

# КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

При поддержке Российского общества патологоанатомов

Том 13 | № 2 | 2024

ISSN 2226-5988

eISSN 2686-6749

«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,  
Москва, Россия

Почетный редактор

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

Заместитель главного редактора

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

Ответственный секретарь

Процина А.Е., доктор биол. наук, доцент, Москва, Россия

Редакционная коллегия

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

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

Арешидзе Д.А., кандидат биол. наук,  
Москва, Россия

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

Барина И.В., доктор мед. наук,  
Москва, Россия

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

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

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

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

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

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

Низяева Н.В., доктор мед. наук, Москва,  
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

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

Авагимян А.А., кандидат мед. наук,  
Ереван, Армения

Бухвалов И.Б., доктор биол. наук,  
профессор, Гамбург, Германия

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

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

Гарновская М.Н., кандидат биол. 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

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

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

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

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

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

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

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

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

# CLINICAL AND EXPERIMENTAL MORPHOLOGY

SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL

With the support of the Russian Society of Pathology

Volume **13** | No **2** | 2024

ISSN 2226-5988

eISSN 2686-6749

“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:

**7045** according  
to the “Ural-Press” agency catalog

**7045** 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, Moscow, Russia

## Honorary Editor-in-Chief

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

## Deputy Editor-in-Chief

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

## Executive Secretary

*Proshchina, Alexandra E.*, Dr. Sci. Biol., Associate Professor, Moscow, Russia

## Editorial Board

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

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

*Areshidze, David A.*, Cand. Sci. Biol.,  
Moscow, Russia

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

*Barinova, Irina V.*, Dr. Sci. Med., Moscow,  
Russia

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

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

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

*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

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

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

*Nizyaeva, Natalia V.*, Dr. Sci. Med., Moscow,  
Russia

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

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

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

*Savel'yev, Sergey V.*, Dr. Sci. Biol., Professor,  
Moscow, Russia

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

## Advisory Board

*Avagimyan, Ashot A.*, Cand. Sci. Med.,  
Yerevan, Armenia

*Buchwalow, Igor B.*, Dr. Sci. Biol., Professor,  
Hamburg, Germany

*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

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

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

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

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

*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

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

- М.В. Шамаракова, Н.В. Низяева, Г.О. Зайратьяни, М.Н. Болтовская, К.А. Артемьева, М.Г. Аксенова, В.В. Бочков, Ю.Э. Доброхотова, Л.М. Михалева*  
Влияние общих патогенетических механизмов преэклампсии и гестационного сахарного диабета на их клинические проявления и строение плаценты 5 *M. V. Shamarakova, N. V. Nizyaeva, G. O. Zayratyants, M. N. Boltovskaya, K. A. Artemeva, M. G. Aksenova, V. V. Bochkov, Y. E. Dobrochotova, L. M. Mikhaleva*  
Impact of common pathogenetic mechanisms of preeclampsia and gestational diabetes mellitus on their clinical features and placental pathology
- П.А. Доронина, В.В. Булгакова, С.Г. Раденска-Лоповок*  
Патогенез и морфогенез хронического асептического остеомиелита 14 *P. A. Doronina, V. V. Bulgakova, S. G. Radenska-Lopovok*  
Pathogenesis and morphogenesis of chronic nonbacterial osteomyelitis

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ORIGINAL RESEARCH

- В.Н. Сальков, Д.Н. Воронков, В.С. Сухоруков*  
Количественные изменения ферритинсодержащей глии в структурах черного вещества головного мозга при старении и болезни Паркинсона 20 *V. N. Salkov, D. N. Voronkov, V. S. Sukhorukov*  
Quantitative changes in ferritin-containing glia in the structures of the substantia nigra in aging and Parkinson's disease
- Е.С. Андриюхова, Л.А. Таширева, С.В. Вторушин, С.Г. Афанасьев, А.В. Августинович, М.В. Завьялова, В.М. Перельмутер*  
CD11b+ миелоидные клетки селезенки при карциномах 26 *E. S. Andryukhova, L. A. Tashireva, S. V. Vtorushin, S. G. Afanasyev, A. V. Avgustinovich, M. V. Zavyalova, V. M. Perelmuter*  
CD11b+ splenic myeloid cells in carcinoma patients
- Т.И. Шевченко, Д.С. Швороб, А.А. Абрамян*  
Морфология стенки толстой кишки на разных стадиях хронического запора 36 *T. I. Shevchenko, D. S. Shvorob, A. A. Abramyan*  
Morphology of the colon wall at different stages of chronic constipation
- В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло, И.В. Мильто*  
Соотношение удельного объема коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся крыс 44 *V. V. Ivanova, O. N. Serebryakova, I. V. Sukhodolo, I. V. Milto*  
Type I/III collagen ratio in the left ventricular myocardium of prematurely born rats
- П.А. Крылов, И.М. Романова, Е.Д. Великанова, В.В. Андрейцев, В.Л. Загребин, А.В. Терентьев, В.В. Новочадов*  
Пространственное распределение протеогликанов суставного хряща бедренных мыщелков и тибияльного плато при экспериментальном остеоартрозе у крыс 53 *P. A. Krylov, I. M. Romanova, E. D. Velikanova, V. V. Andreycev, V. L. Zagrebina, A. V. Terentyev, V. V. Novochadov*  
Spatial distribution proteoglycans articular cartilage of femoral condyles and tibial plateau in experimental osteoarthritis in rats

## КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ CASE STUDIES

*Н.В. Кретова, А.А. Харламова, О.А. Лобанова,  
Т.Г. Володькина, Н.Б. Парамонова, Е.Е. Руденко,  
Е.А. Коган, Т.А. Демура*  
Клинико-морфологическое наблюдение  
высокодифференцированной нейроэндокринной  
опухоли головки поджелудочной железы  
на фоне синдрома фон Гиппеля–Линдау

61 *N. V. Kretova, A. A. Kharlamova, O. A. Lobanova,  
T. G. Volodkina, N. B. Paramonova, E. E. Rudenko,  
E. A. Kogan, T. A. Demura*  
Clinical and morphological case of a well-differentiated  
pancreatic neuroendocrine tumor accompanied  
by von Hippel-Lindau disease

## В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ FOR PRACTITIONERS

*Н.С. Карнауков, Т.Б. Куракина, В.В. Цвиркун,  
С.Г. Хомерики, Т.А. Степанова, Л.Г. Жукова,  
И.А. Ли, И.Е. Хатьков*  
Особенности организации выдачи пациентам  
готовых гистологических препаратов  
в многопрофильном медицинском учреждении

67 *N. S. Karnaukhov, T. B. Kurakina, V. V. Tsvirkun,  
S. G. Khomeriki, T. A. Stepanova, L. G. Zhukova,  
I. A. Li, I. E. Khatkov*  
Features of the organization of issuing histological  
slides and blocks to patients in a multidisciplinary  
medical institution

## ЮБИЛЕИ ANNIVERSARIES

Анна Георгиевна Бабаева  
(к 95-летию со дня рождения)

76 Anna Georgievna Babaeva  
on her 95th birthday

## ХРОНИКА EVENTS

III научно-практическая конференция  
Межрегионального танаториологического  
общества «Танаториология: от перинатологии  
до геронтологии»

78 III Scientific and Practical Conference  
of the Interregional Thanatoradiological Society  
“Thanatoradiology: from Perinatology to Gerontology”

## НЕКРОЛОГ OBITUARY

Памяти Валентины Павловны Быковой  
(1935–2024)

80 In memory of Valentina P. Bykova  
(1935–2024)

## Влияние общих патогенетических механизмов преэклампсии и гестационного сахарного диабета на их клинические проявления и строение плаценты

*М.В. Шамаракова<sup>1</sup>, Н.В. Низяева<sup>2</sup>, Г.О. Зайратьянц<sup>1</sup>, М.Н. Болтовская<sup>2</sup>,  
К.А. Артемьева<sup>2</sup>, М.Г. Аксенова<sup>2</sup>, В.В. Бочков<sup>2</sup>, Ю.Э. Доброхотова<sup>3</sup>, Л.М. Михалева<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> ГБУЗ Городская клиническая больница имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы, 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

**Резюме.** Преэклампсия (ПЭ) и гестационный сахарный диабет (ГСД) нередко сочетаются. Каждое из этих заболеваний представляет собой акушерское осложнение, негативно влияющее на перинатальные исходы матери и новорожденного. Иницирующим фактором развития ПЭ является ишемия плаценты, в ответ на которую у беременной женщины возникают эндотелиальная дисфункция, окислительный стресс и воспаление, обуславливающие симптомы ПЭ. Гипергликемия и инсулинорезистентность, сопровождающие ГСД, способствуют развитию ишемии плаценты и усиливают эндотелиальную дисфункцию, окислительный стресс и воспаление, отягощая таким образом состояние женщины. Нарушение строения ворсинчатого дерева ведет к ишемии плаценты, способной иницировать ПЭ. Гипергликемия, сопровождающая ГСД, препятствует соответствующему развитию ворсинчатого дерева, что может вызывать плацентарную ишемию. Данный обзор литературы рассматривает сочетание патогенетических механизмов ПЭ и ГСД, лежащих в основе их клинических проявлений и строения плаценты.

**Ключевые слова:** беременность, гестационный сахарный диабет, эндотелиальная дисфункция, плацента, преэклампсия

**Для корреспонденции:** Марина Викторовна Шамаракова. E-mail: mshamarakova@yandex.ru

**Для цитирования:** Шамаракова М.В., Низяева Н.В., Зайратьянц Г.О., Болтовская М.Н., Артемьева К.А., Аксенова М.Г., Бочков В.В., Доброхотова Ю.Э., Михалева Л.М. Влияние общих патогенетических механизмов преэклампсии и гестационного сахарного диабета на их клинические проявления и строение плаценты. Клини. эксп. морфология. 2024;13(2):5–13. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.5-13.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 26.02.2024. Получена после рецензирования 11.03.2024. Принята в печать 01.04.2024.

## Impact of common pathogenetic mechanisms of preeclampsia and gestational diabetes mellitus on their clinical features and placental pathology

*M.V. Shamarakova<sup>1</sup>, N.V. Nizyaeva<sup>2</sup>, G.O. Zayratyants<sup>1</sup>, M.N. Boltovskaya<sup>2</sup>,  
K.A. Artemeva<sup>2</sup>, M.G. Aksenova<sup>2</sup>, V.V. Bochkov<sup>2</sup>, Y.E. Dobrochotova<sup>3</sup>, L.M. Mikhaleva<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> S.S. Yudin City Clinical Hospital, Moscow, Russia

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

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

**Abstract.** Preeclampsia (PE) and gestational diabetes mellitus (GDM) are frequently combined, both diseases causing common pregnancy complications and adverse perinatal outcomes for a mother and newborn. Placental ischemia is the initial factor of PE development followed by endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation, which determine PE symptoms. Hyperglycemia and insulin resistance accompanying GDM contribute to placental ischemia and increase PE symptoms, thereby exacerbating maternal health. Abnormal development causes placental malperfusion and leads to preeclampsia. Hyperglycemia accompanying GDM prevents the appropriate evolution of villi, which can trigger placental

ischemia. This review describes the pathogenesis of PE and GDM and focuses on their clinical features and placental pathology.

**Keywords:** pregnancy, gestational diabetes mellitus, endothelial dysfunction, placenta, preeclampsia

**Corresponding author:** Marina V. Shamarakova. E-mail: mshamarakova@yandex.ru

**For citation:** Shamarakova M.V., Nizyaeva N.V., Zayratyants G.O., Boltovskaya M.N., Artemeva K.A., Aksenova M.G., Bochkov V.V., Dobrochotova Y.E., Mikhaleva L.M. Impact of common pathogenetic mechanism of preeclampsia and gestational diabetes mellitus on their clinical features and placental pathology. Clin. exp. morphology. 2024;13(2):5–13 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.5-13.

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

**Received** 26.02.2024. **Received in revised form** 11.03.2024. **Accepted** 01.04.2024.

## Введение

Преэклампсия (ПЭ) и гестационный сахарный диабет (ГСД) представляют собой основные акушерские осложнения, негативно влияющие на перинатальные исходы матери и новорожденного [1]. ПЭ принято считать появление артериальной гипертензии, протеинурии или поражения других органов после 20-й недели гестации. Симптомы ПЭ варьибельны, у одних женщин заболевание ограничивается развитием гипертензии и протеинурии, у других сопровождается гемолизом, повышением уровня печеночных ферментов, HELLP-синдромом и эклампсией [2]. ГСД обозначают впервые выявленный во время беременности сахарный диабет, который не является ранее существовавшим диабетом 1-го или 2-го типа. ГСД охватывает широкий спектр гипергликемии, от легкого нарушения толерантности к глюкозе или повышения ее уровня натощак, выявленного на поздних сроках беременности, до уровней глюкозы, характерных для истинного диабета (или, реже, даже впервые возникшего сахарного диабета 1-го типа), диагностируемого на ранних сроках беременности (меньше 20 недель гестации) [3]. Нередко в клинической практике наблюдается сочетание ПЭ и ГСД, кроме того, ГСД повышает риск развития поздней ПЭ [4]. Данный обзор литературы рассматривает сочетание патогенетических механизмов ПЭ и ГСД, лежащих в основе их клинических проявлений и строения плаценты.

## Патогенез преэклампсии

Традиционно патогенез ПЭ подразделяют на два этапа: возникновение ишемии плаценты и развитие материнского синдрома [5]. Основной причиной появления ишемии плаценты считают нарушение ремоделирования спиральных артерий. Однако этот дефект связан не только с возникновением ПЭ, но и с другими акушерскими осложнениями, включая задержку внутриутробного роста плода, преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, поздний самопроизвольный аборт и преждевременную отслойку нормально расположенной плаценты [6]. Ишемия плаценты может формироваться при неадекватном развитии и/или функционировании ворсинчатого дерева, проявляющемся после успешной трансформации спиральных артерий [7].

## Ремоделирование спиральных артерий

Ремоделирование спиральных артерий – это сложно организованный процесс замещения мышечной и эластической оболочки сосудов фибриноидом и клетками вневорсинчатого трофобласта, в результате которого образуются артерии с широким просветом, сниженная резистенция кровотока обеспечивает оптимальную скорость кровоснабжения плаценты [8]. Модификация затрагивает не все спиральные артерии матки. В отличие от спиральных артерий центральной части плацентарного ложа, которые из-за вогнутой формы плаценты преобразуются даже при крайне тяжелых осложнениях беременности, спиральные артерии периферической части и находящиеся за его пределами почти всегда остаются интактными. Успешную плацентацию обуславливает адекватная перестройка спиральных артерий парацентральной зоны. Трансформация спиральных артерий начинается примерно с 10-й недели беременности. Прогностически значимым является соответствующее ремоделирование достаточного количества спиральных артерий к 18–20-й неделям гестации, в противном случае возникает ишемия плаценты, предшествующая манифестации ПЭ (появление гипертензии после 20-й недели гестации) [9].

## Механизм развития ишемии плаценты, не обусловленной нарушением ремоделирования спиральных артерий

Несмотря на большое внимание, которое уделяется процессу нарушения перестройки спиральных артерий в качестве основного этиологического фактора ПЭ, существует мнение, что это изменение ассоциировано исключительно с ранней ПЭ. Механизм развития поздней ПЭ, составляющей от 80 до 95% всех случаев преэклампсии в мире и характеризующейся внезапным появлением и отсутствием предикторов, связан с ишемией плаценты, возникающей на позднем сроке гестации после успешного завершения трансформации спиральных артерий [10, 11]. Ранее было показано, что рост плаценты имеет физический предел, который зависит не от срока беременности, а от размера самой плаценты. Это утверждение обосновывается данными о том, что в конце беременности темп роста плаценты снижается, причем замедление роста происходит раньше у плацент с наибольшей массой, что особенно

заметно в плацентах от двойни, по сравнению с плацентами низкой массы [12]. Также известно, что уровень газообмена в межворсинчатом пространстве снижается с увеличением срока беременности [13]. Ближе к ее концу развитие плаценты заключается в образовании терминальных ворсин, которые отпочковываются от промежуточных ветвей и заполняют межворсинчатое пространство. Вероятно, при избыточном формировании терминальных ворсин и недостаточном росте плаценты происходит сближение ворсин, вследствие этого уменьшается межворсинчатое расстояние, газообмен снижается, ишемия плаценты усиливается и оказывается критичной [7].

### Материнский синдром

В ответ на ишемию плаценты развиваются нарушения в организме матери, которые обозначаются как материнский синдром. Симптомы ПЭ связаны с системным повреждением сосудов, развитием в них эндотелиальной дисфункции, окислительного стресса и воспаления.

### Эндотелиальная дисфункция

Эндотелиальные клетки, представляющие внутренний слой сосудов, выполняют широкий спектр функций, включая регуляцию гемостаза, контролирование проницаемости сосудов, участие в острых и хронических иммунных ответах на различные типы повреждений и регуляцию сосудистого тонуса [14]. Осуществление этих функций контролирует несколько молекулярных механизмов, однако наиболее значимым является сигнальный путь оксида азота [15]. Оксид азота (NO) обладает выраженными сосудорасширяющими, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, имеет ключевую роль в поддержании сосудистого гомеостаза. NO образуется в процессе окисления атомом кислорода L-аргинина при участии специфического фермента NO-синтазы. В зависимости от типа клеток, в которых синтезируется NO-синтаза, выделяют разные его изоформы, основными из которых являются эндотелиальные (eNOS), нейрональные (nNOS), макрофагальные (mNOS) [16]. Концепция эндотелиальной дисфункции заключается в снижении секреции и чувствительности к NO, вследствие этого смещения сосудистого гомеостаза в сторону усиления протромботического и провоспалительного фона в результате уменьшения способности кровеносных сосудов к расширению [15]. Учитывая, что эндотелиальная дисфункция является этапом развития атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и метаболического синдрома, ПЭ считают фактором риска возникновения перечисленных заболеваний у матери в будущем [17].

При ишемии плацента высвобождает в кровоток матери антиангиогенные белки, а именно растворимый эндоглин (sEng) и растворимую fms-подобную тирозинкиназу 1 (sFlt-1). sEng посредством подавления сигнального пути трансформирующего фактора роста  $\beta$

(TGF $\beta$ ) снижает активность eNOS. sFlt1 представляет растворимый вариант рецептора сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR1), который, связываясь с VEGF и плацентарным фактором роста (PlGF), ингибирует их стимулирующее влияние на eNOS [5].

### Окислительный стресс

Физиологическая беременность отличается прооксидантным состоянием с преобладанием свободных радикалов/активных форм кислорода (АФК) и сниженным уровнем антиоксидантов в плазме крови [18]. АФК образуются в результате повышенной митохондриальной активности клеток ворсинчатого и вневорсинчатого трофобласта и способствуют быстрому развитию плаценты, необходимому для обеспечения прогрессивно увеличивающейся потребности в энергии по мере роста плода [19]. На ранней стадии имплантации бластоциста находится в условиях низкой концентрации кислорода, защищающей ее от тератогенного действия АФК и оказывающей стимулирующее влияние на пролиферацию трофобласта. Появление сосудов и поступление в них материнской крови приводит к увеличению концентрации кислорода, возникает окислительный стресс, который способствует трансформации фенотипа клеток трофобласта от пролиферативного к инвазивному, в итоге клетки инвазивного трофобласта обретают способность проникать в стенку спиральных артерий в процессе их трансформации [19]. На более позднем сроке гестации при неадекватном кровоснабжении в плаценте возникает периодическая ишемия/реперфузия, которые являются мощным индуктором окислительного стресса, поскольку плацента начинает развиваться в условиях физиологически низкого содержания кислорода. Повышенная активность АФК способствует транскрипции ангиогенных факторов (sFlt1) и провоспалительных медиаторов эндотелиальной дисфункции, стимулирует секрецию воспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкин-6 (IL-6) [20, 21].

### Воспаление

Состояние иммунной системы имеет важное значение в процессе гестации. На этапе, предшествующем имплантации, ключевую роль играет местный иммунитет. Маточные натуральные киллеры (мНК), макрофаги, дендритные клетки и Т-лимфоциты, накапливающиеся в секреторной фазе менструального цикла и резко увеличивающиеся по численности при наступлении беременности, регулируют миграцию и инвазию клеток трофобласта в стенку спиральных артерий в процессе их перестройки [22]. Дисбаланс иммунных клеток в матке приводит к формированию неадекватной васкуляризации плаценты и, как следствие, развитию осложнений беременности, включая невынашивание и ПЭ [23].

Хотя физиологическая беременность сопровождается изменением функционирования врожденного

иммунитета, при беременности, осложненной ПЭ, иммунный ответ чрезмерный, с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов, высвобождаемых активированными Т-хелперами Th1 и Th17 [23, 24]. К провоспалительным цитокинам, определяющим развитие ПЭ, относят TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-17. Значительное увеличение этих цитокинов в кровотоке матери и плаценте приводит к хроническому системному и местному воспалению плаценты, обуславливающему клинические проявления ПЭ [24].

TNF- $\alpha$  активирует эндотелиальные клетки, снижает синтез мРНК NOS, повышает экспрессию мРНК препроэндотелина-1 (PPE-1), являющегося предшественником эндотелина-1, который обладает мощным сосудосуживающим эффектом [23]. IL-6 опосредует экспрессию мРНК PPE-1 [25]. Возрастание концентрации TNF- $\alpha$  и IL-6 в плаценте приводит к избыточному и/или абберантному повреждению/гибели клеток трофобласта. Образовавшиеся в результате повреждения трофобласта микрочастицы содержат высокий уровень sFlt1 и sEng, а также способны индуцировать экспрессию других воспалительных цитокинов (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-8), которые, поступая в материнский кровоток, усиливают системное воспаление и эндотелиальную дисфункцию [26].

IL-17 способствует выработке АФК в плаценте, а также стимулирует синтез В-клетками агонистических аутоантител к рецептору ангиотензина II (Ang II) типа 1 (AT1-AA) [23]. Избыточная активация рецепторов AT1 ведет к развитию гипертензии [27].

### Патогенез ГСД

ГСД возникает в результате дисфункции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, развившейся на фоне хронической инсулинорезистентности во время беременности. Изменение чувствительности к инсулину является одной из важных метаболических адаптаций в течении беременности. На ранних сроках гестации чувствительность к инсулину повышается, способствуя поступлению глюкозы в жировое депо для создания энергетического запаса, который будет расходоваться на поздних сроках беременности. По мере прогрессирования беременности увеличивается концентрация эстрогенов, прогестерона, лептина, кортизола, плацентарного лактогена и плацентарного гормона роста, опосредующих развитие инсулинорезистентности. В результате уровень глюкозы в крови немного повышается, и эта глюкоза легко транспортируется через плаценту, обеспечивая рост плода. Умеренная инсулинорезистентность также способствует выработке эндогенной глюкозы и расщеплению жировых запасов, что приводит к дальнейшему повышению концентрации в крови глюкозы и свободных жирных кислот. Важное значение плацентарных гормонов в этом процессе подтверждается тем фактом, что в течение нескольких дней после родов чувствительность к инсулину снижается до уровня, наблюдаемого до беременности [28].

У женщин, у которых развивается ГСД, до наступления беременности существует дефект функции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, не имеющий клинического проявления и обуславливающий сниженную чувствительность инсулина к глюкозе. На ранних сроках беременности  $\beta$ -клетки поджелудочной железы еще способны увеличивать секрецию инсулина, восполняя низкую чувствительность инсулина к глюкозе, и поддерживать нормогликемию. По мере течения беременности и прогрессирования физиологической инсулинорезистентности возникает недостаток вырабатываемого инсулина и появляется гипергликемия [28]. Патологическое влияние ГСД на организм женщины обусловлено гипергликемией, инсулинорезистентностью и гиперинсулинемией.

### Гипергликемия

Гипергликемия опосредует повышение концентрации глюкозы в клетках эндотелия, поскольку глюкоза поступает в эндотелиальные клетки с помощью транспортера GLUT1, активность которого регулируется концентрацией внеклеточной глюкозы и не зависит от инсулина [29]. Увеличение внутриклеточной концентрации глюкозы в клетках эндотелия приводит к усилению их метаболизма, образованию большого количества побочных продуктов гликолиза, способных самостоятельно индуцировать эндотелиальную дисфункцию и окислительный стресс [30, 31]. Гипергликемия способствует стойкому повышению в кровотоке концентрации провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-6 [32].

### Инсулинорезистентность

Инсулинорезистентность приводит к возникновению дислипидемии, которая характеризуется повышением уровня циркулирующих триглицеридов, снижением количества липопротеидов высокой плотности и образованием липопротеидов очень низкой плотности [33]. Инсулинорезистентность в сочетании с дислипидемией стимулирует выработку АФК и активных форм азота, подавляющих функционирование eNOS и NO, что ведет к развитию эндотелиальной дисфункции [33].

### Гиперинсулинемия

Экспериментальные работы на лабораторных животных показали, что гиперинсулинемия ингибирует экспрессию eNOS и образование NO в плаценте и зоне имплантации, что может обусловить задержку внутриутробного роста плода [34]. Гиперинсулинемия при эугликемии стимулирует повышение артериального давления независимо от sFlt-1, выделяемого в кровоток при ишемии плаценты [35].

### Клинические проявления преэклампсии и гестационного сахарного диабета

Симптомы ПЭ включают артериальную гипертензию, сопровождающуюся одним или несколькими из следующих признаков: протеинурия (>3 г/сут),

печеночная или почечная дисфункция, неврологические или гематологические нарушения, снижение маточно-плацентарного кровотока. ПЭ подразделяют на раннюю, манифестирующую до 34-й недели гестации, и позднюю, возникающую после 34-й недели беременности [36]. Патологическое влияние, связанное с ГСД, появляется в конце II триместра гестации [37] и может усиливать уже имеющуюся эндотелиальную дисфункцию, окислительный стресс и воспаление или оказать первичное повреждающее действие на сосуды женщины, в результате которого даже умеренная степень ишемии плаценты вызовет клинические проявления ПЭ [38].

Гипертензия и нарушение функции почек наиболее часто встречаются при ПЭ и ГСД. Возникновение гипертензии связано с эндотелиальной дисфункцией, окислительный стресс и системное воспаление усугубляют это нарушение. ПЭ отличается изменением функционирования ренин-ангиотензиновой системы (РАС), проявляющейся уменьшением концентрации ренина, альдостерона и Ang-II, увеличением чувствительности сосудов к Ang-II [39], как следствие, развитием гипертензии при «низкой» концентрации Ang-II и альдостерона [40]. Ang-II оказывает сосудосуживающий эффект при взаимодействии со своим рецептором AT-1. Последний при ПЭ утрачивает способность к инактивации – наоборот, приобретает повышенную чувствительность к связыванию Ang-II. Аутоантитела к AT-1 (AT1-AA), синтезируемые плацентой при ишемии, при взаимодействии с Ang-II активируют рецепторы AT1, а также стимулируют высвобождение sFlt1, эндотелина-1 и провоспалительных факторов транскрипции в сосудах и клетках трофобласта, увеличивающих выработку TNF- $\alpha$  и АФК [27].

Повреждение почек при ПЭ связано с эндотелиальной дисфункцией и подавлением активности VEGF. Генерализованная эндотелиальная дисфункция приводит к набуханию эндотелиальных клеток клубочков и обусловленной этим окклюзии просвета капилляров, данный процесс называют эндотелиозом капилляров клубочков [41]. Эндотелиальная дисфункция опосредует активацию тромбоцитов, повышение ими экспрессии рецепторов факторов свертывания крови, агрегацию активированных тромбоцитов и возникновение тромбоцитарной микроангиопатии [42]. Ингибирование VEGF обуславливает увеличение проницаемости сосудов и появление протеинурии [43].

Ассоциированные с гипергликемией эндотелиальная дисфункция, окислительный стресс и воспаление оказывают непосредственное повреждающее действие на подоциты и эндотелиальные клетки клубочков почек, индуцируя развитие протеинурии и фиброза [44].

Все перечисленные выше патологические изменения в организме женщины прогрессируют после завершения беременности. Научные исследования продемонстрировали, что оба заболевания характеризуются схожими неблагоприятными отдаленными

последствиями, а именно увеличивают риск сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта и сахарного диабета в будущем как у женщин, перенесших ПЭ и ГСД, так и у их детей [45, 46].

### **Морфологические особенности плаценты при преэклампсии и гестационном сахарном диабете**

Плацента отличается выраженными компенсаторными возможностями, позволяющими поддерживать ее соответствующее строение и развитие плода, вследствие этого изменения плаценты могут быть незначительными или даже отсутствовать [47].

При ПЭ этиология ишемии различная. Так, неадекватная реконструкция спиральных артерий, происходящая в I триместре беременности, приводит к снижению кровоснабжения плаценты и ее гипоплазии, характеризующейся уменьшением количества всех типов ворсин, снижением их ветвления, преобладанием тонких и длинных концевых ворсин с низкой плотностью фетальных сосудов [48]. Нарушение перестройки спиральных артерий может обусловить возникновение сосудистой патологии плаценты с формированием инфарктов и утратой функционирования отдельных участков плаценты [49]. В результате появляется ишемия, отождествляемая с ранней ПЭ.

Во II и III триместрах гестации в качестве этиологических факторов ишемии плаценты рассматривают преждевременное созревание ворсинчатого дерева или патологически незрелое ворсинчатое дерево. Преждевременное созревание ворсинчатого дерева представляет адаптационную реакцию, направленную на увеличение площади соприкосновения синцитиотрофобласта с материнским кровотоком с целью улучшения обмена между матерью и плодом. Вместе с тем преждевременное созревание плаценты свидетельствует о раннем истощении ресурсов ворсинчатого дерева, неспособности его последующего корректного функционирования, как правило, ассоциировано с гипоксией плода [50]. Патологическая незрелость ворсинчатого дерева связана с подавлением формирования терминальных ворсин. Противоположно остальным ворсинкам, возникающим при клеточном делении, терминальные ворсины образуются в результате пассивного роста капилляров и последующего отделения от промежуточной дифференцированной ворсины. Уменьшение количества терминальных ворсин и, соответственно, преобладание промежуточных дифференцированных ворсин с более центрально расположенными капиллярами и утолщением базальных мембран приводит к увеличению барьера для обмена кислородом и питательными веществами между матерью и плодом, развивается гипоксия плода [51].

Как указано выше, ишемия, возникающая на дономном сроке беременности и ассоциированная с продолжающимся ростом/ветвлением ворсинчатого дерева при отсутствии увеличения размера плацентарного

диска, проявляется сужением межворсинчатого пространства [10]. Ишемию плаценты также может спровоцировать фиброз стромы ворсин, который обусловлен усиленной пролиферацией фибробластов и снижением соотношения площади фетальных сосудов к общей площади ворсины [52].

В отличие от патогенеза ПЭ, при которой патологические структурные особенности ворсинчатого дерева ведут к ишемии плаценты, инициирующей ПЭ, гипергликемия, ассоциированная с ГСД, может вызывать нарушение строения плаценты. Избыточное накопление в плаценте глюкозы обуславливает увеличение ее массы, диаметра и толщины [51]. Пониженная регуляция гликемии у матери приводит к периодам гипергликемии, поскольку глюкоза поступает плоду трансплацентарно по градиенту из области большей концентрации в область меньшей, гипергликемия матери обуславливает гипергликемию плода. Во II и III триместрах беременности поджелудочная железа плода начинает секрецию инсулина, гипергликемия ведет к гиперинсулинемии. В результате метаболизм плода усиливается, отмечаются чрезмерное накопление жировой ткани и его ускоренный рост (макросомия), вследствие этого возрастает потребность плода в кислороде и возникает гипоксия, в ответ на которую развивается ишемия плаценты [53]. Гипоксия обладает мощной проангиогенной активностью, увеличенная регуляция экспрессии сосудистых факторов роста сосудов приводит к чрезмерному росту капилляров ворсин и высокой пролиферативной активности соединительной ткани, формируется так называемый хорангиоз, характеризующийся наличием более десяти капилляров в более чем десяти ворсинах хориона в нескольких полях зрения плаценты [54]. Хотя предполагается, что хорангиоз является компенсаторной реакцией, адекватное кровоснабжение плаценты достигается не всегда. Проведение ангиографии послеродовой плаценты у пациенток с сахарным диабетом показало снижение соотношения объема фетоплацентарных сосудов к массе плаценты [55].

## Заключение

Сочетание преэклампсии и гестационного сахарного диабета отягощает состояния женщины, поскольку патогенез обоих заболеваний приводит к одним патологическим процессам, а именно эндотелиальной дисфункции, окислительному стрессу и воспалению, усиливая их повреждающее действие. Учитывая, что гестационный сахарный диабет манифестирует во II–III триместрах беременности, гипергликемия не оказывает негативного влияния на уже завершённый процесс имплантации и, соответственно, не участвует в развитии ранней преэклампсии, однако способна привести дополнительное поражающее системное воздействие на сосуды женщины с ранней преэклампсией. Последствия гипергликемии, гиперинсулинемии и инсулинорезистентности, связанные с гестационным

сахарным диабетом, оказывают первичный повреждающий эффект на сосуды, а также дезорганизуют соответствующее развитие плаценты, что ведет к ее ишемии и, таким образом, объясняет утверждение, что гестационный сахарный диабет увеличивает риск возникновения поздней преэклампсии.

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

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

## Литература/References

1. *Bettikher O.A., Zazerskaya I.E., Popova P.V., Vasilyeva E.Yu., Bart V.A.* Характеристика преэклампсии у беременных с гестационным диабетом. Журнал акушерства и женских болезней. 2019;68(5):19–36. DOI: 10.17816/JOWD68519-36.
2. *Bettikher OA, Zazerskaya IE, Popova PV, Vasilyeva EY, Bart VA.* Preeclampsia features in pregnancy with gestational diabetes mellitus. Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2019;68(5):19–36 (In Russ). DOI: 10.17816/JOWD68519-36.
3. *Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' task force on hypertension in pregnancy.* Obstet Gynecol. 2013;122(5):1122–31. DOI: 10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88.
4. *McIntyre HD, Catalano P, Zhang C, Desoye G, Mathiesen ER, Damm P.* Gestational diabetes mellitus. Nat Rev Dis Primers. 2019;5(1):47. DOI: 10.1038/s41572-019-0098-8.
5. *Aneman I, Pienaar D, Suvakov S, Simic TP, Garovic VD, McClements L.* Mechanisms of key innate immune cells in early- and late-onset preeclampsia. Front Immunol. 2020;11:1864. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01864.
6. *Phipps EA, Thadhani R, Benzing T, Karumanchi SA.* Preeclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. Nat Rev Nephrol. 2019;15(5):275–89. DOI: 10.1038/s41581-019-0119-6. Erratum in: Nat Rev Nephrol. 2019;15(6):386.
7. *Brosens I, Puttemans P, Benagiano G.* Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. Am J Obstet Gynecol. 2019;221(5):437–56. DOI: 10.1016/j.ajog.2019.05.044.
8. *Redman CW, Sargent IL, Staff AC.* IFPA senior award lecture: making sense of pre-eclampsia – two placental causes of preeclampsia? Placenta. 2014;35 Suppl:S20–5. DOI: 10.1016/j.placenta.2013.12.008.
9. *Meyer N, Zenclussen AC.* Immune cells in the uterine remodeling: are they the target of endocrine disrupting chemicals? Front Immunol. 2020;11:246. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00246.
10. *Burton GJ, Cindrova-Davies T, Yung HW, Jauniaux E.* Hypoxia and reproduction health: oxygen and development of the human placenta. Reproduction. 2021;161(1):F53–65. DOI: 10.1530/REP-20-0153.
11. *Jung E, Romero R, Yeo L, Gomez-Lopez N, Chaemsaitong P, Jao-visidha A et al.* The etiology of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2022;226(2S):S844–66. DOI: 10.1016/j.ajog.2021.11.1356.
12. *Serov AS, Salafia CM, Brownbill P, Grebenkov DS, Filoche M.* Optimal villi density for maximal oxygen uptake in the human placenta. J Theor Biol. 2015;364:383–96. DOI: 10.1016/j.jtbi.2014.09.022.

12. *Almog B, Shehata F, Aljabri S, Levin I, Shalom-Paz E, Shrim A.* Placenta weight percentile curves for singleton and twins deliveries. *Placenta.* 2011;32(1):58–62. DOI: 10.1016/j.placenta.2010.10.008.
13. *Schneider H.* Oxygenation of the placental-fetal unit in humans. *Respir Physiol Neurobiol.* 2011;178(1):51–8. DOI: 10.1016/j.resp.2011.05.009.
14. *Sturtzel C.* Endothelial cells. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1003:71–91. DOI: 10.1007/978-3-319-57613-8\_4.
15. *Incalza MA, D’Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F.* Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul Pharmacol.* 2018;100:1–19. DOI: 10.1016/j.vph.2017.05.005.
16. *Гончаров Н.П.* Оксид азота (NO): физиология и метаболизм (лекция). *Андрология и генитальная хирургия.* 2020;21(3):75–79. DOI: 10.1765/2070-9781-2020-21-3-75-79. *Goncharov NP.* Nitric oxide (NO): physiology and metabolism (lecture). *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery.* 2020;21(3):75–79 (In Russ.). DOI: 10.1765/2070-9781-2020-21-3-75-79.
17. *Gimbrone MA Jr, Garcia-Cardena G.* Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circ Res.* 2016;118(4):620–36. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301.
18. *Poston L, Igosheva N, Mistry HD, Seed PT, Shennan AH, Rana S et al.* Role of oxidative stress and antioxidant supplementation in pregnancy disorders. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(6 Suppl):1980S–5S. DOI: 10.3945/ajcn.110.001156.
19. *Guerby P, Tasta O, Swiader A, Pont F, Bujold E, Parant O et al.* Role of oxidative stress in the dysfunction of the placental endothelial nitric oxide synthase in preeclampsia. *Redox Biol.* 2021;40:101861. DOI: 10.1016/j.redox.2021.101861.
20. *Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA.* Preeclampsia: pathophysiology, challenges, and perspectives. *Circ Res.* 2019;124(7):1094–112. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276. Erratum in: *Circ Res.* 2020;126(1):e8.
21. *Sánchez-Aranguren LC, Prada CE, Riaño-Medina CE, Lopez M.* Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front Physiol.* 2014;5:372. DOI: 10.3389/fphys.2014.00372.
22. *Gaynor LM, Colucci F.* Uterine natural killer cells: functional distinctions and influence on pregnancy in humans and mice. *Front Immunol.* 2017;8:467. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00467.
23. *Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham MW Jr, Wallace K et al.* The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci (Lond).* 2016;130(6):409–19. DOI: 10.1042/CS20150702.
24. *Cornelius DC.* Preeclampsia: from inflammation to immunoregulation. *Clin Med Insights Blood Disord.* 2018;11:1179545X17752325. DOI: 10.1177/1179545X17752325.
25. *Zhou CC, Irani RA, Dai Y, Blackwell SC, Hicks MJ, Ramin SM et al.* Autoantibody-mediated IL-6-dependent endothelin-1 elevation underlies pathogenesis in a mouse model of preeclampsia. *J Immunol.* 2011;186(10):6024–34. DOI: 10.4049/jimmunol.1004026.
26. *Chang X, Yao J, He Q, Liu M, Duan T, Wang K.* Exosomes from women with preeclampsia induced vascular dysfunction by delivering sFlt (soluble fms-like tyrosine kinase)-1 and sEng (soluble endoglin) to endothelial cells. *Hypertension.* 2018;72(6):1381–90. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11706.
27. *Herse F, LaMarca B.* Angiotensin II type 1 receptor autoantibody (AT1-AA)-mediated pregnancy hypertension. *Am J Reprod Immunol.* 2013;69(4):413–8. DOI: 10.1111/aji.12072.
28. *Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH.* The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3342. DOI: 10.3390/ijms19113342.
29. *Knapp M, Tu X, Wu R.* Vascular endothelial dysfunction, a major mediator in diabetic cardiomyopathy. *Acta Pharmacol Sin.* 2019;40(1):1–8. DOI: 10.1038/s41401-018-0042-6.
30. *Clyne AM.* Endothelial response to glucose: dysfunction, metabolism, and transport. *Biochem Soc Trans.* 2021;49(1):313–25. DOI: 10.1042/BST20200611.
31. *Zhu C, Yang H, Geng Q, Ma Q, Long Y, Zhou C et al.* Association of oxidative stress biomarkers with gestational diabetes mellitus in pregnant women: a case-control study. *PLoS One.* 2015;10:e0126490. DOI: 10.1371/journal.pone.0126490.
32. *Nguyen-Ngo C, Jayabalan N, Salomon C, Lappas M.* Molecular pathways disrupted by gestational diabetes mellitus. *J Mol Endocrinol.* 2019;63(3):R51–72. DOI: 10.1530/JME-18-0274.
33. *Ormazabal V, Nair S, Elfeky O, Aguayo C, Salomon C, Zuñiga FA.* Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17(1):122. DOI: 10.1186/s12933-018-0762-4.
34. *Lopez-Jaramillo P, Barajas J, Rueda-Quijano SM, Lopez-Lopez C, Felix C.* Obesity and preeclampsia: common pathophysiological mechanisms. *Front Physiol.* 2018;9:1838. DOI: 10.3389/fphys.2018.01838.
35. *Palei AC, Spradley FT, Granger JP.* Euglycemic hyperinsulinemia increases blood pressure in pregnant rats independent of placental antiangiogenic and inflammatory factors. *Am J Hypertens.* 2013;26(12):1445–51. DOI: 10.1093/ajh/hpt137.
36. *Burton GJ, Redman CW, Roberts JM, Moffett A.* Preeclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ.* 2019;366:12381. DOI: 10.1136/bmj.12381.
37. *Cvitic S, Desoye G, Hiden U.* Glucose, insulin, and oxygen interplay in placental hypervascularisation in diabetes mellitus. *Biomed Res Int.* 2014;2014:145846. DOI: 10.1155/2014/145846.
38. *Staff AC.* The two-stage placental model of preeclampsia: an update. *J Reprod Immunol.* 2019;134-135:1–10. DOI: 10.1016/j.jri.2019.07.004.
39. *Saleh L, Verdonk K, Visser W, van den Meiracker AH, Danser AH.* The emerging role of endothelin-1 in the pathogenesis of preeclampsia. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2016;10(5):282–93. DOI: 10.1177/1753944715624853.
40. *Ferreira AJ, Santos RA, Bradford CN, Mecca AP, Summers C, Katovich MJ et al.* Therapeutic implications of the vasoprotective axis of the renin-angiotensin system in cardiovascular diseases. *Hypertension.* 2010;55(2):207–13. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.140145.
41. *Moghaddas Sani H, Zununi Vahed S, Ardalan M.* Preeclampsia: a close look at renal dysfunction. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:408–16. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.10.082.

42. Kazmi RS, Cooper AJ, Lwaleed BA. Platelet function in pre-eclampsia. *Semin Thromb Hemost.* 2011;37(2):131–6. DOI: 10.1055/s-0030-1270339.
43. Scott RP, Quaggin SE. The cell biology of renal filtration. *J Cell Biol.* 2015;209(2):199–210. DOI: 10.1083/jcb.201410017.
44. Papadopoulou-Marketou N, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: a review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis. *Diabetes Metab Res Rev.* 2017;33(2):e2841. DOI: 10.1002/dmrr.2841.
45. Leslie MS, Briggs LA. Preeclampsia and the risk of future vascular disease and mortality: a review. *J Midwifery Womens Health.* 2016;61(3):315–24. DOI: 10.1111/jmwh.12469.
46. Yu Y, Arah OA, Liew Z, Cnattingius S, Olsen J, Sørensen HT et al. Maternal diabetes during pregnancy and early onset of cardiovascular disease in offspring: population based cohort study with 40 years of follow-up. *BMJ.* 2019;367:16398. DOI: 10.1136/bmj.16398.
47. Bendix I, Miller SL, Winterhager E. Editorial: causes and consequences of intrauterine growth restriction. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:205. DOI: 10.3389/fendo.2020.00205.
48. Sun C, Groom KM, Oyston C, Chamley LW, Clark AR, James JL. The placenta in fetal growth restriction: what is going wrong? *Placenta.* 2020;96:10–8. DOI: 10.1016/j.placenta.2020.05.003.
49. Воронова О.В., Милованов А.П., Михалева Л.М. Интеграционный подход в исследовании сосудов плаценты при преэклампсии. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(3):30–44. DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.30-44.
- Voronova OV, Milovanov AP, Mikhaleva LM. Integration approach to study placental vessels in preeclampsia. *Clinical and experimental morphology.* 2022;11(3):30–44 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.30-44.
50. Ehlers E, Talton OO, Schust DJ, Schulz LC. Placental structural abnormalities in gestational diabetes and when they develop: a scoping review. *Placenta.* 2021;116:58–66. DOI: 10.1016/j.placenta.2021.04.005.
51. Berceanu C, Tetileanu AV, Ofiteru AM, Bratila E, Mehedintu C, Voicu NL et al. Morphological and ultrasound findings in the placenta of diabetic pregnancy. *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(1):175–86. PMID: 29940626.
52. Szewczyk G, Pyzlak M, Klimkiewicz J, Smiertka W, Miedzińska-Maciejewska M, Szukiewicz D. Mast cells and histamine: do they influence placental vascular network and development in preeclampsia? *Mediators Inflamm.* 2012;2012:307189. DOI: 10.1155/2012/307189.
53. Taricco E, Radaelli T, Rossi G, Nobile de Santis MS, Bulfamante GP, Avagliano L et al. Effects of gestational diabetes on fetal oxygen and glucose levels in vivo. *BJOG.* 2009;116(13):1729–35. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2009.02341.x.
54. Altshuler G. Chorangiomas. An important placental sign of neonatal morbidity and mortality. *Arch Pathol Lab Med.* 1984;108(1):71–4. PMID: 6546343.
55. Thunbo MØ, Sinding M, Bogaard P, Korsager AS, Frøkjær JB, Østergaard LR et al. Postpartum placental CT angiography in normal pregnancies and in those complicated by diabetes mellitus. *Placenta.* 2018;69:20–5. DOI: 10.1016/j.placenta.2018.06.309.

