

КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

При поддержке Российского общества патологоанатомов

Том 14 | № 4 | 2025

ISSN 2226-5988

eISSN 2686-6749

**«Клиническая
и экспериментальная
морфология»**

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Периодичность: 6 раз 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

Грушецкая Е.О.

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

Зайратьяниц 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

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

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

Ельчанинов А.В., доктор мед. наук,
доцент, 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

Коришунов 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

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 14 | No 4 | 2025

ISSN 2226-5988

eISSN 2686-6749

“Clinical
and experimental
morphology”

SCIENTIFIC AND PRACTICAL
PEER-REVIEWED JOURNAL

Frequency: 6 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 Grushetskaya E.O.

Tel. +7 (499) 120-13-34

+7 (499) 128-87-01

e-mail: cem.journal@mail.ru

www.cem-journal.ru

Edition of 500 copies

Publisher

“Gruppa MDV”

www.mdv-group.ru

Subscription index:

70045 according
to the “Ural-Press” agency catalog

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

The mass media registration
certificate III № ФЧ77-83521
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

Elchaninov, Andrey V., Dr. Sci. Med.,
Associate 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

Savelyev, 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

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.Ю. Гаврилов, Н.П. Макарова, А.С. Якимова,
А.П. Калинин, Е.В. Кулакова*

Роль внеклеточных везикул семенной плазмы
в стабилизации функций сперматозоидов

5

*M.Yu. Gavrilov, N.P. Makarova, A.S. Yakimova,
A.P. Kalinin, E.V. Kulakova*

The role of extracellular vesicles of seminal plasma
in stabilizing sperm functions

*С.А. Борзенко, Л.В. Кактурский, А.А. Чурилов,
Д.С. Островский, З.М. Исмаилова*

Клинико-морфологические методы исследования
ретиального пигментного эпителия

14

*S.A. Borzenok, L.V. Kakturskiy, A.A. Churilov,
D.S. Ostrovskiy, Z.M. Ismailova*

Clinical and morphological methods for studying
retinal pigment epithelium

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ORIGINAL RESEARCH

А.С. Бадлаева, А.В. Трегубова, А.В. Асатунова
Клинико-морфологические и молекулярно-
генетические особенности пограничных серозных
опухолей яичника

22

A.S. Badlaeva, A.V. Tregubova, A.V. Asaturova
Clinical, morphological, and molecular-genetic features
of ovarian serous borderline tumors

*Н.А. Гутырчик, Л.В. Кактурский, Л.М. Михалева,
З.В. Гюева, А.В. Стоногин, С.Е. Соловьева,
В.Ю. Савина*

Гистопатология ушек сердца, удаленных
при кардиохирургических операциях у пациентов
с фибрилляцией предсердий

32

*N.A. Gutyrchik, L.V. Kakturskiy, L.M. Mikhaleva,
Z.V. Goeva, A.V. Stonogin, S.E. Solovyova,
V.Yu. Savina*

Histopathological evaluation of heart appendages
resected during cardiac surgery in patients with atrial
fibrillation

*А.В. Синицкая, М.В. Хуторная, О.Н. Хрячкова,
А.А. Ключева, А.О. Поддубняк, М.А. Асанов,
М.Ю. Синицкий*

Роль воспаления в развитии митрального стеноза
на фоне ревматической болезни сердца:
результаты генетического и гистологического
анализа

40

*A.V. Sinitskaya, M.V. Khutornaya, O.N. Hryachkova,
A.A. Klyueva, A.O. Poddubnyak, M.A. Asanov,
M.Yu. Sinitsky*

Inflammation in mitral stenosis due to rheumatic heart
disease: a genetic and histological study

Д.Р. Фамилья Фриас, З.Ю. Висаитова,
Ю.О. Тигай, А.А. Ивина, И.И. Бабиченко
Показатели транспорта глюкозы
и пролиферативной активности
в различных клеточных компонентах
мукоэпидермоидной карциномы
слюнной железы

49 D.R. Familia Frias, Z.Yu. Visaitova,
Yu.O. Tigay, A.A. Ivina, I.I. Babichenko
Indicators of glucose transport and proliferative
activity across cellular components in salivary gland
mucoepidermoid carcinoma

