на фиксированных формалином тканях методом ПЦР в режиме реального времени. Более совершенная технология двойной гибридной ловушки использована в работе W. Liang et al. для поиска ДНК в нефиксированном и незамороженном материале [23]. Исследованы 224 образца биопсий РМЖ и 37 фиброаденом, где ВПЧ был выявлен в 21,4 и 16,2% образцах, соответственно.

Особый интерес представляют одномоментные исследования с применением генетических методов для определения уровня экспрессии ДНК вируса и маркеров пролиферации клеток. В 2014 году группа исследователей из Китая изучила уровень экспрессии ДНК ВПЧ типа 16/18 и белка p53 у пациенток с инвазивными карциномами молочной железы и фиброаденомами. В группе контроля использовали образцы ткани молочной железы здоровых женщин. Показано, что уровень экспрессии в образцах с инвазивной протоковой карциномой молочной железы у китайских женщин составил 51,1% для ДНК ВПЧ типа 16/18 и 46,7% для p53, с фиброаденомой – 15,0 и 10,0%, а в нормальных тканях эти показатели были 5,0 и 0%, соответственно. Подобное отличие в данных может указывать на участие ВПЧ в преобразовании белка p53 в мутантный при прогрессировании доброкачественной опухоли в РМЖ, что позволило авторам рекомендовать эти молекулярные маркеры для диагностики и контроля лечения заболевания [24].

Вирусные белки E6 и E7 ВПЧ обладают онкогенным потенциалом, который при их совместной экспрессии существенно возрастает. Так, австралийские ученые С.Т. Ngan и J.S. Lawson оценили экспрессию белка E7 ВПЧ в 32 наборах образцов биопсий доброкачественных опухолей молочных желез, полученных в течение 1–11 лет до развившегося впоследствии рака молочной железы у одних и тех же пациенток [25]. Онкобелок E7 ВПЧ четко экспрессировался в ядрах 23 из 32 доброкачественных новообразований (72%) и в 20 из 32 развившегося впоследствии рака молочной железы (62,5%). Это исследование показывает, что онкогенные влияния онкобелков E7 ВПЧ происходят на ранних этапах постепенного онкогенного прогрессирования РМЖ. Известно, что гены ВПЧ интегрируются в хромосому опухолевых клеток, где иницируют преимущественно синтез ранних вирусных белков, тогда как другие гены, в том числе ген капсульного белка L1, не экспрессируются [26], поэтому в исследованиях, где идентификация ВПЧ основана на обнаружении гена L1, существует вероятность получения ложноотрицательных результатов. Механизмы трансформации клеток под влиянием ВПЧ при РМЖ, вероятно, отличаются от

таковых при раке шейки матки, где онкобелки E6 и E7 ВПЧ функционально кооперируют, ингибируя апоптоз и стимулируя развитие клеточного цикла путем связывания и ингибирования генов-супрессоров опухолей *p53* и *p110RB* клеток-мишеней [27]. В большинстве случаев для цервикального онкогенеза необходимо наличие стойкой инфекции и постоянного присутствия ВПЧ, тогда как в отношении РМЖ вывод о том, что ВПЧ действует только на ранней стадии онкогенеза, отвечает на вопрос, почему не наблюдается увеличения распространенности ВПЧ-ассоциированного рака молочной железы у пациенток с ослабленным иммунитетом [28].

Представляет интерес исследование связи между ВПЧ-ассоциированной неоплазией шейки матки и возможностью последующего развития ВПЧ-положительного РМЖ. На примере 28 австралийских пациенток, у которых была обнаружена ВПЧ-инфекция шейки матки или цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) разной степени тяжести за 1–11 лет до развития РМЖ, показано, что такая инфекция является наиболее вероятным источником более поздней ВПЧ-положительной карциномы молочной железы [29]. Были исследованы биопсийные образцы ткани шейки матки и образцы РМЖ у одних и тех же пациенток. В группе сравнения изучали 18 образцов тканей молочной железы от пациенток с косметической операцией. Идентификация ДНК ВПЧ в тканях осуществлялась методом стандартной и ПЦР в режиме реального времени, оценку степени экспрессии генов проводили иммуногистохимическим методом выявления онкобелка E7 ВПЧ и обнаружением койлоцитов, связанных с ВПЧ-инфекцией. В результате одни и те же типы ВПЧ высокого риска были выявлены в образцах шейки матки и молочной железы у 13 из 28 пациенток (46%). Обнаружены онкогенные типы ВПЧ высокого риска 16, 18, 33 и 58, причем наиболее часто обнаруживался тип 18 (62%). Как было показано ранее G. Clifford и S. Franceschi, ВПЧ типа 18 тропен к железистым эпителиальным клеткам шейки матки [30], и высокая доля ВПЧ типа 18, идентифицированная количественной ПЦР в режиме реального времени в образцах рака шейки матки и последующего рака молочной железы у этих же пациенток [29], очень похожа на долю ВПЧ типа 18 (37,9%), выявляемую при аденокарциноме шейки матки. Вирусный белок E7 отмечался в 64% биопсий РМЖ и в 22% образцах нормальной ткани молочной железы контрольной группы, причем мог отсутствовать в образцах, позитивных на наличие ДНК ВПЧ. Структурно измененные при воздействии вирусной инфекции клетки эпителия, морфологически сходные с койлоцитами, идентифицированы в плоском эпителии всех образцов (100%) ткани шейки матки и в железистом эпителии девяти из 28 образцов биопсий РМЖ (32%), которые позже развились у тех же пациенток. Койлоциты свидетельствуют о наличии ВПЧ-инфекции, так как появляются вследствие деятельности белков E5 и E6,

поэтому их обнаружение в биопсиях РМЖ может быть индикатором вирусной предраковой биологической активности. Однако гистологический диагноз «койлоцитоз» субъективен, поскольку эти клетки трудно отличить от апоптозных эпителиальных, а значит, для диагностики наличия ВПЧ в тканях РМЖ необходимы дополнительные методы [31].

Возникает логичный вопрос: присутствуют ли биологически активные онкогенные ВПЧ в тканях молочной железы в норме и при доброкачественных заболеваниях до развития РМЖ? С этих позиций интересно ретроспективное исследование 2015 года, основанное на идентификации ВПЧ в фиксированных формальном образцах 41 австралийки с доброкачественными новообразованиями молочной железы, у которых через 1–11 лет развился РМЖ [32]. В группу контроля вошла 21 пациентка, перенесшая косметическую операцию на молочной железе, и у которой впоследствии не развился рак. Биологическую и онкогенную активность ВПЧ оценивали генетическим методом определения экспрессии мРНК и иммуногистохимическим с выявлением белков p16, p53 и ER, а также вирусного E7. Один и тот же тип ВПЧ был выявлен как при доброкачественных опухолях, так и при последующем РМЖ у 15 пациенток (65%). Это свидетельствует о том, что одна и та же инфекция ВПЧ присутствовала в обоих образцах тканей молочной железы от одних и тех же женщин. Наиболее распространенным определен тип 18 (55% из 40 образцов РМЖ), менее распространенным – тип 16 (13%). ВПЧ не был идентифицирован в семи образцах (17,5%). В большинстве случаев выявлены чрезвычайно низкие уровни вирусной мРНК (фрагменты от 50 до 100 нуклеотидов), и только в четырех образцах обнаружены более длинные непрерывные последовательности (от 300 и более) нуклеотидов. Белки E7 ВПЧ были идентифицированы в 72% доброкачественных опухолей и 59% РМЖ. Не обнаружена корреляция между высокой экспрессией белков p16, p53, ER в тканях доброкачественных новообразований и последующим ВПЧ-положительным РМЖ. Авторы работы также провели исследование ВПЧ методом секвенирования следующего поколения NGS (Next Generation Sequencing). Данные массивного параллельного секвенирования биопсий РМЖ были проанализированы с помощью программ для сравнения полного генома образцов с контрольными последовательностями всех известных типов ВПЧ из базы данных PaVE (<http://pave.niaid.nih.gov/>). В 855 биопсийных образцах РМЖ обнаружена ДНК, соответствующая последовательностям из атласа генома рака TCGA (The Cancer Genome Atlas) низкого LR-ВПЧ (3,5%) и высокого онкогенного HR-ВПЧ (2,3%) типа. Идентифицированы следующие типы онкогенных HR-ВПЧ: 18 (50%), 113 (20%), 16 (10%) и 52 (10%). Представляет значительный интерес тот факт, что ВПЧ типа 18 сегодня является наиболее распространенным, идентифицированным NGS в раке молочной железы TCGA, поскольку

ку, как сказано выше, ВПЧ типа 18 тропен железистому эпителию [30]. Таким образом, авторы исследования демонстрируют, что ВПЧ высокого канцерогенного риска присутствуют примерно в 2% образцов РМЖ и при очень низкой вирусной нагрузке. Трудно согласовать данные, полученные NGS секвенированием и количественным методом ПЦР в режиме реального времени и *in situ* гибридизации. В первом случае указывается на 2% распространенность ВПЧ-позитивного РМЖ, тогда как применение второго метода демонстрирует 70%. Вероятная причина расхождения приведенных данных – использование праймеров, большинство из которых разработано для ВПЧ слизистой оболочки [33]. Другим вероятным объяснением является применение различающихся по точности методов идентификации вирусов, поскольку NGS секвенирование – относительно новая технология, где выявление ВПЧ зависит от рекомбинации фрагментированных последовательностей генов. Это может объяснить различие результатов NGS и ПЦР, однако ясно, что вирусная нагрузка ВПЧ при РМЖ чрезвычайно низка по сравнению с таковой при раке шейки матки.

Таким образом, в исследованиях, проведенных в 17 странах и на четырех континентах, показано большое количество ВПЧ-ассоциированных доброкачественных и злокачественных опухолей молочной железы. Данные были получены с применением различных методов, в том числе ПЦР в режиме реального времени и *in situ* гибридизации, где в качестве объектов использовали фиксированные формалином ткани. Наиболее распространены типы ВПЧ 16 и 18, указано, что вирусная инфекция может быть важным фактором, способствующим мутации белка p53, причем экспрессия вирусных белков E6 и E7 является показателем биологической активности и онкогенного влияния ВПЧ на патогенез опухолей, и приведены доказательства, что их деятельность может сопровождать все этапы патогенеза РМЖ. Интересны результаты, демонстрирующие отрицательную экспрессию вирусных частиц в биопсиях, а также отсутствие связи между наличием белков E6, E7 в опухоли и ее морфологическим и молекулярным подтипом, гормональным статусом или стадией заболевания [34–38]. Также продемонстрировано, что ВПЧ-инфекция при цервикальной неоплазии сопровождается развитием ассоциированного с этим вирусом РМЖ.

Несмотря на установленные перечисленные выше данные, этиологическая роль ВПЧ в патогенезе РМЖ остается спорной. В разных исследованиях представлен широкий диапазон – от 0 до 86% показателей распространенности ВПЧ при РМЖ [33]. Возможно, такое различие в распространенности ВПЧ связано с неоднородностью методов определения. Применение ПЦР в реальном времени для обнаружения ДНК ВПЧ в сравнении с другими технологиями позволяет получить данные, показывающие более высокую распространенность ВПЧ, но при этом результаты разных

исследователей существенно различаются. Кроме того, на выявление вирусной ДНК влияет способ подготовки образцов, показано, что в необработанных или замороженных образцах получен более высокий уровень выявления ВПЧ по сравнению с образцами, фиксированными формалином. Метаанализ показывает, что заражение ВПЧ высокого онкогенного риска ассоциировано с повышенным риском заболевания РМЖ с общим отношением шансов 5,43 (95% доверительный интервал, от 3,24 до 9,12), однако распространенность типов ВПЧ и связанный с ними риск развития РМЖ различаются между странами и регионами внутри стран [39]. Сложность решаемой задачи также состоит в определении ключевой роли в патогенезе РМЖ вирусной инфекции, вызванной ВПЧ [31]. Для лучшего понимания его роли в развитии опухолей необходимы дальнейшие исследования с применением стандартизированных методов определения наличия ВПЧ, его процесса интеграции и персистенции в канцерогенезе РМЖ.

### Вирус Эпштейна–Барр

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ, EBV) является одним из восьми известных вирусов герпеса человека и относится к семейству *Herpesviridae*, группе  $\gamma$ -герпесвирусов, 4-му типу (HHV-4). Вирионы ВЭБ имеют двухцепочечный линейный ДНК-геном размером от 120 000 до 180 000 пар нуклеотидов, который кодирует ядерные антигены EBNA (EBNA-1, -2, -3A, -3B, -3C) и латентные мембранные белки LMP (LMP-1, -2A, -2B). В оболочке ВЭБ имеется четыре значимых гликопротеина, один из них известен как gp350, который взаимодействует с рецептором CD21 В-лимфоцитов, а остальные гликопротеины необходимы для процесса его проникновения в клетки [40]. Первичное инфицирование ВЭБ происходит в активной литической (репликативной) форме с образованием новых вирионов, после чего он находится под контролем иммунных реакций. Латентная форма инфекции сохраняется в субпопуляции В-лимфоцитов всю жизнь. Определено, что здоровые люди несут до 50 геномов ВЭБ на 1 000 000 В-лимфоцитов и периодическая литическая инфекция слизистой оболочки полости рта приводит к выделению вирионов в слюне [41]. Показано, что ВЭБ способен инфицировать эпителиальные и кроветворные клетки (Т-лимфоциты, гранулоциты и естественные киллеры) [42]. Эпителиальные клетки молочной железы, экспрессирующие рецептор CD21, также являются клетками-мишенями для ВЭБ.

Канцерогенность ВЭБ доказана при изучении «эндемической» лимфомы Беркитта, болезни Ходжкина, Т- и В-клеточной лимфом [43–45]. На данный момент ВЭБ рассматривается в качестве причины возникновения рака желудка [46], саркомы Капоши, лейомиосаркомы [47], рака носоглотки [48] и, возможно, колоректального рака [49]. Глобальная смертность при злокачественных новообразованиях, связанных с ВЭБ, в 2010 году составила 1,8% всех смертей от рака, и эта

цифра ежегодно растет, увеличиваясь примерно на 2% в год. Этиология этих злокачественных новообразований сложна, включает множество факторов, таких как расовые, экологические, генетические и диетические [50]. К общему фактору риска индуцированного ВЭБ злокачественного новообразования относится снижение иммунного контроля над инфекцией, причем такой рак чаще встречается у мужчин [51]. Одни виды ВЭБ-ассоциированного рака имеют семейный анамнез, что указывает на генетическую предрасположенность, другие связаны с полиморфизмом антигенного комплекса лейкоцитов человека, ассоциированной иммуносупрессией сопутствующими инфекциями (ВИЧ, малярия, вызванная *Plasmodium falciparum*) или хронической антигенной стимуляцией. Например, при раке желудка *Helicobacter pylori*-ассоциированный гастрит считается одним из главных факторов риска. Эпидемиологические исследования предполагают, что ВЭБ действует как канцероген или стимулирует пролиферацию клеток, предрасполагая к генетическим дефектам, но в любом случае работает в сочетании с генетическими и экологическими кофакторами [40].

Латентные антигены ВЭБ (EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3 и LMP-1) важны для малигнизации ВЭБ-инфицированных клеток. 1-й ядерный антиген (EBNA-1) экспрессируется как при латентной, так и при литической инфекции и принимает участие в репликации и митотической сегрегации вирусного генома. Этот белок необходим для персистенции вирусного генома, его деятельность затрагивает регуляцию экспрессии вирусных и клеточных генов и может способствовать ангиогенезу и метастазированию опухоли [52]. 2-й ядерный антиген вируса (EBNA-2) – один из исходных латентных вирусных генов, экспрессируемых во время инфицирования ВЭБ. EBNA-2 инициирует транскрипцию каскада первичных и вторичных генов-мишеней посредством активации нескольких вирусных и клеточных генов. 3-й ядерный антиген вируса (EBNA-3) представлен семейством трех латентноассоциированных белков, которое включает EBNA-3A, EBNA-3B и EBNA-3C и, по-видимому, имеет решающее значение для В-клеточного лимфоцитогенеза при персистенции ВЭБ. Структура латентного мембранного белка 1 (LMP-1) имитирует CD40, его сверхэкспрессия способствует клеточной пролиферации. Этот белок активирует Bcl-2 с блокировкой апоптоза и участвует в клеточном цикле, фосфорилируя Rb/cyclinD/CDK2, что ингибирует синтез p16 и p27 [53].

Обнаружена экспрессия ДНК ВЭБ в карциномах при РМЖ и предстательной железы, но причинно-следственная связь пока не установлена. Также в разных исследованиях сообщается от 0 до 50% ВЭБ-ассоциированного РМЖ [54]. Причиной такого разброса данных указывается различие в методологиях или методах, используемых для обнаружения ВЭБ в биопсиях молочной железы, определяемое чувствительностью и стандартами. Наиболее часто для выявления ВЭБ

используются ПЦР, ИГХ и *in situ* гибридизация (ISH). Кроме того, на результаты обнаружения ВЭБ в тканях молочной железы оказывают влияние этническая принадлежность пациенток и морфологический тип опухоли. Так, в метаанализе, включившем 1535 случаев РМЖ в 24 исследования в период 1990–2010 годов, приводятся данные выявления ДНК ВЭБ методом ПЦР для Европы (55,7%) и Америки (20,33%) [54]. В среднем распространенность ВЭБ в биопсиях пациенток с диагнозом «рак молочной железы» составила 29,32%, в фиксированных образцах – 19,51%, а в нефиксированных или замороженных – 34,46%. У пациенток с дольковой карциномой молочной железы выявлена более высокая распространенность ВЭБ (34,78%), чем у пациенток с протоковой (28,62%) и другими типами карцином (17,33%). Иранские ученые провели ряд работ по изучению распространенности ВЭБ в тканях РМЖ. Исследование 2019 года включало 59 образцов РМЖ и 11 контрольных неопухолевых образцов [55]. Методом ПЦР определяли наличие гена *EBNA-1* в образцах. В четырех случаях из 59 (6,7%) выявлен ВЭБ, тогда как в контрольных образцах положительные результаты не зафиксированы. Ген *EBNA-3C* определялся в 27,02% протоковых карцином молочной железы. Исследование 2021 года показало, что ген малых РНК вируса *EBER* присутствовал в 11,2% образцов РМЖ (девять из 80) и ни в одном из 80 доброкачественных новообразований молочной железы [56]. Китайские исследователи изучили 671 образец РМЖ и 859 контрольных образцов на наличие ДНК ВЭБ с помощью ПЦР [57]. Оказалось, что среди них 164 РМЖ (24,4%) и 206 контрольных образцов (24,0%) были ВЭБ-положительными, и статистически значимая корреляция между наличием ДНК ВЭБ и РМЖ не выявлена. По данным другого метаанализа (44 исследования), распространенность ВЭБ в среднем составила 26,37%, связь между наличием ВЭБ и риском развития РМЖ определили как значимую, и отношение шансов составило 4,74 [58]. Касательно механизма действия указывалось, что при инфицировании ВЭБ эпителиальные клетки молочной железы подвергаются злокачественной трансформации посредством активации сигнальных каскадов с участием рецепторов к HER2/HER3, которые, как известно, являются двумя клеточными онкогенами, участвующими в развитии рака молочной железы у человека, и связаны с относительно плохим прогнозом [39]. Таким образом, несмотря на выявленную статистическую корреляцию между наличием ДНК ВЭБ в биопсиях и повышенным риском развития РМЖ, значение этого вируса в возникновении и прогрессировании заболевания остается дискуссионным.

### Коинфекция вирусов

Учитывая многофакторность этиологии и возможность коинфицирования различными классами вирусов тканей молочной железы, актуально одновременное обследование пациенток на наличие нескольких вирусов

в опухоли. ВПЧ и ВЭБ воздействуют на эпителиальные клетки сходным образом, трансформируя нормальные клетки в злокачественные. Показано, что ВПЧ высокого канцерогенного риска может взаимодействовать с вирусом Эпштейна–Барр, способствуя возникновению и/или прогрессированию разных видов рака, включая рак шейки матки, головы и шеи, а также молочной железы. Например, в исследовании 74 образцов тканей РМЖ у катарских женщин обнаружено, что HR-ВПЧ и ВЭБ присутствуют в 48 (65%) и 36 (49%) образцах, соответственно [59]. Выявляли онкогенные HR-ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 и 58 типов для области E6/E7 и для генов ВЭБ (*EBNA1* и *LMP1*). Показано наличие ВПЧ преимущественно при тройном негативном РМЖ, а выявление ВЭБ не коррелирует с каким-либо морфологическим типом РМЖ. Одновременное инфицирование ВПЧ высокого риска и ВЭБ определено в 35 биопсиях РМЖ (47%), которое коррелировало со степенью и стадией опухоли.

J.S. Lawson и W.K. Glenn показали высокую распространенность наличия ВПЧ и ВЭБ при РМЖ в группе австралийских пациенток [60]. В исследование вошла 41 женщина, у которой имелись первоначальные (архивные) образцы доброкачественной опухоли молочной железы и более поздние образцы РМЖ, развившегося у них через 1–11 лет. HR-ВПЧ были выявлены в 13 из 17 образцов доброкачественной ткани молочной железы (72%) и в 13 из 17 последующих случаев РМЖ у тех же пациенток (76%). ВЭБ был идентифицирован в трех из 12 образцов РМЖ (25%), но не обнаружен ни в одном доброкачественном новообразовании тех же пациенток. Совместное присутствие ВЭБ и ВПЧ высокого канцерогенного риска зарегистрировано методом ПЦР в одних и тех же образцах РМЖ. Помимо ВПЧ и ВЭБ в образцах тканей молочной железы были обнаружены онкогенные вирусы MMTV и BLV как в тканях РМЖ, так и в доброкачественных тканях тех же пациенток.

Подобные исследования были проведены для ливанских женщин. Исследовали 102 образца РМЖ и 14 образцов нормальных тканей молочной железы, фиксированных формалином и залитых в парафин [61]. В этом исследовании использовались методы ПЦР и иммуногистохимии для обнаружения онкобелков E6 ВПЧ и LMP-1 ВЭБ. Присутствие ВПЧ отмечено в 66 образцах (65%), в то время как ВЭБ в 41 (40%). Наиболее часто отмечены типы 52, 35, 58, 45, 16 и 51 HR-ВПЧ. Одновременное присутствие HR-ВПЧ и ВЭБ обнаружено в 30 образцах (29%) и связано со стадией опухоли. Тем не менее авторы считают, что необходимы дополнительные исследования для подтверждения совместного присутствия ВПЧ и ВЭБ, а также их связи с фенотипом РМЖ.

### Заключение

Таким образом, установлена значимая корреляция между наличием вируса папилломы человека и вируса Эпштейна–Барр в тканях молочной железы и по-

вышенным риском развития рака молочной железы, но их значение в возникновении и прогрессировании опухоли остается дискуссионным. На данный момент отсутствуют прямые доказательства причинно-следственной связи между вирусами и процессом малигнизации клеток молочной железы. До конца не определен молекулярный механизм действия указанных вирусов на патогенез опухолей, для чего необходимы дальнейшие исследования с применением стандартизированных методов определения вирусных частиц с учетом объема и типа материала. Также интерес представляет изучение клеточных и молекулярных механизмов возникновения и прогрессирования рака молочной железы при двойном вирусном инфицировании.

### Литература/References

1. *Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–49. DOI: 10.3322/caac.21660.
2. *Brinton LA, Gaudet MM, Gierach GL.* Breast cancer. In: M Thun, MS Linet, JR Cerhan, CA Haiman, D Schottenfeld (eds.). *Cancer epidemiology and prevention.* 4th ed. Oxford University Press, 2017. P. 861–88. DOI: 10.1093/oso/9780190238667.003.0045.
3. 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.).
4. *Любченко Л.Н., Батенева Е.И., Воронников И.К., Портной С.М., Крохина О.В., Соболевский В.А. и др.* Наследственный рак молочной железы: генетическая и клиническая гетерогенность, молекулярная диагностика, хирургическая профилактика в группах риска. *Успехи молекулярной онкологии.* 2014;1(2):16–25. DOI: 10.17650/2313-805X.2014.1.2.16-25.  
*Lyubchenko LN, Bateneva YI, Voronnikov IK, Portnoy SM, Krokhina OV, Sobolevskiy VA et al.* Hereditary breast cancer: genetic and clinical heterogeneity, genetic testing, prophylactic surgery. *Advances in Molecular Oncology.* 2014;1(2):16–25 (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X.2014.1.2.16-25.
5. *Гулян И.С., Чернышева Н.Ю., Стенкова А.М., Невозжай В.И., Исаева М.П.* Рак молочной железы: риск-ассоциированные мутации гена BRCA 1 для скрининга жителей Приморья. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2018;1(71):44–47. DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.1.44-47.  
*Gulyan IS, Chernysheva NYu, Stenkova AM, Nevozhay VI, Isaeva MP.* Breast cancer: risk-associated mutations of the BRCA 1 gene for screening Primorye residents. *Pacific Medical*

- Journal. 2018;1(71):44–47 (In Russ.). DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.1.44-47.
6. *Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Тарабановская Н.А., Таширева Л.А., Дерюшева И.В., Перельмутер В.М. и др.* Клиническое наблюдение ВПЧ-позитивной опухоли молочной железы. Бюллетень сибирской медицины. 2018;17(1):232–238. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-232-238.  
*Ibragimova MK, Tsyganov MM, Tarabanovskaya NA, Tashireva LA, Deryusheva IV, Perelmuter VM et al.* The clinical observation of human papillomavirus positive breast tumor. Bulletin of Siberian Medicine. 2018;17(1):232–238 (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-232-238.
  7. *Lehrer S, Rheinstejn PH.* The virology of breast cancer: Viruses as the potential causative agents of breast tumorigenesis. Discov Med. 2019;27(148):163–6. PMID: 31095925.
  8. *Durkin K, Rosewick N, Artesi M, Hahaut V, Griebel P, Arsic N et al.* Characterization of novel Bovine Leukemia Virus (BLV) antisense transcripts by deep sequencing reveals constitutive expression in tumors and transcriptional interaction with viral microRNAs. Retrovirology. 2016;13(1):33. DOI: 10.1186/s12977-016-0267-8.
  9. *Shannon-Lowe C, Rickinson A.* The global landscape of EBV-associated tumors. Front Oncol. 2019;9:713. DOI: 10.3389/fonc.2019.00713.
  10. *Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J.* Human papillomaviruses; Epithelial tropisms, and the development of neoplasia. Viruses. 2015;7(7):3863–90. DOI: 10.3390/v7072802.
  11. *Нарвская О.В.* Вирус папилломы человека. Эпидемиология, лабораторная диагностика и профилактика папилломавирусной инфекции. Инфекция и иммунитет. 2011;1(1):15–22. DOI: 10.15789/2220-7619-2011-1-15-22.  
*Narvskaya OV.* Virus of human papilloma. Epidemiology, laboratory diagnostics and prevention of papilloma viral infection. Russian Journal of Infection and Immunity. 2011;1(1):15–22 (In Russ.). DOI: 10.15789/2220-7619-2011-1-15-22.
  12. *Schiffman M, Saraiya M.* Control of HPV-associated cancers with HPV vaccination. Lancet Infect Dis. 2017;17(1):6–8. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30146-3.
  13. *Di Lonardo A, Venuti A, Marcante ML.* Human papillomavirus in breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 1992;21(2):95–100. DOI: 10.1007/BF01836955.
  14. *de León DC, Montiel DP, Nencova J, Mykyskova I, Turcios E, Villavicencio V et al.* Human papillomavirus (HPV) in breast tumors: Prevalence in a group of Mexican patients. BMC Cancer. 2009;9:26. DOI: 10.1186/1471-2407-9-26.
  15. *Malekpour Afshar R, Balar N, Mollaei HR, Arabzadeh SA, Iranpour M.* Low prevalence of human papilloma virus in patients with breast cancer, Kerman; Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2018;19(11):3039–44. DOI: 10.31557/APJCP.2018.19.11.3039.
  16. *Karimi M, Khodabandehloo M, Nikkhoo B, Ghaderi E.* No Significant association between human papillomavirus and breast cancer, Sanandaj, Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(10):4741–5. DOI: 10.22034/apjcp.2016.17.10.4741.
  17. *Manzouri L, Salehi R, Shariatpanahi S, Rezaie P.* Prevalence of human papilloma virus among women with breast cancer since 2005–2009 in Isfahan. Adv Biomed Res. 2014;3:75. DOI: 10.4103/2277-9175.125873.
  18. *Sigaroodi A, Nadji SA, Naghshvar F, Nategh R, Emami H, Velayati AA.* Human papillomavirus is associated with breast cancer in the north part of Iran. ScientificWorldJournal. 2012;2012:837191. DOI: 10.1100/2012/837191.
  19. *Simões PW, Medeiros LR, Simões Pires PD, Edelweiss MI, Rosa DD, Silva FR et al.* Prevalence of human papillomavirus in breast cancer: A systematic review. Int J Gynecol Cancer. 2012;22(3):343–7. DOI: 10.1097/IGC.0b013e31823c712e.
  20. *Salman NA, Davies G, Majidy F, Shakir F, Akinrinade H, Perumal D et al.* Association of high risk human papillomavirus and breast cancer: A UK based study. Sci Rep. 2017;7:43591. DOI: 10.1038/srep43591.
  21. *Haghshenas MR, Mousavi T, Moosazadeh M, Afshari M.* Human papillomavirus and breast cancer in Iran: A meta-analysis. Iranian J Basic Med Sci. 2016;19(3):231–7. PMID: 27114791.
  22. *Wang YW, Zhang K, Zhao S, Lv Y, Zhu J, Liu H et al.* HPV status and its correlation with BCL2, p21, p53, Rb, and survivin expression in breast cancer in a Chinese population. Biomed Res Int. 2017;2017:6315392. DOI: 10.1155/2017/6315392.
  23. *Liang W, Wang J, Wang C, Lv Y, Gao H, Zhang K et al.* Detection of high-risk human papillomaviruses in fresh breast cancer samples using the hybrid capture 2 assay. J Med Virol. 2013;85(12):2087–92. DOI: 10.1002/jmv.23703.
  24. *Hong L, Tang S.* Does HPV 16/18 infection affect p53 expression in invasive ductal carcinoma? An experimental study. Pak J Med Sci. 2014;30(4):789–92. DOI: 10.12669/pjms.304.4534.
  25. *Ngan C, Lawson JS, Clay R, Delprado W, Whitaker NJ, Glenn WK.* Early human papilloma virus (HPV) oncogenic influences in breast cancer. Breast Cancer (Auckl). 2015;9:93–7. DOI: 10.4137/BCBCR.S35692.
  26. *Khodabandehloo N, Mostafaei S, Etemadi A, Ghasemi A, Payandeh M, Hadifar S et al.* Human papilloma virus and breast cancer: The role of inflammation and viral expressed proteins. BMC Cancer. 2019;19(1):61. DOI: 10.1186/s12885-019-5286-0.
  27. *Kim G, Taye J, Yu K, Park S, Kim J, Kim S et al.* HPV E6/E7, hTERT, and Ki67 mRNA RT-qPCR assay for detecting high-grade cervical lesion with microscope slides. Anal Cell Pathol (Amst). 2019;2019:9365654. DOI: 10.1155/2019/9365654.
  28. *Grulich AE, Vajdic CM.* The epidemiology of cancers in human immunodeficiency virus infection and after organ transplantation. Semin Oncol. 2015;42(2):247–57. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2014.12.029.
  29. *Lawson JS, Glenn WK, Salyakina D, Clay R, Delprado W, Cheerla B et al.* Human papilloma virus identification in breast cancer patients with previous cervical neoplasia. Front Oncol. 2016;5:298. DOI: 10.3389/fonc.2015.00298.
  30. *Clifford G, Franceschi S.* Members of the human papillomavirus type 18 family (alpha-7 species) share a common association with adeno-carcinoma of the cervix. Int J Cancer. 2008;122(7):1684–5. DOI: 10.1002/ijc.23282.
  31. *Lawson JS, Glenn WK, Heng B, Ye Y, Tran B, Lutze-Mann L et al.* Koilocytes indicate a role for human papilloma virus in breast cancer. Br J Cancer. 2009;101(8):1351–6. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605328.
  32. *Lawson JS, Glenn WK, Salyakina D, Delprado W, Clay R, Antonsson A et al.* Human papilloma viruses and breast cancer. Front Oncol. 2015;5:277. DOI: 10.3389/fonc.2015.00277.

33. Zhou Y, Li J, Ji Y, Ren M, Pang B, Chu M et al. Inconclusive role of human papillomavirus infection in breast cancer. *Infect Agent Cancer*. 2015;10:36. DOI: 10.1186/s13027-015-0029-6.
34. Vernet-Tomas M, Mena M, Alemany L, Bravo I, De Sanjosé S, Nicolau P et al. Human papillomavirus and breast cancer: No evidence of association in a Spanish set of cases. *Anticancer Res*. 2015;35(2):851–6. PMID: 25667466.
35. Chang P, Wang T, Yao Q, Lv Y, Zhang J, Guo W et al. Absence of human papillomavirus in patients with breast cancer in north-west China. *Med Oncol*. 2012;29:521–5. DOI: 10.1007/s12032-011-9945-5.
36. Herrera-Romano L, Fernández-Tamayo N, Gómez-Conde E, Reyes-Cardoso JM, Ortiz-Gutierrez F, Ceballos G et al. Absence of human papillomavirus sequences in epithelial breast cancer in a Mexican female population. *Med Oncol*. 2012;29(3):1515–7. DOI: 10.1007/s12032-011-0059-x.
37. Yavuzer D, Salepci T, Karadayi N, Baloglu H, Kucukodaci Z. Human papillomavirus is not associated with breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;122(3):899–900. DOI: 10.1007/s10549-010-0963-3.
38. Islam MS, Chakraborty B, Panda CK. Human papilloma virus (HPV) profiles in breast cancer: Future management. *Ann Transl Med*. 2020;8(10):650. DOI: 10.21037/atm-19-2756.
39. Lawson JS, Salmons B, Glenn WK. Oncogenic viruses and breast cancer: Mouse mammary tumor virus (MMTV), bovine leukemia virus (BLV), human papilloma virus (HPV), and Epstein–Barr virus (EBV). *Front Oncol*. 2018;8:1. DOI: 10.3389/fonc.2018.00001.
40. Balfour HH Jr, Odumade OA, Schmeling DO, Mullan BD, Ed JA, Knight JA et al. Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein–Barr virus infection in university students. *J Infect Dis*. 2013;207(1):80–8. DOI: 10.1093/infdis/jis646.
41. Glaser SL, Hsu JL, Gully ML. Epstein–Barr virus and breast cancer: State of the evidence for viral carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13(5):688–97. PMID: 15159298.
42. Coleman CB, Lang J, Sweet LA, Smith NA, Freed BM, Pan Z et al. Epstein–Barr virus type 2 infects T Cells and induces B Cell lymphomagenesis in humanized mice. *J Virol*. 2018;92(21):e00813–18. DOI:10.1128/JVI.00813-18.
43. Epstein MA, Henle G, Achong BG, Barr YM. Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *J Exp Med*. 1965;121(5):761–70. DOI: 10.1084/jem.121.5.761.
44. Rostgaard K, Balfour HH Jr, Jarrett R, Erikstrup C, Pedersen O, Ullum H et al. Primary Epstein–Barr virus infection with and without infectious mononucleosis. *PLoS One*. 2019;14(12):e0226436. DOI: 10.1371/journal.pone.0226436.
45. Shannon-Lowe C, Rickinson AB, Bell AI. Epstein–Barr virus-associated lymphomas. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017;372(1732):20160271. DOI: 10.1098/rstb.2016.0271.
46. Naseem M, Barzi A, Brezden-Masley C, Puccini A, Berger MD, Tokunaga R et al. Outlooks on Epstein–Barr virus associated gastric cancer. *Cancer Treat Rev*. 2018;66:15–22. DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.03.006.
47. Shannon-Lowe C, Rickinson A. The Global landscape of EBV-associated tumors. *Front Oncol*. 2019;9:713. DOI: 10.3389/fonc.2019.00713.
48. Tsao SW, Tsang CM, Lo KW. Epstein–Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017;372(1732):20160270. DOI: 10.1098/rstb.2016.0270.
49. Bedri S, Sultan AA, Alkhalaf M, Al Moustafa AE, Vranic S. Epstein–Barr virus (EBV) status in colorectal cancer: A mini review. *Hum Vaccin Immunother*. 2019;15(3):603–10. DOI: 10.1080/21645515.2018.1543525.
50. Khan G, Hashim MJ. Global burden of deaths from Epstein–Barr virus attributable malignancies 1990–2010. *Infect Agent Cancer*. 2014;9(1):38. DOI: 10.1186/1750-9378-9-38.
51. Hsu JL, Glaser SL. Epstein–Barr virus-associated malignancies: Epidemiologic patterns and etiologic implications. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2000;34(1):27–53. DOI: 10.1016/s1040-8428(00)00046-9.
52. Jha HC, Pei Y, Robertson ES. Epstein–Barr virus: Diseases linked to infection and transformation. *Front Microbiol*. 2016;7:1602. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01602.
53. Sharifpour C, Makvandi M, Samarbafzadeh A, Talei-Zadeh A, Ranjbari N, Nisi N et al. Frequency of Epstein–Barr virus DNA in formalin-fixed paraffin-embedded tissue of patients with ductal breast carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019;20(3):687–92. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.3.687.
54. Huo Q, Zhang N, Yang Q. Epstein–Barr virus infection and sporadic breast cancer risk: A meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(2):e31656. DOI: 10.1371/journal.pone.0031656.
55. Golrokh Mofrad M, Kazeminezhad B, Faghiloo E. Prevalence of Epstein–Barr virus (EBV) in Iranian breast carcinoma patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020;21(1):133–7. DOI: 10.31557/APJCP.2020.21.1.133.
56. Alinezhad F, Ahangar Oskouee M, Bannazadeh Baghi H, Tamiri Oskouee S, Esmaeili HA. Evidence of Epstein–Barr virus in female breast cancer. *Iran J Public Health*. 2021;50(2):425–7. DOI: 10.18502/ijph.v50i2.5368.
57. Zhang W, Wang MY, Wei XL, Lin Y, Su FX, Xie XM et al. Associations of Epstein–Barr virus DNA in PBMCs and the subtypes with breast cancer Risk. *J Cancer*. 2017;8(15):2944–9. DOI:10.7150/jca.20330.
58. Farahmand M, Monavari SH, Shoja Z, Ghaffari H, Tavakoli M, Tavakoli A. Epstein–Barr virus and risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Future Oncol*. 2019;15(24):2873–85. DOI: 10.2217/fon-2019-0232.
59. Gupta I, Jabeen A, Al-Sarraf R, Farghaly H, Vranic S, Sultan AA et al. The co-presence of high-risk human papillomaviruses and Epstein–Barr virus is linked with tumor grade and stage in Qatari women with breast cancer. *Hum Vaccin Immunother*. 2021;17(4):982–9. DOI: 10.1080/21645515.2020.1802977.
60. Lawson JS, Glenn WK. Multiple oncogenic viruses are present in human breast tissues before development of virus associated breast cancer. *Infect Agent Cancer*. 2017;12:55. DOI: 10.1186/s13027-017-0165-2.
61. Nagi K, Gupta I, Jurdi N, Jabeen A, Yasmeen A, Batist G et al. High-risk human papillomaviruses and Epstein–Barr virus in breast cancer in Lebanese women and their association with tumor grade: A molecular and tissue microarray study. *Cancer Cell Int*. 2021;21(1):308. DOI: 10.1186/s12935-021-02009-4.

**Информация об авторах**

Александра Викторовна Лагурева – врач клинико-диагностической лаборатории Приморского краевого онкологического диспансера, аспирантка Центральной научно-исследовательской лаборатории Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Наталья Геннадьевна Плехова – доктор биологических наук, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Владимир Иосифович Апанасевич – доктор медицинских наук, профессор института хирургии Тихоокеанского государственного медицинского университета.

**Authors information**

Alexandra V. Lagureva – Clinical Pathologist, Clinical Diagnostic Laboratory, Primorsky Regional Oncological Center; Postgraduate student, Central Scientific Research Laboratory, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-4195-9184>

Natalia G. Plekhova – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Central Scientific Research Laboratory, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-8701-7213>

Vladimir I. Apanasevich – Dr. Sci. (Med.), Professor, Institute of Surgery, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-0808-5283>

## Современные тенденции картирования головного мозга

*А.Е. Прощина, А.С. Харламова, Ю.С. Кривова, С.В. Савельев*

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

**Резюме.** Атласы мозга широко используются для определения относительной локализации, формы и целого ряда других параметров структур мозга. Эти данные необходимы для практической медицины, фундаментальной нейронауки и во время обучения специалистов медико-биологического направления. История развития атласов мозга человека освещена во многих работах, однако в последнее время появилось немало новых атласов, что обусловлено растущей доступностью современных методов визуализации и оцифровки. Цель данного обзора – представить историческую справку и современные тенденции развития атласов головного мозга. Кроме того, в зарубежных обзорах традиционно уделяется мало внимания работам отечественной нейроанатомической школы, поэтому в своем обзоре мы хотим исправить это упущение. Отдельное внимание в обзоре уделено вопросам создания атласов развития мозга человека.

**Ключевые слова:** атлас мозга человека, пренатальное развитие

**Для корреспонденции:** Александра Евгеньевна Прощина. E-mail: proshchina@yandex.ru

**Для цитирования:** Прощина А.Е., Харламова А.С., Кривова Ю.С., Савельев С.В. Современные тенденции картирования головного мозга. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):15–23. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.15-23.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-15-00172.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Статья поступила** 05.09.2022. **Получена после рецензирования** 20.10.2022. **Принята в печать** 12.12.2022.

## Modern trends in brain mapping and atlasing

*A.E. Proshchina, A.S. Kharlamova, Yu.S. Krivova, S.V. Saveliev*

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

**Abstract.** Brain atlases are widely used to determine relative location, form, and a number of other parameters of certain brain structures. Such data are required in medical practice, fundamental neuroscience research, and educating graduate and postgraduate medical students. Many papers observed the development of human brain atlases. However, recently numerous new atlases have been published, both digital and online ones. This tendency was triggered by intensive development and growing accessibility of modern visualization tools and digitizing novel data and existing archives. This study aimed to overview the historical background of and modern tendencies in the brain atlas development for Russian readers. Furthermore, foreign literature does not focus on Russian neurological tradition, so we attempted to cover this issue as well. Particular attention is paid to the atlases of human brain development.

**Keywords:** human brain atlas, human prenatal development

**Corresponding author:** Alexandra E. Proshchina. E-mail: proshchina@yandex.ru

**For citation:** Proshchina A.E., Kharlamova A.S., Krivova Yu.S., Saveliev S.V. Modern trends in brain mapping and atlasing. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):15–23 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.15-23.

**Funding.** The study was supported by the Russian Science Foundation, grant No 22-15-00172.

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

**Received** 05.09.2022. **Received in revised form** 20.10.2022. **Accepted** 12.12.2022.

### Введение

Атласы мозга широко используются в качестве инструментов для определения относительной локализации конкретных структур [1–4], а также позволяют получить представление о форме и целом ряде других

параметров тех или иных областей центральной нервной системы [5, 6]. История развития атласов мозга человека рассматривается во многих работах [2, 3, 5, 6]. Тем не менее в последнее время появилось немало новых атласов мозга человека, что обусловлено

растущей доступностью современных методов визуализации и оцифровки как новых наборов данных, так и уже существующих коллекций [3, 4, 7]. Цель данного обзора – представить историческую справку и современные тенденции развития атласов головного мозга. Кроме того, в зарубежных обзорах традиционно уделяется мало внимания работам отечественной нейроморфологической школы, и в данном обзоре мы хотим исправить это упущение.

## 1. История создания атласов мозга взрослого человека

**1.1. Ранние атласы.** Среди первых авторов, представивших анатомические иллюстрации головного мозга, был Магнус Хундт – один из основоположников антропологии. Еще в 1501 году он обозначил желудочки мозга и некоторые нервы, а также определил на поверхности мозга места, отвечающие за деятельность некоторых сенсорных органов [8]. Рисунки Хундта не были анатомически точными – скорее, они являлись схемами. В XVI–XVIII веках были созданы более подробные анатомические атласы, в числе которых атлас Феликса Вик-де’Азира. Он представлял собой рисованный цветной атлас мозга, включавший в себя 34 больших листа с изображениями сечений этого органа [8].

Автором теории локализации сложных психических функций в коре головного мозга был Франц Йозеф Галль. На этом основании он разработал теорию соответствий между топографией мозга и черепа. С 1810 по 1820 год выходила «Анатомия и физиология нервной системы» в четырех томах с отдельным атласом в 100 таблиц. Первый том этого сочинения практически полностью посвящен вопросу анатомии головного мозга [9]. К сожалению, Галль запомнился в истории науки в основном как основатель френологии. Тем не менее именно Галль положил начало прицельному картированию мозга и заложил основы современной неврологии [8, 10].

Самые ранние атласы мозга отрисованы от руки и не были доступными широкому кругу читателей. Появление печатных изданий и фотографии стало большим шагом вперед в картировании мозга [3].

**1.2. Атласы головного мозга в XX веке.** Идея картирования человеческого мозга в том виде, в котором она привычна в настоящее время (включая определение областей коры), возникла к началу XX века и разрабатывалась сразу несколькими нейроанатомическими школами. Основу для этих исследований заложил немецко-австрийский психиатр и нейроанатом Теодор Мейнерт [8], разработав начала цитоархитектонического анализа. В отечественной нейроморфологической школе основоположником учения о цитоархитектонике коры большого мозга является анатом В.А. Бец, открывший гигантские пирамидные клетки и установивший моторные функции предцентральной области коры головного мозга [8]. Подходы к картированию мозга

человека разрабатывались австралийско-британскими неврологами Альфредом Кэмпбеллом [11] и Элиотом Смитом [12]; в немецко-австрийской традиции – четой Фогтов [13, 14] и их учеником К. Бродманом [15], которому принадлежит наиболее известная классическая карта архитектоники большого мозга человека, а также неврологами греческого происхождения К. Экономом и Г. Коскинасом [16].

Цитоархитектонический анализ большого мозга подразумевает микроскопическое исследование строения коры на гистологических срезах – изучения формы, плотности и взаимного расположения нейронов в тех или иных корковых зонах. А. Кэмпбелл выделил на основании подобного изучения 20 полей коры, но уже спустя два года после этой публикации его ученик Э. Смит выделил 50 полей. К. Бродману удалось выделить 11 областей, которые включали 52 архитектонических поля [8]. Важно, что Бродман использовал сравнительный нейроанатомический подход и обсудил как онтогенетические, так и патологические аспекты, а также структурно-функциональные корреляции. Оскар и Сесиль Фогт изучали не цито-, а миелоархитектонику (анализ закономерностей расположения волокон). Фогты дополнительно разделили области Бродмана на основе более дифференцированной архитектуры внутрикорковых нервных волокон. Их миелоархитектоническая карта содержит гораздо больше областей, чем у Бродмана (около 200). Тем не менее основные поля коры головного мозга сопоставимы между цито- и миелоархитектоническими картами [17].

В 1955 году московским Институтом мозга был издан Атлас цитоархитектоники коры большого мозга человека [18]. Сам институт основан Фогтом для посмертного изучения особенностей мозга выдающихся деятелей Советского Союза [19, 20]. Наибольший вклад в создание этого атласа внес И.Н. Филимонов, крупнейший отечественный специалист в области сравнительной нейроморфологии. Сотрудники института использовали сравнительно-цитоархитектонический и эмбриологический подходы и создали карты коры головного мозга, включающие 47 полей. Этот атлас и сегодня остается одной из наиболее полных и точных карт мозга человека.

Первые атласы мозга человека были получены на материале одного или в лучшем случае нескольких отдельных посмертных образцов [6] либо даже из препаратов фрагментов коры, как в случае с картой Экономо–Коскинаса [16]. По причине недостаточного учета индивидуальных различий они подвергались жесткой критике со стороны отдельных ученых [17]. Тем не менее эти атласы были созданы на основе подробного гистологического исследования, а также включали данные, полученные на основе материала патологических случаев, в том числе от пациентов с черепно-мозговыми травмами.