### Информация об авторах

Марина Викторовна Шамаракова – кандидат медицинских наук, врач патологоанатомического отделения городской клинической больницы имени С.С. Юдина.

Наталья Викторовна Низяева – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Георгий Олегович Зайратьянц – кандидат медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением городской клинической больницы имени С.С. Юдина.

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

Ксения Александровна Артемьева – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Марина Геннадьевна Аксенова – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Вячеслав Витальевич Бочков – лаборант-исследователь лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Юлия Эдуардовна Доброхотова – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

### Author information

Marina V. Shamarakova – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, Pathology Department, S.S. Yudin City Clinical Hospital. <https://orcid.org/0000-0002-0972-4350>

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

Georgy O. Zayratyants – Cand. Sci. (Med.), Head of Pathology Department, S.S. Yudin City Clinical Hospital. <https://orcid.org/0000-0002-9265-5017>

Marina N. Boltovskaya – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Senior Researcher, Reproductive Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.  
<https://orcid.org/0000-0002-9751-2066>

Ksenia A. Artemeva – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Reproductive Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.  
<https://orcid.org/0000-0002-1014-752X>

Marina G. Aksenova – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Reproductive Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.  
<https://orcid.org/0000-0001-9215-6210>

Vyacheslav V. Bochkov – Laboratory Research Assistant, Reproductive Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.  
<https://orcid.org/0009-0005-0329-2277>

Yulia E. Dobrochotova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University.  
<https://orcid.org/0000-0001-6571-3448>

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 Center of Surgery”.  
<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

## Патогенез и морфогенез хронического асептического остеомиелита

*П.А. Доронина, В.В. Булгакова, С.Г. Раденска-Лоповок*

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

**Резюме.** Хронический абактериальный (рецидивирующий) остеомиелит – редкое аутовоспалительное заболевание опорно-двигательного аппарата неизвестной этиологии, описанное в 1972 году А. Гиде-оном и соавторами как подострый или хронический симметричный остеомиелит. Представлен обзор литературы патогенеза этой болезни. Показаны нарушение баланса про- и противовоспалительных цитокинов и его связь с остеолизом. Дано собственное наблюдение некроза и истончения костных балок в сочетании со склерозом межбалочных пространств, а также выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрации с большим количеством остеокластов. В связи с отсутствием патогномичных признаков подчеркнута необходимость клинико-морфологических сопоставлений и генетического исследования в процессе дифференциальной диагностики.

**Ключевые слова:** хронический асептический остеомиелит, хронический рецидивирующий остеомиелит, аутовоспалительные заболевания

**Для корреспонденции:** Стефка Господинова Раденска-Лоповок. E-mail: radenska@mail.ru

**Для цитирования:** Доронина П.А., Булгакова В.В., Раденска-Лоповок С.Г. Патогенез и морфогенез хронического асептического остеомиелита. Клини. эксп. морфология. 2024;13(2):14–19. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.14-19.

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

Статья поступила 05.06.2023. Получена после рецензирования 11.10.2023. Принята в печать 20.11.2023.

## Pathogenesis and morphogenesis of chronic nonbacterial osteomyelitis

*P.A. Doronina, V.V. Bulgakova, S.G. Radenska-Lopovok*

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Abstract.** Chronic nonbacterial (recurrent) osteomyelitis is a rare inflammatory disease of the musculoskeletal system with unknown etiology described in 1972 by A. Gidion et al. as subacute or chronic symmetrical osteomyelitis. This article reviews literature on pathogenesis and morphology of the disease and studies balance violation of pro- and anti-inflammatory cytokines and its association with osteolysis. Morphological manifestations in bone biopsies are given. We describe necrosis and thinning of trabeculae in combination with sclerosis of intertrabecular spaces and pronounced lymphohistiocytic infiltration with a large number of osteoclasts. Due to the absence of specific signs, the necessity of clinical and morphological correlations and genetic research in differential diagnosis is emphasized.

**Keywords:** chronic nonbacterial osteomyelitis, chronic recurrent osteomyelitis, autoinflammatory diseases

**Corresponding author:** Stefka G. Radenska-Lopovok. E-mail: radenska@mail.ru

**For citation:** Doronina P.A., Bulgakova V.V., Radenska-Lopovok S.G. Pathogenesis and morphogenesis of chronic nonbacterial osteomyelitis. Clin. exp. morphology. 2024;13(2):14–19 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.14-19.

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

Received 05.06.2023. Received in revised form 10.11.2023. Accepted 20.11.2023.

### Введение

Аутовоспалительные заболевания в отличие от классических аутоиммунных характеризуются повышенной активностью врожденного иммунитета, неспровоцированного системным воспалением, без аутореактивных Т-лимфоцитов или аутоантител. Воспалительный

процесс в основном обусловлен клетками и синтезом цитокинов врожденной иммунной системы [1]. Это относится и к такому заболеванию как хронический асептический (небактериальный) остеомиелит (ХАО). В связи с разнообразием неспецифических признаков, а иногда и слабо выраженных воспалитель-

ных изменений диагностика запаздывает или даже отсутствует.

Данное редкое аутовоспалительное заболевание опорно-двигательного аппарата неизвестной этиологии впервые описано в 1972 году А. Гидеоном и соавт. как подострый или хронический симметричный остеомиелит [2]. Авторы рассматривали это заболевание как гетерогенную группу болезней, в которую входят рецидивирующий мультифокальный остеомиелит, синдром SAPHO – synovitis, acne pustulosis, hyperostosis, osteomyelitis (синовит, акне пустулезное, гиперостоз, остеомиелит) [2]. Многие исследователи отметили, что у пациентов с ХАО могут присутствовать артрит смежных и отдаленных суставов и нарушение их функции. В 20% случаев проявляются поражения кожи (ладонно-подошвенный пустулез, псориаз, гангренозная пиодермия, синдром Свита), воспалительные заболевания кишечника (язвенный колит и болезнь Крона) [3–10]. Костные проявления характеризуются разнообразными признаками – от бессимптомного воспаления до множественных очагов лизиса костной ткани. При ревматических заболеваниях, сопутствующем энтезите, псориазическом артрите и воспалительных болезнях кишечника у детей возможно повышение уровня антинуклеарного фактора и HLA-B27-антигена в крови, а также фактора некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) в сыворотке крови. Иммунологические показатели остаются в пределах нормы [11].

Заболевание может сопровождаться склерозом костной ткани, патологическими переломами и неврологической симптоматикой. Иногда сильная хроническая боль существенно влияет на качество жизни и психосоциальное развитие пациентов. Патофизиология ХАО полностью не изучена, но несбалансированная экспрессия цитокинов и повышенная активация инфламмосом в моноцитах приводят к преобладанию провоспалительных цитокинов в крови, что способствует воспалению кости и активации остеокластов. Это ведет к лизису костной ткани [12–17].

В связи с отсутствием широко признанных диагностических критериев и биомаркеров «хронический асептический остеомиелит» остается диагнозом исключения. Интервал от появления первых симптомов до окончательного диагноза составляет у детей до 12 месяцев. Биопсия кости не выявляет специфического паттерна заболевания, но гистологическая диагностика может потребоваться в рефрактерных к лечению монофокальных и атипичных случаях, а также для дифференциальной диагностики ХАО. Круг дифференциально-диагностических заболеваний включает саркому Юинга, остеосаркому, метастазы опухолей в кости, остеобластому, лейкемию, лимфому, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, инфекционный остеомиелит, боль растущей кости, фибродисплазию и т.д.

### Эпидемиология

Статистические данные о распространенности ХАО не отражают реальной картины заболеваемости.

По некоторым данным, заболеваемость составляет 4:1 000 000 детей, но показатель непрерывно растет по мере получения новых данных о патологии. Первые симптомы заболевания появляются в возрасте от 7 до 12 лет. Чаще болеют дети, но отмечены случаи и у взрослых [17–20]. Лица женского пола по сравнению с мужским заболевают чаще (примерно в 2 раза). Наибольшая частота спорадических ХАО наблюдается в европейских странах. Некоторые ученые связывают такое явление с большей осведомленностью европейских специалистов о данном заболевании [3, 20, 21].

### Патогенез

Патогенез ХАО изучен недостаточно. Многими авторами отмечено, что основная причина заключается в нарушении баланса между про- и противовоспалительными цитокинами в моноцитах пациента. Это приводит к чрезмерной активации остеокластов с остеолитическим разрушением кости [3–6, 13, 18, 19, 22–29]. Некоторые гены способны менять функциональную активность клеток через систему транскрипционных факторов. S.R. Hofmann et al. и D.Y. Zhao et al. выявили, что снижается интерлейкин-10 (IL-10) совместно со снижением синтеза IL-19. Эти цитокины входят в кластер цитокинов, регулируемых хромосомой 1q32 [12, 19, 24, 26–28, 30]. Сниженная экспрессия IL-10 и IL-19 способствует усилению активации инфламмосомы NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3) за счет отсутствия ингибирования белкового комплекса. После активации инфламмосомы каспаза-1 расщепляет про-IL-1 $\beta$  до активного IL-1 $\beta$ , который запускает экспрессию TNF- $\alpha$  и IL-6 [21, 22, 24–29]. В норме в ответ на стимуляцию толл-подобного рецептора 4 (TLR4) происходит активация митогенактивируемых протеинкиназ (MAPK). К ним относятся внеклеточные киназа-1 и киназа-2 (ERK1/2). Нарушение их активации приводит к снижению фосфорилирования гистона H3S10 на промоторе IL-10 и невозможности нормального функционирования сигнального белка фактора транскрипции (SP-1). В результате нарушается процесс связывания с промотором IL-10 [3, 22, 24–29, 31, 32].

Многие авторы в своих работах отмечают, что провоспалительные цитокины повышают аффинность рецепторов RANK (receptor activator of nuclear factor  $\kappa$  B) к их лиганду RANKL (receptor activator of nuclear factor  $\kappa$  B ligand) на клетках, являющихся предшественниками остеокластов, что приводит к усилению процесса разрушения кости [3, 6, 12, 13, 18, 21, 22].

Наиболее распространенными локализациями патологического процесса являются метафизы трубчатых костей (74%), позвоночник (46%), кости таза (38%), ключицы (25%), нижняя челюсть (18%), грудина (8%) и ребра (8%) [5].

Часто ХАО характеризуется незаметным началом. Поражения могут быть монофокальными и мультифокальными, причем во втором случае асимметрия наблюдается в 60% случаев [21]. У пациентов могут

появиться легкие и самоограниченные монофокальные поражения (хронический небактериальный остеомиелит), а иногда – хронически активные или рецидивирующие мультифокальные очаги (хронический рецидивирующий небактериальный остеомиелит) [19].

### Клинические проявления

Наблюдаются типичные признаки воспаления: боль в пораженных костях (причем чаще она усиливается ночью), отек, повышение температуры. Покраснение кожи в месте поражения отмечается не всегда. Также типичны для ХАО жалобы на нарастание и затухание болей. В некоторых случаях бывают бессимптомные поражения тел позвонков [7, 14, 19].

Прогноз может быть благоприятным (саморазрешение за период от нескольких месяцев до нескольких лет). Описаны осложнения разной степени тяжести: от легкой до инвалидизирующей. При этом наблюдаются асимметрия длины конечностей, кифоз, хроническая спондилоартропатия, коллапс позвонков и задержка роста из-за раннего закрытия ростовых хрящей [4, 7, 33–36]. Литические поражения, характерные для ХАО, могут привести к угловым деформациям, потере длины и патологическим переломам костей кисти [4, 8, 33–35]. Хроническое воспаление в зоне метафиза вызывает изменение формы длинных костей за счет ее утолщения и процессов склерозирования, что является характерным диагностическим признаком при ХАО [37]. На поздних стадиях ХАО на рентгенограммах наряду с лизисом кости могут наблюдаться очаги склероза и гиперостоза. Специфические изменения для раннего ХАО не выявлены [19, 37].

Согласно многим исследованиям, лабораторные данные демонстрируют у пациентов с ХАО повышенные маркеры воспаления: С-реактивный белок и скорость оседания эритроцитов (от 19 до 90% в разных исследованиях) [3–5, 7, 18, 19, 21, 22]. У пациентов с ХАО лейкоцитоз был описан в 14–20% случаев. Возможно наличие антиядерных антител (ANA; 8–38%) и HLA-B27 (2–25%), также наблюдается повышенный уровень цитокинов и/или хемокинов в сыворотке крови [19]. У части пациентов уровни *TNF-α* и *IL-6* в сыворотке могут быть слегка повышены [3, 12, 18–20, 22, 24–27, 38].

Золотым стандартом ранней диагностики ХАО является МРТ всего тела. Данный метод позволяет получить информацию о распределении поражений. МРТ всего тела может быть выполнена для проверки любых скрытых поражений, особенно в позвоночнике [8, 18, 39, 40].

Важное место в диагностике ХАО занимает биопсия. Проведение биопсии костной ткани необходимо и должно быть выполнено всем пациентам с целью исключения наличия злокачественных опухолей, таких как гистиоцитоза, саркома Юинга, остеосаркома, лимфома, лейкемии, а также инфекционных заболеваний [7].

### Морфологические признаки

В очаге поражения отмечается лимфоцитарная инфильтрация, причем состав инфильтрата зависит от стадии развития заболевания: на первых этапах это в основном врожденные иммунные клетки, включая нейтрофилы и моноциты. Тем не менее микробиологическое исследование посева не выявляет возбудитель. По нашим данным, длительное течение характеризуется наличием большого количества лимфоцитов, включая плазматические клетки. Выявленные нами изменения согласуются с результатами исследований D.Y. Zhao et al., Y.G. Karunaratne et al. и A. Taddio [4, 7, 21, 41].

Имеет место дезорганизация костных балок, а именно истончение и уменьшение их количества. Нами отмечены нарушение конфигурации балок и остеолиз. Межбалочные пространства лишены костного мозга. Эти признаки описаны также другими авторами [2, 31, 42–44]. При изучении морфологии пораженной костной ткани можно увидеть явления фиброза и склероза.

Также возможно наличие участков некроза губчатой кости с периостальной реакцией и воспалением прилегающих мягких тканей. Сосуды в очаге воспаления полнокровны. В очаге активного воспаления выявляются гигантские многоядерные клетки типа остеокластов. При хроническом течении заболевания наблюдаются явления жировой инволюции костного мозга.

Гистологические данные ХАО не являются патогномоничными и представляют собой типичную картину хронического воспаления. Однако патологоанатом может заподозрить это заболевание и обсуждать его с клиницистами. Диагностика основана на совокупности результатов клинико-морфологических и лабораторных исследований.

Для диагностики ХАО необходимо проверить воспалительные изменения в костной ткани и провести бактериологическое исследование крови и содержимого из очага деструкции. Биопсия костной ткани важна для исключения онкологических и инфекционных заболеваний, таких как туберкулез и грибковая инфекция, которые могут имитировать клиническую картину ХАО [11].

Выявленные нами морфологические изменения согласуются с данными других авторов [3, 10, 21, 45]. Особую трудность в диагностике составляют случаи монофокального, а также рецидивирующего поражения.

В связи с выраженным неспецифическим воспалением лекарственными средствами первого выбора являются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВС). Их применение направлено на коррекцию чрезмерной активности остеокластов за счет снижения продукции простагландинов и уменьшение болевого синдрома [5, 7, 45]. По данным Eurofever International Registry, у 91% пациентов после терапии НПВС достигается частичная или полная ремиссия. Эффективность НПВС оценивается в 43–83% [2, 4, 7, 10]. Обзор данной литературы доказал обоснованность назначения

базисных лечебных средств. Препаратами второго выбора являются кортикостероиды, действие которых направлено на снижение NFκB- (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) зависимой экспрессии провоспалительных цитокинов [2, 4, 46]. Помимо этого в терапии могут использоваться рекомбинантные антагонисты рецептора IL-1 или антитела против IL-1. Также применяются блокаторы рецепторов RANK [5, 7, 21, 25 37, 47].

### Заключение

Хронический асептический остеомиелит и его более тяжелая форма – хронический рецидивирующий мультифокальный остеомиелит являются аутовоспалительными заболеваниями, поражающими костную ткань из-за нарушения регуляции экспрессии провоспалительных цитокинов и патологической активации остеокластов. В настоящее время «хронический асептический остеомиелит» остается диагнозом исключения ввиду отсутствия специфических проявлений, которые могли бы помочь в диагностике. Гистологическое исследование очага поражения способствует выявлению неспецифического абактериального воспаления костной ткани. Сочетание некроза костных балок и склероза межбалочных пространств, а также клинико-лабораторных проявлений помогает в дифференциальной диагностике. Лечение в значительной степени основано на ретроспективных данных и включает в себя использование противовоспалительных средств (нестероидные противовоспалительные препараты, кортикостероиды) и бифосфонатов. Изучение молекулярных звеньев патогенеза позволит сформировать более полное понимание развития болезни, на основе которого будет возможно внедрение новых методов диагностики и лечения.

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

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

### Литература/References

- Ziegeler K, Eshed I, Diekhoff T, Hermann KG. Imaging of joints and bones in autoinflammation. *J Clin Med*. 2020;9(12):4074. DOI: 10.3390/jcm9124074.
- Giedion A, Holthusen W, Masel LF, Vischer D. Subacute and chronic “symmetrical” osteomyelitis. *Ann Radiol (Paris)*. 1972;15(3):329–42. PMID: 4403064.
- Hofmann SR, Kapplusch F, Girschick HJ, Morbach H, Pablik J, Ferguson PJ et al. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO): presentation, pathogenesis, and treatment. *Curr Osteoporos Rep*. 2017;15(6):542–54. DOI: 10.1007/s11914-017-0405-9.
- Karunaratne YG, Davies J, Carty CP, Graham D. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis of the hand: a rare pediatric condition. *Hand (NY)*. 2021;16(2):213–22. DOI: 10.1177/1558944719846599.
- Gicchino MF, Diplomatico M, Granato C, Capalbo D, Marzuillo P, Olivieri AN et al. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: a case report. *Ital J Pediatr*. 2018;44(1):26. DOI: 10.1186/s13052-018-0463-3.
- Ferguson PG, El-Shanti H. Majeed syndrome: a review of the clinical, genetic and immunologic features. *Biomolecules*. 2021;11(3):367. DOI: 10.3390/biom11030367.
- Taddio A, Ferrara G, Insalaco A, Pardeo M, Gregori M, Finetti M et al. Dealing with chronic non-bacterial osteomyelitis: a practical approach. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2017;15(1):87. DOI: 10.1186/s12969-017-0216-7.
- Tsitsami E, Dermentzoglou V, Moschovi M, Chrousos GP. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis with contaminant futures of juvenile idiopathic arthritis. *Case Rep Rheumatol*. 2011;2011:210795. DOI: 10.1155/2011/210795.
- Girschick HJ, Zimmer C, Klaus G, Darge K, Dick A, Morbach H. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: what is it and how should it be treated? *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007;3(12):733–8. DOI: 10.1038/ncprheum0653.
- Girschick H, Finetti M, Orlando F, Schalm S, Insalaco A, Ganser G et al. The multifaceted presentation of chronic recurrent multifocal osteomyelitis: a series of 486 cases from the Eurofever international registry. *Rheumatology (Oxford)*. 2018;57(7):1203–1211. DOI: 10.1093/rheumatology/key058.
- Копчак О.Л., Костик М.М., Мушкин А.Ю. Хронический небактериальный («стерильный») остеомиелит в практике детского ревматолога, современные подходы к диагностике и лечению: обзор литературы и анализ собственных данных. *Вопросы современной педиатрии*. 2016;15(1):33–44. DOI: 10.15690/vsp.v15i1.1498.
- Копчак О.Л., Костик М.М., Мушкин А.Ю. Chronic non-bacterial (“sterile”) osteomyelitis in the practice of pediatric rheumatologist, the contemporary diagnostic and treatment approaches: literature review and own data analysis. *Voprosy sovremennoi pediatrii = Current Pediatrics*. 2016;15(1):33–44 (In Russ.). DOI: 10.15690/vsp.v15i1.1498.
- Hofmann SR, Kapplusch F, Mäbert K, Hedrich CM. The molecular pathophysiology of chronic non-bacterial osteomyelitis (CNO) – a systematic review. *Mol Cell Pediatr*. 2017;4(1):7. DOI: 10.1186/s40348-017-0073-y.
- Hofmann SR, Schnabel A, Rosen-Wolf A, Morbach H, Girschick HJ, Hedrich CM. Chronic nonbacterial osteomyelitis: pathophysiological concepts and current treatment strategies. *J Rheumatol*. 2016;43(11):1956–64. DOI: 10.3899/jrheum.160256.
- Hedrich CM, Hahn G, Girschick HJ, Morbach H. A clinical and pathomechanistic profile of chronic nonbacterial osteomyelitis/chronic recurrent multifocal osteomyelitis and challenges facing the field. *Expert Rev Clin Immunol*. 2013;9(9):845–54. DOI: 10.1586/1744666X.2013.824670.
- Hedrich CM, Hofmann SR, Pablik J, Morbach H, Girschick HJ. Autoinflammatory bone disorders with special focus on chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO). *Pediatr Rheumatol Online J*. 2013;11(1):47. DOI: 10.1186/1546-0096-11-47.
- Hofmann SR, Roesen-Wolff A, Hahn G, Hedrich CM. Update: cytokine dysregulation in chronic nonbacterial osteomyelitis (CNO). *Int J Rheumatol*. 2012;2012:310206. DOI: 10.1155/2012/310206.

17. *Morbach H, Hedrich CM, Beer M, Girschick HJ.* Autoinflammatory bone disorders. *Clin Immunol.* 2013;147(3)12:185–96. DOI: 10.1016/j.clim.2012.12.012.
18. *Kim SM, Lee SK.* Chronic non-bacterial osteomyelitis in the jaw. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2019;45(2):68–75. DOI: 10.5125/jkaoms.2019.45.2.68.
19. *Zhao DY, McCann L, Hahn G, Hedrich CM.* Chronic nonbacterial osteomyelitis (CNO) and chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO). *J Transl Autoimmun.* 2021;4:100095. DOI: 10.1016/j.jtauto.2021.100095.
20. *Skrabl-Baumgartner A, Singer P, Greimel T, Gorkiewicz G, Hermann J.* Chronic non-bacterial osteomyelitis: a comparative study between children and adults. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2019;17(1):49. DOI: 10.1186/s12969-019-0365-5.
21. *Koryllou A, Mejri M, Theodoropoulou K, Hofer M, Carlo-magno R.* Chronic nonbacterial osteomyelitis in children. *Children (Basel).* 2021;8(7):551. DOI: 10.3390/children8070551.
22. *Hedrich CM, Morbach H, Reiser C, Girschick HJ.* New insights into adult and paediatric chronic non-bacterial osteomyelitis CNO. *Curr Rheumatol Rep.* 2020;22(9):52. DOI: 10.1007/s11926-020-00928-1.
23. *Young S, Sharma N, Lee JH, Chitu V, Neumeister V, Sohr E et al.* Mast cells enhance sterile inflammation in chronic nonbacterial osteomyelitis. *Dise Model Mech.* 2019;12(8):dmm040097. DOI: 10.1242/dmm.040097.
24. *Hedrich CM, Bream JH.* Cell type-specific regulation of IL-10 expression in inflammation and disease. *Immunol Res.* 2010;47(1-3):185–206. DOI: 10.1007/s12026-009-8150-5.
25. *Hofmann SR, Kubasch AS, Ioannidis C, Rösen-Wolff A, Girschick HJ, Morbach H et al.* Altered expression of IL-10 family cytokines in monocytes from CRMO patients result in enhanced IL-1 $\beta$  expression and release. *Clin Immunol.* 2015;161(2):300–7. DOI: 10.1016/j.clim.2015.09.013.
26. *Митрофанов В.Н., Живцов О.П., Орлинская Н.Ю., Давыденко Д.В.* Экспериментальная модель хронического очагового остеомиелита для исследований *in vivo*. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(1): 71–77. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.71-77.  
*Mitrofanov VN, Zhivotov OP, Orlinskaya NYu, Davydenko DV.* Experimental model of chronic focal osteomyelitis for *in vivo* studies. *Clinical and experimental morphology.* 2021;10(1):71–77 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.71-77.
27. *Hofmann SR, Morbach H, Schwarz T, Rösen-Wolff A, Girschick HJ, Hedrich CM.* Attenuated TLR4/MAPK signaling in monocytes from patients with CRMO results in impaired IL-10 expression. *Clin Immunol.* 2012;145(1):69–76. DOI: 10.1016/j.clim.2012.07.012.
28. *Hofmann SR, Schwarz T, Möller JC, Morbach H, Schnabel A, Rösen-Wolff A et al.* Chronic non-bacterial osteomyelitis is associated with impaired Sp1 signaling, reduced IL10 promoter phosphorylation, and reduced myeloid IL-10 expression. *Clin Immunol.* 2011;141(3):317–27. DOI: 10.1016/j.clim.2011.08.012.
29. *Hofmann SR, Rösen-Wolff A, Tsokos GC, Hedrich CM.* Biological properties and regulation of IL-10 related cytokines and their contribution to autoimmune disease and tissue injury. *Clin Immunol.* 2012;143(2):116–27. DOI: 10.1016/j.clim.2012.02.005.
30. *Cox AJ, Ferguson PJ.* Update on the genetics of nonbacterial osteomyelitis in humans. *Curr Opin Rheumatol.* 2018;30(5):521–5. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000530.
31. *Ferguson PJ, Chen S, Tayeh MK, Ochoa L, Leal SM, Pelet A et al.* Homozygous mutations in LPIN2 are responsible for the syndrome of chronic recurrent multifocal osteomyelitis and congenital dyserythropoietic anaemia (Majeed syndrome). *J Med Genet.* 2005;42(7):551–7. DOI: 10.1136/jmg.2005.030759.
32. *Greenhill CJ, Jones GW, Nowell MA, Newton Z, Harvey AK, Moideen AN et al.* Interleukin-10 regulates the inflammasome-driven augmentation of inflammatory arthritis and joint destruction. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(4):419. DOI: 10.1186/s13075-014-0419-y.
33. *Borzutzky A, Stern S, Reiff A, Zurakowski D, Steinberg EA, Dedeoglu F et al.* Pediatric chronic nonbacterial osteomyelitis. *Pediatrics.* 2012;130(5):e1190–7. DOI: 10.1542/peds.2011-3788.
34. *Roderick MR, Shah R, Rogers V, Finn A, Ramanan AV.* Chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO) – advancing the diagnosis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2016;14(1):47. DOI: 10.1186/s12969-016-0109-1.
35. *Girschick HJ, Raab P, Surbaum S, Trusen A, Kirschner S, Schneider P et al.* Chronic multifocal non-bacterial osteomyelitis in children. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(2):279–85. DOI: 10.1136/ard.2004.023838.
36. *Roderick MR, Sen ES, Ramanan AV.* Chronic recurrent multifocal osteomyelitis in children and adults: current understanding and areas for development. *Rheumatology (Oxford).* 2018; 57(1):41–8. DOI: 10.1093/rheumatology/kex066.
37. *Ковалинин В.В., Клещевникова К.Ю., Джанчатовна Б.А.* Лучевая диагностика остеомиелита. Русский электронный журнал лучевой диагностики. 2014;4(3):66–77. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22934283> (получено 15.05.2023).  
*Kovalinin VV, Kleshevnikova KYu, Dzhanchatova BA.* The radiology of osteomyelitis. *Russian Electronic Journal of Radiology.* 2014;4(3):66–77 (In Russ.). <https://elibrary.ru/item.asp?id=22934283>.
38. *Scianaro R, Insalaco A, Bracci Laudiero L, De Vito R, Pezzullo M, Teti A et al.* Deregulation of the IL1beta axis in chronic recurrent multifocal osteomyelitis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2014;12:30. DOI: 10.1186/1546-0096-12-30.
39. *Padwa BL, Dentino K, Robson CD, Woo SB, Kurek K, Resnick CM.* Pediatric chronic nonbacterial osteomyelitis of the jaw: clinical, radiographic, and histopathologic features. *J Oral Maxillofac Surg.* 2016;74(12):2393–402. DOI: 10.1016/j.joms.2016.05.021.
40. *Deplano L, Piga M, Porcu M, Stecco A, Suri JS, Mannelli L et al.* Whole-body MRI in rheumatology: major advances and future perspectives. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(10):1770. DOI: 10.3390/diagnostics11101770.
41. *Zhao Y, Ferguson PJ.* Chronic non-bacterial osteomyelitis and autoinflammatory bone diseases. *Clin Immunol.* 2020;216: 108458. DOI: 10.1016/j.clim.2020.108458.
42. *Kroner J, Kovtun A, Kemmler J, Messmann JJ, Strauss G, Seitz S et al.* Mast cells are critical regulators of bone fracture-induced inflammation and osteoclast formation and activity. *J Bone Miner Res.* 2017;32(12):2431–44. DOI: 10.1002/jbmr.3234.

43. Fritz J, Tzaribatchev N, Claussen CD, Carrino JA, Horger MS. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: comparison of whole-body MR imaging with radiography and correlation with clinical and laboratory data. *Radiology*. 2009;252(3):842–51. DOI: 10.1148/radiol.2523081335.
44. Costi S, Germinario S, Pandolfi M, Pellico MR, Amati A, Gattinara M et al. Chronic nonbacterial osteomyelitis and inflammatory bowel disease: a literature review-based cohort. *Children (Basel)*. 2023;10(3):502. DOI: 10.3390/children10030502.
45. Чичко А.М., Башлакова А.Н., Бегун А.Н., Бусовцова И.А., Бостынец А.А., Крылова-Олефиренко А.В. Сложности диагностики хронического небактериального остеомиелита у детей. *Медицинский журнал*. 2022;4(82):126–132. DOI: 10.51922/1818-426X.2022.4.126.
- Chichko AM, Bashlakova AN, Begun AN, Busovcova IA, Bostynec AA, Krylova-Olefirrenko AV. Difficulties of the diagnosis of chronic non-bacterial osteomyelitis in children. *Medical Journal*. 2022;4(82):126–132 (In Russ.). DOI: 10.51922/1818-426X.2022.4.126.
47. Kostik MM, Kopchak OL, Chikova IA, Isupova EA, Mushkin AY. Comparison of different treatment approaches of pediatric chronic non-bacterial osteomyelitis. *Rheumatol Int*. 2019;39(1):89–96. DOI: 10.1007/s00296-018-4151-9.

### Информация об авторах

Полина Андреевна Доронина – студентка 4-го курса Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Варвара Викторовна Булгакова – студентка 4-го курса Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Стефка Господинова Раденска-Лоповок – доктор медицинских наук, профессор, профессор Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

### Author information

Polina. A. Doronina – 4<sup>th</sup>-year Student, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0009-0004-4176-8793>

Varvara V. Bulgakova – 4<sup>th</sup>-year Student, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0002-4578-6874>

Stefka G. Radenska-Lopovok – Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0002-4669-260X>

## Количественные изменения ферритинсодержащей глии в структурах черного вещества головного мозга при старении и болезни Паркинсона

В.Н. Сальков, Д.Н. Воронков, В.С. Сухоруков

ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва, Россия

**Резюме. Введение.** При старении и болезни Паркинсона (БП) в черном веществе (ЧВ, *substantia nigra*) головного мозга накапливается железо. Тем не менее об изменении при старении и БП метаболизма ферритина – протеина, связывающего железо в клетках ЧВ, сведений недостаточно. Цель настоящего исследования – количественно оценить изменение числа Н- и L-ферритинсодержащей глии в структурах ЧВ головного мозга человека при физиологическом старении и БП.

**Материалы и методы.** На аутопсийном материале головного мозга пациентов с БП (пять случаев), людей зрелого и пожилого возраста (шесть случаев), старческого возраста (пять случаев) методами иммуногистохимии и световой микроскопии исследовали локализацию тяжелой (Н) и легкой (L) цепей ферритина в структурах ЧВ головного мозга. При помощи компьютерной морфометрии определяли плотность расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии в изучаемых структурах.

**Результаты.** Установлено, что во всех случаях ферритин накапливался преимущественно в ретикулярной части ЧВ в непигментированных нейронах и клетках нейроглии. Плотность расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ мозга пациентов с БП и людей старческого возраста по сравнению с людьми зрелого и пожилого возраста была статистически значимо выше. Отличия между группами пациентов с БП и людьми старческого возраста обнаружены только по показателю плотности расположения Н-ферритинсодержащей нейроглии.

**Заключение.** Выявленные между возрастными группами отличия по показателям плотности расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии характеризуют их увеличение с возрастом и соответствуют накоплению железа в ЧВ при физиологическом старении. Отличия, продемонстрированные по этим же показателям между пациентами с БП и пациентами из обеих групп сравнения, характеризуют дисбаланс процессов накопления и окисления железа в ферритинсодержащих глиальных клетках у данной категории пациентов.

**Ключевые слова:** старение, болезнь Паркинсона, черное вещество, иммуногистохимия, морфометрия, ферритин, нейроглия

**Для корреспонденции:** Владимир Николаевич Сальков. E-mail: vla-salkov@yandex.ru

**Для цитирования:** Сальков В.Н., Воронков Д.Н., Сухоруков В.С. Количественные изменения ферритинсодержащей глии в структурах черного вещества головного мозга при старении и болезни Паркинсона. Клин. эксп. морфология. 2024;13(2):20–25. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.20-25.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Научного центра неврологии (№ ААА-А17-122041800156-8).

Статья поступила 14.08.2023. Получена после рецензирования 15.10.2023. Принята в печать 20.11.2023.

## Quantitative changes in ferritin-containing glia in the structures of the substantia nigra in aging and Parkinson's disease

V.N. Salkov, D.N. Voronkov, V.S. Sukhorukov

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** Iron accumulates in the substantia nigra (SN) in aging and Parkinson's disease (PD). However, there is a distinct lack of information about the changes in the metabolism of ferritin—an iron-binding protein in nigral cells—in aging and PD. The aim of the study was to quantify the changes in the number of H- and L-ferritin glia in the SN structures in aging and PD.

**Materials and methods.** We examined autopsies of PD patients (5 cases), mature and elderly people (6 cases), as well as senile people (5 cases). Immunohistochemistry and light microscopy were used to study the location of H- and L-ferritin chains in the SN structures. The density of H- and L-ferritin-containing neuroglia was determined with computer morphometry.

**Results.** In all cases, ferritin was accumulated predominantly in the reticular part of the SN in unpigmented neurons and neuroglial cells. The density of H- and L-ferritin-containing neuroglia in the SN of PD patients and senile people was significantly higher compared to that in mature and elderly people. The same differences between the groups of PD patients and elderly people were found only for the density of H-ferritin-containing neuroglia.

**Conclusion.** The differences revealed between the age groups in the density of H- and L-ferritin-containing neuroglia characterize their increase with age and correspond to the accumulation of iron in the SN during aging. The differences revealed with the same parameters between patients with PD and mature, elderly, and senile patients characterize the imbalance of iron accumulation and oxidation processes in ferritin-containing glial cells of patients with PD.

**Keywords:** aging, Parkinson's disease, substantia nigra, immunohistochemistry, morphometric, ferritin, neuroglia

**Corresponding author:** Vladimir N. Salkov. E-mail: vla-salkov@yandex.ru

**For citation:** Salkov V.N., Voronkov D.N., Sukhorukov V.S. Quantitative changes in ferritin-containing glia in the structures of the substantia nigra in aging and Parkinson's disease. Clin. exp. morphology. 2024;13(2):20–25 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.20-25.

**Funding.** The study was carried out within the framework of State Assignment to Research Center of Neurology (No. AAA-A17-122041800156-8).

**Received** 14.08.2023. **Received in revised form** 15.10.2023. **Accepted** 20.11.2023.

## Введение

Накопление соединений железа в компактной части черного вещества (ЧВ, *substantia nigra*) головного мозга является одним из основных морфохимических признаков болезни Паркинсона (БП) [1] – ассоциированного с пожилым возрастом нейродегенеративного заболевания [2], которым в мире страдают свыше 8,5 миллиона человек [3]. Вместе с тем указанный морфологический признак характерен не только для БП, его выявляют и при физиологическом старении [4], но при БП в черном веществе железа накапливается вдвое больше, чем у пожилых людей того же возраста, не имеющих неврологической симптоматики [1].

Железо в пигментированных нейронах компактной части ЧВ связывается с нейромеланином, а в непигментированных нейронах и клетках глии (преимущественно в олигодендроцитах и микроглии) с ферритином – белком, содержащим переменное количество двух типов полипептидных цепей: тяжелой (H) и легкой (L) [5]. H-цепь является ферроксидазным центром, в котором двухвалентная форма железа (II) окисляется до его трехвалентной формы (III), в то время как L-цепи ферритина отводят роль хранилища железа. Другие функции глиальных форм ферритина в обмене негемового железа в нервной ткани подробно не изучены, и их роль в патогенезе БП до конца не выяснена [6]. В то же время в литературе описаны случаи накопления ферритина в ЧВ при физиологическом старении [7], тогда как по вопросу его накопления в этом же образовании головного мозга при БП единого мнения нет. Согласно одним данным, при БП концентрация ферритина в ЧВ уменьшается [8], согласно другим, она существенно не изменяется [9]. В связи с изложенным выше целью настоящей работы состояла в том, чтобы количественно оценить изменение числа H- и L-ферритинсодержащей

глии в структурах ЧВ головного мозга человека при физиологическом старении и БП.

## Материалы и методы

Исследовали аутопсийный материал головного мозга пациентов с БП, умерших от интеркуррентных заболеваний в возрасте 57, 60, 61, 63 и 70 лет (пять случаев: два мужчины и три женщины). Во всех случаях прижизненно была диагностирована смешанная форма БП. Группы сравнения были представлены аутопсийным материалом головного мозга людей второго периода зрелого и пожилого возраста (от 48 и до 75 лет), у которых при жизни не выявляли неврологической симптоматики, – группа I (шесть случаев: три мужчины и три женщины), а также старческого возраста (старше 75 лет) – группа II (пять случаев: два мужчины и три женщины). Все этапы исследования соответствовали законодательству Российской Федерации и были одобрены локальным этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 26/2022 от 20.05.2022).

Аутопсийный материал фиксировали в 4% растворе формалина, подвергали стандартной гистологической обработке и заключали в парафиновые блоки, которые на уровне среднего мозга раскладывали на серии фронтальных срезов толщиной 10 мкм. Для выявления H- и L-цепей ферритина проводили иммуногистохимическую реакцию с использованием первичных антител к этим белкам: кроличьи рекомбинантные моноклональные антитела к H-цепи ферритина (ab75972, Abcam, Великобритания) и мышинные моноклональные антитела к L-цепи ферритина (ab201975, Abcam, Великобритания). Для выявления продуктов реакции применяли вторичные антитела из набора Sigma EXTRA-3 (Sigma-Aldrich, США) и 3,3-диаминобензи-

дин (Acros Organics BVBA, Бельгия). Срезы дополнительно окрашивали гематоксилином для определения клеточных ядер.

Локализацию обеих цепей ферритина в клеточных структурах ЧВ оценивали под микроскопом Leica DMLB (Leica Microsystems, Германия), оснащенным цифровой фотокамерой и программным обеспечением для обработки и анализа изображений Leica QWin (Leica Microsystems, Германия). Плотность расположения клеток нейроглии, содержавших Н- и L-цепи ферритина, в структурах ЧВ головного мозга подсчитывали, ориентируясь на их морфологические признаки и определяя их число в поле зрения микроскопа ( $\times 400$ ), выводимого на монитор компьютера. Площадь поля зрения микроскопа пересчитывали на площадь, равную  $0,01 \text{ мм}^2$  гистологического препарата, используя программу анализа изображений. В каждом случае исследовали не менее 30 полей зрения.

Статистическую обработку полученных количественных данных проводили при помощи программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Различия между выборками по показателям плотности расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии устанавливали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), апостериорный анализ для проверки равенства средних значений между выборками проводили, используя метод группирования выборок с наименее значимой разницей, – LSD-тест. Пороговая величина  $\alpha$ -ошибки составляла  $0,05$ .

## Результаты

В области среднего мозга ЧВ располагалось в виде тяжа, который залегал между красным ядром и основанием ножек мозга и разделялся на две части – редкоклеточную ретикулярную и густоклеточную компактную. Клетки, содержащие Н- (рис. 1) и L-цепи ферритина (рис. 2), выявляли преимущественно в ретикулярной части ЧВ во всех случаях как в контрольных группах, так и в группе БП. Они были представлены непигментированными нейронами и клетками нейроглии. В непигментированных нейронах обе цепи ферритина обнаруживали в виде диффузного окрашивания цитоплазмы. В клетках нейроглии Н-цепь ферритина визуализировали в виде ободка, охватывающего ядро, тогда как L-цепь выявляли также и в отростках микроглии.

Методами компьютерной морфометрии обнаружили, что показатель плотности расположения Н-ферритинсодержащей нейроглии у пациентов с БП и в группе сравнения II был существенно выше, чем у людей в группе сравнения I (табл.). Он превосходил аналогичный показатель в группе I: у пациентов с БП на 62%, а у людей группы сравнения II на 45%. Кроме того, отметили небольшое, но статистически значимое увеличение этого показателя у пациентов с БП по сравнению с людьми из группы сравнения II (на 11%).

Сопоставление выборочных значений плотности расположения L-ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ между исследуемыми группами продемонстри-

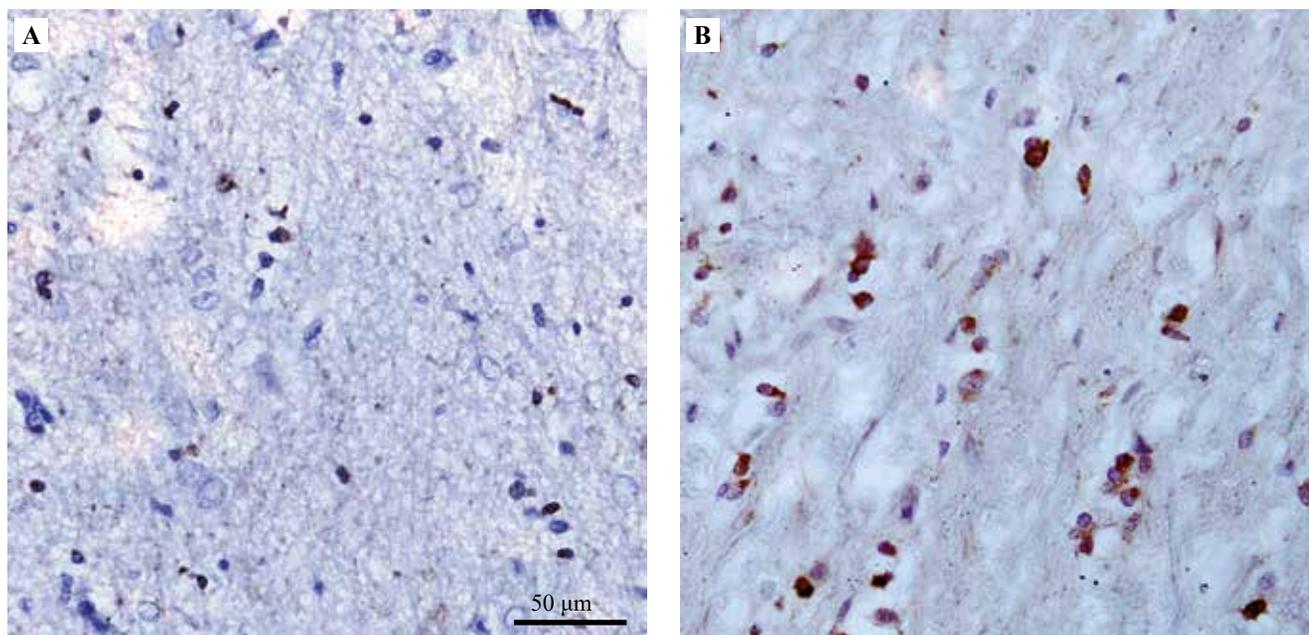


Рис. 1. Н-ферритинсодержащая глия в ретикулярной части черного вещества головного мозга (окрашена в коричневый цвет). А – у человека, не имевшего при жизни неврологической симптоматики, 60 лет, В – у пациента с болезнью Паркинсона, 57 лет. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Н-ферритину, докрасивание гематоксилином,  $\times 400$ , масштабная линейка 50 мкм

Fig. 1. H-ferritin-containing glia in the substantia nigra pars reticulata (stained brown). А – the brain of the 60-year-old man with no neurological antemortem symptoms, В – the brain of the 57-year-old patient with Parkinson's disease. IHC assay with antibodies to H-ferritin, hematoxylin stain,  $\times 400$ , scale bar 50  $\mu\text{m}$

ровало статистически значимые отличия по этому показателю между группой пациентов с БП и группой сравнения I, а также между группами сравнения I и II (табл.). В обеих группах показатель плотности расположения L-ферритинсодержащей нейроглии был выше,

чем в группе сравнения I: у пациентов с БП на 53%, а у людей группы сравнения II на 49%. Вместе с тем мы не выявили существенных отличий по этому показателю между группой пациентов с БП и группой сравнения II (табл.).