A.D. Koniaeva, E.Yu. Varakuta, M.V. Fedosova,
A.V. Potarov, A.V. Gerasimov, A.E. Leiman,
E.N. Bolbasov, A.O. Vorobyev, U.V. Chernova
Biointegration of barrier membranes with different
microstructures in hernia repair: preliminary
assessment of morphological aspects

55 А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, М.В. Федосова,
А.В. Потапов, А.В. Герасимов, А.Е. Лейман,
Е.Н. Ботьбасов, А.О. Воробьев, У.В. Чернова
Морфологические аспекты биоинтеграции
барьерных мембран с различными вариантами
микроструктуры для целей герниопластики

Д.А. Арешидзе, А.И. Ануркина, М.А. Козлова,
В.П. Черников
Морфометрические показатели формирования
структур почек крыс Вистар в различные периоды
онтогенеза

64 D.A. Areshidze, A.I. Anurkina, M.A. Kozlova,
V.P. Chernikov
Morphometric indices of kidney structure formation
in Wistar rats during different ontogenetic stages

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ CASE STUDIES

Д.А. Мурзаева, А.А. Сушкевич, П.П. Гришин,
О.А. Сазонова, А.А. Суфианов, Ю.М. Забродская
Опухоли оболочек периферических нервов,
ассоциированные с нейрофиброматозом 1-го типа

72 D.A. Murzaeva, A.A. Sushkevich, P.P. Grishin,
O.A. Sazonova, A.A. Sufianov, Yu.M. Zabrodskaia
Peripheral nerve sheath tumors associated with
neurofibromatosis type 1

ХРОНИКА EVENTS

XV пленум
Российского общества патологоанатомов

79 XV Conference of the Russian Society of Pathology

Роль внеклеточных везикул семенной плазмы в стабилизации функций сперматозоидов

М.Ю. Гаврилов¹, Н.П. Макарова¹, А.С. Якимова², А.П. Калинин², Е.В. Кулакова¹

¹ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

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

Резюме. Внеклеточные везикулы – это мембранные структуры клеточного происхождения, секретируемые различными типами клеток и желез во внешнюю и внутреннюю среду. Везикулы играют важную роль в коммуникации между клетками, участвуют во многих процессах, связанных с нормальным функционированием органов и тканей, часто являются маркерами патологических состояний. Внеклеточные везикулы были выделены практически из всех тканей, составляющих мужской репродуктивный тракт, но лучше всего они охарактеризованы в эпидидимисе и семенной жидкости. В общем смысле внеклеточные везикулы способствуют улучшению фертильности, поддерживая развитие и функционирование сперматозоидов, а также влияя на физиологию клеток женского репродуктивного тракта. Представленные в обзоре исследования позволяют расширить понимание о влиянии внеклеточных везикул на стабилизацию функций сперматозоидов и рассмотреть их как один из важнейших регуляторов мужской фертильности.

Ключевые слова: семенная плазма, внеклеточные везикулы, экзосомы, микровезикулы, эпидидимосомы, межклеточная коммуникация, вспомогательные репродуктивные технологии, сперматозоиды

Для корреспонденции: Наталья Петровна Макарова. E-mail: np_makarova@oparina4.ru

Для цитирования: Гаврилов М.Ю., Макарова Н.П., Якимова А.С., Калинин А.П., Кулакова Е.В. Роль внеклеточных везикул семенной плазмы в стабилизации функций сперматозоидов. Клини. экск. морфология. 2025;14(4):5–13. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.5-13.

Финансирование. Работа выполнена в рамках инициативного научного проекта «Изучение влияния внеклеточных везикул биологических жидкостей репродуктивных органов и тканей на гаметы, процесс оплодотворения и раннего эмбриогенеза человека и имплантации» (2025–2027) Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова.

Статья поступила 04.03.2025. Получена после рецензирования 20.03.2025. Принята в печать 12.05.2025.

The role of extracellular vesicles of seminal plasma in stabilizing sperm functions

M.Yu. Gavrilov¹, N.P. Makarova¹, A.S. Yakimova², A.P. Kalinin², E.V. Kulakova¹

¹ Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Abstract. Extracellular vesicles are membrane structures of cellular origin secreted by various types of cells and glands into both external and internal environments. These vesicles play an important role in intercellular communication and many health- and disease-related processes. Although extracellular vesicles have been isolated from nearly all specialized tissues of the male reproductive tract, their composition and function are best characterized in the epididymis and seminal fluid. Extracellular vesicles enhance fertility by promoting cell sperm development and function as well as influencing cellular physiology in the female reproductive tract. This review synthesizes current evidence on the role of extracellular vesicles in stabilizing sperm function and highlights their significance as key regulators of male fertility.