Следующим большим шагом вперед в картировании мозга стало создание прижизненных методов нейро-

визуализации. Широкое распространение магнитно-резонансной (МРТ) и рентгеновской компьютерной томографии (КТ) как в медицинской практике, так и в исследовательских проектах сделало возможным получение прижизненных карт общей морфологии человеческого мозга и создание на их основе специальных атласов [3]. Были опубликованы отдельные издания для нейрорадиологии, нейрохирургии, неврологии, а также для медицинского образования и профессиональной подготовки.

Наряду с этими специальными атласами как за рубежом [21], так и в России [22] продолжается разработка пособий по анатомии. Большое значение для нейрохирургической практики трехмерного восприятия вызвало необходимость создания в 1950-х годах стереоскопических и стереотаксических атласов головного мозга [3]. В России первый стереоскопический атлас мозга человека появился только в 1996 году [23].

Важно, что из-за намного более низкого разрешения методов прижизненной визуализации полученные этими методами данные необходимо сопоставлять с анатомическими и гистологическими картами головного мозга. В нашей стране примером такого сравнения может служить «Архитектоника коры мозга человека. МРТ-атлас» [24]. Принципиальным его отличием является то, что на МРТ-изображениях авторы постарались обозначить одновременно все борозды и извилины мозга человека, в то время как во многих атласах представлены или только основные борозды, или лишь извилины мозга.

Создание атласов мозга человека на основе изучения цито- и миелоархитектоники развивается медленнее ввиду крайней трудоемкости. Однако в связи с развитием методов прижизненной визуализации и нейрохирургии такие исследования оказываются снова востребованными. Карта Бродмана стала неотъемлемой частью различных стереотаксических атласов. Так как исходная карта не содержала данных о поверхности мозга внутри борозд, атласы должны были «угадать», как проходят границы полей в этих частях мозга [17]. Это серьезная проблема, поскольку поверхность коры внутри борозд занимает две трети. Стереотаксический атлас J. Talairach и P. Tournoux 1988 года [25], вероятно, является самым популярным примером возрождения карты Бродмана в стереотаксических атласах и демонстрацией присущих ей проблем [17]. Система координат Талайраха используется для локализации структур мозга независимо от индивидуальных различий в размере и общей форме мозга. Она основана на идее, что расстояние между двумя структурами в мозге пропорционально его размеру. При этом сам атлас построен на одном посмертном исследовании мозга. Перенос этого частного случая на результаты неинвазивных методов является одним из самых слабых мест подобного масштабирования по причине огромной индивидуальной изменчивости в строении коры головного мозга человека [17]. Тем не менее эта система до сих пор ис-

пользуется для целого ряда методов нейровизуализации (в том числе для разметки данных МРТ, хотя сейчас уже созданы альтернативы).

**1.3. Современные цифровые атласы мозга человека.** Первый оцифрованный атлас мозга разработан еще в 1970-х годах. Это был большой шаг вперед, позволивший преодолеть ограниченную функциональность печатных книг. Печатные атласы из-за ограниченности объема обладают целым рядом существенных недостатков: статичное содержимое, разреженность изображений срезов мозга, громоздкость в использовании, отсутствие элементов интерактивности и сложности переноса содержимого атласа на индивидуальную изменчивость мозга. Попытки устранить эти недостатки велись по пяти основным направлениям [3]: прямая оцифровка существующих печатных атласов, создание бимодальных атласов, объединяющих цифровой и печатный контент, создание улучшенных атласов на основе печатной версии при помощи постобработки и расширений, трехмерное расширение существующих атласов и наконец создание новых электронных атласов. Использование электронных атласов мозга в клинической практике началось в 1990-х годах.

В XXI веке практически одновременно было начато несколько крупномасштабных исследовательских проектов, включающих в себя картирование мозга человека. Крупнейшим из них является американский BRAIN Initiative (Brain Research through Advancing Innovative Neurotechnologies) – совместная государственно-частная исследовательская инициатива. Цель этого проекта – поддержка разработки и применения инновационных технологий, которые углубляют и расширяют понимание функций мозга. В октябре 2021 года вышел специальный выпуск журнала Nature, посвященный преимущественно картированию первичной моторной коры мозга человека и животных. Исследователи из BRAIN Initiative Cell Census Network (BICCN), созданной для идентификации и каталогизации различных типов клеток в мозге человека, обезьян и мыши, опубликовали первые 17 статей, посвященных мультимодальному описанию нервных клеток и созданию атласа первичной моторной коры млекопитающих. Этот пример показывает всю сложность и амбициозность такой задачи как полное картирование мозга человека с учетом индивидуальной изменчивости и процессов роста и развития.

Сходный с BRAIN Initiative, но самостоятельный проект существует в Европе – Human Brain Project (HBP). Его цель – создание совместной научно-исследовательской инфраструктуры на базе информационно-коммуникационных технологий. Отдельной частью этого проекта является Big Brain Project. Как уже упоминалось, при использовании современных методов нейровизуализации возникает необходимость перевести двумерную информацию изображений, полученных при помощи гистологических методов,

в трехмерные модели. В рамках этого проекта было проведено посмертное МРТ-сканирование 10 образцов целого головного мозга человека, а затем сделаны гистологические срезы через весь мозг, на которых прицельно исследовалась цитоархитектура [26]. В дальнейшем полученные данные перевели в стереотаксическое пространство, используя общепринятые системы координат, и получили 3D изображение мозга взрослого человека с разрешением в 20 микрон [26]. Новый атлас, созданный в рамках проекта, позволяет сравнивать функциональную активность, паттерны генетической экспрессии, анатомические структуры и другие данные, полученные в ходе различных исследований, в общем стереотаксическом эталонном пространстве. В настоящее время работа над этим проектом продолжается.

Свои национальные программы по исследованию мозга, включающие создание разных атласов мозга, есть в Китае, Японии, Израиле, Канаде, Австралии и Южной Корее. В нашей стране подготовлен проект федеральной научно-технической программы исследования мозга «Мозг: здоровье, интеллект, инновации», разработанный Российской академией наук. Он направлен в Министерство науки и высшего образования, однако пока эта программа не запущена.

Существуют также интернациональные и частные проекты, например The Human Cell Atlas (HCA) – атлас клеток человека. Этот проект планируется как международная совместная работа, целью которой является определение всех типов клеток человека (в том числе в мозге) с их отличительными особенностями – экспрессией генов, физиологическими состояниями, развитием и расположением. Уже анонсировано, что в состав консорциума войдет крупнейшая база данных по протеомике человека Human Protein Atlas. Еще один широко известный проект – Open Connectome Project, ресурс, содержащий базу данных открытого доступа, с общедоступным исходным кодом для хранения, анализа и визуализации больших объемов изображений. Тем не менее по мере того как изменялись технологии, объем данных становился все больше и больше, что привело к появлению нового ресурса Neuro Data [27]. Цель этого проекта состоит в интеграции результатов исследований нейробиологов для исследования фундаментальных принципов работы головного мозга. На сегодняшний день Neuro Data включает в себя больше 100 разных баз данных, что делает эту базу крупнейшим хранилищем информации по нейробиологии.

Наиболее известным и детальным проектом является Allen Brain Atlas, содержащий большой набор данных исследования мозга позвоночных [28].

Отдельно в этом проекте надо выделить раздел «Мозг человека», направленный на обобщение существующих, но в настоящее время фрагментированных знаний о развитии, строении и функционировании мозга как в норме, так и при неврологических заболеваниях. В том числе на сайте представлен первый

цифровой атлас человеческого мозга, включающий изображение целого мозга взрослой женщины, полученные при помощи МРТ, диффузионно-взвешенной визуализации, и 1356 широкоформатных изображений с клеточным разрешением (1 мкм/пиксель) срезов через полушарие, окрашенных по Нисслю и при помощи иммуногистохимических методов. Атлас содержит подробные аннотации для 862 структур. Эти аннотации были перенесены в соответствующий набор данных МРТ [29]. Больше того, данные дополнены исследованиями транскриптома.

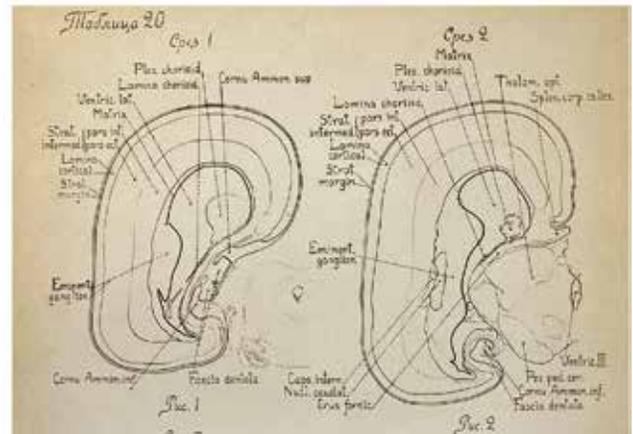
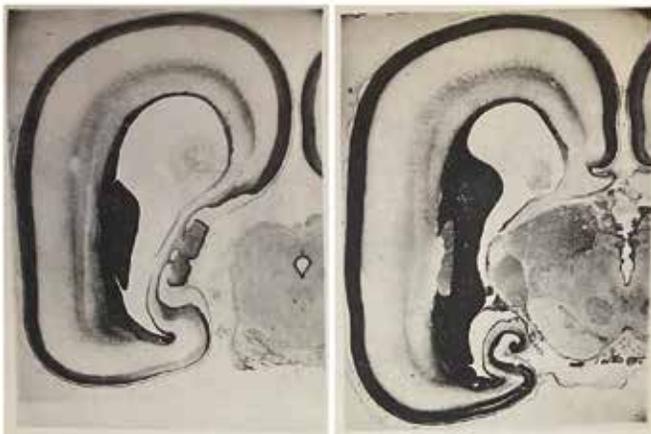
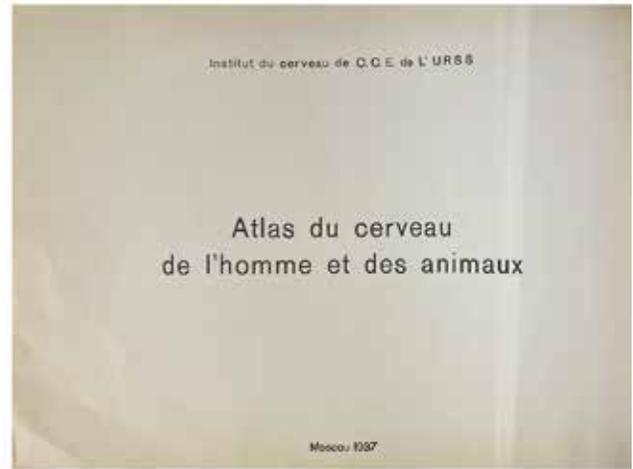
Таким образом, новейшая страница в истории атласов головного мозга – создание так называемых мультимодальных цифровых атласов. Такие атласы совмещают в себе изображения целого мозга как на макроморфологическом (с применением методов прижизненной визуализации: МРТ, КТ, ультразвуковое исследование и др.), так и на тканевом и даже на клеточном уровне с применением гистологических и иммуногистохимических методов, гибридизации *in situ* и других методов анализа транскриптома [2, 3, 30, 31].

## 2. Атласы развития мозга человека во время внутриутробного онтогенеза

Атласы развивающегося мозга следует рассматривать отдельно. Процессы развития нервной системы, определяемые различными факторами, формируют морфологию мозга, нейронную архитектуру и синаптические схемы [32]. Исследования развития коры головного мозга также могут дать представление об участии нейронов и мозговых сетей в эмоциях, поведении, познании и обучении. Руководства и атласы по анатомии мозга, связанные с развитием нервной системы, необходимы неврологам и клиницистам в исследовательской и медицинской практике [33]. Тем не менее во всех проектах, перечисленных ранее, уделяется мало внимания (или не уделяется совсем) раннему развитию головного мозга человека.

Надо сказать, что уже в 1937 году в нашей стране усилиями коллектива ученых из Института мозга был опубликован Атлас большого мозга человека и животных [34], который включал в себя некоторые аннотированные срезы головного мозга плодов человека (рис.), однако по сегодняшний день последовательно данные о развитии мозга плода человека представлены только в печатных атласах Байер и Альтмана [35–38]. Эти атласы состоят из общих видов и схем гистологических препаратов серийных срезов мозга плодов на разных сроках внутриутробного развития. При этом, как и для других печатных изданий, для этих атласов характерны такие недостатки, как ограниченность объема и функциональности (см. выше).

В настоящее время большинство атласов развивающегося человеческого мозга, включая атласы для медицинской практики, основано на результатах неинвазивных методов исследования, в основном МРТ и ее модификаций – функциональной МРТ и диффу-



*Рис.* Атлас большого мозга животных и человека (вверху) и образец срезов человеческого мозга плода с соответствующими аннотированными схемами из атласа (внизу)

*Fig.* Atlas of the Human and Animal brain (top) and samples of the fetal human brain sections with the corresponded annotated schemes from the Atlas (bottom)

зионно-тензорной визуализации [33, 39–43]. МРТ позволяет получить анатомические детали мозга плода с разрешением до миллиметра. Это важный инструмент для пренатального скрининга, дополняющий ультразвуковое исследование. Применение этого метода дает убедительные доказательства для выявления аномалий гирификации, дисгенезии мозолистого тела и других врожденных патологий развития нервной системы [44]. Больше того, количественный анализ изображений внутриутробной МРТ может существенно расширить наши представления о гестационной норме и индивидуальных вариациях созревания [33, 45].

К сожалению, разрешение неинвазивных методов все еще недостаточно для детального изучения развития человеческого мозга. Корреляция между данными неинвазивных методов и анатомическими и гистологическими исследованиями развивающегося мозга является отдельной областью исследований [46–49]. Например, стандартные атласы тензорной диффузии основаны на анатомии взрослого человека. Степень ошибки, связанной с применением этих атласов к исследованиям детей, еще не оценена, но может привести к неоптимальным результатам [50].

Исследования мозга эмбрионов и плодов человека на уровне ниже макроморфологического достаточно редки из-за специфики материала. Получение аутопсийного материала от плодов человека требует сложных протоколов и процедур, законодательно ограниченных. При этом экспериментальные исследования принципиально невозможны. Большинство таких исследований в основном посвящено эмбриональному и предплодному периодам внутриутробного онтогенеза; гораздо меньше информации доступно о развитии мозга на плодных этапах онтогенеза. В нескольких исследованиях представлен профиль транскриптома человеческого мозга с динамикой развития [31], однако даже новые технологии, используемые для анализа секвенирования в единичных клетках и пространственного секвенирования генома на целых срезах, имеют довольно строгие ограничения, такие как требования к качеству материала, способу фиксации, размеру образца и др. Кроме того, разрешение большинства подобных методов все еще недостаточно для картирования отдельных нейробластов.

В этом разделе необходимо отдельно выделить уже упоминавшийся проект Allen Brain Atlas. Даже

на такой мощной платформе как brain-map.org данные о развитии мозга человека представлены неполно. В открытом доступе на данном этапе есть образцы плодов на сроках 15 недель и 21 недели после зачатия [29]. С этих образцов сделаны серийные срезы, окрашенные по Нисслию, составлены схемы локализации e,hfmm структур плодного мозга, а также с помощью реакции гибридизации *in situ* представлены некоторые результаты изучения транскриптома фетального мозга человека с использованием 37 и пяти маркеров, соответственно.

Из проектов, посвященных непосредственно развивающемуся мозгу человека, надо еще упомянуть недавно появившийся The Single-Cell Atlas of Early Human Brain Development [51], включающий изображения отдельных срезов целого мозга эмбрионов человека. К сожалению, там представлены только эмбриональные стадии развития, атлас не содержит серийных срезов, и в нем нет разметки мозга с подписями, что затрудняет использование этого ресурса неспециалистами в области эмбриональной морфологии нервной системы.

В открытом доступе есть еще несколько сайтов с описанием общей морфологии эмбрионов и плодов человека в первом триместре, но не посвященных непосредственно развитию головного мозга человека. Описанию знаменитой коллекции Карнеги посвящен специальный сайт The Virtual Human Embryo Project. Главная цель этого проекта – сделать коллекцию Карнеги доступной для широкого круга пользователей и преподавания эмбриологии человека. Это первая по величине в мире коллекция изображений человеческих эмбрионов, которая содержит, в том числе, и серии срезов. Тем не менее на этом сайте почти не представлен фетальный период онтогенеза человека, использованы только классические гистологические методы окрашивания, уровень детализации описаний структур головного мозга недостаточен.

M. Belle et al. [52] провели исследование с применением иммуногистохимических методов на материале 36 человеческих эмбрионов и плодов в возрасте от 6 до 14 недель беременности, используя антитела более чем к 70 антигенам. Они сгенерировали 3D изображения человеческих эмбрионов с клеточным разрешением. Коллекция доступна на специальном веб-сайте, однако развитие мозга не было в центре внимания этих исследований.

Таким образом, можно сделать вывод, что развитие мозга человека можно считать terra incognita современной нейробиологии, которая ждет своих исследователей. Большая часть современных публикаций, посвященных развитию головного мозга человека, основана на материалах неинвазивных исследований, предоставляющих информацию в основном на макроморфологическом уровне [33]. Материалы гистологических исследований намного подробнее освещают эмбриональный и префетальный периоды развития, сведения о плодном

периоде представлены в основном макропрепаратами или схемами [35–38, 53]. Опубликованные данные о развитии мозга человека на разных этапах фетального развития не систематизированы, касаются отдельных аспектов развития или отдельных структур мозга и могут быть противоречивы. При этом интеграция вновь полученной и существующей информации остается главной проблемой: разрыв между молекулярной основой развития и уже сложившимися представлениями об органогенезе, между результатами ультразвукового исследования и анатомией, материалами из устаревших учебников и руководств по гистологии и эмбриологии, акушерству и неонатологии и современным уровнем понимания человеческого внутриутробного развития становится шире [54].

### Заключение

Создание атласов головного мозга человека переживает период возрождения. Во всем мире нарастает интерес к объединению больших массивов научных и справочных данных в базы, доступные для всеобщего использования. К сожалению, нашей стране пока не удается представить достижения в этой сфере, несмотря на то, что многие базовые основы создания атласов головного мозга заложены именно в России. До сих пор ведущие проекты по картированию мозга имеют «русский след». Так, начальные работы по проекту Big Brain проводились совместно со специалистами из Института мозга, в основе атласов эмбрионального и фетального мозга Байер и Альтмана лежат гистологические срезы из коллекции П. Яковлева – американского исследователя, тем не менее принадлежащего к русской нейроанатомической школе, а работы И.Н. Филимонова и других использовались при разметке референсных атласов в проекте Allen Brain Atlas.

Создание атласов развития мозга человека остается одной из наименее разработанных областей нейробиологии. Даже наиболее представительные современные международные проекты, предоставляющие материалы о мозге животных и человека, являются далеко не полными в части данных о внутриутробном созревании мозга человека. Референсные атласы мозга плодов на разных этапах внутриутробного развития необходимы как для исследовательских проектов, так и для медицинской практики, поэтому создание атласов развивающегося головного мозга человека может стать хорошей отправной точкой для возрождения интереса к картированию мозга в нашей стране.

### Литература/References

1. Gilbert TL. The Allen Brain Atlas as a resource for teaching undergraduate neuroscience. *J Undergrad Neurosci Educ.* 2018;16(3):A261–A267. PMID: 30254541.
2. Zaborszky L. Brain structure and function: The first 15 years – a retrospective. *Brain Struct Funct.* 2021;226(8):2467–75. DOI: 10.1007/s00429-021-02362-0.

3. *Nowinski WL*. Evolution of human brain atlases in terms of content, applications, functionality, and availability. *Neuroinformatics*. 2021;19(1):1–22. DOI: 10.1007/s12021-020-09481-9.
4. *Ding SL, Royall JJ, Sunkin SM, Ng L, Facer BA, Lesnar P et al*. Comprehensive cellular-resolution atlas of the adult human brain. *J Comp Neurol*. 2016;524(16):3127–481. DOI: 10.1002/cne.24080.
5. *Bjaalie JG*. Advances in computational neuroanatomy. *Anat Embryol (Berl)*. 2001;204(4):253–4. DOI: 10.1007/s00429-001-0217-6.
6. *Toga AW, Thompson PM, Mega MS, Narr KL, Blanton RE*. Probabilistic approaches for atlasing normal and disease-specific brain variability. *Anat Embryol (Berl)*. 2001;204(4):267–82. DOI: 10.1007/s004290100198.
7. *Amunts K, Hawrylycz MJ, van Essen DC, van Horn JD, Harel N, Poline JB et al*. Interoperable atlases of the human brain. *Neuroimage*. 2014;99:525–32. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2014.06.010.
8. *Савельев С.В.* Атлас мозга человека. Москва: ВЕДИ, 2005. 400 с. Доступно по адресу: [https://rusneb.ru/catalog/000199\\_000009\\_002854939](https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_002854939) (получено 21.12.2022).
9. *Saveliev SV*. Atlas of the human brain. Moscow: VEDI, 2005. 400 p. Available from: [https://rusneb.ru/catalog/000199\\_000009\\_002854939](https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_002854939) (accessed 21.12.2022).
10. *Gall FJ, Spurzheim JG*. Anatomie et physiologie du système nerveux en général et du cerveau en particulier, avec des observations sur la possibilité de reconnaître plusieurs dispositions intellectuelles et morales de l'homme et des animaux par la configuration de leurs têtes. Premier volume. Paris: Chez F. Schoell, 1810. 347 p. Available from: [https://archive.org/details/BIUSante\\_00575x01/page/n27/mode/2up](https://archive.org/details/BIUSante_00575x01/page/n27/mode/2up) (Accessed 21.12.2022).
11. *Васильев С.В., Веселовская Е.В., Григорьева О.М., Пестряков А.П.* Краниология Франца Галля. Природа. 2016; 1(1205):36–42. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=26194036> (получено 21.12.2022).
12. *Vasiliev SV, Veselovskaya EV, Grigorieva OM, Pestryakov AP*. Craniology of Franz Gall. *Priroda = Nature*. 2016;1(1205):36–42 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=26194036> (accessed 21.12.2022).
13. *Campbell AW*. Histological studies on the localization of cerebral function. Cambridge: University Press, 1905. 381 p. Available from: <https://archive.org/details/histologicalstu00campgoog/page/n50/mode/2up> (accessed 21.12.2022).
14. *Smith GE*. A new topographical survey of the human cerebral cortex, being an account of the distribution of the anatomically distinct cortical areas and their relationship to the cerebral sulci. *J Anat Physiol*. 1907;41(Pt. 4):237–54. PMID: 17232738.
15. *Vogt O*. Die myeloarchitektonische Felderung des menschlichen Stirnhirns. *J Psychol Neurol*. 1910;15:221–32. Available from: [https://www.thehumanbrain.info/brain/db\\_literature/vogt\\_o\\_1910\\_stirnhirn.pdf](https://www.thehumanbrain.info/brain/db_literature/vogt_o_1910_stirnhirn.pdf) (accessed 21.12.2022).
16. *Vogt C, Vogt O*. Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung. *J Psychol Neurol*. 1919;25:292–398.
17. *Brodmann K*. Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde: in ihren Principien dargestellt auf Grund des Zellenbaues. Leipzig: Barth, 1909. 324 p. Available from: <https://archive.org/details/b28062449/page/n3/mode/2up> (accessed 21.12.2022).
18. *fon Economo CF, Koskinas GN*. Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen. Berlin: Springer, 1925. 810 p.
19. *Zilles K, Amunts K*. Centenary of Brodmann's map—conception and fate. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11(2):139–45. DOI: 10.1038/nrn2776.
20. С.А. Саркисов, И.Н. Филимонов, Е.П. Кононова, Н.С. Преображенская, Л.А. Кукуев (ред.). Атлас цитоархитектоники коры большого мозга человека. Москва: Медгиз, 1955. 280 с.
21. SA Sarkisov, IN Filimonov, EP Kononova, NS Preobrazhenskaja, LA Kukuev (eds.). Atlas of cytoarchitectonics of the human cerebral cortex. Moscow: Medgiz, 1955. 280 p. (In Russ.).
22. *Richter J*. Pantheon of brains: the Moscow Brain Research Institute 1925–1936. *J Hist Neurosci*. 2007;16(1–2):138–49. DOI: 10.1080/09647040600550335.
23. *Боголепова И.Н.* Институт мозга — важная веха в истории нейронаук в нашей стране. К 90-летию создания Института мозга. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(6):81–85. DOI: 10.17116/jnevro201911906181.
24. *Bogolepova IN*. Institute of the Human Brain is an important milestone in the history of neurosciences in Russia (the 90th anniversary of the Institute). *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii imeni S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2019;119(6):81–85 (In Russ.). DOI: 10.17116/jnevro201911906181.
25. G Hagens, A Whalley, R Maschke, W Kriz (eds.). Schnitatanomie des menschlichen Gehirns. Ein photographischer Atlas plastinierter Serienschnitte. Heidelberg: Steinkopff, 1990. 89 p. (In German). DOI: 10.1007/978-3-642-93670-8.
26. *Синельников П.Д.* Атлас анатомии человека, Учение о нервной системе, органах чувств и органах внутренней секреции. Т. 3. Москва: Медгиз, 1963. 411 с.
27. *Sinelnikov RD*. Atlas of human anatomy. The doctrine of the nervous system, sense organs and organs of internal secretion. V. 3. Moscow: Medgiz, 1963. 411 p. (In Russ.).
28. *Савельев С.В.* Стереоскопический атлас мозга человека. Москва: AREA XVII, 1996. 352 с.
29. *Saveliev SV*. Stereoscopic atlas of the human brain. Moscow: AREA XVII, 1996. 352 p. (In Russ.).
30. *Боголепова И.Н., Кротенкова М.В., Малофеева Л.И., Коновалов П.Н., Агапов П.А.* Архитектоника коры мозга человека. МРТ-атлас. Москва: Атмосфера, 2010. 216 с.
31. *Bogolepova IN, Krotenkova MV, Malofeeva LI, Kononov RN, Agapov PA*. Architectonics of the human cerebral cortex: MRI Atlas. Moscow: Atmosfera, 2010. 216 p. (In Russ.).
32. *Talairach J, Tournoux P*. Coplanar Stereotaxic Atlas of the Human Brain – 3-dimensional proportional system: An approach to cerebral imaging. 1st ed. New York: Thieme, 1988. 122 p. DOI: 10.1016/S0009-9260(05)80985-7.
33. *Amunts K, Mohlberg H, Bludau S, Zilles K*. Julich-Brain: A 3D probabilistic atlas of the human brain's cytoarchitecture. *Science*. 2020;369(6506):988–92. DOI: 10.1126/science.abb4588.
34. *Vogelstein JT, Perlman E, Falk B, Baden A, Gray Roncal W, Chandrashekhara V et al*. A community-developed open-source

- computational ecosystem for big neuro data. *Nat Methods*. 2018;15(11):846–7. DOI: 10.1038/s41592-018-0181-1.
28. *Sunkin SM, Ng L, Lau C, Dolbeare T, Gilbert TL, Thompson CL et al.* Allen Brain Atlas: An integrated spatio-temporal portal for exploring the central nervous system. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(Database issue):D996–1008. DOI: 10.1093/nar/gks1042.
  29. *Ding SL, Royall JJ, Lesnar P, Facer BAC, Smith KA, Wei Y et al.* Cellular resolution anatomical and molecular atlases for prenatal human brains. *J Comp Neurol*. 2022;530(1):6–503. DOI: 10.1002/cne.25243.
  30. *Hawrylycz MJ, Levin ES, Guillozet-Bongaarts AL, Shen EH, Ng L, Miller JA et al.* An anatomically comprehensive atlas of the adult human brain transcriptome. *Nature*. 2012;489(7416):391–9. DOI: 10.1038/nature11405.
  31. *Mahfouz A, Huisman SMH, Lelieveldt BPF, Reinders MJT.* Brain transcriptome atlases: A computational perspective. *Brain Struct Funct*. 2017;222(4):1557–80. DOI: 10.1007/s00429-016-1338-2.
  32. *Dean DC 3rd, Planalp EM, Wooten W, Schmidt CK, Kecs-kemeti SR, Frye C et al.* Investigation of brain structure in the 1-month infant. *Brain Struct Funct*. 2018;223(4):1953–70. DOI: 10.1007/s00429-017-1600-2.
  33. *Oishi K, Chang L, Huang H.* Baby brain atlases. *Neuroimage*. 2019;185:865–80. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2018.04.003.
  34. С.А. Саркисов, И.Н. Филимонов (ред.). Атлас большого мозга человека и животных. Москва: Фототипия Институт мозга (типография «Московский печатник»), 1937. 126 с. Доступно по адресу: <https://orpk.org/books/615> (получено 21.12.2022).
  - SA Sarkisov, IN Filimonov (eds.). Atlas of the human and animal brain. Moscow: Fototipia Institut mozga (printing-office “Moskovskiy pechatnik”), 1937. 126 p. (In Russ.). Available from: <https://orpk.org/books/615> (accessed 21.12.2022).
  35. *Bayer SA, Altman J.* The human brain during the third trimester. 1st. ed. V. 2. Boca Raton: CRC Press, 2003. 392 p. DOI: 10.1201/9780203494943.
  36. *Bayer SA, Altman J.* The human brain during the second trimester. 1st. ed. V. 3. Boca Raton: CRC Press, 2005. 384 p. DOI: 10.1201/9780203507483.
  37. *Bayer SA, Altman J.* The human brain during the late first trimester. 1st. ed. V. 4. Boca Raton: CRC Press, 2006. 592 p. DOI: 10.1201/9781420003277.
  38. *Bayer SA, Altman J.* The human brain during the early first trimester. 1st. ed. V. 5. Boca Raton: CRC Press, 2007. 536 p. DOI: 10.1201/9781420003284.
  39. *Dittrich E, Kasprian G, Prayer D, Langs G.* Atlas learning in fetal brain development. *Top Magn Reson Imaging*. 2011;22(3):107–11. DOI: 10.1097/RMR.0b013e318267fe94.
  40. *Khan S, Vasung L, Marami B, Rollins CK, Afacan O, Ortinau CM et al.* Fetal brain growth portrayed by a spatiotemporal diffusion tensor MRI atlas computed from in utero images. *Neuroimage*. 2019;185:593–608. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2018.08.030.
  41. *Kuklisova-Murgasova M, Aljabar P, Srinivasan L, Counsell SJ, Doria V, Serag A et al.* A dynamic 4D probabilistic atlas of the developing brain. *Neuroimage*. 2011;54(4):2750–63. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2010.10.019.
  42. *Lim IA, Faria AV, Li X, Hsu JT, Airan RD, Mori S et al.* Human brain atlas for automated region of interest selection in quantitative susceptibility mapping: Application to determine iron content in deep gray matter structures. *Neuroimage*. 2013;82:449–69. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2013.05.127.
  43. *Xia J, Wang F, Benkarim OM, Sanroma G, Piella G, González Ballester MA et al.* Fetal cortical surface atlas parcellation based on growth patterns. *Hum Brain Mapp*. 2019;40(13):3881–99. DOI: 10.1002/hbm.24637.
  44. *Glenn OA, Barkovich AJ.* Magnetic resonance imaging of the fetal brain and spine: An increasingly important tool in prenatal diagnosis. Part 1. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27(8):1604–11. PMID: 16971596.
  45. *Li H, Yan G, Luo W, Liu T, Wang Y, Liu R et al.* Mapping fetal brain development based on automated segmentation and 4D brain atlas. *Brain Struct Funct*. 2021;226(6):1961–72. DOI: 10.1007/s00429-021-02303-x.
  46. *Bendersky M, Musolino PL, Rugilo C, Schuster G, Sica RE.* Normal anatomy of the developing fetal brain. Ex vivo anatomical-magnetic resonance imaging correlation. *J Neurol Sci*. 2006;250(1–2):20–6. DOI: 10.1016/j.jns.2006.06.020.
  47. *Lhuair M, Martinez A, Kaplan H, Nuzillard JM, Renard Y, Tonnelet R et al.* Human developmental anatomy: Microscopic magnetic resonance imaging (μMRI) of four human embryos (from Carnegie Stage 10 to 20). *Ann Anat*. 2014;196(6):402–9. DOI: 10.1016/j.aanat.2014.07.004.
  48. *Rados M, Judas M, Kostović I.* In vitro MRI of brain development. *Eur J Radiol*. 2006;57(2):187–98. DOI: 10.1016/j.ejrad.2005.11.019.
  49. *Wang R, Dai G, Takahashi E.* High resolution MRI reveals detailed layer structures in early human fetal stages: In vitro study with histologic correlation. *Front Neuroanat*. 2015;9:150. DOI: 10.3389/fnana.2015.00150.
  50. *Bloy L, Ingalhalikar M, Eavani H, Schultz RT, Roberts TP, Verma R.* White matter atlas generation using HARDI based automated parcellation. *Neuroimage*. 2012;59(4):4055–63. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.08.053.
  51. *Eze UC, Bhaduri A, Haussler M, Nowakowski TJ, Kriegstein AR.* Single-cell atlas of early human brain development highlights heterogeneity of human neuroepithelial cells and early radial glia. *Nat Neurosci*. 2021;24(4):584–94. DOI: 10.1038/s41593-020-00794-1.
  52. *Belle M, Godefroy D, Couly G, Malone SA, Collier F, Giacobini P, Chédotal A.* Tridimensional visualization and analysis of early human development. *Cell*. 2017;169(1):161–173.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2017.03.008.
  53. *O’Rahilly RR, Muller F.* The Embryonic Human Brain: An atlas of developmental stages. 3rd ed. New York: Wiley-Liss, 2006. 358 p. DOI: 10.1002/0471973084.
  54. А.П. Милованов, С.В. Савельев (ред.). Внутритрубно́е развитие человека: Руководство для врачей. Москва: Группа МДВ, 2006. 384 с. Доступно по адресу: [https://rusneb.ru/catalog/000199\\_000009\\_002877603](https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_002877603) (получено 21.12.2022).
  - AP Milovanov, SV Saveliev (eds.). Intrauterine human development: Guide for physicians. Moscow: Gruppya MDV, 2006. 384 p. (In Russ.). Available from: [https://rusneb.ru/catalog/000199\\_000009\\_002877603](https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_002877603) (accessed 21.12.2022).

**Информация об авторах**

Александра Евгеньевна Прощина – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Анастасия Сергеевна Харламова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Юлия Сергеевна Кривова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Сергей Вячеславович Савельев – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией развития нервной системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

**Author information**

Alexandra E. Proshchina – Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-0515-8275>

Anastasia S. Kharlamova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-1163-4132>

Yuliya S. Krivova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-9692-3616>

Sergey V. Saveliev – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of Laboratory of Nervous System Development, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-1447-7198>

## Имплантационная несостоятельность эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения у пациенток с хроническим эндометритом

Т.Г. Траль<sup>1,2</sup>, Г.Х. Толибова<sup>1,3</sup>, И.Ю. Коган<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** *Введение.* Хронический эндометрит является одним из наиболее частых заболеваний органов малого таза и негативно влияет на основные патогенетические звенья морфогенеза секреторной и gravidарной трансформации эндометрия, детерминирующие имплантационную несостоятельность эндометрия. Цель исследования – верификация экспрессии рецепторов эстрогена (estrogen receptors, ER) и прогестерона (progesterone receptors, PR), прогестерониндуцированного блокирующего фактора (progesterone-induced blocking factor, PIBF) и стромального клеточного фактора-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1) в эндометрии пациенток с хроническим эндометритом, неэффективными циклами и репродуктивными потерями после экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

*Материалы и методы.* Сформированы три группы исследования: I группа – эндометрий от пациенток с неэффективными циклами ЭКО (n=50); II группа – эндометрий от пациенток с неразвивающейся беременностью в анамнезе после ЭКО (n=50); III группа, контрольная, – эндометрий от условно здоровых пациенток (n=25). Проведено гистологическое исследование по стандартной методике. Иммуногистохимическое исследование с оценкой экспрессии ER и PR, PIBF и SDF-1 в железах и строме эндометрия средней стадии фазы секреции.

*Результаты.* При гистологическом исследовании средняя стадия фазы секреции в I и II группах исследования выявлена только в 46% и 42% случаях и сопровождалась снижением экспрессии ER и PR более чем в 92% случаев. В эндометрии периода окна имплантации от пациенток с репродуктивными неудачами выявлено статистически значимое снижение экспрессии PIBF и SDF-1 в железах и стромальном компоненте.

*Заключение.* У пациенток с неэффективными циклами и неразвивающейся беременностью после ЭКО на фоне хронического эндометрита выявляется нарушение имплантационной состоятельности эндометрия с изменением баланса хемокинов, цитокинов, клеточных факторов и структурно-функциональных характеристик эндометрия.

**Ключевые слова:** эндометрий, ЭКО, неразвивающаяся беременность после ЭКО, рецепторы эстрогена, рецепторы прогестерона, прогестерониндуцированный блокирующий фактор, стромальный клеточный фактор-1

**Для корреспонденции:** Татьяна Георгиевна Траль. E-mail: ttg.tral@yandex.ru

**Для цитирования:** Траль Т.Г., Толибова Г.Х., Коган И.Ю. Имплантационная несостоятельность эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения у пациенток с хроническим эндометритом. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):24–33. DOI: 10.31088/СЕМ2023.12.1.24-33.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках фундаментального научного исследования № 1021062512052-5-3.2.2 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 19.09.2022. Получена после рецензирования 14.10.2022. Принята в печать 12.12.2022.

## Endometrial implantation failure in cycles of *in vitro* fertilization in patients with chronic endometritis

T.G. Tral<sup>1,2</sup>, G.Kh. Tolibova<sup>1,3</sup>, I.Yu. Kogan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup> I.I. Mechnikov North-Western State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia

**Abstract. Introduction.** Chronic endometritis is one of the most frequent gynecological diseases which negatively impacts the main pathogenetic links in the morphogenesis of secretory and gestational endometrial transformation. These links determine implantation failure. The study aimed to verify the expression of estrogen receptors (ER) and progesterone receptors (PR), progesterone-induced blocking factor (PIBF) and stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) in the endometrium of patients having chronic endometritis with ineffective IVF cycles or undeveloped pregnancies occurred after assisted reproductive technologies in their histories.

**Materials and methods.** We formed 3 study groups: group I included samples of the endometrium of patients with ineffective IVF cycles (n=50); group II contained samples received from patients with a history of undeveloped pregnancy after IVF (n=50); and group III (the control group) included endometrial tissue from healthy patients (n=25). We carried out routine histological evaluation followed by an immunohistochemical assay with ER, PR, PIBF, and SDF-1 in the endometrial glands and stroma in the middle secretion phase.

**Results.** The middle stage of the secretion phase of the menstrual cycle in endometrial samples of groups I and II was detected in only 46% and 42% of cases, respectively. We showed a decrease in the ER and PR expression in more than 92% of cases. Statistically significant decrease was detected in PIBF and SDF-1 expression in the endometrial glands and stroma within the implantation window in patients with a history of reproductive loss.

**Conclusion.** Violation of implantation viability with an imbalance of chemokines, cytokines, cellular factors, and structural and functional characteristics of the endometrium was found in patients with revealed chronic endometritis and history of ineffective IVF cycles and miscarriage after ART.

**Keywords:** endometrium, IVF, missed abortion after IVF, estrogen receptor, progesterone receptor, progesterone-induced blocking factor, stromal cell-derived factor-1

**Corresponding author:** Tatyana G. Tral. E-mail: ttg.tral@yandex.ru

**For citation:** Tral T.G., Tolibova G.Kh., Kogan I.Yu. Endometrial implantation failure in cycles of *in vitro* fertilization in patients with chronic endometritis. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):24–33 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.24-33.

**Funding.** The study was carried out within the framework of the Fundamental Scientific Research No. 1021062512052-5-3.2.2 of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

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

**Received** 19.09.2022. **Received in revised form** 14.10.2022. **Accepted** 12.12.2022.

## Введение

Хронический эндометрит является одним из наиболее частых заболеваний органов малого таза и диагностируется, по данным разных авторов, у 12–90% пациенток с бесплодием, невынашиванием беременности и неэффективными циклами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [1–6].

Длительное время в литературе дискутировались наличие хронического эндометрита и его влияние на имплантацию, плацентацию и вынашивание беременности в связи с ежемесячной десквамацией функционального слоя эндометрия, стерильностью полости матки и различными подходами к верификации диагноза [7–12].

Внедрение иммуногистохимического исследования с использованием комбинации антител для верификации хронического эндометрита и определения степени выраженности воспалительного процесса позволило расширить представления о его патогенезе, оказывающем значительное влияние на имплантационные свойства эндометрия, активности иммунных клеток и экспрессию генов [13–15].

На современном этапе решение проблем репродуктивного здоровья и рождения потомства является

ключевым направлением медико-социальной политики государства, в связи с чем особого внимания заслуживают невынашивание беременности, наступившей естественным путем, а также повторная неудача имплантации и повторные потери беременности в протоколах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Повторной неудачей имплантации считается более трех циклов переноса эмбрионов хорошего качества в протоколе ЭКО, и на сегодняшний день эффективность в преодолении повторных неудач достигается редко [16–18].

Причинами повторных неудач протоколов ЭКО зачастую являются патологические изменения органов репродуктивной системы, где основная роль отводится дисфункции эндометрия (хронический эндометрит, гиперплазия, гипоплазия, полипы эндометрия, лейомиомы, синехии и перегородки полости матки) [19–25].

Известно, что наличие воспалительного процесса в полости матки негативно влияет на основные патогенетические звенья морфогенеза секреторной и гравидарной трансформации эндометрия, так как исходы хронического воспаления не всегда являются обратимым процессом в связи с формированием фиброза и склероза, что приводит к нарушению рецепторного

профиля эндометрия, иммунного баланса и ангиогенеза.

Если рецепторный профиль (эстроген и прогестерон) как основополагающий фактор полноценной циклической трансформации, имплантации и децидуализации эндометрия в норме и патологии более или менее изучены, то исследования иммуногенеза как одного из значимых факторов имплантационной состоятельности эндометрия и развития беременности продолжаются.

Иммунологический фактор оказывает влияние на циклическую трансформацию эндометрия, необходимую для оптимальной рецептивности эндометрия во время окна имплантации [26–28].

Диагностически значимыми иммунологическими маркерами являются прогестерониндуцированный блокирующий фактор – progesterone-induced blocking factor, PIBF (прогестеронзависимый), и стромальный клеточный фактор – stromal cell-derived factor-1, SDF-1 (эстрогензависимый). Безусловно, изучение их роли у пациенток с хроническим эндометритом, неэффективными циклами и неразвивающейся беременностью после ЭКО позволит оценить имплантационный потенциал эндометрия и разработать персонализированный подход к использованию протоколов ЭКО.

Цель исследования – верификация экспрессии рецепторов эстрогена (estrogen receptors, ER) и прогестерона (progesterone receptors, PR), PIBF и SDF-1 в эндометрии пациенток с хроническим эндометритом, повторными неудачами и репродуктивными потерями после ЭКО.

## Материалы и методы

В исследовании использован биопсийный и операционный материал, поступивший в патологоанатомическое отделение от пациенток, проходивших обследование и лечение на базе НИИ АГиР им. Д.О. Отта. Исходя из цели исследования, сформированы три группы: I группа – эндометрий от пациенток с неэффективными циклами ЭКО (n=50); II группа – эндометрий от пациенток с неразвивающейся беременностью в анамнезе после ЭКО (n=50); III группа, контрольная, – эндометрий от условно здоровых пациенток (n=25).

Критериями включения в основные группы исследования (I и II группы) явились возраст от 25 до 40 лет, вторичное бесплодие (трубно-перитонеальный фактор), хронический эндометрит, верифицированный по совокупности гистологического (мононуклеарная инфильтрация, фиброз стромы) и иммуногистохимического исследования (CD8+, CD4+, CD20+, CD138+), толщина эндометрия на день переноса  $\geq 7$  мм, перенос эмбриона хорошего качества не менее 3ВВ по классификации Гарднера, а также индивидуальные критерии включения для II группы – неразвивающаяся беременность после ЭКО (не более трех), отсутствие хромосомной патологии трофобласта. Биопсия эндометрия пациенткам была выполнена с 19-го по

24-й день менструального цикла, через 3–4 месяца после неэффективных циклов ЭКО и/или через 3 месяца после последней потери беременности, наступивший методом ЭКО.

Критерии включения в контрольную группу: эндометрий средней стадии фазы секреции, отсутствие морфологических признаков хронического эндометрита.

## Гистологическое исследование

Гистологическое исследование биоптатов эндометрия проведено по стандартной методике с фиксацией материала в 10% нейтральном формалине (pH 7,2) и гистологической проводкой в гистопроцессоре Histo-Tek VP1 (Sakura, Япония), после чего материал заливали в парафин и из полученных блоков изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм с последующим окрашиванием их гематоксилином и эозином («БиоВитрум», Россия). При световой микроскопии оценивали соответствие строения эндометрия дню менструального цикла, состояние желез, стромы и сосудистого компонента эндометрия, наличие или отсутствие гистологических признаков воспалительных и патологических изменений. Исследование проводили на микроскопе CX31 (Olympus, Япония) при  $\times 100$ ,  $\times 200$ ,  $\times 400$ .

## Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах, нанесенных на предметные стекла, покрытые поли-L-лизинном, с использованием одноэтапного протокола и последующей демаскировкой антигена. Иммуногистохимический метод исследования включал количественную и качественную оценку экспрессии ER (n=125), PR (n=125) в биоптатах эндометрия с использованием антител к рецепторам ER $\alpha$  (клон 1D5) и рецепторам PR (клон PR 636) в стандартном разведении 1:50 производства Dako Cytomation (Дания); антитела к прогестерониндуцированному блокирующему фактору (anti-PIBF) клон ab 151491, разведение 1:200 (n=69) и к стромальному клеточному фактору-1 (anti-SDF-1) клон ab 9797 в разведении 1:100 (n=69) производства Abcam (Великобритания).

Оценку экспрессии рецепторов половых гормонов – эстрогена и прогестерона проводили методом Histochemical Score =  $\Sigma P(i) \times I$ , где i – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0 до 3; P(i) – процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью. Интенсивность окрашивания: 0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – сильное окрашивание. Максимальное значение счета (суммы баллов) должно соответствовать 300 единицам. Степень выраженности экспрессии оценивали следующим образом: 0–10 баллов – отсутствие экспрессии, 11–100 баллов – слабая экспрессия, 101–200 баллов – умеренная экспрессия, 201–300 баллов – выраженная экспрессия. Учитывали характер распределения экспрессии рецепторов в исследуемом

материале (равномерно, неравномерно). Экспрессию рецепторов половых гормонов (эстрогена и прогестерона) ниже 80 баллов расценивали как снижение. Визуализацию экспрессии маркеров (PIBF и SDF-1) проводили на микроскопе Olympus BX46 (Olympus, Япония) и программном обеспечении CellSens 47 Entry (Olympus, Япония) с последующей морфометрией с помощью программы «ВидеоТест-Морфология 5.2» («Видеотест», Россия).

#### Статистический анализ данных

Обработку статистического материала проводили в программе SPSSV.23.0 (IBM, США). Параметры распределения в выборках оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Для оценки межгрупповых различий значений трех групп и более использовался критерий Краскела–Уоллиса. Сопоставление групп проводилось с помощью метода множественного сравнения. Данные были представлены в виде медианы (Me) и межквартильного диапазона ( $Q_1$ – $Q_3$ ). Различия между показателями считали значимыми при  $p < 0,05$ .

#### Результаты

Средний возраст обследованных пациенток с неэффективными циклами ЭКО составил  $35,4 \pm 0,7$  года, пациенток с развивающейся беременностью в анамнезе после ЭКО –  $34,9 \pm 0,6$  года, в контрольной группе –  $31,9 \pm 1,0$  года. Анализ генеративной функции показал, что в I группе у пациенток с неэффективными циклами ЭКО в анамнезе было 96 беременностей и 105 беременностей во II группе у пациенток с развивающейся беременностью после ЭКО. Беременность закончилась родами только в 15,6% случаев в I группе (15) и в 10,5% во II группе (11). Внематочная беременность в I группе у пациенток с неэффективными циклами ЭКО отмечена в 22,9% случаев (22), во II группе у пациенток с развивающейся беременностью после ЭКО в 7,6% случаях (8). Самопроизвольный выкидыш в 10,4% случаев (10) верифицирован в I группе и в 2,9% случаев (3) во II группе. Искусственное прерывание беременности в I группе отмечено в 15,6% случаев (15) и во II группе в 12,4% случаях (13). Наличие развивающейся беременности первого триместра в I группе при неэффективных циклах ЭКО диагностировано в 36,5% случаев (34), во II группе в 66,7% случаев (70). Результаты анамнестических данных свидетельствуют о высокой частоте репродуктивных потерь и внутриматочных вмешательств, что приводит к формированию или обострению хронического эндометрита и по совокупности детерминирует нарушение трансформации эндометрия и имплантации плодного яйца.