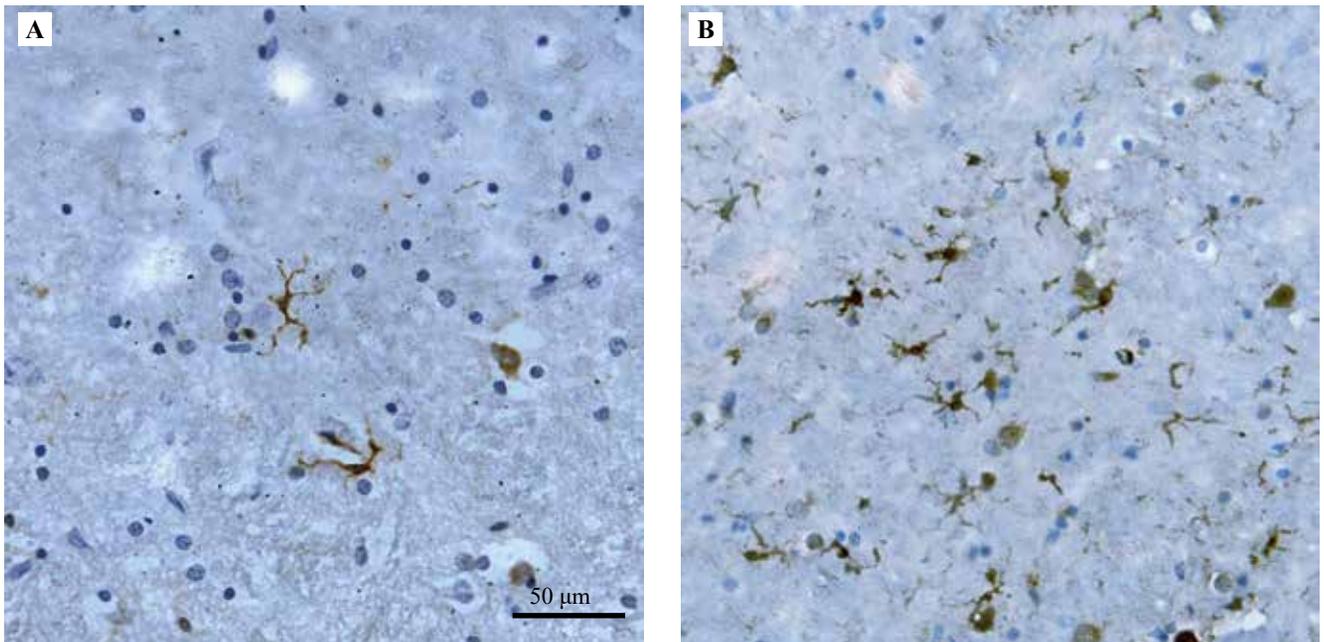


Рис. 2. L-ферритинсодержащая глия в ретикулярной части черного вещества головного мозга (окрашена в коричневый цвет). А – у человека, не имевшего при жизни неврологической симптоматики, 61 год, В – у пациента с болезнью Паркинсона, 60 лет. Иммуногистохимическая реакция с антителами к L-ферритину, докрасивание гематоксилином,  $\times 400$ , масштабная линейка 50 мкм

Fig. 2. L-ferritin-containing gliosis in the substantia nigra pars reticulata (stained brown). А – the brain of the 61-year-old man with no neurological antemortem symptoms, В – the brain of the 60-year-old patient with Parkinson's disease. IHC assay with antibodies to L-ferritin, hematoxylin stain,  $\times 400$ , scale bar – 50  $\mu\text{m}$

Таблица | Table

**Плотность расположения ферритинсодержащей нейроглии на 0,01 мм<sup>2</sup> площади среза черного вещества головного мозга у пациентов с болезнью Паркинсона (БП), людей зрелого и пожилого возраста (группа сравнения I) и людей старческого возраста (группа сравнения II)**

**Density of ferritin-containing neuroglia per 0.01 mm<sup>2</sup> of the substantia nigra section area in Parkinson's disease (PD) patients, mature and elderly subjects (control I), and senile subjects (control II)**

| Группы   Groups   | Плотность расположения нейроглии   Density of neuroglia              |  | Статистическая значимость в группах   p-level in the groups |
|---|--|--|---|
|   | Н-ферритинсодержащей (M $\pm$ m)   N-ferritin-containing (M $\pm$ m) | L-ферритинсодержащей (M $\pm$ m)   L-ferritin-containing (M $\pm$ m) |   |
| Группа сравнения I (n=5)   Control I (n=5)                            | 11,87 $\pm$ 0,19   | 11,85 $\pm$ 0,2  | p=0,476   |
| Группа сравнения II (n=6)   Control II (n=6)                          | 17,24 $\pm$ 0,26   | 17,87 $\pm$ 0,28   | p=0,065   |
| Группа БП (n=5)   PD group (n=5)                                      | 19,21 $\pm$ 0,16   | 18,11 $\pm$ 0,19   | p=0,0013  |
| Статистическая значимость между группами   p-level between the groups | p1–2<0,001<br>p1–3<0,001<br>p2–3<0,001                               | p1–2<0,001<br>p1–3<0,001<br>p2–3=0,487                               | –   |

Использован метод ANOVA, дополненный LSD-тестом | ANOVA Post-hoc LSD test used

При сопоставлении выборочных значений плотности расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии в каждой из групп (табл.) мы не обнаружили статистически значимых отличий по этим показателям в группах сравнения, но выявили их в группе пациентов с БП, у которых была выше на 6% плотность расположения Н-ферритинсодержащей нейроглии.

## Обсуждение

Проведенное исследование показало, что при физиологическом старении существенно возрастает плотность расположения как Н-ферритинсодержащей, так и L-ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ головного мозга. Равномерное увеличение этих показателей у людей зрелого и пожилого возраста по сравнению с таковыми у людей старческого возраста (для Н-ферритинсодержащей нейроглии на 45%, а для L-ферритинсодержащей нейроглии на 49%) может свидетельствовать об адаптации структур ЧВ к постепенному увеличению поступления в них соединений железа. Следовательно, в условиях физиологического старения одновременно с постепенным увеличением поступления железа в клеточные структуры ЧВ [10] постепенно усиливается экспрессия в них ферритина. Равномерность возрастания числа Н- и L-ферритинсодержащих глиальных клеток в ЧВ с возрастом может быть связана с тем, что процессы накопления железа и его окисления при физиологическом старении протекают сбалансированно.

Наряду с изложенным выше проведенное исследование позволило обнаружить, что у пациентов с БП плотность расположения клеток нейроглии, содержащих Н- и L-ферритин, была существенно выше, чем у людей того же возраста, не имевших при жизни неврологической симптоматики (группа сравнения I), что согласуется с результатами других исследователей, изучавших аналогичные клеточные параметры как у пациентов с БП [11], так и при моделировании этой патологии у животных [12]. Кроме того, у пациентов с БП показатель плотности расположения клеток нейроглии, содержащих Н-ферритин, был выше, чем у людей старческого возраста (группа сравнения II), и он был выше, чем показатель плотности расположения клеток нейроглии, содержащих L-ферритин, что хорошо согласуется с данными других авторов [13]. Такая избыточная экспрессия Н-цепи ферритина у пациентов с БП может быть обусловлена дисбалансом процессов депонирования и окисления железа при данном заболевании в пользу последнего. В результате этого дисбаланса избыточное количество окисленного железа, образующегося в глиальных клетках, не утилизируется своевременно, а накапливается в них [14]. Очевидно, что при БП превышает возможность связывать железо не только для ферритина глиальных клеток и не пигментированных нейронов, но и для нейромеланина, содержащегося в пигментированных нейронах [15]. Это обстоятельство инициирует разви-

тие железоиндуцированного окислительного стресса и способствует деструктивным клеточным процессам, а также накоплению патологической формы альфа-синуклеина [16].

Таким образом, как при физиологическом старении, так и при БП плотность расположения ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ увеличивается, но в отличие от физиологического старения при БП возрастание числа глиальных клеток, содержащих ферритин, свидетельствует не об адаптации структур головного мозга к избыточному накоплению железа, а о нарушении механизмов регуляции его метаболизма.

## Заключение

Сравнительное морфометрическое исследование клеточных структур черного вещества головного мозга, проведенное на аутопсийном материале пациентов с болезнью Паркинсона и людей зрелого, пожилого и старческого возраста, у которых при жизни не выявляли неврологической симптоматики, позволило установить, что у последних плотность расположения Н- и L-ферритинсодержащей глии с возрастом увеличивалась. При болезни Паркинсона плотность расположения Н-ферритинсодержащей глии была статистически значимо выше, чем у людей зрелого, пожилого и старческого возраста без неврологической симптоматики, что, очевидно, связано с дисбалансом процессов накопления и окисления железа в этих клетках у данной категории пациентов. Показатель плотности расположения L-ферритинсодержащей глии при болезни Паркинсона был статистически значимо выше, чем у людей зрелого и пожилого возраста без неврологической симптоматики, но он существенно не отличался от аналогичного показателя у неврологически здоровых людей старческого возраста.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – В.Н. Сальков, В.С. Сухоруков.

Сбор и обработка материала – В.Н. Сальков, Д.Н. Воронков.

Написание текста – В.Н. Сальков, Д.Н. Воронков.

Редактирование – В.С. Сухоруков.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – V.N. Salkov, V.S. Sukhorukov.

Collected the data and performed the analysis – V.N. Salkov, D.N. Voronkov.

Wrote the paper – V.N. Salkov, D.N. Voronkov.

Edited the manuscript – V.S. Sukhorukov.

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

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

## Литература/References

1. *Соболев В.Б., Худоерков Р.М.* Роль альфа-синуклеина в нейродегенеративном процессе. Клиническая и экспериментальная морфология. 2019;8(3):5–12. DOI: 10.31088/CEM2019.8.3.5-12.

- Sobolev VB, Khudoerkov RM.* The role of alpha-sinuclein in the neurodegenerative process. *Clinical and experimental morphology.* 2019;8(3):5–12 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2019.8.3.5-12.
2. *Ершова М.В., Иванова Е.О., Иллариошкин С.Н.* Болезнь Паркинсона и нейротрофический гомеостаз. *Нервные болезни.* 2018;1:3–9. DOI: 10.24411/2071-5315-2018-11991.  
*Ershova MV, Ivanova EO, Illarioshkin SN.* Parkinson's disease and neurotrophic homeostasis. *Nervnye bolezni = Nervous Diseases.* 2018;1:3–9 (In Russ.). DOI: 10.24411/2071-5315-2018-11991.
  3. World Health Organization. *World Health Statistics 2022.* Geneva: World Health Organization, 2022. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240051157> (accessed 10.08.2023).
  4. *Hare DJ, Double KL.* Iron and dopamine: a toxic couple. *Brain.* 2016;139(Pt. 4):1026–35. DOI: 10.1093/brain/aww022.
  5. *Zhang N, Yu X, Xie J, Xu H.* New insights into the role of ferritin in iron homeostasis and neurodegenerative diseases. *Mol Neurobiol.* 2021;58(6):2812–23. DOI: 10.1007/s12035-020-02277-7.
  6. *Riederer P, Monoranu C, Strobel S, Iordache T, Sian-Hülsmann J.* Iron as the concert master in the pathogenic orchestra playing in sporadic Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2021;128(10):1577–98. DOI: 10.1007/s00702-021-02414-z.
  7. *Zucca FA, Segura-Aguilar J, Ferrari E, Muñoz P, Paris I, Sulzer D et al.* Interactions of iron, dopamine and neuromelanin pathways in brain aging and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2017;155:96–119. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2015.09.012.
  8. *Snyder AM, Connor JR.* Iron, the substantia nigra and related neurological disorders. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(7):606–14. DOI: 10.1016/j.bbagen.2008.08.005.
  9. *Mann VM, Cooper JM, Daniel SE, Srai K, Jenner P, Marsden CD et al.* Complex I, iron, and ferritin in Parkinson's disease substantia nigra. *Ann Neurol.* 1994;36(6):876–81. DOI: 10.1002/ana.410360612.
  10. *Li K, Reichman H.* Role of iron in neurodegenerative diseases. *J Neural Transm.* 2016;123(4):389–99. DOI: 10.1007/s00702-016-1508-7.
  11. *de Farias CC, Maes M, Bonifacio KL, Matsumoto AK, Bortolasci CC, Nogueira AS et al.* Parkinson's disease is accompanied by intertwined alterations in iron metabolism and activated immune-inflammatory and oxidative stress pathways. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2017;16(4):484–91. DOI: 10.2174/1871527316666170223161004.
  12. *Zhang N, Yu X, Song L, Xiao Z, Xie J, Xu H.* Ferritin confers protection against iron-mediated neurotoxicity and ferroptosis through iron chelating mechanisms in MPP<sup>+</sup>-induced MES23.5 dopaminergic cells. *Free Radic Biol Med.* 2022;193(Pt. 2):751–63. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.018.
  13. *Koziorowski D, Friedman A, Arosio P, Santambrogio P, Dziejulska D.* ELISA reveals a difference in the structure of substantia nigra ferritin in Parkinson's disease and incidental Lewy body compared to control. *Parkinsonism Relat Disord.* 2007;13(4):214–8. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2006.10.002.
  14. *Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L.* The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol.* 2014;13(10):1045–60. DOI: 10.1016/S1474-4422(14)70117-6.
  15. *Friedman A, Galazka-Friedman J.* The history of the research of iron in parkinsonian substantia nigra. *J Neural Transm (Vienna).* 2012;119(12):1507–10. DOI: 10.1007/s00702-012-0894-8.
  16. *Riederer P, Nagatsu T, Youdim MBH, Wulf M, Dijkstra JM, Sian-Huelsmann J.* Lewy bodies, iron, inflammation and neuromelanin: pathological aspects underlying Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2023;130(5):627–46. DOI: 10.1007/s00702-023-02630-9.

### Информация об авторах

Владимир Николаевич Сальков – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Научного центра неврологии.

Дмитрий Николаевич Воронков – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Научного центра неврологии.

Владимир Сергеевич Сухоруков – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией нейроморфологии Научного центра неврологии.

### Author information

Vladimir N. Salkov – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology. <https://orcid.org/0000-0002-1580-0380>

Dmitry N. Voronkov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology. <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Vladimir S. Sukhorukov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology. <https://orcid.org/0000-0002-0552-6939>

## CD11b+ миелоидные клетки селезенки при карциномах

Е.С. Андрюхова<sup>1</sup>, Л.А. Таширева<sup>1</sup>, С.В. Вторушин<sup>1,2</sup>, С.Г. Афанасьев<sup>1</sup>,  
А.В. Августинович<sup>1</sup>, М.В. Завьялова<sup>1,2</sup>, В.М. Перельмутер<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Научно-исследовательский институт онкологии, Томск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

**Резюме. Введение.** Миелоидные элементы селезенки представлены моноцитами и миелоидными супрессорными клетками, которые депонируются в ней и рекрутируются в очаги хронического воспаления, участки репаративной регенерации ткани и в микроокружение опухолей. Изучение роли селезенки в развитии злокачественных опухолей и их прогрессии ограничивается экспериментами *in vivo* и исследованиями групп пациентов со спленэктомией. Важными, не изученными к настоящему моменту аспектами являются характеристика миелоидных элементов, имеющих общий маркер CD11b, располагающихся в разных морфофункциональных зонах селезенки, и их ассоциация с метастазированием. Цель исследования – сравнение количества и фенотипических особенностей CD11b+ миелоидных клеток, учитывая их локализацию в разных морфофункциональных зонах селезенки, в когортах пациентов без злокачественного новообразования и с таковым, а также в зависимости от гематогенного и лимфогенного метастазирования у пациентов с карциномами разных локализаций. **Материалы и методы.** Исследована удаленная в ходе хирургического лечения селезенка 35 пациентов с карциномами различных локализаций и восьми пациентов без опухолевых и острых воспалительных процессов, составивших группу сравнения. Для оценки количества CD11b+ клеток с разными вариантами экспрессии CD45, CD34 и CD90 использовался метод TSA – модифицированного многоцветного иммунофлуоресцентного окрашивания. В обеих группах количество клеток каждого фенотипа рассчитывалось на 1 мм<sup>2</sup> площади фолликулярной, маргинальной зон и красной пульпы селезенки. В группе пациентов со злокачественными новообразованиями изучена ассоциация количества клеток с лимфогенным и гематогенным метастазированием.

**Результаты.** Популяция CD11b+ миелоидных клеток селезенки гетерогенна, представлена клетками разных стадий дифференцировки моноцитов/MDSC, количество которых преобладает в красной пульпе. Наличие карцином разных нозологических форм ассоциировано с увеличением в красной пульпе промоноцитов (в 17 раз) и уменьшением числа клеток-предшественников миелопоэза в маргинальной зоне (в 2 раза), незрелых моноцитоподобных клеток/монобластов в маргинальной зоне (в 5 раз) и красной пульпе селезенки (в 12,5 раза). При наличии лимфогенных метастазов количество CD11b+ миелоидных клеток с такими фенотипами уменьшалось в еще большей степени. Ассоциация количества CD11b+ миелоидных клеток с гематогенным метастазированием не обнаружена.

**Заключение.** Количество CD11b+ миелоидных клеток разных фенотипов в различных морфофункциональных зонах селезенки ассоциировано с развитием у пациентов карцином независимо от их нозологической принадлежности и связано с лимфогенным метастазированием.

**Ключевые слова:** селезенка, миелоидные клетки, CD11b, карциномы, метастазирование

**Для корреспонденции:** Елена Сергеевна Андрюхова. E-mail: elenasergeevna9607@gmail.com

**Для цитирования:** Андрюхова Е.С., Таширева Л.А., Вторушин С.В., Афанасьев С.Г., Августинович А.В., Завьялова М.В., Перельмутер В.М. CD11b+ миелоидные клетки селезенки при карциномах. Клини. эксп. морфология. 2024;13(2):26–35. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.26-35.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-15-00135.

Статья поступила 28.07.2023. Получена после рецензирования 21.08.2023. Принята в печать 20.11.2023.

## CD11b+ splenic myeloid cells in carcinoma patients

E.S. Andryukhova<sup>1</sup>, L.A. Tashireva<sup>1</sup>, S.V. Vtorushin<sup>1,2</sup>, S.G. Afanasyev<sup>1</sup>,  
A.V. Augustinovich<sup>1</sup>, M.V. Zavyalova<sup>1,2</sup>, V.M. Perelmuter<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Cancer Research Institute, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

**Abstract. Introduction.** Splenic myeloid cells include monocytes and myeloid suppressor cells, which are deposited in the spleen and recruited to the sites of chronic inflammation, reparative tissues, and tumor

microenvironment. *In vivo* experiments are mainly used to study the influence of the splenic system on the development and progression of the malignant neoplasm. The characteristics of myeloid elements with a common marker (CD11b) that are located in different splenic morphological and functional zones and their relation to metastases are still poorly studied. We aimed to compare the number and phenotypic features of CD11b<sup>+</sup> myeloid cells considering their location in different splenic structural and functional areas in cohorts of patients with and without a malignant neoplasm, as well as depending on hematogenous and lymphogenous metastases in patients with carcinomas of various locations.

**Materials and methods.** To estimate the number of CD11b<sup>+</sup> cells with different variants of CD45, CD34, and CD90 expression, we applied the TSA technique. The number of cells of each phenotype per 1 mm<sup>2</sup> of follicular, marginal, and red pulp areas was calculated in both groups. The association of cell number with lymphogenic and distant metastases was investigated in the group of patients with malignant neoplasms.

**Results.** The CD11b<sup>+</sup> myeloid cell population is heterogeneous and represented by cells at different stages of monocyte/MDSC differentiation, whose numbers predominate in the red pulp. The following changes are associated with carcinomas: a 17-fold increase in the number of promonocytes in the red pulp, a 2-fold decrease in the number of myelopoiesis progenitors in the marginal zone, and a reduction in the quantity of immature monocytoid cells/monoblasts in the marginal zone and the red pulp (5- and 12.5-fold, respectively). The number of CD11b<sup>+</sup> myeloid cells with such phenotypes decreased even more in the cases with lymphogenic metastases. No association was found with distant metastases.

**Conclusion.** The number of CD11b<sup>+</sup> splenic myeloid cells is associated with carcinomas and lymphogenic metastases.

**Keywords:** spleen, myeloid cells, CD11b, carcinomas, metastasis

**Corresponding author:** Elena S. Andryukhova. E-mail: elenasergeevna9607@gmail.com

**For citation:** Andryukhova E.S., Tashireva L.A., Vtorushin S.V., Afanasyev S.G., Avgustinovich A.V., Zavyalova M.V., Perelmutter V.M. CD11b<sup>+</sup> splenic myeloid cells in carcinoma patients. *Clin. exp. morphol.* 2024;13(2):26–35 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.26-35.

**Funding.** The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, Project No. 23-15-00135.

**Received** 28.07.2023. **Received in revised form** 21.08.2023. **Accepted** 20.11.2023.

## Введение

Моноциты, макрофаги и миелоидные клетки-супрессоры составляют гетерогенную популяцию миелоидных клеток селезенки. Рекрутирование миелоидных клеток из селезенки закономерно происходит в очаги хронического воспаления, участки репаративной регенерации ткани и в микроокружение опухолей [1, 2]. CD11b обнаруживается на большинстве миелоидных клеток, включая макрофаги, моноциты, миелоидные клетки-супрессоры, нейтрофилы и некоторые субпопуляции дендритных клеток. CD11b представляет собой субъединицу интегрин альфа-M ( $\alpha$ M CD11bCD18), которая является альфа-субъединицей гетеродимера  $\alpha$ M $\beta$ 2. Данный интегрин служит рецептором для фибриногена и для молекулы адгезии эндотелия ICAM-1. CD11b опосредует клеточную адгезию, хемотаксис, миграцию, фагоцитарную активность миелоидных клеток. CD11b ингибирует инициированные через толл-подобные рецепторы воспалительные реакции как *in vitro*, так и *in vivo* [3]. Миелоидные клетки, экспрессирующие CD11b, главной функцией которых является иммуносупрессия [4], объединяют термином myeloid-derived suppressor cells (MDSC). Они представляют собой гетерогенную популяцию миелоидных элементов на разных стадиях дифференцировки [5]. Выделяют две популяции MDSC с разными механизмами иммуносупрессии. PMN-MDSC (Polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells) производят высокие уровни

активных форм кислорода и малое количество оксида азота, тогда как M-MDSC (Mononuclear myeloid-derived suppressor cells) имеют высокий уровень оксида азота, но низкие уровни активных форм кислорода. Обе популяции экспрессируют иммуносупрессивный фермент аргиназу-1 [6]. Полный спектр подавляющих функций MDSCs могут приобрести не в селезенке, а при рекрутировании в очаги воспаления [7].

Еще один механизм супрессии реализуется через способность MDSC рекрутировать T-регуляторные лимфоциты в опухоль зависимым от CCR5 механизмом и индуцировать их дифференцировку или пролиферацию с использованием различных механизмов, включая трансформирующий фактор роста бета [8, 9]. Эта способность индуцировать регуляторные T-лимфоциты свойственна только субпопуляции M-MDSC [10]. MDSC накапливаются в очагах воспаления и опухолях и блокируют функции иммунных клеток, ингибируя эффекторные функции T-клеток [11]. Циркулирующие MDSC накапливаются в субкапсулярной зоне красной пульпы селезенки, которая представляет собой депо для этих клеток. Следует отметить, что практически не изучено значение расположения CD11b<sup>+</sup> миелоидных клеток в разных морфофункциональных зонах селезенки. Накопление MDSC в карциномах происходит благодаря секреции опухолевыми клетками хемокинов семейств CCL и CXCL [12]. Селезенка у пациентов с карциномами является источником большого

количества MDSCs, обладающих способностью подавлять ответы Т-клеток [13].

Целью исследования было сравнение количества и фенотипических особенностей CD11b+ миелоидных клеток, учитывая их локализацию в разных морфофункциональных зонах селезенки, в когортах пациентов без злокачественного новообразования и с таковым, а также в зависимости от гематогенного и лимфогенного метастазирования у пациентов с карциномами разных локализаций.

## Материалы и методы

В исследование были включены 35 пациентов с установленным диагнозом рака желудка, кардиоэзофагеального перехода, рака поджелудочной железы, селезеночного угла толстой кишки, сигмовидной кишки, почки, яичника и матки. Пациентам в ходе хирургического этапа лечения была выполнена спленэктомия в связи с распространенностью процесса или интраоперационной травмой селезенки. Нозологическую принадлежность карцином устанавливали на основании стандартных клинических, морфологических и иммуногистохимических критериев. Неoadьювантную химиотерапию пациенты не получали, адьювантная химиотерапия назначалась по показаниям. Средний возраст составил  $59,97 \pm 8,84$  года, стадии процессов T1–4N0–3M0–1, у 66% пациентов были обнаружены лимфогенные метастазы, у 28% гематогенные метастазы.

В группу сравнения включены восемь пациентов, средний возраст которых составил  $58,13 \pm 7,14$  года. Им была проведена спленэктомия, не связанная со злокачественными новообразованиями или воспалительными процессами. Также по показаниям была выполнена спленэктомия у пациентов с кистой селезенки, кистой левой почки, хроническим панкреатитом, язвой желудка вне обострения, язвенной болезнью с декомпенсированным рубцовым стенозом двенадцатиперстной кишки и аневризмой селезеночной артерии. Критериями исключения пациентов из группы сравнения стали кровотечения, анемии любого генеза, инфекционные и аутоиммунные заболевания. Все этапы исследования одобрены локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 11 от 10.04.2023).

Материалом исследования послужили фиксированные формалином и залитые в парафин срезы селезенки. Метод мультиплексной тирамидной амплификации сигнала (tyramide signal amplification, TSA) – модифицированной иммуногистохимии срезов ткани позволил идентифицировать и подсчитать CD11b+ миелоидные клетки селезенки. С помощью иммуностейнера BOND RXm (Leica Biosystems, Германия) были проведены автоматическая депарафинизация, демаскировка и окрашивание ткани. Для окрашивания ткани использованы первичные антитела anti-CD45 Leucocyte Common Antigen (clones: 2B11, Dako, США, 1:10), anti-CD34 (clone: QVEnd, Dako, США, 1:10),

anti-CD90 (clone EPR3133, Abcam, США, 1:300), anti-CD11b (clone EPR1344, Abcam, США, 1:1000), anti-pan-CK (clone AE1AE3, Dako, США, 1:50) и набор Opal 6-color Automation IHC Kit (Akoya Bioscience, США). Для окрашивания ядер применяли ProLong Diamond Antifade Mountant with DAPI (Invitrogen, США).

Окрашенные срезы селезенки сканировали при  $\times 200$  с использованием автоматизированной системы для мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа Vectra 3.0.3 (PerkinElmer, США) и изучали с помощью программного обеспечения для анализа изображений InForm (PerkinElmer, v2.4.2, США). Проводили сегментацию тканей, сегментацию клеток, фенотипирование клеток и оценку количества клеток с коэкспрессией искомым маркерам, подсчет клеток различных фенотипов.

Оценивались частота встречаемости и количество различных фенотипов CD11b+ клеток в фолликулах, маргинальной зоне и красной пульпе. Количество клеток рассчитывалось на  $1 \text{ мм}^2$  площади каждой морфофункциональной зоны. Сочетание различных вариантов коэкспрессии CD45, CD34 и CD11b можно наблюдать на разных стадиях моноцитопоза [14] в макрофагах, а также в MDSC [15]. CD90 экспрессируется в гемопоэтических стволовых клетках [16] и, следовательно, может быть выявлен в незрелых CD11b+ миелоидных клетках. Обнаружено четыре фенотипа моноклеарных клеток с экспрессией CD11b. В силу высокой функциональной/фенотипической пластичности клеток каждый из выявленных фенотипов CD11b+ клеток не соответствовал строго ни одной из стадий моноцитопоза по С. Lambert et al. (2017) [14]. Четыре фенотипа клеток в нашем исследовании можно отнести к моноцитам/макрофагам разной степени зрелости или MDSC. Типы CD11b+ миелоидных клеток, выявленных в селезенке (рис. 1 А, В), приведены в таблице 1.

Сравнение количества клеток исследуемых фенотипов в зависимости от наличия или отсутствия гематогенных метастазов проводили у пациентов с карциномами, находившихся под наблюдением в течение 3–12 лет.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью GraphPad Prism 8.3.1 (GraphPad Software, США). Исследуемые параметры не подчинялись нормальному закону распределения и были описаны с помощью медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1–Q3). Оценку различий параметров между двумя независимыми выборками осуществляли при помощи критерия Манна–Уитни; для оценки различий между двумя зависимыми группами был использован Т-критерий Уилкоксона. Для оценки различий частот встречаемости признаков использовали точный критерий Фишера. ROC-анализ использовали для оценки прогностической ценности параметров. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  (5%).

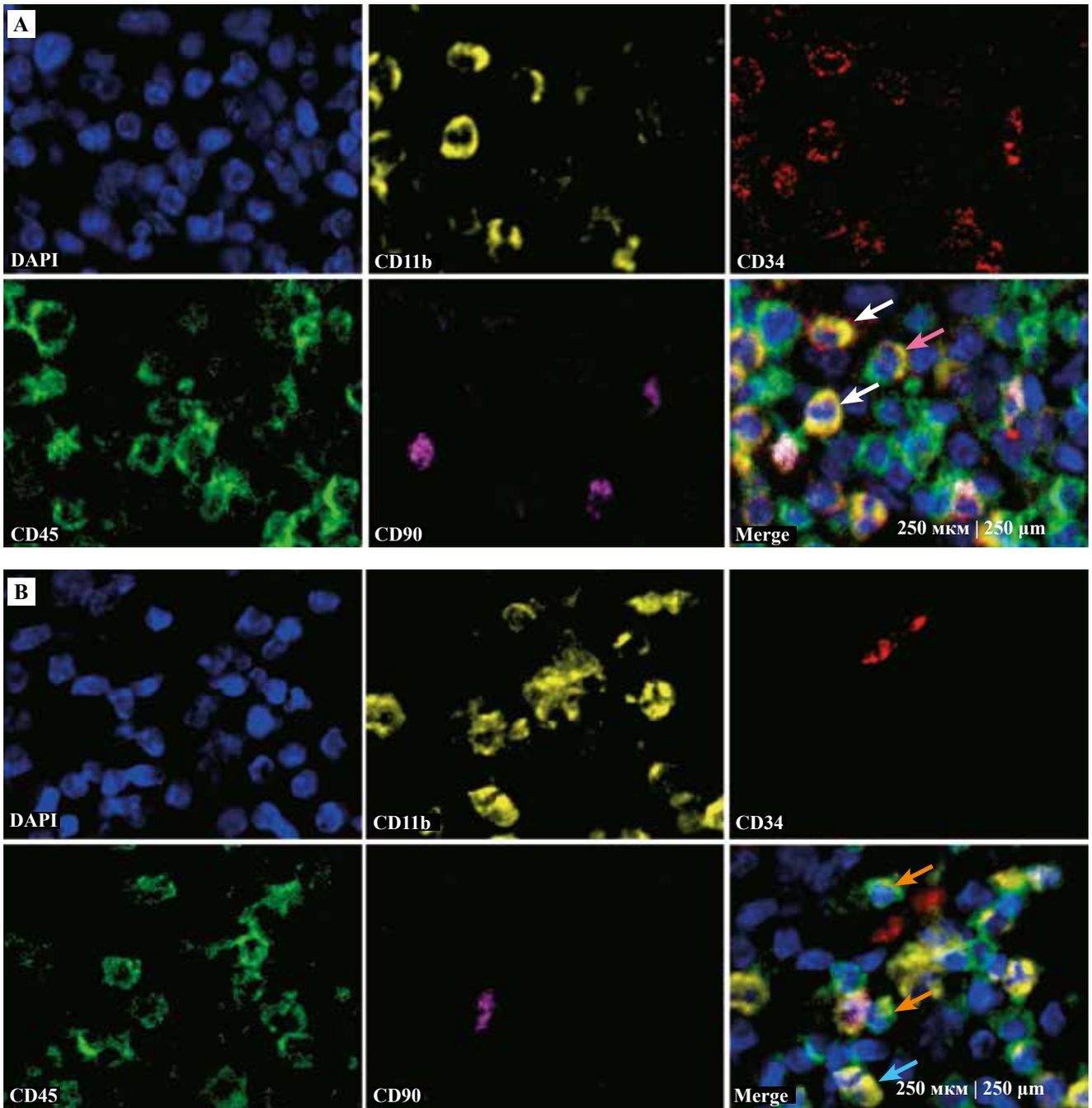


Рис. 1. TSA – модифицированное многоцветное иммунофлуоресцентное окрашивание красной пульпы селезенки.

А: белые стрелки – CD45–CD90–CD34+CD11b+ (№ 1), розовая стрелка – CD45+CD90–CD34+CD11b+ (№ 2).

В: оранжевые стрелки – CD45+CD90–CD34–CD11b+ (№ 3), голубая стрелка – CD45–CD90–CD34–CD11b+ (№ 4)

Fig. 1. TSA-modified multicolor immunofluorescence staining of the red pulp. A: CD45–CD90–CD34+CD11b+ (No. 1, white arrows), CD45+CD90–CD34+CD11b+ (No. 2, pink arrow) B: CD45+CD90–CD34–CD11b+ (No. 3, orange arrows), CD45–CD90–CD34–CD11b+ (No. 4, blue arrow)

## Результаты

Общей закономерностью распределения CD11b+ миелоидных клеток в селезенке пациентов с карциномами являлось их максимальное количество в красной пульпе, промежуточное в маргинальной зоне и наименьшее в лимфоидных фолликулах. Различия количества CD45–CD90–CD34+CD11b+ (№ 1) и CD45–CD90–CD34–CD11b+ (№ 4) клеток были значимыми между

всеми морфофункциональными зонами. Количество CD45+CD90–CD34+CD11b+ (№ 2) и CD45+CD90–CD34–CD11b+ (№ 3) клеток было больше в красной пульпе по сравнению с их количеством в маргинальной зоне и лимфоидных фолликулах. В группе сравнения различия в количестве исследуемых клеток в разных морфофункциональных зонах были менее выражены. Отмечены только различия количества

CD45–CD90–CD34+CD11b+ (№ 1) клеток между всеми морфофункциональными зонами (рис. 2).

Опухолевые процессы в исследованных случаях сопровождаются изменением количественных характеристик клеток, экспрессирующих CD11b. Различия

касаются трех фенотипов (табл. 2). В селезенке при наличии опухолевого процесса у пациентов было значительно меньше клеток с фенотипом предшественников моноцитов с признаками созревания (№ 1) в лимфоидном фолликуле и маргинальной зоне. Кроме того,

Таблица 1 | Table 1

## Фенотипы CD11b+ миелоидных клеток в селезенке | Phenotypes of CD11b+ myeloid cells in the spleen

| Фенотип   Phenotype         | Типы клеток, в которых может наблюдаться данный экспрессионный профиль   Cell types in which this expression profile can be observed                                | Источники литературы   Reference |
|-----------------------------|---|----------------------------------|
| CD45–CD90–CD34+CD11b+ (№ 1) | Предшественник моноцитов с признаками созревания   Monocyte precursor with signs of maturation  | [14]                             |
| CD45+CD90–CD34+CD11b+ (№ 2) | Незрелая моноцитоподобная клетка/монобласт с признаками созревания или незрелая MDSC   Immature monocytoid cell/monoblast with signs of maturation or immature MDSC | [14, 15]                         |
| CD45+CD90–CD34–CD11b+ (№ 3) | Промоноцит, моноцит, макрофаг или зрелая MDSC   Promonocyte, monocyte, macrophage, or mature MDSC   | [14, 15]                         |
| CD45–CD90–CD34–CD11b+ (№ 4) | Промоноцит с сохранением признаков незрелости (с отсутствием экспрессии CD45)   Promonocyte with retained signs of immaturity (no CD45 expression)                  | [14]                             |

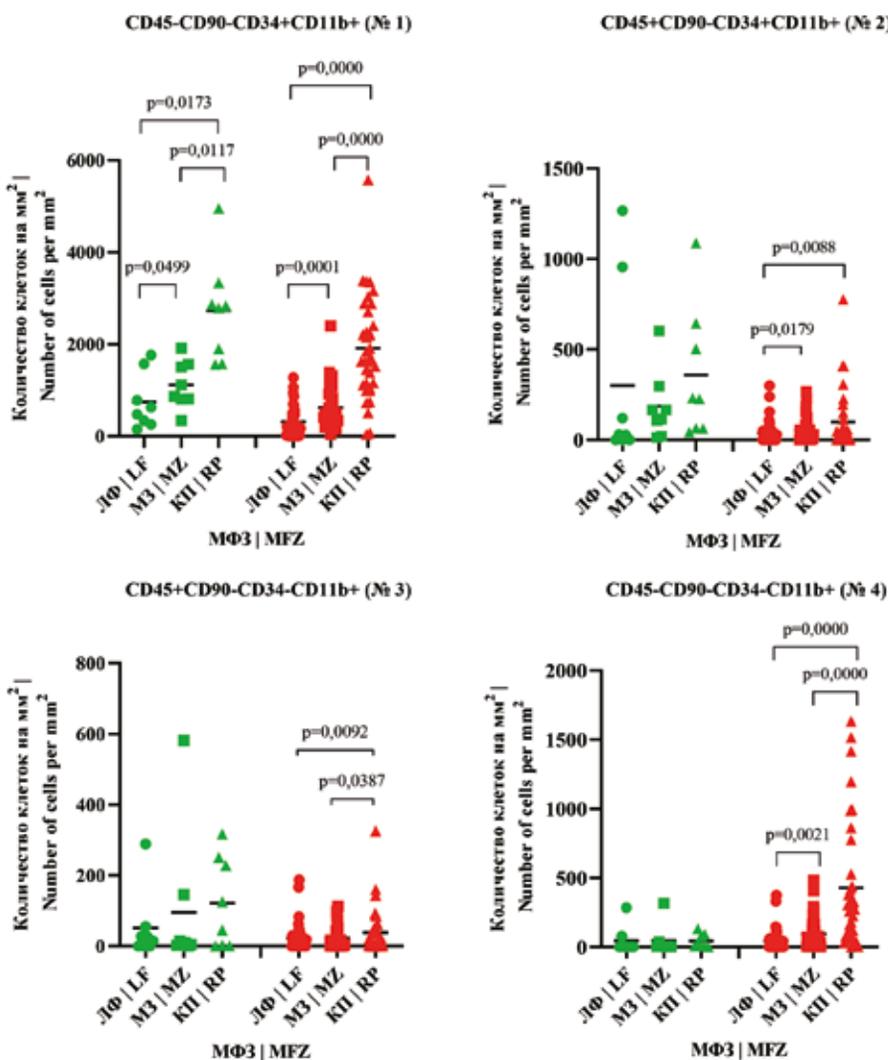


Рис. 2. Количество CD11b+ клеток разных фенотипов в разных морфофункциональных зонах селезенки в группах «контроль» (зеленый цвет) и «карциномы» (красный цвет). МФЗ – морфофункциональная зона, ЛФ – лимфоидный фолликул, МЗ – маргинальная зона, КП – красная пульпа

Fig. 2. The number of CD11b+ cells of different phenotypes in different morphofunctional zones of the spleen in the “control” (green) and “carcinoma” (red) groups MFZ – morphological and functional zone, LF – lymphoid follicle, MZ – marginal zone, RP – red pulp

Таблица 2 | Table 2

Изменения количества CD11b+ клеток в разных морфологических зонах селезенки при карциномах (на 1 мм<sup>2</sup>) |  
The changes in the number of CD11b+ cells in different morphological zones of the spleen in carcinomas (per 1 mm<sup>2</sup>)

| Фенотип   Phenotype             | МФЗ   MFZ | Контроль (n=8)   Control (n=8) | Опухоль (n=35)   Tumor (n=35)     | Результаты ROC-анализа   ROC analysis results                                |
|---------------------------------|-----------|--------------------------------|-----------------------------------|--|
| CD45–CD90–<br>CD34+CD11b+ (№ 1) | 1         | 556,3<br>(298,9–1180,4)        | 199,9 (50,6–472,3)<br>p=0,016     | –  |
|                                 | 2         | 2817,8<br>(1742,1–3106,5)      | 1689,7 (1114,6–2714,5)<br>p=0,102 | –  |
|                                 | 3         | 992,8<br>(808,7–1537,3)        | 499,9 (272,7–917,3)<br>p=0,012    | 0,782 (ДИ 95% 0,617–0,947), p=0,014,<br>Cut off <790,4, Se 71,43%, Sp 87,50% |
| CD45+CD90–<br>CD34+CD11b+ (№ 2) | 2         | 230,9<br>(63,9–574,6)          | 18,5 (2,5–114,9)<br>p=0,003       | 0,83 (ДИ 95% 0,702–0,962), p=0,004, Cut<br>off <62,3, Se 68,57%, Sp 87,5%    |
|                                 | 3         | 141,1<br>(64,9–231,9)          | 29,5 (0,0–75,8)<br>p=0,009        | 0,793 (ДИ 95% 0,627–0,959), p=0,011, Cut<br>off <97,40, Se 80,00%, Sp 75,0%  |
| CD45+CD90–CD34–<br>CD11b+ (№ 3) | 2         | 85,8<br>(1,9–239,7)            | 11,79 (1,5–49,9)<br>p=0,211       | –  |
|                                 | 3         | 7,1<br>(3,1–80,4)              | 4,8 (0,0–39,3)<br>p=0,381         | –  |
| CD45–CD90–CD34–<br>CD11b+ (№ 4) | 2         | 17,2<br>(6,9–87,8)             | 289,8 (77,9–527,9)<br>p=0,001     | 0,866 (ДИ 95% 0,754–0,978), p=0,001,<br>Cut off >133,3, Se 71,40%, Sp 100,0% |
|                                 | 3         | 4,0<br>(1,0–21,7)              | 41,1 (2,7–146,9)<br>p=0,141       | –  |

МФЗ – морфофункциональная зона, 1 – лимфоидный фолликул, 2 – красная пульпа, 3 – маргинальная зона,  
Se – чувствительность, Sp – специфичность

MFZ – morphological and functional zone, 1 – lymphoid follicle, 2 – red pulp, 3 – marginal zone, Se – sensitivity, Sp – specificity,  
ДИ – confidence interval

в маргинальной зоне и красной пульпе уменьшено количество незрелых моноцитоидных клеток/монобластов с признаками созревания (или незрелых MDSC) (№ 2). Вместе с тем в красной пульпе значимо (в 17 раз) увеличено количество предшественников моноцитов с признаками созревания (№ 4).

Значимость ассоциации количества исследованных фенотипов CD11b+ клеток селезенки с развитием карцином подтверждена результатами ROC-анализа (табл. 2).

Наличие гематогенных метастазов никак не отражалось на количестве клеток с изучаемыми фенотипами в красной пульпе и маргинальной зоне селезенки.

В отличие от гематогенного метастазирования наличие синхронных лимфогенных метастазов сочеталось с меньшим количеством в красной пульпе предшественников моноцитов с признаками созревания (CD45–CD90–CD34+CD11b+[№ 1]) и незрелых MDSC (CD45+CD90–CD34+CD11b+[№ 2]) (табл. 3).

Результаты ROC-анализа подтверждают связь предшественников моноцитов с признаками созревания CD45–CD90–CD34+CD11b+ (1) и незрелых MDSC с фенотипом CD45+CD90–CD34+CD11b+ (2) с на-

личием лимфогенных метастазов, выявленных на период проведения операции. Пороговое значение для CD45–CD90–CD34+CD11b+ клеток составило меньше 1629 клеток на 1 мм<sup>2</sup> (площадь под кривой 0,772 (ДИ 95% 0,551–0,993), p=0,049, чувствительность 63,16%, специфичность 83,33%), для CD45+CD90–CD34+CD11b+ клеток меньше 42,3 клетки на 1 мм<sup>2</sup> (площадь под кривой 0,772 (ДИ 95% 0,554–0,990), p=0,049, чувствительность 68,4%, специфичность 83,33%) (рис. 3).