Keywords: seminal plasma, extracellular vesicles, exosomes, microvesicles, epididymosomes, intercellular communication, assisted reproductive technologies, sperm

Corresponding author: Natalya P. Makarova. E-mail: np_makarova@oparina4.ru

For citation: Gavrilov M.Yu., Makarova N.P., Yakimova A.S., Kalinin A.P., Kulakova E.V. The role of extracellular vesicles of seminal plasma in stabilizing sperm functions. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):5–13 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.5-13.

Funding. The work was carried out within the framework of the initiative scientific project “Study of the influence of extracellular vesicles from biological fluids of reproductive organs and tissues on gametes, the fertilization process, early human embryogenesis, and implantation” (2025–2027) of the V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

Received 04.03.2025. **Received in revised form** 20.03.2025. **Accepted** 12.05.2025.

Введение

Семенная плазма (СП) представляет собой сложную смесь жидкостей, продуцируемых яичками, придатками яичек, семявыносящими протоками и в основном вспомогательными половыми железами. Она имеет гетерогенный состав, включающий множество биоактивных молекул, которые играют ключевую роль в регуляции основных функций сперматозоидов и влияют на функциональную активность клеток женских половых путей [1]. По сути, биоактивные молекулы СП необходимы для активации подвижности сперматозоидов, создания благоприятной иммунной среды в матке для продвижения спермы, а также для поддержки развития эмбриона и его имплантации [2]. В связи с этим поиск биомаркеров мужской фертильности среди биоактивных молекул СП является актуальным направлением исследований [3]. Эти молекулы могут либо свободно находиться в семенной плазме, либо быть заключены во внеклеточные везикулы, что защищает их от воздействия естественных ингибиторов, таких как протеазы и нуклеазы, присутствующих в СП [4, 5].

Внеклеточные везикулы (ВВ) – это наноразмерные пузырьки, окруженные липидным бислоем, диаметр которых обычно варьируется от 30 до 1000 нм. Они содержат разнообразные молекулы, такие как белки, нуклеиновые кислоты, метаболиты и липиды. Эти везикулы образуются большинством функциональных клеток организма и высвобождаются во внеклеточное пространство либо из многовезикулярных телец, происходящих из эндосом (малые ВВ), либо путем прямого «отпочковывания» от плазматической мембраны (большие ВВ). ВВ свободно перемещаются в биологических жидкостях и могут взаимодействовать с клетками-мишенями, находящимися как вблизи места их образования, так и на значительном расстоянии от него. После передачи своего содержимого они способны изменять функциональное поведение этих клеток. Таким образом, ВВ играют ключевую роль в межклеточной коммуникации и участвуют в различных патологических процессах, включая онкологические и иммунные заболевания, нейродегенеративные расстройства, а также в физиологических репродуктивных процессах, таких как оплодотворение, имплантация эмбриона и формирование плаценты [6]. Благодаря своей способности переносить биологически активные молекулы ВВ рассматриваются как перспективные неинвазивные биомаркеры для оценки множества

функций организма, в том числе патологических процессов [3, 6].