Результаты гистологического исследования показали, что средняя стадия фазы секреции в I группе выявлена в 46,0% случаев (23), во II группе в 42,0% (21). Ранняя стадия фазы секреции в I группе диагностирована в 18,0% случаев (9), во II группе в 14,0% (7),

гиперплазия эндометрия без атипии в 20,0% случаев (10) в I группе и в 24,0% случаев (12) во II группе. Диссоциированный тип трансформации эндометрия с железами пролиферативного и секреторного типа в I группе у пациенток с неэффективными циклами ЭКО верифицирован в 16,0% случаев (8), у пациенток с неразвивающейся беременностью после ЭКО в 20,0% случаев (10).

В стромальном компоненте эндометрия в норме экспрессия рецепторов эстрогена и прогестерона в среднюю стадию фазы секреции имеет равномерное распределение (80–100%) и составляет от 250 до 300 баллов.

При оценке рецепторного профиля в обследованных группах выявлено мультифокальное снижение экспрессии ER и PR в стромальном компоненте эндометрия независимо от трансформации эндометрия ниже 70 баллов в I группе в 92,0% биоптатов (46) и в 100% (50) во II группе. Экспрессия ER и PR в железистом компоненте соответствовала морфологической картине в обеих группах.

Снижение экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в стромальном компоненте эндометрия может явиться одной из причин имплантационной несостоятельности эндометрия.

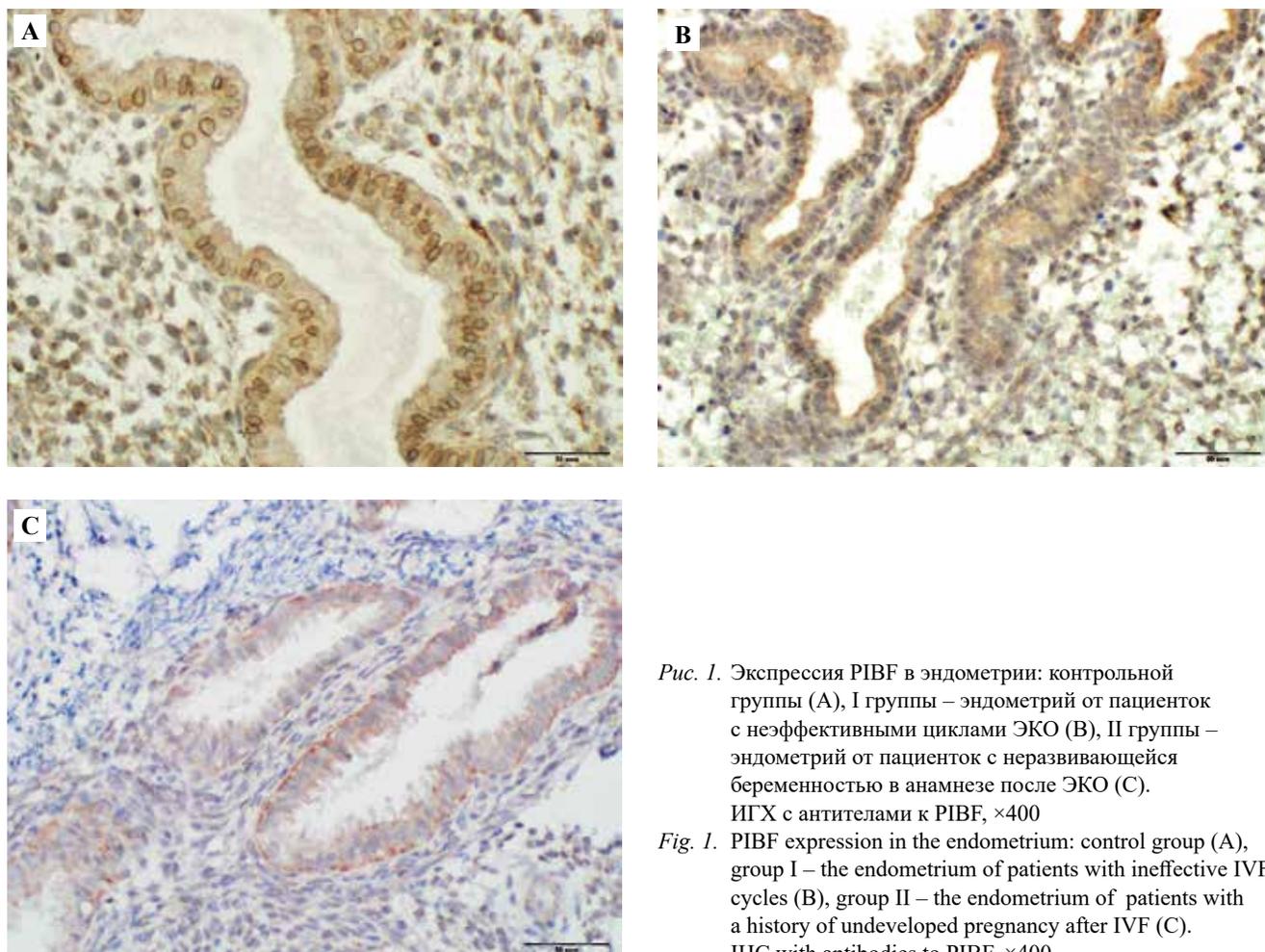
Для изучения влияния PIBF и SDF-1 на имплантационные свойства эндометрия иммуногистохимическое исследование проведено в среднюю стадию фазы секреции во всех группах.

В контрольной группе верифицировано равномерное распределение экспрессии PIBF в железах и строме эндометрия (рис. 1 А). В I и II группах при хроническом эндометрите выявлено неравномерное снижение экспрессии в стромальном компоненте эндометрия (рис. 1 В, С).

Результаты морфометрического исследования показали, что в среднюю стадию фазы секреции – период предполагаемого окна имплантации – при хроническом эндометрите верифицируется статистически значимое снижение площади экспрессии PIBF (табл. 1). В I группе у пациенток с хроническим эндометритом и неэффективными циклами ЭКО площадь экспрессии PIBF в железах и строме эндометрия была статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,0001$ ). При сравнении со II группой при хроническом эндометрите и неразвивающейся беременности после ЭКО значимое отличие не наблюдалось ( $p = 0,025$ ).

Аналогичная картина отмечалась во II группе – статистически значимое снижение площади экспрессии PIBF в железах и строме эндометрия по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,0001$ ).

Снижение экспрессии PIBF в железах и строме эндометрия средней стадии фазы секреции в I и II группах может свидетельствовать о нарушении имплантационных характеристик на фоне хронического эндометрита.



*Рис. 1.* Экспрессия PIBF в эндометрии: контрольной группы (А), I группы – эндометрий от пациенток с неэффективными циклами ЭКО (В), II группы – эндометрий от пациенток с неразвивающейся беременностью в анамнезе после ЭКО (С). ИГХ с антителами к PIBF,  $\times 400$

*Fig. 1.* PIBF expression in the endometrium: control group (A), group I – the endometrium of patients with ineffective IVF cycles (B), group II – the endometrium of patients with a history of undeveloped pregnancy after IVF (C). IHC with antibodies to PIBF,  $\times 400$

Таблица 1 | Table 1

**Экспрессия прогестерониндуцированного блокирующего фактора (PIBF) в эндометрии средней стадии фазы секреции Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>) | Expression of progesterone-induced blocking factor (PIBF) in the endometrium of the middle stage of the secretion phase (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)**

Группы   Groups	Железы   Glands	Строма   Stromal
Контрольная группа   Control group (n=25)	29,1 (26,1; 30,7)	26,90 (24,4; 29,4)
I группа   Group I (n=23)	11,44 (9,20; 15,39)	9,08 (7,57; 11,39)
II группа   Group II (n=21)	14,41 (10,91; 18,74)	8,55 (5,71; 12,6)
Тест Краскела–Уоллиса   Kruskal–Wallis test	H <sub>k-1</sub> =172,7 H <sub>k-2</sub> =137,3 H <sub>1-2</sub> =-35,47	H <sub>k-1</sub> =164,1 H <sub>k-2</sub> =172,2 H <sub>1-2</sub> =8,07
p-значение   p-value	p <sub>k-1</sub> <0,0001 p <sub>k-2</sub> <0,0001 p <sub>1-2</sub> =0,025	p <sub>k-1</sub> <0,0001 p <sub>k-2</sub> <0,0001 p <sub>1-2</sub> >0,99

Экспрессия SDF-1 также имела равномерное распределение в железах и стромальном компоненте эндометрия контрольной группы (рис. 2 А) в отличие от I и II групп (рис. 2 В, С).

При морфометрическом анализе верифицировано достоверное снижение площади экспрессии данного маркера в I и II группах по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

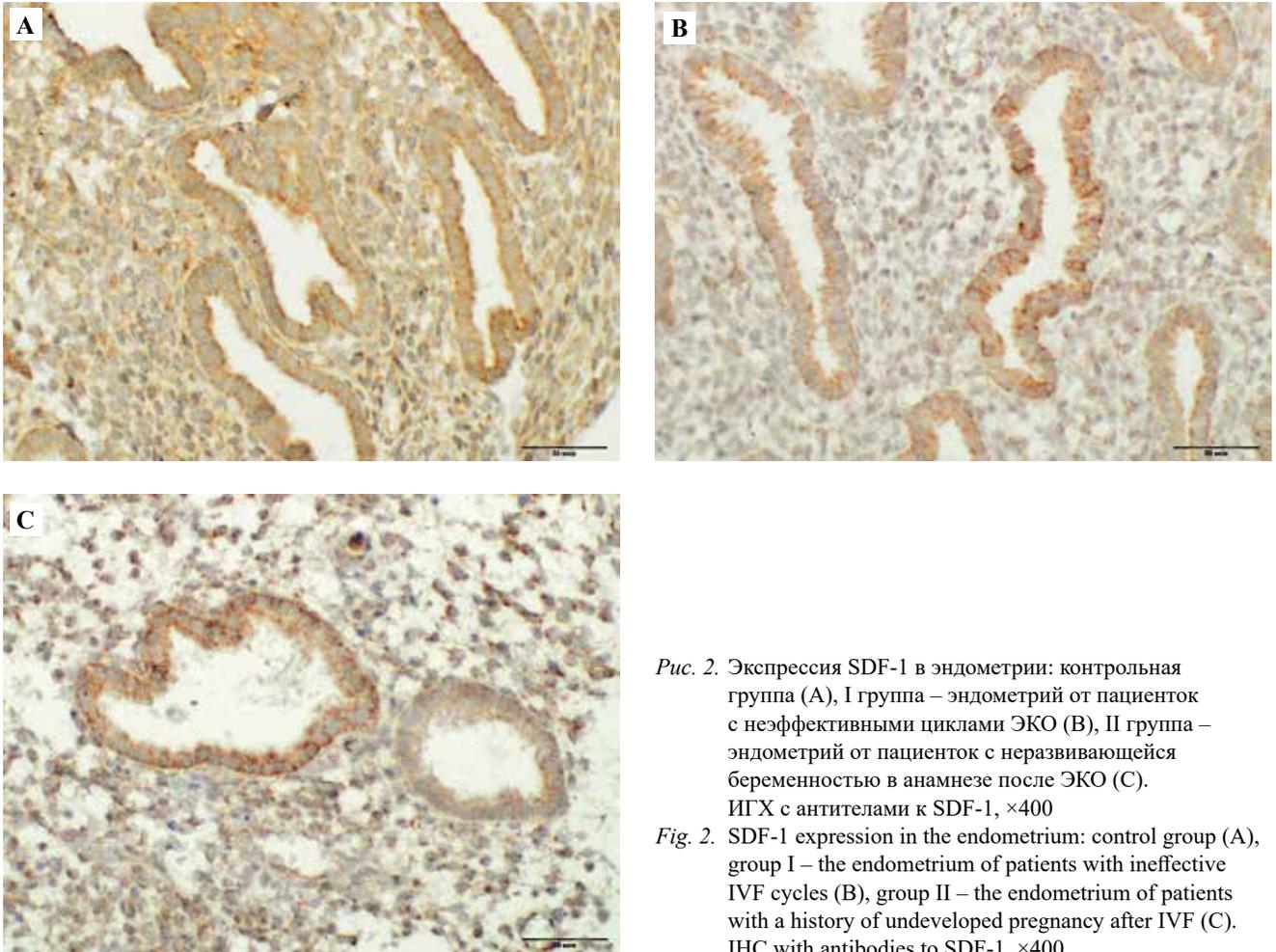


Рис. 2. Экспрессия SDF-1 в эндометрии: контрольная группа (А), I группа – эндометрий от пациенток с неэффективными циклами ЭКО (В), II группа – эндометрий от пациенток с неразвивающейся беременностью в анамнезе после ЭКО (С). ИГХ с антителами к SDF-1,  $\times 400$

Fig. 2. SDF-1 expression in the endometrium: control group (A), group I – the endometrium of patients with ineffective IVF cycles (B), group II – the endometrium of patients with a history of undeveloped pregnancy after IVF (C). IHC with antibodies to SDF-1,  $\times 400$

Таблица 2 | Table 2

**Экспрессия стромального клеточного фактора (SDF-1) в эндометрии средней стадии фазы секреции Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>) | Expression of stromal cell factor (SDF-1) in the endometrium of the middle stage of the secretion phase (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)**

Группы   Groups	Железы   Glands	Строма   Stromal
Контрольная группа   Control group (n=25)	24,90 (22,5; 30,07)	31,61 (30,01; 32,9)
I группа   Group I (n=21)	12,22 (9,31; 17,50)	9,2 (7,96; 13,81)
II группа   Group II (n=23)	17,88 (11,92; 21,44)	10,62 (8,09; 16,84)
Тест Краскела–Уоллиса   Kruskal–Wallis test	$H_{k-1}=142,8$ $H_{k-2}=90,51$ $H_{1-2}=-52,29$	$H_{k-1}=161,7$ $H_{k-2}=141,3$ $H_{1-2}=-14,36$
p-значение   p-value	$p_{k-1}<0,0001$ $p_{k-2}=0,0001$ $p_{1-2}=0,0003$	$p_{k-1}<0,0001$ $p_{k-2}<0,0001$ $p_{1-2}=0,85$

Полученные результаты свидетельствуют, что на фоне хронического эндометрита и нарушения структурно-функциональных характеристик эндометрия верифицируется снижение рецепторов эстрогена

и прогестерона, прогестерониндуцированного блокирующего фактора и стромального клеточного фактора в эндометрии пациенток с неэффективными циклами и неразвивающейся беременностью после ЭКО.

## Обсуждение

Многие классические работы, посвященные хроническому эндометриту, были опубликованы еще в прошлом веке, но не потеряли актуальность по настоящее время. Гистологические признаки хронического эндометрита не претерпели изменений и по-прежнему характеризуются диффузной и/или очаговой мононуклеарной инфильтрацией (моноциты, лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги), формированием фолликулоподобных структур, склерозом сосудов и фибропластическими изменениями в строме.

Известно, что в отличие от острого (экссудативного) воспаления, проявляющегося преимущественно процессами альтерации, сосудистыми реакциями, экссудацией, отеком и инфильтрацией нейтрофильными лейкоцитами, хроническое воспаление характеризуется продуктивной тканевой реакцией с наличием мононуклеарных клеток (макрофаги, лимфоциты и плазматические клетки) вплоть до образования крупных инфильтратов и гранулем, вторичным повреждением тканей с формированием склероза и деструкции, слабо выраженной экссудативной реакцией, незавершенным фагоцитозом.

Несмотря на разносторонние подходы к терапии хронического эндометрита, зачастую не удается достичь желаемого эффекта. Каждое повторное вмешательство в полость матки, изменение локального и общего иммунного статуса макроорганизма непосредственно или опосредованно отражается на характеристиках эндометрия и приводит к необратимым либо частично обратимым последствиям.

Патология рецепторного профиля эндометрия, обусловленная хроническим эндометритом, вероятно, служит причиной неэффективных циклов ЭКО и репродуктивных неудач при гистологически полноценной секреторной трансформации.

Результаты оценки рецепторного профиля эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом выявили снижение экспрессии рецепторов эстрогена (ER $\alpha$ ) и прогестерона (PR) в стромальном компоненте при неэффективных циклах ЭКО у 92% и у 100% пациенток с неразвивающейся беременностью после ЭКО.

Полученные результаты согласуются с данными литературы о значимом негативном влиянии хронического эндометрита на эффективность циклов ЭКО и развитие беременности [29].

L.E. Eisman et al. установили, что у пациенток, имеющих до трех неудач имплантации в анамнезе, выявлена сходная частота невосприимчивого эндометрия по сравнению с фертильными женщинами. Несмотря на персонализированный подход, у когорты данных пациенток верифицирована низкая частота наступления беременности и худшие перинатальные исходы, что, вероятно, связано с дополнительными факторами неудач имплантации, кроме гормональных [30].

Иммуногистохимическое исследование экспрессии P1BF показало, что в эндометрии средней стадии фазы

секреции у пациенток с неэффективными циклами ЭКО экспрессия маркера достоверно ниже по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты согласуются с исследованием M. Zhou et al., показавшим снижение экспрессии данного маркера в строме эндометрия пациенток с повторными неудачами имплантации после ЭКО [31].

Исследования I. Hudic et al. [32] и M.K. Lim [33] свидетельствуют о положительной корреляции уровней сывороточного прогестерона и P1BF и информативности уровня P1BF для прогноза исхода беременности у пациенток после протоколов ЭКО [32, 33]. У пациенток с неэффективными протоколами ЭКО отмечались более низкие средние концентрации P1BF в моче и сыворотке крови по сравнению с пациентками, у которых беременность наступила [32, 33].

Ранее было показано снижение экспрессии P1BF в гравидарном эндометрии при неразвивающейся беременности после ЭКО и нормальном кариотипе абортуса [34]. По нашему мнению, снижение экспрессии связано с дисбалансом рецепторного профиля и нарушением морфофункционального состояния исходного и гравидарного эндометрия.

Можно полагать, что снижение экспрессии P1BF в среднюю стадию фазы секреции в эндометрии пациенток с неэффективными циклами ЭКО и неразвивающейся беременностью после ЭКО по сравнению с контрольной группой демонстрирует изменение локальных иммунологических факторов на фоне структурных изменений при хроническом эндометрите.

SDF-1 участвует в эпителиально-стромальном взаимодействии через рецептор эстрогена- $\alpha$  (ER $\alpha$ ) в эндометрии и трофобласте, максимально экспрессируется в зоне имплантации, способствует ремоделированию спиральных артерий и имеет зависимость экспрессии от тканевой гипоксии [35, 36].

Децидуальные клетки способны саморегулировать экспрессию хемокиновых рецепторов под влиянием эстрогена и/или прогестерона перед наступлением беременности [37], и низкая частота имплантации после переноса высококачественных эмбрионов и невынашивание беременности могут быть напрямую связаны с патологией предимплантационной децидуализации [38].

Результаты этого исследования показали достоверное снижение экспрессии SDF-1 в железах и стромальном компоненте эндометрия средней стадии фазы секреции у пациенток с наличием хронического эндометрита при неэффективных циклах ЭКО и неразвивающейся беременностью после ЭКО по сравнению с контрольной группой. Межгрупповое сравнение I и II групп не выявило статистической разницы экспрессии данного маркера в железах и стромальном компоненте.

Таким образом, результаты комплексного морфологического исследования показали, что у пациенток с неэффективными циклами ЭКО и неразвивающейся беременностью после ЭКО эндометрий соответствует

фазе менструального цикла менее чем в 50% случаев (46 и 42%, соответственно). Нарушение распределения и снижение экспрессии рецепторного профиля эндометрия встречаются более чем в 92% случаев. Снижение экспрессии PIBF и SDF-1 в железах и стромальном компоненте эндометрия может явиться одной из причин нарушения имплантационной состоятельности эндометрия. Снижение выраженности воспалительного процесса в матке, несомненно, приведет к полному или частичному восстановлению полноценной трансформации эндометрия и увеличит шансы реализации репродуктивной функции.

### Заключение

Комплексное морфологическое исследование с оценкой рецепторного профиля эндометрия, экспрессии прогестерониндуцированного блокирующего фактора и стромального клеточного фактора-1 могут быть использованы в клинической практике как способ верификации причин неэффективных циклов экстракорпорального оплодотворения и повторных репродуктивных потерь после ЭКО.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Т.Г. Траль, Г.Х. Толибова.  
Сбор и обработка материала – Т.Г. Траль.  
Написание текста – Т.Г. Траль, Г.Х. Толибова.  
Редактирование – Г.Х. Толибова., И.Ю. Коган.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – T.G. Tral, G.Kh. Tolibova.  
Collected the data and performed the analysis – T.G. Tral.  
Wrote the paper – T.G. Tral, G.Kh. Tolibova.  
Edited the manuscript – G.Kh. Tolibova. I.Yu. Kogan.

### Литература/References

1. Михалева Л.М., Болтовская М.Н., Михалев С.А., Бабиченко И.И., Вандышева Р.А. Клинико-морфологические аспекты эндометриальной дисфункции, обусловленной хроническим эндометритом. Архив патологии. 2017;79(6):22–29. DOI: 10.17116/patol201779622-29.  
*Mikhaleva LM, Boltovskaya MN, Mikhalev SA, Babichenko II, Vandysheva RA.* Endometrial dysfunction caused by chronic endometritis: clinical and morphological aspects. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology.* 2017;79(6):22–29 (In Russ.). DOI: 10.17116/patol201779622-29.
2. Kitaya K, Takeuchi T, Mizuta S, Matsubayashi H, Ishikawa T. Endometritis: New time, new concepts. *Fertil Steril.* 2018;110(3):344–50. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.012.
3. Cicinelli E, Matteo M, Trojano G, Mitola PC, Tinelli R, Vitagliano A et al. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. *Am J Reprod Immunol.* 2018;79(1). DOI: 10.1111/aji.12782.
4. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A et al. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(5):951–60. DOI: 10.1111/jog.13937.
5. Казачков Е.Л., Воронаева Е.Е., Казачкова Э.А., Затворницкая А.В., Дуб А.А., Мирошниченко Л.Е. Морфологическая характеристика эндометрия у пациенток с миомой матки и хроническим эндометритом при бесплодии. Архив патологии. 2019;81(6):41–48. DOI: 10.17116/patol20198106141.  
*Kazachkov EL, Voropaeva EE, Kazachkova EA, Zatvornitskaya AV, Dub AA, Miroshnichenko LE.* Endometrial morphological characteristics in patients with hysteromyoma and chronic endometritis in infertility. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology.* 2019;81(6):41–48 (In Russ.). DOI: 10.17116/patol20198106141.
6. Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R, de Ziegler D, Ayoubi JM. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: Endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertil Steril.* 2021;115(3):546–60. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.12.010.
7. Радзинский В.Е., Петров Ю.А., Полина М.Л. Хронический эндометрит: современные аспекты. Кубанский научный медицинский вестник. 2017;24(5): 9–74. DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-5-69-74.  
*Radzinsky VE, Petrov YuA, Polina ML.* Chronic endometritis: Current aspects. *Kubanskii nauchnyi meditsinskii vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2017;24(5):69–74 (In Russ.). DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-5-69-74.
8. Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, Gonzalez-Monfort M, Bau D, Vilella F et al. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: A comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(6):602.e1–602.e16. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.02.012.
9. Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM. Uterine microbiota: Residents, tourists, or invaders? *Front Immunol.* 2018;9:208. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00208.
10. Liu Y, Chen X, Huang J, Wang CC, Yu MY, Laird S et al. Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure. *Fertil Steril.* 2018;109(5):832–9. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.01.022.
11. Hirata K, Kimura F, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, Hanada T et al. Histological diagnostic criterion for chronic endometritis based on the clinical outcome. *BMC Women's Health.* 2021;21(1):94. DOI: 10.1186/s12905-021-01239-y.
12. Оразов М.Р., Михалева Л.М., Хамошина М.Б., Силантьева Е.С., Орехов Р.Е., Лагутина Е.В. и др. Способ оценки имплантационной состоятельности эндометрия при повторных неудачах имплантации, ассоциированных с хроническим эндометритом. Патент Российской Федерации RU2746644C1. Заявитель и патентообладатель: Оразов Мекан Рахимбердыевич – № 2021101217. Заявлено 21.01.2021; опубликовано 19.04.2021. Бюллетень № 11.  
Orazov MR, Mikhaleva LM, Khamoshina MB, Silantjeva ES, Orekhov RE, Lagutina EV et al. Method for assessing the implantation viability of endometrium in repeated implantation failures associated with chronic endometritis. Patent No. RU2746644C1 Russian Federation. Applicant and patent holder is Orazov Mekan Rakhimberdyevich – No. 2021101217. Application 21.01.2021; published 19.04.2021. Bulletin No. 11.

13. *Valdes CT, Schutt A, Simon C.* Implantation failure of endometrial origin: It is not pathology, but our failure to synchronize the developing embryo with a receptive endometrium. *Fertil Steril.* 2017;108(1):15–18. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.033.
14. *Negishi Y, Shima Y, Takeshita T, Morita R.* Harmful and beneficial effects of inflammatory response on reproduction: Sterile and pathogen-associated inflammation. *Immunol Med.* 2021;44(2):98–115. DOI: 10.1080/25785826.2020.1809951.
15. *Sun Y, Zhang Y, Ma X, Jia W, Su Y.* Determining diagnostic criteria of unexplained recurrent implantation failure: A retrospective study of two vs three or more implantation failure. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:619437. DOI: 10.3389/fendo.2021.619437.
16. *Tarlatzis BC, Julia K, Bosdou JK, Kolibianakis EM.* What is recurrent implantation failure? In: EM Kolibianakis, CA Venetis (eds.). *Recurrent Implantation Failure.* 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 2019. P. 1–15. DOI: 10.1201/9781315165707-1.
17. *Steiner N, Shrem G, Tannus S, Dahan SY, Balayla J, Volodarsky-Perel A et al.* Effect of GnRH agonist and letrozole treatment in women with recurrent implantation failure. *Fertil Steril* 2019;112(1):98–104. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.03.021.
18. *Busnelli A, Reschini M, Cardellicchio L, Vegetti W, Somigliana E, Vercellini P.* How common is real repeated implantation failure? An indirect estimate of the prevalence. *Reprod Biomed Online.* 2020;40(1):91–7. DOI: 10.1016/j.rbmo.2019.10.014.
19. *Толибова Г.Х.* Патогенетические детерминанты эндометриальной дисфункции у пациенток с миомой матки. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2018;67(1):65–72. DOI: 10.17816/JOWD67165-72.  
*Tolibova GH.* Pathogenetic determinants of endometrial dysfunction in patients with mioma. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2018;67(1):65–72 (In Russ.). DOI: 10.17816/JOWD67165-72.
20. *Ludwin A, Martins WP, Nastri CO, Ludwin I, Coelho Neto MA, Leitão VM et al.* Congenital Uterine Malformation by Experts (CUME): Better criteria for distinguishing between normal/arcuate and septate uterus? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(1):101–9. DOI: 10.1002/uog.18923.
21. *Takahashi N, Harada M, Tanabe R, Takayanagi A, Izumi G, Oi N et al.* Factors associated with successful pregnancy in women of late reproductive age with uterine fibroids who undergo embryo cryopreservation before surgery. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018;44(10):1956–62. DOI: 10.1111/jog.13754.
22. *Alfer J, Fattahi A, Bleisinger N, Krieg J, Behrens R, Dittrich R et al.* Endometrial dating method detects individual maturation sequences during the secretory phase. *In Vivo.* 2020;34(4):1951–63. DOI:10.21873/invivo.11992.
23. *Shaulov T, Sierra S, Sylvestre C.* Recurrent implantation failure in IVF: A Canadian Fertility and Andrology Society Clinical Practice Guideline. *Reprod Biomed Online.* 2020;41(5):819–33. DOI: 10.1016/j.rbmo.2020.08.007.
24. *Craciunas L, Gallos I, Chu J, Bourne T, Quenby S, Brosens JJ et al.* Conventional and modern markers of endometrial receptivity: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2019;25(2):202–23. DOI: 10.1093/humupd/dmy044.
25. *Радзинский В.Е., Оразов М.Р., Токтар Л.Р., Михалева Л.М., Силантьева Е.С., Орехов П.Е. и др.* Вклад хроническо-го эндометрита в нарушения репродуктивной системы у пациенток с повторными неудачами имплантации. *Гинекология.* 2021;23(1):102–106. DOI: 10.26442/20795696.2021.1.200671.  
*Radzinsky VE, Orazov MR, Toktar LR, Mikhaleva LM, Silanteva ES, Orekhov RE et al.* The contribution of chronic endometritis to reproductive system disorders in patients with repeated implantation failures. *Gynecology.* 2021;23(1): 102–106 (In Russ.). DOI: 10.26442/20795696.2021.1.200671.
26. *Makrygiannakis A, Makrygiannakis F, Vrekoussis T.* Approaches to improve endometrial receptivity in case of repeated implantation failures. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:613277. DOI: 10.3389/fcell.2021.613277.
27. *Mor G, Aldo P, Alvero AB.* The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(8): 469–82. DOI: 10.1038/nri.2017.64.
28. *Shah NM, Imami N, Johnson MR.* Progesterone modulation of pregnancy-related immune responses. *Front Immunol.* 2018;9:1293. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01293.
29. *Бурова Н.А., Заболотнева К.О., Аболонина О.В., Ярыгин О.А., Шатилова Ю.А., Жаркин Н.А.* Восстановление рецептивности эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом под влиянием физических факторов воздействия. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* 2019;4(72):29–32. DOI: 10.19163/1994-9480-2019-4(72)-29-32.  
*Burova NA, Zabolotneva KO, Abolonina OV, Yarygin OA, Shatilova YuA, Zharkin NA.* Response of endometrial receptivity in women with chronic endometritis under influence of physical exposure factors. *Journal of Volgograd State Medical University.* 2019;4(72):2–32 (In Russ.). DOI: 10.19163/1994-9480-2019-4(72)-29-32.
30. *Eisman LE, Pisarska MD, Wertheimer S, Chan JL, Akopians AL, Surrey MW et al.* Clinical utility of the endometrial receptivity analysis in women with prior failed transfers. *J Assist Reprod Genet.* 2021;38(3):645–50. DOI: 10.1007/s10815-020-02041-9.
31. *Zhou M, Xu H, Zhang D, Si C, Zhou X, Zhao H et al.* Decreased PIBF1/IL6/p-STAT3 during the mid-secretory phase inhibits human endometrial stromal cell proliferation and decidualization. *J Adv Res.* 2020;30:15–25. DOI: 10.1016/j.jare.2020.09.002.
32. *Hudic I, Szekeres-Bartho J, Vrtacnik EB, Virant Klun I, Brkic S, Frangez HB et al.* Progesterone induced blocking factor (PIBF) taken in early pregnancy predicts the pregnancy outcome in women undergoing in vitro fertilization procedure. *J Reprod Immunol.* 2020;140:103150. DOI: 10.1016/j.jri.2020.103150.
33. *Lim MK, Ku CW, Tan TC, Lee YHJ, Allen JC, Tan NS.* Characterisation of serum progesterone and progesterone-induced blocking factor (PIBF) levels across trimesters in healthy pregnant women. *Sci Rep.* 2020;10(1):3840. DOI: 10.1038/s41598-020-59452-y.
34. *Траль Т.Г., Толибова Г.Х., Коган И.Ю.* Экспрессия PIBF в гравидарном эндометрии при репродуктивных потерях первого триместра после экстракорпорального оплодотво-

- рения. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(2):63–70. DOI: 10.31088/CEM2022.11.2.63-70.  
 Tral TG, Tolibova GK, Kogan IYu. PIBF expression in the gravid endometrium in early pregnancy loss following assisted reproductive technologies. Clinical and experimental morphology. 2022;11(2):63–70 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.2.63-70.
35. Zheng J, Wang H, Zhou W. Modulatory effects of trophoblast-secreted CXCL12 on the migration and invasion of human first-trimester decidual epithelial cells are mediated by CXCR4 rather than CXCR7. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):17. DOI: 10.1186/s12958-018-0333-2.
36. Dimova I, Rizov M, Giragosyan S, Koprinarova M, Tzoneva D, Belemezova K et al. Molecular pathogenesis of spontaneous abortions – Whole genome copy number analysis and expression of angiogenic factors. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2020;59(1):99–104. DOI: 10.1016/j.tjog.2019.11.015.
37. Zhou WH, Wu X, Hu WD, Du MR. Co-expression of CXCR4 and CXCR7 in human endometrial stromal cells is modulated by steroid hormones. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(3):2449–60. PMID: 26045751.
38. Okada H, Tsuzuki T, Murata H. Decidualization of the human endometrium. *Reprod Med Biol.* 2018;17(3):220–7. DOI: 10.1002/rmb2.12088.

### Информация об авторах

Татьяна Георгиевна Траль – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией иммуногистохимии патологоанатомического отделения НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.

Гулрухсор Хайбуллоевна Толибова – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующая отделом патоморфологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, доцент кафедры акушерства и гинекологии имени С.Н. Давыдова Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова.

Игорь Юрьевич Коган – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта.

### Author information

Tatyana G. Tral – Cand. Sci. (Med.), Head of the Immunohistochemistry Laboratory of the Pathology Department, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Associate Professor, Department of Pathological Anatomy with course of Forensic Medicine, St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of Russia.  
<https://orcid.org/0000-0001-8948-4811>

Gulrukhsor Kh. Tolibova – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Head of the Pathomorphology Department, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Associate Professor, S.N. Davydov Department of Obstetrics and Gynecology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University of the Ministry of Health of Russia.  
<https://orcid.org/0000-0002-6216-6220>

Igor Yu. Kogan – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Science, Director, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology.  
<https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>

## Клинико-морфологическая оценка рубцов на матке после кесарева сечения у пациенток с гинекологическими и экстрагенитальными заболеваниями

Н.М. Маркарян<sup>1,4</sup>, Р.А. Вандышева<sup>2</sup>, Н.В. Низяева<sup>2</sup>, З.В. Гюева<sup>2</sup>,  
С.А. Михалев<sup>3</sup>, М.Б. Хамошина<sup>1</sup>, Л.М. Михалева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

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

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

<sup>4</sup> ГБУЗ Городская клиническая больница № 29 имени Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

**Резюме.** *Введение.* В статье приведены исследования иссеченных рубцов на матке после кесарева сечения (КС), выполненного по двум методам зашивания разреза на матке: Гусакова и Штарка. Оценены влияние гинекологических и экстрагенитальных заболеваний на состоятельность рубца на матке, а также метода зашивания разреза при КС и давности его проведения. Как известно, наличие рубца на матке часто является основным показанием к повторному КС, что увеличивает число проводимых операций. Тем не менее при состоятельности рубца целесообразно вести роды через естественные родовые пути. В настоящее время увеличение числа родов с рубцом на матке через естественные родовые пути – важная задача в акушерстве. Таким образом, целью нашего исследования стало проведение комплексной клинико-морфологической оценки рубцов на матке после КС у пациенток с гинекологическими и экстрагенитальными заболеваниями.

*Материалы и методы.* Материалом исследования явились образцы рубцовой ткани на матке после предыдущего КС от 68 пациенток. Проводилось патоморфологическое исследование со стандартным окрашиванием гематоксилином и эозином, по Маллори, а также иммуногистохимическое исследование с антителами к коллагену IV типа, виментину, десмину, фактору фон Виллебранда.

*Результаты.* Определено, что у большинства пациенток (56 из 68 родильниц, 82,3%) рубцы на матке являются состоятельными с полным замещением дефекта мышечной (63,2%) или соединительной тканью (19,1%) вне зависимости от давности операции и метода зашивания, что подтверждено окрашиванием по Маллори и иммуногистохимическим исследованием с панелью антител. Показано, что на избыточное содержание фиброзной ткани в рубце может влиять дисплазия соединительной ткани, о которой косвенно свидетельствует наличие миопии у пяти пациенток с состоятельными фиброзными рубцами. У 12 из 68 родильниц (17,6%) диагностированы несостоятельные рубцы (по патоморфологическим критериям) с резким отеком, кровоизлияниями, разволокнением ткани и неравномерным истончением. У пациенток с несостоятельными рубцами на матке наблюдались экстрагенитальные заболевания: сахарный диабет 2-го типа (36,4%) и анемия (18,2%). Влияние гинекологических заболеваний на состоятельность рубца у пациенток не выявлено.

*Заключение.* Наше исследование показало, что на заживление послеоперационной раны на матке и ее регенерацию в большей степени влияет наличие экстрагенитальных заболеваний (сахарный диабет 2-го типа, анемия, дисплазия соединительной ткани), ассоциированных с метаболическими нарушениями и оказывающих системное воздействие на организм. Метод зашивания разреза после КС не влиял на состоятельность рубца. При этом рубцы после КС с зашиванием раны по методу Штарка имели достоверно большее количество соединительной ткани, чем мышечной.

**Ключевые слова:** кесарево сечение, несостоятельный рубец на матке, сахарный диабет 2-го типа, анемия, дисплазия соединительной ткани, патоморфологическое исследование, иммуногистохимическое исследование

**Для корреспонденции:** Росица Андреевна Вандышева. E-mail: rositsamok@gmail.com

**Для цитирования:** Маркарян Н.М., Вандышева Р.А., Низяева Н.В., Гюева З.В., Михалев С.А., Хамошина М.Б., Михалева Л.М. Клинико-морфологическая оценка рубцов на матке после кесарева сечения у пациенток с гинекологическими и экстрагенитальными заболеваниями. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):34–45. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.34-45.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Статья поступила** 05.07.2022. **Получена после рецензирования** 07.09.2022. **Принята в печать** 12.12.2022.

## Clinical and morphological assessment of uterine scars after cesarean section in patients with gynecological and extragenital diseases

*N.M. Markaryan<sup>1,4</sup>, R.A. Vandysheva<sup>2</sup>, N.V. Nizyaeva<sup>2</sup>, Z.V. Gioeva<sup>2</sup>, S.A. Mikhalev<sup>3</sup>, M.B. Khamoshina<sup>1</sup>, L.M. Mikhaleva<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, Russia

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> N.E. Bauman City Clinical Hospital No. 29 of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** The article studies excised scars on the uterus after Gusakov's and Stark's cesarean sections, with an assessment of the impact of gynecological and extragenital diseases on the viability of the scar. Cesarean scar pregnancy is known to be a frequent indication for surgical delivery. However, if the uterine scar is stable, it is advisable to deliver the baby through the natural birth canal. At present, natural delivery of pregnant women with a scar on the uterus through natural childbirth is an important task in modern obstetrics. Thus, the aim of our study was to perform a multifaceted clinical and morphological evaluation of uterine scars after cesarean section in patients with gynecological and extragenital diseases.

**Materials and methods.** We analyzed samples of scar tissue on the uterus after cesarean section performed in 68 patients. A pathomorphological study was carried out with Mallory staining with hematoxylin and eosin. Immunohistochemical study was performed with antibodies to collagen IV, vimentin, desmin, and von Willebrand factor.

**Results.** In 56 out of 68 puerperas (82.3%), the scars on the uterus were stable with complete replacement of the defect with muscle (63.2%) or connective tissue (19.1%), regardless of the operation duration and the suturing technique. This was confirmed by additional diagnostic methods (Mallory stain and IHC with an antibody panel). We found that connective tissue dysplasia, which is indirectly indicated by the presence of myopia in 5 patients with wealthy fibrous scars, can affect excessive connective tissue in the scar. Twelve out of 68 puerperas (17.6%) had the scars (according to pathomorphological criteria) with severe edema, hemorrhages, tissue with different fibers, and uneven thinning. These patients had extragenital diseases, such as type 2 diabetes mellitus (36.4%) and anemia (18.2%). We did not reveal any influence of existing gynecological diseases on the scar stability.

**Conclusion.** The healing of the postoperative uterine wound was mostly influenced by extragenital diseases (type 2 diabetes mellitus, anemia, connective tissue dysplasia) associated with metabolic disorders and having systemic effects on the body. The Gusakov's or Stark's incision closure techniques did not affect the quality of the scar. However, the scars after cesarean section using the Stark incision technique had significantly more connective than muscular tissue.

**Keywords:** cesarean section, incompetent uterine scar, type 2 diabetes mellitus, anemia, connective tissue dysplasia, pathological examination, immunohistochemical study

**Corresponding author:** Rositsa A. Vandysheva. E-mail: rositsamok@gmail.com

**For citation:** Markaryan N.M., Vandysheva R.A., Nizyaeva N.V., Gioeva Z.V., Mikhalev S.A., Khamoshina M.B., Mikhaleva L.M. Clinical and morphological assessment of uterine scars after caesarean section in patients with gynecological and extragenital diseases. Clin. exp. morphology (In Russ.). 2023;12(1):34–45 DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.34-45.

**Funding.** The study was carried out within the framework of budget financing.

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

**Received** 05.07.2022. **Received in revised form** 07.09.2022. **Accepted** 12.12.2022.

### Введение

Частота выполнения кесарева сечения (КС) продолжает расти во всем мире, что ведет к увеличению популяции женщин с рубцами на матке при повторной беременности [1, 2]. По данным Росстата, доля оперативных родоразрешений путем КС в 2020 году в Российской

Федерации составила 30,3% [3]. Ретроспективное исследование Л.С. Логутовой показало, что зачастую первое КС проводится недостаточно обоснованно [4]. Наиболее грозным осложнением КС является разрыв матки при последующих беременностях (около 1,5% клинических наблюдений) [5–8]. Ведение пациенток

осложняется возможной несостоятельностью рубца на матке после КС, формирующегося при неадекватной хирургической технике [9]. Так, техника однослойного шва, по данным ряда исследований, значительно чаще была связана с более высоким риском разрыва стенки матки в области рубца [10], поэтому его наличие становится основным показанием к выполнению повторных КС, при проведении которых частота осложнений возрастает в 3–4 раза [11]. Особое внимание к технике выполнения КС обусловлено поиском оптимального метода зашивания разреза на матке. Наиболее распространенными методами зашивания разреза на матке в России являются два: Гусакова и Штарка. По методу Штарка матку зашивают однорядным швом, что ведет к снижению времени операции и потребности в шовном материале [12]. Авторы метода предполагали, что при этой хирургической технике уменьшается повреждение ткани и снижается объем инородного материала в ране, что существенно сокращает операционные и послеоперационные осложнения. Метод зашивания стенки матки по Гусакову отличается использованием двухрядного шва. Большинство исследователей полагают, что двухрядные швы характеризуются большей эффективностью и лучшим заживлением тканей, что связано с их точным сопоставлением [13, 14].

Многие исследования показывают взаимосвязь не только с техникой операции, но и с порядком проведения. Если КС было выполнено по экстренным показаниям, в дальнейшем рубцы чаще имеют признаки несостоятельности и повышенный риск разрыва [13]. К факторам риска несостоятельности относят воспалительные заболевания и реакцию на шовный материал как на инородное тело [15]. Роль соматических и гинекологических заболеваний на заживление послеоперационной раны исследована недостаточно глубоко. Большая часть этих работ посвящена воспалительному и инфекционному процессам у родильниц в раннем послеоперационном периоде [2], поэтому вопрос об определении основных факторов риска, влияющих на состоятельность рубцов, остается в настоящее время актуальным. Цель исследования – провести комплексную клинко-морфологическую оценку рубцов на матке после кесарева сечения у пациенток с гинекологическими и экстрагенитальными заболеваниями.

## Материалы и методы

Материалом исследования явились иссеченные рубцы от 68 пациенток после КС, проведенного по двум методам зашивания разреза на матке: Гусакова (33 пациентки) и Штарка (35 пациенток).

В группу зашивания разреза по методу Гусакова были внесены клинические наблюдения после КС, проведенного по следующей технике: в нижнем сегменте матки, в центральной части, проводится разрез длиной 2 см с расширением его тупым способом до 12–15 см; для зашивания раны после КС используется модификация двухрядного шва: 1-й ряд – непрерывные

викриловые слизисто-мышечные швы; 2-й ряд – непрерывные викриловые серозно-мышечные швы.

В группу зашивания разреза по методу Штарка вошли клинические наблюдения после КС, проведенного по следующей технике: миометрий разрезают поперек средней линии без вскрытия плодного пузыря, затем проводят вскрытие и раздвигают края раны в латеральные стороны пальцами; разрез миометрия зашивают одним слоем непрерывного обвивного шва с захлестом (блокировкой) по Ревердену.

В исследуемые группы были включены пациентки, у которых по данным анамнеза в послеоперационном периоде не выявлены гнойные осложнения.

Тканевые фрагменты иссеченных рубцов фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Далее проводили гистологическую проводку с помощью гистологического процессора фирмы Leica ASP S (Leica Microsystems, Германия). Срезы толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по методике Маллори. Иммуногистохимическое окрашивание осуществляли на иммунопейнере Bond-max Leica (Leica Microsystems, Германия) с помощью моноклональных антител к коллагену IV (CIV22, Cell Marque, США), виментину (Clone V9, Dako, Дания), десмину (Desmin Bond RTU Primary, DE-R-11, Leica, Великобритания), фактору фон Виллебранда (Vwf, Dako, Дания). Оценку экспрессии иммуногистохимических маркеров проводили двумя способами: количественным (путем подсчета количества окрашенных клеток на 100 клеток в 10 полях зрения при  $\times 400$ ) и полуколичественным (по интенсивности экспрессии маркеров – слабая, умеренная и выраженная). Морфометрическое исследование проводили на микрофотографиях, снятых с помощью микроскопа с фотокамерой Leica (Leica Microsystems, Германия), в программе Aperio Image Scope M (Leica Microsystems, Германия). Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 10.0 и StatTech v. 2.8.1 (ООО «Статтех», Россия) с использованием параметрических и непараметрических критериев: U-критерия Манна–Уитни, критерия Краскела–Уоллиса, хи-квадрата Пирсона, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма, различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

По клиническим данным, 80,9% рубцов были расценены как состоятельные и 19,1% как несостоятельные, которые в период родов проявились симптомами слабости родовой деятельности. Все пациентки с несостоятельными рубцами прооперированы в экстренном порядке. Время между КС у родильниц с несостоятельными рубцами составило в группе по методу зашивания раны по Гусакову 5,5 года (от 4 до 7 лет), а в группе по методу зашивания по Штарку 5,7 года (3–10 лет). По данным УЗИ в группе зашивания раны по Гусакову средняя толщина несостоятельных рубцов составила 1,9 мм, в группе зашивания раны по Штарку 2,5 мм.

Основными показаниями к проведению повторного КС явились рубец на матке (76,5%), аномалия родовой деятельности (17,6%), сочетанные факторы (4,4%), преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (1,5%). Характер выполнения КС был как в экстренном, так и в плановом порядке в соотношении 1:1.

Повторная беременность протекала в 35,3% наблюдений без осложнений. У остальных 64,7% пациенток отмечались фетоплацентарная недостаточность (16,2%), ОРВИ (13,2%), преэклампсия (10,3%), вагиноз (8,8%), маловодие (7,4%), дородовое излитие околоплодных вод (4,4%), тазовое предлежание плода (4,4%).

Проведенное патоморфологическое исследование рубцов на матке от 68 пациенток после КС показало, что 82,3% (56 рожениц) имели состоятельный рубец. Из них у 63,2% диагностированы состоятельные рубцы, представленные преимущественно мышечной тканью, – мышечные, с прослойками соединительнотканых волокон и выраженной васкуляризацией (рис. 1). У 19,1% из 82,3% женщин сформировались

состоятельные плотные рубцы из зрелой соединительной ткани – фиброзные, без участков разрыхления или отека (рис. 2). Состоятельные мышечные и состоятельные фиброзные рубцы выявлены в обеих исследованных группах.

Несостоятельные рубцы на матке по патоморфологическим признакам диагностированы у 12 из 68 рожениц (17,6%), в равной доле в обеих группах. При этом клинически и патоморфологически были подтверждены несостоятельные рубцы только у четырех пациенток (5,9%). Остальные восемь пациенток (11,7%) с патоморфологическим подтверждением несостоятельности рубцов на матке не имели соответствующих клинических проявлений. Девять других наблюдений с клинической картиной несостоятельности рубца на матке не получили последующего подтверждения при патоморфологическом исследовании.