### Обсуждение

Обнаруженные нами в селезенке четыре фенотипа CD11b+ мононуклеарных миелоидных клеток можно рассматривать как отражение разных этапов дифференцировки моноцитов/MDSC. Вместе с тем сопоставление фенотипов со схемами моноцитопозеза, например по С. Lambert et al. [14], показывает множество несовпадений. Это касается экспрессии интегрин CD11b, которая должна происходить только на стадии промоноцита-моноцита, однако в нашем наблюдении он коэкспрессируется с маркером стволовости CD34, экспрессия которого прекращается именно на этих стадиях.

**Изменения количества CD11b+ клеток в разных морфологических зонах селезенки при лимфогенном метастазировании карцином (на 1 мм<sup>2</sup>) | The changes in the number of CD11b+ cells in different morphological zones of the spleen in carcinomas with lymphogenic metastases (per 1 mm<sup>2</sup>)**

| Фенотип   Phenotype             | МФЗ   MFZ | Отсутствие лимфогенных метастазов, n=11   No lymphogenic metastases, n=11 | Наличие лимфогенных метастазов, n=22   Presence of lymphogenic metastases, n=22 |
|---------------------------------|-----------|---|---|
| CD45-CD90-<br>CD34+CD11b+ (№ 1) | 1         | 2232,8 (1631,7-3358,4)  | 1573,5 (1048,6-2213,0)<br>p=0,048   |
|                                 | 2         | 354,1 (314,2-966,1)   | 540,8 (227,3-917,2)<br>p=0,866  |
| CD45+CD90-<br>CD34+CD11b+ (№ 2) | 1         | 64,8 (6,2-407,9)  | 15,8 (1,2-61,6)<br>p=0,040  |
|                                 | 2         | 49,0 (5,4-84,9)   | 9,9 (0,0-75,7)<br>p=0,317   |
| CD45+CD90-CD34-<br>CD11b+ (№ 3) | 1         | 2,5 (1,5-52,7)  | 12,6 (3,6-49,8)<br>p=0,560  |
|                                 | 2         | 4,7 (0,0-43,8)  | 5,5 (0,0-39,2)<br>p=0,925   |
| CD45-CD90-CD34-<br>CD11b+ (№ 4) | 1         | 180,9 (56,5-354,5)  | 302,5 (121,5-527,9)<br>p=0,510  |
|                                 | 2         | 43,0 (2,7-163,5)  | 58,4 (12,0-146,9)<br>p=0,778  |

МФЗ – морфофункциональная зона, 1 – красная пульпа, 2 – маргинальная зона  
MFZ – morpho-functional zone, 1 – red pulp, 2 – marginal zone

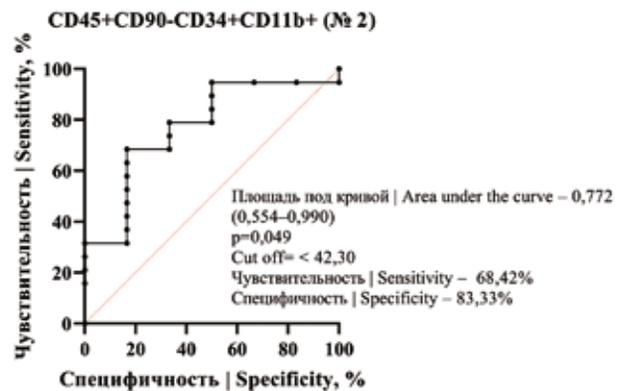
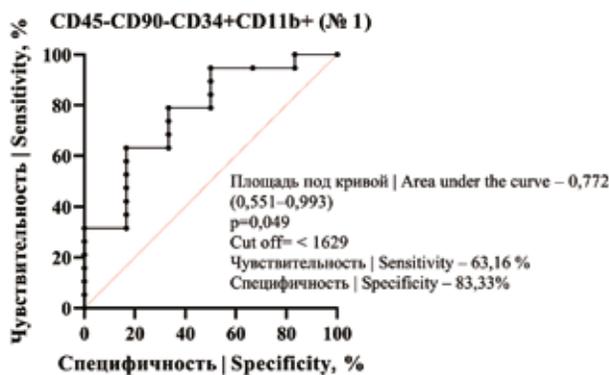


Рис. 3. Кривые значимости связи количества клеток указанных фенотипов в красной пульпе селезенки с наличием синхронных лимфогенных метастазов при карциномах разного нозологического профиля

Fig. 3. Significance curves of the relationship between the number of cells of the indicated phenotypes in the red pulp and the presence of synchronous lymphogenic metastases in carcinomas of different nosological profile

Другое несовпадение – сочетание экспрессии CD11b с отсутствием экспрессии CD45, которая, наоборот, должна сочетаться с экспрессией CD45. По-видимому, описанные несовпадения являются отражением более сложного механизма дифференцировки незрелых клеток миелоидного ряда, при которой на определенных этапах может совмещаться экспрессия маркеров незрелых и зрелых моноцитов/MDSC. Вероятно, данный процесс не является линейным, и использованная нами

панель маркеров позволила выявлять клетки на промежуточных стадиях созревания.

Известно, что развитие злокачественных опухолей происходит на фоне стимуляции миелопоэза, который способствует росту опухоли, причем селезенка опосредует такой ответ гемопоэтических клеток [17, 18]. Селезенка представляет собой депо как для моноцитов, так и для MDSC, откуда они могут рекрутироваться в опухоль в ответ на хемокины [12]. Гемопоэтические

стволовые клетки селезенки служат источником миелоидных элементов, которые впоследствии мигрируют в опухоль [19]. Результаты опубликованных исследований свидетельствуют, что миелопоэз в селезенке, источником которого являются гемопоэтические стволовые клетки и клетки-предшественники, процесс универсальный, поскольку отмечен у пациентов при раке желудка, поджелудочной железы, почки, гепатоцеллюлярной карциноме [18]. В функциональном отношении макрофаги, которые дифференцируются из мононуклеарных MDSC, обладают такими же иммуносупрессорными функциями [20]. Это позволяет предполагать, что значительная доля CD11b+ клеток селезенки может вызывать иммуносупрессорные эффекты. Иммуносупрессия CD11b+ миелоидными клетками проявляется подавлением адаптивного противоопухолевого иммунитета, ингибированием функции Т-клеток и стимуляцией и рекрутированием Т-регуляторных клеток [21, 22].

Полагают, что в опухоли макрофаги могут взаимодействовать с MDSC, при этом развивается иммунный ответ Th2 типа, сопровождающийся усилением продукции IL-10, а также понижением секреции IL-12, что стимулирует рост опухоли [23]. Миелоидные клетки способствуют прогрессированию опухоли, поддерживая ангиогенез, стволовость и эпителиально-мезенхимальный переход [24]. Противоопухолевый иммунный ответ может тормозиться в микроокружении селезенки за счет развития толерантности к антигенам новообразования. Поскольку метастазы в селезенке возникают крайне редко, можно полагать, что специфические иммунные реакции не играют существенной роли в предотвращении роста метастазов карцином в селезенке [25].

Количество CD11b+ миелоидных клеток в селезенке зависит от поступления из периферической крови, пролиферации местных клеток и миграции в кровь в ответ на хемотаксические факторы, источником которых являются очаги воспаления, репаративной регенерации и карциномы. Результаты нашего исследования демонстрируют одинаковое распределение CD11b+ клеток в морфофункциональных зонах селезенки как у пациентов группы контроля, так и у пациентов с опухолями. Наибольшее число CD11b+ миелоидных клеток обнаруживается в красной пульпе, меньше в маргинальной зоне и минимальное количество в лимфоидных фолликулах.

Количество CD11b+ миелоидных клеток в селезенке оказалось сложным образом ассоциировано с наличием карцином разной локализации. Эти изменения разнонаправлены. В группе пациентов с карциномами по сравнению с группой контроля меньше количество клеток-предшественников миелопоэза в маргинальной зоне (в 2 раза), незрелых моноцитоподобных клеток/монобластов в маргинальной зоне (в 5 раз) и красной пульпе селезенки (в 12,5 раза), причем это уменьшение более выражено при лимфогенном метастазировании.

В противоположность этому в красной пульпе при карциномах увеличивается количество промоноцитов с признаками незрелости (в 17 раз), поскольку отсутствовала экспрессия CD45. Не удалось обнаружить связь между количеством разных фенотипов CD11b+ миелоидных клеток в селезенке и гематогенным метастазированием. Эти результаты свидетельствуют о сложном характере реагирования CD11b+ миелоидных клеток в селезенке на развитие у пациентов карцином, которое не описывается только констатацией усиления экстрамедуллярного миелопоэза.

## Заключение

Использование технологии TSA – ассоциированного иммунофлуоресцентного исследования позволило показать, что характер распределения миелоидных CD11b+ клеток в разных морфофункциональных зонах селезенки одинаков у пациентов контрольной группы и у пациентов со злокачественными новообразованиями. Выявленные четыре фенотипа CD11b+ миелоидных клеток, с одной стороны, отражают гетерогенность этой популяции клеток, с другой – демонстрируют в части фенотипов необычное сочетание маркеров высокой дифференцировки CD11b+ и CD45+ с наличием маркера стволовости CD34. Сравнение количества разных фенотипов CD11b+ миелоидных клеток в селезенке пациентов с разными карциномами показывает сложный характер ассоциации с карциномами. Количество незрелых CD11b+ миелоидных клеток в селезенке убывает, в то время как число более зрелых клеток, наоборот, увеличивается. Не исключено, что частично это обусловлено дифференцировкой первых во вторые. Уменьшение тех же незрелых фенотипов CD11b+ миелоидных клеток в селезенке у пациентов с карциномами при наличии лимфогенных метастазов может быть связано с их миграцией из селезенки и развитием иммуносупрессивного эффекта в преметастатических нишах лимфатических узлов.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – В.М. Перельмутер, Л.А. Таширева.

Сбор и обработка материала – Е.С. Андриухова.

Написание текста – Е.С. Андриухова, В.М. Перельмутер.

Редактирование – Л.А. Таширева, С.В. Вторушин, М.В. Завьялова.

Проведение оперативного лечения, динамическое наблюдение пациентов – С.Г. Афанасьев, А.В. Августинович.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – V.M. Perelmuter, L.A. Tashireva.

Collected the data and performed the analysis – E.S. Andryukhova.

Wrote the paper – E.S. Andryukhova, V.M. Perelmuter.

Edited the manuscript – L.A. Tashireva, S.V. Vtorushin, M.V. Zavyalova.

Conducting surgical treatment, dynamic observation of patients – S.G. Afanasyev, A.V. Avgustinovich.

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

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

## Литература/References

- Voronina EI, Ageeva TA, Ryzhova MB. Особенности микроокружения и возможности иммунотерапии злокачественных глиальных опухолей. Клиническая и экспериментальная морфология. 2020;9(2):5–10. DOI: 10.31088/CEM2020.9.2.5-10.  
Voronina EI, Ageeva TA, Ryzhova MV. Features of microenvironment and possibility of immunotherapy in malignant gliomas. Clinical and experimental morphology. 2020;9(2):5–10 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2020.9.2.5-10.
- Андрюхова Е.С., Таширева Л.А., Вторушин С.В., Завьялова М.В., Перельмутер В.М. Макрофаги селезенки: особенности популяционного состава и функции. Цитология. 2022;64(1):14–25. DOI: 10.31857/S0041377122010023.  
Andryuhova ES, Tashireva LA, Vtorushin SV, Zavyalova MV, Perelmutter VM. Spleen macrophages: features of population composition and function. Tsitologiya = Cytology. 2022;64(1):14–25 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0041377122010023.
- Han C, Jin J, Xu S, Liu H, Li N, Cao X. Integrin CD11b negatively regulates TLR-triggered inflammatory responses by activating Syk and promoting degradation of MyD88 and TRIF via Cbl-b. Nat Immunol. 2010;11(8):734–42. DOI: 10.1038/ni.1908.
- Schmid MC, Khan SQ, Kaneda MM, Pathria P, Shepard R, Louis TL et al. Integrin CD11b activation drives anti-tumor innate immunity. Nat Commun. 2018;9(1):5379. DOI: 10.1038/s41467-018-07387-4.
- Youn JI, Gabrilovich DI. The biology of myeloid-derived suppressor cells: the blessing and the curse of morphological and functional heterogeneity. Eur J Immunol. 2010;40(11):2969–75. DOI: 10.1002/eji.201040895.
- Youn JI, Nagaraj S, Collazo M, Gabrilovich DI. Subsets of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. J Immunol. 2008;181(8):5791–802. DOI: 10.4049/jimmunol.181.8.5791.
- Haverkamp JM, Crist SA, Elzey BD, Cimen C, Ratliff TL. In vivo suppressive function of myeloid-derived suppressor cells is limited to the inflammatory site. Eur J Immunol. 2011;41(3):749–59. DOI: 10.1002/eji.201041069.
- Huang B, Pan PY, Li Q, Sato AI, Levy DE, Bromberg J et al. Gr-1+CD115+ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host. Cancer Res. 2006;66(2):1123–31. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1299.
- Schlecker E, Stojanovic A, Eisen C, Quack C, Falk CS, Umansky V et al. Tumor-infiltrating monocytic myeloid-derived suppressor cells mediate CCR5-dependent recruitment of regulatory T cells favoring tumor growth. J Immunol. 2012;189(12):5602–11. DOI: 10.4049/jimmunol.1201018.
- Hoechst B, Gamrekelashvili J, Manns MP, Greten TF, Korangy F. Plasticity of human Th17 cells and iTregs is orchestrated by different subsets of myeloid cells. Blood. 2011;117(24):6532–41. DOI: 10.1182/blood-2010-11-317321.
- Bird L. MDSC metabolite stuns T cells. Nat Rev Immunol. 2020;20(6):352–3. DOI: 10.1038/s41577-020-0336-z.
- Di Mitri D, Toso A, Alimonti A. Molecular pathways: targeting tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells for cancer therapy. Clin Cancer Res. 2015;21(14):3108–12. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2261.
- Jordan KR, Kapoor P, Spongberg E, Tobin RP, Gao D, Borges VF et al. Immunosuppressive myeloid-derived suppressor cells are increased in splenocytes from cancer patients. Cancer Immunol Immunother. 2017;66(4):503–13. DOI: 10.1007/s00262-016-1953-z.
- Lambert C, Preijers FWMB, Yanikkaya Demirel G, Sack U. Monocytes and macrophages in flow: an ESCCA initiative on advanced analyses of monocyte lineage using flow cytometry. Cytometry B Clin Cytom. 2017;92(3):180–8. DOI: 10.1002/cyto.b.21280.
- Romano A, Parrinello NL, Vetro C, Forte S, Chiarenza A, Figuera A et al. Circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical outcome in Hodgkin Lymphoma patients treated up-front with a risk-adapted strategy. Br J Haematol. 2015;168(5):689–700. DOI: 10.1111/bjh.13198.
- Christopher AC, Venkatesan V, Karuppusamy KV, Srinivasan S, Babu P, Azhagiri MKK et al. Preferential expansion of human CD34+CD133+CD90+ hematopoietic stem cells enhances gene-modified cell frequency for gene therapy. Hum Gene Ther. 2022;33(3–4):188–201. DOI: 10.1089/hum.2021.089.
- Almand B, Clark JI, Nikitina E, van Beynen J, English NR, Knight SC et al. Increased production of immature myeloid cells in cancer patients: a mechanism of immunosuppression in cancer. J Immunol. 2001;166(1):678–89. DOI: 10.4049/jimmunol.166.1.678.
- Wu C, Ning H, Liu M, Lin J, Luo S, Zhu W et al. Spleen mediates a distinct hematopoietic progenitor response supporting tumor-promoting myelopoiesis. J Clin Invest. 2018;128(8):3425–38. DOI: 10.1172/JCI97973.
- Cortez-Retamozo V, Etzrodt M, Newton A, Rauch PJ, Chudnovskiy A, Berger C et al. Origins of tumor-associated macrophages and neutrophils. Proc Natl Acad Sci USA. 2012;109(7):2491–6. DOI: 10.1073/pnas.1113744109.
- Kwak T, Wang F, Deng H, Condamine T, Kumar V, Perego M et al. Distinct populations of immune-suppressive macrophages differentiate from monocytic myeloid-derived suppressor cells in cancer. Cell Rep. 2020;33(13):108571. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108571.
- Yang Z, Guo J, Weng L, Tang W, Jin S, Ma W. Myeloid-derived suppressor cells – new and exciting players in lung cancer. J Hematol Oncol. 2020;13(1):10. DOI: 10.1186/s13045-020-0843-1.
- Wu WC, Sun HW, Chen J, OuYang HY, Yu XJ, Chen HT et al. Immunosuppressive immature myeloid cell generation is controlled by glutamine metabolism in human cancer. Cancer Immunol Res. 2019;7(10):1605–18. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0902.
- Ostrand-Rosenberg S, Sinha P, Beury DW, Clements VK. Cross-talk between myeloid-derived suppressor cells (MDSC), macrophages, and dendritic cells enhances tumor-induced immune suppression. Semin Cancer Biol. 2012;22(4):275–81. DOI: 10.1016/j.semcancer.2012.01.011.
- Safarzadeh E, Orangi M, Mohammadi H, Babaie F, Baradaran B. Myeloid-derived suppressor cells: important contributors to tumor progression and metastasis. J Cell Physiol. 2018;233(4):3024–36. DOI: 10.1002/jcp.26075.
- Ugel S, Peranzoni E, Desantis G, Chioda M, Walter S, Weinschenk T et al. Immune tolerance to tumor antigens occurs in a specialized environment of the spleen. Cell Rep. 2012;2(3):628–39. DOI: 10.1016/j.celrep.2012.08.006.

**Информация об авторах**

Елена Сергеевна Андрухова – младший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии ТНИМЦ РАН.

Любовь Александровна Таширева – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной терапии рака НИИ онкологии ТНИМЦ РАН.

Сергей Владимирович Вторушин – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, заведующий патологоанатомическим отделением клиник Сибирского государственного медицинского университета, профессор кафедры патологической анатомии Сибирского государственного медицинского университета.

Сергей Геннадьевич Афанасьев – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии НИИ онкологии ТНИМЦ РАН.

Александра Владимировна Августинovich – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии НИИ онкологии ТНИМЦ РАН.

Марина Викторовна Завьялова – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии Сибирского государственного медицинского университета; ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии ТНИМЦ РАН.

Владимир Михайлович Перельмутер – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии ТНИМЦ РАН.

**Author information**

Elena S. Andryukhova – Junior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center.

<https://orcid.org/0000-0003-0909-9206>

Lyubov A. Tashireva – Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Cancer Therapy, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center.

<https://orcid.org/0000-0003-2061-8417>

Sergey V. Vtorushin – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center; Head of the Pathology Department of the Clinics Siberian State Medical University, Professor, Department of Pathology, Siberian State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-1195-4008>

Sergey G. Afanasyev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Abdominal Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center.

<https://orcid.org/0000-0002-4701-0375>

Alexandra V. Avgustinovich – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Abdominal Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center.

<https://orcid.org/0000-0001-7301-7581>

Marina V. Zavyalova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University; Leading Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center.

<https://orcid.org/0000-0001-9429-9813>

Vladimir M. Perelmutter – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center.

<https://orcid.org/0000-0002-7633-9620>

## Морфология стенки толстой кишки на разных стадиях хронического запора

Т.И. Шевченко, Д.С. Швороб, А.А. Абрамян

ФГБОУ ВО Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького Минздрава России, Донецк, Россия

**Резюме.** *Введение.* Хронический запор наблюдается у 14–16% населения развитых стран, оставаясь важной проблемой современной колопроктологии. Для обоснования объективного метода лечения помимо анализа клинических, лабораторных и инструментальных данных актуальным остается исследование морфогенеза структурных изменений толстой кишки на разных временных этапах хронического запора.

*Материалы и методы.* В исследование вошли 30 пациентов с резистентным к медикаментозной терапии хроническим запором в субкомпенсированной стадии (СС) и декомпенсированной стадии (ДС), которым было выполнено операционное лечение. В группу сравнения вошли 30 пациентов, перенесших резекцию толстой кишки по поводу необтурирующего колоректального рака. Проведена морфометрия структурных элементов слизистой оболочки, нервно-мышечного и лимфоидного аппарата.

*Результаты.* Количественный анализ толстой кишки при СС хронического запора указывает на обратимые атрофические изменения структурных элементов слизистой оболочки, а также утолщение подслизистой и мышечной оболочек, преимущественно за счет отека и гипертрофии. Вместе с тем при ДС атрофические изменения оказываются необратимыми, в подслизистой и мышечной оболочках наблюдаются склеротические, дистрофические и атрофические изменения. По мере прогрессирования хронического запора статистически значительно уменьшается количество нервных клеток в нервно-мышечном аппарате толстой кишки. Морфогенез лимфоидных образований сводится к формированию компенсаторно-приспособительной реакции в виде защитной гиперплазии при СС без одновременного возрастания удельной доли вторичных лимфоидных фолликулов. При ДС, несмотря на возрастание среднего количества и удельной доли лимфоидных образований в слизистом и подслизистом слоях толстой кишки регистрируются выраженное уменьшение средней площади лимфоидных образований и полное отсутствие вторичных лимфоидных фолликулов.

*Заключение.* Установленные закономерности морфогенеза стенки толстой кишки при хроническом запоре позволяют объективно констатировать необратимость прогрессирования патологических процессов во всех ее функционально значимых структурах, что на основе полученных морфометрических критериев служит рекомендацией для поиска оптимального варианта лечения таких пациентов.

**Ключевые слова:** хронический запор, морфометрия

**Для корреспонденции:** Данил Сергеевич Швороб. E-mail: mcshady@mail.ru

**Для цитирования:** Шевченко Т.И., Швороб Д.С., Абрамян А.А. Морфология стенки толстой кишки на разных стадиях хронического запора. Клини. эксп. морфология. 2024;13(2):36–43. DOI: 10.31088/СЕМ2024.13.2.36-43.

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

Статья поступила 09.08.2023. Получена после рецензирования 16.08.2023. Принята в печать 20.11.2023.

## Morphology of the colon wall at different stages of chronic constipation

T.I. Shevchenko, D.S. Shvorob, A.A. Abramyan

M. Gorky Donetsk State Medical University, Donetsk, Russia

**Abstract.** *Introduction.* Chronic constipation affects 14–16% of the developed countries population, thus remaining an important problem of modern coloproctology. To substantiate an objective treatment, it is relevant to look at not only clinical, laboratory, and instrumental data, but also at morphogenesis of structural colon changes at different stages of chronic constipation.

*Materials and methods.* We studied postoperative material of 30 patients with drug-resistant chronic constipation at subcompensated (SC) and decompensated (DC) stages. The comparison group (CG) included

30 cases of colon resection for non-recurrent colorectal cancer. Morphometry of mucous membrane structural elements and neuromuscular and lymphoid apparatus was carried out.

**Results.** Quantitative analysis of structural colon elements at SC stage indicates reversible atrophic changes and thickening of submucosal and muscular membranes, mainly due to edema and hypertrophy. Simultaneously, atrophic changes at DC stage are irreversible, with sclerotic, dystrophic, and atrophic changes being observed in submucosal and muscular membranes. As chronic constipation progresses, the number of nerve cells in the neuromuscular apparatus of the colon decreases significantly. Morphogenesis of lymphoid formations is limited to the development of a compensatory adaptive reaction as protective hyperplasia at SC stage, without simultaneous increase in the specific proportion of secondary lymphoid follicles. Although at DS stage, the average number and specific proportion of lymphoid formations in the mucosal and submucosal layers of the colon increase; the average area of lymphoid formations decreases markedly; and no secondary lymphoid follicles are observed.

**Conclusion.** The established patterns of the colon wall morphogenesis in chronic constipation provide us objective causes to confirm the irreversible progression of pathological processes in all its functionally significant structures. This, based on the morphometric criteria obtained, serves as a recommendation for finding the most optimal treatment option for such patients.

**Keywords:** chronic constipation, morphometry

**Corresponding author:** Danil S. Shvorob. E-mail: mcshady@mail.ru

**For citation:** Shevchenko T.I., Shvorob D.S., Abramyan A.A. Morphology of the colon wall at different stages of chronic constipation. Clin. exp. morphology. 2024;13(2):36–43 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.36-43.

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

**Received** 09.08.2023. **Received in revised form** 16.08.2023. **Accepted** 20.11.2023.

## Введение

Хронический запор (ХЗ) – это синдром общих и желудочно-кишечных расстройств, являющийся одной из наиболее актуальных проблем в современной колопроктологии. В западных странах данное состояние фиксируется у 30–35% взрослого и у 3–10% детского населения, в среднем составляя 14–16% [1, 2]. Эффективное лечение пациентов, страдающих хроническим запором, остается во многом нерешенной задачей. Корректирование рациона питания с увеличением потребления жидкости и продуктов с большим содержанием пищевых волокон, а также медикаментозная терапия с применением слабительных средств (размягчающие, увеличивающие объем, стимулирующие и осмотические, энтерокинетики) эффективны при отсутствии органической патологии. Однако в некоторых случаях, когда консервативные методы не дают должного результата, может потребоваться более интенсивное вмешательство, в том числе с использованием хирургических методов, – сфинктеротомия, растяжение пуборектальной мышцы, резекция сигмовидной кишки, колэктомия. Данные об эффективности этих операций разноречивы [3, 4]. Для обоснования выбора метода лечения пациентов, страдающих ХЗ, наряду с тщательным и всесторонним анализом клинических, лабораторных и инструментальных данных актуальным остается исследование морфогенеза структурных изменений толстой кишки на разных временных этапах заболевания [5, 6].

Научные работы, посвященные анализу структурных изменений толстой кишки при ХЗ, крайне немногочисленны и содержат лишь общие сведения о макро-

и микроскопической картине, поэтому дальнейшее изучение патоморфологических изменений при данном синдроме важно для более детального разбора патогенеза и разработки эффективных методов лечения [7, 8].

## Материалы и методы

Материалом морфологического исследования послужили резецированные участки толстой кишки от 60 пациентов, полученные в результате оперативного вмешательства. Пациенты подписали добровольное информированное согласие на включение их в исследование, отвечающее всем этическим требованиям (протокол № 9 от 27.12.2022 заседания комиссии по биоэтике ДонГМУ им. М. Горького). Исследуемый материал был распределен на две группы. Первую группу (группа сравнения) составили 30 пациентов, перенесших левостороннюю гемиколэктомию по поводу рака прямой кишки (рис. 1 А, 2 А). В макропрепаратах проводилась вырезка проксимального края резекции – селезеночного угла, нисходящей ободочной кишки не ближе 10,0 см от видимой границы опухолевого образования. Пациенты с опухолевой обструкцией просвета кишки из группы были заблаговременно исключены. Исследуемая группа наблюдений представлена операционным материалом 30 пациентов, прооперированных по поводу ХЗ, резистентного к консервативной терапии. Согласно выписным эпикризам, пациенты предъявляли жалобы на беспокоящие их с детства запоры с задержкой стула максимально до пяти суток, боль спастического характера в гипогастрии и в левой подвздошной области, вздутие живота. По данным ирриго- и колоноскопии ХЗ существовал на фоне хронического колита и долихоко-

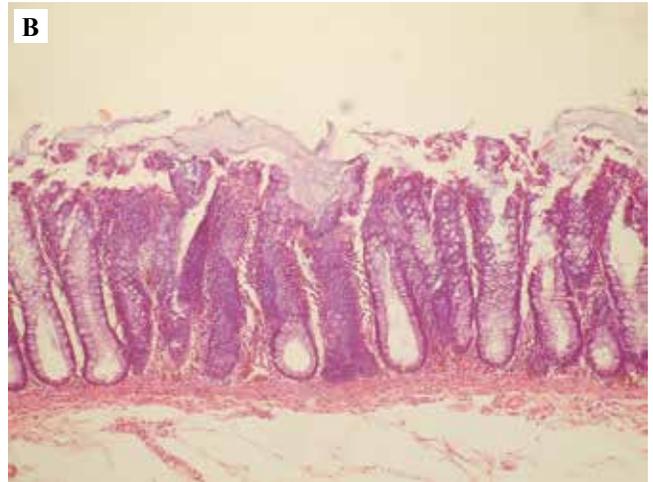
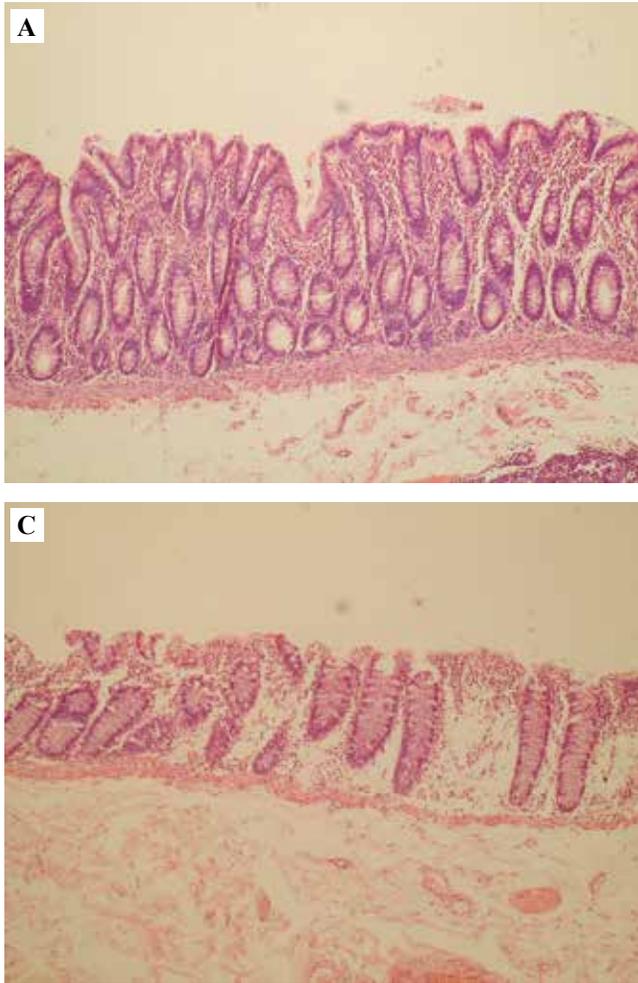


Рис. 1. Слизистая оболочка толстой кишки.

А – пример слизистой оболочки в группе сравнения, В – в субкомпенсированной стадии хронического запора, С – в декомпенсированной стадии хронического запора. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$

Fig. 1. Colon mucous membrane.

А – example of the mucous membrane in the comparison group, В – at subcompensated stage of chronic constipation, С – at decompensated stage of chronic constipation. H&E stain,  $\times 200$

лона, которые в 26,6% случаев сочетались с синдромом Пайра (удлинение и высокая фиксация селезеночного угла), мегадолихоколона (46%), долихосигмы (13%). Группы наблюдения были репрезентативны по полу и возрасту.

Гистологические препараты окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином. Для выявления склеротических изменений использовали окрашивание пикрофуксином по ван Гизону. Качественное исследование стенки толстой кишки, основанное на визуально-аналоговой оценке степени атрофии, воспалительной инфильтрации, отека и склероза, позволило выделить общие структурные изменения в исследуемых группах. Последующие морфометрические измерения учитывали эту особенность. Были выделены субкомпенсированная стадия (СС) (рис. 1 В, 2 В) и декомпенсированная стадия (ДС) (рис. 1 С, 2 С) хронического запора. Морфометрическое исследование позволило оценить следующие показатели: толщина слизистого слоя, подслизистой основы и мышечного слоя (мкм), удельная доля площади крипт (%), количество бокаловидных клеток в криптах слизистой оболочки (шт.), удельная доля площади нервных сплетений в мышечной оболочке (%), количество клеток в нервных сплетениях Ауэрбаха (шт.), количество парасимпатических нейронов ганглия

в сплетениях Ауэрбаха (шт.), количество интерстициальных клеток Кахаля межмышечного сплетения (шт.), среднее количество лимфатических фолликулов в одном поле зрения (шт.), средняя площадь лимфоидных образований толстой кишки ( $\text{мкм}^2$ ), удельная доля вторичных лимфоидных фолликулов (%), среднее количество клеток лимфогистиоцитарного инфильтрата в одном поле зрения (шт.).

Для выявления статистической значимости различий в исследуемых группах количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро–Уилка. В случае нормального распределения данных применяли Т-критерий Стьюдента, а если признаки нормального распределения отсутствовали, – U-критерий Манна–Уитни. Результаты статистического сравнения корректировались поправкой Бонферрони для исключения ложноположительных результатов, в результате чего статистически значимыми различия считали при  $p < 0,0166$  [9, 10].

## Результаты

Статистические различия в средней толщине слизистой оболочки у лиц группы сравнения и исследуемых групп отсутствуют (табл.). Толщина слизистого слоя

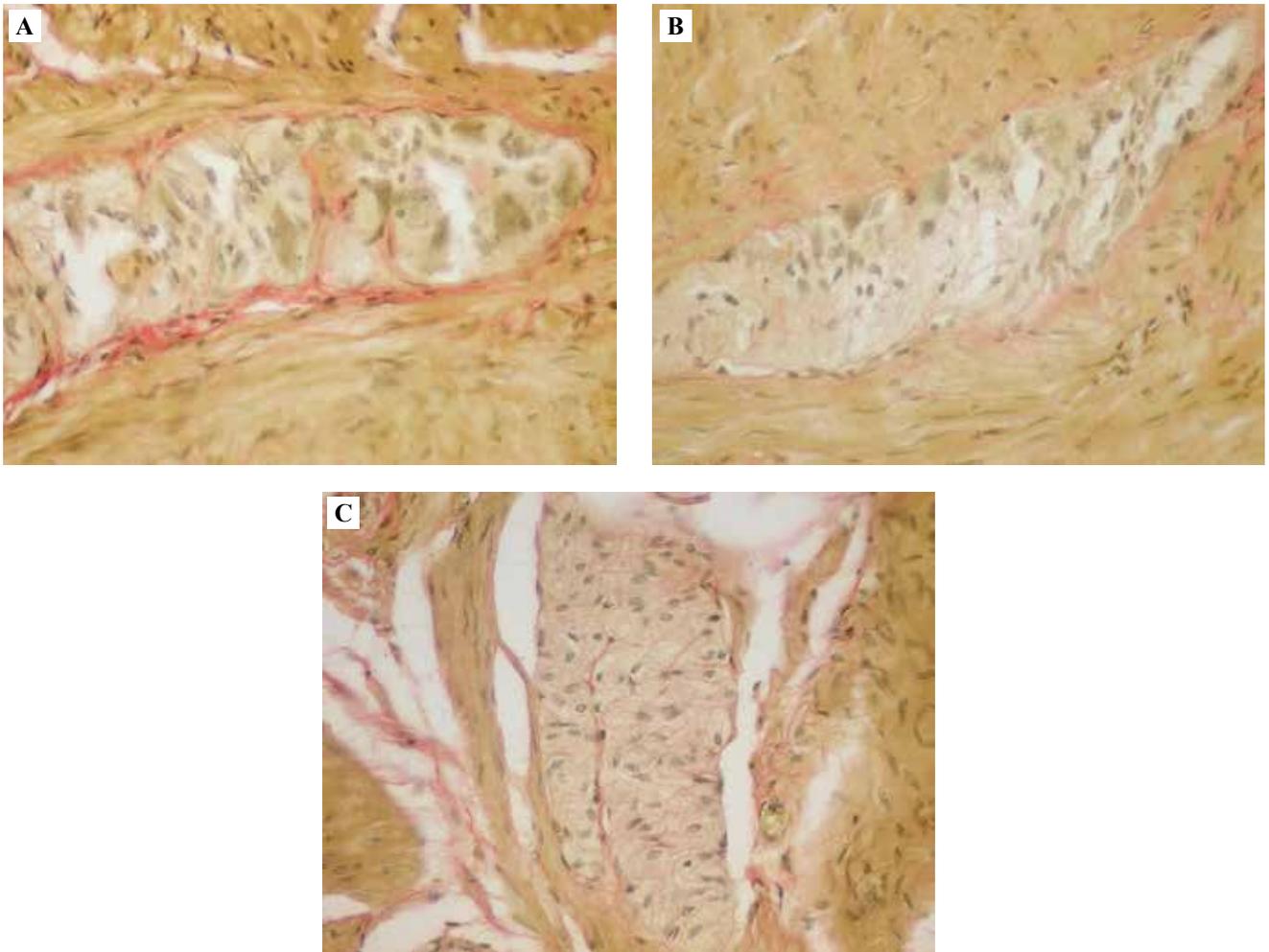


Рис. 2. Сплетение Ауэрбаха толстой кишки.

А – гистологическое строение сплетения Ауэрбаха и входящих в его состав гиперхромных парасимпатических нейронов ганглия в группе сравнения, В – субкомпенсированная стадия хронического запора с дистрофическими изменениями ганглиоцитов вплоть до образования клеток-теней, слабо выраженным сетчатым склерозом стромы нервно-мышечного сплетения, С – декомпенсированная стадия хронического запора с отсутствием ганглиоцитов, сетчатым склерозом стромы нервно-мышечного сплетения. Окраска по ван Гизону,  $\times 400$

Fig. 2. Colon Auerbach plexus.

А – histological structure of the Auerbach plexus with hyperchromic parasympathetic ganglion neurons of the comparison group, В – subcompensated stage of chronic constipation with dystrophic changes in ganglion cells, up to the formation of shadow cells and weakly expressed stromal reticular sclerosis of the neuromuscular plexus, С – decompensated stage of chronic constipation without ganglion cells and with stromal reticular sclerosis of the neuromuscular plexus. Van Gieson stain,  $\times 400$

в группе сравнения превышает аналогичный показатель при СС в 1,01 раза ( $p=0,54$ ), а при ДС в 1,04 раза ( $p=0,625$ ). Полученное распределение значений количественных показателей логично интерпретировать с учетом максимальных и минимальных значений толщины слизистой оболочки, которые в группе сравнения различаются в 4,2 раза, тогда как аналогичные соотношения в группах пациентов с СС и ДС составляют 2,83 и 1,56 раза, соответственно. Морфометрия удельной доли площади крипт указывает на их максимальное процентное содержание у лиц группы сравнения, превышая аналогичный показатель у пациентов с СС в 1,29 раза ( $p=0,003$ ), а при ДС в 1,53 раза ( $p=0,001$ ). Максимальное значение числа бокаловидных клеток

в криптах слизистой оболочки зафиксировано при СС хронического запора, что превышало аналогичные показатели в группе сравнения и при ДС в 1,7 ( $p=0,0007$ ) и 2,6 раза ( $p=0,0001$ ), соответственно.

Оценка среднего количества клеток лимфогистиоцитарного инфильтрата в слизистой оболочке толстой кишки при ХЗ показывает их значимое увеличение при СС и ДС относительно группы сравнения ( $p=0,0009$  и  $p=0,003$ , соответственно). Максимальный и минимальный уровень лимфогистиоцитарной инфильтрации в группе сравнения и при ДС варьирует в 2,61 и 3,16 раза, соответственно, что гистологически представлено неравномерностью инфильтрата, тенденцией к очаговым скоплениям иммунных клеток.

**Морфометрия структурных элементов толстой кишки в группе сравнения и исследуемых группах | Morphometry of colon structural elements in the comparison and study groups**

| Параметры   | Группа сравнения   Comparison group | Субкомпенсированная стадия   Subcompensated stage | Декомпенсированная стадия   Decompensated stage |
|---|-------------------------------------|---|---|
| Толщина слизистой оболочки, мкм   Mucous membrane thickness, $\mu\text{m}$  | 499,45 $\pm$ 31,8                   | 493,09 $\pm$ 10,63                                | 475,96 $\pm$ 6,67                               |
| Толщина подслизистой основы, мкм   Submucosal thickness, $\mu\text{m}$  | 556,33 $\pm$ 43,44                  | 887,98 $\pm$ 55,69                                | 662,05 $\pm$ 13,31                              |
| Толщина мышечной оболочки, мкм   Muscle membrane thickness, $\mu\text{m}$   | 1180 $\pm$ 105,4                    | 1522,79 $\pm$ 33,62                               | 615,58 $\pm$ 19,32                              |
| Удельная доля площади крипт, %   Crypt area specific share, %   | 45,09 $\pm$ 1,47                    | 34,92 $\pm$ 2,56                                  | 29,44 $\pm$ 1,7                                 |
| Количество бокаловидных клеток, шт.   Number of goblet cells, pcs.  | 19,36 $\pm$ 1,52                    | 32,94 $\pm$ 3,65                                  | 12,29 $\pm$ 0,75                                |
| Удельная доля площади сплетений Ауэрбаха, %   Auerbach plexuses area specific share, %  | 1,99 $\pm$ 0,64                     | 2,72 $\pm$ 1,16                                   | 4,1 $\pm$ 0,27                                  |
| Количество нервных клеток в сплетениях Ауэрбаха, шт.   Number of nerve cells in Auerbach plexuses, pcs                            | 120,46 $\pm$ 5,46                   | 61,38 $\pm$ 6,79                                  | 40,26 $\pm$ 6,68                                |
| Количество парасимпатических нейронов в сплетениях Ауэрбаха, шт.   Number of parasympathetic neurons in Auerbach plexuses, pcs.   | 42,08 $\pm$ 1,87                    | 34,63 $\pm$ 1,59                                  | 11,50 $\pm$ 1,51                                |
| Количество ИКК межмышечного сплетения, шт.   Number of ICC's of the intermuscular plexus, pcs.                                    | 9,6 $\pm$ 0,7                       | 7,4 $\pm$ 0,36                                    | 5,3 $\pm$ 0,1                                   |
| Среднее количество лимфатических фолликулов в поле зрения, шт.   Average number of lymphatic follicles in the field of view, pcs. | 0,0 $\pm$ 0,15                      | 1,00 $\pm$ 0,48                                   | 1,00 $\pm$ 0,29                                 |
| Средняя площадь лимфоидных образований, мкм <sup>2</sup>   Average area of lymphoid formations, $\mu\text{m}^2$                   | 262,98 $\pm$ 21,19                  | 370,24 $\pm$ 42,33                                | 180,25 $\pm$ 17,7                               |
| Удельная доля вторичных лимфоидных фолликулов, %   Secondary lymphoid follicles specific proportion, %                            | 100 $\pm$ 0,00                      | 10,00 $\pm$ 4,53                                  | 0,00 $\pm$ 0,00                                 |
| Среднее количество лимфогистиоцитов, шт.   Average number of inflammatory cells, pcs.   | 255,66 $\pm$ 22,73                  | 393,86 $\pm$ 13,88                                | 497,55 $\pm$ 75,25                              |

ИКК – интерстициальные клетки Кахаля

ICC – interstitial cells of Cajal

При СС количество воспалительных клеток отличается всего в 1,45 раза, что визуально характеризуется как диффузная воспалительная инфильтрация.

Сравнение средней толщины подслизистой основы толстой кишки, построенной в норме из рыхлой волокнистой соединительной ткани, которая содержит большое количество эластических волокон, многочисленные солитарные фолликулы, сосудистые и нервное подслизистое (мейснеровское) сплетения, имеет смешанные результаты достоверности отличий. При СС отмечено существенное возрастание толщины этого слоя, статистически значимо превышающей аналогичный показатель в группе сравнения – в 1,59 раза ( $p=0,0009$ ). При ДС толщина подслизистой основы больше по

сравнению с таковой в группе сравнения в 1,19 раза ( $p=0,029$ ), что при учете поправки Бонферрони означает отсутствие значимых различий.

Максимальная средняя толщина мышечной оболочки толстой кишки, как и в случае с подслизистой основой, выявлена нами при СС хронического запора. При этом среднегрупповое значение данного параметра превышало аналогичные значения в группе сравнения в 1,29 раза ( $p=0,013$ ), а при ДС в 2,47 раза ( $p=0,0001$ ). Кроме того, наибольшее значение толщины мышечного слоя, которое в 9,28 раза превышало минимальное, выявлено также при СС. Аналогичное соотношение в группе сравнения составило 4,14 раза, при ДС – 2,49 раза.

Обеспечение функционирования всех слоев стенки толстой кишки невозможно без ее адекватной иннервации, доминантную роль в которой играют нервно-мышечные сплетения Ауэрбаха и интерстициальные клетки Кахала (ИКК), также подвергающиеся морфогенетической трансформации у пациентов, страдающих ХЗ.