СП содержит значительно большее количество ВВ по сравнению с кровью или спинномозговой жидкостью. Несмотря на то, что ВВ СП были одними из первых везикул, выделенных и описанных в биологических жидкостях, они до сих пор остаются недостаточно изученными. Эти везикулы секретируются клетками яичка, придатка яичка, семявыносящего протока, а также мужских придаточных желез, таких как предстательная железа и семенные пузырьки. Как и ВВ в других биологических жидкостях, семенные ВВ представляют собой гетерогенную популяцию, отличающуюся по размеру, форме, электронной плотности и молекулярному составу. ВВ семенной плазмы взаимодействуют со зрелыми сперматозоидами и эпителиальными клетками эндометрия, обмениваясь с ними биологически активными молекулами, и тем самым участвуют в ключевых репродуктивных процессах [7]. В частности, они играют важную роль в регуляции подвижности сперматозоидов, их капацитации и акросомной реакции – процессах, необходимых для успешного оплодотворения. Кроме того, состав и содержание ВВ различаются у мужчин с нормозооспермией и у тех, у кого наблюдаются нарушения сперматогенеза [8]. Семенные ВВ также способствуют безопасному продвижению сперматозоидов по женским половым путям, модулируя иммунный ответ матки. В совокупности эти данные свидетельствуют о важной роли ВВ в регуляции фертильности человека. Тем не менее в настоящее время среди молекул, инкапсулированных в ВВ, нет однозначно признанных биомаркеров мужской фертильности. Целью данного обзора литературы было обобщение существующих опубликованных данных о влиянии ВВ СП на функциональные свойства сперматозоидов, особенно криотолерантность (стабильность мембраны клетки).

Характеристика внеклеточных везикул, выделяемых мужским репродуктивным трактом, и их значение для созревания гамет

Яички человека производят дифференцированные сперматозоиды, однако половым клеткам не хватает подвижности и фертильности. Сперматозоиды становятся полностью функциональными по мере прохождения через посттестикулярные сегменты мужской репродуктивной системы. ВВ, секретируемые мужским

репродуктивным трактом, включая эпидидимосомы и простасомы [9, 10], играют ключевую роль в процессе созревания сперматозоидов. Простасомы содержат хромогранин В, ответственный за бактерицидную активность и препятствующий распознаванию иммунными клетками сперматозоидов в женском репродуктивном тракте. С другой стороны, после полового акта сперматозоиды попадают в разные сегменты женского репродуктивного тракта, продвигаясь из влагалища к месту оплодотворения. Во время прохождения внутри женского организма плазматическая мембрана мужских гамет претерпевает важные биохимические преобразования, вызывающие изменения поверхностных молекул. Данный процесс называется капацитацией.

К настоящему времени установлено, что ВВ играют множество важных физиологических ролей в различных системах органов. При этом область, где наше понимание их функций остается недостаточным, является развитие и функционирование мужского репродуктивного тракта. В частности, малоизученным остается влияние ВВ на мембраны гамет.

Сперматогонии в яичке дифференцируются и созревают в сперматозоиды в семенных канальцах начиная с периода пубертата и на протяжении всей взрослой жизни. Когда сперматозоиды покидают яички и попадают в их придатки, они подвергаются дальнейшим важным изменениям. ВВ, выделяемые клетками придатка яичка и предстательной железы, активно взаимодействуют со сперматозоидами в процессе их продвижения по репродуктивному тракту. Эти везикулы передают сперматозоидам биологически активные молекулы, что приводит к многочисленным модификациям и улучшению их функциональных свойств, необходимых для оплодотворения [11].

Сейчас выделены три основных класса ВВ. Микровезикулы – ВВ диаметром от 100 до 1000 нм, которые высвобождаются путем «отпочковывания» от плазматической мембраны клетки [12]. Второй класс, апоптотические тельца, – это ВВ, возникающие из плазматической мембраны клеток в процессе запрограммированной гибели (апоптоза). Описано, что апоптотические тельца имеют диаметр 1–5 мкм [13]. Третий класс, экзосомы, образуются из мультивезикулярных телец и секретируются, когда эти тельца сливаются с плазматической мембраной. Экзосомы представляют собой пузырьки диаметром 30–150 нм [14]. Из трех видов внеклеточных везикул экзосомам уделяется наибольшее внимание. Эти ВВ действуют как сигнальные средства и участвуют в межклеточной коммуникации для поддержания гомеостаза клетки посредством переноса липидов, белков и нуклеиновых кислот [15, 16]. Когда ВВ прикрепляются к клетке-мишени, они могут быть усвоены клеткой-реципиентом или слиться с мембраной клетки-мишени для доставки своего содержимого, регулируя тем самым разные физиологические или патологические процессы в клетке-реципиенте [17].