Особенностью несостоятельных рубцов являлось разволокнение зрелой соединительной и мышечной ткани с выраженным отеком, кровоизлияниями и потерей компактности (рис. 3).

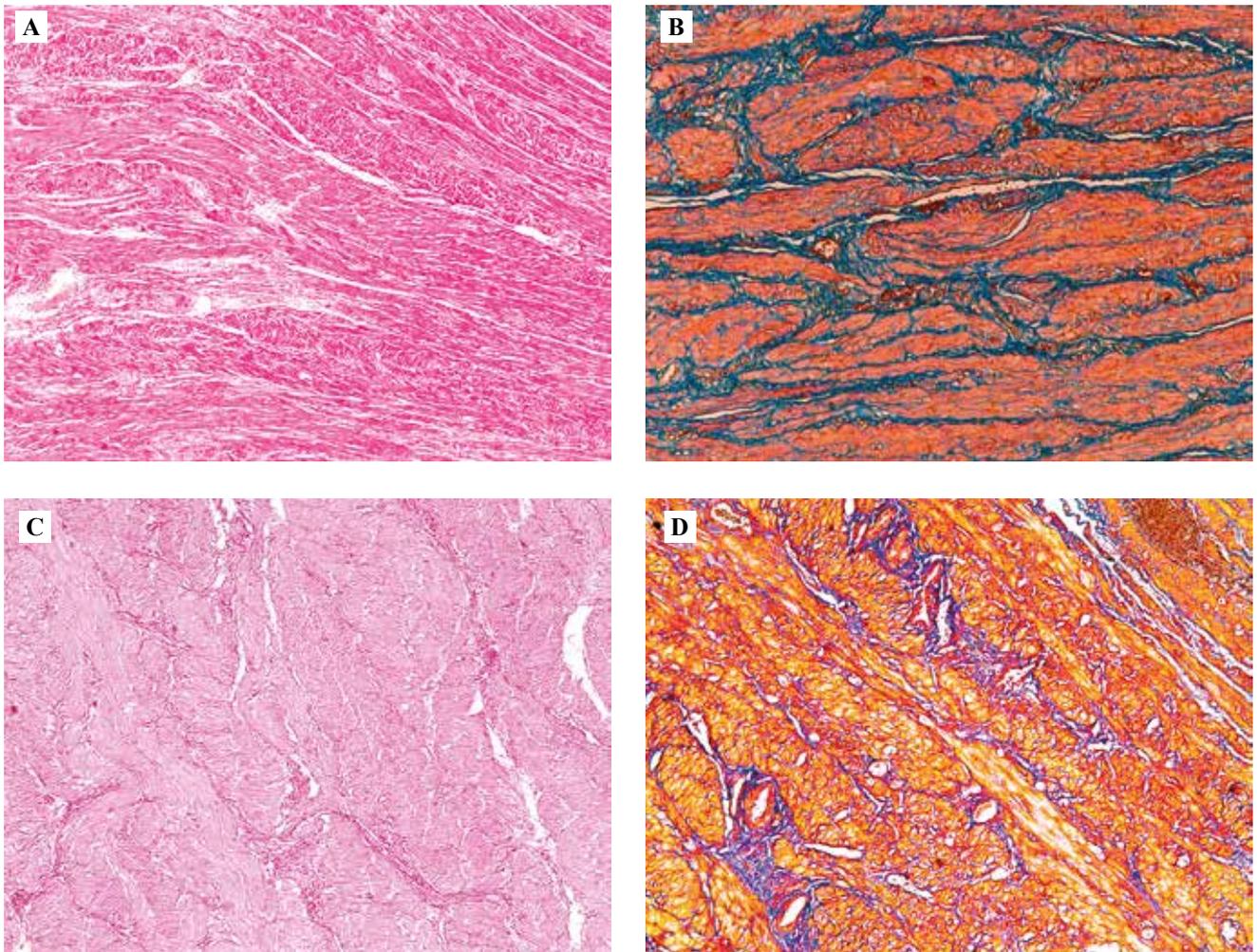


Рис. 1. Рубец на матке после КС по двум методам зашивания разреза на матке: Гусакова (А, В) и Штарка (С, D). Окраска гематоксилином и эозином (А, С), по Маллори (В, D),  $\times 50$

Fig. 1. Uterine scar after CS: Gusakov's (A, B) and Stark's (C, D) techniques. H&E stain (A, C), Mallory stain (B, D),  $\times 50$

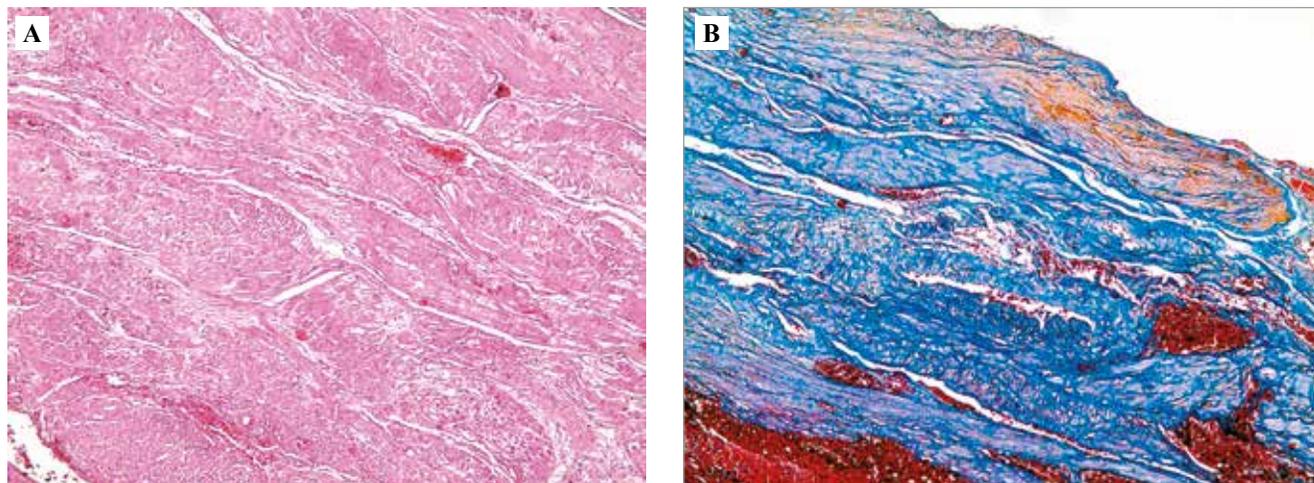


Рис. 2. Рубец на матке, состоящий из зрелой соединительной ткани с полнокровными кровеносными сосудами и участками кровоизлияний, после КС с методом зашивания разреза на матке по Штарку. Окраска гематоксилином и эозином (А), по Маллори (В),  $\times 200$

Fig. 2. Uterine scar consisting of mature connective tissue with congestive blood vessels and hemorrhages after Stark's CS closure technique. H&E stain (A), Mallory stain (B),  $\times 200$

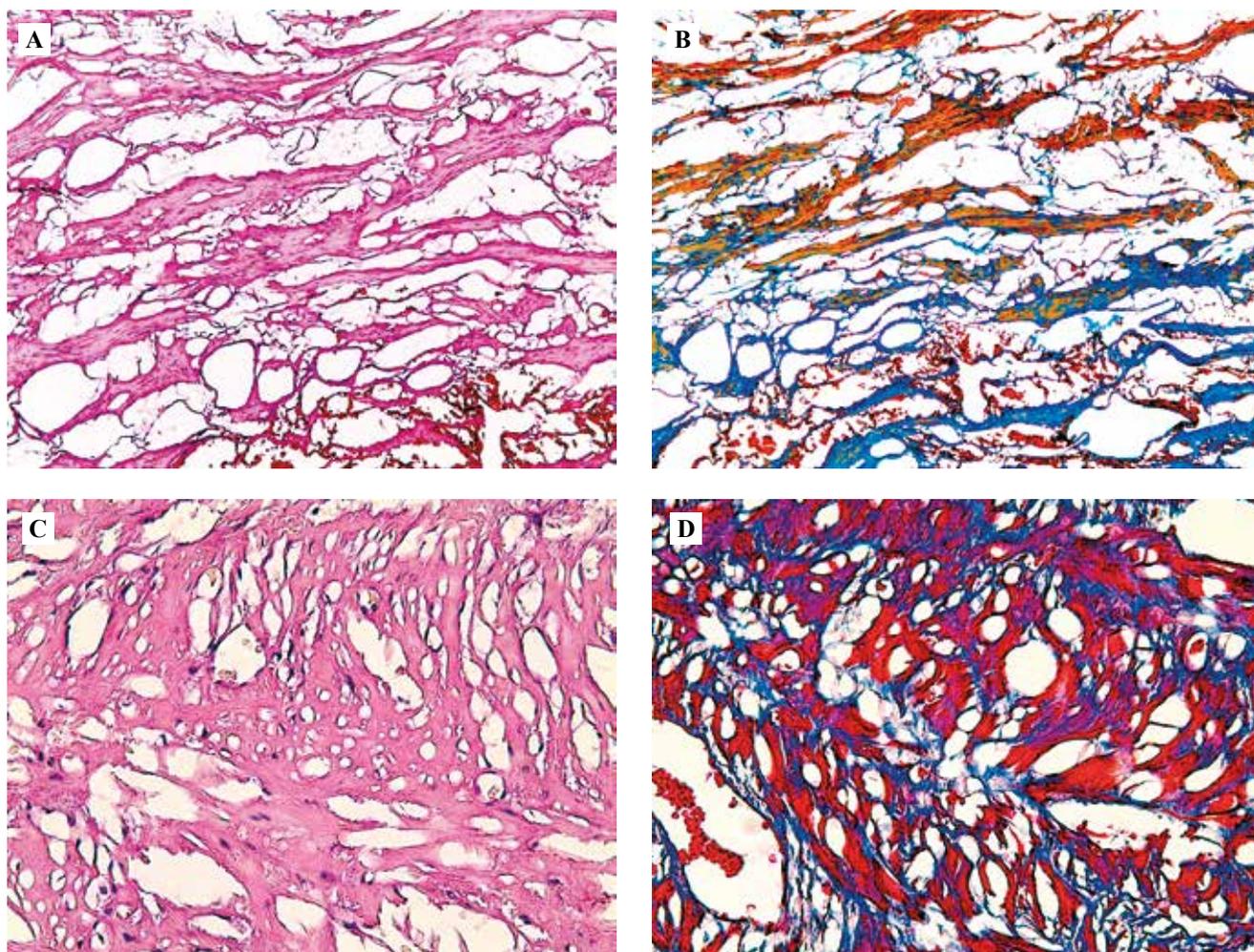


Рис. 3. Несостоятельные рубцы на матке после КС по двум методам зашивания рубца на матке: Гусакова (А, В) и Штарка (С, D). Окраска гематоксилином и эозином (А, С), по Маллори (В, D). А, В –  $\times 50$ ; С, D –  $\times 200$

Fig. 3. Unstable uterine scars after Gusakov's (A, B) and Stark's (C, D) CS closure techniques. H&E stain (A, C), Mallory stain (B, D). A, B –  $\times 50$ ; C, D –  $\times 200$

Таблица 1 | Table 1

**Анализ показателей «Возраст» и «Время между КС (в годах)» в зависимости от показателя «Морфологический тип рубца» |  
Analysis of the indicator “Age” and “Time between CS (in years)” depending on the indicator “Morphological type of scar”**

Морфологический тип рубца   Morphological type of scar	Возраст, лет   Age, years			p
	Me	Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub>	n	
Состоятельный (мышечный)   Stable (muscular)	32	28–35	43	0,604
Состоятельный (фиброзный)   Stable (fibrous)	29	28–34	13	
Несостоятельный   Unstable	32	30–36	12	
Морфологический тип рубца   Morphological type of scar	Время между КС (в годах)   Time between CS (in years)			p
	Me	Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub>	n	
Состоятельный (мышечный)   Stable (muscular)	6	2–8	43	0,333
Состоятельный (фиброзный)   Stable (fibrous)	6	4–9	13	
Несостоятельный   Unstable	6	6–8	12	

Данные рубцы на матке были у пациенток старше 32 лет и во временном промежутке между КС от 4 лет (в среднем 6,8 года) (табл. 1). При ультразвуковом исследовании толщина несостоятельных рубцов составляла около 2,2 мм, что в среднем оказалось больше, чем состоятельных мышечных или фиброзных рубцов, – это, на наш взгляд, связано преимущественно с наличием отека.

Проведенное иммуногистохимическое исследование состоятельных и несостоятельных рубцов на матке также показало, что в рубцах, представленных преимущественно мышечной тканью, отмечались выраженная экспрессия десмина в 90% клеток и умеренная экспрессия коллагена IV типа в межклеточном пространстве и вдоль нервно-сосудистого пучка (рис. 4 А, С). В состоятельных рубцах на матке, образованных зрелой соединительной тканью, отмечались выраженная экспрессия коллагена IV типа и умеренная экспрессия десмина (от 15 до 38% клеток) (рис. 4 В, D). Такая же реакция наблюдалась и в несостоятельных рубцах. Количество и диаметр кровеносных сосудов в разных типах рубцов при этом не отличались.

Выраженная реакция к виментину в состоятельных мышечных рубцах была преимущественно вдоль нервно-сосудистых пучков, в то время как в состоятельных фиброзных рубцах отмечалось диффузное распределение экспрессии маркера (рис. 5 А, С). Иммуногистохимическая оценка кровоснабжения рубцов не показала разницы в наблюдениях с исходом в состоятельный мышечный или фиброзный рубец (рис. 5 В, D).

При оценке показателя «Время между КС (в годах)» нам не удалось выявить различий между морфологическими типами рубцов (p=0,333). На состоятельность рубца статистически значимо не влиял и выбор метода зашивания операционной раны на матке при КС (p=0,609) (рис. 6). Тем не менее при зашивании операционной раны по методу Штарка достоверно больше развивается соединительная ткань (p=0,033) (табл. 2). При оценке соотношения площади мышечной ткани к соединительной не было выявлено статистически значимых различий в зависимости от выбора метода зашивания стенки матки (p=0,367).

Таблица 2 | Table 2

**Анализ показателя «Площадь соединительной ткани (мкм<sup>2</sup>)» в зависимости от метода |  
Analysis of the indicator “Area of connective tissue (μm<sup>2</sup>)” depending on the method**

Метод   Method	Площадь соединительной ткани, мкм <sup>2</sup>   Connective tissue area, μm <sup>2</sup>			p
	Me	Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub>	n	
Метод Гусакова   Gusakov's method	421 000	321 000–731 000	33	0,033*
Метод Штарка   Stark's method	680 000	476 000–1 003 000	35	

\* – различия показателей статистически значимы (p<0,05)

\* – differences in indicators are statistically significant (p<0.05)

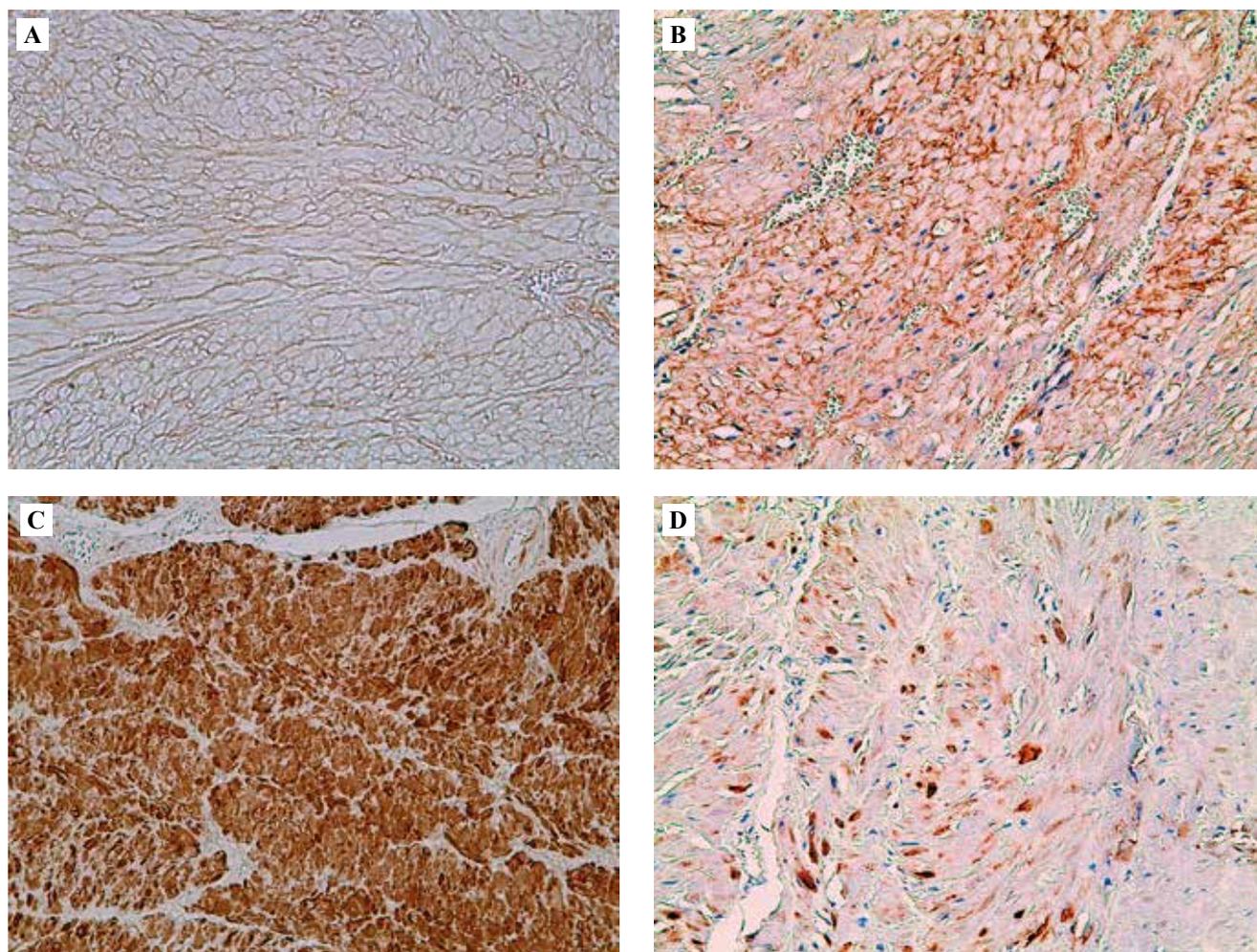


Рис. 4. Рубцы на матке после КС с преобладанием мышечной ткани (А, С) и соединительной ткани (В, D).

Иммуногистохимическая реакция с маркерами к коллагену IV типа (А –  $\times 100$ ; В –  $\times 200$ ) и десмину (С –  $\times 100$ ; D –  $\times 200$ )

Fig. 4. Uterine scars after CS with predominant muscle tissue (A, C) and connective tissue (B, D). IHC assay with antibodies to type IV collagen (A –  $\times 100$ ; B –  $\times 200$ ) and desmin (C –  $\times 100$ ; D –  $\times 200$ )

Таблица 3 | Table 3

**Частота встречаемости гинекологических заболеваний у рожениц с разными морфологическими типами рубцов на матке | The frequency of occurrence of gynecological diseases in puerperas having different morphological types of scars on the uterus**

Гинекологические заболевания   Gynecological diseases	Морфологический тип   Morphological type			p
	состоятельный (мышечный)   stable (muscular) (n/%)	состоятельный (фиброзный)   stable (fibrous) (n/%)	несостоятельный   unstable (n/%)	
Отсутствуют   Absent	18 (41,8)	2 (15,4)	2 (18,2)	0,165
Кистозные изменения яичников   Ovarian cysts	1 (2,3)	2 (15,4)	1 (9,1)	
Миома тела матки   Uterine fibroid	6 (14,0)	1 (7,7)	2 (18,2)	
Вагинит   Vaginitis	3 (7,0)	1 (7,7)	1 (9,0)	
Урогенитальная инфекция   Urogenital infection	6 (14,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Хронические воспалительные заболевания шейки матки   Chronic inflammatory diseases of the cervix	5 (11,6)	2 (15,4)	3 (27,3)	
Эктопия шейки матки   Cervical ectropion	4 (9,3)	5 (38,4)	2 (18,2)	

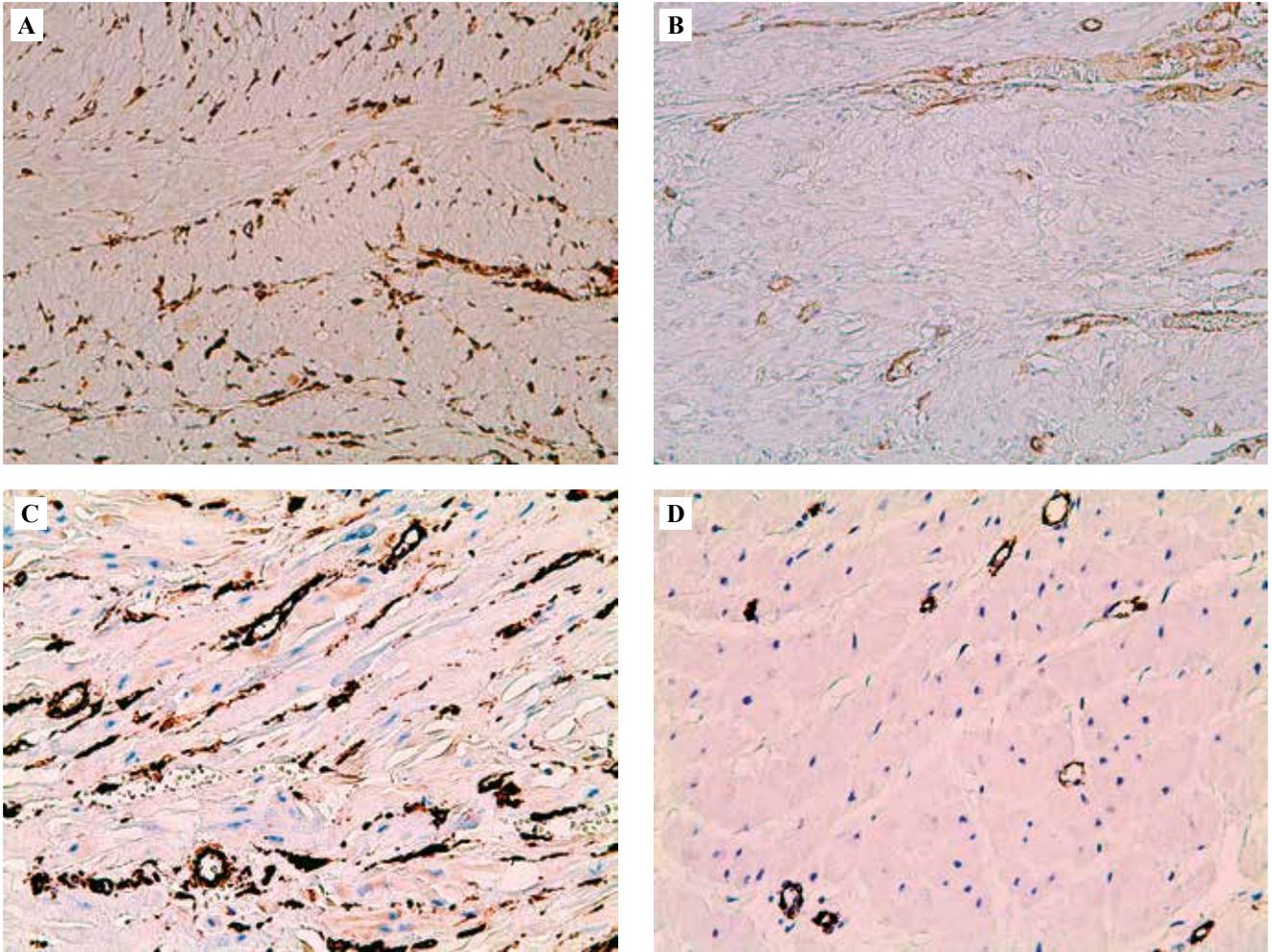


Рис. 5. Рубцы на матке после КС с преобладанием мышечной ткани (А, В) и зрелой соединительной ткани (С, D). Иммуногистохимическая реакция с маркерами к виментину (А –  $\times 100$ , С –  $\times 200$ ) и фактору фон Виллебранда (В –  $\times 100$ , D –  $\times 200$ )

Fig. 5. Uterine scars after CS with predominant muscle tissue (A, B) and mature connective tissue (C, D). IHC assay with antibodies to vimentin (A –  $\times 100$ , C –  $\times 200$ ) and von Willebrand factor (B –  $\times 100$ , D –  $\times 200$ )

Гинекологические заболевания, в том числе воспалительного характера, не оказали достоверного влияния на формирование рубца на матке (табл. 3). Тем не менее при оценке частоты встречаемости соматических заболеваний было определено, что они в 1,8 раза чаще диагностированы у рожениц с состоятельными фиброзными и несостоятельными рубцами (69,2% и 66,7%, соответственно) в отличие от рожениц с состоятельными мышечными рубцами (39,5%). Наиболее значимыми экстрагенитальными заболеваниями, имеющими системное воздействие на организм и приводящими к несостоятельности рубца, оказались сахарный диабет 2-го типа, отмеченный у 36,4% пациенток, и анемия – 18,2% наблюдений (табл. 4). Так как большая часть соматических заболеваний у рожениц с состоятельными фиброзными рубцами была представлена миопией (38,4%), мы можем предположить, что на исход заживления влияет и наличие дисплазии соединительной ткани.

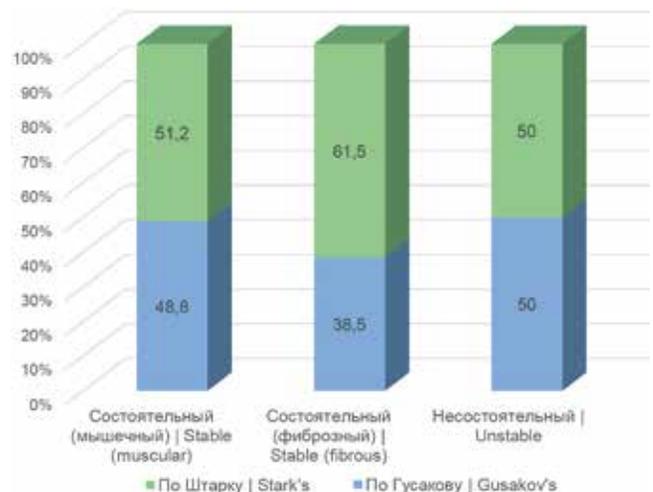


Рис. 6. Исход созревания рубца на матке после КС по двум методам зашивания: Гусакова и Штарка

Fig. 6. Outcome of uterine scar maturation after Gusakov's and Stark's CS closure techniques

**Частота встречаемости экстрагенитальных заболеваний у рожениц с разными морфологическими типами рубцов на матке | The frequency of occurrence of extragenital diseases in puerperas having different morphological types of scars on the uterus**

Экстрагенитальные заболевания   Extragenital diseases	Морфологический тип   Morphological type			p
	состоятельный (мышечный)   stable (muscular) (n/%)	состоятельный (фиброзный)   stable (fibrous) (n/%)	несостоятельный   unstable (n/%)	
Отсутствуют   Absent	25 (59,5)	4 (30,8)	3 (27,2)	p = 0,002 (состоятельный (мышечный) – несостоятельный   stable (muscular) – unstable)
Анемия   Anemia	1 (2,4)	0 (0,0)	2 (18,2)	
Хронический бронхит   Chronic bronchitis	1 (2,4)	1 (7,7)	0 (0,0)	
Хронический гастрит   Chronic gastritis	9 (21,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	p = 0,001 (состоятельный (мышечный) – состоятельный (фиброзный)   stable (muscular) – stable (fibrous))
Заболевание щитовидной железы   Thyroid disease	2 (4,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь   Gastroesophageal reflux disease	1 (2,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Миопия   Myopia	0 (0,0)	5 (38,4)	1 (9,1)	
Ожирение   Obesity	0 (0,0)	2 (15,4)	1 (9,1)	
Хронический пиелонефрит   Chronic pyelonephritis	2 (4,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Сахарный диабет 2-го типа   Type 2 diabetes mellitus	1 (2,4)	1 (7,7)	4 (36,4)	

p<0,05 – различия между типами рубцов статистически значимы  
p<0.05 – differences between scar types are statistically significant

## Обсуждение

Как известно, процесс заживления складывается из взаимоотношения клеточных, внеклеточных и тканевых факторов, хотя во многом остается неизученным. Так, проведенное нами комплексное клинико-морфологическое исследование рубцов на матке после КС показало, что состоятельность рубца не зависела от метода ее зашивания и от соотношения компонентов: мышечной ткани к соединительной. У 56 из 68 пациенток (82,3%) рубцы на матке были состоятельны и практически полностью представлены мышечной тканью, что подтверждено как гистохимическим методом, так и иммуногистохимической реакцией к десмину.

В клинической практике оценка состоятельности рубца на матке связана с толщиной, определенной с помощью ультразвукового исследования. Нами проведена оценка между методами зашивания разреза на матке при КС и состоянием рубца на ней. Многие авторы отмечают, что при двухрядном зашивании толщина рубца будет больше. В исследованиях S. Roberge et al. было показано, что через 6 месяцев после КС толщина миометрия при зашивании стенки матки однорядными швами почти в 2 раза меньше по сравнению с зашиванием двухрядными швами (6,1 мм и 3,8 мм, соответственно) [13, 16]. При макроскопическом исследовании, по нашим данным, толщина рубцов в обе-

их группах не различалась. Полученные результаты согласуются с представленными в других исследованиях [17, 18]. По данным профессора К.А. Рогова с коллегами, при полноценной регенерации стенки матки после КС доля соединительной ткани не должна превышать 10–15% [19]. В соответствии с нашими результатами, такой рубец мы классифицируем как состоятельный мышечный.

Известно, что лучшее сопоставление миометрия и использование двухрядных швов позволяют снизить частоту развития ниш, которые могут приводить к появлению разных осложнений, таких как постменструальные кровянистые выделения, вращение плаценты и даже бесплодие [14, 20]. В экспериментальных работах на крысах показано, что уже на самых ранних сроках заживления в рубце образуется тканевая прослойка, позволяющая отгородиться ране от брюшной полости. При этом на 4-е сутки после операции происходит подрастание к ране жировой ткани брыжейки, полностью выполняющей операционный дефект [21]. В нашем исследовании в рубцовой ткани не было признаков врастания жировой ткани.

К сожалению, взаимосвязи формирования неполноценного рубца с метаболическими нарушениями у матери и манифестацией сахарного диабета 2-го типа, анемии и другой экстрагенитальной патологии посвя-

щено крайне мало исследований [22, 23]. Как известно, в формировании несостоятельности рубца играет роль много факторов, среди которых ведущее место занимает послеродовой эндометрит [2]. Кроме того, механизм формирования несостоятельных рубцов может быть связан и с наличием дисплазии соединительной ткани [23–25]. Некоторые авторы отметили, что сахарный диабет 2-го типа и метаболические расстройства являются факторами, осложняющими заживление шва на матке и даже повышающими частоту врастания плаценты [22, 23]. Увеличение индекса массы тела матери, наличие гестационного сахарного диабета, а также предшествующие КС связаны с повышенным риском неполного заживления операционного разреза на матке. Аналогичные результаты получили и другие исследователи [26]. По данным J. Y. Park et al., повторное КС может стать фактором риска развития анемии в будущем, особенно в перименопаузе, поэтому следует рассматривать необходимость оценки и лечения анемии в более длительном послеродовом периоде [27].

### Заключение

Результаты нашего исследования показали, что состоятельными могут быть рубцы на матке после кесарева сечения, состоящие как преимущественно из мышечной ткани, так и из зрелой соединительной ткани. Крайне важно обращать внимание не только на толщину рубца, но и на его ЭХО-структуру. По нашим данным, метод зашивания разреза на матке при КС статистически значимо не влияет на состоятельность рубца. Мы отметили, что нормальные показатели гемоглобина и глюкозы крови пациентки обеспечивают адекватное рубцевание послеоперационной раны.

Таким образом, проблема несостоятельного рубца на матке является комплексной и требует мультидисциплинарного подхода акушеров-гинекологов, терапевтов, эндокринологов, врачей УЗИ диагностики и патологоанатомов.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.М. Михалева,

М.Б. Хамошина.

Сбор и обработка материала – Н.М. Маркарян, Р.А. Вандышева,

Н.В. Низяева, З.В. Гюева, С.А. Михалев.

Написание текста – Р.А. Вандышева, Н.М. Маркарян.

Редактирование – Л.М. Михалева, М.Б. Хамошина, Н.В. Низяева.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.M. Mikhaleva, M.B. Khamoshina.

Collected the data and performed the analysis – N.M. Markaryan,

R.A. Vandyшева, N.V. Nizyaeva, Z.V. Gyoeva, S.A. Mikhalev.

Wrote the paper – R.A. Vandyшева, N.M. Markaryan.

Edited the manuscript – L.M. Mikhaleva, M.B. Khamoshina,

N.V. Nizyaeva.

### Литература/References

1. Solheim KN, Esakoff TF, Little SE, Cheng YW, Sparks TN, Caughey AB. The effect of cesarean delivery rates on the future

incidence of placenta previa, placenta accreta, and maternal mortality. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011;24(11):1341–6. DOI: 10.3109/14767058.2011.553695.

2. Краснопольский В.И., Буянова С.Н., Шукина Н.А., Логутова Л.С. Несостоятельность шва (рубца) на матке после кесарева сечения: проблемы и решения (редакционная статья). *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2015;15(3):4–8. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24325065> (получено 19.12.2022).  
*Krasnopol'sky VI, Buyanova SN, Shchukina NA, Logutova LS. Uterine suture (scar) incompetence after cesarean section: problems and solutions (an editorial). Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist.* 2015;15(3):4–8 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24325065> (accessed 19.12.2022).
3. Здравоохранение в России. 2021: Статистический сборник. Москва: Росстат, 2021. 171 с.  
*Healthcare in Russia. 2021: Statistical compendium. Moscow: Rosstat, 2021. 171 p. (In Russ.)*
4. Логутова Л.С., Буянова С.Н., Гридчик А.Л., Шугинин И.О., Ахведиани К.Н., Мельников А.П. Вагинальные роды или кесарево сечение – осознанный выбор акушера. *Акушерство и гинекология.* 2020;7:135–142. DOI: 10.18565/aig.2020.7.135-142.  
*Logutova LS, Buyanova SN, Gridchik AL, Shuginin IO, Akhvediani KN, Melnikov AP. Vaginal delivery or cesarean section: An obstetrician's informed choice. Obstetrics and Gynecology.* 2020;7:135–142 (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2020.7.135-142.
5. Väärasmäki M, Raudaskoski T. Pregnancy and delivery after a cesarean section. *Duodecim.* 2017;133(4):345–52. PMID: 29205981.
6. Larsson C, Djuvfelt E, Lindam A, Tunón K, Nordin P. Surgical complications after caesarean section: A population-based cohort study. *PLoS One.* 2021;16(10):e0258222. DOI: 10.1371/journal.pone.0258222.
7. Fitzpatrick KE, Kurinczuk JJ, Bhattacharya S, Quigley MA. Planned mode of delivery after previous cesarean section and short-term maternal and perinatal outcomes: A population-based record linkage cohort study in Scotland. *PLoS Med.* 2019;16(9):e1002913. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002913.
8. Al-Zirqi I, Stray-Pedersen B, Forsén L, Daltveit AK, Vangen S. Uterine rupture: Trends over 40 years. *BJOG.* 2016;123(5):780–7. DOI: 10.1111/1471-0528.13394.
9. Gulino FA, Ettore C, Ettore G. A review on management of caesarean scar pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2021; 33(5):400–4. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000734.
10. Kaps C, Schwickert A, Dimitrova D, Nonnenmacher A, Siedentopf JP, Henrich W et al. Online survey on uterotomy closure techniques in caesarean section. *J Perinat Med.* 2021;49(7):809–17. DOI: 10.1515/jppm-2021-0118.
11. Grabarz A, Ghesquière L, Debarge V, Ramdane N, Delporte V, Bodart S et al. Cesarean section complications according to degree of emergency during labour. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2021;256:320–5. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.11.047.
12. Савельева Г.М., Караганова Е.Я. Кесарево сечение. Акушерство и гинекология. *Новости. Мнения. Обучение*

- 2015;2(8):53–60. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/contents.asp?id=34222889> (получено 19.12.2022).
- Savelyeva GM, Karaganova EYa.* Caesarean section. Obstetrics and gynecology. News, Opinions, Training. 2015;2(8):53–60 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/contents.asp?id=34222889> (accessed 19.12.2022).
13. *Сидорова Т.А., Мартынов С.А.* Факторы риска и механизмы формирования дефектов рубца на матке после операции кесарева сечения. Гинекология. 2022;24(1):11–17. DOI: 10.26442/20795696.2022.1.201356.
- Sidorova TA, Martynov SA.* Risk factors and mechanisms of uterine scar defects formation after caesarean section: A review. Gynecology. 2022;24(1):11–17 (In Russ.). DOI: 10.26442/20795696.2022.1.201356.
14. *Bamberg C, Dudenhausen JW, Bujak V, Rodekamp E, Brauer M, Hinkson L et al.* A prospective randomized clinical trial of single vs. double layer closure of hysterotomy at the time of cesarean delivery: The effect on uterine scar thickness. *Ultraschall Med.* 2018;39(3):343–51. DOI: 10.1055/s-0042-112223.
15. *Щукина Н.А., Буянова С.Н., Чечнева М.А., Земскова Н.Ю., Баринова И.В., Пучкова Н.В. и др.* Основные причины формирования несостоятельного рубца на матке после кесарева сечения. Российский вестник акушера-гинеколога. 2018;18(4):57–61. DOI: 10.17116/rosakush201818457.
- Shchukina NA, Buyanova SN, Chechneva MA, Zemskova NYu, Barinova IV, Puchkova NV et al.* Main reasons for the formation of an incompetent uterine scar after cesarean section. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2018;18(4):57–61 (In Russ.). DOI: 10.17116/rosakush201818457.
16. *Roberge S, Demers S, Girard M, Vikhareva O, Markey S, Chaillet N et al.* Impact of uterine closure on residual myometrial thickness after cesarean: A randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(4):507.e1–507.e6. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.10.916.
17. *Tanos V, Toney ZA.* Uterine scar rupture – Prediction, prevention, diagnosis, and management. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019;59:115–31. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2019.01.009.
18. *Михалева Л.М., Галина Т.В., Маркарян Н.М., Люшина И.В., Комлева Р.А.* Клинико-морфологические особенности рубцов на матке после операции кесарева сечения по методам Гусакова и Штарка. Клиническая и экспериментальная морфология. 2016;2(18):4–10. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29946222> (получено 19.12.2022).
- Mikhaleva LM, Galina TV, Marcaryan NM, Lyushina IV, Komleva RA.* Clinical and morphological aspects of uterine scars after cesarean section by Gusakov's and Stark's techniques. Clinical and experimental morphology. 2016;2(18):4–10 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29946222> (accessed 19.12.2022).
19. *Рогов К.А., Тихонова Н.Б., Болтовская М.Н., Милованов А.П.* Морфологические аспекты нарушения репарации миометрия после кесарева сечения. Клиническая и экспериментальная морфология. 2018;2(26):48–54. DOI: 10.31088/2226-5988-2018-26-2-48-54.
- Rogov KA, Tikhonova NB, Boltovskaya MN, Milovanov AP.* Morphological aspects of the disturbances of the myometrial repair after cesarean section. Clinical and experimental morphology. 2018;2(26):48–54 (In Russ.). DOI: 10.31088/2226-5988-2018-26-2-48-54.
20. *Stegwee SI, Jordans I, van der Voet LF, van de Ven PM, Ket J, Lambalk CB et al.* Uterine caesarean closure techniques affect ultrasound findings and maternal outcomes: A systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2018;125(9):1097–108. DOI: 10.1111/1471-0528.15048.
21. *Тихонова Н.Б., Милованов А.П., Алексанкина В.В., Фокина Т.В., Болтовская М.Н., Алексанкин А.П.* Участие жировой ткани в заживлении сквозной операционной раны стенки матки крысы. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(4):72–80. DOI: 10.31088/CEM2021.10.4.72-80.
- Tikhonova NB, Milovanov AP, Aleksankina VV, Fokina TV, Boltovskaya MN, Aleksankin AP.* The role of adipose tissue in the healing of rat uterine wall after a full-thickness surgical incision. Clinical and experimental morphology. 2021;10(4):72–80 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.4.72-80.
22. *Habek D, Cerovac A, Luetić A, Marton I, Prka M, Kulaš T et al.* Modified Stark's (Misgav Ladach) caesarean section: 15 – year experience of the own techniques of caesarean section. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2020;247:90–3. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.02.026.
23. *Antila-Långsjö RM, Mäenpää JU, Huhtala HS, Tomás EI, Staff SM.* Cesarean scar defect: A prospective study on risk factors. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;219(5):458.e1–458.e8. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.09.004.
24. *Радецкая Л.С., Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Удовиченко М.А.* Ведение беременных с мезенхимальной дисплазией. Акушерство, гинекология и репродукция. 2017;11(2):29–39. DOI: 10.17749/2313-7347.2017.11.2.029-039.
- Radetskaya LS, Makatsaria AD, Bitsadze VO, Udovichenko MA.* Pregnancy management in patients with mesenchymal dysplasias. Obstetrics, gynecology and reproduction. 2017;11(2):29–39 (In Russ.). DOI: 10.17749/2313-7347.2017.11.2.029-039.
25. *Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Амирасланов Э.Ю., Балущкина А.А., Сухих Г.Т.* Акушерские осложнения и недифференцированная дисплазия соединительной ткани. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского. 2015;2(8):47–52. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24312536> (получено 19.12.2022).
- Kan NE, Tyutyunnik VL, Amiraslanov EYu, Balushkina AA, Sukhikh GT.* Obstetric complications and undifferentiated connective tissue dysplasia. Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky journal. 2015;2(8):47–52 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24312536> (accessed 19.12.2022).
26. *Wang J, Chen K, Jin X, Li X, An P, Yang N et al.* Prognostic factors for cesarean section outcome of pregnant women with gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2019;12:913–29. DOI: 10.2147/DMSO.S188293.
27. *Park JY, Lee SW.* A history of repetitive cesarean section is a risk factor of anemia in healthy perimenopausal women: The Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010–2012. *PLoS One.* 2017;12(11):e0188903. DOI: 10.1371/journal.pone.0188903.

**Информация об авторах**

Нара Мхитаровна Маркарян – соискатель ученой степени кандидата медицинских наук в Российском университете дружбы народов, врач-акушер-гинеколог родового отделения ГКБ № 29 им. Н.Э. Баумана.

Росица Андреевна Вандышева – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клинической морфологии Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского».

Наталья Викторовна Низяева – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией патологии репродукции Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского».

Зарина Владиславовна Гюева – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая центральной патологоанатомической лабораторией Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского».

Сергей Александрович Михалев – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории здоровья женщины, матери и ребенка Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова.

Марина Борисовна Хамошина – доктор медицинских наук, профессор, заместитель заведующего кафедрой акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета повышения квалификации медицинских работников Российского университета дружбы народов.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского».

**Author information**

Nara M. Markaryan – External Ph.D. Candidate, Peoples' Friendship University of Russia; Obstetrician-Gynecologist, Maternity Department, N.E. Bauman City Clinical Hospital No. 29  
<https://orcid.org/0000-0002-3394-9293>

Rositsa A. Vandysheva – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery".  
<https://orcid.org/0000-0002-9253-3044>

Natalya V. Nizyaeva – Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Reproductive Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery".  
<https://orcid.org/0000-0001-5592-5690>

Zarina V. Gioeva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Central Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery".  
<https://orcid.org/0000-0002-5456-8692>

Sergey A. Mikhalev – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Woman and Child Health Research Laboratory, Pirogov Russian National Research Medical University.  
<https://orcid.org/0000-0002-4822-0956>

Marina B. Khamoshina – Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy Head of the Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Faculty of Advanced Medical Education, Peoples' Friendship University of Russia.  
<https://orcid.org/0000-0003-1940-4534>

Liudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery".  
<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

## Аберрантная экспрессия p53 в карциноме желудка и ее связь с HER2 статусом

Н.В. Данилова<sup>1</sup>, А.В. Чайка<sup>2</sup>, В.М. Хомяков<sup>2</sup>, Н.А. Олейникова<sup>1</sup>,  
В.В. Какоткин<sup>1</sup>, Д.В. Вычужанин<sup>3</sup>, Ю.Ю. Андреева<sup>4</sup>, П.Г. Мальков<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Медицинский научно-образовательный центр, Москва, Россия

<sup>2</sup> Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

**Резюме.** *Введение.* P53 является супрессором опухолевого роста, его экспрессия активно изучается во многих опухолях. Тем не менее существуют противоречивые мнения относительно того, какую экспрессию p53 считать аберрантной, о связи экспрессии p53 и различных клинико-морфологических параметров рака желудка и о его прогностической роли. Данные о частоте встречаемости опухолей с гиперэкспрессией p53 в России отсутствуют, а также неясно, является ли наличие аберрантной экспрессии p53 независимым прогностическим признаком при раке желудка. Целями данного исследования являются оценка частоты выявления экспрессии p53 в аденокарциномах желудка у пациентов в российской популяции, определение понятия аберрантной экспрессии p53, уточнение связи экспрессии p53 с клинико-морфологическими характеристиками, онкобелком HER2 и влияния на прогноз заболевания.

*Материалы и методы.* В исследовании использованы образцы операционного материала от 310 пациентов с верифицированным диагнозом «рак желудка». Возраст пациентов варьировал от 22 до 85 лет (средний возраст – 63 года). Каждый образец был окрашен иммуногистохимическим методом антителами к p53 (клон DO-7) и с помощью набора HercepTest (Dako/Agilent Technologies). Полученные результаты сопоставлены с основными клинико-морфологическими характеристиками рака желудка и данными по выживаемости пациентов.

*Результаты.* Выявленная частота встречаемости аберрантной экспрессии p53 составила 49,4%. К аберрантной экспрессии следует относить как случаи с гиперэкспрессией, так и случаи с полным отсутствием экспрессии маркера. В отличие от группы с нормальной экспрессией p53 группа с аберрантной экспрессией p53 характеризуется более частой проксимальной локализацией, меньшим количеством диффузно-инфильтративных форм рака, значимым преобладанием тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов ( $p=0,000$ ), значимо более высокими степенями дифференцировки ( $p=0,011$ ), значимо меньшим числом случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях ( $p=0,000$ ), меньшей частотой IV клинической стадии у пациентов и значимым преобладанием кишечного и промежуточного подтипа по П. Лаурену (P. Lauren) ( $p=0,000$ ). Общая пятилетняя выживаемость пациентов в группе с аберрантной экспрессией была ниже (35,6%, медиана 36 месяцев), чем общая пятилетняя выживаемость в группе с нормальной экспрессией (42,5%, медиана 51 месяц), однако статистический анализ не выявил значимых различий ( $p=0,392$ ). Согласно регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, уровень экспрессии p53 не является значимым прогностическим признаком (HR=1,281; CI: 0,818–2,008,  $p=0,280$ ). В группе с аберрантной экспрессией положительный HER2-статус выявлялся значимо чаще (13,7%), чем в группе с нормальной экспрессией p53 (1,9%,  $p=0,000$ ).

*Заключение.* Группу с аберрантной экспрессией p53 можно считать иммуногистохимическим аналогом хромосомно нестабильного подтипа рака желудка (по TCGA) и подтипа MSS/TP53– (по ACRG). В группе с аберрантной экспрессией p53 значимо чаще выявляются случаи с положительным HER2-статусом.

**Ключевые слова:** p53, HER2/неу, ERBB2, рак желудка, аденокарцинома желудка, иммуногистохимия

**Для корреспонденции:** Наталья Владимировна Данилова. E-mail: natalyadaniлова@gmail.com

**Для цитирования:** Данилова Н.В., Чайка А.В., Хомяков В.М., Олейникова Н.А., Какоткин В.В., Вычужанин Д.В., Андреева Ю.Ю., Мальков П.Г. Аберрантная экспрессия p53 в карциноме желудка и ее связь с HER2 статусом. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):46–58. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.46-58.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (№ 121061800151-2).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 21.09.2022. Получена после рецензирования 19.10.2022. Принята в печать 12.12.2022.