Удельная доля площади нервных сплетений в мышечной оболочке увеличивается относительно таковой в группе сравнения, в исследуемых подгруппах пациентов с СС и ДС в 1,36 ( $p=0,626$ ) и 2,06 раза ( $p=0,014$ ), соответственно. При формальном подходе такие параметры создают впечатление об усилении структурного базиса интрамуральных ганглиев, обеспечивающих контроль моторики и ритм перистальтики толстой кишки в группах пациентов, страдающих ХЗ. Тем не менее данные клинического наблюдения за этой категорией пациентов свидетельствуют об обратном – по мере прогрессирования заболевания недостаточность функции толстой кишки становится все более очевидной. Разрешить возникшее противоречие позволяет анализ таких параметров, как общее количество нервных клеток в сплетениях Ауэрбаха, количество парасимпатических нейронов ганглия и ИКК межмышечного сплетения, имеющих выраженную тенденцию к снижению по мере нарастания тяжести ХЗ. В группе сравнения общее число нервных клеток в сплетениях Ауэрбаха при СС уменьшается в 1,96 раза ( $p=0,0001$ ), а при ДС в 2,99 раза ( $p=0,0001$ ). Аналогичная тенденция отмечена и в отношении количества парасимпатических нейронов ганглия в сплетениях Ауэрбаха: относительно группы сравнения при СС их число меньше в 1,22 раза ( $p=0,007$ ), а при ДС в 3,66 раза ( $p=0,0001$ ). Количество парасимпатических нейронов ганглия и ИКК межмышечного сплетения коррелируют друг с другом. Их снижение имеет нарастающую тенденцию по мере усугубления тяжести ХЗ. Относительно лиц группы сравнения у пациентов с СС количество интерстициальных клеток Кахала снижается в 1,29 раза ( $p=0,011$ ), а у пациентов с ДС в 1,81 раза ( $p=0,002$ ).

Неизменным признаком прогрессирования ХЗ являются изменения структурных характеристик лимфоидного аппарата толстой кишки – солитарных лимфоидных фолликулов. Одним из признаков реакции лимфоидной ткани толстой кишки, коррелирующим с утяжелением клинического течения заболевания, служит количество лимфоидных фолликулов в одном поле зрения гистологического препарата. В группе сравнения их меньше примерно в 6,65 раза, чем при СС и ДС ( $p=0,038$ ;  $p=0,001$ ). При анализе количества лимфоидных фолликулов интерес представляют максимальные значения данного параметра в разных изучаемых группах. В группе сравнения ни разу не наблюдалось больше одного лимфоидного фолликула в поле зрения, при СС их число могло достигать шести (морфологическое свидетельство гиперплазии лимфоидных образований), а при ДС – максимум трех соли-

тарных фолликулов. Относительно группы сравнения при СС средняя площадь сечения лимфоидных фолликулов возрастает в 1,4 раза ( $p=0,029$ ), при ДС уменьшается в 1,45 раза ( $p=0,005$ ). Важной дополнительной характеристикой таких параметров как количество лимфоидных фолликулов в поле зрения и средняя площадь их сечения служит удельная доля вторичных (со светлыми центрами) лимфоидных фолликулов толстой кишки. В группе сравнения она составляет 100%, при СС равна 10,0% (максимальное значение – 50%), тогда как у пациентов с ДС вторичные лимфоидные фолликулы отсутствуют вовсе. Таким образом, увеличение количества, средней площади сечения и удельной доли лимфоидных фолликулов в слизистом и подслизистом слоях толстой кишки при СС и ДС развивается для компенсации их функциональной недостаточности, однако это является недостижимой целью ввиду неспособности к формированию герминативных центров и, соответственно, обеспечению адекватного иммунного ответа.

### Обсуждение

Морфометрические различия толщины слизистой оболочки в разных группах отсутствовали, однако учет максимальных и минимальных значений свидетельствует о том, что присущая толстой кишке выраженная складчатость у лиц группы сравнения полностью сохранена, тогда как в исследуемых подгруппах она прогрессивно уменьшалась и свидетельствовала о сглаживании, что является объективным морфологическим признаком патологических изменений. Сочетанное уменьшение толщины и складчатости слизистой оболочки толстой кишки в исследуемых подгруппах отражает уменьшение площади рабочей поверхности и объема функционального слоя и лежит в основе атрофических изменений. Последнее наглядно отражается в морфометрии удельной доли площади крипт. Гиперплазия бокаловидных клеток при СС объясняется компенсаторно-приспособительными процессами, направленными на ускорение пассажа содержимого толстой кишки путем гиперпродукции слизи. Наряду с этим скопление слизи на поверхности слизистой оболочки можно трактовать и как катаральное воспаление, возникающее в ответ на длительный контакт с условно-патогенной микрофлорой. Резкое уменьшение числа бокаловидных клеток при ДС свидетельствует о декомпенсации компенсаторно-приспособительного процесса и развитии атрофии. Снижение количества слизи на поверхности слизистой оболочки нивелирует фактор скольжения содержимого по поверхности, приводя к еще большему замедлению пассажа и создавая порочный круг.

Как итог, атрофия, являясь общепатологическим процессом, характеризуется прижизненным уменьшением размера клеток, а затем их количества, формируется при СС хронического запора, проявляясь уменьшением размера крипт, при ДС развивается окончательно,

выражаясь в уменьшении не только размера крипт, но и количества составляющих их клеток.

Участки клеточной инфильтрации слизистой оболочки лимфоцитами, плазмацитами и эозинофилами ведут к усугублению выраженности в ней дистрофических изменений. Наличие клеток лимфогистиоцитарного ряда в группе сравнения свидетельствует о физиологическом воспалении в результате постоянного контакта с условно-патогенной микрофлорой. Увеличение показателя в исследуемых группах свидетельствует об активации клеточного иммунитета и обострении хронического воспаления.

Качественный анализ морфометрических показателей толщины подслизистой оболочки при СС позволил установить, что преимущественную основу ее значительного расширения составляют обширные, протяженные участки разволокнения вследствие отека. При ДС доминантным фактором, обуславливающим утолщение подслизистой основы, служат склеротические изменения, сочетающиеся со вторичными изменениями в виде гиалиноза и уменьшения количества сосудов микрогемодиализаторного русла. При визуальной оценке морфометрических показателей толщины мышечной оболочки при СС обнаружены признаки развития компенсаторно-приспособительных процессов – рабочей гипертрофии гладкомышечных клеток. Эти явления призваны улучшить моторно-эвакуаторную функцию толстой кишки при ХЗ. Вместе с тем при ДС констатировано не только уменьшение количества и размеров гладкомышечных клеток с выраженными дистрофическими изменениями гладких миоцитов (зернистость и вакуолизация цитоплазмы) в обоих слоях мышечной оболочки, но и склеротические изменения – классические морфологические признаки атрофии. В патологической анатомии такое явление называется декомпенсацией гипертрофированного органа.

Качественная и количественная оценка структурно-функционального состояния сплетений Ауэрбаха позволяет установить морфогенез развивающейся перестройки. В ее основе лежит снижение численности разных типов клеток – глиальных клеточных элементов, парасимпатических нейронов ганглии и ИКК, а также прогрессирование дистрофических, атрофических и склеротических изменений нервных клеток.

Описанные структурные изменения сплетений Ауэрбаха наряду с наличием признаков атрофии мышечного слоя толстой кишки у пациентов с ХЗ служат морфологической и патогенетической основой развития недостаточности ее эвакуаторно-моторной функции.

Морфометрические показатели лимфоидного аппарата толстой кишки при хроническом запоре свидетельствуют о том, что нарушение ее моторно-эвакуаторной функции ведет к активации лимфоидного аппарата кишечника на начальных этапах заболевания, заключающихся в развитии реактивной гиперплазии,

с последующим снижением интенсивности реакции иммунной системы толстой кишки на стадии декомпенсации. Такого рода проявления ответной реакции организма обусловлены длительным контактом слизистой толстой кишки с каловыми массами, населенными условно-патогенной микробной флорой, вызывающей длительную и интенсивную антигенную стимуляцию. Продолжительное напряжение структур иммунного аппарата толстой кишки со временем приводит к истощению его реактивной способности и угасанию компенсаторно-приспособительных процессов, что и наблюдается у пациентов при ДС.

Актуальным остается вопрос, являются описанные изменения причиной кишечного стаза и перерастяжения толстой кишки либо же их следствием. Экспериментально доказано, что толстая кишка способна претерпевать морфологические изменения при перенаполнении каловыми массами, в результате чего происходит растяжение продольных мышц и возникновение ХЗ [11]. Однако исследование толстой кишки новорожденных с помощью бариевого контрастирования показывает, что ее удлинение также встречается как врожденная аномалия, часто не сопровождающаяся клиникой запора [12].

Прогрессирующая динамика ХЗ и усугубление клинической симптоматики, развивающейся на фоне удлиненной толстой кишки у пациентов исследуемых групп, а также выявленная в результате проведенного морфометрического исследования прогрессирующая негативная динамика структурных изменений на разных стадиях заболевания позволяют утверждать, что перестройка сплетений Ауэрбаха, ИКК, лимфоидного аппарата, слизистого, подслизистого и мышечного слоев носит вторичный характер, обусловленный кишечным стазом и хроническим воспалением. Таким образом, в стенке кишки при ХЗ имеют место вторичные дегенеративные изменения, ухудшающие ее моторную функцию.

## Заключение

Исходя из полученных результатов, можно констатировать, что патологические изменения прогрессивно нарастают и достигают максимума при декомпенсированной стадии. Развивающиеся дистрофия, атрофия и склероз структурно-функциональных элементов толстой кишки составляют основу ее функциональной недостаточности, проявления которой заключаются в нарушении процессов переваривания клетчатки, всасывания воды и электролитов, выработки слизи, формирования каловых масс, перистальтики и пассажа содержимого толстой кишки, угнетении защитных механизмов иммунного аппарата. Морфологические изменения начинают формироваться уже при субкомпенсированной стадии хронического запора, что требует разработки новых объективных клинико-морфологических показателей для определения качественного метода лечения пациентов.

**Вклад авторов**

Концепция и дизайн исследования – Т.И. Шевченко, Д.С. Швороб.  
Сбор и обработка материала – Д.С. Швороб, А.А. Абрамян.  
Написание текста – Т.И. Шевченко, Д.С. Швороб.  
Редактирование – Т.И. Шевченко.

**Author contributions**

Conceived the study and designed the experiment – T.I. Shevchenko, D.S. Shvorob.  
Collected the data and performed the analysis – D.S. Shvorob, A.A. Abramyan.  
Wrote the paper – T.I. Shevchenko, D.S. Shvorob.  
Edited the manuscript – T.I. Shevchenko.

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

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

**Литература/References**

1. *Forootan M, Bagheri N, Darvishi M.* Chronic constipation. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(20):e10631. DOI: 10.1097/MD.0000000000010631.
2. *Flemming G.* Chronic functional constipation in infants and children. *Handb Exp Pharmacol.* 2020;261:377–96. DOI: 10.1007/164\_2019\_223.
3. *Davis G, Chapple K, Brown SR.* Ileostomy for chronic constipation: a good idea or just asking for more trouble? *Colorectal Dis.* 2021;23(6):1474–9. DOI: 10.1111/codi.15509.
4. *Serra J, Pohl D, Azpiroz F, Chiarioni G, Ducrotte P, Gourcerol G et al.* European society of neurogastroenterology and motility guidelines on functional constipation in adults. *Neurogastroenterol Motil.* 2020;32(2):e13762. DOI: 10.1111/nmo.13762.
5. *Шевченко Т.И., Борота А.В., Швороб Д.С., Аль Ямани Н.Д., Абрамян А.А.* Сравнительная морфометрическая характеристика декомпенсированной стадии долихоколон. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2023;38(2):227–234. DOI: 10.29001/2073-8552-2023-38-2-227-234.  
*Shevchenko TI, Borota AV, Shvorob DS, Alyamani NJ, Abramyan AA.* Comparative morphometric characteristics of the dolichocolon decompensated stage. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2023;38(2):227–234 (In Russ.). DOI: 10.29001/2073-8552-2023-38-2-227-234.
6. *Шевченко Т.И., Борота А.В., Швороб Д.С., Аль Ямани Н.Д., Абрамян А.А.* Морфологическая и морфометрическая характеристика субкомпенсированной стадии долихоколон. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2022;11(2):62–69. DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-2-62-69.  
*Shevchenko TI, Borota AV, Shvorob DS, Al' Yamani ND, Abramyan AA.* Morphological and morphometric characteristics of the subcompensated dolichocolon. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2022;11(2):62–69 (In Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-2-62-69.
7. *Constantin A, Achim F, Spinu D, Socea B, Predescu D.* Idiopathic megacolon-short review. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(11):2112. DOI: 10.3390/diagnostics11112112.
8. *Camilleri M, Ford AC, Mawe GM, Dinning PG, Rao SS, Chey WD et al.* Chronic constipation. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17095. DOI: 10.1038/nrdp.2017.95.
9. *Ковалева О.В., Булычева И.В., Грачев А.Н., Бабкин Н.С., Мусаев Э.Р., Кушлинский Н.Е.* Прогностическая значимость экспрессии лиганда рецептора программируемой клеточной гибели PD-L1 в хордомиомах. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2021;10(S4):61–67. DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.61-67.  
*Kovaleva OV, Boulytcheva IV, Gratchev AN, Babkin NS, Musaev ER, Kushlinskii NE.* Prognostic significance of programmed cell death receptor ligand PD-L1 expression in chordoma. *Clinical and experimental morphology.* 2021;10(S4):61–67 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.61-67.
10. *Ломановская Т.А., Боронихина Т.В., Яцковский А.Н.* Оценка информативности морфологических изменений эритроцитов при гипervитаминозе А и выбор прогностических признаков его возникновения. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2022;11(1):73–78. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.73-78.  
*Lomanovskaya TA, Boronikhina TV, Yatskovskiy AN.* Assessment of the informative value of erythrocyte morphological changes in hypervitaminosis A and choice of prognostic signs of its onset. *Clinical and experimental morphology.* 2022;11(1):73–78 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.73-78.
11. *Heredia DJ, Dickson EJ, Bayguinov PO, Hennig GW, Smith TK.* Colonic elongation inhibits pellet propulsion and migrating motor complexes in the murine large bowel. *J Physiol.* 2010;588 (Pt 15):2919–34. DOI: 10.1113/jphysiol.2010.191445.
12. *Seguritan R, Bibawy J, Gaiamo T.* Redundant: a case of complicated dolichocolon in a neonate. *Radiol Case Rep.* 2019;14(9):1159-1162. DOI: 10.1016/j.radcr.2019.06.014.

**Информация об авторах**

Татьяна Ивановна Шевченко – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры патологической анатомии Донецкого государственного медицинского университета имени М. Горького.

Данил Сергеевич Швороб – ассистент кафедры патологической анатомии Донецкого государственного медицинского университета имени М. Горького.

Арина Ашотовна Абрамян – ординатор первого года обучения кафедры патологической анатомии Донецкого государственного медицинского университета имени М. Горького.

**Author information**

Tatiana I. Shevchenko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor of Anatomical Pathology Department, M. Gorky Donetsk State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2073-9772>

Danil S. Shvorob – Assistant, Anatomical Pathology Department, M. Gorky Donetsk State Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-6578-0050>

Arina A. Abramyan – 1<sup>st</sup>-year Resident, Anatomical Pathology Department, M. Gorky Donetsk State Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-6819-652X>

## Соотношение удельного объема коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся крыс

В.В. Иванова<sup>1</sup>, О.Н. Серебрякова<sup>1</sup>, И.В. Суходоло<sup>1</sup>, И.В. Мильто<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Северский биофизический научный центр ФМБА России, Северск, Россия

**Резюме. Введение.** Соотношение коллагена I и III типа в строме миокарда играет ключевую роль в определении биомеханических свойств стенки сердца. Цель исследования – изучить соотношение удельного объема коллагена I и III типа стромы миокарда левого желудочка недоношенных крыс.

**Материалы и методы.** Эксперимент проведен на 120 крысах Вистар обоего пола, из которых сформированы группы: доношенные животные, 22 суток гестации; преждевременно родившиеся животные, 21,5 суток и 21 сутки гестации. Гистологическим (по методу Массона) и иммуногистохимическими (выявление коллагена I и III типа) методами анализировали миокард левого желудочка доношенных и преждевременно родившихся крыс спустя 1, 1,5, 2 и 6 месяцев после рождения.

**Результаты.** Преждевременное рождение приводит к развитию миокардиального фиброза, выраженность которого тем сильнее, чем больше степень недоношенности. Вследствие преждевременного рождения наблюдается ускорение темпов накопления коллагена I типа в миокарде левого желудочка. Начиная со 2-го месяца постнатального периода удельный объем коллагена I типа доношенных и преждевременно родившихся крыс не отличается. Увеличение удельного объема коллагена III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся крыс наблюдается до 6-го месяца постнатального периода. Преждевременное рождение крыс приводит к снижению соотношения коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка на 2-м и 6-м месяцах постнатального периода.

**Заключение.** Преждевременное рождение крыс приводит к адаптивному ремоделированию соединительной ткани миокарда левого желудочка, которое заключается в первоначальном (на 1–1,5 месяцах постнатального периода) увеличении удельного объема коллагена I типа и дальнейшем (до 6-го месяца постнатального периода) увеличении удельного объема коллагена III типа по сравнению с аналогичными параметрами миокарда доношенных животных. Снижение на 2-м и 6-м месяцах постнатального периода онтогенеза соотношения удельного объема коллагена I и III типа свидетельствует об изменении биомеханических свойств миокарда левого желудочка преждевременно родившихся крыс.

**Ключевые слова:** преждевременное рождение, незрелость, ремоделирование сердца, миокардиальный фиброз, коллаген I типа, коллаген III типа

**Для корреспонденции:** Вера Владимировна Иванова. E-mail: ivvera92@ Rambler.ru

**Для цитирования:** Иванова В.В., Серебрякова О.Н., Суходоло И.В., Мильто И.В. Соотношение удельного объема коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся крыс. Клини. эксп. морфология. 2024;13(2):44–52. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.44-52.

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

Статья поступила 13.04.2023. Получена после рецензирования 16.05.2023. Принята в печать 20.06.2023.

## Type I/III collagen ratio in the left ventricular myocardium of prematurely born rats

V.V. Ivanova<sup>1</sup>, O.N. Serebryakova<sup>1</sup>, I.V. Sukhodolo<sup>1</sup>, I.V. Milto<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> Seversk Biophysical Research Center, Seversk, Russia

**Abstract. Introduction.** Type I/III collagen ratio in the myocardium plays a key role in determining the biomechanical properties of the heart. The aim was to study type I/III collagen ratio of the myocardial stroma of the left ventricle in prematurely born rats.

**Materials and methods.** The experiment included 120 Wistar rats of both sexes, which were divided into three groups. The control group included full-term animals (22 days of gestation), and groups 1 and 2 involved

preterm animals (21.5 and 21 days of gestation, respectively). We used histological (Masson staining) and immunohistochemical (detection of type I and III collagens) methods to analyze the left ventricular myocardium in term and preterm rats on months 1, 1.5, 2, and 6 of the postnatal period.

**Results.** Preterm birth leads to the development of myocardial fibrosis, whose severity correlates with the degree of prematurity. Due to preterm birth, the accumulation rate of type I collagen in the left ventricular myocardium accelerates. From month 2 of the postnatal period, the specific volume of type I collagen in term and preterm rats does not differ. An increase in the specific volume of type III collagen in the left ventricular myocardium in preterm rats is observed up to month 6 of the postnatal period. Preterm birth of rats results in decreased type I/III collagen ratio in the left ventricular myocardium in months 2 and 6 of the postnatal period.

**Conclusion.** Preterm birth of rats leads to adaptive remodeling of the connective tissue of the left ventricular myocardium, which consists in the initial (1–1.5 months of the postnatal period) growth in the specific volume of type I collagen and further (up to month 6 of the postnatal period) increase in the specific volume of type III collagen, compared to the same parameters of the myocardium of full-term animals. The decrease in type I/III collagen ratio on months 2 and 6 of the postnatal period indicates a change in biomechanical properties of the left ventricular myocardium in prematurely born rats.

**Keywords:** preterm birth, prematurity, cardiac remodeling, myocardial fibrosis, type I collagen, type III collagen

**Corresponding author:** Vera V. Ivanova. E-mail: ivvera92@rambler.ru

**For citation:** Ivanova V.V., Serebryakova O.N., Sukhodolo I.V., Milto I.V. Type I/III collagen ratio in the left ventricular myocardium of prematurely born rats. Clin. exp. morphology. 2024;13(2):44–52 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.44-52.

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

**Received** 13.04.2023. **Received in revised form** 16.05.2023. **Accepted** 20.06.2023.

## Введение

В мире ежегодно 5–15% беременностей заканчиваются преждевременными родами (рождение ребенка ранее 37 полных недель гестации) [1]. Совершенствование неонатального ухода сделало реальным сохранение жизни детям, родившимся на 22-й неделе беременности, с массой тела 500 граммов [2]. К сожалению, не только экстремально недоношенным детям, но даже детям с умеренной степенью недоношенности не гарантировано отсутствие отдаленных последствий преждевременного рождения на здоровье [3].

Развитие миокардиального фиброза вследствие преждевременного рождения продемонстрировано в клинических исследованиях [4] и в эксперименте [5]. Тем не менее соотношение коллагена I и III типа в стро-ме миокарда, которое играет ключевую роль в определении биомеханических свойств стенки сердца [6, 7], не рассматривалось.

Цель исследования – изучить соотношение удельного объема коллагена I и III типа стромы миокарда левого желудочка преждевременно родившихся крыс.

## Материалы и методы

Исследование проведено на 120 крысах Вистар обоего пола, родившихся в срок (контрольная группа, 20 самцов и 20 самок крыс), на 12 часов ранее срока (1-я группа, 20 самцов и 20 самок крыс) или на 24 часа ранее срока (2-я группа, 20 самцов и 20 самок крыс). Животные 1-й, 2-й и контрольной групп получены от интактных крыс Вистар по описанной нами ранее ме-

тодике [8]. Из крыс, родившихся в срок, сформирована контрольная группа. Продолжительность внутриутробного периода развития животных контрольной группы составила 22 суток, что согласуется с данными литературы [9, 10].

Преждевременно родившиеся крысы вошли в 1-ю и 2-ю группы. Преждевременные роды индуцировали подкожным введением мифепристона (1 мл, 10 мг/кг массы тела, Sigma-Aldrich, США) беременным самкам [11]. Для получения крыс, недоношенных на 12 часов (1-я группа), мифепристон вводили на 20,5 сутки беременности. Продолжительность внутриутробного периода развития крыс 1-й группы составила 21,5 сутки. Для получения крыс, недоношенных на 24 часа (2-я группа), мифепристон инъецировали на 20-е сутки беременности. Продолжительность внутриутробного периода развития крыс 2-й группы составила 21 сутки. Ранее на основании определения массы тела новорожденных животных нами верифицирована предложенная модель преждевременного рождения крыс [8].

Выведение крыс из эксперимента осуществляли асфиксией CO<sub>2</sub> на 1-м, 1,5-м, 2-м и 6-м месяцах постнатального периода. В каждой группе на каждый экспериментальный срок (1-й, 1,5-й, 2-й и 6-й месяцы) использовали 10 крыс: 5 самцов и 5 самок. При морфологическом исследовании изучали сердца крыс.

Уход за крысами и манипуляции с ними проводили согласно требованиям Совета Европейского сообщества об использовании лабораторных животных (86/609/ЕЕС). Протокол исследования одобрен реше-

нием локального этического комитета Сибирского медицинского государственного университета № 8475/1 от 30.11.2020.

*Гистологический и иммуногистохимический анализ.* Сердце крыс использовали для получения парафиновых поперечных срезов на микротоме HM335S (Thermo Fisher Scientific, Китай).

Для выявления коллагеновых волокон в миокарде левого желудочка доношенных и преждевременно родившихся крыс срезы окрашивали набором для окрашивания по методу Массона с анилиновым синим («Биовитрум», Россия).

Непрямым пероксидазным методом на срезах выявляли коллаген I типа и коллаген III типа, параллельно проводили постановку отрицательного контроля. Демаскировку антигенов осуществляли высокотемпературным воздействием на срезы в цитратном буфере (0,01 М, pH 6,0). В качестве первичных антител использовали кроличьи поликлональные антитела Anti-Collagen I antibody ab254113 (Abcam, Великобритания) и мышьиные моноклональные антитела Anti-Collagen III antibody [FH-7A] ab6310 (Abcam, Великобритания). Срезы инкубировали с первичными антителами в течение 45 минут при комнатной температуре (+25°C). Визуализацию иммуногистохимической реакции осуществляли при помощи Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit (Abcam, Великобритания), после чего срезы докрашивали гематоксилином Джилла («Биовитрум», Россия).

Гистологические и иммуногистохимические препараты исследовали при помощи Axioscope 40 (Zeiss, Германия). Фотосъемку микропрепаратов для последующей компьютерной морфометрии проводили цифровой камерой Canon G5 (Canon, Китай).

*Морфометрическое исследование и статистический анализ.* Стенка желудочка сердца может быть условно разделена на три равные зоны – верхушечную, среднюю и основную. Морфометрический анализ проведен для миокарда средней зоны боковой стенки левого желудочка сердца крыс.

На окрашенных по методу Массона микропрепаратах определяли удельный объем (УО) коллагеновых волокон миокарда левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс. На иммуногистохимических препаратах определяли УО позитивно окрашенных на коллаген I типа и коллаген III типа компонентов межклеточного вещества миокарда левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс. Соотношение УО коллагена I и III типа рассчитывали как отношение УО коллагена I типа к УО коллагена III типа.

Для компьютерной морфометрии применяли ImageJ 1.48 (NIH, США), определение УО проводили методом точечного счета [12]. Для анализа морфометрических показателей использовали фотографии пяти полей зрения каждого препарата.

Статистическая обработка количественных показателей проведена в SPSS 16.0 (IBM, США), применяли критерии Шапиро–Уилка и Манна–Уитни с поправкой Бонферрони, уровень статистической значимости принят  $p \leq 0,05$ . Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ).

## Результаты

В миокарде самцов и самок крыс контрольной, 1-й и 2-й групп коллагеновые волокна определяются периваскулярно и интерстициально, очаги фиброза не обнаружены (рис. 1, 2). С 1-го по 6-й месяц постнатального периода онтогенеза связанные с полом отличия УО коллагеновых волокон в миокарде левого желудочка крыс контрольной и 1-й групп нами не выявлены. Исследуемый показатель в миокарде самок крыс 2-й группы выше, чем у самок крыс 2-й группы, исключительно на 2-м месяце постнатального периода онтогенеза. Преждевременное рождение приводит к увеличению УО коллагеновых волокон стромы миокарда левого желудочка самцов и самок крыс, которое нивелируется к 6-му месяцу постнатального периода у животных 1-й группы и сохраняется до конца эксперимента у крыс 2-й группы (табл.).

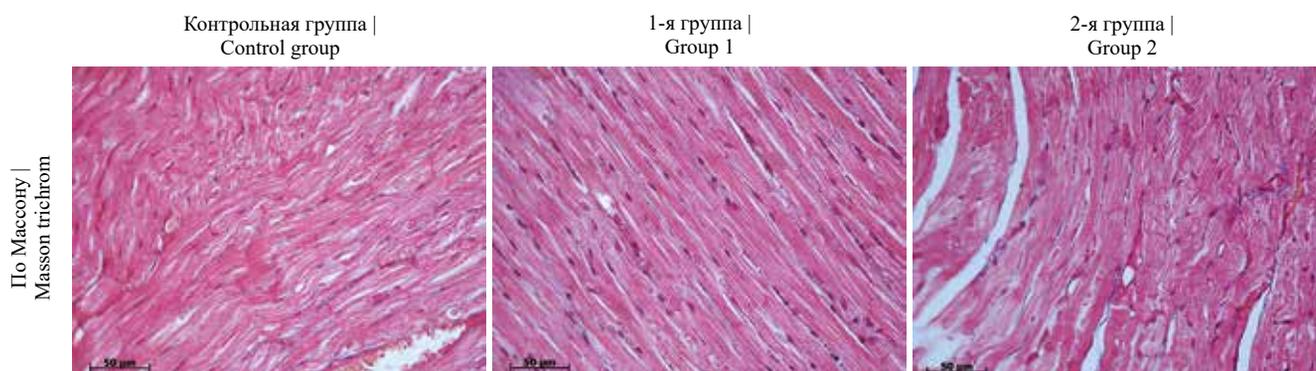


Рис. 1. Миокард левого желудочка доношенных (контрольная группа) и преждевременно родившихся (1-я и 2-я группы) самцов крыс, 6-й месяц постнатального периода. Окраска по методу Массона,  $\times 400$

Fig. 1. Left ventricular myocardium in full-term (control group) and prematurely born (groups 1 and 2) male rats, month 6 of the postnatal development. Masson stain,  $\times 400$

Коллагеновые волокна межклеточного вещества миокарда представлены преимущественно коллагеном I и III типа (рис. 2). Динамика накопления коллагена I типа в миокарде левого желудочка крыс продемон-

стрирована в таблице. В исследуемые сроки нами не обнаружено связанных с полом отличий УО коллагена I типа в миокарде крыс контрольной, 1-й и 2-й групп. Преждевременное рождение приводит к преходящему

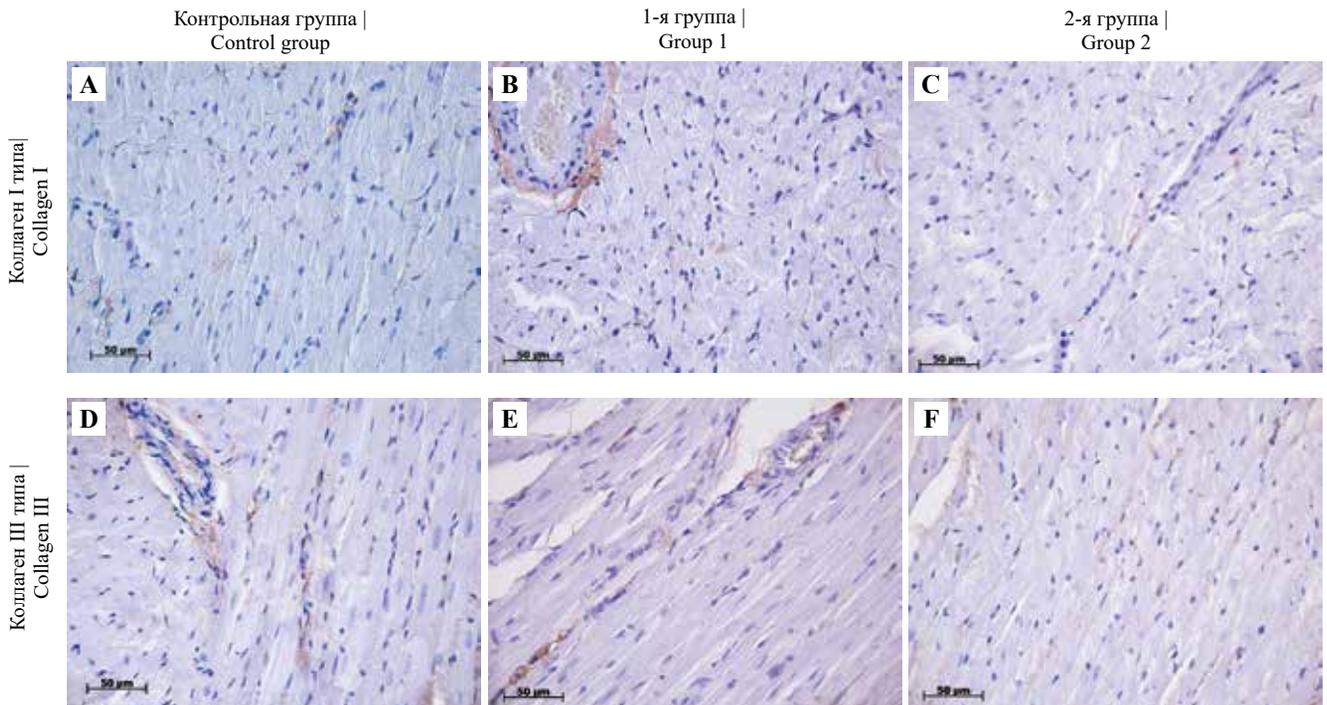


Рис. 2. Миокард левого желудочка доношенных (контрольная группа) и преждевременно родившихся (1-я и 2-я группы) самцов (B, D, F) и самок (A, C, E) крыс, 6-й месяц постнатального периода. Иммуногистохимическое выявление коллагена I типа (A, B, C) и коллагена III типа (D, E, F) с докрасиванием гематоксилином Джилла,  $\times 400$

Fig. 2. Left ventricular myocardium in full-term (control group) and prematurely born (groups 1 and 2) male (B, D, F) and female (A, C, E) rats, month 6 of the postnatal development. IHC assay of type I collagen (A, B, C) and type III collagen (D, E, F) with additional staining with Gill's hematoxylin,  $\times 400$

Таблица | Table

**Количественные показатели миокарда левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс |  
Quantitative indicators of the left ventricular myocardium in preterm and full-term rats**

| Группа  <br>Group  | Постнатальный период онтогенеза, месяц   Postnatal development, months |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |
|--|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|  | 1-й   Month 1  |                      | 1,5-й   Month 1.5    |                      | 2-й   Month 2        |                      | 6-й   Month 6        |                      |
| Пол  <br>Sex   | самцы  <br>males   | самки  <br>females   | самцы  <br>males     | самки  <br>females   | самцы  <br>males     | самки  <br>females   | самцы  <br>males     | самки  <br>females   |
| Удельный объем коллагеновых волокон в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс,<br>у.е., Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ )   Collagen fibers specific volume of the left ventricular myocardium in preterm and full-term rats,<br>с.и., Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ ) |  |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |
| Контрольная группа  <br>Control group  | 8,0<br>(7,0; 10,5)   | 8,0<br>(8,0; 10,0)   | 12,0<br>(9,0; 16,0)  | 10,5<br>(8,8; 15,8)  | 12,0<br>(11,0; 17,0) | 15,0<br>(12,0; 16,8) | 12,0<br>(9,0; 23,0)  | 18,0<br>(11,0; 20,0) |
| 1-я группа  <br>Group 1  | 24,0<br>(16,0; 26,0)   | 21,0<br>(17,0; 23,5) | 22,0<br>(17,5; 28,0) | 26,0<br>(22,5; 29,0) | 25,0<br>(19,0; 29,0) | 24,0<br>(21,0; 32,0) | 20,0<br>(18,5; 27,0) | 21,0<br>(16,0; 23,0) |
|  | $p_2=0,016$  | $p_2=0,007$          | $p_2=0,016$          | $p_2=0,008$          | $p_2=0,017$          | $p_2=0,032$          |                      |                      |

Таблица (продолжение) | Table (continued)

| Группа   Group  | Постнатальный период онтогенеза, месяц   Postnatal development, months |                      |                      |                            |                      |                          |                      |                      |
|---|--|----------------------|----------------------|----------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
|   | 1-й   Month 1  |                      | 1,5-й   Month 1.5    |                            | 2-й   Month 2        |                          | 6-й   Month 6        |                      |
| Пол   Sex   | самцы   males  | самки   females      | самцы   males        | самки   females            | самцы   males        | самки   females          | самцы   males        | самки   females      |
| 2-я группа   Group 2  | 25,5<br>(20,8; 30,0)   | 19,0<br>(17,0; 31,0) | 21,5<br>(17,8; 24,5) | 22,5<br>(18,8; 25,3)       | 22,0<br>(20,0; 25,0) | 25,0<br>(21,0; 27,5)     | 28,5<br>(25,3; 30,8) | 23,5<br>(21,3; 31,8) |
|   | $p_2=0,008$  | $p_2=0,009$          | $p_2=0,017$          | $p_2=0,016$                | $p_2=0,008$          | $p=0,042$<br>$p_2=0,008$ | $p_2=0,016$          | $p_2=0,013$          |
| Удельный объем коллагена I типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс, у.е.,<br>Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ )   Type I collagen specific volume of the left ventricular myocardium in preterm and full-term rats, c.u., Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ )     |  |                      |                      |                            |                      |                          |                      |                      |
| Контрольная группа   Control group  | 7,0<br>(6,0; 11,0)   | 6,0<br>(4,5; 9,0)    | 6,0<br>(5,3; 10,0)   | 9,5<br>(5,6; 11,8)         | 11,0<br>(7,5; 16,0)  | 11,0<br>(7,8; 12,5)      | 9,0<br>(7,5; 12,5)   | 10,0<br>(8,0; 14,0)  |
|   |  |                      |                      |                            | $p_1=0,042$          |                          |                      |                      |
| 1-я группа   Group 1  | 12,0<br>(10,0; 19,0)   | 12,0<br>(9,5; 15,5)  | 11,0<br>(7,0; 20,5)  | 13,0<br>(10,8; 13,0)       | 13,0<br>(9,5; 14,0)  | 13,0<br>(8,0; 16,5)      | 12,0<br>(9,0; 15,0)  | 7,0<br>(4,3; 12,5)   |
|   |  | $p_2=0,016$          |                      |                            |                      |                          |                      |                      |
| 2-я группа   Group 2  | 18,0<br>(9,0; 25,0)  | 15,0<br>(10,5; 22,0) | 21,0<br>(14,0; 24,5) | 18,0<br>(14,5; 21,5)       | 16,0<br>(10,5; 20,0) | 12,0<br>(9,5; 13,5)      | 11,0<br>(8,5; 14,0)  | 11,0<br>(7,5; 14,5)  |
|   |  | $p_2=0,016$          | $p_2=0,001$          | $p_2=0,005$<br>$p_3=0,017$ |                      |                          |                      |                      |
| Удельный объем коллагена III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс, у.е.,<br>Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ )   Type III collagen specific volume of the left ventricular myocardium in preterm and full-term rats, c.u., Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ ) |  |                      |                      |                            |                      |                          |                      |                      |
| Контрольная группа   Control group  | 1,0<br>(0,5; 3,0)  | 3,0<br>(1,5; 4,5)    | 4,0<br>(2,0; 5,0)    | 4,0<br>(2,5; 4,5)          | 6,5<br>(3,8; 12,3)   | 7,0<br>(5,0; 8,0)        | 11,0<br>(8,0; 17,5)  | 11,0<br>(6,0; 16,5)  |
|   |  |                      |                      |                            | $p_1=0,042$          |                          |                      |                      |
| 1-я группа   Group 1  | 2,0<br>(1,0; 6,5)  | 3,0<br>(1,5; 7,0)    | 4,0<br>(2,5; 5,5)    | 4,0<br>(2,5; 7,5)          | 11,0<br>(8,0; 19,5)  | 10,0<br>(6,5; 16,0)      | 11,0<br>(5,0; 17,0)  | 11,0<br>(8,5; 20,5)  |
|   |  |                      |                      |                            |                      |                          |                      |                      |
| 2-я группа   Group 2  | 6,0<br>(4,5; 8,5)  | 5,0<br>(3,0; 8,0)    | 9,0<br>(4,5; 10,5)   | 8,0<br>(4,0; 10,5)         | 12,0<br>(8,5; 16,3)  | 10,0<br>(7,5; 14,0)      | 16,5<br>(11,0; 19,8) | 16,0<br>(13,0; 17,8) |
|   | $p_2=0,008$  |                      |                      |                            | $p_2=0,017$          |                          | $p_2=0,003$          | $p_2=0,003$          |
| Соотношение коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс,<br>Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ )   Type I/III collagen ratio of the left ventricular myocardium in preterm and full-term rats, Me ( $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ )                    |  |                      |                      |                            |                      |                          |                      |                      |
| Контрольная группа   Control group  | 5,0<br>(2,8; 6,5)  | 2,7<br>(1,7; 3,5)    | 2,3<br>(1,8; 2,7)    | 2,8<br>(2,6; 3,0)          | 2,0<br>(1,4; 2,1)    | 1,5<br>(1,4; 1,7)        | 1,1<br>(1,1; 1,3)    | 1,4<br>(1,1; 1,8)    |
|   |  | $p=0,043$            |                      |                            |                      | $p=0,042$<br>$p_1=0,041$ | $p_1=0,043$          |                      |

Таблица (окончание) | Table (end)

| Группа   Group       | Постнатальный период онтогенеза, месяц   Postnatal development, months |                   |                   |                   |  |  |                       |   |
|----------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|--|--|-----------------------|---|
|                      | 1-й   Month 1  |                   | 1,5-й   Month 1.5 |                   | 2-й   Month 2                                  |  | 6-й   Month 6         |   |
| Пол   Sex            | самцы   males  | самки   females   | самцы   males     | самки   females   | самцы   males                                  | самки   females                                | самцы   males         | самки   females   |
| 1-я группа   Group 1 | 4,8<br>(3,3; 11,5)   | 4,0<br>(2,3; 6,8) | 3,5<br>(2,6; 3,8) | 3,3<br>(1,8; 3,8) | 1,2<br>(0,8; 1,2)                              | 1,2<br>(1,1; 1,3)                              | 1,0<br>(0,5; 1,9)     | 0,8<br>(0,6; 1,0)   |
|                      |  | p=0,043           |                   |                   | p <sub>1</sub> =0,042<br>p <sub>2</sub> =0,008 | p <sub>1</sub> =0,043<br>p <sub>2</sub> =0,016 |                       | p=0,042<br>p <sub>1</sub> =0,039<br>p <sub>2</sub> =0,016 |
| 2-я группа   Group 2 | 2,7<br>(1,6; 3,8)  | 3,0<br>(2,7; 3,8) | 2,3<br>(2,3; 3,4) | 2,3<br>(2,1; 3,8) | 1,3<br>(0,9; 1,4)                              | 1,2<br>(1,0; 1,3)                              | 0,8<br>(0,7; 0,9)     | 0,7<br>(0,6; 0,8)   |
|                      |  |                   |                   |                   | p <sub>1</sub> =0,042<br>p <sub>2</sub> =0,008 | p <sub>1</sub> =0,043<br>p <sub>2</sub> =0,008 | p <sub>2</sub> =0,008 | p <sub>1</sub> =0,042<br>p <sub>2</sub> =0,008            |

p – отличие от показателя самцов крыс; p<sub>1</sub> – отличие от показателя предыдущего срока; p<sub>2</sub> – отличие от показателя у крыс контрольной группы; p<sub>3</sub> – отличие от показателя у крыс 1-й группы  
Differences are significant in comparison with (1) the indicator of male rats (p), (2) the previous period indicator (p<sub>1</sub>), (3) the control group (p<sub>2</sub>), and (4) in comparison with the indicator of group 1 (p<sub>3</sub>)

увеличению УО коллагена I типа в миокарде левого желудочка крыс: у самок крыс 1-й группы – на 1-м месяце, у самцов крыс 2-й группы – на 1,5-м месяце, у самок крыс 2-й группы – на 1-м и 1,5-м месяцах постнатального периода онтогенеза (табл.).

Значения УО коллагена III типа в миокарде левого желудочка приведены в таблице. Нами установлено, что изучаемый показатель у крыс контрольной, 1-й и 2-й групп в исследуемые сроки не зависит от пола, но связан с выраженностью недоношенности. УО коллагена III типа в миокарде левого желудочка крыс 1-й группы не отличается от такового у животных контрольной группы. Исследуемый показатель у самок крыс 2-й группы выше, чем у самцов крыс контрольной группы, на 1-й, 2-й и 6-й месяц; у самок крыс 2-й группы – выше такового у самок крыс контрольной группы на 6-м месяце постнатального периода онтогенеза (табл.).

Соотношение УО коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка самцов и самок крыс всех экспериментальных групп уменьшается в ходе постнатального периода (табл.). Нами продемонстрировано, что соотношение коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка у самцов крыс контрольной группы выше, чем у самок крыс контрольной группы, на 1-м и 2-м месяцах постнатального периода онтогенеза. Подобная тенденция наблюдается и в 1-й группе: соотношение УО коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка самцов крыс превышает соответствующий показатель самок крыс на 1-м и 6-м месяцах постнатального периода онтогенеза. В исследуемые сроки у крыс 2-й группы

мы не наблюдали связанных с полом отличий изучаемого показателя. Преждевременное рождение приводит к уменьшению соотношения УО коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка самцов и самок крыс на 2-м и 6-м месяцах постнатального периода (табл.).

## Обсуждение

Мифепристон проходит через гематоплацентарный барьер, однако широко используется в клинической практике для стимуляции созревания шейки матки и индукции родовой деятельности, так как не оказывает негативного воздействия на состояние плода и новорожденного [13–16]. Тем не менее исследователи учитывают главным образом влияние мифепристона на перинатальные исходы и паттерн сердечной деятельности плода, тогда как его действие на пролиферацию, гибель кардиомиоцитов, ремоделирование межклеточного вещества миокарда остается неизученным.

В нашем исследовании основным фактором, оказывающим эффект на ремоделирование соединительной ткани миокарда левого желудочка, мы считаем не возможное влияние мифепристона, а структурную незрелость органов, так как выраженность наблюдаемых структурно-функциональных изменений миокарда возрастает с увеличением степени недоношенности животных.