## Aberrant expression of p53 in gastric carcinoma and its association with HER2 status

N.V. Danilova<sup>1</sup>, A.V. Chayka<sup>2</sup>, V.M. Khomyakov<sup>2</sup>, N.A. Oleynikova<sup>1</sup>,  
V.V. Kakotkin<sup>1</sup>, D.V. Vychuzhanin<sup>3</sup>, Yu.Yu. Andreeva<sup>4</sup>, P.G. Malkov<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University, Medical Research and Educational Center, Moscow, Russia

<sup>2</sup> P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** p53 is a tumor suppressor, whose expression is actively studied in many tumors. However, scientists argue about aberrant p53 expression criteria and whether tumoral p53 expression correlates with various clinical and morphological parameters of gastric cancer and has a prognostic role. No data were published in Russia on the incidence of tumors with p53 overexpression. It remains unclear whether aberrant p53 expression is an independent prognostic sign in gastric cancer. The study aimed to evaluate the frequency of p53 expression in gastric adenocarcinomas in the Russian population, to give the definition for aberrant p53 expression, and to clarify the relationship between p53 expression, clinical and morphological tumor characteristics, HER2 status, and the impact of p53 expression on the prognosis.

**Materials and methods.** We studied surgical pathology samples from 310 patients with verified gastric cancer. The age of the patients ranged from 22 to 85 years (mean 63 years). Each sample was stained immunohistochemically with antibodies to p53 (clone DO-7) and the HercepTest kit (Dako/Agilent Technologies). We compared the results with the main clinical and morphological characteristics of gastric cancer and patient survival data.

**Results.** The frequency of aberrant p53 expression was 49.4%. Aberrant expression should include both cases with overexpression and cases with a complete absence of marker expression. In contrast to the normal p53 expression group, the group with aberrant p53 expression was characterized by more frequent proximal tumor location; fewer diffuse and infiltrative carcinoma forms; a significant predominance of tubular, papillary, and mixed histological types ( $p=0.000$ ); significantly higher degrees of differentiation ( $p=0.011$ ); a significantly lower number of cases with identified signet ring cells in tumors ( $p=0.000$ ); a lower frequency of stage IV in patients; and a significant predominance of the intestinal and intermediate subtype according to P. Lauren classification ( $p=0.000$ ). The overall five-year survival in patients with aberrant p53 expression was not significantly lower ( $p=0.392$ ) than in patients with normal p53 expression (35.6%, median 36 months and 42.5%, median 51 months, respectively). According to the Cox proportional hazards regression model, the p53 expression level is not a significant prognostic sign ( $HR=1.281$ ;  $CI: 0.818-2.008$ ,  $p=0.280$ ). In the group with aberrant p53 expression, a positive HER2 status was detected significantly more often (13.7%) than in the group with normal p53 expression (1.9%,  $p=0.000$ ).

**Conclusion.** The group with aberrant p53 expression can be considered as an immunohistochemical analog of the chromosomally unstable gastric cancer subtype (according to TCGA) and the MSS/TP53- subtype (according to ACRG). In the group with aberrant p53 expression, cases with a positive HER2 status were significantly more common.

**Keywords:** p53, HER2/neu, ERBB2, gastric cancer, gastric adenocarcinoma, immunohistochemistry

**Corresponding author:** Natalia V. Danilova. E-mail: natalyadanilova@gmail.com

**For citation:** Danilova N.V., Chayka A.V., Khomyakov V.M., Oleynikova N.A., Kakotkin V.V., Vychuzhanin D.V., Andreeva Yu.Yu., Malkov P.G. Aberrant expression of p53 in gastric carcinoma and its association with HER2 status. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):46–58 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.46-58.

**Funding.** The study was carried out within the framework of State Assignment to Lomonosov Moscow State University (No. 121061800151-2).

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

Received 21.09.2022. Received in revised form 19.10.2022. Accepted 12.12.2022.

## Введение

p53 является супрессором опухолевого роста, кодируется геном *TP53*. При повреждении ДНК белок p53 вызывает остановку клеточного цикла в фазе G1 путем взаимодействия с pRb и активирует белки, ответственные за репарацию ДНК. В случае если репарация безуспешна, p53 индуцирует апоптоз. Таким образом, данный белок контролирует переход клетки в S-фазу, деление, является транскрипционным фактором и играет важную роль в регуляции клеточного роста, репарации ДНК, индукции апоптоза [1].

Мутации гена *TP53* отсутствуют в фоновых и предраковых поражениях эпителия желудка и обычно выявляются на поздних этапах канцерогенеза при возникновении инвазии. R.A. Busuttill et al. показали, что мутации *TP53* редко встречаются в нормальной слизистой оболочке, окружающей карциному желудка, а также в очагах кишечной метаплазии [2]. Показано, что с прогрессированием опухолевого процесса частота мутаций *TP53* увеличивается [3], что приводит к появлению aberrантной иммуногистохимической экспрессии маркера. Нормальной экспрессией считается наличие метки умеренной яркости в части клеток опухоли (10–50%). В литературе имеются разногласия относительно того, какую экспрессию считать aberrантной: только гиперэкспрессию, при которой наблюдается яркая положительная ядерная экспрессия p53 в 90–100% опухолевых клеток, или же учитывать вместе случаи с гиперэкспрессией и случаи с полным отсутствием экспрессии [4, 5]. Также, по данным литературы, имеется чрезвычайно большой разброс в частоте встречаемости aberrантной экспрессии – от 17% до 90,7% инвазивных карцином желудка [3].

Показатель экспрессии p53 активно используется исследователями при попытках создания молекулярной классификации рака желудка [4–7]. В исследовании TCGA (The Cancer Genome Atlas), где авторы выделили четыре молекулярных подтипа рака желудка (EBV, MSI, GS, CIN), мутации гена *TP53* чаще обнаруживались в хромосомно нестабильном подтипе (CIN), который характеризовался более частой локализацией в области пищевода-желудочного перехода/кардии, наличием высокого уровня фосфорилирования гена *EGFR*, анеуплоидией и амплификацией генов рецепторов тирозинкиназ (*RTK*) [6]. В похожем исследовании корейских авторов – ACRG (Asian Cancer Research Group) – также выделено четыре подтипа: MSS/TP53+ subtype (соответствует EBV у TCGA), MSS/TP53– подтип (соответствует CIN у TCGA), MSI подтип (соответствует MSI у TCGA) и MSS/EMT (соответствует GS у TCGA), причем мутации p53 широко встречались среди опухолей, относящихся к MSS/TP53– подтипу [7]. R. Cristescu et al. наблюдали высокую частоту амплификации генов *ERBB2*, *EGFR*, *CCNE1*, *CCND1*, *MDM2*, *ROBO2*, *GATA6* и *MYC* в MSS/TP53– подтипе, сопровождающуюся соответствующим увеличением экспрессии мРНК и уровней белков EGFR и HER2. Больше того, гены

с наиболее высоким уровнем амплификации (*ERBB2*, *EGFR*, *CCNE1*, *CCND1*) практически эксклюзивно встречались в MSS/TP53– подтипе.

Большинство авторов отмечают связь гиперэкспрессии p53 и онкобелка HER2 [4–6, 8, 9]. Так, TCGA показали, что амплификация гена *ERBB2* наиболее характерна для CIN-подтипа и в меньшей степени для GS и EBV-подтипов. Ранее J.G. Strickler et al. сообщали, что гиперэкспрессия p53 обнаруживается в 64% опухолей с гиперэкспрессией HER2 [10]. R. Gonzalez отметил интересную закономерность: случаи с гиперэкспрессией p53 чаще других были HER2-негативными по результатам ИГХ, однако в этих случаях чаще всего выявлялась амплификация гена *HER2* методом FISH [9]. Причину данной закономерности авторы никак не объясняют, однако, возможно, для определения *HER2* были использованы невалидированные должным образом ИГХ реактивы. N. Setia et al., а также F. DiPinto et al. тоже отмечают положительную связь aberrантной экспрессии p53 и HER2 [5].

Данные о связи экспрессии p53 с клинико-морфологическими характеристиками противоречивы и требуют уточнения. Большинство авторов отмечают отсутствие связи с возрастом и полом пациентов, а также с клинической стадией [5, 8, 9, 11]. N. Setia et al. наблюдают наличие связи с кишечным гистологическим подтипом по П. Лаурену (P. Lauren) и более частым лимфогенным метастазированием [5].

Показано, что гиперэкспрессия p53 в карциноме желудка является отрицательным прогностическим фактором для общей выживаемости по результатам метанализа с использованием данных 4330 пациентов из 21 исследования [12]. Это подтверждает и M. Ahadi [11]. Тем не менее N. Setia et al. сообщили об отсутствии связи экспрессии p53 и выживаемости пациентов [5].

Таким образом, существуют противоречивые мнения относительно того, какую экспрессию p53 считать aberrантной, о связи экспрессии p53 и различных клинико-морфологических параметров рака желудка и о его прогностической роли. Данных о частоте встречаемости опухолей с гиперэкспрессией p53 в России нет, а также неясно, является ли наличие aberrантной экспрессии p53 независимым прогностическим признаком при раке желудка.

Целями нашего исследования были оценка частоты выявления экспрессии p53 в аденокарциномах желудка у пациентов из Российской Федерации, определение понятия «aberrантная экспрессия p53», уточнение связи экспрессии p53 с клинико-морфологическими характеристиками, онкобелком HER2 и влиянием на прогноз заболевания.

## Материалы и методы

В исследовании использованы образцы операционного материала от 310 пациентов с верифицированным диагнозом «рак желудка», не получавших в предоперационном периоде химио- или лучевую терапию.

Критериями исключения были карцинома *in situ*, недостаточный объем материала в парафиновых блоках, верифицированный нейроэндокринный рак, лимфома желудка или гастроинтестинальная стромальная опухоль желудка. Возраст пациентов варьировал от 22 до 85 лет (средний возраст – 63 года). Медиана наблюдения за пациентами составила 83 месяца.

Постановку иммуногистохимических реакций осуществляли с помощью системы детекции UltraVision Quanto (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя в иммуностейнере Autostainer 480S (Thermo Fisher Scientific, США). Депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов выполняли при помощи буфера Thermo Dewax and HIER Bufer H (pH 9,0) при температуре +95–98°C в течение 20 минут в модуле предобработки (PT-Module, Thermo Fisher Scientific, США). В работе использованы моноклональные антитела Dako/Agilent Technologies, США: p53 (клон DO-7, RTU). Время инкубации антител составляло 20–30 минут в соответствии с инструкцией производителя. Постановку реакций с маркером HER2/neu осуществляли с помощью набора HercepTest (Dako/Agilent Technologies, США) по инструкции производителя.

По уровню экспрессии первично образцы разделили на три группы: полное отсутствие экспрессии (статус «0»), слабая очаговая ядерная экспрессия в части клеток опухоли (10–50%, статус «0,5») и яркая ядерная экспрессия в подавляющем большинстве опухолевых клеток (статус «1»).

Полученные результаты были сопоставлены с основными клиничко-морфологическими характеристиками рака желудка, а также данными по выживаемости пациентов. Сопоставление результатов со степенью дифференцировки опухолей проводили для тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов рака (n=222).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием анализа таблиц сопряженности, критерия хи-квадрат, непараметрических критериев для парного и множественного сравнений, анализа выживаемости по Каплану–Майеру, логрангового критерия, многофакторного анализа выживаемости в регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса (Statistica 10, StatSoft, Inc., США).

Выполнение исследования было одобрено комитетом по этике Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (протокол № 3/17 от 17.04.2017) в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 года и ее последующими изменениями.

## Результаты

Исследовано 310 образцов операционного материала рака желудка. Учитывалась только ядерная экспрессия маркера любой интенсивности. Полное отсутствие экспрессии p53 (статус «0») выявлено в 31 наблюдении (10%), слабая экспрессия в отдельных клетках опухоли (статус «0,5») – в 157 наблюдениях (50,6%), яркая

позитивная экспрессия во всех клетках опухоли (статус «1») – в 122 наблюдениях (39,4%) (рис. 1 A–F).

Детальный анализ клиничко-морфологических характеристик выявил множество сходных параметров в группах со статусом экспрессии «0» и «1». В отличие от группы со статусом экспрессии «0,5» первая и третья группы характеризуются значимым преобладанием тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов (p=0,000), более высокими степенями дифференцировки (p=0,004), меньшим числом случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях (p=0,000) и преобладанием кишечного и промежуточного подтипов по П. Лаурену (p=0,000) (рис. 2 A–D). Данные группы обнаруживают сходство и по другим клиничко-морфологическим параметрам, а именно характеризуются проксимальной локализацией, меньшим количеством диффузно-инфильтративных форм рака, меньшими размерами опухолей, меньшей частотой отдаленного метастазирования, меньшей частотой IV клинической стадии у пациентов, однако эти различия не подтверждены статистически.

В свою очередь, группа со статусом экспрессии «0,5» характеризуется противоположными клиничко-морфологическими особенностями, среди которых статистически значимые различия выявлены по преобладанию дискогезивного гистологического типа, а также случаев с наличием перстневидных клеток в опухолях, более низким степеням дифференцировки опухолей тубулярного, папиллярного и смешанного типов и по большей доле диффузного подтипа по П. Лаурену в группе.

Группы со статусом «0» и «1» значимо не различались ни по одному из клиничко-морфологических параметров. С учетом этих данных целесообразно дальнейшее разделение экспрессии p53 на две группы: группа с нормальной экспрессией маркера, в которую войдут опухоли со статусом экспрессии «0,5», и группа с aberrантной экспрессией маркера, в которую войдут опухоли со статусом экспрессии «0» и «1». Дальнейший анализ был проведен с учетом разделения опухолей на две группы по экспрессии p53.

Нормальная экспрессия выявлена в 157 наблюдениях (50,6%), aberrантная экспрессия – в 153 наблюдениях (49,4%).

Среди пациентов с нормальной экспрессией p53 47,1% составили мужчины (81 наблюдение) и 55,1% женщины (76 наблюдений). Среди пациентов с aberrантной экспрессией p53 52,9% мужчин (91 наблюдение) и 44,9% женщин (62 наблюдения). Таким образом, определяется тенденция к преобладанию мужчин в группе с aberrантной экспрессией p53. При статистическом анализе значимые различия между группами обнаружены не были (p=0,163).

Опухоли с aberrантной экспрессией преобладали у пациентов старше 61 года (69%), в 11% наблюдений – у пациентов до 50 лет, в 20% – у пациентов 51–60 лет (табл. 1). В группе с нормальной экспрессией

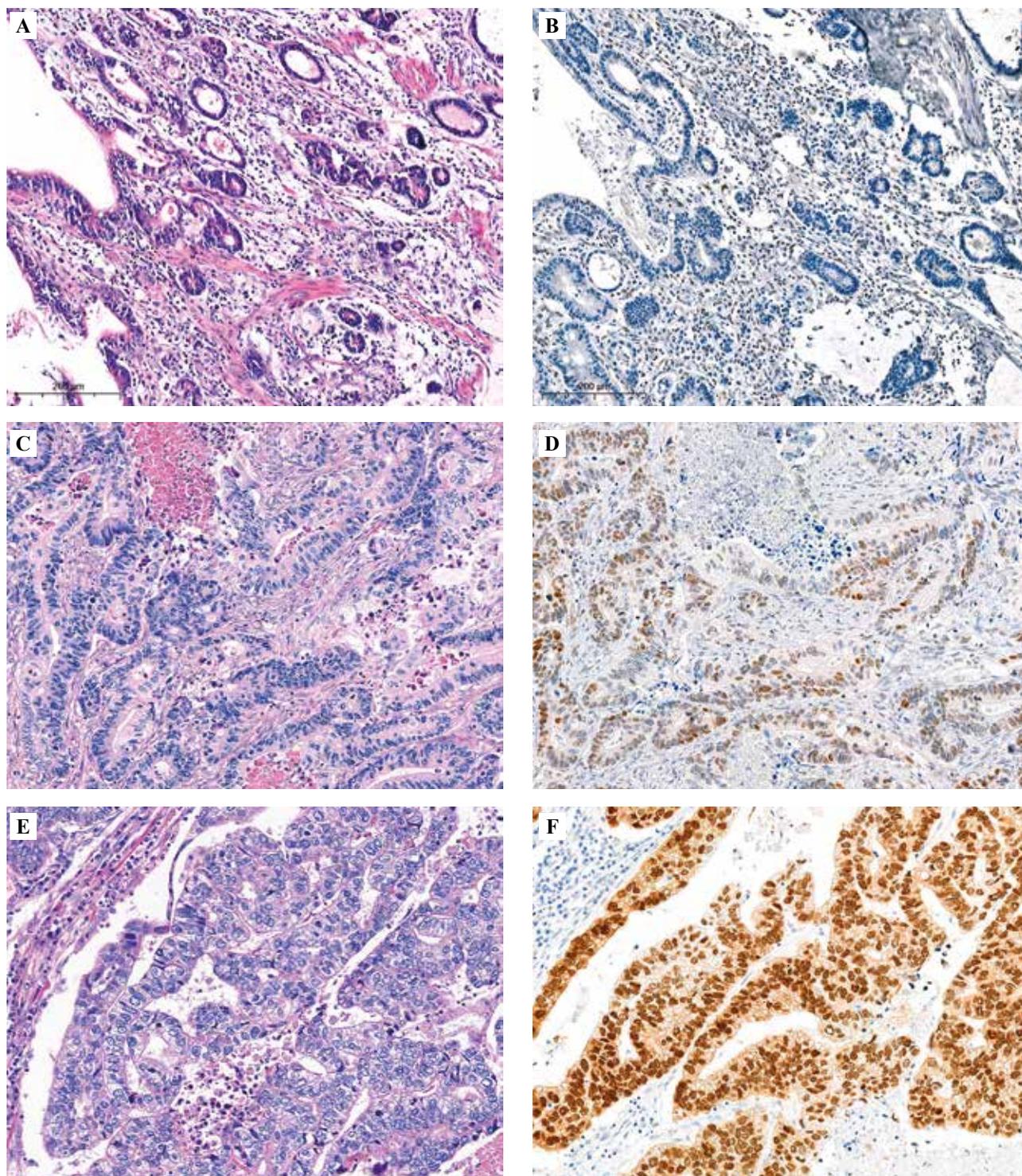


Рис. 1. Экспрессия p53 в раке желудка.

А – тубулярная аденокарцинома желудка, В – полное отсутствие экспрессии p53 в тубулярной аденокарциноме желудка, статус «0», С – тубулярная аденокарцинома желудка, D – слабая экспрессия p53 в части клеток в тубулярной аденокарциноме желудка, статус «0,5», Е – тубулярная аденокарцинома желудка, F – яркая экспрессия p53 в подавляющем большинстве клеток в тубулярной аденокарциноме желудка, статус «1». А, С, Е – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ , В, D, F – иммуногистохимическая реакция с антителами к p53,  $\times 200$

Fig. 1. p53 expression in gastric adenocarcinoma.

A – tubular gastric adenocarcinoma, B – total absence of p53 expression in gastric tubular adenocarcinoma, status “0”, C – tubular gastric adenocarcinoma, D – weak p53 expression in some cells of tubular gastric adenocarcinoma, status “0.5”, E – tubular gastric adenocarcinoma, F – strong p53 expression in the majority of cells in tubular gastric adenocarcinoma, status “1”. A, C, E – H&E stain,  $\times 200$ , B, D, F – IHC assay with p53 antibodies,  $\times 200$

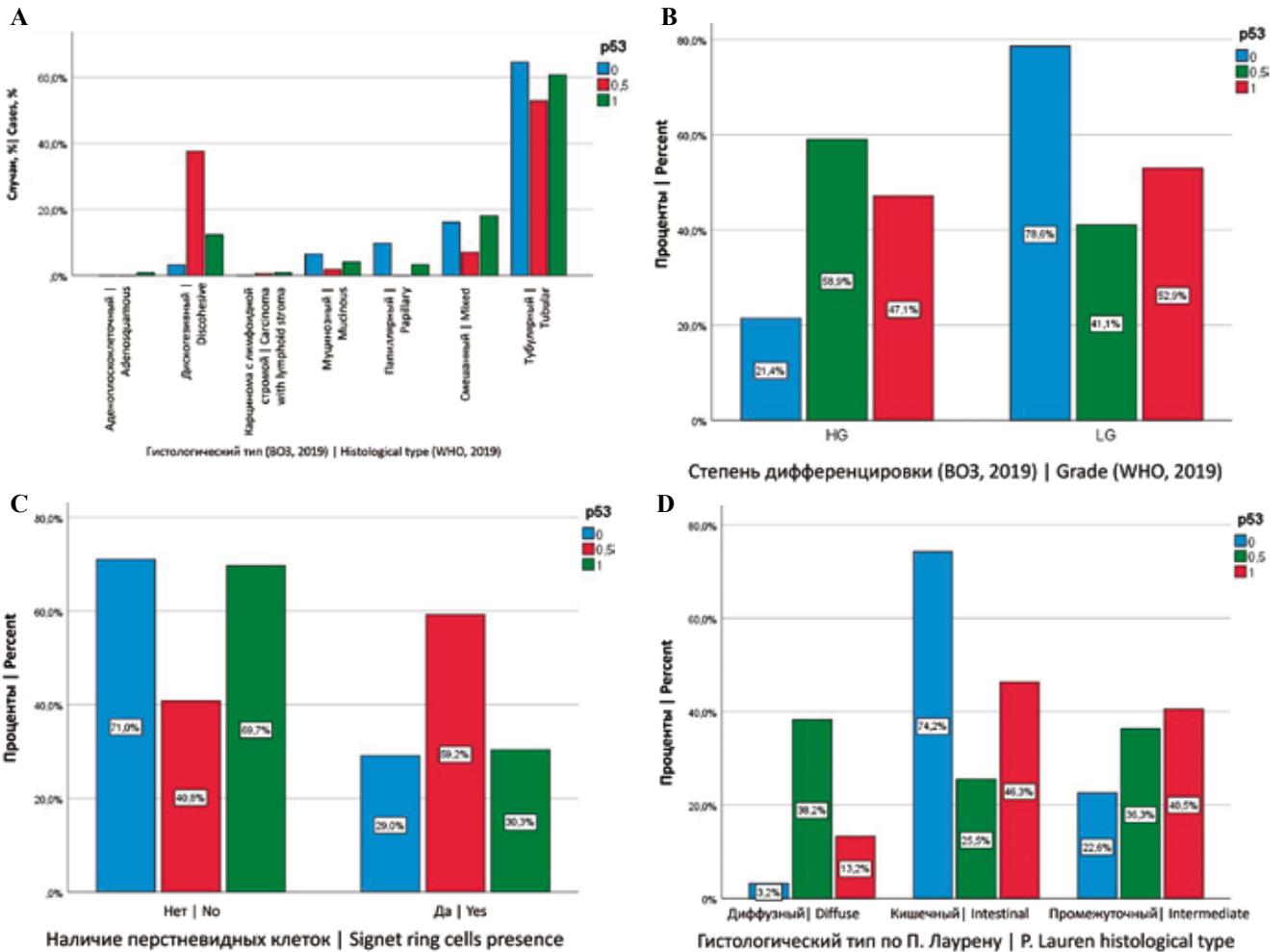


Рис. 2. Структурные диаграммы для случаев с различным уровнем экспрессии p53.

А – распределение по гистологическому типу опухолей, В – распределение опухолей по степени дифференцировки (ВОЗ, 2019), С – распределение по наличию/отсутствию перстневидных клеток в опухолях, D – распределение по гистологическому типу П. Лаурена

Fig. 2. Structural diagrams for tumors with normal and aberrant p53 expression.

А – distribution by histological type, В – distribution by tumor grade (WHO, 2019), С – distribution according to the presence/absence of signet ring cells in the tumors, D – tumor distribution by P. Lauren type

Таблица 1 | Table 1

Возрастные характеристики выборки с нормальной и aberrантной экспрессией p53 в опухоли | Age of the patients with normal and aberrant p53 expression in the tumors

Возрастная группа, лет   Age, years	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total
25–40	6 (4%)	6 (4%)	12
41–50	17 (11%)	10 (7%)	27
51–60	45 (29%)	31 (20%)	76
61–70	41 (26%)	57 (37%)	98
71–80	44 (28%)	43 (28%)	87
>80	4 (2%)	6 (4%)	10
Среднее   Mean	62,217	64,203	63,196
Медиана   Median	62,000	64,000	63,000
Итого   Total	157	153	310

распределение отличалось: 56% пациентов старше 61 года, 29% в возрасте 51–60 лет и 15% в возрасте до 50 лет. Таким образом, в группе с aberrантной экспрессией в опухолях для пациентов характерен более

старший возраст. При статистическом анализе значимые различия не обнаружены ( $p=0,067$ ).

Далее оценивали связь статуса экспрессии p53 с клинико-морфологическими параметрами (табл. 2).

Таблица 2 | Table 2

**Клинико-морфологические характеристики опухолей с нормальной и aberrантной экспрессией p53 |  
Clinical and morphological characteristics of tumors with normal and aberrant p53 expression**

Клинико-морфологические характеристики   Clinical and morphological characteristics	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total	Значимость различий   Significance
Локализация опухоли по третям желудка   Tumor localization	157	153	310	p = 0,793
верхняя треть желудка   upper third of the stomach	16 (10,2%)	26 (17%)	42	
верхняя и средняя треть желудка   upper and middle thirds of the stomach	20 (12,7%)	21 (13,7%)	41	
средняя треть желудка   middle third of the stomach	43 (27,4%)	43 (28,1%)	86	
средняя и нижняя треть желудка   middle and lower thirds of the stomach	15 (9,6%)	10 (6,5%)	25	
нижняя треть желудка   lower third of the stomach	47 (29,9%)	36 (23,5%)	83	
субтотальное поражение   subtotal involvement	15 (9,6%)	15 (9,8%)	30	
тотальное поражение   total involvement	1 (0,6%)	1 (0,7%)	2	
культи желудка   stump of the stomach	0 (0%)	1 (0,7%)	1	
Локализация опухоли   Tumor location	157	152	309	p=0,222
проксимальная   proximal	79 (50,3%)	90 (59,2%)	169	
дистальная   distal	62 (39,5%)	46 (30,3%)	108	
субтотальная/тотальная   subtotal/total involvement	16 (10,2%)	16 (10,5%)	32	
Макроскопическая форма по Р. Борманн   R. Borrmann macroscopic types	157	153	310	p=0,323
1-й тип (экзофитный)   type I (polypoid)	22 (14%)	27 (17,6%)	49	
2-й тип (чашеподобный)   type II (fungating)	56 (35,7%)	64 (41,8%)	120	
3-й тип (инфильтративно-язвенный)   type III (ulcerated)	44 (28%)	38 (24,8%)	82	
4-й тип (диффузно-инфильтративный)   type IV (flat)	35 (22,3%)	24 (15,8%)	59	
Размеры опухоли   Tumor size	153	149	302	p=0,746
8 см и менее   8 cm or less	123 (80,4%)	120 (80,5%)	243	
более 8 см   over 8 cm	30 (19,6%)	29 (19,5%)	59	
Гистологический тип по классификации ВОЗ (2019)   Tumor histological type (WHO, 2019)	157	153	310	p=0,000
тубулярный   tubular	83 (52,9%)	94 (61,4%)	177	
папиллярный   papillary	0 (0%)	7 (4,6%)	7	
дискогезивный   discohesive	59 (37,6%)	16 (10,5%)	75	
смешанный   mixed	11 (7%)	27 (17,6%)	38	
муцинозный   mucinous	3 (1,9%)	7 (4,5%)	10	
карцинома с лимфоидной стромой   carcinoma with lymphoid stroma	1 (0,6%)	1 (0,7%)	2	
аденоплоскоклеточный   adenosquamous	0 (0%)	1 (0,7%)	1	

Продолжение таблицы 2 | Table 2 (continued)

Клинико-морфологические характеристики   Clinical and morphological characteristics	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total	Значимость различий   Significance
Степень дифференцировки (ВОЗ, 2010)   Tumor grade (WHO, 2010)	94	128	222	p=0,011
G1	8 (8,5%)	17 (13,3%)	25	
G2	31 (33%)	59 (46,1%)	90	
G3	55 (58,5%)	52 (40,6%)	107	
Степень дифференцировки (ВОЗ, 2019)   Tumor grade (WHO, 2019)	94	128	222	p=0,010
low grade	39 (41,5%)	76 (59,4%)	115	
high grade	55 (58,5%)	52 (40,6%)	107	
Наличие перстневидных клеток в опухолях   Presence of signet ring cells in the tumor	157	153	310	p=0,000
клетки отсутствуют   no signet ring cells	64 (40,8%)	107 (69,9%)	171	
клетки присутствуют   signet ring cells are present	93 (59,2%)	46 (30,1%)	139	
Наличие эмболов в лимфатических сосудах   The presence of tumor emboli in lymphatic vessels	157	153	310	p=0,907
эмболы есть   emboli are present	79 (50,3%)	78 (51%)	157	
эмболов нет   no emboli	78 (49,7%)	75 (49%)	153	
Наличие эмболов в кровеносных сосудах   The presence of tumor emboli in the blood vessels	157	153	310	p=0,834
эмболы есть   emboli are present	26 (16,6%)	24 (15,7%)	50	
эмболов нет   no emboli	131 (77,4%)	129 (84,3%)	260	
Глубина инвазии (T)   Depth of invasion (T)	157	153	310	p=0,674
T1a–T1b	29 (18,5%)	24 (15,7%)	53	
T2	11 (7%)	24 (15,7%)	35	
T3	27 (17,2%)	26 (17%)	53	
T4a–T4b	90 (57,3%)	79 (51,6%)	169	
Метаастазы в регионарные лимфоузлы (N)   Regional lymph nodes metastases	157	153	310	p=0,627
N0	55 (35%)	41 (26,8%)	96	
N1	22 (14%)	39 (25,5%)	61	
N2	24 (15,3%)	19 (12,4%)	43	
N3a–N3b	56 (35,7%)	54 (35,3%)	110	
Отдаленные метастазы (M)   Distant metastases	157	153	310	p=0,109
M0	132 (84,1%)	138 (90,2%)	270	
M1	25 (15,9%)	15 (9,8%)	40	
Клиническая стадия   Clinical stage	157	153	310	p=0,568
I стадия (IA, IB)   stage I (IA, IB)	35 (22,3%)	34 (22,2%)	69	
II стадия (IIA, IIB)   stage II (IIA, IIB)	29 (18,5%)	33 (21,6%)	62	
III стадия (IIIA, IIIB, IIIC)   stage III (IIIA, IIIB, IIIC)	68 (43,3%)	71 (46,4%)	139	
IV стадия   stage IV	25 (15,9%)	15 (9,8%)	40	

Клинико-морфологические характеристики   Clinical and morphological characteristics	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total	Значимость различий   Significance
Гистологический тип по П. Лаурену   P. Lauren histological type	157	152	309	p=0,000
кишечный   intestinal	40 (25,5%)	79 (52%)	119	
промежуточный   intermediate	57 (36,3%)	56 (36,8%)	113	
диффузный   diffuse	60 (38,2%)	17 (11,2%)	77	

*Примечание.* Приведено общее значение критерия хи-квадрат. При анализе предварительно было сформировано общее значение двусторонней асимптотической значимости

*Note.* The total value of Chi-square criterion is given. The overall value of two-sided asymptotic significance was formed in the analysis beforehand

Анализ распределения по гистологическому типу согласно классификации ВОЗ 2019 года выявил, что в группе с aberrантной экспрессией преобладает тубулярный гистологический тип (94 случая, 61,4%), на долю папиллярного типа приходится 4,6% (семь наблюдений), а на долю смешанного типа – 17,6% (27 наблюдений). Также в этой группе выявлено семь случаев муцинозного рака (4,5%) и 16 случаев дискогезивного рака (10,5%), по одному наблюдению карциномы с лимфоидной стромой и аденоплоскоклеточного рака (рис. 3 А). В группе с нормальной экспрессией распределение отличалось: значительно выше доля дискогезивного типа (59 наблюдений, 37,6%), отсутствуют случаи папиллярного рака, доля тубулярного и муцинозного типов рака ниже (52,9% и 1,9% соответственно). При статистическом анализе выявлено значимое преобладание случаев с тубулярным, папиллярным и смешанным гистологическим типом в группе с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,000$ ).

Для тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических подтипов рака желудка ( $n=222$ ) проведен анализ связи экспрессии p53 и степени дифференцировки опухоли (рис. 3 В, С). При использовании градации ВОЗ 2010 года выявлено, что опухоли низкой степени дифференцировки (G3) встречались в группе с нормальной экспрессией чаще (58,5%), чем в группе с aberrантной экспрессией (40,6%). В целом для группы с aberrантной экспрессией были наиболее характерны умеренно дифференцированные опухоли (46,1%), высокодифференцированные встречались в 13,3% случаев, низкодифференцированные – в 40,6% наблюдений ( $p=0,011$ ). При использовании градации ВОЗ 2019 года также выявлено выраженное преобладание опухолей low grade в группе с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,010$ ).

При сравнении групп по наличию перстневидных клеток (рис. 3 D) в группе с aberrантной экспрессией было значимо больше случаев, где такие клетки в опухолях отсутствовали ( $p=0,000$ ).

Распределение опухолей по клиническим стадиям значимо не различалось между группами ( $p=0,568$ ). В группе с aberrантной экспрессией на I стадию приходилось 22,2% наблюдений (34 случая), на II стадию – 21,6% (33 случая), на III стадию – 46,4% (71 случай) и на IV стадию – 9,8% (15 случаев) (рис. 3 E). Выявлено небольшое преобладание наблюдений с IV стадией в группе с нормальной экспрессией, это объясняется большим числом случаев с наличием отдаленных метастазов в данной группе, однако различия статистически незначимы.

При сравнении групп по подтипам опухолей П. Лаурена выявлено, что в группе с нормальной экспрессией значительно больше опухолей диффузного типа по сравнению со второй группой (38,2% против 11,2%), при этом опухолей кишечного типа в первой группе значительно меньше (25,5% против 52%) (рис. 3 F). Из сравнения исключен один случай аденоплоскоклеточного рака ( $n=309$ ). Таким образом, выявлено преобладание диффузного подтипа по П. Лаурену в группе с нормальной экспрессией. При статистическом анализе различия значимы ( $p=0,000$ ).

Значимые различия по другим клинико-морфологическим параметрам между группами выявлены не были.

Данные по общей выживаемости получены для 259 пациентов из 310. Общая пятилетняя выживаемость в группе с aberrантной экспрессией 35,6% (умерли 64,4% пациентов, 47 из 132), медиана составила 36 месяцев. Общая пятилетняя выживаемость в группе с нормальной экспрессией составила 42,5% (умерли 57,5% пациентов, 73 из 127). Медиана составила 51 месяц (95% доверительный интервал). Анализ общей пятилетней выживаемости пациентов не выявил статистически значимые различия – р-значение логрангового критерия составило 0,399 (рис. 4).

Дополнительно был проведен многофакторный анализ выживаемости в регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса. Установлено, что экспрессия

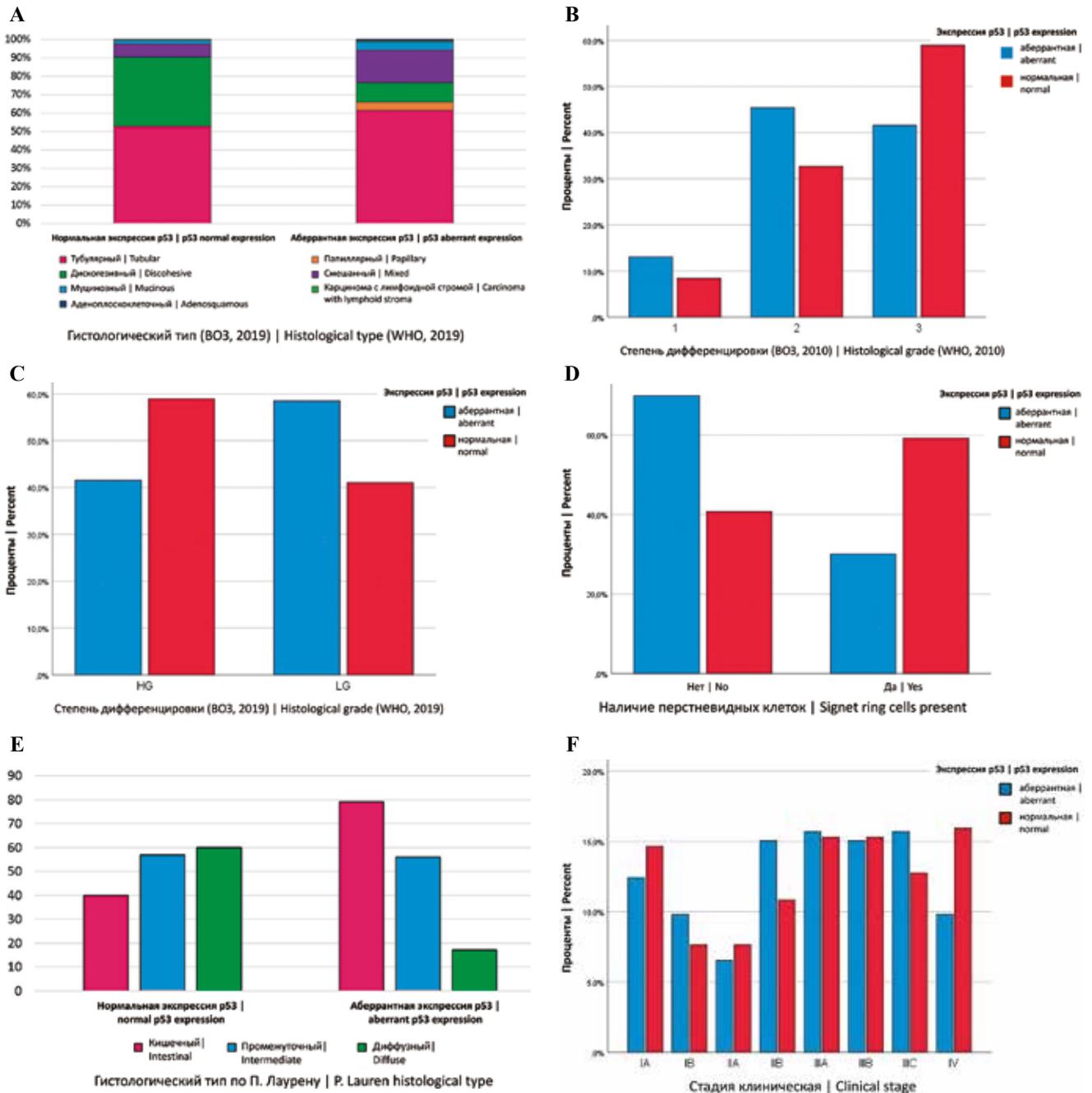


Рис. 3. Структурные диаграммы и диаграммы размаха для случаев с разным уровнем экспрессии p53. А – распределение по гистологическому типу опухолей, В – распределение по степени дифференцировки (ВОЗ, 2010), С – распределение опухолей по степени дифференцировки (ВОЗ, 2019), D – распределение по наличию/отсутствию перстневидных клеток в опухолях, E – распределение по клиническим стадиям, F – распределение по гистологическому типу П. Лаурена

Fig. 3. Structural diagrams for tumors with normal and aberrant p53 expression. A – distribution by histological type, B – distribution by tumor grade (WHO, 2010), C – distribution by tumor grade (WHO, 2019), D – distribution according to the presence/absence of signet ring cells in the tumors, E – distribution by clinical stage, F – distribution by P. Lauren type

p53 не является значимым прогностическим признаком (HR=1,281; CI: 0,818–2,008, p=0,280).

Исследована связь экспрессии p53 с HER2-статусом. Из 310 образцов операционного материала рака желудка отрицательный HER2-статус выявлен у 286 па-

циентов (92,3%), а положительный HER2-статус у 24 (7,7%). В группе с нормальной экспрессией p53 положительный HER2-статус выявлен в трех наблюдениях из 157 (1,9%), а в группе с аберрантной экспрессией – в 21 наблюдении из 153 (13,7%). Выявлено

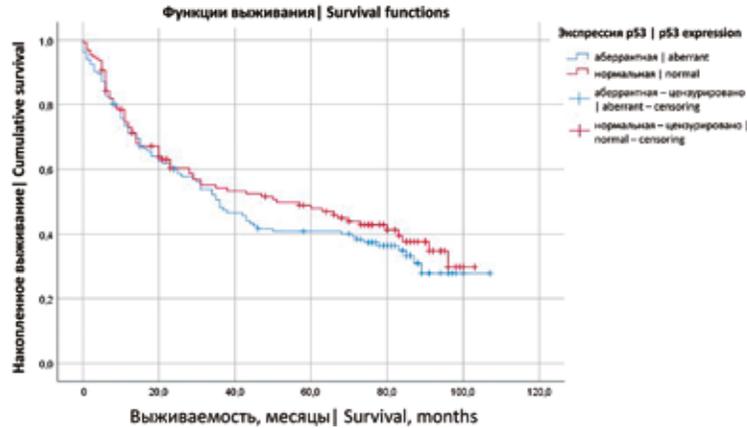


Рис. 4. Анализ выживаемости пациентов с раком желудка в группах с разной экспрессией p53

Fig. 4. Analysis of patient survival in groups with various p53 expression

значимое преобладание случаев с положительным HER2-статусом в группе с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,000$ ). При анализе коэффициента корреляции Спирмена обнаружена значимая слабая взаимосвязь между HER2-статусом и aberrантной экспрессией p53 ( $r=0,221$ ,  $p=0,000$ ).

### Обсуждение

Частота выявления aberrантной экспрессии p53 (49,4%) согласуется с данными некоторых авторов [4, 5].

По результатам изучения клинико-морфологических параметров не обнаружено никаких различий между группой со статусом экспрессии «0» и «1», таким образом, к aberrантной экспрессии p53 следует относить как случаи с гиперэкспрессией, так и случаи с полным отсутствием экспрессии маркера. Возможные различия результатов наших исследований с данными литературы могут быть связаны с разными подходами к выделению aberrантной экспрессии.

В группе с aberrантной экспрессией p53 выявлена большая доля наблюдений с проксимальной локализацией, что роднит ее с хромосомно нестабильным подтипом (CIN) TCGA, который характеризуется более частой локализацией в области пищевода-желудочного перехода/кардии, однако, как и в случае с TCGA, данные различия статистически незначимы. В аналогичном CIN подтипе группы исследователей ACRG (MSS/TP53-) выявляется амплификация гена *ERBB2*, что предполагает связь aberrантной экспрессии p53 и положительного HER2-статуса, которая также была подтверждена в нашем исследовании ( $p=0,000$ ). Таким образом, группу с aberrантной экспрессией p53 можно считать иммуногистохимическим аналогом подтипа CIN TCGA и подтипа MSS/TP53- ACRG.

Полученные нами результаты о связи aberrантной экспрессии p53 с клинико-морфологическими параметрами частично совпадают с данными литературы: как и N. Setia et al., мы показали значимое преобладание

кишечного и промежуточного подтипа по П. Лаурену ( $p=0,000$ ) в группе с aberrантной экспрессией. Однако в отличие от N. Setia et al. мы дополнительно выявили в группе с aberrантной экспрессией значимое преобладание тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов ( $p=0,000$ ), значимо более высокие степени дифференцировки ( $p=0,011$ ) и значимо меньшее число случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях ( $p=0,000$ ). При этом мы не обнаружили связь с более частым лимфогенным метастазированием ( $p=0,627$ ).

### Заключение

К aberrантной экспрессии предложено относить как случаи с гиперэкспрессией, так и случаи с полным отсутствием экспрессии маркера. Выявленная частота встречаемости aberrантной экспрессии p53 при раке желудка составила 49,4%. В отличие от группы с нормальной экспрессией p53 группа с aberrантной экспрессией p53 характеризуется более частой проксимальной локализацией, меньшим количеством диффузно-инфильтративных форм рака, значимым преобладанием тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов ( $p=0,000$ ), значимо более высокими степенями дифференцировки ( $p=0,011$ ), значимо меньшим числом случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях ( $p=0,000$ ), меньшей частотой отдаленного метастазирования, меньшей частотой IV клинической стадии у пациентов и значимым преобладанием кишечного и промежуточного подтипа по П. Лаурену ( $p=0,000$ ). В группе с aberrантной экспрессией p53 значимо чаще выявляются случаи с положительным HER2-статусом ( $p=0,000$ ), а положительный HER2-статус коррелирует с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,000$ ). Общая пятилетняя выживаемость пациентов в группе с aberrантной экспрессией была ниже (медиана 36 месяцев), чем в группе с нормальной экспрессией (42,5%, медиана 51 месяц), однако статистический анализ не выявил

значимые различия ( $p=0,392$ ). Согласно регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, уровень экспрессии p53 не является значимым прогностическим признаком (HR=1,281; CI: 0,818–2,008,  $p=0,280$ ).

#### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Н.В. Данилова, П.Г. Мальков.  
Сбор и обработка материала – Н.В. Данилова, А.В. Чайка, Н.А. Олейникова, В.В. Какоткин, Д.В. Вычужанин.  
Написание текста – Н.В. Данилова.  
Редактирование – П.Г. Мальков, В.М. Хомяков, Ю.Ю. Андреева.

#### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – N.V. Danilova, P.G. Malkov.  
Collected the data and performed the analysis – N.V. Danilova, A.V. Chayka, N.A. Oleynikova, V.V. Kakotkin, D.V. Vyuchuzhanin.  
Wrote the paper – N.V. Danilova.  
Edited the manuscript – P.G. Malkov, V.M. Khomyakov, Yu.Yu. Andreeva.

#### Литература/References

1. Troncone G, Martinez JC, Palombini L, De Rosa G, Mugica C, Rodriguez JA et al. Immunohistochemical expression of mdm2 and p21WAF1 in invasive cervical cancer: Correlation with p53 protein and high risk HPV infection. *J Clin Pathol*. 1998;51(10):754–60. DOI: 10.1136/jcp.51.10.754.
2. Busuttill RA, Zapparoli GV, Haupt S, Fennell C, Wong SQ, Pang JM et al. Role of p53 in the progression of gastric cancer. *Oncotarget*. 2014;5(23):12016–26. DOI: 10.18632/oncotarget.2434.
3. Machlowska J, Maciejewski R, Sitarz R. The pattern of signatures in gastric cancer prognosis. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6):1658. DOI:10.1007/s10120-020-01086-010.3390/ijms19061658.
4. di Pinto F, Armentano R, Arborea G, Schena N, Donghia R, Valentini AM. Are immunohistochemical markers useful in p53 notypic gastric cancer classification? *Oncology*. 2020;98(8):566–74. DOI:10.1159/000506077.
5. Setia N, Agoston AT, Han HS, Mullen JT, Duda DG, Clark JW et al. A protein and mRNA expression-based classification of gastric cancer. *Mod Pathol*. 2016;29(7):772–84. DOI: 10.1038/modpathol.2016.55.
6. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature*. 2014;513(7517):202–9. DOI: 10.1038/nature13480.
7. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim KM, Ting JC, Wong SS et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat Med*. 2015;21(5):449–56. DOI: 10.1038/nm.3850.
8. Diaz Del Arco C, Estrada Muñoz L, Molina Roldán E, Cerón Nieto MA, Ortega Medina L, García Gómez de Las Heras S et al. Immunohistochemical classification of gastric cancer based on new molecular biomarkers: A potential predictor of survival. *Virchows Arch*. 2018;473(6):687–95. DOI: 10.1007/s00428-018-2443-9.
9. Gonzalez RS, Messing S, Tu X, McMahon LA, Whitney-Miller CL. Immunohistochemistry as a surrogate for molecular subtyping of gastric adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 2016;56:16–21. DOI: 10.1016/j.humpath.2016.06.003.
10. Strickler JG, Zheng J, Shu Q, Burgart LJ, Alberts SR, Shibata D. p53 mutations and microsatellite instability in sporadic gastric cancer: When guardians fail. *Cancer Res*. 1994;54(17):4750–5. PMID: 8062274.
11. Ahadi M, Moradi A, Musavinejad L, Movafagh A, Moradi A. The Expression of p53, CD44, Ki-67, and HER-2/neu markers in gastric cancer and its association with histopathological indicators: A retrospective study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020;21(6):1607–14. DOI: 10.31557/apjcp.2020.21.6.1607.
12. Yildirim M, Kaya V, Demirpence O, Gunduz S, Bozcuk H. Prognostic significance of p53 in gastric cancer: A meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(1):327–32. DOI: 10.1016/j.humpath.2020.09.00610.7314/apjcp.2015.16.1.327.

#### Информация об авторах

Наталья Владимировна Данилова – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

Анна Валентиновна Чайка – кандидат медицинских наук, научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал НМИЦ радиологии Минздрава России.

Владимир Михайлович Хомяков – кандидат медицинских наук, заведующий торакоабдоминальным хирургическим отделением, отделом торакоабдоминальной онкохирургии МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал НМИЦ радиологии Минздрава России.

Нина Александровна Олейникова – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

Виктор Викторович Какоткин – стажер-исследователь отдела научных программ и инновационных технологий Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

Дмитрий Викторович Вычужанин – кандидат медицинских наук, врач-онколог хирургического отделения Университетской клинической больницы № 1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Юлия Юрьевна Андреева – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

Павел Георгиевич Мальков – доктор медицинских наук, заведующий отделом клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова, профессор кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

#### Author information

Natalia V. Danilova – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Clinical Pathology, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

Anna V. Chayka – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Thoracoabdominal Surgical Department, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia.  
<https://orcid.org/0000-0002-2178-9317>

Vladimir M. Khomyakov – Cand. Sci. (Med.), Chief of the Thoracoabdominal Surgical Department, Thoracoabdominal Oncosurgery Unit, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Center.  
<https://orcid.org/0000-0001-8301-4528>

Nina A. Oleynikova – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department of Clinical Pathology, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Viktor V. Kakotkin – Research Assistant, Department of Scientific Programs and Innovative Technologies, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0003-0352-2317>

Dmitrii V. Vychuzhanin – Cand. Sci. (Med.), Oncologist, Surgery Department, University Clinical Hospital No. 1, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<http://orcid.org/0000-0001-6099-1801>

Yulia Yu. Andreeva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Pathology Department, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.  
<https://orcid.org/0000-0003-4749-6608>

Pavel G. Malkov – Dr. Sci. (Med.), Chief of the Department of Clinical Pathology, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University; Professor, Pathology Department, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.  
<https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

## Оценка функциональных свойств гибернирующего миокарда

М.А. Попов<sup>1</sup>, Д.В. Шумаков<sup>1</sup>, Л.Е. Гуревич<sup>1</sup>, Д.Н. Федоров<sup>2</sup>, Д.И. Зыбин<sup>1</sup>,  
В.Е. Ашевская<sup>3</sup>, П.А. Коростелева<sup>4</sup>, В.М. Тюрина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского (МОНКИ), Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ Российский Научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

<sup>3</sup> АО «Группа компаний «МЕДСИ», Москва, Россия

<sup>4</sup> Международная сеть клиничко-диагностических лабораторий СИТИЛАБ, Москва, Россия

**Резюме. Введение.** В настоящее время многочисленные исследования демонстрируют разные взгляды относительно состояния миокарда после ишемических событий. Гибернирующий миокард, потенциально способный к восстановлению своей функции, представляет клинический и научный интерес. Целью исследования стала оценка состояния гибернирующего миокарда в зоне гипокинеза у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

**Материалы и методы.** Проведено морфологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов миокарда левого желудочка у 25 пациентов, подвергшихся операции хирургической реконструкции левого желудочка в сочетании с хирургической реваскуляризацией.

**Результаты.** При морфологическом и иммуногистохимическом исследовании выявлено нарушение морфологической структуры кардиомиоцитов, что коррелирует с накоплением матриксной металлопротеиназы типа 9 в цитоплазме кардиомиоцитов в этих зонах на фоне частичного или полного разрушения их базальных мембран, образованных коллагеном IV типа, и с отдаленными последствиями лечения.

**Заключение.** На основе проведенного анализа можно сделать вывод, что гибернирующий миокард в результате разрушения структуры саркомеров и базальных мембран кардиомиоцитов не способен в дальнейшем обеспечивать сократительную функцию, а жизнеспособные клетки, которые выявляются при морфологическом исследовании, вероятно, функционируют лишь как защитный механизм при раннем формировании рубца.

**Ключевые слова:** ремоделирование левого желудочка, гибернирующий миокард, базальная мембрана, кардиомиоциты, матриксная металлопротеиназа 9, коллаген IV типа

**Для корреспонденции:** Михаил Александрович Попов. E-mail: popovcardio88@mail.ru

**Для цитирования:** Попов М.А., Шумаков Д.В., Гуревич Л.Е., Федоров Д.Н., Зыбин Д.И., Ашевская В.Е., Коростелева П.А., Тюрина В.М. Оценка функциональных свойств гибернирующего миокарда. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):59–67. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.59-67.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 24.08.2022. Получена после рецензирования 10.11.2022. Принята в печать 12.12.2022.

## The evaluation of hibernating myocardium function

М.А. Попов<sup>1</sup>, Д.В. Шумаков<sup>1</sup>, Л.Е. Гуревич<sup>1</sup>, Д.Н. Федоров<sup>2</sup>, Д.И. Зыбин<sup>1</sup>,  
В.Е. Ашевская<sup>3</sup>, П.А. Коростелева<sup>4</sup>, В.М. Тюрина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

<sup>3</sup> MEDSI Group of Companies JSC, Moscow, Russia

<sup>4</sup> International Network of Clinical Diagnostic Laboratories CITILAB, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** Currently, there are different approaches to assessing changes that occur in ischemic myocardium in patients with chronic coronary artery disease (CAD). Researchers argue about the timing and completeness of the restoration of myocardial dysfunction areas. We aimed to assess hibernating myocardium in the zones of hypokinesia in patients with CAD.

**Materials and methods.** We performed a morphological and immunohistochemical study of left ventricular myocardial biopsies of 25 patients who underwent surgical reconstruction of the left ventricle with surgical revascularization.

**Results.** Morphological and immunohistochemical studies revealed violated morphological structure of cardiomyocytes. It correlates with the accumulation of MMP9 in the cytoplasm of cardiomyocytes in the areas of affected myocardium in ischemia against the background of partial or complete destruction of

CM basement membranes formed by type IV collagen. It also correlates with long-term consequences of treatment.

**Conclusion.** As a result of the destructed structure of sarcomeres and cardiac basement membrane hibernating myocardium is unable to provide a contractile function in the future. Morphological examination showed that viable cells were likely to function only as a protective mechanism in early scar formation.

**Keywords:** left ventricular remodeling, hibernating myocardium, basement membrane, cardiomyocytes, matrix metalloproteinase 9, type IV collagen

**Corresponding author:** Mikhail A. Popov. E-mail: popovcardio88@mail.ru

**For citation:** Popov M.A., Shumakov D.V., Gurevich L.E., Fedorov D.N., Zybin D.I., Ashevskaya V.E., Korosteleva P.A., Tyurina V.M. The evaluation of hibernating myocardium function. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):59–67 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.59-67.

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

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

**Received** 24.08.2022. **Received in revised form** 10.11.2022. **Accepted** 12.12.2022.

## Введение

Состояние систолической функции после инфаркта миокарда определяется тяжестью поражения, при этом изменения в миокарде могут носить обратимый и необратимый характер. Необратимые изменения обычно проявляются в виде формирования рубцовой ткани, а обратимые изменения, имеющие в своей основе потенциально жизнеспособный миокард, как правило, представлены ишемизированными зонами [1–6].

Традиционно долгое время считалось, что длительно существующая ишемия миокарда приводит к его необратимым повреждениям, в результате чего пациенты получали только консервативную терапию. Однако постепенно сложилось представление о том, что при ишемии кардиомиоциты (КМЦ) в течение длительного времени остаются жизнеспособными и даже через несколько лет способность к восстановлению функции левого желудочка (ЛЖ) сохраняется [7–15]. У пациентов, перенесших инфаркт миокарда (ИМ), участки такого гибернирующего миокарда могут обнаруживаться как в зонах инфаркт-зависимой артерии, так и в более отдаленных участках.

С учетом высокого потенциала восстановления сократительной функции ЛЖ после реваскуляризации миокарда гибернирующий миокард вызывает повышенный интерес у кардиологов и кардиохирургов.

В данной работе нашей целью было оценить участки гибернирующего миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

## Материалы и методы

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменным добровольным информированным согласием всех пациентов. Исследование одобрено этическим комитетом Московского областного научно-исследовательского клинического института № 2 от 14.02.2016.

В исследование были включены 25 пациентов, страдающих ИБС, осложненной аневризмой ЛЖ, средний возраст которых составил 55,4±9,6 года. Основными критериями включения пациентов в основную группу

были наличие гемодинамически значимого стеноза магистральных коронарных артерий, наличие аневризмы ЛЖ, планируемая операция – хирургическая реваскуляризация миокарда в сочетании с геометрической реконструкцией ЛЖ, возраст 45–65 лет, наличие информированного согласия. Критерии исключения: острый ИМ, хроническая сердечная недостаточность III–IV функционального класса, онкологические заболевания, заболевания крови. Все пациенты прошли обследование, которое включало оценку физического состояния, клинические и биохимические анализы, ЭКГ, эхокардиографию. Диагноз «ишемическая болезнь сердца» был подтвержден с помощью коронарной ангиографии.

Контрольную группу составили 10 пациентов в возрасте 45–60 лет без сердечно-сосудистой патологии, заболеваний крови, онкологических заболеваний, не принимающие никаких препаратов, влияющих на деятельность сердечно-сосудистой системы, в том числе наркотических.

Всем пациентам выполнялась хирургическая реконструкция ЛЖ в сочетании с хирургической реваскуляризацией миокарда. Проводилась интраоперационная биопсия миокарда в области аневризмы ЛЖ из зон нормо- и гипокинеза миокарда.

*Морфологическое исследование.* Биоптаты миокарда маркировались в соответствии с их локализацией в ЛЖ и направлялись на патоморфологическое исследование. Биопсийный материал фиксировали, вырезали, обрабатывали в гистопроцессоре Leica TP1020 (Leica Biosystems, Германия), заливали в парафиновые блоки и получали срезы толщиной 2–3 мкм при помощи микротомы Leica RM2245 (Leica Biosystems, Германия) по стандартному протоколу. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином в гистостейнере Leica Autosteiner XL (Leica Biosystems, Германия) и специальным красителем, предназначенным для выявления мышечных волокон, – фосфовольфрамным кислым гематоксилином (phosphotungstic acid haematoxylin, РТАН). Результаты оценивали при микроскопическом исследовании с использованием микроскопа Leica DM2000.

Для иммуногистохимического (ИГХ) исследования серийные срезы толщиной 2–3 мкм наносили на предметные стекла с адгезивным покрытием. Реакцию проводили ручным методом с использованием антител к коллагену IV типа (моноклональные мышинные антитела, клон CIV22, Cell Marque, США) и металлопротеиназы типа 9 (ММП-9) (моноклональные кроличьи антитела, клон EP 127, Epitomics, США), а затем набора Histofine Simple Stain MAX PO (MULTI) (Nichirei, Япония). Для восстановления антигенности использовали модуль PT Module (Thermo Fisher Scientific, Великобритания): для коллагена IV типа в буфере pH 9.0 (Trilogy) 20 минут при температуре 97°C, а для ММП-9 в буфере pH 6.0 (Declere, Cell Marque, США) 20 минут при 95°C.

ИГХ реакцию с ММП-9 в цитоплазме КМЦ оценивали полуколичественным методом по ее интенсивности: отсутствие реакции – 0; слабая реакция, когда в цитоплазме КМЦ выявлялось небольшое количество мелкогранулярного материала, – 1+; умеренно выраженная реакция, когда в цитоплазме большинства КМЦ преимущественно выявлялись гранулы средних, реже крупных размеров, – 2+, интенсивная реакция, когда в большинстве КМЦ выявлялось много гранул крупных размеров, – 3+. ИГХ реакцию с коллагеном IV типа оценивали по особенностям окрашивания базальных мембран (БМ) КМЦ: полное мембранное окрашивание БМ всех КМЦ, по типу «сетки», – 3+, неполное (частичное) окрашивание БМ большинства КМЦ – 2+, слабо выраженное, в виде небольших фрагментов БМ на отдельных КМЦ, – 1+, отсутствие окрашивания на всех КМЦ – 0.

У всех пациентов через 5 лет после операции определяли уровень ММП-9 в плазме крови. Уровень ММП-9 определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческого набора RnD Systems, Inc, США (Human MMP-9 Immunoassay Cat.#DMP900). Кровь пациентов собирали в вакуумные пробирки Vacuette с литий-гепарином (Greiner Bio-One, Австрия), для получения плазмы центрифугировали в течение 15 минут при 1000 g. Отбранную плазму повторно центрифугировали при 10 000 g в холодном роторе в течение 10 минут для удаления тромбоцитов. При проведении иммуноферментного анализа плазму пациентов разводили в 40 раз. Концентрацию ММП-9 вычисляли по стандартным калибровочным кривым в соответствии с рекомендациями производителей наборов.

## Результаты

В процессе морфологического исследования в зависимости от степени выраженности ишемических повреждений КМЦ и фиброза материал был разделен на три группы: I – минимальные изменения, II – умеренно выраженные, III – резко выраженные.

В группе I, которая составила 11 пациентов (минимально выраженные ишемические повреждения КМЦ), отмечались уменьшение длины саркомеров менее 1,6 мкм, сохранение поперечной исчерченности, выраженность фиброза 0–30% (рис. 1).

В группе II, в которую вошли семь пациентов (умеренно выраженные ишемические повреждения КМЦ), были выявлены прогрессирующее уменьшение длины саркомеров, формирование так называемых миозиновых комплексов длиной от 2 мкм (участки пересокращения КМЦ с исчезновением I-дисков и «слипанием» A-дисков), выраженность фиброза 31–60% (рис. 2).

В группе III, состоящей из семи пациентов (резко выраженные ишемические повреждения КМЦ), были вы-

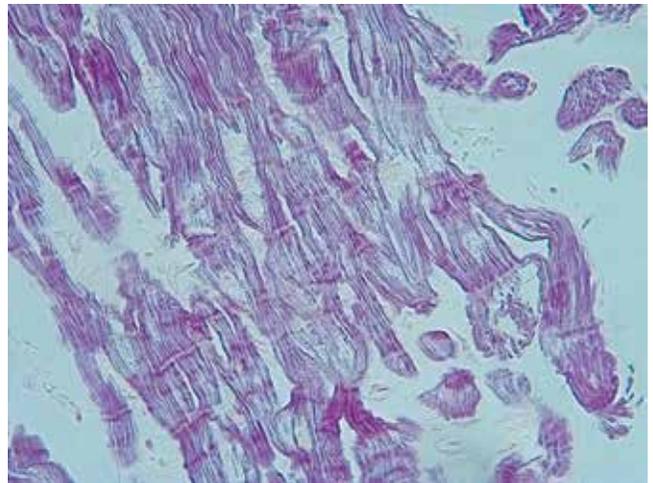


Рис. 1. Уменьшение длины саркомера менее 1,6 мкм, сохранение поперечной исчерченности, 0–30% фиброза. Окрашивание PTAH, ×400

Fig. 1. Reduction in sarcomere length up to less than 1.6 μm, preservation of transverse striation, 0–30% fibrosis. PTAH staining, ×400

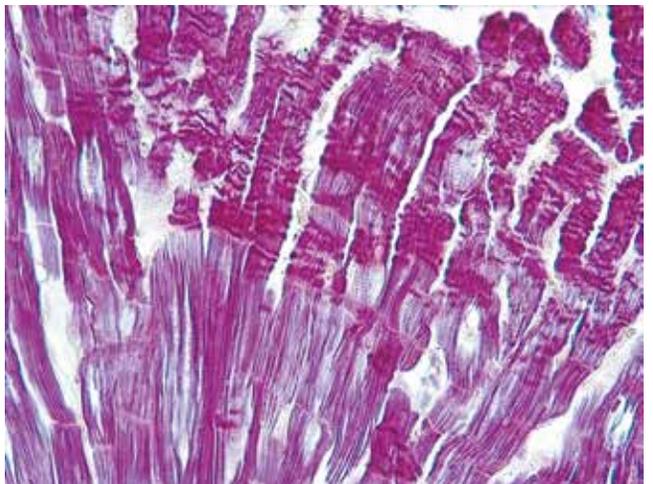


Рис. 2. Прогрессирующее уменьшение длины саркомера, формирование так называемых миозиновых комплексов длиной от 2 мкм (участки пересокращения КМЦ с исчезновением I-дисков и «слипанием» A-дисков), 31–60% выраженность фиброза. Окрашивание PTAH, ×400

Fig. 2. Progressive decrease in sarcomere length, the formation of the so-called myosin complexes 2-μm long (areas of CMs hypercontraction with disappearance of I-disks and “adhesion” of A-disks), 31–60% severity of fibrosis. PTAH staining, ×400

явлены исчезновение поперечной исчерченности, наличие отдельно сохранившихся А-дисков длиной от 3 мкм, выраженность фиброзных изменений 61–100% (рис. 3).

При исследовании биоптатов миокарда из зон нормо- и гипокинеза выявлено уменьшение длины саркомеров с последующим исчезновением актиновых нитей

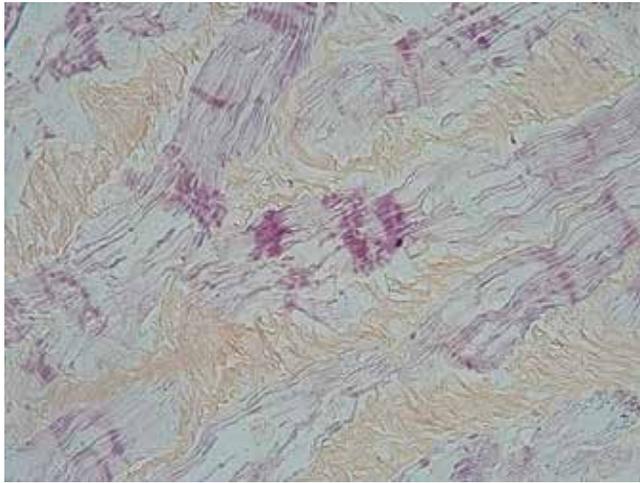


Рис. 3. Исчезновение поперечной исчерченности, наличие отдельно сохранившихся А-дисков длиной от 3 мкм, 61–100% фиброзных изменений. Окрашивание РТАН,  $\times 400$

Fig. 3. The disappearance of transverse striation, the presence of separately preserved A-discs 3- $\mu$ m long, 61–100% of fibrous changes. PTAH staining,  $\times 400$

и явлениями «слипания» А-дисков. Данные морфологические изменения коррелировали с выраженностью ишемических повреждений КМЦ (фрагментация и контрактуры). В биоптатах из зон нормокинеза в основном наблюдалась I и II степень выраженности фиброза, из зон гипокинеза – преимущественно II и III степень.

На начальном этапе нашей работы мы изучали экспрессию коллагена IV типа и ММП-9 в участках миокарда из зон нормокинеза и гипокинеза. Нами было показано, что в участках миокарда из зон гипокинеза в БМ большинства КМЦ полностью исчезал каркас, образованный коллагеном IV типа, или он был фрагментарным. Напротив, в цитоплазме КМЦ происходило интенсивное накопление ММП-9-позитивных гранул, которых было тем больше, чем сильнее было разрушение коллагена IV типа БМ (рис. 4 А). Эти изменения коррелировали с описанными ранее ишемическими повреждениями КМЦ, выраженностью фиброза в этих участках: от минимальных при стадии I до максимальных при стадии III. При этом в норме и в зонах нормокинеза в КМЦ был отмечен четко выраженный непрерывный коллагеновый каркас в виде сот вокруг КМЦ (рис. 4 В).

Интенсивность экспрессии ММП-9 в цитоплазме КМЦ находилась в обратной зависимости от интенсивности экспрессии коллагена IV типа в БМ КМЦ (табл.). Обильные крупногранулярные скопления ММП-9 обычно выявлялись в зонах гипокинеза, где на КМЦ практически полностью отсутствовали БМ

Таблица | Table

**Клинико-морфологическая характеристика и отдаленные результаты лечения пациентов с ишемической болезнью сердца | Clinical and morphological characteristics and long-term results of treatment of patients with CAD**

Группа (число пациентов)   Group (number of patients)	Экспрессия ММП-9 в зоне гипокинеза   MMP9 expression in the zone of hypokinesis	Экспрессия коллагена IV типа в БМ в зоне нормокинеза   Collagen type IV expression in basement membrane (BM) in the normokinesis zone	Отдаленный результат (через 5 лет)   Long-term result (after 5 years)	Концентрация ММП-9 в сыворотке крови через 5 лет после операции   Serum MMP9 concentration 5 years after surgery
1-я группа (n=12)   Group 1 (n=12)	2+/3+ (обильные скопления гранул крупных и средних размеров)   2+/3+ (abundant accumulations of large and medium-sized granules)	0–1+ (отсутствует или единичные фрагменты БМ)   0–1+ (absent or rare single BM fragments)	Отрицательная динамика в виде снижения фракции выброса, расширения полостей сердца   Negative changes over time as a decrease in ejection fraction, expanded heart chambers	278 нг/мл   278 ng/ml
2-я группа (n=13)   Group 2 (n=13)	0–1+ (гранулы отсутствуют или имеются в виде пылевидных скоплений в отдельных клетках)   0–1+ (granules are absent or present as dust-like accumulations in individual cells)	2–3+ (БМ сохранена полностью или частично на большинстве КМЦ)   2–3+ (BM retained fully or partially on most CMs)	Стабильное течение послеоперационного периода, сохранная фракция выброса, незначительное увеличение полостей сердца   Stable postoperative course, preserved ejection fraction, slightly enlarged heart chambers	126 нг/мл   126 ng/ml

из коллагена IV типа (рис. 4 С). В то же время в зонах нормокинеза экспрессия ММП-9 в цитоплазме подавляющего числа КМЦ вообще не выявлялась, как это наблюдалось в норме (рис. 4 D), или в отдельных клетках выявлялись только очень мелкие пылевидные скопления гранул этого фермента.

При определении уровня ММП-9 в плазме крови пациентов через 5 лет после операции были получены

данные, которые приводятся в таблице. По результатам 5-летнего наблюдения и анализа отдаленных результатов лечения пациентов можно разделить на две группы: 1-я группа – 12 пациентов с отрицательной динамикой, у которых концентрация ММП-9 в среднем составила 278 нг/мл; 2-я группа – 13 пациентов со стабилизацией процесса, у которых концентрация ММП-9 в среднем составила 126 нг/мл (табл.). Для сравнения: в контроль-

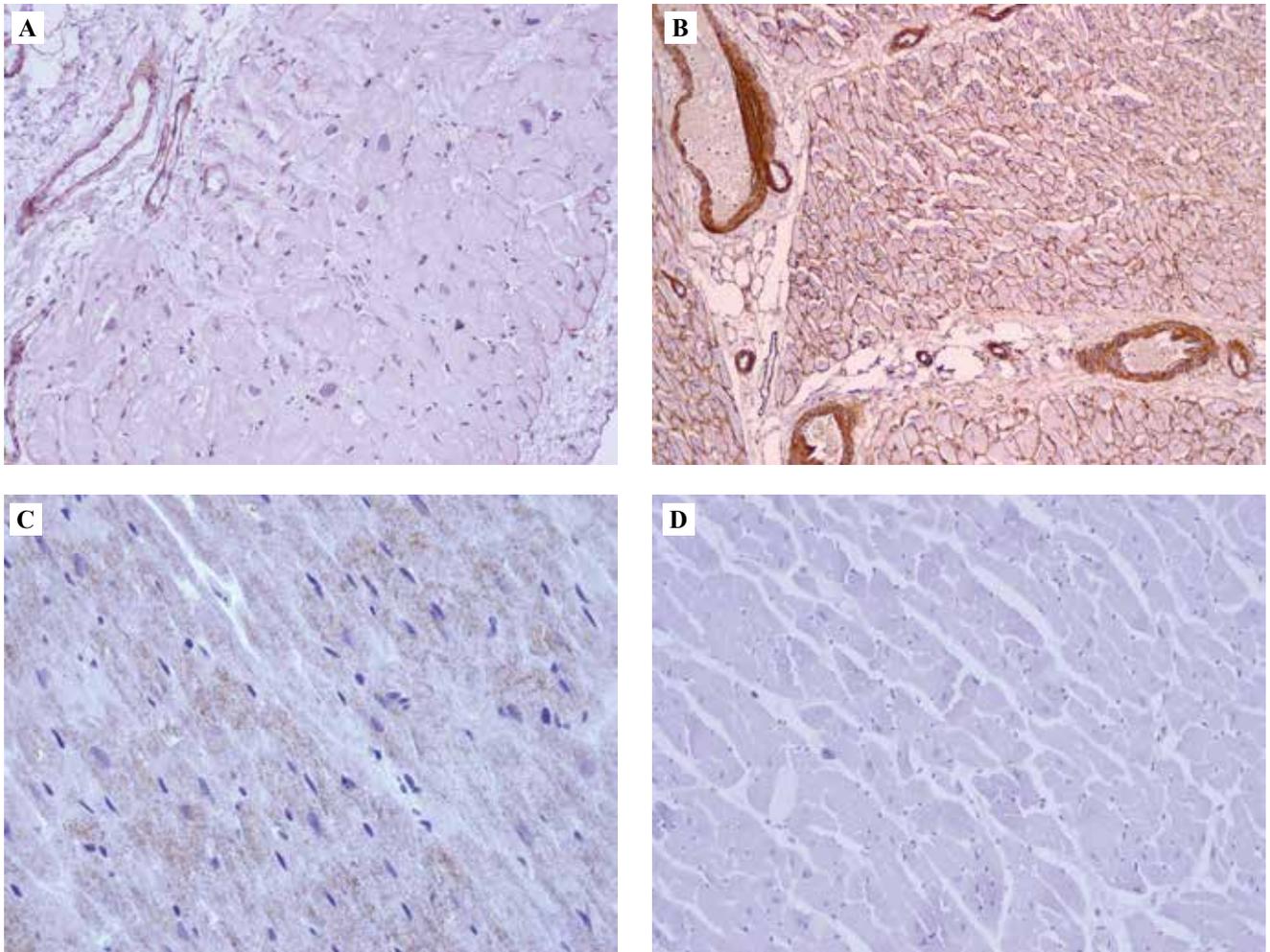


Рис. 4. Ткань миокарда.

А – зона гипокинеза. Экспрессия коллагена IV типа в стенках сосудов; отсутствие сплошной коллагеновой сетки или фрагментов коллагена IV типа в отдельных участках базальных мембран кардиомиоцитов. В – зона нормокинеза. Экспрессия коллагена IV типа в виде сплошной четко окрашенной «сетки» или сот на базальной мембране кардиомиоцитов, а также в стенках сосудов. С – ткань сердечной мышцы при аневризме левого желудочка. Крупногранулярные скопления ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов в зонах, где отсутствовали БМ и не формировался каркас из коллагена IV типа (реакция соответствует 3+),  $\times 400$ . D – здоровый миокард. Отсутствие экспрессии ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов,  $\times 250$ . А, В – ИГХ окрашивание с антителами к коллагену IV типа,  $\times 250$ . С, D – ИГХ окрашивание с антителами к ММП-9

Fig. 4. Cardiac muscle tissue.

A – zone of hypokinesis. Type IV collagen expression in vessel walls; no continuous collagen network or fragments of type IV collagen in certain areas of basal membranes of cardiomyocytes. B – zone of normokinesis. Type IV collagen expression as a continuous clearly colored “net” or “honeycomb” on the basement membrane of cardiomyocytes, as well as in blood vessel walls. C – cardiac muscle tissue in the left ventricle. Coarse-granular accumulations of MMP9 in the cytoplasm of cardiomyocytes in the areas where there were no BMs and no scaffold was formed from type IV collagen (the reaction corresponds to 3+),  $\times 400$ . D – healthy myocardium. No MMP9 expression in the cytoplasm of cardiomyocytes,  $\times 250$ . A, B – IHC assay with antibodies to type IV collagen,  $\times 250$ . C, D – IHC assay with antibodies to MMP9

ной группе у пациентов без признаков хронической сердечной недостаточности (ХСН) концентрация ММП-9 в плазме крови в среднем составила 74 нг/мл.

### Обсуждение

Ишемическая болезнь сердца продолжает занимать лидирующее место в структуре болезней системы кровообращения и смертности населения [16–17].

Известно, что функциональной единицей мышечного волокна является саркомер. В строении саркомера выделяют анизотропные диски (А-диски), которые представлены толстыми миозиновыми нитями, и изотропные диски (I-диски), содержащие тонкие актиновые нити. Соседние саркомеры разделены между собой Z-пластинками. Механизм сокращения КМЦ основан на процессе «скольжения» актиновых филаментов вдоль миозиновых. Процесс требует значительных энергетических затрат. Актин ускоряет выброс продуктов АТФ-азной реакции из активного центра миозина, в результате чего изменяется конформация головки миозина, происходит «гребковое» движение, продвигающее тонкую нить к центру саркомера. Последующее расслабление мышечного волокна также требует энергии АТФ и работы Са-АТФ-азы для восстановления конформации молекулы миозина.

В механизме сокращения мышечных волокон важная роль отводится актину, ускоряющему выброс продуктов АТФ-азной реакции из активного центра миозина, что способствует движению миозинового филамента вдоль актинового. Принимая во внимание полученные данные, можно сделать заключение, что в гибернирующем миокарде происходит разрушение актинового компонента саркомера, в результате которого одни участки мышечных волокон пересокращаются («слипание» А-дисков) на фоне растяжения других участков. В условиях гипоксии нарушается работа Са-АТФ-азы саркоплазматического ретикулама кардиомиоцита со снижением содержания АТФ в мышечных волокнах и нарушением процесса расслабления актинмиозинового комплекса. Морфологически эти изменения имеют вид «слипшихся» А-дисков саркомера. Таким образом, нарушается механизм сокращения мышечных волокон, исчезает поперечная исчерченность кардиомиоцитов в зоне разрушения актинмиозинового комплекса, что в клинической практике носит название «гибернирующий миокард» и в итоге оценивается как нефункциональная зона миокарда.

Сравнивая поврежденные волокна в зонах нормы и гипокнеза, мы показали, что в участках гибернации происходит необратимое повреждение структурных элементов сократительного аппарата, а именно разрыв актиновых и миозиновых мостиков. Это свидетельствует о необратимости восстановления сократительной функции кардиомиоцитов в этих зонах.

Основным стимулом к ангиогенезу у пациентов с ИБС является гипоксия. В условиях ишемии

матриксная металлопротеиназа типа 9 разрушает коллаген IV типа базальной мембраны сосудов, нарушая тем самым нормальные функциональные клеточно-клеточные и клеточно-матриксные взаимоотношения. При разрушении базальной мембраны выделяются биологически активные молекулы, такие как ММП-9, энзим, который разрушает коллаген IV типа, активирует фибробласты и стимулирует фиброз [18].

ММП-9, или желатиназа В, – одна из наиболее широко изученных протеаз, которая выполняет важную роль в деградации экстрацеллюлярного матрикса и разрушении базальных мембран в широком спектре физиологических и патофизиологических процессов. Этот энзим активно участвует в remodelировании тканей, обеспечивает способность клеток к миграции в процессе регенерации тканей, его могут секретировать клетки разных типов, в частности кардиомиоциты, клетки эндотелия, нейтрофилы, макрофаги, фибробласты и ряд других [19]. ММП-9 способны продуцировать также клетки некоторых злокачественных опухолей, что позволяет им разрушать БМ сосудов и окружающий внеклеточный матрикс и осуществлять инвазию прилежащих тканей.

При оценке особенностей экспрессии ММП-9 в кардиомиоцитах и роли этого энзима в remodelировании миокарда на первом этапе работы нами был обнаружен ранее никем не описанный феномен. Мы установили, что интенсивная экспрессия и накопление ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов приводят к разрушению их базальных мембран, состоящих из коллагена IV типа. Была также выявлена взаимосвязь между накоплением гранул ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов и наличием или отсутствием коллагена IV типа в базальных мембранах [20, 21]. При этом в норме и в зонах нормокнеза не обнаружено накопление в клетках ММП-9, а их базальные мембраны не были разрушены. В зонах гипокнеза, напротив, концентрация в цитоплазме клеток крупных гранул ММП-9 коррелировала с частичным или полным разрушением базальных мембран клеток, что подтверждалось отсутствием каркаса из коллагена IV типа.

Мы доказали, что при ишемическом повреждении миокарда происходит активация ММП-9, которая разрушает базальные мембраны кардиомиоцитов, в том числе коллаген IV типа. В свою очередь, при низкой концентрации ММП-9 в цитоплазме кардиомиоцитов коллаген IV типа в базальных мембранах не изменяется или разрушается незначительно, при этом сохраняется структурная целостность миокарда.

Анализируя 5-летний послеоперационный период у наших пациентов, мы установили, что их можно разделить как минимум на две группы. У пациентов 1-й группы мы отмечали отрицательную динамику клинического состояния, что по инструментальным данным подтверждалось снижением сократительной функции миокарда и увеличением размеров

полостей сердца. При ИГХ исследовании ткани миокарда у этих пациентов наблюдалось разрушение коллагена IV типа базальных мембран кардиомиоцитов, а концентрация ММП-9 в сыворотке крови была увеличена и в среднем составила 278 нг/мл, что косвенно свидетельствовало о прогрессировании ХСН. У пациентов 2-й группы отсутствовали выраженные признаки прогрессирования ХСН: БМ КМЦ не были разрушены, фракция выброса ЛЖ сохранялась, объем камер сердца не увеличивался, концентрация ММП-9 в отдаленном послеоперационном периоде была почти вдвое ниже, чем в 1-й группе, и в среднем составила 126 нг/мл. Аналогичные результаты были показаны и другими исследователями [22, 23].

Результаты нашей работы демонстрируют важную защитную роль коллагена IV типа в базальных мембранах кардиомиоцитов. Мы полагаем, что определение иммуногистохимическим методом экспрессии коллагена IV типа в диагностических биоптатах пациентов с ишемической болезнью сердца можно будет использовать в качестве важного прогностического маркера при оценке риска оперативного вмешательства и прогрессирования сердечной недостаточности в отдаленном периоде после хирургической реконструкции левого желудочка. Использование в клинической практике этого простого, доступного и быстрого в исполнении исследования, по нашему мнению, позволит лучше оценивать риски отдаленных исходов оперативного вмешательства.

Полученные данные свидетельствуют о высокой прогностической ценности определения металлопротеиназ разных типов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и об актуальности новых исследований у данной когорты пациентов на более репрезентативном клиническом материале и с использованием различных тканевых и клеточных биомаркеров.

## Заключение

Можно сделать вывод, что из-за повреждения кардиомиоцитов путем разрушения их базальных мембран гибернирующий миокард в перспективе не способен в полной мере обеспечить его сократительную функцию. Повреждение базальных мембран кардиомиоцитов за счет выработки ими металлопротеиназы типа 9 является очень важным показателем степени повреждения целостности архитектуры миокарда, что, в свою очередь, отражается в нарушении его сократительной функции.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – М.А. Попов, Д.В. Шумаков, Л.Е. Гуревич.

Сбор и обработка материала – В.Е. Ашевская, П.А. Коростелева, Д.Н. Федоров, Д.И. Зыбин.

Написание текста – М.А. Попов, В.М. Тюрина.

Редактирование – М.А. Попов, Д.В. Шумаков, Л.Е. Гуревич.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – M.A. Popov, D.V. Shumakov, L.E. Gurevich.

Collected the data and performed the analysis – V.E. Ashevskaya, P.A. Korosteleva, D.N. Fedorov, D.I. Zybin.

Wrote the paper – M.A. Popov, V.M. Tyurina.

Edited the manuscript – M.A. Popov, D.V. Shumakov, L.E. Gurevich.

## Литература/References

1. Ryan MJ, Perera D. Identifying and managing hibernating myocardium: What's new and what remains unknown? *Curr Heart Fail Rep.* 2018;15(4):214–23. DOI: 10.1007/s11897-018-0396-6.
2. Heusch G. Myocardial stunning and hibernation revisited. *Nat Rev Cardiol.* 2021;18(7):522–36. DOI: 10.1038/s41569-021-00506-7.
3. Vaidya Y, Cavanaugh SM, Dhamoon AS. Myocardial stunning and hibernation. 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. PMID: 30725711.
4. Ker WDS, Nunes THP, Nacif MS, Mesquita CT. Practical implications of myocardial viability studies. *Arq Bras Cardiol.* 2018;110(3):278–88. DOI: 10.5935/abc.20180051.
5. Dutka DP, Camici PG. Hibernation and congestive heart failure. *Heart Fail Rev.* 2003;8(2):167–73. DOI: 10.1023/a:1023096903298.
6. Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия: Учебник. 5-е изд. Москва: Литтерра, 2010. 848 с.  
*Strukov AI, Serov VV. Pathologic anatomy: Textbook. 5th ed. Moscow: Litterra, 2010. 848 p. (In Russ.).*
7. Glaveckaite S, Valeviciene N, Palionis D, Puronaite R, Serpytis P, Laucevicius A. Prediction of long-term segmental and global functional recovery of hibernating myocardium after revascularisation based on low dose dobutamine and late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2014;16(1):83. DOI: 10.1186/s12968-014-0083-z.
8. Kelly RF, Sluiter W, McFalls EO. Hibernating myocardium: Is the program to survive a pathway to failure? *Circ Res.* 2008;102(1);3–5. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.168278.
9. Rozenberg VD, Nepomnyashchikh LM. Pathomorphology of postinfarction myocardial ischemia during atherosclerotic obstruction of coronary arteries. *Bull Exp Biol Med.* 2005;139(3):363–8. DOI: 10.1007/s10517-005-0295-1.
10. Parikh K, Choy-Shan A, Ghesani M, Donnino R. Multimodality imaging of myocardial viability. *Curr Cardiol Rep.* 2021;23(1):5. DOI: 10.1007/s11886-020-01433-8.
11. Haas F, Jennen L, Heinzmann U, Augustin N, Wottke M, Schwaiger M et al. Ischemically compromised myocardium displays different time-courses of functional recovery: Correlation with morphological alterations? *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001;20(2);290–8. DOI: 10.1016/s1010-7940(01)00781-3.
12. Weil BR, Ozcan C. Cardiomyocyte remodeling in atrial fibrillation and hibernating myocardium: Shared pathophysiologic traits identify novel treatment strategies? *Biomed Res Int.* 2015;2015:587361. DOI: 10.1155/2015/587361.

13. *Rustamova YK*. Actual problems of diagnostics of viable myocardium. *Kardiologiya*. 2019;59(2):68–78. DOI: 10.18087/cardio.2019.2.10243.
14. *Ferraris VA*. Commentary: Recovering ischemic myocardium-hibernation, autophagy, preconditioning, mitochondria, stem cells, and more. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2021;162(1):e17–e18. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2020.01.002.
15. *Benz DC, von Dahlen AP, Huang W, Messerli M, von Felten E, Benetos G et al*. No differences in rest myocardial blood flow in stunned and hibernating myocardium: Insights into the pathophysiology of ischemic cardiomyopathy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2019;46(11):2322–8. DOI: 10.1007/s00259-019-04440-2.
16. *Acar E, Aksu A, Akkaya G, Kaya GÇ*. Prevalence and localization of hibernating myocardium among patients with left ventricular dysfunction. *Curr Med Imaging Rev*. 2019;15(9):884–9. DOI: 10.2174/1573405615666190701110620.
17. *Kloner RA*. Stunned and hibernating myocardium: Where are we nearly 4 decades later? *J Am Heart Assoc*. 2020;9(3):e015502. DOI: 10.1161/JAHA.119.015502.
18. *Holley CT, Long EK, Lindsey ME, McFalls EO, Kelly RF*. Recovery of hibernating myocardium: What is the role of surgical revascularization? *J Card Surg*. 2015;30(2):224–31. DOI: 10.1111/jocs.12477.
19. *Yabluchanskiy A, Ma Y, Iyer RP, Hall ME, Lindsey ML*. Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease physiology (Bethesda). 2013;28(6):391–403. DOI: 10.1152/physiol.00029.2013.
20. *Попов М.А., Шумаков Д.В., Зыбин Д.И., Гуревич Л.Е., Ашевская В.Е., Бабokin В.Е. и др.* Феномен роли коллагена IV типа и матриксной металлопротеиназы 9 типа в ремоделировании миокарда левого желудочка при ишемической болезни сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2019;24(8):83–87. DOI: 10.15829/1560-4071-2019-8-83-87.
21. *Попов МА, Шумаков ДВ, Зыбин ДИ, Гуревич ЛЕ, Ашевская ВЕ, Бабokin ВЕ et al*. Role of type IV collagen and matrix metalloproteinase-9 in remodeling of the left ventricular in coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2019;24(8):83–87. (In Russ.). DOI: 10.15829/1560-4071-2019-8-83-87.
22. *Шумаков Д.В., Зыбин Д.И., Попов М.А.* Роль матриксной металлопротеиназы 9 в ремоделировании миокарда левого желудочка. *Русский медицинский журнал*. 2020;10:17–19. Доступно по адресу: [https://www.rmj.ru/articles/kardiologiya/Roly\\_matriksnoy\\_metalloproteinyazy\\_9\\_v\\_remodelirovani\\_miokarda\\_levogo\\_gheludochka](https://www.rmj.ru/articles/kardiologiya/Roly_matriksnoy_metalloproteinyazy_9_v_remodelirovani_miokarda_levogo_gheludochka) (получено 01.09.2022).
23. *Шумаков ДВ, Зыбин ДИ, Попов МА*. Matrix metalloproteinase 9 in the left ventricular remodeling. *Russian Medical Journal*. 2020;10:17–19. (In Russ.). Available from: [https://www.rmj.ru/articles/kardiologiya/Roly\\_matriksnoy\\_metalloproteinyazy\\_9\\_v\\_remodelirovani\\_miokarda\\_levogo\\_gheludochka](https://www.rmj.ru/articles/kardiologiya/Roly_matriksnoy_metalloproteinyazy_9_v_remodelirovani_miokarda_levogo_gheludochka) (accessed 01.09.2022).
24. *Tanana OS, Sukmanova IA, Ponomarenko IV*. The clinical significance of copeptin and matrix metalloproteinases in men with acute coronary syndrome. *Kardiologiya*. 2017;57(S3):32–9. DOI: 10.18087/cardio.2400.
25. *Печерина Т.Б., Барбараш О.Л.* Матриксные металлопротеиназы. Клиническая и прогностическая значимость у больных инфарктом миокарда. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019;4(2):84–94. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-2-84-94.
26. *Печерина ТБ, Барбараш ОЛ*. Clinical and prognostic significance of matrix metalloproteinases in patients with myocardial infarction. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019;4(2):84–94. (In Russ.). DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-2-84-94.

### Информация об авторах

Михаил Александрович Попов – кандидат медицинских наук, врач-кардиохирург, научный сотрудник отделения кардиохирургии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Дмитрий Валерьевич Шумаков – член-корреспондент РАН, профессор, руководитель отдела хирургии сердца и сосудов МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Лариса Евсеевна Гуревич – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отделения морфологической диагностики отдела онкологии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Дмитрий Николаевич Федоров – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом Российского Научного центра хирургии им. Б.В. Петровского.

Дмитрий Игоревич Зыбин – кандидат медицинских наук, заведующий отделением кардиохирургии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Валентина Евгеньевна Ашевская – врач-патологоанатом Группы компаний «МЕДСИ».

Полина Артуровна Коростелева – врач-патологоанатом Международной сети клиничко-диагностических лабораторий СИТИЛАБ.

Влада Михайловна Тюрина – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

### Author information

Mikhail A. Popov – Cand. Sci. (Med.), Cardiac Surgeon, Researcher, Department of Cardiac Surgery, MF Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.  
<https://orcid.org/0000-0002-0316-8410>

Dmitriy V. Shumakov – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Head of the Department of Surgery of Heart and Vessels, MF Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.  
<https://orcid.org/0000-0003-4204-8865>

Larisa E. Gurevich – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Leading Researcher, Department of Morphological Diagnostics, Oncology Department, MF Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.  
<https://orcid.org/0000-0002-9731-3649>

Dmitriy N. Fedorov – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, Petrovsky National Research Centre of Surgery.  
<https://orcid.org/0000-0001-6697-122X>

Dmitriy I. Zybin – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Cardiac Surgery, MF Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.  
<https://orcid.org/0000-0001-7087-5441>

Valentina E. Ashevskaya – Pathologist, MEDSI Group of Companies JSC.  
<https://orcid.org/0000-00020248-3259>

Polina A. Korosteleva – Pathologist, International Network of Clinical Diagnostic Laboratories CITILAB.  
<https://orcid.org/0000-0001-7867-5241>

Vlada M. Tyurina – Pathologist, Department of Pathology, MF Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.  
<https://orcid.org/0000-0002-1426-0917>

## Изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах мозга при экспериментальной церебральной ишемии

Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь

УО Гродненский государственный медицинский университет Минздрава Республики Беларусь, Гродно, Республика Беларусь

**Резюме. Введение.** АТФ-синтаза является ключевым ферментом синтеза АТФ. Изучение ее содержания в нейронах мозга при экспериментальной церебральной ишемии может отражать изменения функционального состояния разных нейронов и их чувствительность к этому патологическому воздействию. Цель исследования – выявить закономерности изменения иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах различных отделов мозга крысы при субтотальной ишемии разной длительности.

**Материалы и методы.** Моделирование субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) осуществлялось посредством перевязки обеих общих сонных артерий (n=12: контрольная группа – n=4, 30 минут субтотальной ишемии – n=4, 3 часа субтотальной ишемии – n=4); контрольным животным проводилась ложная операция. Фронтальные парафиновые срезы окрашивали по Нисслю для идентификации структур мозга и иммуногистохимически на АТФ-синтазу. Иммунореактивность АТФ-синтазы выражали в единицах оптической плотности  $\times 10^3$ .

**Результаты.** Изменение иммунореактивности АТФ-синтазы при двусторонней перевязке обеих общих сонных артерий в структурах мозга происходит в разной степени и не во всех исследованных структурах. Наиболее выраженное и быстрое снижение содержания АТФ-синтазы отмечено в конечном мозге, а именно в височной и ретроспленальной агранулярной коре. Наименее выраженные изменения в коре – в структурах гиппокампа, в нейронах II слоя поля СА2. В структурах таламуса, гипоталамуса и среднего мозга динамика АТФ-синтазы варьирует. В структурах продолговатого мозга снижение иммунореактивности происходит медленнее и менее выражено. В мозжечке иммунореактивность АТФ-синтазы не изменяется после 30-минутной СИГМ, но снижается после 3-часовой СИГМ в ядрах и клетках Пуркиньи некоторых участков коры мозжечка.

**Заключение.** При экспериментальной церебральной ишемии степень и скорость изменения содержания АТФ-синтазы в структурах головного мозга крысы сильно различаются и зависят как от отдела мозга, так и от нейромедиаторной природы нейронов.

**Ключевые слова:** АТФ-синтаза, ишемия, иммуногистохимия, мозг, крыса

**Для корреспонденции:** Елизавета Валентиновна Узлова. E-mail: uzlovaliza@gmail.com

**Для цитирования:** Узлова Е.В., Зиматкин С.М., Бонь Е.И. Изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах мозга при экспериментальной церебральной ишемии. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):68–76. DOI: 10.31088/СЕМ2023.12.1.68-76.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта БРФФИ М21М-054 «Оценка энергетического потенциала и депо кислорода нейронов мозга для прогнозирования их чувствительности к ишемии», № 20213456.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Статья поступила 06.05.2022. Получена после рецензирования 30.05.2022. Принята в печать 15.09.2022.

## Changes in the content of ATP synthase in brain neurons during experimental cerebral ischemia

E.V. Uzlova, S.M. Zimatkin, E.I. Bon

Grodno State Medical University, Ministry of Health of the Republic of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

**Abstract. Introduction.** ATP synthase is a key component of ATP synthesis. The study of its content in brain neurons in experimental cerebral ischemia may reflect changes in the functional state of different neurons and their sensitivity to the pathological effect. The study aimed to reveal patterns in ATP synthase immunoreactivity in neurons of various parts of the rat brain during subtotal ischemia of various durations. **Materials and methods.** Modeling of subtotal cerebral ischemia (SCI) was carried out by ligation of both common carotid arteries (n=12: control group – n=4, 30-minute SCI – n=4, 3-hour SCI – n=4); the control

animals underwent a sham surgery. Frontal paraffin sections were stained according to the Nissl method to identify brain structures and immunohistochemically for ATP synthase. ATP synthase immunoreactivity was expressed in units of optical density  $\times 10^3$ .