Увеличение УО коллагеновых волокон в миокарде левого желудочка крыс в ходе эксперимента является закономерным возрастным изменением [17]. Нами показано ускорение накопления коллагеновых волокон в межклеточном веществе стромы миокарда левого

желудочка преждевременно родившихся крыс в сравнении с таковым у доношенных животных. Выраженность диффузного миокардиального фиброза тем больше, чем больше степень недоношенности.

Диффузный миокардиальный фиброз развивается в результате повышенных гемодинамических нагрузок, а также под влиянием нейроэндокринных и средовых факторов [18]. Вероятными причинами повышения гемодинамических нагрузок на сердце у преждевременно родившихся животных считается снижение эластических свойств аорты [19] и снижение плотности кровеносных капилляров [20].

Основные волокна межклеточного вещества стромы миокарда – коллаген I и III типа [21]. Мы продемонстрировали, что преждевременное рождение крыс приводит к увеличению темпов накопления коллагена I типа в миокарде левого желудочка. Однако начиная со 2-го месяца постнатального периода онтогенеза УО коллагена I типа доношенных и преждевременно родившихся самцов и самок крыс не отличается. Известно, что увеличение УО коллагена I типа сопровождается повышением ригидности стенок камер сердца: препятствует растяжению и способствует большей прочности миокарда, что можно расценивать как адаптацию сердца преждевременно родившихся животных к повышенным гемодинамическим нагрузкам [22, 23]. Изменение жесткости стенки сердца является причиной и ряда дезадаптивных проявлений. Интерстициальный и периваскулярный фиброз миокарда может ограничивать сокращение и расслабление кардиомиоцитов [24, 25], способствует аритмогенной активности [26] и ухудшает трофику кардиомиоцитов [27].

В настоящем исследовании показано, что увеличение УО коллагена III типа у преждевременно родившихся крыс сохраняется до 6-го месяца постнатального периода онтогенеза, что приводит к снижению соотношения УО коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся крыс на 2-м и 6-м месяцах постнатального периода онтогенеза. Известно, что коллаген III типа обладает меньшей прочностью и большей эластичностью в сравнении с коллагеном I типа. Увеличение УО коллагена III типа и снижение соотношения УО коллагена I и III типа способствуют сохранению пластических свойств миокарда [23]. Некоторые авторы связывают увеличение экспрессии коллагена III типа с сохранением систолической и диастолической функций миокарда [22, 28]. Однако известно, что экспрессия коллагена III типа повышена у пациентов с ишемической кардиомиопатией [29], а также при прогрессирующей дилатационной кардиомиопатии [30]. Таким образом, для оптимального функционирования сердца важен баланс прочности и пластичности миокарда, определяемый оптимальным соотношением коллагена I и III типа.

Наличие полового диморфизма соотношения коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка крыс

в норме и при умеренной степени недоношенности (у крыс 1-й группы) может свидетельствовать о влиянии эстрогенов и прогестиннов на ремоделирование миокарда. Тем не менее нами показано, что более значительная степень недоношенности (у крыс 2-й группы) нивелирует модулирующее влияние женских половых гормонов на ремоделирование миокарда.

## Заключение

Преждевременное рождение самцов и самок крыс приводит к адаптивному ремоделированию соединительной ткани миокарда левого желудочка, которое заключается в первоначальном (на 1–1,5-м месяце постнатального периода онтогенеза) увеличении удельного объема коллагена I типа и дальнейшем (до 6-го месяца постнатального периода онтогенеза) увеличении удельного объема коллагена III типа по сравнению с аналогичными параметрами миокарда доношенных животных. Снижение на 2-м и 6-м месяцах постнатального периода онтогенеза соотношения коллагена I и III типа стромы свидетельствует об изменении биомеханических свойств миокарда левого желудочка преждевременно родившихся крыс, а именно об увеличении пластичности стенки сердца.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – В.В. Иванова, И.В. Мильто.  
Сбор и обработка материала – В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова.  
Написание текста – В.В. Иванова.  
Редактирование – И.В. Суходоло, И.В. Мильто.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – V.V. Ivanova, I.V. Milto.  
Collected the data and performed the analysis – V.V. Ivanova, O.N. Serebryakova.  
Wrote the paper – V.V. Ivanova.  
Edited the manuscript – I.V. Sukhodolo, I.V. Milto.

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

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

## Литература/References

1. *Harrison MS, Goldenberg RL.* Global burden of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):74–9. DOI: 10.1016/j.siny.2015.12.007.
2. *Скрипниченко Ю.П., Баранов И.И., Токова З.З.* Статистика преждевременных родов. Проблемы репродукции. 2014;20(4):11–14. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22320321> (получено 05.04.2023).  
*Skripnichenko YuP, Baranov II, Tokova ZZ.* Statistics of the preterm births. *Russian Journal of Human Reproduction.* 2014;20(4):11–14 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22320321> (accessed 05.04.2023).
3. *Софронова Л.Н., Федорова Л.А., Кянксен А.Н., Шеварева Е.А., Ялфимова Е.А.* Поздние недоношенные – группа высокого риска ранних и отдаленных осложнений. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского.* 2018;97(1):131–140. DOI: 10.24110/0031-403X-2018-97-1-131-140.

- Sofronova LN, Fedorova LA, Kyanksep AN, Shevareva EA, Yal'fimova EA.* Late preterm – a group of high risk of early and distant complications. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky.* 2018;97(1):131–140 (In Russ.). DOI: 10.24110/0031-403X-2018-97-1-131-140.
4. *Lewandowski AJ, Raman B, Bertagnolli M, Mohamed A, Williamson W, Pelado JL et al.* Association of preterm birth with myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in young adulthood. *J Am Coll Cardiol.* 2021;78(7):683–92. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.05.053.
  5. *Lé B, Dahl MJ, Albertine KH, Sutherland MR, Black MJ.* Preterm birth with neonatal interventions accelerates collagen deposition in the left ventricle of lambs without affecting cardiomyocyte development. *CJC Open.* 2020;3(5):574–84. DOI: 10.1016/j.cjco.2020.12.017.
  6. *Wittig C, Szulcek R.* Extracellular matrix protein ratios in the human heart and vessels: how to distinguish pathological from physiological changes? *Front Physiol.* 2021;12:708656. DOI: 10.3389/fphys.2021.708656.
  7. *Попов М.А., Шумаков Д.В., Гуревич Л.Е., Федоров Д.Н., Зыбин Д.И., Ашевская В.Е и др.* Оценка функциональных свойств гибернирующего миокарда. Клиническая и экспериментальная морфология. 2023;12(1):59–67. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.59-67.  
*Popov MA, Shumakov DV, Gurevich LE, Fedorov DN, Zybin DI, Ashevskaya VE et al.* The evaluation of hibernating myocardium function. Clinical and experimental morphology. 2023;12(1):59–67 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.59-67.
  8. *Иванова В.В., Мильто И.В., Серебрякова О.Н., Суходоло И.В.* Влияние преждевременного рождения на развитие миокарда крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза. Цитология. 2021;63(5):442–448. DOI: 10.31857/S0041377121050060.  
*Ivanova VV, Milto IV, Serebrjakova ON, Suhodolo IV.* Influence of preterm birth on the rat myocardium development in the early postnatal period of ontogenesis. *Tsitologiya.* 2022;63(5):442–448 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0041377121050060.
  9. *Shynlova O, Kwong R, Lye SJ.* Mechanical stretch regulates hypertrophic phenotype of the myometrium during pregnancy. *Reproduction.* 2010;139(1):247–53. DOI: 10.1530/REP-09-0260.
  10. *Saito FH, Damasceno DC, Kempinas WG, Morceli G, Sinzato YK, Taylor KN et al.* Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development. *Diabetol Metab Syndr.* 2010;2(1):26. DOI: 10.1186/1758-5996-2-26.
  11. *Dudley DJ, Branch DW, Edwin SS, Mitchell MD.* Induction of preterm birth in mice by RU486. *Biol Reprod.* 1996;55(5):992–5. DOI: 10.1095/biolreprod55.5.992.
  12. *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия: Руководство. Москва: Медицина, 1990. 384 с.  
*Avtandilov GG.* Medical morphometry: Guideline. Moscow: Medicine, 1990. 384 p. (In Russ.).
  13. *Yelikar K, Deshpande S, Deshpande R, Lone D.* Safety and efficacy of oral mifepristone in pre-induction cervical ripening and induction of labour in prolonged pregnancy. *J Obstet Gynaecol India.* 2015;65(4):221–5. DOI: 10.1007/s13224-014-0584-6.
  14. *Baev OR, Romyantseva VP, Tsyachnyu OV, Kozlova OA, Sukhikh GT.* Outcomes of mifepristone usage for cervical ripening and induction of labour in full-term pregnancy. Randomized controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017;217:144–9. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2017.08.038.
  15. *Ляличкина Н.А., Пешев Л.П.* Эффективность подготовки шейки матки и индукции родов мифепристоном. Современные проблемы науки и образования. 2015;6:157. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25389737> (получено 05.04.2023).  
*Lyalichkina NA, Peshev LP.* Efficiency of preparation the cervix and induction labor with mifepristone. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya=Modern Problems of Science and Education.* 2015;6:157 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25389737> (accessed 05.04.2023).
  16. *Das R, Subedi N, Rajbhandari S, Gurung G.* Efficacy and safety of oral mifepristone in induction of labour in prolonged pregnancy. *J Kathmandu Med Coll.* 2022;11(1):42–7. DOI: 10.3126/jkmc.v11i1.45493.
  17. *Meschiari CA, Ero OK, Pan H, Finkel T, Lindsey ML.* The impact of aging on cardiac extracellular matrix. *Geroscience.* 2017;39(1):7–18. DOI: 10.1007/s11357-017-9959-9.
  18. *Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N.* Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: A consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(3):569–82. DOI: 10.1016/s0735-1097(99)00630-0.
  19. *Benny M, Hernandez DR, Sharma M, Yousefi K, Kulandavelu S, Batlahally S et al.* Neonatal hyperoxia exposure induces aortic biomechanical alterations and cardiac dysfunction in juvenile rats. *Physiol Rep.* 2020;8(1):e14334. DOI: 10.14814/phy2.14334.
  20. *Bonamy AK, Martin H, Jörneskog G, Norman M.* Lower skin capillary density, normal endothelial function and higher blood pressure in children born preterm. *J Intern Med.* 2007;262(6):635–42. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2007.01868.x.
  21. *Bashey RI, Martinez-Hernandez A, Jimenez SA.* Isolation, characterization, and localization of cardiac collagen type VI. Associations with other extracellular matrix components. *Circ Res.* 1992;70(5):1006–17. DOI: 10.1161/01.res.70.5.1006.
  22. *Uchinaka A, Yoshida M, Tanaka K, Hamada Y, Mori S, Maeno Y et al.* Overexpression of collagen type III in injured myocardium prevents cardiac systolic dysfunction by changing the balance of collagen distribution. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2018;156(1):217–226.e3. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2018.01.097.
  23. *Collier P, Watson CJ, van Es MH, Phelan D, McGorrian C, Tolan M et al.* Getting to the heart of cardiac remodeling; How collagen subtypes may contribute to phenotype. *J Mol Cell Cardiol.* 2012;52(1):148–53. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.10.002.
  24. *Maragiannis D, Alvarez PA, Ghosn MG, Chin K, Hinojosa JJ, Buegler JM et al.* Left ventricular function in patients with hypertrophic cardiomyopathy and its relation to myocardial fibrosis and exercise tolerance. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2018;34(1):121–9. DOI: 10.1007/s10554-017-1214-z.
  25. *Moreo A, Ambrosio G, De Chiara B, Pu M, Tran T, Mauri F et al.* Influence of myocardial fibrosis on left ventricular diastolic function: noninvasive assessment by cardiac magnetic reso-

- nance and echo. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2009;2(6):437–43. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.108.838367.
26. *Nguyen MN, Kiriazis H, Gao XM, Du XJ*. Cardiac fibrosis and arrhythmogenesis. *Compr Physiol*. 2017;7(3):1009–49. DOI: 10.1002/cphy.c160046.
27. *Dai Z, Aoki T, Fukumoto Y, Shimokawa H*. Coronary perivascular fibrosis is associated with impairment of coronary blood flow in patients with non-ischemic heart failure. *J Cardiol*. 2012;60(5):416–21. DOI: 10.1016/j.jcc.2012.06.009.
28. *Ravichandran LV, Puvanakrishnan R*. In vivo labeling studies on the biosynthesis and degradation of collagen in experimental myocardial infarction. *Biochem Int*. 1991;24(3):405–14. PMID: 1772419.
29. *Mukherjee D, Sen S*. Alteration of collagen phenotypes in ischemic cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 1991;88(4):1141–6. DOI: 10.1172/JCI115414.
30. *Soufen HN, Salemi VM, Aneas IM, Ramires FJ, Benício AM, Benvenuti LA et al*. Collagen content, but not the ratios of collagen type III/I mRNAs, differs among hypertensive, alcoholic, and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Braz J Med Biol Res*. 2008;41(12):1098–104. DOI: 10.1590/s0100-879x2008001200009.

### Информация об авторах

Вера Владимировна Иванова – кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета.

Ольга Николаевна Серебрякова – аспирантка, ассистент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета.

Ирина Владимировна Суходоло – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета.

Иван Васильевич Мильто – доктор биологических наук, доцент, исполняющий обязанности заведующего кафедрой морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета, заместитель директора по научной работе Северского биофизического научного центра.

### Author information

Vera V. Ivanova – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2530-1112>

Olga N. Serebryakova – Postgraduate Student, Assistant, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>

Irina V. Sukhodolo – Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University. <http://orcid.org/0000-0001-9848-2068>

Ivan V. Milto – Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Head (actg.) of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University; Deputy Director for Research, Seversk Biophysical Research Center. <https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>

## Пространственное распределение протеогликанов суставного хряща бедренных мыщелков и тибияльного плато при экспериментальном остеоартрозе у крыс

П.А. Крылов<sup>1</sup>, И.М. Романова<sup>1</sup>, Е.Д. Великанова<sup>1</sup>, В.В. Андрейцев<sup>2</sup>,  
В.Л. Загребин<sup>2</sup>, А.В. Терентьев<sup>2</sup>, В.В. Новочадов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, Волгоград, Россия

**Резюме.** *Введение.* В настоящее время крайне мало работ, посвященных изучению пространственного распределения протеогликанов суставного хряща бедренных мыщелков (БМ) и тибияльного плато (ТП) в норме и при экспериментальном остеоартрозе (ОА). Цель исследования – изучить пространственное распределение лубрицина и агрекана в суставном хряще БМ и ТП в норме и при экспериментальном ОА у крыс.

*Материалы и методы.* Исследование проводилось на 15 самцах крыс линии Вистар массой 250–300 граммов. Были сформированы три группы: интактная, группа с ложной операцией и группа с экспериментальным ОА. Моделирование ложной операции и экспериментального ОА осуществлялось путем введения в полость коленного сустава физиологического раствора и медицинского талька, соответственно. Для оценки пространственного распределения протеогликанов проводились морфологические и иммуногистохимические (ИГХ) исследования с использованием антител к агрекану и лубрицину.

*Результаты.* Через 3 недели в группе с ОА толщина суставного хряща БМ была на 15% больше, а ТП на 11% меньше в сравнении с интактной группой ( $p < 0,05$ ). В интактной группе численная плотность хондроцитов поверхностной зоны суставного хряща ТП была больше в 2,6 раза в сравнении с показателями в БМ, а через 3 недели при ОА наблюдалась обратная тенденция. Схожая закономерность была в промежуточной и глубокой зонах. ИГХ исследование выявило интенсивную положительную реакцию с антителами к лубрицину изогенных групп хондроцитов и экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) промежуточной зоны суставного хряща ТП в условиях экспериментального ОА.

*Заключение.* При экспериментальном ОА в суставном хряще БМ наблюдался интерстициальный рост, в то время как в ТП выявлены признаки разрушения суставной поверхности и хрящевого матрикса. При экспериментальном ОА происходит изменение распределения лубрицина. Для хондроцитов промежуточной зоны, локализованных на границе с поверхностной зоной, характерна положительная ИГХ реакция с антителами к лубрицину.

**Ключевые слова:** морфология, суставной хрящ, агрекан, лубрицин, бедренные мыщелки, тибияльное плато, остеоартроз, крыса

**Для корреспонденции:** Павел Андреевич Крылов. E-mail: krylov.pavel@volsu.ru

**Для цитирования:** Крылов П.А., Романова И.М., Великанова Е.Д., Андрейцев В.В., Загребин В.Л., Терентьев А.В., Новочадов В.В. Пространственное распределение протеогликанов суставного хряща бедренных мыщелков и тибияльного плато при экспериментальном остеоартрозе у крыс. Клини. эксп. морфология. 2024;13(2):53–60. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.53-60.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых ученых – кандидатов наук № МК-199.2022.1.4.

Статья поступила 29.09.2023. Получена после рецензирования 24.10.2023. Принята в печать 20.11.2023.

## Spatial distribution proteoglycans articular cartilage of femoral condyles and tibial plateau in experimental osteoarthritis in rats

P.A. Krylov<sup>1</sup>, I.M. Romanova<sup>1</sup>, E.D. Velikanova<sup>1</sup>, V.V. Andreycev<sup>2</sup>,  
V.L. Zagrebin<sup>2</sup>, A.V. Terentyev<sup>2</sup>, V.V. Novochadov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Volgograd State University, Volgograd, Russia

<sup>2</sup> Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

**Abstract.** *Introduction.* Very few works have studied the spatial distribution of proteoglycans of the articular cartilage of femoral condyles (FCs) and the tibial plateau (TP) in normal and experimental osteoarthritis (OA).

The aim of the paper was to analyze the spatial distribution of lubricin and aggrecan in the articular cartilage of FCs and the TP in normal and experimental OA in rats.

*Materials and methods.* We divided 15 male Wistar rats (weight 250–300 g) into three groups: intact, undergone sham surgery, and having experimental OA. Sham surgery was done with intra-articular injection of saline solution, and experimental OA was modeled by intra-articular injection of medical talc. We performed morphological and immunohistochemical studies using antibodies to Aggrecan and Lubricin to assess the spatial distribution of proteoglycans.

*Results.* After 3 weeks in the group with OA, the thickness of the articular cartilage of FCs and the TP was 15% greater and 11% less, respectively, in comparison with that in the intact rats ( $p < 0.05$ ). In the intact group, the numerical density of chondrocytes of the superficial zone of the articular cartilage of the TP was 2.6 times higher compared to that of FCs; after 3 weeks, the group with OA showed the opposite trend. A similar pattern was in the middle and deep zones. Immunohistochemistry revealed the presence of intense staining on lubricin of isogenic groups of chondrocytes and extracellular matrix (ECM) of the middle zone of the articular cartilage of the TP in experimental OA.

*Conclusion.* In experimental OA, we observed interstitial growth in the articular cartilage of FCs and signs of ECM destruction in superficial and middle zones of the articular cartilage of the TP. In experimental OA, the distribution of lubricin synthesis changes. For the middle zone chondrocytes, localized close to the surface zone, the color on lubricin is characteristic.

**Keywords:** morphology, articular cartilage, aggrecan, lubricin, femoral condyles, tibial plateau, osteoarthritis, rat

**Corresponding author:** Pavel V. Krylov. E-mail: krylov.pavel@volsu.ru

**For citation:** Krylov P.A., Romanova I.M., Velikanova E.D., Andreyev V.V., Zagrebina V.L., Terentyev A.V., Novochadov V.V. Spatial distribution proteoglycans articular cartilage of femoral condyles and tibial plateau in experimental osteoarthritis in rats. *Clin. exp. morphology.* 2024;13(2):53–60 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.53-60.

**Funding.** The study was supported by the grant from the President of the Russian Federation for state support for research by young Russian scientists – Candidates of Sciences, Project No. MK-199.2022.1.4.

**Received** 29.09.2023. **Received in revised form** 24.10.2023. **Accepted** 20.11.2023.

## Введение

Остеоартроз (ОА) является одним из наиболее распространенных заболеваний, им страдают примерно 15 миллионов человек в России [1] и более 300 миллионов человек в мире [2]. В связи с тем, что на возникновение и развитие ОА влияют такие факторы как возраст, высокие и неадекватные нагрузки на опорно-двигательный аппарат, ожирение, хронические воспалительные процессы, в настоящее время имеется тенденция к возрастанию частоты ОА в популяции [3, 4].

Безусловно, особенности строения суставного хряща обеспечивают ему определенную устойчивость к механическим нагрузкам, но она оказывается явно недостаточной при развитии ОА: происходит ремоделирование хрящевой ткани и ее компонентов [5], прогрессирует эндохондральное окостенение [6]. Это сопровождается повышением пролиферации хондроцитов, что может привести к их патологической кластеризации с параллельной активизацией их апоптоза [7, 8]. Одновременно с этим происходит нарушение баланса между синтезом и распадом компонентов хрящевого матрикса в целом, результатом которого является уменьшение объема суставного хряща [9]. Среди этих компонентов особый интерес представляют такие белки как агрекан и лубрицин, поскольку именно их баланс, по современным представлениям, определяет прочностные и трибологические свойства суставного хряща [10].

В клинической практике при постановке диагноза остеоартроза на поздних стадиях опираются в первую очередь на степень разрушения тиббиального плато (ТП), в том время как бедренным мышцелкам (БМ) уделяется гораздо меньше внимания [9], хотя они являются неотъемлемой частью коленного сустава и также участвуют в обеспечении его биомеханики [9, 11]. Исследование ремоделирования суставного хряща БМ, в частности пространственного распределения протеогликанов в нем, может быть использовано для разработки новых подходов к лечению ОА коленного сустава.

В связи с этим целью работы стало изучение пространственного распределения лубрицина и агрекана в суставном хряще БМ и ТП в норме и при экспериментальном ОА у крыс.

## Материалы и методы

Образцы суставного хряща были взяты у 15 белых крыс – самцов линии Вистар массой 250–300 граммов. Все манипуляции осуществляли в соответствии с требованиями Руководства по содержанию и уходу за лабораторными животными и международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (Страсбург, 1986). Все проведенные работы одобрены комиссией по экспертизе исследований локального этического коми-

тета Волгоградского государственного медицинского университета (протокол № 069 от 11.09.2023).

У шести крыс контрольной группы для исследования были взяты 12 интактных коленных суставов. В экспериментальной группе, состоящей из шести крыс, также были взяты 12 коленных суставов, где моделирование ОА выполняли путем внутрисуставного введения суспензии стерильного медицинского талька («АГАТ-МЕД», Россия). Для исключения ошибочной интерпретации результатов нами была сформирована группа, включающая трех животных (шесть коленных суставов), с ложной операцией, заключающейся во внутрисуставном введении стерильного физиологического раствора. Всех животных выводили из эксперимента спустя 3 недели, вводя им десятикратную дозу рометара (Bioveta, Чехия) – 200 мг/кг массы.

Подготовку материала для гистологического исследования проводили по стандартному протоколу. Окрашивание препаратов осуществляли гематоксилином Майера и эозином Y, а также сафранином O [12].

Иммуногистохимическое выявление протеогликанов суставного хряща проводили в соответствии с протоколом, описанным в [13]. В работе были использованы первичные поликлональные кроличьи антитела к лубрицину 1:50 (DF13331, Affinity Biosciences, Китай [RRID: AB\_2846350]) и агрекану 1:50 (DF7561 Affinity Biosciences, Китай [RRID: AB\_2841055]). В качестве вторичных антител применяли козы антитела против кролика с пероксидазной меткой (S0001, Affinity Biosciences, Китай [RRID: AB\_2839429]) в разведении 1:100 для всех антител. Набор DAB Chromogen (IS046, Cloud-Clone Corp., Китай) использовался для визуализации.

Фотопротоколирование микроскопических изменений проводили с помощью настольной системы визуализации EVOS FL (Thermo Fisher Scientific, США). Анализ изображений гистологических препаратов осуществляли в программе ImageJ v. 1.53t (National Institutes of Health, США). Морфометрия суставного хряща включала измерение толщины хряща (мкм), рельефа суставной поверхности (у.е.), численной плотности хондроцитов ( $1/\text{мм}^3$ ) каждой зоны. Для оценки деградации суставного хряща БМ и ТП использовали балльную шкалу, разработанную международным сообществом по исследованию ОА – OARSI и адаптированную для исследования суставов лабораторных крыс [14].

ИГХ реакцию с агреканом и лубрицином в цитоплазме, межклеточном пространстве и экстрацеллюлярном матриксе (ЭЦМ) оценивали полуколичественным методом: отсутствие реакции – 0; слабое окрашивание цитоплазмы хондроцитов – 1+, неполное (частичное окрашивание) территориального матрикса и хондроцитов – 2+, полное окрашивание хондроцитов и ЭЦМ – 3+.

Количественные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 12.0 (StatSoftInc., США) с расчетом показателей: медиана, 1-й квартиль, 3-й квартиль ( $Me [Q_1 \div Q_3]$ ). Для доказательства достоверности раз-

личий был применен критерий Краскела–Уоллиса для множественных групп и критерий Манна–Уитни для двух независимых выборок ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

У крыс интактной группы отсутствовали какие-либо повреждения суставного хряща БМ и ТП (оценка по шкале OARSI – 0 баллов). Внутрисуставное введение физиологического раствора приводило к незначительным изменениям суставного хряща, которые ограничивались появлением небольших участков слушивания клеток поверхностной зоны (оценка по шкале OARSI – 0–1 балл). На третьей неделе после введения медицинского талька при окрашивании гематоксилином и эозином и сафранином O обнаруживались значительные повреждения суставного хряща БМ и ТП. Наблюдались частичное или полное разрушение хрящевой ткани, множество гипертрофированных хондроцитов, а также сильное изменение рельефа суставной поверхности (оценка по шкале OARSI – 2–3 балла).

Морфометрия суставного хряща БМ и ТБ представлена в таблице 1.

В группе с ложной операцией толщина суставного хряща БМ была больше на 15%, а в группе с ОА на 20% в сравнении с величиной показателя у животных интактной группы ( $p = 0,001$ ). При анализе рельефа суставной поверхности выявлены незначительные различия между исследуемыми группами ( $p = 0,035$ ). В группе ложнооперированных крыс численная плотность клеток поверхностной зоны суставного хряща БМ была в 1,9 раза больше в сравнении с величиной показателя у интактных крыс, а после моделирования ОА в 2,3 раза больше ( $p < 0,002$ ). Сходная зависимость выявлена для численной плотности клеток промежуточной зоны суставного хряща. При анализе численной плотности хондроцитов глубокой зоны различия между исследуемыми группами не выявлены ( $p = 0,06$ ). В экспериментальных группах показаны достоверные различия толщины суставного хряща ТП, где при ОА данный параметр был меньше на 10,5%, а при ложной операции больше на 8% по сравнению с интактной группой ( $p = 0,001$ ).

У крыс с ложной операцией рельеф суставной поверхности не имел значительных отличий по сравнению с животными интактной группы, но при этом значение данного показателя было выше на 2% в группе с ОА ( $p = 0,025$ ). В группе с ложной операцией численная плотность хондроцитов поверхностной зоны суставного хряща ТП была в 1,5 раза меньше в сравнении с величиной показателя у интактных крыс, а после моделирования ОА в 2,8 раза меньше ( $p = 0,007$ ). Сходная зависимость выявлена для численной плотности клеток промежуточной и глубокой зон суставного хряща ( $p = 0,02$  и  $p = 0,036$ ).

В ходе проведенного анализа выявлены морфологические различия между суставным хрящом БМ и ТП при ОА. Через 3 недели в группе с ОА толщина

суставного хряща БМ была на 15% больше, а ТП на 11% меньше в сравнении с крысами интактной группы. При анализе рельефа суставной поверхности между суставным хрящом БМ и ТП различия в исследуемых группах не выявлены. В интактной группе численная плотность хондроцитов поверхностной

зоны суставного хряща ТП была больше в 2,6 раза в сравнении с таковой в БМ ( $p=0,0002$ ), а через 3 недели при ОА наблюдалась обратная картина ( $p=0,007$ ). Сходная закономерность обнаружена для численной плотности хондроцитов промежуточной и глубокой зон суставного хряща БМ и ТП.

Таблица 1 | Table 1

**Анализ морфометрических параметров суставного хряща бедренных мыщелков и тибияльного плато | Analysis of the morphometric parameters of femoral condyles and tibial plateau articular cartilage**

| Морфологические параметры   Morphological parameters   | Группы   Groups                      |                                |                              | Достоверность, критерий Краскела–Уоллиса   Certainty, Kruskal–Wallis test |
|--|--------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|---|
|  | интактная   intact                   | ложная операция   sham surgery | остеоартроз   osteoarthritis |   |
|  | Me (Q <sub>1</sub> ÷Q <sub>3</sub> ) |                                |                              | p   |
| <b>Суставной хрящ бедренных мыщелков   Articular cartilage of femoral condyles</b>   |                                      |                                |                              |   |
| Толщина хряща, мкм   Cartilage thickness, μm   | 130*<br>(100÷149)                    | 153*<br>(137÷170)              | 164*<br>(131÷205)            | 0,001   |
| Рельеф суставной поверхности, у.е.   Configuration of the articular surface, с.у.  | 1,02<br>(1,01÷1,03)                  | 1,04<br>(1,02÷1,07)            | 1,03<br>(1,03÷1,06)          | 0,035   |
| Численная плотность хондроцитов поверхностной зоны (1/мм <sup>3</sup> )   Numerical density of chondrocytes in the superficial zone (1/mm <sup>3</sup> ) | 109*<br>(72÷122)                     | 207<br>(184÷290)               | 255<br>(193÷323)             | 0,002   |
| Численная плотность хондроцитов промежуточной зоны (1/мм <sup>3</sup> )   Numerical density of chondrocytes in the middle zone (1/mm <sup>3</sup> )      | 251*<br>(160÷280)                    | 423<br>(365÷516)               | 367*<br>(259÷485)            | 0,072   |
| Численная плотность хондроцитов глубокой зоны (1/мм <sup>3</sup> )   Numerical density of chondrocytes in the deep zone (1/mm <sup>3</sup> )             | 93*<br>(61÷151)                      | 182<br>(83÷293)                | 146*<br>(132÷179)            | 0,06  |
| <b>Суставной хрящ тибияльного плато   Articular cartilage of the tibial plateau</b>  |                                      |                                |                              |   |
| Толщина хряща, мкм   Cartilage thickness, μm   | 256*<br>(228÷289)                    | 279*<br>(244÷298)              | 229*<br>(157÷255)            | 0,001   |
| Рельеф суставной поверхности, у.е.   Configuration of the articular surface, с.у.  | 1,01<br>(1,01÷1,02)                  | 1,01<br>(1,01÷1,03)            | 1,03<br>(1,00÷1,05)          | 0,025   |
| Численная плотность хондроцитов поверхностной зоны (1/мм <sup>3</sup> )   Numerical density of chondrocytes in the superficial zone (1/mm <sup>3</sup> ) | 289*<br>(242÷317)                    | 193<br>(173÷276)               | 102<br>(72÷156)              | 0,007   |
| Численная плотность хондроцитов промежуточной зоны (1/мм <sup>3</sup> )   Numerical density of chondrocytes in the middle zone (1/mm <sup>3</sup> )      | 548*<br>(302÷697)                    | 603<br>(501÷689)               | 316*<br>(249÷342)            | 0,02  |
| Численная плотность хондроцитов глубокой зоны (1/мм <sup>3</sup> )   Numerical density of chondrocytes in the deep zone (1/mm <sup>3</sup> )             | 442*<br>(179÷549)                    | 389<br>(251÷474)               | 201*<br>(99÷245)             | 0,036   |

\* Статистически значимые отличия параметров суставного хряща бедренных мыщелков и тибияльного плато, критерий Манна–Уитни ( $p \leq 0,05$ )

\* Statistically significant differences in the parameters of the articular cartilage of femoral condyles and the tibial plateau, Mann–Whitney U-test ( $p \leq 0.05$ )

Проведенное ИГХ исследование пространственного распределения агреканна и лубрицина в суставном хряще БМ и ТП показало, что в зависимости от состояния суставного хряща происходит его изменение (рис. 1, табл. 2).

В суставном хряще БМ и ТП интактных животных были выявлены иммунопозитивные к агрекану и лубрицину хондроциты и ЭЦМ, распределение которых соответствует нормальному состоянию (рис. 1 А–С).

В группе ложнооперированных крыс умеренная ИГХ реакция на агрекан выявлена в промежуточной и глубокой зонах суставного хряща БМ и ТП, а также местами в поверхностной зоне. У животных с ОА суставного хряща ТП помимо умеренной реакции на антитела к агрекану промежуточной и глубокой зоны выявлена слабая реакция в поверхностной зоне, в то время как в БМ она отсутствовала. В частности, хорошо было выражено диффузное распределение

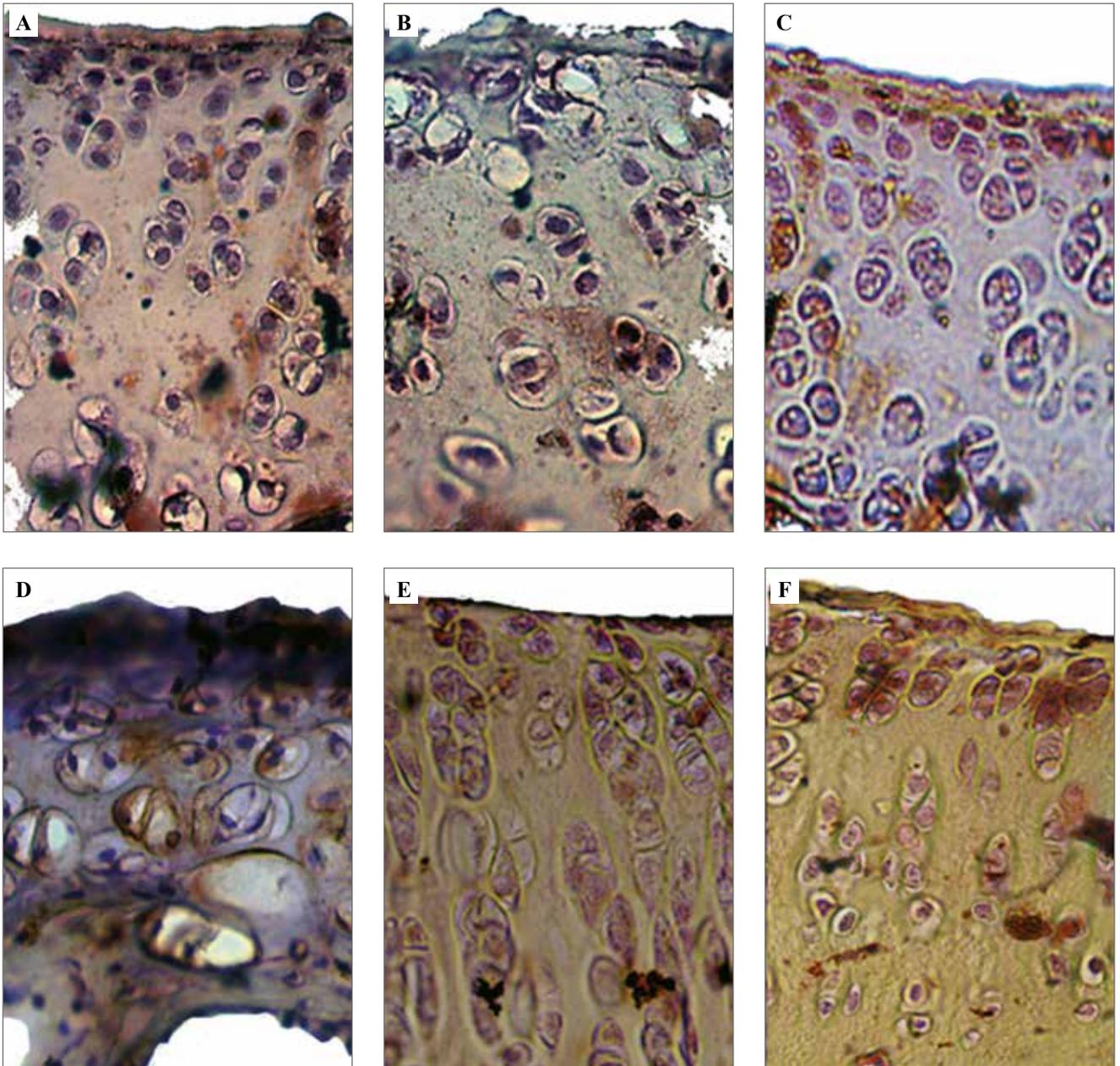


Рис. 1. Интактный суставной хрящ: А – тибального плато, В – бедренных мыщелков, ИГХ реакция на агрекан, С – бедренных мыщелков, ИГХ реакция на лубрицин. Суставной хрящ при ОА: D – бедренных мыщелков, E – тибального плато, ИГХ реакция на агрекан. F – суставной хрящ тибального плато, ИГХ реакция на лубрицин,  $\times 400$

Fig. 1. Intact articular cartilage: A – tibial plateau, B – femoral condyles, IHC assay on aggrecan, C – femoral condyles, IHC assay on lubricin. Articular cartilage (OA): D – femoral condyles, E – tibial plateau, IHC assay on aggrecan. F – articular cartilage of the tibial plateau, IHC assay on lubricin,  $\times 400$

**Оценка интенсивности ИГХ реакции на лубрицин и агрекан в суставном хряще бедренных мышелков и тибального плато | Assessment of the intensity of lubricin and aggrecan staining in the articular cartilage of femoral condyles and the tibial plateau**

| Группы   Groups  | Распределение агрекана (баллы), Me (Q)   Distribution the aggrecan (scores), Me (Q) |   |   |   |
|--|---|---|---|---|
|  | суставной хрящ бедренных мышелков   articular cartilage of the femoral condyles     |   | суставной хрящ тибального плато   articular cartilage of the tibial plateau |   |
|  | поверхностная зона   superficial zone   | промежуточная и глубокая зоны   middle and deep zones | поверхностная зона   superficial zone                                       | промежуточная и глубокая зоны   middle and deep zones |
| Интактная   Intact   | 0   | 2 (1–3)   | 0   | 2 (1–3)   |
| Ложная операция   Sham surgery   | 0   | 2 (1–2)   | 0 (0–1)   | 2 (1–2)   |
| Остеоартроз   Osteoarthritis   | 0   | 2 (1–2)   | 1 (0–1)   | 2 (1–2)   |
| Распределение лубрицина (баллы), Me (Q)   Lubricin distribution (scores), Me (Q) |   |   |   |   |
| Интактная   Intact   | 2 (2–3)   | 0   | 1 (1–2)   | 0   |
| Ложная операция   Sham surgery   | 1 (1–2)   | 0   | 2 (2–3)   | 1 (0–1)   |
| Остеоартроз   Osteoarthritis   | 1 (0–1)   | 1 (0–1)   | 1 (0–1)   | 3 (2–3)   |

маркера: в цитоплазме хондроцитов и ЭЦМ в границах изогенных групп (рис. 1 D, E).

В группе с ложной операцией и группе с ОА через 3 недели была выявлена слабая реакция на лубрицин в поверхностной зоне суставного хряща БМ и ТП. У животных с экспериментальным ОА обнаружено наличие умеренной или сильной положительной реакции на лубрицин в хондроцитах изогенных групп и ЭЦМ, на границе промежуточной и поверхностной зон в хряще БМ и ТП (рис. 1 F). Перераспределение лубрицина может быть связано с частичным разрушением поверхностной зоны суставного хряща ТП и потерей хондроцитов III типа.

### Обсуждение

Полученные данные указывают прежде всего на закономерный результат повреждения суставного хряща ТП вследствие искусственного снижения лубрикативных свойств синовиальной жидкости, вызванных введением медицинского талька [15, 16]. Исследования суставного хряща БМ в значительной степени направлены на изучение физико-химических и трибологических свойств у пациентов с различной этиологией ОА [17, 18] либо прилегающих тканей [19]. В результате проведенных исследований мы также смогли наблюдать различия в морфологических параметрах суставного хряща БМ и ТП в норме и при экспериментальном ОА. При повреждении целостности суставной сумки и моделировании повреждения происходит разрушение суставного хряща ТП и при этом наблюдается интерсти-

циальный рост суставного хряща БМ за счет деления хондроцитов и увеличения синтеза компонентов ЭЦМ, что, возможно, является одним из компенсаторных механизмов при ОА.

В ходе исследования пространственного распределения основных протеогликанов суставного хряща мы подтвердили, что на третьей неделе после моделирования ОА снижается интенсивность ИГХ реакции на агрекан и лубрицин [20]. Изначально предполагалось, что при развитии ОА вполне закономерно произойдет полное или частичное разрушение поверхностной зоны суставного хряща, которое в итоге приведет к гибели хондроцитов поверхностной зоны и уменьшению синтеза лубрицина. В перспективе такая тенденция должна была вызвать полное необратимое разрушение суставного хряща. Анализ результатов ИГХ суставного хряща ТП показал, что хондроциты промежуточной зоны в условиях разрушения поверхностной зоны и гибели клеток, предположительно, начинают осуществлять синтез лубрицина.

Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего изучения ремоделирования, тканевой инженерии [21] суставного хряща в условиях ОА коленного сустава, а также применения клеточных технологий для восстановительной медицины [22]. Это предполагает проведение дополнительных исследований, особенно при длительных экспериментах в отношении влияния на морфологические показатели хрящевой ткани и хондроцитов, а также специфических маркеров разрушения хрящевого матрикса в каждой зоне суставного хряща.

## Заключение

В ходе исследования пространственного распределения агрекана и лубрицина в норме и при экспериментальном остеоартрозе, вызванном путем внутрисуставного введения медицинского талька в полость коленного сустава, выявлены два факта, имеющие отношение к регенерации суставного хряща при развитии остеоартроза.

Суставной хрящ бедренных мышцелков и суставной хрящ тибиаляного плато морфологически различаются как в норме, так и при экспериментальном остеоартрозе. В частности, при моделировании остеоартроза у суставного хряща бедренных мышцелков был зафиксирован интерстициальный рост, в то время как суставной хрящ тибиаляного плато имел признаки разрушения суставной поверхности и хрящевого матрикса в целом по сравнению с интактным суставным хрящом.

При экспериментальном остеоартрозе изменяется распределение лубрицина. В хондроцитах и экстрацеллюлярном матриксе промежуточной зоны, локализованных на границе с поверхностной зоной, для которых характерно синтезировать агрекан, выявляется положительная иммуногистохимическая реакция с антителами к лубрицину.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – П.А. Крылов,

В.В. Новочадов.

Сбор и обработка материала – И.М. Романова, Е.Д. Великанова,

В.В. Андрейцев, А.В. Терентьев, П.А. Крылов.

Написание текста – П.А. Крылов.

Редактирование – В.Л. Загребин, В.В. Новочадов.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – P.A. Krylov, V.V. Novochadov.

Collected the data and performed the analysis – I.M. Romanova, E.D. Velikanova, V.V. Andreyev, A.V. Terentyev, P.A. Krylov.

Wrote the paper – P.A. Krylov.

Edited the manuscript – V.L. Zagrebina, V.V. Novochadov.