**Results.** Changes in the immunoreactivity of ATP synthase in brain structures occur to varying degrees and not in all studied structures. The most pronounced and rapid decrease in the content of ATP synthase was observed in telencephalon, namely in the temporal and retrosplenial agranular cortex. The least pronounced changes in the cortex were in the structures of the hippocampus, in the neurons of layer II of the CA2 field. In the structures of the thalamus, hypothalamus, and midbrain the dynamic varied. In the structures of the medulla oblongata, the decrease in immunoreactivity occurs more slowly and less pronounced.

**Conclusion.** During experimental cerebral ischemia the degree and rate of change in the content of ATP synthase in rat brain structures vary greatly and depend both on the brain region and the neurotransmitter nature of neurons.

**Keywords:** ATP synthase, ischemia, immunohistochemistry, brain, rat

**Corresponding author:** Elizaveta V. Uzlova. E-mail: uzlovaliza@gmail.com

**For citation:** Uzlova E.V., Zimatkin S.M., Bon E.I. Changes in the content of ATP synthase in brain neurons during experimental cerebral ischemia. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):68–76 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.68-76.

**Funding.** The study was supported by the Belarusian Republican Foundation for Basic Research M21M-054 “Evaluation of the energy potential and oxygen depot of brain neurons to predict their sensitivity to ischemia”, Project No. 20213456.

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

**Received** 06.05.2022. **Received in revised form** 30.05.2022. **Accepted** 15.09.2022.

## Введение

АТФ-синтаза является одним из основных белков внутренней мембраны митохондрий. Она не только определяет морфологию внутренней мембраны, но и обеспечивает последний этап процесса окислительного фосфорилирования – синтез аденозинтрифосфата (АТФ) из аденозиндифосфата (АДФ) и неорганического фосфата. При определенных условиях АТФ-синтаза способна осуществлять обратный процесс – гидролиз АТФ. Баланс между данными процессами синтеза и гидролиза с использованием энергии трансмембранного протонного градиента – необходимое условие эффективного клеточного метаболизма и выживания клеток при патологии.

АТФ-синтаза представляет собой «молекулярную машину» из двух крупных компонентов –  $F_0$  и  $F_1$ , состоящих из множества субъединиц. Известно, что нарушения сборки и/или функционирования АТФ-синтазы ассоциированы со множеством нейродегенеративных заболеваний.

N. Mnatsakanyan и E.A. Jonas [1] выдвинуто предположение, что ишемические/реперфузионные повреждения митохондрий приводят к открытию канала утечки с-фрагмента АТФ-синтазы и, как следствие, необратимой диссоциации  $F_0$  и  $F_1$  компонентов АТФ-синтазы, что влечет за собой гибель клеток [1]. Следовательно, изменение содержания АТФ-синтазы при ишемическом воздействии может служить маркером скорой гибели клеток, а разное время проявления этих изменений – мерой их чувствительности к ишемическому воздействию.

Таким образом, изучение регионарных закономерностей изменения содержания АТФ-синтазы при экспериментальной ишемии актуально и может способствовать расширению уже имеющихся представлений о влиянии ишемии на компоненты митохондрий и их

роль в чувствительности популяций нейронов различных отделов мозга.

Цель исследования – выявить закономерности изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах различных отделов мозга крысы при субтотальной ишемии разной длительности.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на 12 беспородных белых крысах-самцах линии Вистар массой 220–250 граммов (контрольная группа –  $n=4$ , 30 минут субтотальной ишемии –  $n=4$ , 3 часа субтотальной ишемии –  $n=4$ ). Животных содержали в стандартных условиях вивария на полноценном рационе. Соблюдались все требования директивы Европейского парламента и Европейского совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей [2]. На данное исследование получено разрешение комитета по биоэтической этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 15.01.2020).

Моделирование субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) осуществлялось путем перевязки обеих общих сонных артерий в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40–50 мг/кг). Контрольным животным проводили ложную операцию без перевязки общих сонных артерий. Забор головного мозга крыс опытных и контрольной групп осуществлялся через 30 минут и через 3 часа после операции.

Крыс выводили из эксперимента путем декапитации, извлекали головной мозг и делили на три части фронтальными разрезами. Для фиксации использовали комбинированный фиксатор – цинк-этанол-формальдегид [3], образцы выдерживали при температуре  $+4^\circ\text{C}$  в течение 20 часов, затем обезживали

в спиртах, просветляли в ксилолах и заключали в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм изготавливали через каждые 500 мкм с использованием микротомы Leica 2125 RTS (Leica Microsystems, Германия) и монтировали на заранее подготовленные стекла.

Один срез из каждой серии окрашивали по методу Ниссля для идентификации структур мозга по атласу [4], другой окрашивали иммуногистохимически для выявления содержания АТФ-синтазы. Применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-АТР5А antibody (ab14748, Abcam, Великобритания) в оптимальном разведении 1:2400, экспозиция 20 часов, при температуре +4°C во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (ab236466, Abcam, Великобритания).

В качестве положительного контроля выступали ткани с известным высоким содержанием АТФ-синтазы. Отрицательным контролем служили срезы, которые вместо первичных антител обрабатывали нормальной кроличьей сывороткой (иммунопозитивное окрашивание в них отсутствовало). Дополнительным внутренним отрицательным контролем служили оболочки мозга и ядра нейронов.

Изучение препаратов, микрофотографирование и цитофотометрию в структурах мозга проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems, Германия) и программы компью-

терного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Изучено 25 отделов, областей мозга, слоев коры и ядер (скоплений нейронов) мозга. Иммунореактивность АТФ-синтазы выражали в единицах оптической плотности  $\times 10^3$ .

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США; серийный номер 31415926535897). Результаты цитофотометрии представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – верхняя граница нижнего квартиля, UQ – нижняя граница верхнего квартиля. Для сравнения контрольной и опытных групп использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни [5]. Различия между группами считались статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ( $p < 0,05$ ).

### Результаты

Иммунореактивность АТФ-синтазы выявлена в цитоплазме тел нейронов и их отростков в виде зернистости, хорошо визуализирующейся при большом увеличении в виде скоплений окрашенных диаминобензидином продуктов иммуногистохимической реакции. Ядра нейронов остались неокрашенными.

Цитоплазма большинства нейронов у животных опытных групп тоже обладала окрашенной зернистостью, однако менее выраженной по сравнению с цитоплазмой нейронов в контрольной группе. В зависимости от длительности СИГМ появились нейроны с плохо визуализирующейся областью ядра и крайне

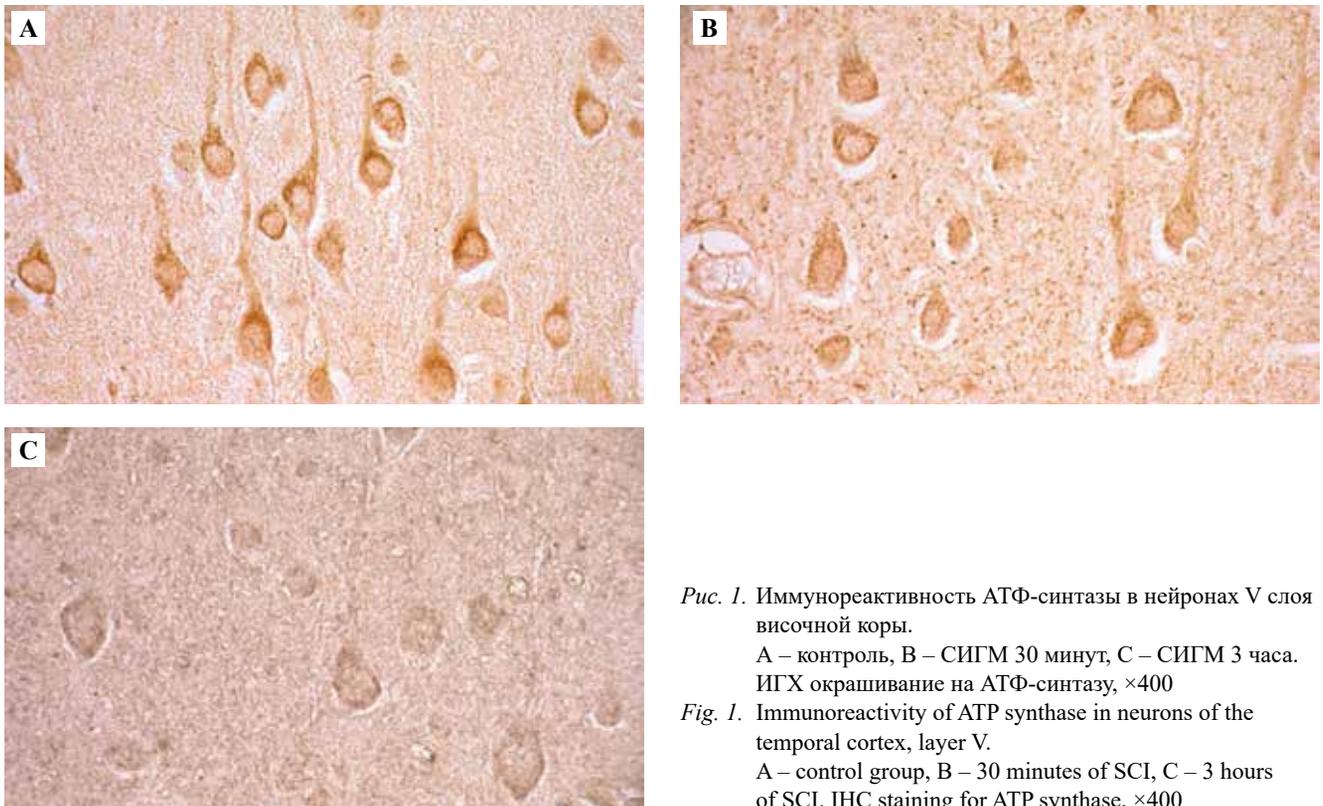


Рис. 1. Иммунореактивность АТФ-синтазы в нейронах V слоя височной коры.

А – контроль, В – СИГМ 30 минут, С – СИГМ 3 часа. ИГХ окрашивание на АТФ-синтазу,  $\times 400$

Fig. 1. Immunoreactivity of ATP synthase in neurons of the temporal cortex, layer V.

А – control group, В – 30 minutes of SCI, С – 3 hours of SCI. IHC staining for ATP synthase,  $\times 400$

слабо окрашенные нейроны (окрашены так же или слабее, чем окружающий нейропилль) (рис. 1 С).

Наибольшие изменения иммунореактивности АТФ-синтазы обнаружены в нейронах височной и ретросплениальной агранулярной коры конечного мозга.

Весьма резкое снижение иммунореактивности – на 30–50% – наблюдали во всех исследованных слоях коры мозга (III, V, VI) уже после 30-минутной СИГМ (табл., рис. 1). После 3-часовой СИГМ иммунореактивность несколько повышалась в сравнении с пре-

Таблица | Table

**Изменение иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах мозга крысы ( $\times 10^3$  единиц оптической плотности) |  
ATP synthase immunoreactivity in murine brain neurons ( $\times 10^3$  optical density units)**

Структура   Structure	Содержание АТФ-синтазы, Ме (LQ; UQ)   Content of ATP synthase, Me (LQ; UQ)		
	контрольная группа   control group	30 минут СИГМ   30 minutes of subtotal cerebral ischemia	3 часа СИГМ   3 hours of subtotal cerebral ischemia
<b>Конечный мозг   Telencephalon</b>			
Митральные клетки обонятельной луковицы   Mitral cells of the olfactory bulb	188,4 (146,9; 212,7)	284,1 (252,6; 309,5) *(p=0,00)	194,1 (171,2; 226,9) *(p=0,3) **(p=0,0000)
Пириформная кора, II слой   Piriform cortex, layer II	306,2 (241,6; 384,3)	243,1 (214,9; 270,5) *(p=0,0002)	213,0 (191,1; 237,0) *(p=0,00) **(p=0,006)
Гиппокамп СА1, II слой   Hippocampus CA1, layer II	275,0 (229,7; 316,3)	248,8 (208,4; 280,7) *(p=0,044)	235,3 (206,5; 255,5) *(p=0,0022) **(p=0,29)
Гиппокамп СА2, II слой   Hippocampus CA2, layer II	298,2 (265,3; 339,0)	321,1 (270,8; 382,0) *(p=0,21)	281,9 (234,3; 312,6) *(p=0,024) **(p=0,003)
Гиппокамп СА3, II слой   Hippocampus CA3, layer II	294,5 (270,6; 341,2)	246,8 (207,6; 283,9) *(p=0,00)	205,9 (176,0; 238,0) *(p=0,00) **(p=0,002)
Зубчатая извилина, II слой   Dentate gyrus, layer II	284,9 (250,8; 340,3)	230,1 (187,7; 307,2) *(p=0,001)	178,5 (160,5; 199,6) *(p=0,00) **(p=0,00)
Ретросплениальная агранулярная кора, II слой   Retrosplenial agranular cortex, layer II	290,8 (261,7; 327,8)	191,6 (159,2; 242,9) *(p=0,00)	196,9 (157,2; 232,5) *(p=0,00) **(p=0,94)
Ретросплениальная агранулярная кора, V слой   Retrosplenial agranular cortex, layer V	269,7 (250,1; 314,7)	182,7 (141,8; 224,8) *(p=0,00)	227,7 (206,6; 287,6) *(p=0,00) **(p=0,00)
Ретросплениальная агранулярная кора, VI слой   Retrosplenial agranular cortex, layer VI	287,4 (250,1; 308,0)	149,7 (131,1; 258,4) *(p=0,00)	219,6 (186,1; 273,4) *(p=0,00) **(p=0,00)
Височная кора, III слой   Temporal cortex, layer III	294,6 (249,7; 313,7)	165,7 (89,9; 190,0) *(p=0,00)	202,7 (183,5; 231,7) *(p=0,00) **(p=0,00)
Височная кора, V слой   Temporal cortex, layer V	314,6 (275,0; 335,4)	194,8 (126,7; 245,0) *(p=0,00)	195,0 (170,6; 240,3) *(p=0,00) **(p=0,39)
Височная кора, VI слой   Temporal cortex, layer VI	283,7 (246,1; 344,3)	198,7 (164,7; 261,5) *(p=0,00)	198,8 (180,9; 241,7) *(p=0,00) **(p=0,64)

Структура   Structure	Содержание АТФ-синтазы, Ме (LQ; UQ)   Content of ATP synthase, Me (LQ; UQ)		
	контрольная группа   control group	30 минут СИГМ   30 minutes of subtotal cerebral ischemia	3 часа СИГМ   3 hours of subtotal cerebral ischemia
<b>Промежуточный мозг   Diencephalon</b>			
Задняя группа ядер таламуса   Posterior thalamic nuclear group	255,9 (218,2; 303,0)	221,3 (190,9; 234,5) *(p=0,00)	257,4 (236,6; 286,6) *(p=0,55) **(p=0,00)
Медиальное маммиллярное ядро   Medial mammilar nucleus	333,4 (314,7; 360,9)	347,0 (292,4; 387,8) *(p=0,94)	297,2 (269,5; 341,0) *(p=0,003) **(p=0,021)
Медиальное габенулярное ядро таламуса   Medial habenula of the thalamus	342,8 (283,0; 381,8)	256,0 (192,4; 289,7) *(p=0,00)	207,0 (170,0; 232,5) *(p=0,00) **(p=0,001)
Гистаминергическое ядро E2   Histaminergic nucleus E2	360,7 (315,8; 425,1)	327,0 (276,2; 370,0) *(p=0,01)	252,7 (218,2; 294,1) *(p=0,000) **(p=0,000)
<b>Средний и продолговатый мозг   Mesencephalon and medulla oblongata</b>			
Верхняя область покрывки   Ventral tegmental area	271,3 (236,6; 292,4)	255,7 (206,8; 318,0) *(p=0,68)	267,3 (239,0; 302,8) *(p=0,96) **(p=0,73)
Черная субстанция, компактное вещество   Substantia nigra, pars compacta	327,0 (298,2; 349,2)	251,1 (208,1; 304,4) *(p=0,00)	293,4 (270,3; 337,5) *(p=0,007) **(p=0,002)
Латеральное ретикулярное ядро   Lateral reticular nucleus	306,1 (235,3; 355,6)	279,9 (117,6; 324,3) *(p=0,12)	315,9 (273,2; 328,2) *(p=0,6) **(p=0,049)
Спинальное ядро тройничного нерва   Spinal trigeminal nucleus	332,4 (282,3; 365,1)	303,8 (270,9; 345,2) *(p=0,18)	310,3 (277,6; 377,9) *(p=0,81) **(p=0,2)
Гигантоцеллюлярное ядро   Gigantocellular nucleus	340,5 (305,2; 381,0)	366,6 (327,5; 431,5) *(p=0,04)	309,2 (288,8; 350,3) *(p=0,1) **(p=0,001)
<b>Мозжечок   Cerebellum</b>			
Простая долька, клетки Пуркинье   Simple lobule, Purkinje cells	231,7 (219,1; 243,4)	247,0 (216,4; 279,4) *(p=0,09)	248,0 (234,6; 263,5) *(p=0,033) **(p=0,99)
Околочлокочок, клетки Пуркинье   Parafloccus, Purkinje cells	270,3 (246,7; 296,9)	280,8 (259,6; 317,0) *(p=0,19)	220,0 (184,5; 245,9) *(p=0,00) **(p=0,00)
Латеральное ядро   Lateral nucleus	325,8 (284,6; 395,9)	308,1 (279,2; 345,9) *(p=0,24)	249,7 (198,3; 298,4) *(p=0,0002) **(p=0,0004)
Вставочное ядро   Interposed nucleus	348,6 (305,5; 400,2)	324,7 (298,4; 341,7) *(p=0,02)	273,3 (230,8; 329,7) *(p=0,002) **(p=0,04)

\* в сравнении с контрольной группой; \*\* в сравнении с 30 минутами СИГМ

\* compared to the control group; \*\* compared to 30-minute of SCI

дыдущим сроком или оставалась на прежнем уровне, то есть дальнейшее снижение не наблюдалось (табл.).

Пириформная кора, СА1–СА3 поля гиппокампа и зубчатая извилина характеризовались меньшим снижением иммунореактивности АТФ-синтазы после 30-минутной и 3-часовой СИГМ. В разных полях гиппокампа и зубчатой извилине изменения иммунореактивности АТФ-синтазы выражены неодинаково: наибольшее снижение после 30-минутной СИГМ обнаружено в нейронах СА3 поля и зубчатой извилине, и оно продолжается после 3-часовой СИГМ (табл.).

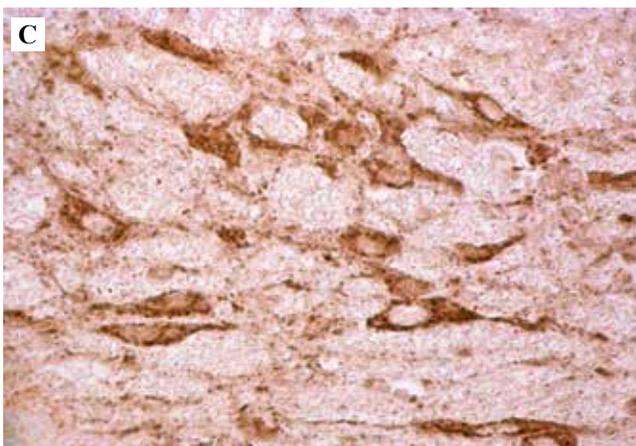
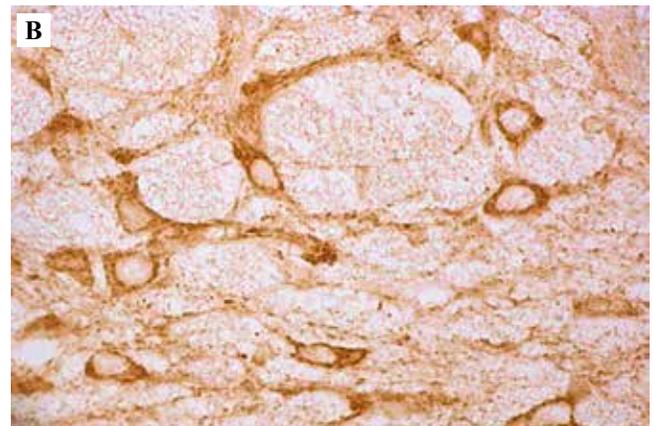
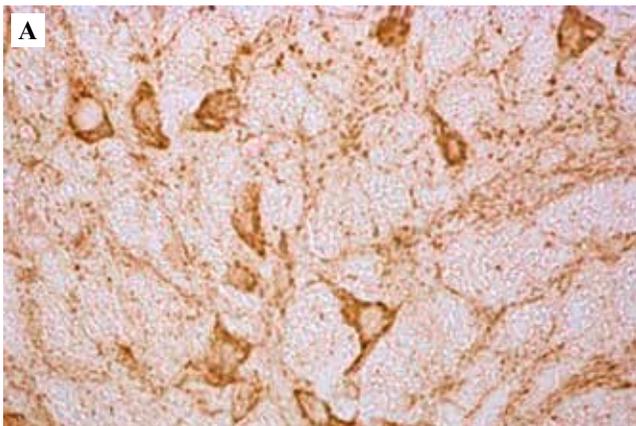
Единственной из исследованных структур конечного мозга (и мозга крысы в целом), в которой после 30-минутной СИГМ наблюдалось резкое возрастание (на 50%) иммунореактивности АТФ-синтазы, являлись митральные клетки обонятельной луковицы. После 3-часовой СИГМ она снижалась до значений контрольной группы (табл.).

В нейронах ядер промежуточного мозга скорость и характер изменений иммунореактивности АТФ-синтазы различались. Выделялись нейроны задней группы ядер таламуса, в которых наблюдалось снижение, а затем повышение иммунореактивности. В остальных исследованных ядрах через 3 часа СИГМ

содержание АТФ-синтазы снижалось еще больше, чем через 30 минут.

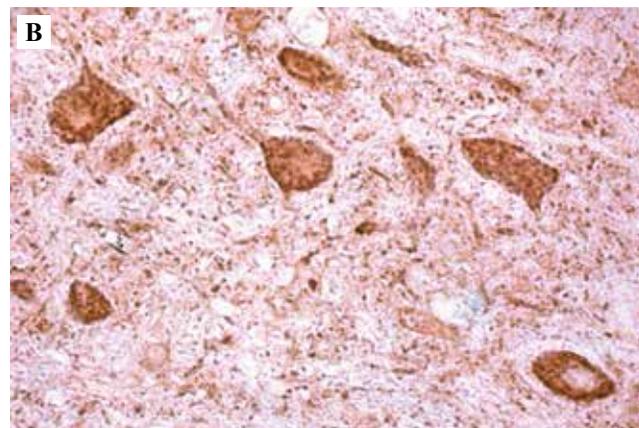
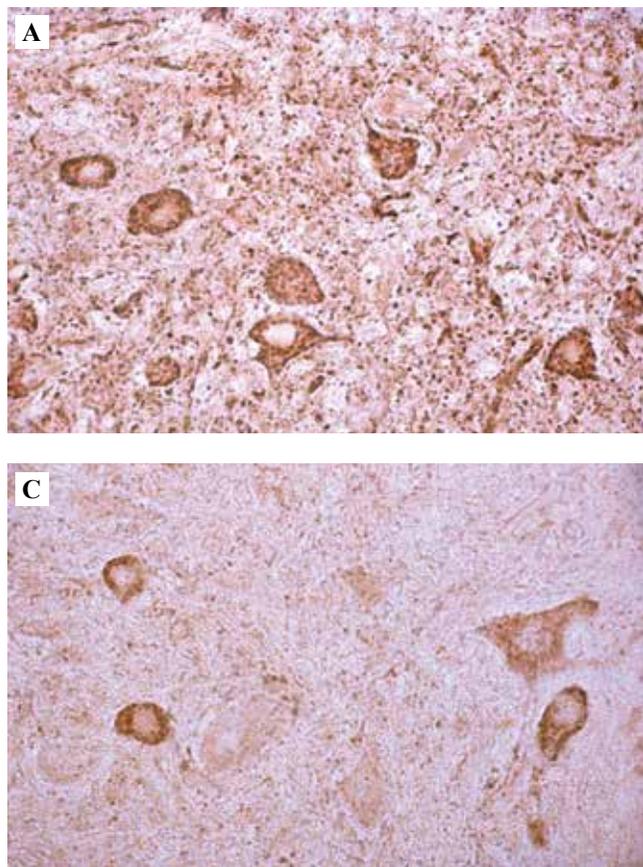
В нейронах структур ствола изменения иммунореактивности носили наиболее медленный и менее выраженный характер. В их ядрах не выявлено резкого снижения или увеличения иммунореактивности (изменения преимущественно находятся в пределах  $\pm 10\%$ ) как после 30-минутной, так и после 3-часовой СИГМ, а в некоторых их структурах (вентральная область покрышки и спинальное ядро тройничного нерва) изменения уровня иммунореактивности вовсе были статистически незначимы. Примечательно то, что даже в случае сравнительно сильного падения значений иммунореактивности АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ (например, в компактном веществе черной субстанции) после 3-часовой СИГМ происходило не снижение, а повышение иммунореактивности (рис. 2).

В нейронах ядер мозжечка и клеток Пуркинье коры мозжечка изменения иммунореактивности АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ почти не происходили. После 3-часовой СИГМ иммунореактивность в нейронах ядер снижалась на 15–20% в сравнении с контролем (рис. 3), а в клетках Пуркинье разных участков коры мозжечка отмечалось выраженное снижение иммунореактивности АТФ-синтазы только через 3 часа СИГМ.



*Рис. 2.* Иммунореактивность АТФ-синтазы в нейронах компактного вещества черной субстанции. А – контроль, В – СИГМ 30 минут, С – СИГМ 3 часа. Иммуногистохимическое окрашивание на АТФ-синтазу,  $\times 400$

*Fig. 2.* Immunoreactivity of ATP synthase in neurons of the substantia nigra pars compacta. А – control group, В – 30 minutes of SCI, С – 3 hours of SCI. IHC staining for ATP synthase,  $\times 400$



*Рис. 3.* Иммунореактивность АТФ-синтазы в нейронах вставочного ядра мозжечка.  
А – контроль, В – СИГМ 30 минут, С – СИГМ 3 часа.  
Иммуногистохимическое окрашивание на АТФ-синтазу,  $\times 400$

*Fig. 3.* Immunoreactivity of ATP synthase in neurons of interposed nucleus of the cerebellum.  
А – control group, В – 30 minutes of SCI, С – 3 hours of SCI. IHC staining for ATP synthase,  $\times 400$

## Обсуждение

Результаты измерения иммунореактивности АТФ-синтазы структур контрольной группы отвечают ранее установленным закономерностям [6], а наблюдаемая зернистость цитоплазмы нейронов соответствует общепринятым представлениям о расположении митохондрий в цитоплазме тел нейронов и их отростках.

Снижение зернистости цитоплазмы, наблюдаемое в опытных группах, и соответствующее низкое содержание АТФ-синтазы в этих нейронах, вероятно, свидетельствуют и об изменении в структуре митохондрий вследствие диссоциации субъединиц фермента [1]. Поскольку димеры АТФ-синтазы определяют морфологию крист митохондрий [7], значительное снижение содержания АТФ-синтазы может стать причиной изменения структуры крист. Ранее сообщалось о снижении количества крист и изменении их морфологии при ишемии и ишемии/реперфузии в отдельных структурах мозга, в том числе при 30-минутной ишемии головного мозга (ИГМ) [8, 9]. Снижение зернистости вплоть до ее полного исчезновения при 3-часовой ишемии, наблюдаемое нами, может свидетельствовать о прогрессировании деструкции митохондрий.

Полученные данные об изменении содержания АТФ-синтазы в структурах мозга крыс демонстрируют различные степень и скорость снижения содержания АТФ-синтазы при субтотальной ишемии, что может быть следствием как неодинакового кровоснабжения

исследованных отделов, так и избирательной чувствительности отдельных популяций нейронов мозга крысы в пределах отделов, возможно из-за их гетерогенной нейромедиаторной природы и метаболического статуса.

Наиболее значительное и быстрое снижение содержания АТФ-синтазы характерно для структур конечного мозга крысы, на которые приходится наибольшая степень ишемического воздействия в данной экспериментальной модели ишемии. Тем не менее и здесь скорость и степень снижения содержания АТФ-синтазы также разнообразны. Об отличиях в чувствительности разных частей конечного мозга к ИГМ сообщалось ранее [10].

Поля гиппокампа характеризуются разнородными скоростью и степенью изменения иммунореактивности АТФ-синтазы при церебральной ишемии. Наиболее уязвимое к ишемическим повреждениям поле СА1 [11] характеризуется достаточно плавным снижением иммунореактивности. В то же время относительно устойчивое к ишемическим повреждениям поле СА3 [11] и зубчатая извилина теряют иммунореактивность АТФ-синтазы в несколько большей степени и быстрее, а наименее чувствительным по степени снижения иммунореактивности является поле СА2.

И среди структур конечного мозга, и среди других исследованных структур мозга крысы особенно выделяются характер и скорость изменения иммунореактивности АТФ-синтазы митральных клеток обонятельных луковиц. Столь резкое возрастание иммунореактив-

ности АТФ-синтазы примечательно в свете сравнительно слабой развитости энергетического аппарата митральных клеток в норме [6] и особого характера их функционирования – ритмической работы [12].

Характер изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах структур промежуточного мозга разнообразен. Избирательная чувствительность нейронов таламуса и гипоталамуса к ИГМ описывалась в литературе, однако динамика АТФ-синтазы этих нейронов не была освещена. Несмотря на то, что таламус интенсивно кровоснабжается вследствие высоких метаболических потребностей и имеет хорошо развитую сеть коллатералей, характер изменений в его структурах очень отличается. В задней группе ядер таламуса после длительного ишемического воздействия происходит восстановление уровня иммунореактивности АТФ-синтазы, в то время как в нейронах медиального габенулярного ядра иммунореактивность падает на протяжении всех сроков воздействия.

Для гистаминергических нейронов гипоталамуса (ядро E2) устойчивость АТФ-синтазы к ишемическому воздействию не выявлена. Из литературы известно, что в нейронах данного ядра после 30-минутной ишемии не только преобладают изменения, указывающие на активацию синтетических процессов, но уже наблюдаются признаки деструкции ультраструктур [8], что вполне может соответствовать 9% снижению количества АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ.

Полученные данные по изменению иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах среднего и продолговатого мозга указывают на меньшую подверженность их нейронов изменению содержания АТФ-синтазы при перевязке обеих общих сонных артерий. Возможно, это может быть связано с сохранностью снабжающих их кровеносных сосудов в использованной модели ишемии. Тем не менее была отмечена структура – черная субстанция, – для которой обнаружено резкое снижение содержания АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ. Подобный характер изменений, вероятно, обусловлен большой долей чувствительных к ИГМ дофаминергических нейронов [13] и меньшей митохондриальной массой в этих нейронах в сравнении с другими структурами среднего мозга (в частности, с верхней областью покрышки) [14]. Однако после 3-часовой СИГМ содержание АТФ-синтазы увеличивается в сопоставлении с 30-минутной СИГМ.

В нейронах структур мозжечка иммунореактивность АТФ-синтазы не изменяется при 30-минутной субтотальной ишемии, но уже при 3-часовой СИГМ проявляются изменения: в ядрах зарегистрировано снижение иммунореактивности, в то время как реакция клеток Пуркинью различается в зависимости от участка коры мозжечка.

### Заключение

При экспериментальной субтотальной ишемии головного мозга степень и скорость изменения содержа-

ния АТФ-синтазы в структурах головного мозга крысы сильно различаются и зависят от его отдела. Наиболее быстрое и значительное снижение отмечено в структурах конечного мозга – височной, ретроспленальной агранулярной коре, а также в ядрах гипоталамуса, а наименьшее в нейронах продолговатого мозга и мозжечка.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь.

Сбор и обработка материала – Е.В. Узлова, Е.И. Бонь.

Написание текста – Е.В. Узлова.

Редактирование – С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.V. Uzlova, S.M. Zimatkin, E.I. Bon.

Collected the data and performed the analysis – E.V. Uzlova, E.I. Bon.

Wrote the paper – E.V. Uzlova.

Edited the manuscript – S.M. Zimatkin, E.I. Bon.

### Литература/References

1. Mnatsakanyan N, Jonas EA. The new role of F1Fo ATP synthase in mitochondria-mediated neurodegeneration and neuroprotection. *Exp Neurol*. 2020;332:113400. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113400.
2. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council of the European Union of 22 Sept 2010 on animal protection, used in the scientific purposes. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/2019-06-26> (accessed 01.04.2022).
3. Д.Э. Коржевский (ред.). Иммуногистохимическое исследование головного мозга. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2016. 143 с. DE Korzhevskiy (ed.) Immunohistochemical study of the brain. Saint-Petersburg: SpecLit, 2016. 143 p. (In Russ.).
4. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th. ed. London: Academic Press, 2007. 456 p.
5. Медик В.А., Токмачев М.С. Математическая статистика в медицине. В 2 т. Т. 2: Учебное пособие для вузов. 2-е издание. Москва: Юрайт, 2021. 347 с. *Medik VA, Tokmachev MS. Math statistics in medicine. In 2 volumes. V. 2: Training manual for higher educational institutions, 2nd. ed. Moscow: Urait, 2021. 347 p. (In Russ.).*
6. Узлова Е.В., Зиматкин С.М. АТФ-синтаза в нейронах мозга крысы. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2021;3:17–27. DOI: 10.33581/2521-1722-2021-3-17-27. *Uzlova EV, Zimatkin SM. ATP synthase in rat brain neurons. Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;3:17–27 (In Russ.). DOI: 10.33581/2521-1722-2021-3-17-27.
7. Blum TB, Hahn A, Meier T, Davies KM, Kühlbrandt W. Dimers of mitochondrial ATP synthase induce membrane curvature and self-assemble into rows. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019;116(10):4250–5. DOI: 10.1073/pnas.1816556116.
8. Кузнецова В.Б., Криштофик Е.И., Козляковская О.О. Особенности ультраструктуры нейронов гистаминергического ядра E2 гипоталамуса крысы после субтотальной тридцатиминутной ишемии головного мозга и реперфузии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2015;49(1):44–48. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23171735> (получено 01.04.2022).

- Kuzniatsova VB, Kryshchik YeI, Kazliakouskaya VA.* Ultrastructural features of neurons of histaminergic nucleus E2 in rat hypothalamus after subtotal thirty-minute cerebral ischemia and reperfusion. *Journal of Grodno State Medical University.* 2015;49(1):44–48 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23171735> (accessed 01.04.2022).
9. *Kumar R, Bukowski MJ, Wider JM, Reynolds CA, Calo L, Lepore B et al.* Mitochondrial dynamics following global cerebral ischemia. *Mol Cell Neurosci.* 2016;76:68–75. DOI: 10.1016/j.mcn.2016.08.010.10.
10. *Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Валько Н.А.* Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике субтотальной церебральной ишемии. *Оренбургский медицинский вестник.* 2019;2(26):36–41. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39276827> (получено 01.04.2022).  
*Bon EI, Maksimovich NY, Zimatkin SM, Valko NA.* Morphological disturbances of the parietal cortex and hippocampus neurons in the dynamics of subtotal cerebral ischemia. *Orenburgskij medicinskij vestnik = Orenburg medical herald.* 2019;2(26):36–41 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39276827> (accessed 01.04.2022).
11. *Schmidt-Kastner R.* Genomic approach to selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia-hypoxia. *Neuroscience.* 2015;309:259–79. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.08.034.
12. *Fourcaud-Trocmé N, Briffaud V, Amat C.* Modeling intracellular silent oscillations and rhythmic discharge in olfactory bulb mitral cells. *BMC Neurosci.* 2013;14(Suppl 1):P8. DOI: 10.1186/1471-2202-14-S1-P8.
13. *Chung CY, Seo H, Sonntag KC, Brooks A, Lin L, Isacson O.* Cell type-specific gene expression of midbrain dopaminergic neurons reveals molecules involved in their vulnerability and protection. *Hum Mol Genet.* 2005;14(13):1709–25. DOI: 10.1093/hmg/ddi178.
14. *Liang CL, Wang TT, Luby-Phelps K, German DC.* Mitochondria mass is low in mouse substantia nigra dopamine neurons: Implications for Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 2007;203(2):370–80. DOI: 10.1016/j.expneurol.2006.08.015.

### Информация об авторах

Елизавета Валентиновна Узлова – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета.

Сергей Михайлович Зиматкин – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета.

Елизавета Игоревна Бонь – кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии имени Д.А. Маслакова Гродненского государственного медицинского университета.

### Author information

Elizaveta V. Uzlova – Postgraduate Student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-5916-4390>

Sergey M. Zimatkin – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-5728-2588>

Elizaveta I. Bon – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, D.A. Maslakov Department of Pathological Physiology, Grodno State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2380-1586>

## Разработка экспериментальной модели патологии эндометрия (синдрома Ашермана)

М.Н. Болтовская<sup>1</sup>, Г.И. Табеева<sup>2</sup>, Н.Б. Тихонова<sup>1</sup>, В.В. Алексанкина<sup>1</sup>,  
А.В. Асатурова<sup>2</sup>, П.А. Вишнякова<sup>2,3</sup>, Т.Х. Фатхудинов<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

**Резюме.** *Введение.* Одной из сложных проблем в гинекологии является синдром Ашермана (СА), характеризующийся частичной или полной облитерацией полости матки рубцовой тканью в результате поражения базального слоя эндометрия при внутриматочных вмешательствах. Методы лечения СА не всегда эффективны, что диктует необходимость поиска новых подходов к предупреждению фиброза и стимуляции регенерации эндометрия. По этическим принципам это возможно только при моделировании СА на лабораторных животных. Цель работы – создание этиологически адекватной модели СА у крыс Спрейг-Доули.

*Материалы и методы.* Для моделирования СА использовали 18 самок крыс Спрейг-Доули. Операции проводили на животных в фазе эструса. Животным наносили сквозной продольный разрез правого рога матки, раскрывали его и скальпелем выскабливали эндометрий до внутреннего слоя миометрия. Самкам групп 1 и 2 проводили только выскабливание эндометрия, самкам группы 3 через 7 суток после кюретажа открывали брюшную полость и введенной в рог иглой разрушали внутриматочные спайки. Далее проводилась стандартная процедура ушивания операционной раны. Животных выводили из эксперимента на 7-е (группа 1) и 15-е сутки (группы 2 и 3) после операции передозировкой эфирного наркоза. Участки оперированного и неоперированного рогов матки фиксировали 10% забуференным формалином, заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

*Результаты.* При макроскопическом исследовании на 7-е сутки после операции у всех самок группы 1 были отмечены уплотнение и сужение оперированного участка рога и наличие серозометры – скопления серозной жидкости в полости матки. У самок группы 2 на 15-е сутки серозометра была более выражена. После разрушения маточной спайки у самок группы 3 серозометра отсутствовала или была менее объемной, чем у самок групп 1 и 2. Гистологическое исследование показало, что на 7-е и 15-е сутки после выскабливания эндометрия полость матки и покрывающий ее люминальный эпителий отсутствовали из-за полного замещения соединительной тканью. Маточные железы не обнаруживались или были единичными. У самок на 7-е сутки после разрушения спайки и 15-е сутки после выскабливания эндометрия появлялась небольшая стенозированная маточная полость, выстланная люминальным эпителием, или более крупная маточная полость, содержащая единичные либо множественные спайки, покрытые эпителием. Количество желез было значительно меньше, чем в неоперированном роге.

*Заключение.* Для моделирования синдрома Ашермана самкам крыс Спрейг-Доули, находившимся в фазе эструса, проводили выскабливание эндометриального слоя правого рога матки. На 7-е и 15-е сутки после операции маточная полость и люминальный эпителий отсутствовали из-за полного замещения соединительной тканью, что доказывает формирование внутриматочной спайки и адекватность полученной модели. Существенным отличием оригинальной модели было разрушение спайки на 7-е сутки после повреждения эндометрия для удаления избыточной жидкости в полости матки, восстановления ее проходимости и реэпителизации маточной полости на 15-е сутки после выскабливания. Созданная модель синдрома Ашермана может быть использована для разработки новых подходов к профилактике спаечного процесса и восстановлению структурно-функциональной полноценности эндометрия.

**Ключевые слова:** синдром Ашермана, экспериментальная модель, матка крысы, выскабливание эндометрия, внутриматочные спайки

**Для корреспонденции:** Марина Николаевна Болтовская. E-mail: maribolt@mail.ru

**Для цитирования:** Болтовская М.Н., Табеева Г.И., Тихонова Н.Б., Алексанкина В.В., Асатурова А.В., Вишнякова П.А., Фатхудинов Т.Х. Разработка экспериментальной модели патологии эндометрия (синдрома Ашермана). *Клин. эксп. морфология*. 2023;12(1):77–86. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.77-86.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ № 22-75-00048.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 23.11.2022. Получена после рецензирования 05.12.2022. Принята в печать 12.12.2022.

## Development of an experimental model of endometrial pathology (Asherman's syndrome)

M.N. Boltovskaya<sup>1</sup>, G.I. Tabeeva<sup>2</sup>, N.B. Tikhonova<sup>1</sup>, V.V. Aleksankina<sup>1</sup>,  
A.V. Asaturova<sup>2</sup>, P.A. Vishnyakova<sup>2,3</sup>, T.Kh. Fatkhudinov<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, Russia

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

<sup>3</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** One of the most challenging problems faced in gynecology is Asherman's syndrome (AS), characterized by the formation of intrauterine adhesions, partial or complete obliteration of the uterine cavity with scar tissue, and the loss of the functional layer of the endometrium following intrauterine interventions. Treatments for AS are not always effective. This indicates a need to search and evaluate the effectiveness of new approaches to the prevention of fibrosis and stimulation of endometrial regeneration. According to ethical principles, this is possible only when simulating AS on laboratory animals. The aim of the work is to develop an etiologically adequate model of AS in Sprague Dawley rats.

**Materials and methods.** We simulated AS in 18 female Sprague Dawley rats that were divided into 3 groups (6 rats in each). Operations were performed in the estrus phase. We made longitudinal incision of the right uterine horns, and the endometrium was scraped out to the inner layer of the myometrium with the scalpel. Groups 1 and 2 underwent only endometrial scraping. In group 3 abdominal cavities were opened on day 7 after curettage and intrauterine adhesions were destroyed with a needle inserted into the horn. Then, the standard procedure for suturing surgical wound was performed. The animals were removed from the experiment on days 7 (group 1) and 15 (groups 2 and 3) after the surgery with an overdose of ether anesthesia. The tissue samples of the operated and non-operated uterine horns were fixed with 10% buffered formalin and embedded in paraffin; the sections were stained with hematoxylin and eosin.

**Results.** Macroscopic examination on day 7 after the surgery showed that all females had a compaction and contraction of the operated area of the uterine horn and uterine cavity fluid. On day 15, fluid collection was more pronounced. After the destruction of the uterine adhesions in rats from group 3, there was no fluid collection or it was less voluminous than in females of other groups. Histological examination showed that on days 7 and 15 after endometrial curettage, the uterine cavity and the luminal epithelium covering it were absent due to complete replacement by connective tissue. Uterine glands were not detected or were individual. On day 7 after the destruction of the adhesions and on day 15 after endometrial scraping the subjects developed a small stenosed uterine cavity lined with luminal epithelium or a larger uterine cavity containing single or multiple adhesions covered with epithelium. The number of glands was significantly smaller than in the non-operated horn.

**Conclusion.** To simulate Asherman's syndrome, female Sprague Dawley rats in the estrus phase were scraped out of the endometrial layer of the right uterine horn. On days 7 and 15 after surgery, the uterine cavity and luminal epithelium were absent due to complete replacement with connective tissue, which proves the formation of intrauterine adhesions and the adequacy of the obtained model. A significant difference of the original model was the destruction of the adhesions on day 7 after endometrial damage to remove excess fluid in the uterine cavity and restore uterine patency, which led to the formation of the uterine cavity and re-epithelialization on day 15. The developed model of Asherman's syndrome can be used to develop new approaches to the prevention of adhesive process and the restoration of endometrial structure and functionality.

**Keywords:** Asherman's syndrome, experimental model, rat uterus, endometrial curettage, intrauterine adhesions

**Corresponding author:** Marina N. Boltovskaya. E-mail: maribolt@mail.ru

**For citation:** Boltovskaya M.N., Tabeeva G.I., Tikhonova N.B., Aleksankina V.V., Asaturova A.V., Vishnyakova P.A., Fatkhudinov T.Kh. Development of an experimental model of endometrial pathology

(Asherman's syndrome). Clin. exp. morphology. 2023;12(1):77–86 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.77-86.

**Funding.** This study was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 22-75-00048.

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

**Received** 23.11.2022. **Received in revised from** 05.12.2022. **Accepted** 12.12.2022.

## Введение

Одной из самых сложных проблем в гинекологии является потеря функциональных свойств эндометрия, связанная с высокой частотой внутриматочных вмешательств. В 1948 году гинеколог Джозеф Ашерман описал заболевание, характеризующееся образованием внутриматочных спаек (ВС) (синехий), частичной или полной облитерацией полости матки рубцовой тканью и потерей функционального слоя эндометрия, – синдром Ашермана (СА). СА приводит к нарушениям менструального цикла (гипо- или аменорея, дисменорея), бесплодию и таким акушерским проблемам как имплантационные потери, привычное невынашивание беременности, аномальная плацентация и преждевременные роды. Наиболее распространенными факторами риска развития СА являются кюретаж после аборта или родов, инфекция, миомэктомия и гистероскопические операции, то есть внутриматочные вмешательства, нарушающие базальный слой эндометрия. Разрушение базального слоя инициирует процесс фиброобразования эндометрия, центральным медиатором которого является трансформирующий фактор роста- $\beta$ , а ключевыми факторами формирования ВС –  $\alpha$ -гладкомышечный актин, фактор роста соединительной ткани, коллаген I и III типа [1–3]. Частота встречаемости СА составляет около 1,5%. Однако среди женщин, у которых беременность была прервана в первом триместре, она увеличивается до 13%, у перенесших кюретаж после позднего самопроизвольного аборта возрастает до 30%, а после повторных выскабливаний может достигать 39% [4, 5].

В настоящее время при СА для реконструкции и восстановления слизистой оболочки матки используются хирургическое лечение (гистероскопический адгезиолизис), противоспаечные барьеры и гормональная терапия, но эти методы недостаточно эффективны, и частота рецидивов спаечного процесса может достигать 62,5% [4, 6]. Это диктует необходимость дальнейшего изучения клеточных и молекулярных механизмов формирования ВС и разработки новых подходов к терапии СА, нацеленных на предупреждение фиброза и стимуляцию регенерации эндометрия. По этическим принципам это возможно только при моделировании СА на лабораторных животных. В настоящее время известны модели СА на мышах [4, 7, 8], кроликах [9], но наиболее часто используются модели на крысах, преимущественно линии Спрейг-Доули [6, 10–13]. Тем не менее ряд известных моделей имеет существенные недостатки – несоответствие способов повреждения эндометрия у лабораторных животных причинам раз-

вития СА у женщин и оценка эффективности терапевтических воздействий без учета фазы эстрального цикла.

Цель работы – создание этиологически адекватной модели синдрома Ашермана у крыс Спрейг-Доули.

## Материалы и методы

**Животные.** Для моделирования СА использовали 18 самок крыс Спрейг-Доули в возрасте 6–12 месяцев (масса 250–320 граммов). При работе с животными соблюдали принципы Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986, директива 2010/63/EU), и положения ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». На проведение исследования получено разрешение комиссии по биоэтике НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына (протокол № 35 (11) от 23.03.2022).

**Проведение операции.** В день проведения операции для определения фазы эстрального цикла подопытных животных исследовали вагинальные мазки, окрашенные с помощью набора готовых красителей «Диахим-Дифф-Квик» («Абрис+», Россия). Операции проводили только на самках в фазе эструса. Животные были разделены на три группы по шесть особей в каждой. Самкам групп 1 и 2 проводили только выскабливание эндометрия. Самкам группы 3 через 7 суток после кюретажа открывали брюшную полость и проводили дренирование рога матки.

Операции выполняли под общим наркозом. Внутримышечно вводили смесь препаратов – золетил (Virbac, Франция) в дозе 10 мг/кг и ксила (Interchemie werken “De Adelaar” Eesti, Эстония) – 0,1 мг/кг, объем довели 0,9% хлоридом натрия до 250 мкл на животное. В качестве антигеморрагического препарата применяли викасол («Эллара», Россия) в дозе 2 мг/кг массы в объеме 200 мкл/кг. В ходе всех оперативных вмешательств соблюдали правила асептики и антисептики.

У самок всех экспериментальных групп операционное поле обрабатывали спиртовым раствором, выбривали, обкладывали стерильными салфетками. Разрез длиной 2 см проводили по белой линии живота одноразовым скальпелем № 22 (Feather, Япония). Послойно рассекали кожу и брюшную стенку. Через разрез тупой лигатурной иглой подхватывали и выводили из брюшной полости правый рог матки (рис. 1 А). На антимезометриальной стороне в середине рога проводили продольный сквозной разрез длиной 1,5 см (рис. 1 В). Разрез раскрывали и под контролем

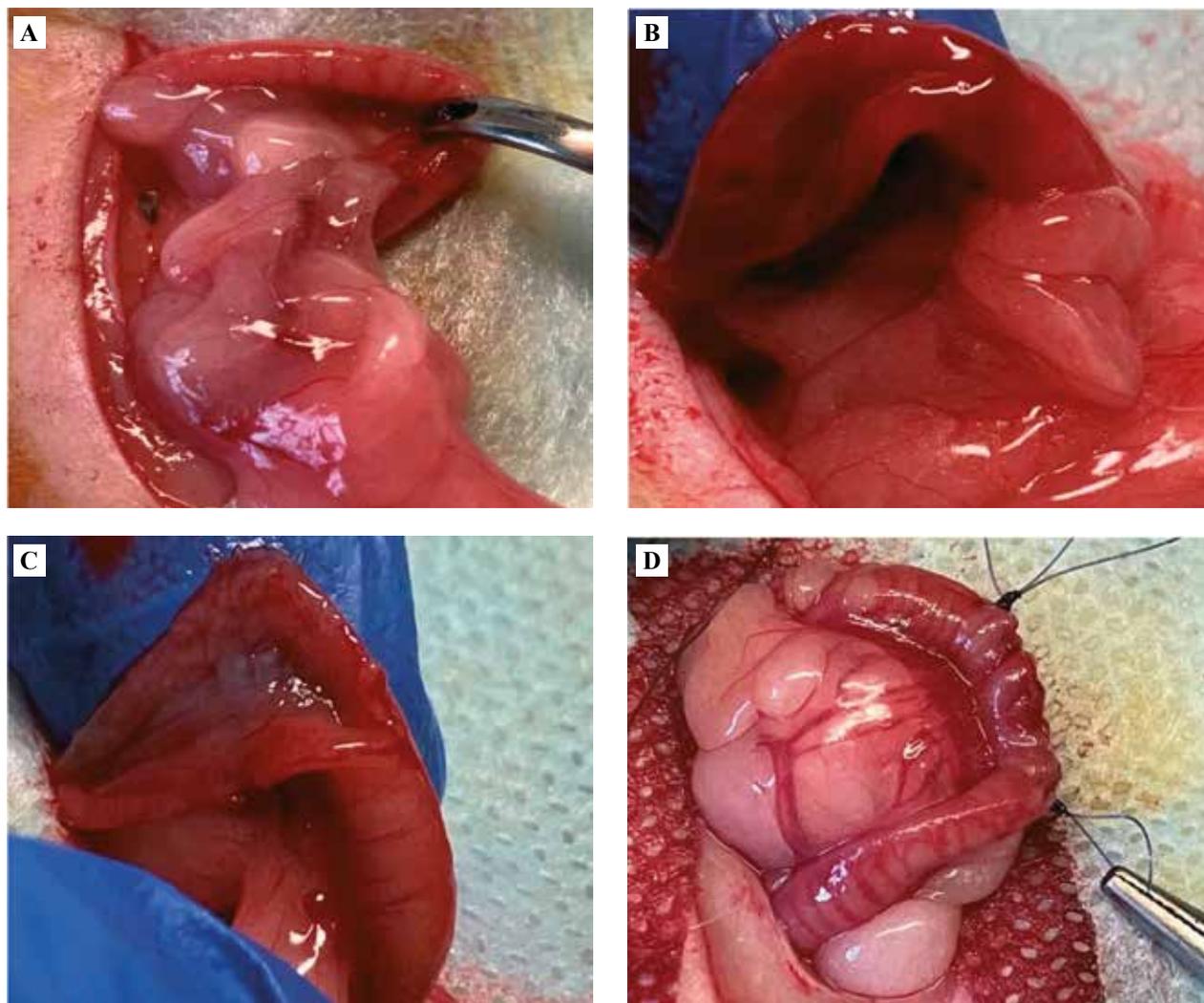


Рис. 1. Этапы проведения операции.

А – выведение правого рога матки из брюшной полости, В – продольный разрез рога матки, С – рог матки после выскабливания эндометрия, D – ушивание разреза рога матки

Fig. 1. Stages of the operation.

A – removal of the right uterine horn from the abdominal cavity, B – longitudinal incision of the uterine horn, C – the uterine horn after endometrial curettage, D – suturing the incision of the uterine horn

бинокулярной лупы скальпелем соскабливали эндометрий до внутреннего слоя миометрия, оставляя миометрий нетронутым (рис. 1 С). Разрез рога ушивали непрерывным обвивным швом с использованием полидиоксанового шовного материала № 6 колющей иглой RB-2, 13 мм, конфигурация иглы 1/2 круга (Ethicon PDS™II, Ethicon Inc, США) (рис. 1 D). После ушивания рог возвращали в брюшную полость и вносили в нее 1,5–2 мл диоксидина («Новосибхимфарм», Россия). Далее разрезы на мышцах брюшной стенки и коже ушивали непрерывным обвивным швом с использованием полидиоксанового шовного материала № 5 колющей иглой RB-1, 13 мм (Ethicon PDS™II, Ethicon Inc, США). Операционное поле и шов обрабатывали спреем «террамицин аэрозоль» (IGS Aerosols GmbH, Германия). Левый рог матки

оставляли интактным в качестве контроля. После операции животным вводили 10 мг/кг 2,5% антибиотика байтрил (Bayer Animal Health GmbH, Германия) и поодиночке размещали в клетках. Оперированных самок содержали в условиях естественного освещения при свободном доступе к воде и пище. Животных выводили из эксперимента на 7-е (группа 1) и 15-е (группы 2 и 3) сутки после операции передозировкой эфирного наркоза.

*Гистологическое исследование.* Участки оперированного и неоперированного рогов матки фиксировали 10% забуференным формалином («БиоВитрум», Россия) в течение 48 часов, промывали, дегидратировали и заливали в парафин «гистомикс экстра» («БиоВитрум», Россия). Срезы толщиной 4 мкм получали на ротационном микротоме Sacura Accu-Cut SRM200

(Япония), окрашивали гематоксилином и эозином («БиоВитрум», Россия).

### Результаты

При макроскопическом исследовании оперированного рога на 7-е сутки после операции у всех самок группы 1 между маточной трубой и участком разре-

за было отмечено наличие серозометры – скопления серозной жидкости в полости матки из-за нарушения ее оттока во влагалище. Оперированный участок был уплотнен и сужен по сравнению с неповрежденным рогом (рис. 2 А). При макроскопическом исследовании оперированного рога у всех животных группы 2 с сохраняющимся нарушением проходимости маточной

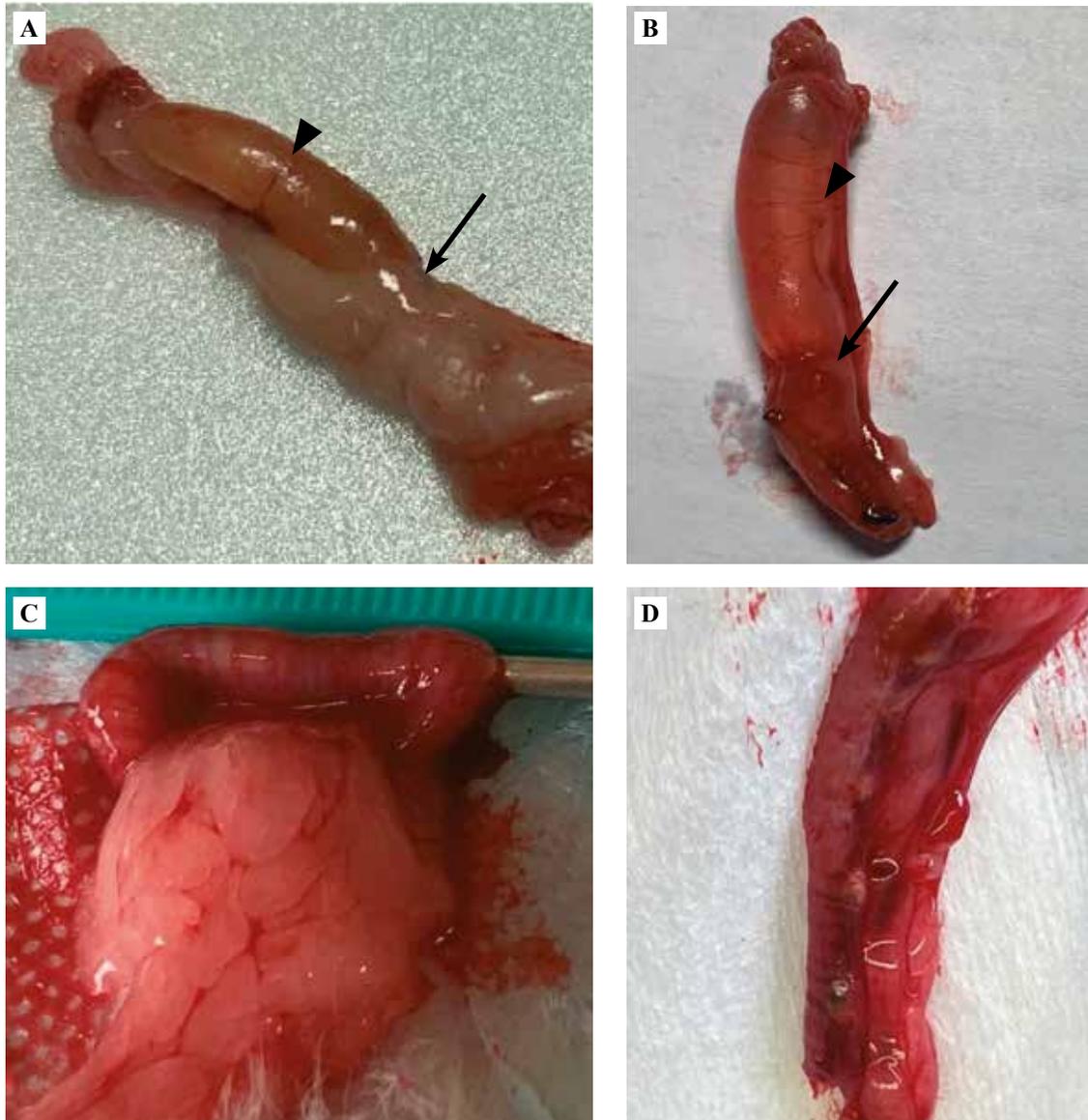


Рис. 2. Оперированный рог матки, макроскопическое исследование.

А – 7-е сутки после выскабливания эндометрия, скопление жидкости в маточной полости (серозометра).

Стрелка – спайка маточной полости, наконечник стрелки – серозометра, В – 15-е сутки после выскабливания эндометрия, увеличение объема жидкости в маточной полости. Стрелка – спайка маточной полости, наконечник стрелки – серозометра,

С – введение медицинской иглы для разрушения внутриматочной спайки и удаления скопившейся жидкости (7-е сутки после выскабливания эндометрия), D – 7-е сутки после разрушения внутриматочной спайки (15-е сутки после выскабливания эндометрия), отсутствие серозометры

Fig. 2. The operated uterine horn, macroscopic examination.

A – day 7 after endometrial curettage, fluid accumulation in the uterine cavity: adhesion of the uterine cavity (arrow), endometrial cavity fluid (arrowhead). B – day 15 after endometrial curettage, increased fluid volume in the uterine cavity: adhesion of the uterine cavity (arrow), uterine cavity fluid (arrowhead).

C – medical needle insertion to destroy the intrauterine adhesion and remove accumulated fluid (day 7 after endometrial curettage). D – day 7 after destruction of the intrauterine adhesion (day 15 after endometrial curettage), no uterine cavity fluid.

полости на 15-е сутки после операции была обнаружена более выраженная серозометра, чем у самок группы 1, что усилило истончение маточной стенки в этой области. Оперированный участок по сравнению с неоперированным был плотнее и меньше в диаметре (рис. 2 В).

Животным группы 3 на 7-е сутки после повреждения эндометрия проводили повторную операцию: вскрывали в асептических условиях брюшную полость, выводили из нее правый (оперированный) рог матки, с помощью медицинской иглы G14 разрушали спайку маточной полости, создавая канал, и удаляли избыточную жидкость (рис. 2 С). При макроскопическом исследовании матки животных на 15-е сутки после выскабливания эндометрия и 7-е сутки после разрушения спайки маточной полости у двух самок группы серозометра отсутствовала, а у четырех особей была

менее выражена по сравнению с самками групп 1 и 2 (рис. 2 D).

Гистологическое исследование показало, что на 7-е сутки левый (интактный) рог матки у всех животных группы 1 находился в фазе диэструса, поверхность маточной полости была ровной, покрытой кубическим люминальным эпителием (рис. 3 А, В). В оперированном участке правого рога полость матки и покрывающий ее люминальный эпителий были полностью замещены соединительной тканью. Маточные железы обнаруживались в единичном количестве либо отсутствовали (рис. 3 С).

На 15-е сутки после операции у самок группы 2, как и у самок группы 1, маточная полость с эпителиальным слоем отсутствовала, оперированный сегмент рога заполняла соединительная ткань. Выраженной

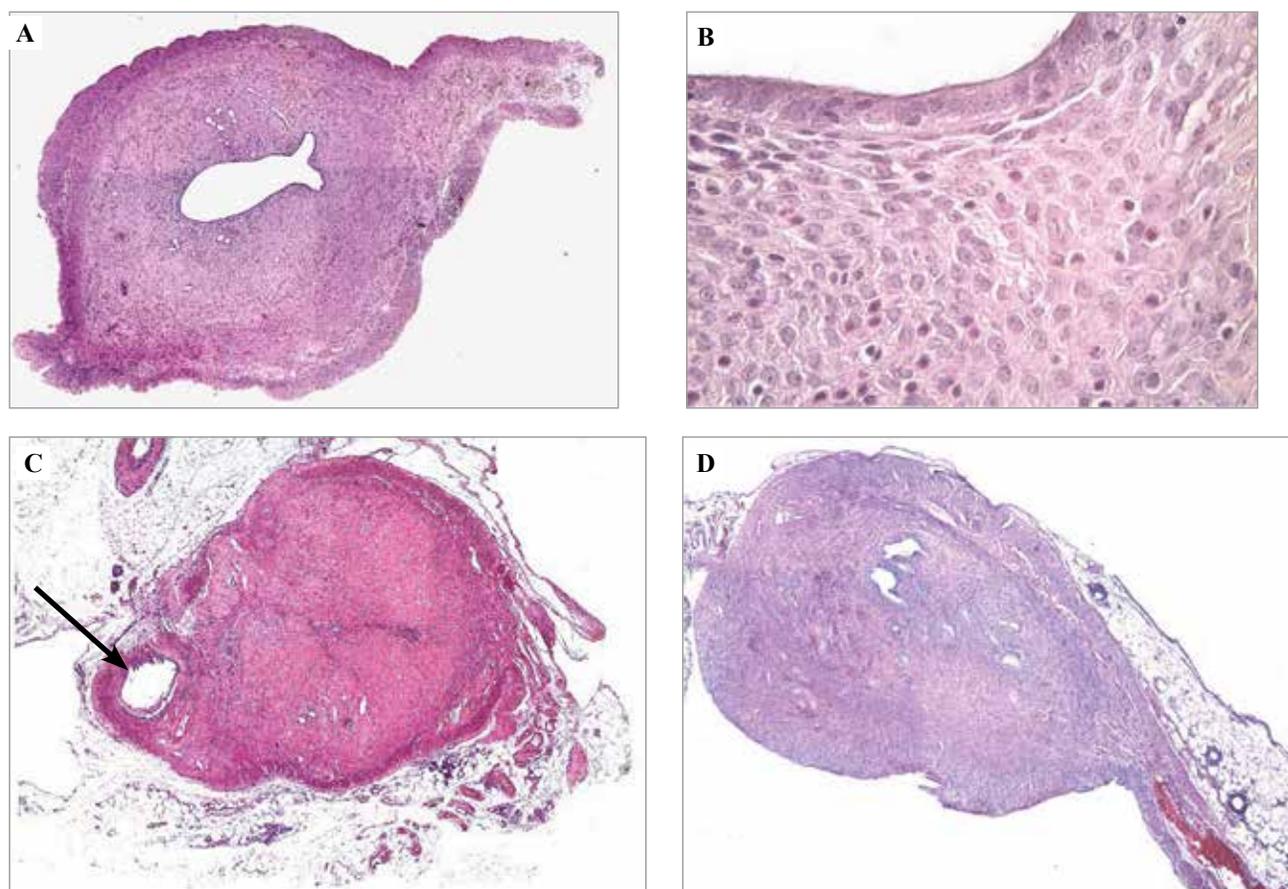
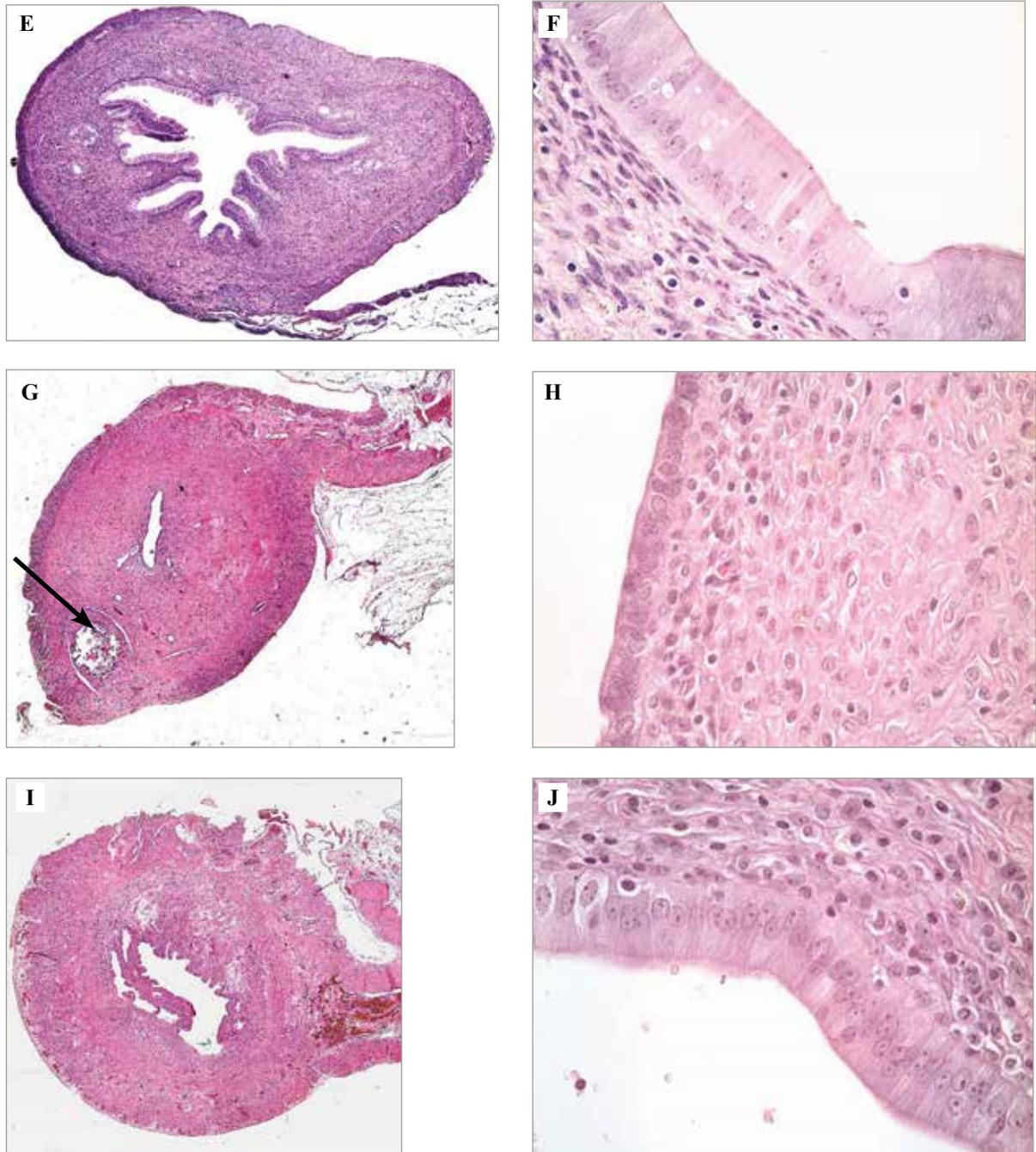


Рис. 3. Интактный и оперированный рога матки, гистологическое исследование.

А – интактный рог матки в фазе диэструса, гладкая поверхность маточной полости, немногочисленные мелкие эндометриальные железы, В – кубический люминальный эпителий, выстилающий полость матки, С – оперированный участок рога матки на 7-е сутки после выскабливания эндометрия, полная облитерация маточной полости, единичные мелкие железы (стрелка – шовный материал), D – оперированный участок рога матки на 15-е сутки после выскабливания эндометрия, полная облитерация маточной полости, единичные крупные железы. Окраска гематоксилином и эозином. А, С, D –  $\times 50$ . В –  $\times 400$

Fig. 3. Intact and operated uterine horns, histological examination.

A – intact uterine horn in diestrus phase, smooth surface of uterine cavity, few small endometrial glands, B – the cuboidal luminal epithelium lining the uterine cavity, C – operated section of the uterine horn on the day 7 after endometrial curettage, complete obliteration of the uterine cavity, single small glands (arrow – suture material), D – operated section of the uterine horn on day 15 after endometrial curettage, complete obliteration of the uterine cavity, single large glands. H&E stain. A, C, D –  $\times 50$ . B –  $\times 400$



*Рис. 3 (окончание).* Интактный и оперированный рога матки, гистологическое исследование. Е – интактный (неоперированный) рог матки в фазе эструса, складчатая полость матки, крупные железы, F – цилиндрический люминальный эпителий, выстилающий полость матки, G – оперированный участок рога матки на 7-е сутки после разрушения внутриматочной спайки (15-е сутки после выскабливания эндометрия), стеноз полости матки (*стрелка* – шовный материал), H – кубический люминальный эпителий стенозированной маточной полости, соответствующий фазе диэструса, I – оперированный участок рога матки на 7-е сутки после разрушения спайки маточной полости (15-е сутки после выскабливания эндометрия), спайка в полости рога матки, J – цилиндрический эпителий, покрывающий спайку маточной полости, соответствующий фазе эструса. Окраска гематоксилином и эозином. E, G, I –  $\times 50$ . F, H, J –  $\times 400$

*Fig. 3 (end).* Intact and operated uterine horns, histological examination.

E – intact the uterine horn in estrus phase, folded uterine cavity, large glands, F – the columnar luminal epithelium lining the uterine cavity, G – operated section of the uterine horn on day 7 after destruction of the intrauterine adhesion (day 15 after endometrial curettage), uterine cavity stenosis (*arrow* – suture material), H – the cuboidal luminal epithelium of the stenosed uterine cavity, corresponding to the diestrus phase, I – operated section of the uterine horn on day 7 after destruction of the uterine cavity adhesion (day 15 after endometrial curettage), intrauterine adhesion in the uterine horn cavity, J – the columnar epithelium covering the intrauterine adhesion, corresponding to the estrus phase. H&E stain. E, G, I –  $\times 50$ . F, H, J –  $\times 400$

воспалительной инфильтрации в спайке не наблюдали, отмечалась интенсивная васкуляризация отдельных фиброзированных участков, в маточной стенке присутствовали единичные железы (рис. 3 D). Левый (интактный) рог у всех самок группы 2 на 15-е сутки (три 5-дневных эстральных цикла экспериментальных животных) должен был соответствовать фазе эструса (рис. 3 E, F), однако у 50% особей соответствовал фазе диэструса (рис. 3 A, B).

У всех самок группы 3 на 7-е сутки после разрушения ВС и 15-е сутки после выскабливания эндометрия в оперированном участке выявлено наличие измененной маточной полости. У четырех животных с наличием слабовыраженной серозометры обнаружены появления небольшой стенозированной маточной полости, покрытой люминальным эпителием, и немногочисленные железы (рис. 3 G). У двух самок без стеноза маточная полость содержала единичные или множественные спайки, покрытые эпителием. Несмотря на более крупную маточную полость в оперированном роге со спайками, покрытыми эпителием, количество желез было значительно меньше, чем в роге со стенозом маточной полости и интактном роге. Участки воспалительной инфильтрации в маточной стенке не обнаружены (рис. 3 I). Левый, интактный рог матки самок группы 3, как и у животных группы 2, находился в разных фазах эстрального цикла (рис. 3 A, B, E, F). Состояние люминального эпителия у особей группы 3 соответствовало фазе эстрального цикла, в которой находился неоперированный рог (рис. 3 H, J).

## Обсуждение

В ряде моделей СА повреждение эндометрия у крыс индуцировали воздействиями, не соответствующими причинам развития СА у женщин, – внутриматочным введением фенола [11], трихлоруксусной кислоты [12] этанола [13, 14], электрокоагуляцией [15].

Среди известных моделей СА на крысах Спрейг-Доули наиболее близкими к созданной нами являются те, в которых эндометрий повреждали путем выскабливания внутренней поверхности матки [6, 16–18]. В этих моделях отмечали характерные для СА структурные изменения матки, соответствующие тому, что мы обнаруживали на нашей модели через 7 и 15 суток после оперативного вмешательства, – заполнение маточной полости соединительной тканью, исчезновение люминального эпителия, уменьшение числа или отсутствие эндометриальных желез. Аналогичные морфологические нарушения были описаны для других моделей СА на лабораторных грызунах [5, 7, 10, 19]. Это подтверждает валидность созданной нами модели.

Появление серозометры (гидрометры) в каудальном отделе рога матки через 7 и 15 дней после механической травмы эндометрия и значительное увеличение ее объема через 28 и 30 дней отмечали также L.P. Guo et al. и L. Xin et al. [6, 18]. Существенным отличием

разработанной нами модели СА является процедура прокалывания спайки полости матки для восстановления ее проходимости и удаления избыточной жидкости, скопление которой может негативно влиять на результаты планируемого терапевтического воздействия. Разрушение спайки при аспирации участка рога можно рассматривать как аналог хирургического рассечения ВС, которое используют в гинекологической практике при СА [2].

При моделировании СА на крысах лишь немногие исследователи указывают фазу эстрального цикла, в которой проведено повреждение эндометрия [4, 5, 11, 14, 17]. Для разработки модели мы проводили выскабливание эндометрия у самок, находящихся в фазе эструса. Было установлено, что у 50% самок экспериментальных групп 2 и 3 на 15-е сутки после операции состояние интактного, неоперированного рога матки соответствует фазе диэструса, а не фазе эструса, в которой он должен находиться с учетом 5-суточной продолжительности эстрального цикла. Это свидетельствует о нарушении репродуктивного цикла, очевидно, обусловленном системными изменениями баланса цитокинов и гормонального фона вследствие повреждения другого рога. Десинхронизацию эстрального цикла оперированных животных целесообразно учитывать для корректной интерпретации результатов экспериментальной терапии.

За рубежом модели СА нашли широкое применение в исследованиях клеточных и молекулярных механизмов формирования ВС для выявления потенциальных терапевтических мишеней [6, 11, 20]. Полученные данные имеют значение для разработки новых подходов к профилактике и целенаправленной терапии СА. Несмотря на применение различных стратегий предотвращения рецидива спаечного процесса, существующие методы лечения СА нормализуют объем полости матки, но не обеспечивают восстановление рецептивности эндометрия [18]. С учетом этого чрезвычайно важной терапевтической задачей остается разработка новых подходов к профилактике рецидивов СА и реконструкции полноценной структуры и функции эндометрия.

## Заключение

Для моделирования синдрома Ашермана самкам крыс Спрейг-Доули, находившимся в фазе эструса, проводили выскабливание эндометриального слоя правого рога матки. На 7-е и 15-е сутки после операции маточная полость и люминальный эпителий отсутствовали из-за полного замещения соединительной тканью, что доказывает формирование внутриматочной спайки и адекватность полученной модели. Существенным отличием оригинальной модели было разрушение спайки на 7-е сутки после повреждения эндометрия для удаления избыточной жидкости в полости матки, восстановления ее проходимости и реэпителизации маточной полости на 15-е сутки после выскабливания. Созданная модель

синдрома Ашермана может быть использована для разработки новых подходов к профилактике спаечного процесса и восстановлению структурно-функциональной полноценности эндометрия.

#### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Г.И. Табеева, Н.Б. Тихонова, А.В. Асатурова.

Сбор и обработка материала – В.В. Алексанкина, Н.Б. Тихонова, Г.И. Табеева.

Написание текста – М.Н. Болтовская, Н.Б. Тихонова.

Редактирование – А.В. Асатурова, П.А. Вишнякова, Т.Х. Фатхудинов.

#### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – G.I. Tabeeva, N.B. Tikhonova, A.V. Asaturova.

Collected the data and performed the analysis – V.V. Aleksankina, N.B. Tikhonova, G.I. Tabeeva.

Wrote the paper – M.N. Boltovskaya, N.B. Tikhonova.

Edited the manuscript – A.V. Asaturova, P.A. Vishnyakova, T.Kh. Fatkhudinov.

#### Литература/References

- Yu D, Wong YM, Cheong Y, Xia E, Li TC. Asherman syndrome – one century later. *Fertil Steril.* 2008;89(4):759–79. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.02.096.
- Хириева П.М., Адамян Л.В. Клинико-anamnestические данные и исходы лечения женщин с внутриматочными синехиями. *Проблемы репродукции.* 2017;23(6):39–44. DOI: 10.17116/repro201723639-44.  
Khiriya PM, Adamyan LV. Clinical, anamnestic data and treatment results in women with intrauterine adhesions. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2017;23(6):39–44 (In Russ.). DOI: 10.17116/repro201723639-44.
- Benor A, Gay S, DeCherney A. An update on stem cell therapy for Asherman syndrome. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(7):1511–29. DOI: 10.1007/s10815-020-01801-x.
- Li B, Zhang Q, Sun J, Lai D. Human amniotic epithelial cells improve fertility in an intrauterine adhesion mouse model. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):257. DOI: 10.1186/s13287-019-1368-9.
- Monsef F, Artimani T, Alizadeh Z, Ramazani M, Solgi G, Yavangi M et al. Comparison of the regenerative effects of bone marrow/adipose-derived stem cells in the Asherman model following local or systemic administration. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(8):1861–8. DOI: 10.1007/s10815-020-01856-w.
- Guo LP, Chen LM, Chen F, Jiang NH, Sui L. Smad signaling coincides with epithelial-mesenchymal transition in a rat model of intrauterine adhesion. *Am J Transl Res.* 2019;11(8):4726–37. PMID: 31497194.
- Alawadhi F, Du H, Cakmak H, Taylor HS. Bone marrow-derived stem cell (BMDSC) transplantation improves fertility in a murine model of Asherman's syndrome. *PLoS One.* 2014;9(5):e96662. DOI: 10.1371/journal.pone.0096662.
- Kim JH, Park M, Paek JY, Lee WS, Song H, Lyu SW. Intrauterine infusion of human platelet-rich plasma improves endometrial regeneration and pregnancy outcomes in a murine model of Asherman's syndrome. *Front Physiol.* 2020;11:105. DOI: 10.3389/fphys.2020.00105.
- Bazoobandi S, Tanideh N, Rahmanifar F, Zare S, Koohi-Hosseini-abadi O, Razeghian-Jahromi I et al. Preventive effects of intrauterine injection of bone marrow-derived mesenchymal stromal cell-conditioned media on uterine fibrosis immediately after endometrial curettage in rabbit. *Stem Cells Int.* 2020;2020:8849537. DOI: 10.1155/2020/8849537.
- Chen L, Guo L, Chen F, Xie Y, Zhang H, Quan P et al. Transplantation of menstrual blood-derived mesenchymal stem cells (MbmSCs) promotes the regeneration of mechanical injured endometrium. *Am J Transl Res.* 2020;12(9):4941–54. PMID: 33042399.
- Fang ZA, He Y, Sun C, Zhan L, Zhou G, Wei B et al. Expression and potential role of CXCL5 in the pathogenesis of intrauterine adhesions. *J Int Med Res.* 2021;49(3):300060521997718. DOI: 10.1177/0300060521997718.
- Kilic S, Yuksel B, Pinarli F, Albayrak A, Boztok B, Delibasi T. Effect of stem cell application on Asherman syndrome, an experimental rat model. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(8):975–82. DOI: 10.1007/s10815-014-0268-2.
- Wang S, Shi C, Cai X, Wang Y, Chen X, Han H et al. Human acellular amniotic matrix with previously seeded umbilical cord mesenchymal stem cells restores endometrial function in a rat model of injury. *Mediators Inflamm.* 2021;2021:5573594. DOI: 10.1155/2021/5573594.
- Domnina A, Novikova P, Obidina J, Fridlyanskaya I, Alekseenko L, Kozhukharova I et al. Human mesenchymal stem cells in spheroids improve fertility in model animals with damaged endometrium. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):50. DOI: 10.1186/s13287-018-0801-9.
- Liu F, Hu S, Yang H, Li Z, Huang K, Su T et al. Hyaluronic acid hydrogel integrated with mesenchymal stem cell-secretome to treat endometrial injury in a rat model of Asherman's syndrome. *Adv Healthc Mater.* 2019;8(14):e1900411. DOI: 10.1002/adhm.201900411.
- Wang J, Ju B, Pan C, Gu Y, Zhang Y, Sun L et al. Application of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of intrauterine adhesions in rats. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(4):1553–60. DOI: 10.1159/000447857.
- Gan L, Duan H, Xu Q, Tang YQ, Li JJ, Sun FQ et al. Human amniotic mesenchymal stromal cell transplantation improves endometrial regeneration in rodent models of intrauterine adhesions. *Cytotherapy.* 2017;19(5):603–16. DOI: 10.1016/j.jcyt.2017.02.003.
- Xin L, Lin X, Pan Y, Zheng X, Shi L, Zhang Y et al. A collagen scaffold loaded with human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells facilitates endometrial regeneration and restores fertility. *Acta Biomater.* 2019;92:160–71. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.05.012.
- Hu X, Dai Z, Pan R, Zhang Y, Liu L, Wang Y et al. Long-term transplantation human menstrual blood mesenchymal stem cell loaded collagen scaffolds repair endometrium histological injury. *Reprod Toxicol.* 2022;109:53–60. DOI: 10.1016/j.reprotox.2022.03.001.
- Wang X, Ma N, Sun Q, Huang C, Liu Y, Luo X. Elevated NF-κB signaling in Asherman syndrome patients and animal models. *Oncotarget.* 2017;8(9):15399–406. DOI: 10.18632/oncotarget.14853.

**Информация об авторах**

Марина Николаевна Болтовская – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Гюзьял Искандеровна Табеева – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения гинекологической эндокринологии НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Наталья Борисовна Тихонова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Валентина Викторовна Алексанкина – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Александра Вячеславовна Асатурова – доктор медицинских наук, заведующая 1-м патологоанатомическим отделением НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Полина Александровна Вишнякова – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией регенеративной медицины НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Российского университета дружбы народов.

Тимур Хайсамудинович Фатхудинов – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, директор Научно-исследовательского института молекулярной и клеточной медицины РУДН.

**Author information**

Marina N. Boltovskaya – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Senior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-9751-2066>

Gyuzyal I. Tabeeva – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Gynecological Endocrinology, V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology.

<http://orcid.org/0000-0003-1498-6520>

Natalya B. Tikhonova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-5437-6933>

Valentina V. Aleksankina – Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-9944-0230>

Aleksandra V. Asaturova – Dr. Sci. (Med.), Head of the 1st Pathology Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology.

<https://orcid.org/0000-0001-8739-5209>

Polina A. Vishnyakova – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Regenerative Medicine, V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology; Associate Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Peoples' Friendship University of Russia.

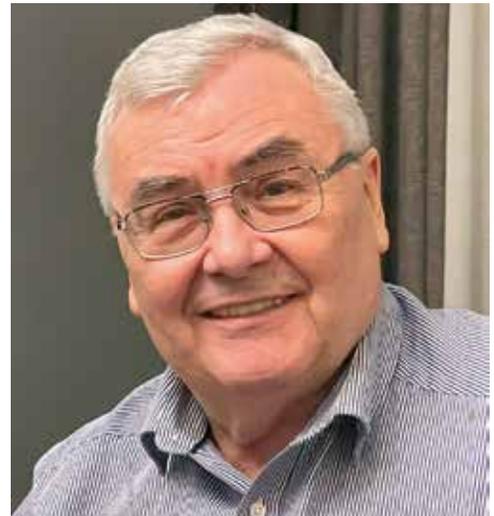
<https://orcid.org/0000-0001-8650-8240>

Timur Kh. Fatkhudinov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy Director, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Director of the Research Institute of Molecular and Cellular Medicine, Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-6498-5764>

## К 80-летию со дня рождения Льва Владимировича Кактурского

To Lev Vladimirovich Kakturskiy  
on his 80th anniversary



24 января 2023 года исполнилось 80 лет крупному отечественному ученому в области патологической анатомии члену-корреспонденту РАН Льву Владимировичу Кактурскому, научному руководителю НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского», почетному члену президиума Российского общества патологоанатомов, главному внештатному специалисту-эксперту Росздравнадзора по патологической анатомии, прекрасному человеку и нашему большому другу.

Л.В. Кактурский уже 55 лет неразрывно связан с Институтом морфологии человека, в котором ему повезло работать под руководством великих учителей – академиков А.И. Струкова, А.П. Авцына, Н.К. Пермякова. После окончания 1-го Московского ордена Ленина и ордена Трудового Красного Знамени медицинского института имени И.М. Сеченова Лев Кактурский поступил в ординатуру, а затем последовательно работал в должности младшего, старшего научного сотрудника, руководителя научно-организационного отдела, Центральной патологоанатомической лаборатории, заместителя директора по научной работе, директора, а в настоящее время успешно трудится в должности научного руководителя НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского».

Научные исследования Л.В. Кактурского носят фундаментальный характер с выходом в практическое здравоохранение. Научные труды Льва Владимировича развивают новые направления исследований, касающиеся патологической анатомии внезапной сердечной смерти, важнейших сердечно-сосудистых заболеваний – ишемической болезни сердца, острого коронарного синдрома, кардиомиопатий, васкулитов. Л.В. Кактурский доказал, что механизм остановки сердца при внезапной коронарной смерти связан с феноменом реперфузии необратимо ишемизированного миокарда. Установлено, что помимо реперфузии предрасполагающим фактором к фибрилляции желудочков является наследственно

обусловленный дефицит во вставочных дисках кардиомиоцитов белков клеточной адгезии – коннексинов, кадгерина, десмоплакина и др. На фоне этого дефицита аритмогенные субстанции вызывают разобщение (диссоциацию) кардиомиоцитов из-за непрочной связи десмосомных соединений.

Лев Владимирович представил на экспериментальном материале протективный эффект на сердечную мышцу при инфаркте миокарда антиоксидантов –  $\alpha$ -токоферола и селенита натрия, которые ингибируют процессы перекисного окисления липидов в зоне ишемии и предотвращают деструкцию кардиомиоцитов. Им охарактеризованы морфологические проявления микроангиопатии при системной красной волчанке, псориазе, детально разработаны вопросы патологической анатомии разных форм кардиомиопатий, описаны редкие формы сердечной патологии – синдром Такацубо, экскресценции Ламбля. В тесном контакте с кардиологами Л.В. Кактурский участвует в совершенствовании современной номенклатуры и классификации форм ишемической болезни сердца.

На экспериментальном материале Лев Владимирович Кактурский в соавторстве с коллегами, в том числе зарубежными, охарактеризовал морфологические проявления различных форм микроэлементозов – заболеваний, связанных с дефицитом определенных жизненно важных (эссенциальных) химических элементов: селена, железа, марганца, цинка, кобальта и других. Л.В. Кактурским опубликовано более 300 научных работ, среди которых четыре монографии, два руководства для врачей-патологоанатомов, главы в шести руководствах. Лев Владимирович Кактурский – титульный соредатор первого в России оригинального национального руководства по патологической анатомии. Большинство публикаций вышло в свет в высокорейтинговых научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus, Web of Science Core Collection. Под руководством Льва Владимировича подготовлены и успешно защищены пять диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук и девять

диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Научная деятельность Л.В. Кактурского на протяжении длительного профессионального пути тесно связана с преподавательской работой в высшей школе и с практической прозекторской работой в городской клинической больнице, что определяет широту его научных взглядов и большой кругозор научных интересов.

Лев Владимирович Кактурский ведет большую научно-общественную работу. Он является заместителем председателя диссертационного совета при НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского», членом диссертационного совета Сеченовского медицинского университета, заместителем главного редактора журнала «Архив патологии», почетным редактором журнала «Клиническая и экспериментальная морфология», почетным членом президиума Российского общества патологоанатомов, главным внештат-

ным специалистом-экспертом Росздравнадзора по патологии.

Лев Владимирович широко известен в научном сообществе патологоанатомов и пользуется высоким авторитетом у коллег.

Коллектив НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского» горячо поздравляет дорогого Льва Владимировича с юбилеем! Здоровья, долгих лет жизни, достойных учеников и больших научных достижений во благо нашей России!

*Л.М. Михалева  
член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук, профессор,  
директор НИИ морфологии человека  
имени академика А.П. Авцына ФГБНУ  
«РНЦХ имени академика Б.В. Петровского»*

## К 60-летию со дня рождения Дмитрия Борисовича Никитюка

### To Dmitry Borisovich Nikitjuk on his 60th anniversary



26 декабря 2022 года исполнилось 60 лет Дмитрию Борисовичу Никитюку – известному анатому и антропологу, академику РАН, президенту Научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов России, нашему коллеге и большому другу.

После окончания в 1986 году 1-го ММИ им. И.М. Сеченова и аспирантуры при кафедре анатомии человека в 1989 году Д.Б. Никитюк последовательно работал на кафедре анатомии человека этого вуза в должности ассистента, доцента, профессора. В 1989 году Д.Б. Никитюк защитил кандидатскую и в 1994-м докторскую диссертацию по специальности «анатомия человека». С 1995 года имеет ученое звание профессора. В НИИ питания Д.Б. Никитюк являлся руководителем лаборатории алиментарной патологии и морфологии (2004–2006 годы), заведующим лабораторией спортивного питания с группой алиментарной патологии (с 2006 года) и с 2015 года заместителем директора по научной работе. С 2016 года он директор Федерального исследовательского центра питания и биотехнологии, где заведует лабораторией спортивной антропонутрициологии. Одновременно Д.Б. Никитюк является профессором кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и по совместительству заведующим кафедрой экологии и безопасности пищи РУДН.

В научной деятельности Дмитрий Борисович развивает творческое наследие своих учителей – академиков РАН М.Р. Сапина и В.А. Тутельяна. Общеизвестны работы Д.Б. Никитюка в области морфологической экзокринологии, посвященные функциональной морфологии желез слизистых оболочек, позволившие охарактеризовать и доказать закономерности морфогенеза этих анатомических образований.

Д.Б. Никитюк стал одним из лидеров в области использования анатомо-антропометрических подходов для оценки пищевого статуса здорового и больного человека, что особенно важно для выявления конституциональной предрасположенности к развитию ряда

алиментарно зависимых заболеваний. Он определил конституциональные маркеры предрасположенности к развитию алиментарного ожирения, сахарного диабета и другим социально значимым заболеваниям. Под его руководством развивается новое научное направление – антропонутрициология, находящееся на стыке возрастной и конституциональной анатомии и науки о питании.

По его инициативе создан метод комплексной антропометрии, который активно используется в клинике. Д.Б. Никитюк разработал алгоритм антропометрических исследований, важных при контроле за физическим состоянием населения в норме и при различных заболеваниях, в том числе для оценки эффективности диетотерапии, при контроле за массой тела, для оценки пищевого статуса населения. Он впервые определил индивидуально-конституциональные нормы значения индекса массы тела, которые лежат в основе персонализированной диетотерапии. При его участии получены количественные и качественные характеристики физического развития населения всех федеральных округов Российской Федерации с учетом соматотипологических, гендерных, возрастных и индивидуальных особенностей (обследовано более 20 тысяч человек), а также выявлены особенности соматотипологической принадлежности у мужчин и женщин в зависимости от возраста. Д.Б. Никитюком сформирована единая база федеральных и региональных стандартов развития детей и подростков, живущих на разных территориях России. В соавторстве с Дмитрием Борисовичем созданы региональные «Стандарты физического развития» (2017–2022; более 40 стандартов); эта работа продолжается в настоящее время. Им проведена цифровая трансформация показателей физического развития и конституциональных морфологических особенностей организма, компонентного состава тела различных социально-демографических групп населения (наряду с цифровизацией физиологических потребностей в энергии, макро- и микронутриентах, химического

состава пищевых продуктов, их ранжирования как источников пищевых веществ) с целью развития цифровой нутрициологии и персонализированной медицины.

В области спортивной антропологии под руководством Д.Б. Никитюка определены маркеры спортивной успешности, что особенно важно для проведения эффективного спортивного отбора и определения индивидуально-конституциональной предрасположенности к конкретному виду спортивной специализации. Им разработана «Система многоуровневой диагностики нарушений пищевого статуса и оптимизация питания спортсменов разного уровня спортивной подготовки для повышения их адаптационного потенциала, спортивной формы и условий для достижения высоких спортивных результатов» («НутриСпорт»). Эта система доказала свою эффективность для контроля за состоянием здоровья и адаптационного потенциала спортсменов.

Дмитрий Борисович Никитюк – основоположник известной анатомической школы: под его руководством защищены десять докторских и 13 кандидатских диссертаций. Он является автором 20 учебников и учебных пособий по анатомии человека, 11 монографий и более 750 статей в научных журналах, 11 патентов, автором и соавтором 18 изобретений.

Д.Б. Никитюк – президент Научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов России, член координационного совета Международной ассоциации морфологов и международного анатомического общества «Анатомише Гезельшафт». Дмитрий Борисович входит в состав трех диссертационных советов и в одном из них является председателем, редколлегий журналов

«Морфология», «Морфологические ведомости», «Оперативная хирургия и клиническая анатомия», «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины», «Журнал анатомии и гистопатологии», «Клиническая и экспериментальная морфология» и многих других.

Д.Б. Никитюк – академик РАН с 2022 года, с 2017 года – член бюро секции медико-биологических наук отделения медицинских наук РАН. В 2014–2018 годах он являлся председателем экспертного совета ВАК по медико-биологическим и фармацевтическим наукам. Проведенные Д.Б. Никитюком широкомасштабные исследования имеют фундаментальное значение, реальные перспективы использования в практическом здравоохранении, являются базовыми для реализации национальных проектов «Демография» и «Здоровье», соответствуют основным научно-технологическим направлениям развития Российской Федерации. Результаты, достигнутые им в области антропонутициологии, лежат в основе обеспечения увеличения ожидаемой продолжительности жизни и улучшения ее качества, формирования условий для активного долголетия, создания эффективных здоровьесберегающих технологий.

Президиум и правление Научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов России, директор и сотрудники Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского» и редакционная коллегия журнала «Клиническая и экспериментальная морфология» желают дорогому Дмитрию Борисовичу творческой активности, крепкого здоровья и долгих лет жизни!