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

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

## Литература/References

1. *Portyannikova O.O., Tsvinger S.M., Govorin A.V., Romanova E.H.* Анализ распространенности и факторов риска развития остеоартрита в популяции. Современная ревматология. 2019;13(2):105–111. DOI: 10.14412/1996-7012-2019-2-105-111. *Portyannikova OO, Tsvinger SM, Govorin AV, Romanova EN.* Analysis of the prevalence and risk factors of osteoarthritis in a population. *Modern Rheumatology Journal.* 2019;13(2):105–111 (In Russ.). DOI: 10.14412/1996-7012-2019-2-105-111.
2. *Boer CG, Hatzikotoulas K, Southam L, Stefánsdóttir L, Zhang Y, Coutinho de Almeida R et al.* Deciphering osteoarthritis genetics across 826,690 individuals from 9 populations. *Cell.* 2021;184(18):4784–818.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2021.07.038.
3. *Новиков В.Б., Новакова О.Н., Чурносков М.И.* Факторы риска и молекулярные основы этиопатогенеза остеоартроза коленного сустава (обзор литературы). *Гений ортопедии.* 2021;27(1):112–120. DOI: 10.18019/1028-4427-2021-27-1-112-120. *Novakov VB, Novakova ON, Churnosov MI.* Risk factors and molecular entities of the etiopathogenesis of the knee osteoarthritis (literature review). *Genij Ortopedii = Orthopaedic Genius.* 2021;27(1):112–120 (In Russ.). DOI: 10.18019/1028-4427-2021-27-1-112-120.
4. *Abujaber S, Altubasi I, Hamdan M, Al-Zaben R.* Impact of end-stage knee osteoarthritis on perceived physical function and quality of life: a descriptive study from Jordan. *PloS One.* 2023;18(6):e0286962. DOI: 10.1371/journal.pone.0286962.
5. *Li Z, Lu J.* CircRNAs in osteoarthritis: research status and prospect. *Front Genet.* 2023;14:1173812. DOI: 10.3389/fgene.2023.1173812.
6. *Dreier R.* Hypertrophic differentiation of chondrocytes in osteoarthritis: the developmental aspect of degenerative joint disorders. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(5):216. DOI: 10.1186/ar3117.
7. *Chen H, Tan XN, Hu S, Liu RQ, Peng LH, Li YM et al.* Molecular mechanisms of chondrocyte proliferation and differentiation. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:664168. DOI: 10.3389/fcell.2021.664168.
8. *Wu X, Sun S, Wu X, Sun Z.* Multitech-based study on medicinal material basis and action mechanism of herbal formula Xian-Ling-Gu-Bao capsule in treatment of osteoarthritis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2022;2022:6986372. DOI: 10.1155/2022/6986372.
9. *Zhang H, Wang L, Cui J, Wang S, Han Y, Shao H et al.* Maintaining hypoxia environment of subchondral bone alleviates osteoarthritis progression. *Sci Adv.* 2023;9(14):eabo7868. DOI: 10.1126/sciadv.abo7868.
10. *Giorgino R, Albano D, Fusco S, Peretti GM, Mangiavini L, Messina C.* Knee osteoarthritis: epidemiology, pathogenesis, and mesenchymal stem cells: what else is new? An update. *Int J Mol Sci.* 2023;24(7):6405. DOI: 10.3390/ijms24076405.
11. *Liu Z, Hui Mingalone CK, Gnanatheepam E, Hollander JM, Zhang Y, Meng J et al.* Label-free, multi-parametric assessments of cell metabolism and matrix remodeling within human and early-stage murine osteoarthritic articular cartilage. *Commun Biol.* 2023;6(1):405. DOI: 10.1038/s42003-023-04738-w.
12. *Schmitz N, Laverty S, Kraus VB, Aigner T.* Basic methods in histopathology of joint tissues. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010;18 Suppl 3:S113–6. DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.026.
13. *Kim SW, Roh J, Park CS.* Immunohistochemistry for pathologists: protocols, pitfalls, and tips. *J Pathol Transl Med.* 2016;50(6):411–18. DOI: 10.4132/jptm.2016.08.08.
14. *Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell PA et al.* Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006;14(1):13–29. DOI: 10.1016/j.joca.2005.07.014.
15. *Щелкунова Е.И., Воронаева А.А., Русова Т.В., Штонус И.С.* Применение экспериментального моделирования при изучении патогенеза остеоартроза (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019;39(2):27–39. DOI: 10.15372/SSMJ20190203. *Shchelkunova EI, Voropaeva AA, Rusova TV, Shtopis IC.* The application of experimental modeling to the study of the osteoarthrosis pathogenesis (review). *Sibirskij Nauchnyj*

- Medicinskij Zhurnal = The Siberian Scientific Medical Journal. 2019;39(2):27–39 (In Russ.). DOI: 10.15372/SSMJ20190203.
16. Османова С.О., Османов О.О., Алимханова А.А. Особенности возникновения экспериментального остеоартроза, индуцированного дексаметазоном и тальком. Молекулярная медицина. 2023;21(1):50–55. DOI: 10.29296/24999490-2023-01-07. *Osmanova SO, Osmanov OO, Alimkhanova AA.* Features of experimental osteoarthritis caused by dexamethasone and talc. *Molekulyarnaya Meditsina = Molecular Medicine.* 2023;21(1):50–55 (In Russ.). DOI: 10.29296/24999490-2023-01-07.
  17. Yokuş A, Toprak M, Arslan H, Toprak N, Akdeniz H, Gündüz AM. Evaluation of distal femoral cartilage by B-mode ultrasonography and shear wave elastography in patients with knee osteoarthritis: a preliminary study. *Acta Radiol.* 2021;62(4):510–514. DOI: 10.1177/0284185120930642.
  18. Deng W, Lin M, Yu S, Liang H, Zhang Z, Liu C. Quantifying region-specific elastic properties of distal femoral articular cartilage: a shear-wave elastography study. *Appl Bionics Biomech.* 2022;2022:9406863. DOI: 10.1155/2022/9406863.
  19. Koller U, Waldstein W, Krenn V, Windhager R, Boettner F. Varus knee osteoarthritis: elevated synovial CD15 counts correlate with inferior biomechanical properties of lateral-compartment cartilage. *J Orthop Res.* 2018;36(3):841–46. DOI: 10.1002/jor.23708.
  20. Bhatti FU, Jeong YH, Kim DG, Yi AK, Brand DD, Hasty KA et al. Characterization of non-invasively induced post-traumatic osteoarthritis in mice. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(9):1783. DOI: 10.3390/antiox11091783.
  21. Арутюнян И.В., Дубовая Т.К. Криоконсервация тканеинженерных конструкций для регенеративной медицины. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(2):6–12. DOI: 10.31088/CEM2021.10.2.6-12. *Arutyunyan IV, Dubovaya TK.* Cryopreservation of tissue-engineered constructs in regenerative medicine. *Clinical and experimental morphology.* 2021;10(2):6–12 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.2.6-12.
  22. Матвеева Д.К., Андреева Е.П., Новиков Н.Н., Пустовой В.И., Буравкова Л.Б. Структурная организация и состав внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при различном уровне содержания кислорода *in vitro*. Клиническая и экспериментальная морфология. 2020;9(1):57–63. DOI: 10.31088/CEM2020.9.1.57-63. *Matveeva DK, Andreeva EP, Novikov NN, Pustovoy VI, Buravkova LB.* Structural organization and composition of extracellular matrix of multipotent mesenchymal stromal cells under different oxygen levels *in vitro*. *Clinical and experimental morphology.* 2020;9(1):57–63 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2020.9.1.57-63.

### Информация об авторах

Павел Андреевич Крылов – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и биоинженерии Волгоградского государственного университета.

Ирина Михайловна Романова – студентка 5-го курса кафедры биологии и биоинженерии Волгоградского государственного университета.

Екатерина Дмитриевна Великанова – студентка 5-го курса кафедры биологии и биоинженерии Волгоградского государственного университета.

Владимир Владимирович Андрейцев – студент 4-го курса кафедры биологии и биоинженерии Волгоградского государственного университета.

Валерий Леонидович Загребин – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии Волгоградского государственного медицинского университета.

Андрей Владимирович Терентьев – старший преподаватель кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии Волгоградского государственного медицинского университета.

Валерий Валерьевич Новочадов – доктор медицинских наук, профессор кафедры биологии и биоинженерии Волгоградского государственного университета.

### Author information

Pavel A. Krylov – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Biology and Bioengineering, Volgograd State University. <https://orcid.org/0000-0001-9587-5886>

Irina M. Romanova – 5<sup>th</sup>-year Student, Department of Biology and Bioengineering, Volgograd State University. <https://orcid.org/0009-0000-8635-8529>

Ekaterina D. Velikanova – 5<sup>th</sup>-year Student, Department of Biology and Bioengineering, Volgograd State University. <https://orcid.org/0009-0003-4093-7447>

Vladimir V. Andreycev – 4<sup>th</sup>-year Student, Department of Biology and Bioengineering, Volgograd State University. <https://orcid.org/0000-0001-9755-818X>

Valeriy L. Zagrebina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Volgograd State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-9559-9196>

Andrey V. Terentyev – Senior Lecturer, Department of Histology, Embryology, Cytology, Volgograd State Medical University. <https://orcid.org/0009-0009-7972-3941>

Valeriy V. Novochadov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Biology and Bioengineering, Volgograd State University. <https://orcid.org/0000-0001-6317-7418>

## Клинико-морфологическое наблюдение высокодифференцированной нейроэндокринной опухоли головки поджелудочной железы на фоне синдрома фон Гиппеля–Линдау

*Н.В. Кретьова, А.А. Харламова, О.А. Лобанова, Т.Г. Володькина, Н.Б. Парамонова, Е.Е. Руденко, Е.А. Коган, Т.А. Демура*

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

**Резюме.** Синдром фон Гиппеля–Линдау (von Hippel-Lindau disease, VHL) – редкое аутосомно-доминантное генетическое заболевание, характеризующееся образованием доброкачественных и злокачественных опухолей. В 10–20% случаев у пациентов развивается нейроэндокринная опухоль поджелудочной железы. В статье представлен клинико-морфологический случай развития высокодифференцированной нейроэндокринной опухоли головки поджелудочной железы на фоне синдрома VHL. Диагноз был подтвержден позитивной экспрессией антител к синаптофизину и хромогранину А в клетках опухоли. Индекс пролиферации (Ki-67) составил менее 3%. Помимо этого в хвосте поджелудочной железы была обнаружена многокамерная серозная цистаденома без признаков нейроэндокринной дифференцировки, что подтверждено позитивной реакцией с антителами к СА IX и MUC6, негативной с антителами к синаптофизину в эпителиальных клетках.

**Ключевые слова:** синдром фон Гиппеля–Линдау, нейроэндокринная опухоль, поджелудочная железа, иммуногистохимическое исследование

**Для корреспонденции:** Алена Алексеевна Харламова. E-mail: harlamovaAA01@gmail.com

**Для цитирования:** Кретьова Н.В., Харламова А.А., Лобанова О.А., Володькина Т.Г., Парамонова Н.Б., Руденко Е.Е., Коган Е.А., Демура Т.А. Клинико-морфологическое наблюдение высокодифференцированной нейроэндокринной опухоли головки поджелудочной железы на фоне синдрома фон Гиппеля–Линдау. Клинико-эксп. морфология. 2024;13(2):61–66. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.61-66.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» (№ 075-15-2022-304).

Статья поступила 10.07.2023. Получена после рецензирования 20.07.2023. Принята в печать 20.11.2023.

## Clinical and morphological case of a well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumor accompanied by von Hippel-Lindau disease

*N.V. Kretova, A.A. Kharlamova, O.A. Lobanova, T.G. Volodkina, N.B. Paramonova, E.E. Rudenko, E.A. Kogan, T.A. Demura*

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Abstract.** Von Hippel-Lindau (VHL) disease is a rare autosomal dominant genetic disease characterized by the formation of benign and malignant tumors. From 10 to 20% of patients develop a pancreatic neuroendocrine tumor (panNET). This article presents a clinical and morphological case that describes a well-differentiated neuroendocrine tumor of the pancreatic head accompanied by VHL syndrome. Positive Synaptophysin and Chromagranin A staining of tumor cells confirmed the diagnosis. The proliferation index (Ki-67) was less than 3%. In addition, serous cystadenoma without signs of neuroendocrine differentiation was found in the pancreatic tail, which was confirmed by positive reaction with antibodies to CA IX and MUC6 and a negative reaction with antibodies to Synaptophysin in the epithelial cells.

**Keywords:** von Hippel-Lindau syndrome, neuroendocrine tumor, pancreas, immunohistochemical study

**Corresponding author:** Alyona A. Kharlamova. E-mail: harlamovaAA01@gmail.com

**For citation:** Kretova N.V., Kharlamova A.A., Lobanova O.A., Volodkina T.G., Paramonova N.B., Rudenko E.E., Kogan E.A., Demura T.A. Clinical and morphological case of a well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumor accompanied by von Hippel-Lindau disease. Clin. exp. morphology 2024;13(2):61–66 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.61-66.

**Funding.** The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of state support for the creation and development of World-Class Research Centers “Digital biodesign and personalized healthcare” (No. 075-15-2022-304).

**Received** 10.07.2023. **Received in revised form** 20.07.2023. **Accepted** 20.11.2023.

## Введение

Синдром фон Гиппеля–Линдау – редкое аутосомно-доминантное наследуемое генетическое заболевание, к которому приводит мутация в обоих аллелях гена-супрессора опухолевого роста *VHL*, находящегося в участке хромосомы 3p25-26 [1–3]. Его частота составляет около 1 на 36 000 человек [2]. Синдром характеризуется образованием различных доброкачественных и злокачественных опухолей, а также кист [2, 4]. Поражаются сетчатка, центральная нервная система (ЦНС), почки, надпочечники. Возможно формирование гемангиобластомы в мозжечке, головном, спинном мозге и сетчатке, феохромоцитомы, а также почечно-клеточного рака [5]. Также могут встречаться опухоли эндолимфатического мешочка, поджелудочной железы (ПЖ) (нейроэндокринные опухоли, серозные цистаденомы), параганглиомы [1, 6].

Синдром фон Гиппеля–Линдау клинически классифицируют на два типа: первый протекает без феохромоцитомы, второй характеризуется развитием феохромоцитомы и в зависимости от риска развития рака почки подразделяется на подтипы 2А и 2В [1, 4]. Некоторые специалисты также выделяют подтип 2С с высоким риском развития феохромоцитомы и низким риском развития других типов опухолей (ЦНС, сетчатки и почек) [4, 7].

Нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (НЭОПЖ) – это новообразования из клеток гастроэнтерогепатической эндокринной системы [8, 9]. НЭОПЖ составляют всего 1–2% от всех возможных панкреатических новообразований [10]. Данные опухоли делятся на функционирующие, которые рано обнаруживаются из-за появления ярких клинических симптомов, связанных с гиперпродукцией определенных гормонов, и нефункционирующие, обнаруживаемые довольно поздно [11]. Частота встречаемости НЭОПЖ у пациентов с синдромом фон Гиппеля–Линдау составляет 10–20%, это относительно редкая локализация новообразования. Практически во всех случаях нейроэндокринная опухоль ПЖ при этом синдроме является нефункционирующей [9]. При гистологическом исследовании *VHL*-ассоциированной нейроэндокринной опухоли могут определяться клетки со светлой цитоплазмой, схожие с клетками почечно-клеточного рака и клетками серозной цистаденомы ПЖ [7]. Наряду с ними могут встречаться также липидсодержащие пенные клетки [12].

## Клиническое наблюдение

Приводим наблюдение болезни фон Гиппеля–Линдау у женщины 40 лет, сопровождающейся развитием множества серозных однокамерных и многокамерных цистаденом в сочетании с НЭОПЖ. В течение

девяти лет пациентка наблюдалась с хроническим панкреатитом с поликистозом ПЖ. За 1,5 года до данной госпитализации в связи с жалобами на головную боль, головокружение, слабость, тошноту и рвоту поступила в нейрохирургический стационар, где было выявлено объемное образование головного мозга, по поводу которого в 2021 году выполнена операция: удаление солидно-кистозного образования червя и полушария мозжечка. Морфологическая картина соответствовала таковой при гемангиобластоме. В следующем году при МРТ головного мозга были обнаружены мелкие гемангиобластомы мозжечка (до 5–6 мм в диаметре). Также пациентка наблюдалась у офтальмолога по поводу ангиоматоза сетчатки. После секвенирования экзонов 1–3 генов *VHL* была определена миссенс-мутация с.194 C>T (p.S65L) в гетерозиготном состоянии. Поставлен диагноз «болезнь фон Гиппеля–Линдау». В связи со множественными кистозными нейроэндокринными опухолями ПЖ, диагностированными на МРТ, КТ, УЗИ, женщина госпитализирована и направлена на оперативное лечение.

По данным компьютерной томографии, в структуре ПЖ определялись множественные кистозные образования размерами от 3 до 56 мм в диаметре, самое крупное из них располагалось в головке железы. В крючковидном отростке находилось гиперваскулярное образование размерами 27 × 29 мм с наличием кальцината в центральных отделах диаметром 7 мм. Кроме того, в головке определялось гиперваскулярное образование размерами 8 × 10 мм, несколько кверху визуализировался гиперваскулярный участок с нечеткими контурами, диаметром 3 мм. Наряду с этим при МСКТ обнаружены образования в правой почке и правом надпочечнике. Выполнена пункционная биопсия опухоли правой почки под контролем КТ. Она оказалась малоинформативной, в биоптатах были обнаружены фрагменты ткани почки обычного гистологического строения, ткань опухоли в исследованном материале получена не была. Клиническая картина феохромоцитомы, свойственная данному синдрому, у пациентки не наблюдалась.

Во время операции в связи со множественностью новообразований и их большими размерами были удалены вся ПЖ вместе с двенадцатиперстной кишкой, 15 см тощей кишки и желчным пузырем.

При макроскопическом исследовании фрагмент ПЖ был размерами 9 × 7 × 6 см, в области головки – плотный узел размерами 4 × 4 × 3 см, на разрезе пестрого вида: ярко-желтого цвета с кровоизлияниями и волокнистыми прослойками. В центре очаговый петрификат в диаметре 0,8 см. Опухоль была покрыта нечеткой псевдокапсулой. Также в области головки ПЖ находилось множество кистозных полостей диаметром

от 0,5 до 5,0 см. Внутренняя поверхность кист гладкая, в стенке наибольшей кистозной полости очаг склероза.

Дистальная часть ПЖ размерами 17 × 7 × 3 см, на всем протяжении в паренхиме кистозные полости, заполненные желтой прозрачной жидкостью. Некоторые кисты имели множество перегородок, преимущественно в области хвоста ПЖ. Обнаруженные полости и многокамерные кисты были в диаметре от 4 до 5 см. В окружающей клетчатке находились лимфоузлы, от 0,3 до 1,0 см, серого цвета.

Микроскопически при окрашивании гематоксилином и эозином в области головки ПЖ определялся узел, окруженный нечеткой фиброзной псевдокапсулой. Он был представлен мономорфными клетками, формирующими трабекулярные структуры. Цитоплазма клеток опухоли светло эозинофильная, зернистая, ядра хорошо очерченные, с характерным распределением внутриядерного хроматина по типу «соль и перец». По периферии опухоль врастала в собственную фиброзную псевдокапсулу, паренхиму ПЖ, регионарные лимфоузлы. В окружающей клетчатке выявлено 11 лим-

фоузлов, в двух из них отмечалось врастание опухоли. В одном из лимфоузлов выявлен очаг, подозрительный на метастаз. При дополнительных срезах определено, что это врастание из основного массива опухоли. В области головки ПЖ определялись кистозные полости до 5 см в диаметре, преимущественно однокамерные, выстланные однорядным уплощенным эпителием.

В дистальной части ПЖ микроскопически выявлялось множество кистозных полостей разных размеров, некоторые кисты были многокамерными, выстланными частично однорядным кубическим, частично уплощенным эпителием. В прилежащих отделах отмечался фиброз стромы с небольшими островками паренхимы ПЖ, в которых определялись дистрофические изменения. В регионарных лимфоузлах метастазы не выявлены.

По результатам макроскопического исследования и микроскопии срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, подтвержден диагноз «болезнь фон Гиппеля–Линдау» (рис. 1 А, В), сопровождающаяся развитием множества серозных однокамерных и многокамерных кистаденом, в сочетании с высокодиффе-

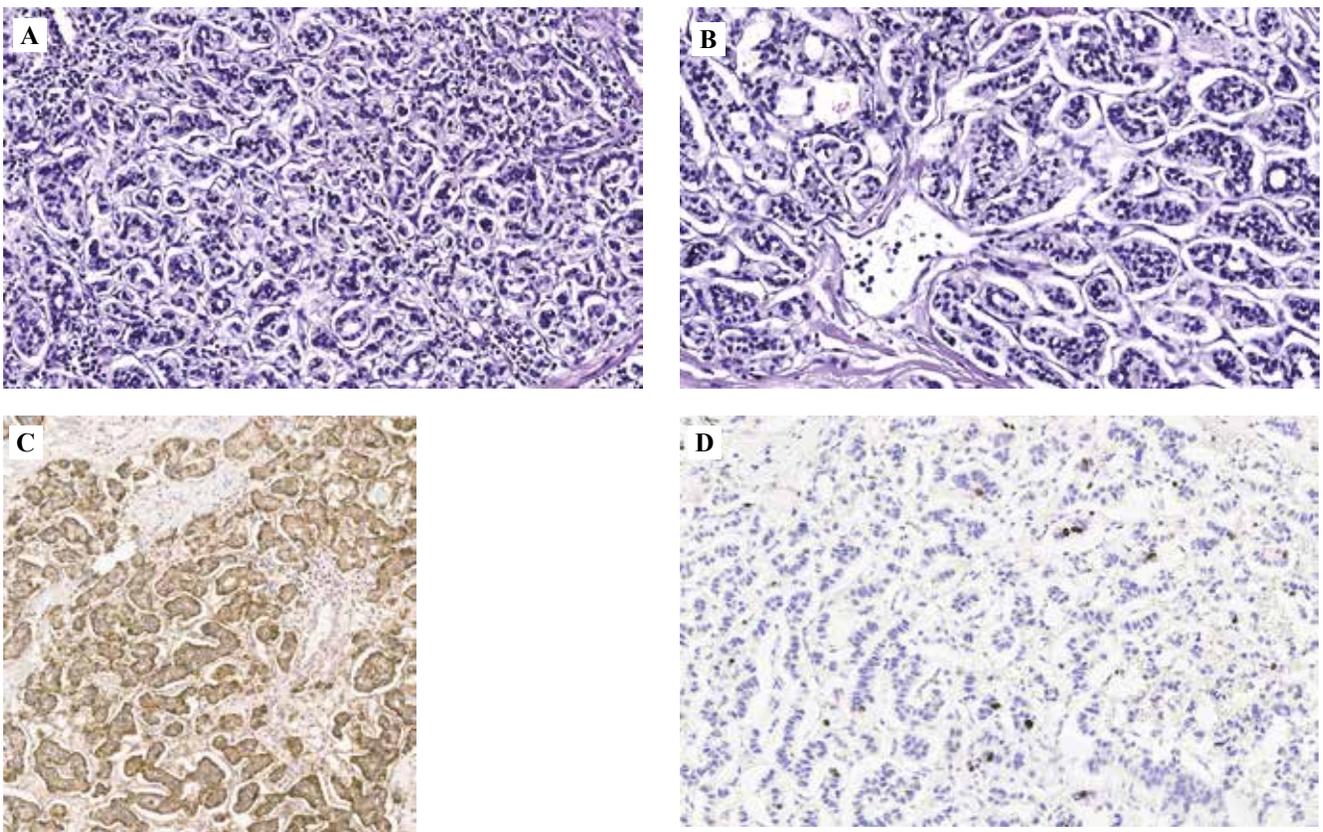


Рис. 1. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование опухолей.

А, В – высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль головки поджелудочной железы (НЭОПЖ), ядра клеток которой имеют типичное распределение хроматина «соль и перец», окраска гематоксилином и эозином, ×200, ×400, С – положительное мембранное окрашивание клеток НЭОПЖ, ИГХ исследование с антителами к синаптофизину, ×400, D – индекс пролиферации Ki-67 в клетках НЭОПЖ менее 3%, ИГХ исследование, ×100

Fig. 1. Histological and immunohistochemical tumor evaluation.

А, В – well-differentiated neuroendocrine tumor of the pancreatic head (panNET), whose cells demonstrate salt-and-pepper chromatin, H&E stain, ×200, ×400, С – positive membrane staining of panNET cells, IHC assay with antibodies to Synaptophysin, ×400, D – Ki-67 proliferation index in panNET cells is less than 3%, IHC assay, ×100

ренцированной светлоклеточной нейроэндокринной опухолью головки ПЖ, растущей в собственную фиброзную псевдокапсулу, паренхиму ПЖ и прилежащие лимфоузлы (три из 11 выявленных лимфоузлов). Для подтверждения гистологической структуры опухоли головки ПЖ и выяснения потенциала злокачественности, а также для уточнения гистологической структуры многокамерной кисты хвоста ПЖ срезы были направлены на ИГХ исследование.

Положительная реакция с общими маркерами нейроэндокринной дифференцировки синаптофизин (Synaptophysin RTU, Clone 27G12, моноклональные мышиные антитела, Leica Microsystems, Германия, демаскировка 1 минуту в ретривере, цитратный буфер pH 6,0, инкубация 15 минут) (рис. 1 С) и хромогранин А (Chromogranin A RTU, Clone 5H7, моноклональные мышиные антитела, Leica Microsystems, Германия, демаскировка 20 минут в цитратном буфере pH 6,0, инкубация 15 минут) подтвердила нейроэндокринную природу опухоли. Индекс пролиферации Ki-67 (Ki-67 RTU, Clone MM1, моноклональные мышиные антитела, Leica Microsystems, Германия, демаскировка 1 минуту в ретривере, цитратный буфер pH 6,0, инкубация 15 минут) составил менее 3% (рис. 1 D).

ИГХ исследование участка многокамерной кисты проводилось с антителами к СА IX (CAIX RTU, Clone NCL-L-CAIX, моноклональные мышиные антитела, Leica Microsystems, Германия, демаскировка 1 минуту в ретривере, цитратный буфер pH 6,0, инкубация 15 минут) и MUC6 (MUC6 RTU, Clone NCL-MUC-6, моноклональные мышиные антитела, Leica Microsystems, Германия, демаскировка 20 минут в цитратном буфере pH 6,0, инкубация 15 минут). СА IX экспрессируется в основном в участках с хронической гипоксией и чаще используется для дифференцировки опухолей почки, но также применяется для верификации серозных цистаденом ПЖ. MUC6 является гликопротеином защитной слизи и используется для идентификации образований молочной железы, желудка и ПЖ. Реакция с антителом к СА IX дала неравномерное по интенсивности положительное мембранное окрашивание части клеток, реакция с антителом к MUC6 – слабо положительное окрашивание части клеток. Реакция с антителом к синаптофизину была отрицательной в клетках опухоли, но положительной в островках Лангерганса в прилежащих отделах ПЖ. Все это свидетельствовало о наличии в области хвоста ПЖ серозной цистаденомы без признаков нейроэндокринной дифференцировки.

## Обсуждение

Опухоли ПЖ при синдроме фон Гиппеля–Линдау чаще множественные, при этом НЭОПЖ обычно бессимптомные, обнаруживаются в более молодом возрасте и нуждаются в оперативном лечении, их прогноз при этом синдроме более благоприятный, чем в случае спорадических опухолей [7, 11, 12]. Около

15% НЭОПЖ при этом синдроме является злокачественными, дает локальную инвазию и отдаленные метастазы [11].

По гистопатологической картине НЭОПЖ традиционно классифицируют на высокодифференцированные и низкодифференцированные. В то же время в соответствии с индексом пролиферации Ki-67 и значением митотического индекса опухоли можно разделять по степени злокачественности на G1, G2 и G3 классы. Согласно классификации ВОЗ 2022 года, НЭОПЖ делятся на высокодифференцированные опухоли G1, G2 и G3 классов и низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы [13, 14].

Для НЭОПЖ также существуют две TNM классификации: the European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) система и the AJCC система. 8-е издание AJCC является последней действующей на текущий момент классификацией. В ней приводится отдельная система стадирования, применяемая только для высокодифференцированных опухолей. Низкодифференцированные НЭОПЖ стадированы так же, как протоковая аденокарцинома ПЖ [8, 11].

Для идентификации НЭОПЖ помимо гистологического исследования обязательно ИГХ исследование: обычно окрашивание проводят с маркерами синаптофизин, хромогранин А [8]. Злокачественность опухоли оценивают с помощью индекса Ki-67 и индекса митотической активности [9].

Помимо нейроэндокринной опухоли при синдроме фон Гиппеля–Линдау в ПЖ могут также встречаться серозные цистаденомы – опухоли, состоящие из небольших кист, имеющие мультикистозный вид. Кисты выстилают плоский или кубический эпителий, богатый гликогеном [7]. В связи с доброкачественным течением такие кисты часто обнаруживают до появления симптомов [4].

У нашей пациентки был выявлен синдром фон Гиппеля–Линдау со множественными образованиями центральной нервной системы, сетчатки, почки и надпочечника. Подобная картина описана в клиническом случае D. Neupane et al. [2] и в клиническом случае И.И. Лариной и соавт. [1].

Как и в наблюдении D. Neupane et al. наша пациентка также имела историю госпитализации в нейрохирургическое отделение в связи с гипертоническим синдромом, головокружением и слабостью, но ее состояние не было тяжелым [2]. Кроме того, еще до этих жалоб она наблюдалась у гастроэнтеролога с болями в животе и картиной хронического панкреатита.

В отличие от случая, описанного И.И. Лариной и соавт., у нашей пациентки не было выявлено клинических признаков феохромоцитомы [1]. Частыми и наиболее ранними проявлениями синдрома фон Гиппеля–Линдау являются гемангиобластомы сетчатки, которые также имели место у нашей пациентки, однако их обнаружение не привело к своевременной постановке диагноза [4].

В нашем случае нейроэндокринная опухоль головки ПЖ сочеталась с серозной цистаденомой хвоста ПЖ. Образования ПЖ характерны для данного синдрома, они диагностируются примерно у 2/3 пациентов, но являются в основном доброкачественными, представляющими собой кисты или серозные цистаденомы [15]. В литературе описано мало случаев НЭОПЖ на фоне синдрома фон Гиппеля–Линдау.

Так, в исследовании F. Penitenti et al. участвовали лишь 13 пациентов с НЭОПЖ, среди них трое были родственниками, при этом только у одного НЭОПЖ сочеталась с кистами ПЖ. У всех у них, как и у нашей пациентки, были обнаружены образования ЦНС, а диагноз «феохромцитомы», не поставленный нашей пациентке, наблюдался лишь у трех человек. Примерно в половине случаев образования располагались в головке и хвосте ПЖ [3]. В исследовании R. Pradhan et al. среди пяти случаев синдрома фон Гиппеля–Линдау один сопровождался НЭОПЖ, а два кистами ПЖ. В двух из этих трех случаев пациенты первоначально наблюдались с образованиями ЦНС, не имели истории обращений по поводу заболеваний желудочно-кишечного тракта, и только в одном из них пациент жаловался на боли в животе [12].

При синдроме фон Гиппеля–Линдау наблюдаются мутации в гене-супрессоре опухолевого роста *VHL*, который располагается на 3-й хромосоме и состоит из 854 нуклеотидов [4]. Среди них могут быть делеции/инсерции, вызывающие сдвиг рамки считывания, нонсенс-мутации, миссенс-мутации и мутации, затрагивающие сайты сплайсинга [15]. По частоте встречаемости преобладают миссенс-мутации. При синдроме фон Гиппеля–Линдау первого типа чаще происходят мутации со сдвигом рамки считывания (делеции экзонов, инсерции). При втором типе в основном встречаются точечные миссенс-мутации [4]. У нашей пациентки была обнаружена гетерозиготная миссенс-мутация в кодоне 194 с заменой тимина на цитизин. У большинства пациентов с синдромом фон Гиппеля–Линдау, диагностированным на основании клинических данных, наблюдаются гетерозиготные мутации [15]. Интересно, что мутации в 3-м экзоне, особенно в кодонах 161/167, связаны с повышенным риском развития метастатических НЭОПЖ, но в нашем случае они не были зарегистрированы [7].

## Заключение

Приведено морфологическое наблюдение достаточно редкого наследственного синдрома фон Гиппеля–Линдау, подтвержденного генетически и сопровождающегося развитием множества серозных однокамерных и многокамерных цистаденом в сочетании с высокодифференцированной светлоклеточной нейроэндокринной опухолью головки поджелудочной железы.

При морфологическом исследовании была обнаружена опухоль головки, гистологически – высокодиф-

ференцированная нейроэндокринная опухоль, G1 по классификации ВОЗ. Также была обнаружена серозная цистаденома без признаков нейроэндокринной дифференцировки в области хвоста. Наше клиническое наблюдение представляет интерес ввиду редкой встречаемости данного синдрома. Оно отличается от описанных в литературе тем, что пациентка наблюдалась первично с расстройствами желудочно-кишечного тракта, возникшими на фоне новообразований поджелудочной железы. Кроме того, сочетание опухолей, обнаруженное в нашем случае, не так часто встречается в других клинических наблюдениях и иных источниках литературы.

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

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

## Литература/References

1. Ларина И.И., Платонова Н.М., Трошина Е.А., Рослякова А.А., Бельцевич Д.Г., Селиванова Л.С. и др. Синдром фон Гиппеля–Линдау: особенности лечения и наблюдения. Клинический случай и краткий обзор литературы. Архивъ внутренней медицины. 2019;9(3):165–71. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-3-165-171.  
*Larina II, Platonova NM, Troshina EA, Roslyakova AA, Belzevich DG, Selivanova LS et al.* Von Hippel-Lindau syndrome: aspects of treatment and management. Case report and literature review. The Russian Archives of Internal Medicine. 2019;9(3):165–71 (In Russ.). DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-3-165-171.
2. Neupane D, Dahal A, Lageju N, Jaiswal LS, Kandel A, Manandhar S. Von Hippel-Lindau disease: a case report. Int J Surg Case Rep. 2022;97:107417. DOI: 10.1016/j.ijscr.2022.107417.
3. Penitenti F, Landoni L, Scardoni M, Piredda ML, Cingarlini S, Scarpa A et al. Clinical presentation, genotype-phenotype correlations, and outcome of pancreatic neuroendocrine tumors in Von Hippel-Lindau syndrome. Endocrine. 2021;74(1):180–7. DOI: 10.1007/s12020-021-02752-8.
4. Aronow ME, Wiley HE, Gaudric A, Krivosic V, Gorin MB, Shields CL et al. Von Hippel-Lindau disease: update on pathogenesis and systemic aspects. Retina. 2019;39(12):2243–53. DOI: 10.1097/IAE.0000000000002555.
5. Hos D, Cursiefen C, Dahlke C. Von Hippel Lindau disease. J Pediatr. 2019;209:252. DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.01.053.
6. Halperin R, Arnon L, Eden-Friedman Y, Tirosh A. Unique characteristics of patients with Von Hippel-Lindau disease defined by various diagnostic criteria. Cancers (Basel). 2023;15(6):1657. DOI: 10.3390/cancers15061657.
7. Gläsker S, Vergauwen E, Koch CA, Kutikov A, Vortmeyer AO. Von Hippel-Lindau disease: current challenges and future prospects. Onco Targets Ther. 2020;13:5669–90. DOI: 10.2147/OTT.S190753.
8. Ma ZY, Gong YF, Zhuang HK, Zhou ZX, Huang SZ, Zou YP et al. Pancreatic neuroendocrine tumors: a review of serum biomarkers, staging, and management. World J Gastroenterol. 2020;26(19):2305–22. DOI: 10.3748/wjg.v26.i19.2305.

9. Scott AT, Howe JR. Evaluation and management of neuroendocrine tumors of the pancreas. *Surg Clin North Am.* 2019;99(4):793–814. DOI: 10.1016/j.suc.2019.04.014.
10. Patel N, Barbieri A, Gibson J. Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and pancreas. *Surg Pathol Clin.* 2019;12(4):1021–44. DOI: 10.1016/j.path.2019.08.007.
11. Khanna L, Prasad SR, Sunnapwar A, Kondapaneni S, Dasyam A, Tammisetti VS et al. Pancreatic neuroendocrine neoplasms: 2020 update on pathologic and imaging findings and classification. *Radiographics.* 2020;40(5):1240–62. DOI: 10.1148/rg.2020200025.
12. Pradhan R, George N, Mandal K, Agarwal A, Gupta SK. Endocrine manifestations of Von Hippel-Landau disease. *Indian J Endocrinol Metab.* 2019;23(1):159–64. DOI: 10.4103/ijem.IJEM\_252\_18.
13. Gonzalez RS. Diagnosis and management of gastrointestinal neuroendocrine neoplasms. *Surg Pathol Clin.* 2020;13(3):377–97. DOI: 10.1016/j.path.2020.04.002.
14. Rindi G, Mete O, Uccella S, Basturk O, La Rosa S, Brosens LAA et al. Overview of the 2022 WHO Classification of Neuroendocrine Neoplasms. *Endocr Pathol.* 2022;33(1):115–54. DOI: 10.1007/s12022-022-09708-2.
15. Louise M, Binderup M, Smerdel M, Borgwadt L, Beck Nielsen SS, Madsen MG, Møller HU et al. Von Hippel-Lindau disease: updated guideline for diagnosis and surveillance. *Eur J Med Genet.* 2022;65(8):104538. DOI: 10.1016/j.ejmg.2022.104538.

### Информация об авторах

Наталья Валерьевна Кретова – младший научный сотрудник Научного центра мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение», врач-патологоанатом Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Алена Алексеевна Харламова – студентка 3-го курса Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Ольга Андреевна Лобанова – младший научный сотрудник Научного центра мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение», ассистент Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Татьяна Геннадьевна Володькина – врач-патологоанатом Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Нина Борисовна Парамонова – кандидат медицинских наук, заместитель директора по диагностической работе, врач-патологоанатом Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Екатерина Евгеньевна Руденко – кандидат медицинских наук, заместитель директора по научной работе, врач-патологоанатом Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Евгения Алтаровна Коган – доктор медицинских наук, профессор Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Татьяна Александровна Демур – доктор медицинских наук, профессор, директор Института клинической морфологии и цифровой патологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

### Author information

Natalia V. Kretova – Junior Researcher, World-Class Research Center “Digital Biodesign and Personalized Healthcare”; Pathologist, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0002-4825-4830>

Alyona A. Kharlamova – 3<sup>rd</sup> year Student, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0002-5849-8193>

Olga A. Lobanova – Junior Researcher, World-Class Research Center “Digital Biodesign and Personalized Healthcare”; Assistant, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0002-6813-3374>

Tatiana G. Volodkina – Pathologist, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0009-0004-4705-2673>

Nina B. Paramonova – Cand. Sci. (Med.), Deputy Director for Diagnostic Work, Pathologist, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0001-5380-7113>

Ekaterina E. Rudenko – Cand. Sci. (Med.), Deputy Director for Research, Pathologist, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0002-0000-1439>

Eugeniya A. Kogan – Dr. Sci. (Med.), Professor, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0002-1107-3753>

Tatiana A. Demura – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0002-6946-6146>

## Особенности организации выдачи пациентам готовых гистологических препаратов в многопрофильном медицинском учреждении

*Н.С. Карнаухов, Т.Б. Куракина, В.В. Цвиркун, С.Г. Хомерики,  
Т.А. Степанова, Л.Г. Жукова, И.А. Ли, И.Е. Хатьков*

ГБУЗ Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

**Резюме.** *Введение.* В онкологической практике прижизненное патологоанатомическое исследование проводится для установления диагноза и определения тактики лечения. Некоторые пациенты забирают гистологические препараты из архива патологоанатомического отделения, что, вероятно, связано с желанием знать дополнительное мнение или особенностями маршрутизации. При этом выдаче архивных материалов уделяется недостаточно внимания. Целью работы является поиск путей повышения качества оказания медицинской помощи пациентам с помощью улучшения порядка выдачи готовых гистологических препаратов.

*Материалы и методы.* В работе проведен статистический анализ информации электронной базы данных в формате MS Excel, сформированной на основании запросов пациентов о необходимости забрать готовые гистологические препараты из архива патологоанатомического отделения МКНЦ имени А.С. Логинова за 2021 год, дополненной данными из медицинской информационной системы «Асклепиус».

*Результаты.* В 2021 году было выдано 6,8% заключений прижизненных патологоанатомических исследований с архивным материалом от числа всех проведенных в том году исследований. Пациенты представлены всеми возрастными категориями взрослых людей, однако чаще запрашивали архивный материал женщины шестой декады жизни через 2–4 недели и через 1–3 месяца после даты подписания протокола прижизненного патологоанатомического исследования. Среди кодов МКБ-10 в протоколах доминирует онкологическая патология, преобладают злокачественные новообразования молочной железы (C50) и органов пищеварения (C15–C26). В среднем персонал патологоанатомического отделения выдавал архивный материал восьми пациентам в день. На основе полученных данных был разработан внутренний приказ, регламентирующий порядок выдачи архивного материала пациентам.

*Заключение.* Проведенный анализ позволил оптимизировать работу патологоанатомического отделения в части выдачи пациентам заключений прижизненных патологоанатомических исследований с архивным материалом, обозначить вектор дальнейших исследований в области поиска мотивов пациентов для получения «второго мнения» и совершенствования безопасности оказания медицинских услуг в патологоанатомическом отделении.

**Ключевые слова:** прижизненное патологоанатомическое исследование, готовые гистологические препараты, архивный материал, выдача заключений прижизненных патологоанатомических исследований, «второе мнение», безопасность оказания медицинских услуг

**Для корреспонденции:** Николай Сергеевич Карнаухов. E-mail: n.karnaukhov@mknc.ru

**Для цитирования:** Карнаухов Н.С., Куракина Т.Б., Цвиркун В.В., Хомерики С.Г., Степанова Т.А., Жукова Л.Г., Ли И.А., Хатьков И.Е. Особенности организации выдачи пациентам готовых гистологических препаратов в многопрофильном медицинском учреждении. *Клин. эксп. морфология.* 2024;13(2):67–75. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.67-75.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках инициативного исследования Московского клинического научно-практического центра имени А.С. Логинова.

**Статья поступила** 30.01.2024. **Получена после рецензирования** 16.02.2024. **Принята в печать** 01.04.2024.

## Features of the organization of issuing histological slides and blocks to patients in a multidisciplinary medical institution

*N.S. Karnaukhov, T.B. Kurakina, V.V. Tsvirkun, S.G. Khomeriki,  
T.A. Stepanova, L.G. Zhukova, I.A. Li, I.E. Khatkov*

The Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** In oncological practice, an antemortem pathology study is carried out to diagnose the disease and determine treatment strategies. Some patients request histological specimens from pathology department archives, which can be due to a search of a second opinion or patients' routing features. Insufficient attention is paid to the problem of issuing archived materials to patients. We aimed to find ways to enhance the quality of medical care by improving the procedure of issuing histological specimens.

**Materials and methods.** We performed a statistical analysis of an Excel database, which included patients' requests of taking archived histological specimens from the Pathology Department of Loginov Moscow Clinical Scientific Center. The database contained requests from 2021 and was supplemented with data from the medical information system.

**Results.** In 2021, the Pathology Department issued 6.8% of all reports on antemortem pathology studies conducted the same year. The requests were received from patients of all adult age groups, with female patients aged 50–59 requesting archived material most often (2–4 weeks and 1–3 months after the pathology report had been signed). Oncological pathologies dominate in the reports, the most frequent being malignant neoplasms of breast (C50) and digestive organs (C15–C26) [the diagnosis codes are given according to ICD-10]. The pathology department issued archived material on average to 8 patients per day. Based on the data obtained, an internal order was developed regulating the procedure for issuing archived material to patients.

**Conclusion.** The analysis made it possible to optimize the work of the pathology department in terms of issuing the results of archived pathology reports to patients. It also enabled us to identify the directions of further research, i.e., finding out patients' motivation for obtaining a second opinion and improving the safety of medical service in the pathology department.

**Keywords:** antemortem pathology study, histological specimens, archived material, issuing antemortem pathology study reports, second opinion, safety of medical service

**Corresponding author:** Nikolay S. Karnaukhov. E-mail: n.karnaukhov@mknc.ru

**For citation:** Karnaukhov N.S., Kurakina T.B., Tsvirkun V.V., Khomeriki S.G., Stepanova T.A., Zhukova L.G., Li I.A., Khatkov I.E. Features of the organization of issuing histological slides and blocks to patients in a multidisciplinary medical institution. *Clin. exp. morphology*. 2024;13(2):67–75 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.67-75.

**Funding.** The work was carried out within the framework of the initiative study of the Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

**Received** 30.01.2024. **Received in revised form** 16.02.2024. **Accepted** 01.04.2024.

### Введение

Согласно Федеральному закону от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» хранение медицинской документации возложено на медицинскую организацию (статья 79). В соответствии со статьей 22 этого же закона пациент или его законный представитель имеет право по запросу получить отражающие состояние его здоровья медицинские документы (их копии). При этом микропрепараты и тканевые образцы в парафиновых блоках (далее – готовые гистологические препараты, ГПП) становятся собственностью медицинской организации в соответствии со статьей 218 Гражданского кодекса Российской Федерации [1], хранятся в архиве патологоанатомического отделения (ПАО) этого медицинского учреждения и могут быть выданы пациенту или его законному представителю, а также доверителю

с оформлением записи в журнале регистрации/выдачи материала [2].

Сроки хранения в архиве ПАО готовых гистологических препаратов и документов, оформленных в рамках патологоанатомических исследований, регламентируются приказом Минздрава России от 24.03.2016 № 179н [2] и соответствуют максимальному сроку хранения медицинской документации – 25 лет [3].

Сегодня прижизненные патологоанатомические исследования (ППАИ) в подавляющем большинстве случаев совершенно необходимы для определения биологии опухоли, стадии процесса, соответствующей стратегии и тактики лечения. В онкологической практике некоторые пациенты забирают микропрепараты, тканевые образцы в парафиновых блоках с протоколами заключений прижизненных патологоанатомических исследований (далее – архивный материал) даже

из авторитетных специализированных учреждений, что, очевидно, связано с рядом причин – проведением дополнительных диагностических исследований, поиском «второго мнения» (в англоязычной литературе – *second opinion*) с целью подтверждения диагноза, а в глубине души пациентов – с надеждой на ошибку в диагнозе, желанием лечиться в другом учреждении у других специалистов или необходимостью этого вследствие организации маршрутизации пациентов. К сожалению, особенно при необоснованном, то есть инициированном неспециалистами, поиске «второго мнения» без пользы теряется много времени. Еще сложнее ситуация становится, если «второе мнение» не совпадает с «первым мнением»: требуется арбитражное мнение или даже повторная биопсия, которая далеко не всегда безопасна, а иногда и невозможна. Вопросам мотивации поисков «второго мнения» и организации выдачи архивных материалов, которые, очевидно, должны быть связаны между собой, уделяется недостаточно внимания.

Контроль порядка поступления и выдачи архивных материалов необходим для систематизации и планирования текущего архива гистологических препаратов, площади основного архива, организации рабочего времени сотрудников ПАО и вопросов обеспечения безопасности оказания медицинских услуг.

Несмотря на бесспорную важность контроля выдачи архивных материалов, из-за дефицита кадров (укомплектованность штатных должностей врачей-патологоанатомов в 2022 году составляла 74,4%, а средних медицинских работников, по данным 2020 года, была на 25,3% меньше потребности в целом по стране) и неполной обеспеченности основным технологическим оборудованием (в 2022 году на 43,5% в России) [4, 5] во многих ПАО этому вопросу не уделяется должное внимание, а в литературе практически отсутствуют научные публикации.

Практика обращения пациента за «вторым мнением» достаточно распространена. Пациент может обратиться за повторной консультацией по материалам диагностических исследований (цифровые носители с записью МРТ, микропрепараты, цифровые фотографии готовых гистологических препаратов и т.д.) или медицинской документации (например, получить «второе мнение» по лечебной тактике). Целесообразность поиска «второго мнения» показана многими исследованиями [6–12]. «Второе мнение» помогает пациентам принять диагноз и повышает их комплаентность [13]. В ряде западных стран существуют страховые программы получения «второго мнения», в частности в Германии организована онлайн страховая сеть «второго мнения» [14].

Перспективные исследования различий в «первом мнении» и «втором мнении» относительно диагноза и пациентов, ищущих «второе мнение», обозначили портрет пациента, который чаще забирает архивный материал и медицинскую документацию [15, 16]. Так,

средний возраст пациентов составил 52–53 года, более чем в 80% это были женщины, и 80% из них – с диагнозом «рак молочной железы».

При запросе в поисковой строке на сайте PubMed.gov “second opinion” за период с 2017 по 2021 год система выдает 19 383 ссылки на публикации. При запросе “second opinion pathology” получено 1727 ссылок на полнотекстовые статьи, из которых 765 ссылок (44,3%) на полнотекстовые бесплатные статьи. Запрос на электронном ресурсе научной литературы CyberLeninka «второе мнение» позволил найти в период с 2014 по 2021 год пять статей, использующих это понятие, из которых одна посвящена сервису на рынке медицинского туризма с этим же названием – «второе мнение» [17], три косвенно упоминали «второе мнение» [18, 19], и одна статья рассматривала вопросы расхождения диагнозов в ППАИ при онкологических заболеваниях [20, 21]. При запросе на «консультативный пересмотр» и «пересмотр готовых гистологических препаратов» не обнаружено ни одной публикации по интересующей нас теме.

Забираемые пациентами из ПАО архивные материалы можно ассоциировать с поиском «второго мнения» как самими пациентами, так и их лечащими врачами или особенностями маршрутизации пациентов в Москве по административным округам [22]. Тем не менее точных данных по этому вопросу пока нет.

Таким образом, мы решили провести анализ имеющихся данных по пациентам, которые забрали архивные материалы из ПАО крупного многопрофильного медицинского центра, специализирующегося на онкологической патологии и имеющего в своем арсенале практически все доступные в Российской Федерации диагностические возможности.

Целью работы является поиск путей повышения качества оказания медицинской помощи пациентам с помощью улучшения порядка выдачи готовых гистологических препаратов.

## Материалы и методы

Проведен анализ электронной базы данных в формате MS Office Excel, сформированной на основании запросов пациентов о необходимости забрать готовые гистологические препараты из архива МКНЦ имени А.С. Логина за 2021 год. База данных содержала номер ГПП, фамилию и инициалы пациента, количество микропрепаратов, количество тканевых образцов в парафиновых блоках, количество иммуногистохимических микропрепаратов, номер медицинской карты и дату выдачи архивного материала.

Протоколы заключений ППАИ каждого пациента, забравшего архивный материал, были выгружены из медицинской информационной системы «Асклепиус», проведен их анализ, и база дополнена следующими данными: дата рождения пациента; дата операции (дата получения биопсийного или операционного материала); отделение, в котором осуществлялось взятие биопсии;

фамилия, имя и отчество лечащего врача; фамилия, имя и отчество врача, направившего материал на ППАИ; код диагноза МКБ-10, поставленного клиницистом; код диагноза МКБ-10, поставленного врачом-патологоанатомом; фамилия, имя и отчество врача-патологоанатома, подписавшего заключение ППАИ; дата проведения иммуногистохимического (ИГХ) исследования (при наличии); фамилия, имя и отчество врача-патологоанатома, подписавшего заключение ИГХ исследования. Анализ полученной информации проводили при помощи рабочих инструментов MS Excel по месяцам и по году.

## Результаты

В 2021 году за готовыми гистологическими препаратами обратились 1866 пациентов, которые забрали материал по 2169 заключениям ППАИ, что составило 6,8% от общего числа выполненных ППАИ. Доля забранных заключений ППАИ от всех ППАИ в течение года была неравномерна, имела тенденцию к снижению в весенне-летний период. Возможно, эта доля отражает загруженность как лечебного учреждения, так и ПАО в частности.

В ряде случаев ППАИ необходимо проведение ИГХ исследования, которое будет с отдельным заключением, но вместе с тем является неотъемлемой частью ППАИ в целом. В 49,4% случаев пациенты забирали ГПП, где было выполнено только гистологическое исследование (по подсчету заключений), в 50% случаев – с дополнительным ИГХ исследованием, и в 0,46% случаев пациенты обращались только за материалом ИГХ исследования. Не выявлена явная зависимость выдачи ГПП от наличия ИГХ исследований. Из всех забираемых на микропрепараты для ИГХ исследования приходится около 1/3. Другими словами, наличие или отсутствие ИГХ исследования, скорее всего, не влияет на решение пациентов забрать материал. Тем не менее необходимо более углубленное изучение корреляции нозологии и наличия ИГХ исследования.

Пациент может иметь одно или несколько ППАИ как по одному и тому же, так и по разным заболеваниям. В ходе анализа информации по забираемому ГПП обнаружено, что пациенты забирают материал выборочно, то есть при наличии нескольких гистологических и ИГХ исследований могут забрать материал только по одному, или по нескольким ППАИ, или, что редко, забрать весь архивный материал. Причиной выдачи части материала может быть дефицит коммуникации между пациентом и лечащим врачом либо между пациентом и сотрудниками ПАО. Другой возможной причиной может быть сложность поиска материала в архиве ПАО за более ранние периоды.

В 2021 году пациенты забрали 13 072 парафиновых блока и 19 832 микропрепарата (13 678 гистологических и гистохимических препаратов, 6154 иммуногистохимических). В диагностически спорных случаях выдаваемые микропрепараты сканируются, и оцифрованные изображения хранятся на электронных носите-

лях в ПАО. Так как тканевые образцы в парафиновых блоках и микропрепараты занимают определенный пространственный объем, а оцифрованные изображения – байты памяти на электронных носителях, полученные данные позволяют планировать организацию архива ГПП как в физическом, так и в электронном формате. Оптимальный вариант – сканировать все выдаваемые микропрепараты для организации электронного архива микропрепаратов и возможности провести работу над ошибками в случае несовпадения заключений после пересмотра в другом учреждении. Для этого требуются сервер большой емкости и высокопоточный сканер, а кроме того необходимо правильно организовать труд администраторов отделения.

Частота обращений пациентов за архивным материалом в течение года приблизительно равномерна со смещением в некоторых месяцах. Число забравших материал пациентов не сильно колеблется по месяцам и находится на уровне 8% со снижением в январе и повышением в декабре почти в 1,5 раза от всех обратившихся, что, вероятно, связано с такими социальными явлениями как конец года и новогодние праздники.

Пациенты, забирающие свои ГПП, представлены абсолютно всеми возрастными категориями взрослых людей: минимальный возраст – 18,8 года, максимальный – 93,7. Чаще забирали материал из ПАО пациенты околопензионного возраста (рис. 1): средний возраст – 58,5 года со среднеквадратичным отклонением  $\pm 11,1$  года, медиана возраста практически совпала со средним значением (60,0 года). Порядка 77% составили женщины и 23% мужчины. Получается, что социальный портрет пациентов, забирающих ГПП из ПАО, в пределах погрешности соответствует портрету пациентов, описанному в литературе.

Временной интервал между датой заключения ППАИ и датой выдачи архивного материала пациенту варьирует от 0 дней (то есть пациент забрал материал в день подписания заключения ППАИ врачом-патологоанатомом) до 1793 дней (4,9 года). В ходе анализа значения временных интервалов были разделены на группы: 0 дней, 1–6 дней, 7–13 дней, 14–29 дней, 30–90 дней и более 90 дней (рис. 2). Исследование этих групп указывает на то, что чаще забирают архивный материал в первые 3 месяца после проведенного ППАИ (через 2–4 недели – 28,8% и через 1–3 месяца – 31,6%), что, возможно, связано с завершением этапа лечения в учреждении и переходом пациента под наблюдение или для следующего этапа лечения в другое медицинское учреждение. Менее 1% (25 пациентов) забрали ГПП в день подписания заключения патологом. Мотивы этих пациентов неизвестны, поэтому полученные данные требуют дополнительного детального анализа, однако уже сейчас понятно, что особый контроль нужен за ГПП, которые забирают спустя 90 дней и больше после получения лечения (возможно, при расхождении результатов исследования и клинической картины). Пациенты, которые забирают ГПП спустя 2–4 недели, вероятно,

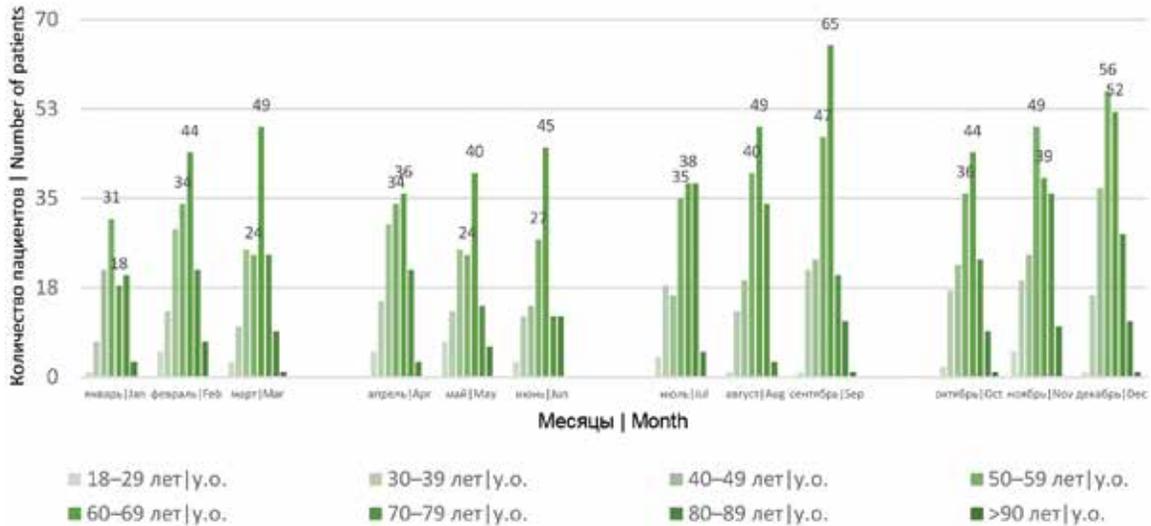


Рис. 1. Распределение пациентов по возрасту  
 Fig. 1. Patient distribution by age

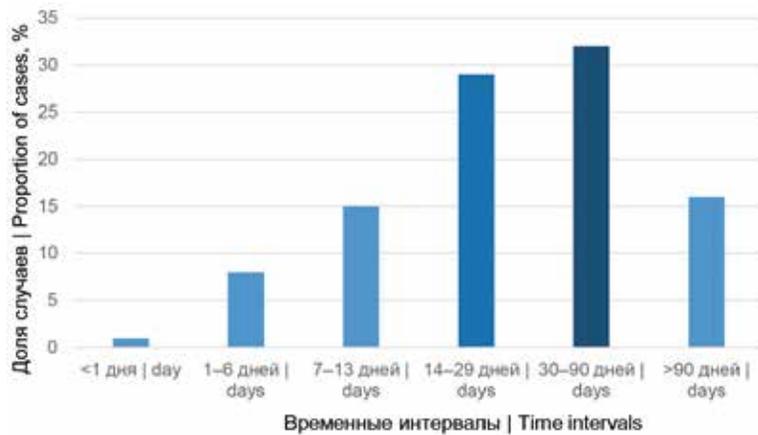


Рис. 2. Временные интервалы между датой получения гистологического заключения и датой выдачи материала пациентам в патологоанатомическом отделении за год  
 Fig. 2. Time intervals between the date the histological report was received and the date the material was issued to patients in the pathology department

сомневаются в своем диагнозе или решили выбрать другое медицинское учреждение для проведения лечения.

Анализ забираемого архивного материала по нозологическим группам показал, что среди патологий забираемых ГПП встречаются практически все нозологические категории. Чаще забирают материал со злокачественной онкологической патологией (заключения категории С по МКБ-10 – 73%), из которой почти половина (49%) – С50 (злокачественное новообразование молочной железы) и чуть больше 1/5 (21%) – группы С15–С26 (злокачественные новообразования органов пищеварения). С50 в общей картине нозологии забираемых ГПП составило 35%, С15–С26 – 15%. Полученные преобладающие проценты указанных нозологий соответствуют лечебным направлениям медицинского учреждения, в котором проводилось исследование, а также обусловлены доминирующими заболеваниями

в общей структуре онкологической патологии по данным, опубликованным на официальном сайте ВОЗ [21].

В среднем за год персонал ПАО выдавал материал восьми обратившимся пациентам в день (максимально 17, минимально два), заключения ППАИ с ГПП – девяти (с разбросом от двух до 21 в день), а среднее число забираемых парафиновых блоков составило 53 (максимально – 67, минимально – 35), микропрепаратов – 88 (максимально – 159, минимально – 59). Прослеживается увеличение обращаемости пациентов за ГПП в конце года.

На основе полученных данных в учреждении осуществлены организационные изменения: разработан внутренний приказ, регламентирующий порядок выдачи ГПП, и проведены мероприятия по информированности сотрудников центра и пациентов о порядке их выдачи. В рамках приказа была разработана форма

заявки пациента для получения своих ГПП. В заявке кроме фиксации дат обращения пациента, регистрации запроса, подписи дежурного врача и даты непосредственной выдачи появилась анкетная часть, в которой пациенту предлагается указать причину, по которой он забирает ГПП, учреждение, куда он планирует обратиться для пересмотра микропрепаратов. В дальнейшем эти данные будут проанализированы, и сделаны соответствующие выводы.

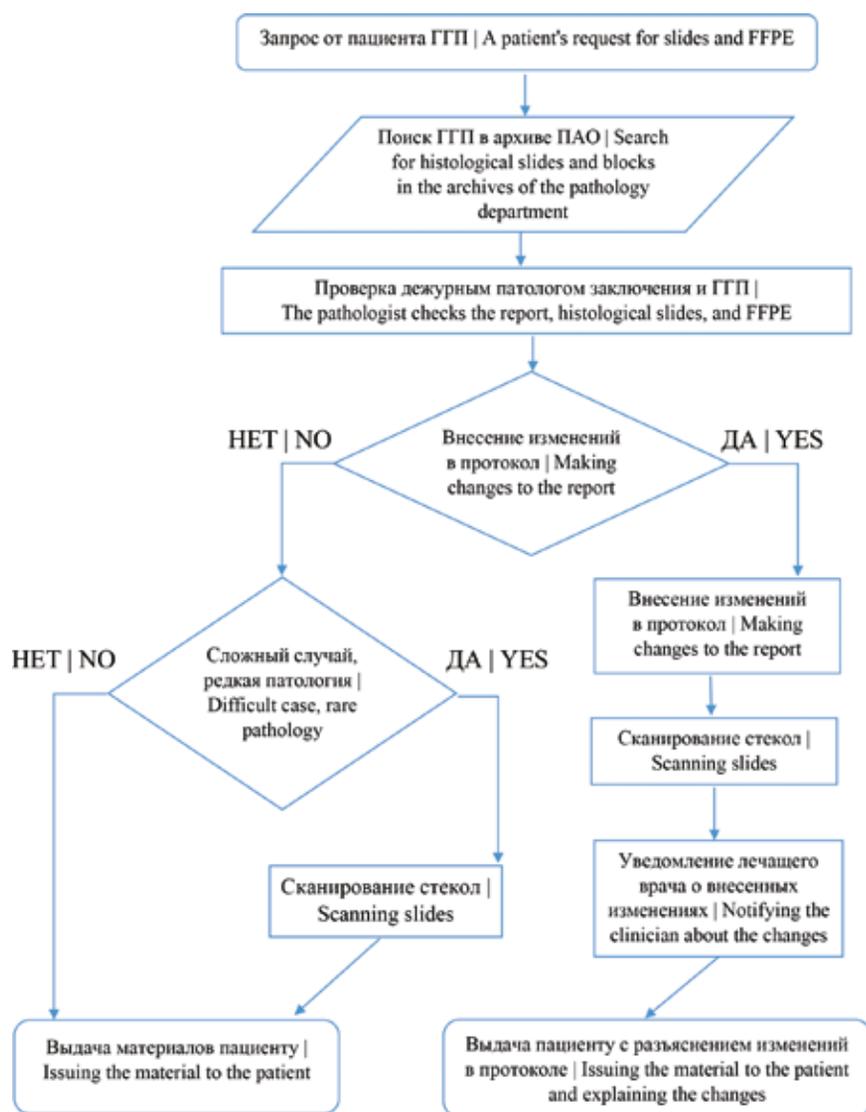
Все ГПП перед выдачей теперь всегда пересматривает опытный врач-патологоанатом или заведующий ПАО с целью исключения грубых ошибок в заключении. Наряду с этим проводится дополнительная проверка выдаваемых гистологических препаратов. Организация регламентированного порядка повлекла за собой необходимость выделить дополнительное время перед выдачей ГПП для поиска материала в архиве и пересмотра его ответственными лицами, что в конечном счете позволяет назначить пациенту точное время, когда он может получить материал, и не заставлять его ждать, пока материал извлекается из архива

и оформляется в установленном порядке. Для удобства пациентов заявку можно подать в электронной форме и прийти в назначенный срок для получения ГПП и соответствующего заключения ППАИ. Порядок выдачи ГПП пациентам представлен на блок-схеме (рис. 3).

### Обсуждение

Пока что на основании имеющейся в электронной базе информации невозможно установить причину, по которой пациенты забирают материал из ПАО. Предположительно, некоторые пациенты забирают ГПП из-за действующей маршрутизации. Анализ мотивов будет проведен, когда в разработанных анкетах накопится достаточный объем данных.

Вопрос мотивации получения «второго мнения», а точнее «дополнительного мнения», в настоящее время является недостаточно изученным, однако он перспективен для многих медицинских отраслей. Направления работ, по данным литературы, которые ведутся в области «второго мнения», – это ретроспективные пересмотры гистологических препаратов и других



\* FFPE – Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded (FFPE)

Рис. 3. Блок-схема алгоритма выдачи пациентам готовых гистологических препаратов и протоколов заключения ППАИ в патологоанатомическом отделении

Fig. 3. An algorithm of issuing histological specimens and protocols of antemortem pathology reports in the pathology department

диагностических данных (рентгенограммы, КТ и МРТ визуализации и т.д.) и сравнение их с имеющимися заключениями; социально-психологическое исследование пациентов, ищущих «второе мнение»; возможная экономическая выгода от полученного «второго мнения» в рамках лечения пациентов; применение современных информационных технологий и искусственного интеллекта в формировании «второго мнения».

Возможно, внедрение в регулярную практику независимой медицинской экспертизы, которая предусмотрена пунктом 3 статьи 158 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ (в редакции от 03.07.2016) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», могло бы снизить число личных обращений пациентов.

### Заключение

Проведенный анализ дает возможность оптимизировать функционирование патологоанатомического отделения в многопрофильном специализированном учреждении.

Работа в этих направлениях позволит снизить репутационные риски учреждения, улучшить маршрутизацию пациентов, выявить учреждения, куда обращаются пациенты за «дополнительным мнением», что в целом повысит качество оказания медицинских услуг.

Итак, число забранных пациентами из архива патологоанатомического отделения онкологического учреждения заключений и готовых гистологических препаратов в течение года достигает 6,8% от общего числа проведенных прижизненных патологоанатомических исследований. Средний возраст пациентов, забирающих гистологические препараты, составил 58,5 года со среднеквадратичным отклонением  $\pm 11,1$  года (медиана – 60,0 года). В 77% случаев гистологические препараты забирали женщины. Злокачественное новообразование молочной железы в общей картине нозологии забираемых готовых гистологических препаратов составило 35%, злокачественные новообразования органов пищеварения 15%. Готовые гистологические препараты чаще всего (31,6%) забирают через 1–3 месяца после выполнения прижизненного патологоанатомического исследования.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Н.С. Карнаухова.  
Сбор и обработка материала – Т.Б. Куракина.  
Написание текста – Т.Б. Куракина, Н.С. Карнаухова.  
Редактирование – В.В. Цвиркун, Т.А. Степанова, Л.Г. Жукова, С.Г. Хомерики, И.Е. Хатков, И.А. Ли.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – N.S. Karnaukhov.  
Collected the data and performed the analysis – T.B. Kurakina.  
Wrote the paper – T.B. Kurakina, N.S. Karnaukhov.  
Edited the manuscript – V.V. Tsvirkun, T.A. Stepanova, L.G. Zhukova, S.G. Khomeriki, I.E. Khatkov, I.A. Li.

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

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

### Литература/References

1. Васильев Г.С. Человеческий биоматериал как объект права. Правоведение. 2018;62(2):308–361. DOI: 10.21638/11701/spbu25.2018.205.  
Vasiliev SG. Human biomaterial as a legal object. Pravovedenie. 2018;62(2):308–361 (In Russ.). DOI: 10.21638/11701/spbu25.2018.205.
2. Приказ Минздрава России от 24.03.2016 № 179н «О правилах проведения патологоанатомических исследований». Доступно по адресу: <http://www.patolog.ru/organizaciya-patologoanatomicheskoy-sluzhby> (получено 25.01.2024).  
Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated March 24, 2016 No. 179n “On the rules of conducting pathological and anatomical studies”. Available from: <http://www.patolog.ru/organizaciya-patologoanatomicheskoy-sluzhby> (accessed 25.01.2024).
3. Письмо Минздрава России от 07.12.2015 № 13-2/1538 «О сроках хранения медицинской документации». Доступно по адресу: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71201736> (получено 25.01.2024).  
Letter of the Ministry of Health of the Russian Federation dated December 7, 2015 N 13-2/1538 “On the retention periods of medical documentation”. Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71201736> (accessed 25.01.2024).
4. Состояние и основные задачи развития патологоанатомической службы Российской Федерации: отраслевое статистическое исследование за 2020 год / Под ред. Г.А. Франка, В.И. Стародубова. Москва: Минздрав России, 2021. 95 с. Доступно по адресу: <http://www.patolog.ru/organizaciya-patologoanatomicheskoy-sluzhby> (получено 25.01.2024).  
Status and main tasks of developing the pathological and anatomical service of the Russian Federation: industrial statistical study for 2020 / Ed. by G.A. Frank, V.I. Starodubov. Moscow: Ministry of Health of Russia, 2021. 95 p. (In Russ.). Available from: <http://www.patolog.ru/organizaciya-patologoanatomicheskoy-sluzhby> (accessed 25.01.2024).
5. Состояние и основные задачи развития патологоанатомической службы Российской Федерации: отраслевое статистическое исследование за 2022 год / Под ред. Г.А. Франка, В.И. Стародубова. Москва: Минздрав России, 2023. 106 с. DOI: 10.21045/978-5-94116-110-2-2023.  
Status and main tasks of developing the pathological and anatomical service of the Russian Federation: industrial statistical study for 2022 / Ed. by G.A. Frank, V.I. Starodubov. Moscow: Ministry of Health of Russia, 2023. 106 p. (In Russ.). DOI: 10.21045/978-5-94116-110-2-2023.
6. Состояние и основные задачи развития патологоанатомической службы Российской Федерации: отраслевое статистическое исследование за 2018 год / Под ред. Г.А. Франка. Москва: Минздрав России, 2021. 92 с. Доступно по адресу: <http://www.patolog.ru/organizaciya-patologoanatomicheskoy-sluzhby> (получено 25.01.2024).  
Status and main tasks of developing the pathological and anatomical service of the Russian Federation: industrial statistical study for 2018 / Ed. by G.A. Frank. Moscow: Ministry of Health of Russia, 2021. 92 p. (In Russ.). Available from:

- <http://www.patolog.ru/organizaciya-patologoanatomicheskoy-sluzhby> (accessed 25.01.2024).
7. Peck M, Moffat D, Latham B, Badrick T. Review of diagnostic error in anatomical pathology and the role and value of second opinions in error prevention. *J Clin Pathol*. 2018;71(11):995–1000. DOI: 10.1136/jclinpath-2018-205226.
  8. Grevenkamp F, Kommos F, Kommos F, Lax S, Fend F, Wallwiener D et al. Second opinion expert pathology in endometrial cancer: potential clinical implications. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(2):289–96. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000870.
  9. Elmore JG, Tosteson AN, Pepe MS, Longton GM, Nelson HD, Geller B et al. Evaluation of 12 strategies for obtaining second opinions to improve interpretation of breast histopathology: simulation study. *BMJ*. 2016;353:i3069. DOI: 10.1136/bmj.i3069.
  10. Geller BM, Nelson HD, Weaver DL, Frederick PD, Allison KH, Omega T et al. Characteristics associated with requests by pathologists for second opinions on breast biopsies. *J Clin Pathol*. 2017;70(11):947–53. DOI: 10.1136/jclinpath-2016-204231.
  11. Geller BM, Frederick PD, Knezevich SR, Lott JP, Nelson HD, Titus LJ et al. Pathologists' use of second opinions in interpretation of melanocytic cutaneous lesions: policies, practices, and perceptions. *Dermatol Surg*. 2018;44(2):177–85. DOI: 10.1097/DSS.0000000000001256.
  12. Кит О.И., Фоменко Ю.А., Карнаухов Н.С., Лантева Т.О. Частота расхождения диагноза в прижизненной патологоанатомической диагностике онкологических заболеваний (по материалам пересмотра готовых гистологических препаратов в патологоанатомическом отделении ФГБУ РНИОИ МЗ РФ). Исследования и практика в медицине. 2019;6(1S):148. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39542041> (получено 25.01.2024).  
Kit OI, Fomenko YuA, Karnaukhov NS, Lapteva TO. The frequency of discrepancies in the diagnosis in the pathological reports in oncological diseases (based on results second opinion of histological slides in the pathology department of the Rostov Institute of Oncology). *Research and Practical Medicine Journal*. 2019;6(1S):148 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39542041> (accessed 25.01.2024).
  13. Elmore JG, Longton GM, Carney PA, Geller BM, Omega T, Tosteson AN et al. Diagnostic concordance among pathologists interpreting breast biopsy specimens. *JAMA*. 2015;313(11):1122–32. DOI: 10.1001/jama.2015.1405.
  14. Könsgen N, Prediger B, Bora AM, Glatt A, Hess S, Weißflog V et al. Analysis of second opinion programs provided by German statutory and private health insurance – a survey of statutory and private health insurers. *BMC Health Serv Res*. 2021;21(1):209. DOI: 10.1186/s12913-021-06207-8.
  15. Nason GJ, Wood LA, Huddart RA, Albers P, Rendon RA, Einhorn LH et al. A Canadian approach to the regionalization of testis cancer: a review. *Can Urol Assoc J*. 2020;14(10):346–51. DOI: 10.5489/auaj.6268.
  16. Mellink WA, Dulmen AM, Wiggers T, Spreeuwenberg PM, Eggermont AM, Bensing JM. Cancer patients seeking a second surgical opinion: results of a study on motives, needs, and expectations. *J Clin Oncol*. 2003;21(8):1492–7. DOI: 10.1200/JCO.2003.12.058.
  17. Mellink WA, Henzen-Logmans SC, Bongaerts AH, Ooijen BV, Rodenburg CJ, Wiggers TH. Discrepancy between second and first opinion in surgical oncological patients. *Eur J Surg Oncol*. 2006;32(1):108–12. DOI: 10.1016/j.ejso.2005.08.007.
  18. Горошко Н.В., Емельянова Е.К. Сервис «второе медицинское мнение» на рынке регионального медицинского туризма. Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. 2019;4(19):7. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42358269> (получено 25.01.2024).  
Goroshko NV, Emelyanova EK. The second medical opinion service in the regional medical tourism market. *Elektronnyy nauchno-metodicheskiy zhurnal Omskogo GAU = Electronic Journal of Omsk SAU*. 2019;4(19):7 (In Russ.). Available from <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42358269> (accessed 25.01.2024).
  19. Козлов С.В., Неретин Е.Ю., Куколкина В.В. Перспективы применения «Машинного зрения» в цифровой дерматоскопии при подозрении на меланому кожи. Саратовский научно-медицинский журнал. 2014;10(2):281–285. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21919532> (получено 25.01.2024).  
Kozlov SV, Neretin EYu, Kukulkina VV. “Machine vision” application in digital dermoscopy for suspected melanoma of the skin. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2014;10(2):281–285 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21919532> (accessed 25.01.2024).
  20. Козлов С.В., Неретин Е.Ю., Куколкина В.В. Диагностика меланомы кожи с использованием экспертной системы. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014;1:91. DOI: 10.12737/5761.  
Kozlov SV, Neretin EYu, Kukulkina VV. Diagnosis of melanoma by means of the expert system. *Journal of New Medical Technologies, eEdition*. 2014;1:91 (In Russ.). DOI: 10.12737/5761.
  21. Виланд В.Ф. Циторедуктивные технологии лечения рака предстательной железы. Экспериментальная и клиническая урология. 2011;2-3:77–79. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17328508> (получено 25.01.2024).  
Wieland WF. Cytoreductive methods of prostate cancer treatment. *Experimental and clinical urology*. 2011;2-3:77–79 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17328508> (accessed 25.01.2024).
  22. Приказ Департамента здравоохранения г. Москвы от 16.03.2021 № 230 (в редакции от 12.05.2021) «Об организации централизованных патологоанатомических отделений по профилю “онкология” в медицинских организациях государственной системы здравоохранения города Москвы». Доступно по адресу: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (получено 25.01.2024).  
Order of the Moscow Department of Health dated March 16, 2021 No. 230 (as amended on May 12, 2021) “On the organization of centralized pathological and anatomical departments specializing in oncology in medical organizations of the state healthcare system of the city of Moscow”. Available from: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (accessed 25.01.2024).

**Информация об авторах**

Николай Сергеевич Карнаухов – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом, старший научный сотрудник, заведующий патологоанатомическим отделением МКНЦ имени А.С. Логинова.

Татьяна Борисовна Куракина – ординатор второго года обучения патологоанатомического отделения МКНЦ имени А.С. Логинова.

Виктор Викторович Цвиркун – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник МКНЦ имени А.С. Логинова.

Сергей Германович Хомерики – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией инновационной патоморфологии МКНЦ имени А.С. Логинова.

Татьяна Александровна Степанова – руководитель юридической службы МКНЦ имени А.С. Логинова.

Людмила Григорьевна Жукова – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по онкологии МКНЦ имени А.С. Логинова.

Ирина Алексеевна Ли – доктор медицинских наук, главный врач МКНЦ имени А.С. Логинова.

Игорь Евгеньевич Хатьков – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор МКНЦ имени А.С. Логинова.

**Author information**

Nikolay S. Karnaukhov – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, Senior Researcher, Head of the Pathology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0003-0889-2720>

Tatiana B. Kurakina – 2<sup>nd</sup>-year Resident, Pathology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0002-3205-6143>

Viktor V. Tsvirkun – Dr. Sci. (Med.), Professor, Senior Researcher, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0001-5169-2199>

Sergey G. Khomeriki – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Innovative Pathomorphology, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0003-4308-8009>

Tatiana A. Stepanova – Head of Legal Service, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0009-0007-5052-803X>

Liudmila G. Zhukova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of Oncology, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0003-4848-6938>

Irina A. Li – Dr. Sci. (Med.), Medical Director, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0001-8419-5252>

Igor E. Khatkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0002-4088-8118>



## Анна Георгиевна Бабаева (к 95-летию со дня рождения)

### Anna Georgievna Babaeva on her 95th birthday

15 апреля исполнилось 95 лет Анне Георгиевне Бабаевой, выдающемуся российскому ученому, доктору медицинских наук, профессору, Заслуженному деятелю науки Российской Федерации, создателю нового направления морфологии – иммунологии репаративных процессов.

Анна Георгиевна Бабаева родилась 15 апреля 1929 года в Тифлисе (Тбилиси). В 1947 году она закончила школу с золотой медалью и поступила во Второй Московский государственный медицинский институт (сейчас Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова). После окончания института с отличием в 1953 году Анна Георгиевна Бабаева поступила в аспирантуру Института экспериментальной биологии АМН СССР в лабораторию роста и развития, которой в то время руководила основатель лаборатории известный исследователь регенерации профессор Мария Александровна Воронцова.

За время работы А.Г. Бабаева занимала последовательно должности аспиранта, младшего научного сотрудника, старшего научного сотрудника и затем заведующей лабораторией роста и развития. Лаборатория меняла институтскую принадлежность: в 1949–1969 годах – Институт экспериментальной биологии АМН СССР, с 1969 по 1971 год – Институт медицинской генетики АМН СССР, а с 1971 года – НИИ морфологии человека АМН СССР. Оставалось неизменным одно – связь Анны Георгиевны Бабаевой с лабораторией роста и развития.

Придя в лабораторию, Анна Георгиевна присоединилась к научным работам по тематике, которая была сформулирована М.А. Воронцовой и касалась исследований регенерации внутренних органов животных, в том числе у млекопитающих. Деятельность лаборатории была организована таким образом, что все сотрудники работали над общелабораторной темой, но при этом у каждого было индивидуальное направление. Анне Георгиевне поручили исследование репаративной регенерации легких, печени, поджелудочной железы у амфибий, а также слюнных желез у млекопитающих. В 1957 году Анна Георгиевна Бабаева защитила кан-

дидатскую диссертацию, посвященную морфофизиологическому анализу репаративной регенерации околушной слюнной железы морской свинки.

Далее Анна Георгиевна начала свое собственное направление в исследованиях регенерации. Оно касалось изучения регуляторных механизмов репаративной регенерации, а именно роли иммунной системы. Работая над данной проблемой, профессор Бабаева стала родоначальником нового направления в науке, ею была открыта морфогенетическая функция лимфоцитов, заключающаяся в регуляции пролиферации клеток нелимфоидных органов (открытие № 254, выданное Государственным комитетом СССР по открытиям, 1981). На основании проведенных исследований в 1970 году Анна Георгиевна защитила докторскую диссертацию на тему «Иммунологические механизмы регуляции восстановительных процессов». Далее профессор А.Г. Бабаева и ее ученики продолжили работать в этом направлении, ими изучена роль иммунной системы в регуляции регенерации и компенсаторной гипертрофии почек, печени и слюнных желез. Установлено, что в первые часы после резекции того или иного органа в селезенке увеличивается число Т-хелперов и Т-супрессоров, показаны разность свойств этих субпопуляций лимфоцитов в регуляции пролифера-



ции клеток иного дифферона, в запуске и остановке их деления, наличие тесных контактов лимфоцитов с эпителием регенерирующего органа.

В 1997 году А.Г. Бабаевой было присвоено почетное звание Заслуженного деятеля науки Российской Федерации. Она является дважды лауреатом Московского общества испытателей природы (1975, 1985). А.Г. Бабаева – автор более 200 работ, в том числе 14 монографий и семи коллективных монографий-руководств, одно из которых переведено за рубежом на английский язык. Основные монографии: «Иммунологические механизмы регуляции восстановительных процессов» (1972), «Структура, функция и адаптивный рост слюнных желез» (1979), «Регенерация и система иммуногенеза» (1985), «Иммунология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений» (1987), «Регенерационные процессы и их изучение в СССР» (1990), «Двуликий Янус организма» (2001), «Путешествие в трансфузиологию» (2002), «Тромбоциты и антитромбоцитарные антитела» (2003), «Клеточный химеризм и химеризм клетки при транс-

плантации костного мозга» (2003), «Регенерация» (2009), «Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей» (2009), «О рекапитуляции при регенерации и заболеваниях» (2013), «О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах» (2016). Анной Георгиевной Бабаевой подготовлены 16 кандидатских и докторских диссертаций.

Наряду с научной деятельностью А.Г. Бабаева вела активную общественную работу. На протяжении нескольких лет она была председателем секции гистологии, эмбриологии и цитологии Московского общества испытателей природы (1981–1990). Анна Георгиевна увлекается музыкой, искусством, пишет повести и сказки. В настоящее время продолжает научную работу.

Коллектив Научно-исследовательского института морфологии человека и редакционная коллегия журнала «Клиническая и экспериментальная морфология» от всей души желают Анне Георгиевне Бабаевой крепкого здоровья, продолжения творческого поиска и открытий!

### III научно-практическая конференция Межрегионального танаторадиологического общества «Танаторадиология: от перинатологии до геронтологии»

### III Scientific and Practical Conference of the Interregional Thanatoradiological Society “Thanatoradiology: from Perinatology to Gerontology”

13–14 октября 2023 года в Москве в очном формате на базе Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова прошла III научно-практическая конференция Межрегионального танаторадиологического общества (МТО) «Танаторадиология: от перинатологии до геронтологии». В работе конференции приняли участие более 260 специалистов – судебно-медицинские эксперты, патологоанатомы и рентгенологи из городов и регионов Российской Федерации, а также коллеги из Ташкента (Республика Узбекистан) и Йоханнесбурга (Южно-Африканская Республика).

С приветственным словом к участникам конференции обратился директор НИИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России академик РАН Г.Т. Сухих, подчеркнувший особую важность деятельности врачей – судебно-медицинских экспертов и патологоанатомов, необходимость внедрения объективных и наглядных методов исследования, в частности посмертных лучевых, успешно планомерное научно-практическое применение которых для анализа тел мертворожденных и умерших новорожденных в НИИЦ АГП им. В.И. Кулакова началось еще в 2012 году. Директор Российского центра судебно-медицинской экспертизы, главный внештатный специалист по судебно-медицинской экспертизе Минздрава России профессор И.Ю. Макаров и научный руководитель НИИМЧ имени акад. А.П. Авцына РНЦХ имени акад. Б.В. Петровского член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский отметили насущную необходимость внедрения и использования

лучевых методов исследования при вскрытиях тел погибших и умерших пациентов.

В первый день конференции состоялись четыре заседания: «Правовые особенности и возможности внедрения танаторадиологии в России» (председатели: член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский, профессор И.Ю. Макаров, доктор медицинских наук В.А. Спиридонов), «Танаторадиология перинатального периода» (председатели: доктор медицинских наук И.В. Барина, кандидат медицинских наук В.Г. Быченко, член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский, профессор Е.М. Кильдюшов), «Танаторадиология детского возраста и взрослых» (председатели: кандидат медицинских наук С.Э. Дуброва, профессор Е.М. Кильдюшов), «Возможности и перспективы танаторадиологии» (председатели: профессор Ф.Г. Забозлаев, кандидат медицинских наук Ю.В. Каменева, кандидат медицинских наук А.А. Учеваткин) и круглый стол. На заседаниях были представлены доклады, посвященные практическому использованию посмертных лучевых исследований при проведении судебно-медицинских экспертиз и патологоанатомических вскрытий, правовым основам проведения танаторадиологических исследований в Российской Федерации. Интересными информационными источниками стали доклад кандидата медицинских наук Ю.В. Кеменевой о гуманитарной судебно-медицинской деятельности Международного комитета Красного Креста (International Committee of the Red Cross), региональная делегация в Российской Федерации и Республике Беларусь которого присутствовала на конференции, а также онлайн-доклад





профессора судебной медицины факультета биологии и медицины Университета Лозанны (Швейцария) Вирджинии Магнин (Virginie Magnin) об идентификации тел погибших при помощи посмертной компьютерной томографии.

Заседание номер пять было представлено в формате круглого стола «Единая терминология – ключ к межпрофессиональному взаимопониманию» (модератор и ведущий: доктор медицинских наук У.Н. Туманов, спикеры: профессор Ф.Г. Забозлаев, профессор Е.М. Кильдюшов, кандидат медицинских наук А.В. Ковалев, кандидат медицинских наук А.А. Учеваткин, профессор А.И. Щеголев) и посвящено роли исторически возникших и современных терминов, особенностям иностранных терминов и их русскоязычных аналогов, целесообразности внедрения новых терминов и понятий, определению наиболее оптимальной терминологии в области каждой из специальностей, а также взаимодействию и взаимопониманию коллег разных специальностей.

Во второй день конференции состоялись два заседания: «Частные вопросы использования возможностей танаторadiологии: реализация и перспективы» (председатели: доктор медицинских наук А.В. Ковалев, доктор медицинских наук У.Н. Туманов, профессор А.И. Щеголев) и «Собрание правления и членов МТО», на котором был заслушан отчет президента МТО А.И. Щеголева о работе Межрегионального танаторadiологического общества за 2022–2023 годы, а также поддержано предложение о введении праздника День танаторadiолога и утверждение его ежегодной даты – 28 августа.

В рамках конференции были заслушаны сообщения представителей ООО «БиоВитрум» и ООО «Биолайн» о современном оборудовании и инновационных технологиях и подведены итоги организованного Межрегиональным танаторadiологическим обществом творческого фотоконкурса, победителями которого стали А.С. Павлова, Н.В. Смирнова, И.В. Лебедева и В.А. Сеницына.

Мероприятие аккредитовано в рамках реализации модели отработки основных принципов непрерывного медицинского образования с получением зачетных единиц каждым участником. По материалам конференции сформирован сборник статей, который традиционно издан как в электронном, так и в печатном виде.

Материалы конференции отражены на сайте Межрегионального танаторadiологического общества ([www.thanatoradiology.ru](http://www.thanatoradiology.ru)) и в сборнике печатных работ, размещенном в Российской научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU.

*А.И. Щеголев,  
доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий 2-м патологоанатомическим  
отделением НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова,  
президент Межрегионального  
танаторadiологического общества,  
У.Н. Туманов,  
доктор медицинских наук,  
ведущий научный сотрудник  
2-го патологоанатомического отделения  
НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова,  
вице-президент Межрегионального  
танаторadiологического общества*

**Памяти  
Валентины Павловны Быковой  
(1935–2024)**

**In memory of Valentina P. Bykova  
(1935–2024)**



19 мая 2024 года ушла из жизни Валентина Павловна Быкова – известный патологоанатом, профессор, доктор медицинских наук.

В.П. Быкова родилась 10 января 1935 года в Вологде. После окончания в 1959 году с отличием 2-го Московского медицинского института имени Н.И. Пирогова работала в Институте экспериментальной биологии и медицины СО АН СССР, затем стажировалась на кафедре патологической анатомии 2-го Московского государственного медицинского института имени Н.И. Пирогова. В 1960 году была переведена в научную группу академика И.В. Давыдовского старшим лаборантом, а в 1963-м стала младшим научным сотрудником. В научной деятельности глубоко прониклась идеями Ипполита Васильевича Давыдовского, которые воплощала в своих исследованиях. В центре ее внимания оказались вопросы морфологии и морфогенеза хронического воспаления, взаимосвязи воспалительных и иммунных реакций, морфологии иммунопатологических процессов, в том числе аллергии. В 1964 году В.П. Быкова защитила кандидатскую диссертацию на тему «Экспериментальное изучение патогенеза интерстициальной пневмонии», в 1975-м –

докторскую диссертацию на тему «Динамика катарального воспаления».

Валентина Павловна Быкова – автор более 150 научных работ, соавтор написанных совместно с коллегами монографий «Поражения верхних дыхательных путей и уха при ревматических болезнях», «Заболевания среднего уха», является одним из авторов 4-го издания руководства «Патологоанатомическая диагностика опухолей человека», где ею написаны разделы, относящиеся к опухолям ЛОР-органов, и глава, посвященная иммуноморфологии опухолей. Под ее руководством защищено более десяти диссертаций. В последние годы В.П. Быкова трудилась в Центре оториноларингологии. Вела большую научно-общественную работу в Российском обществе патологоанатомов, редколлегии журналов «Архив патологии», «Российская ринология». Награждена знаком «Отличнику здравоохранения», медалью в честь 850-летия Москвы, почетной грамотой Минздрава России, ей присвоено звание «Ветеран труда». Валентина Павловна оставила добрую память в сердцах коллег, родных и близких.

*Российское общество патологоанатомов*