Большинство внеклеточных везикул циркулирует по всему организму и обладает стандартным набором регуляторных компонентов, тогда как некоторые ВВ несут специфические биомаркеры, характерные для их клеточного источника или патологического состояния, что делает их ценными для диагностики и прогнозирования заболеваний, в частности мужского и женского бесплодия. Кроме того, ВВ, обладая способностью транспортировать биомолекулы и преодолевать ключевые биологические барьеры, представляют собой перспективные носители для клинической доставки лекарственных средств [18]. Однако в этой области по-прежнему остается множество технических и регуляторных вопросов, таких как иммуногенность экзогенных ВВ и сложности в выделении чистых эндогенных ВВ, которые необходимо решить. В этом отношении СП является уникальной биологической жидкостью, изучение которой может привести к прорыву в понимании такого многофакторного заболевания как мужское бесплодие [19]. Семенная плазма формируется за счет секретов яичек, придатка яичка, предстательной железы, семенных пузырьков, а также бульбоуретральных и периуретральных желез, что свидетельствует о том, что внеклеточные везикулы, присутствующие в семенной плазме, могут иметь происхождение из этих желез. ВВ спермы из придатка яичка и простаты известны как эпидидимосомы и простасомы, соответственно. Эти ВВ защищают сперматозоиды и регулируют их подвижность, морфологию и акросомную реакцию [20], тем самым положительно влияя на ключевые процессы, связанные с функциями сперматозоидов.

Яичко взрослого человека состоит из двух отдельных компонентов: семенных канальцев и интерстициального компартмента. После полового созревания семенные канальцы продуцируют сперматозоиды, а интерстициальный компартмент в основном отвечает за стероидогенез. Преимущественно семенные канальцы состоят из клеток Сертоли (суспендоцитов) и половых клеток. Клетки Сертоли располагаются на базальной мембране канальцев, при этом их цитоплазматические отростки находятся в просвете.

Суспендоциты являются ключевым компонентом ниши стволовых клеток зародышевой линии и обеспечивают структурную и функциональную поддержку для развития сперматозоидов. Кроме обеспечения физической поддержки клетки Сертоли выполняют ключевую функцию в регуляции функций других клеток за счет выделения разнообразных эндокринных, паракринных и аутокринных факторов. Прямые контакты между клетками, включая щелевые соединения, десмосомы и плотные соединения, обнаружены между клетками Сертоли и половыми клетками [21]. Щелевые соединения участвуют в межклеточной коммуникации путем обмена ионами и малыми молекулами. Десмосомы поддерживают контакты между половыми клетками и клетками Сертоли, предотвра-

шая отслоение незрелых сперматозоидов в просвет извитого семенного канальца. Плотные соединения между клетками Сертоли образуют межклеточные барьеры, которые разделяют пространство семенных канальцев на базальный (базальный слой) и адлюминальный (просвет) отделы. Эта цитологическая структура образует основу гематотестикулярного барьера, защищающего сперматозоиды от антигенов, антител, крупных молекул и иммунных клеток и поддерживающего микроокружение половых клеток, полностью отличающееся от микроокружения плазмы крови [22]. Семенной каналец человека окружен перитубулярными миоидными клетками, которые, как считается, обладают сократительной функцией. Эти клетки могут обеспечивать физическую поддержку сперматогенеза и играть роль в изгнании сперматозоидов из семенных канальцев в придаток яичка, они также оказывают влияние на дифференцировку или синтетические функции клеток Сертоли, сперматозоидов и клеток Лейдига, продуцируя многочисленные паракринные факторы (IGF1, LIF, TGF α , TGF β , GDNF, CSF1 и P-Mod-S) [23].

Придаток яичка (эпидидимис) представляет собой плотно свернутую трубку, расположенную на его поверхности. Через нее сперматозоиды перемещаются из семявыносящих канальцев в семявыносящий проток, где соединяются с выделительными протоками семенных пузырьков. Эпидидимис выполняет множество важных функций, включая хранение, созревание и транспортировку сперматозоидов к семявыносящему протоку, а также удаление аномальных или дефектных сперматозоидов. Этот процесс посттестикулярного созревания обеспечивает формирование однородной популяции сперматозоидов, способных к оплодотворению. Если сперматозоиды не проходят через эпидидимис и не подвергаются этим изменениям, они теряют способность оплодотворить яйцеклетку [24].

Многие функциональные изменения, происходящие со сперматозоидами в эпидидимисе, опосредованы секрецией различных молекул, которые выделяются его клетками. Значительная часть этих молекул транспортируется с помощью ВВ.

Эпидидимосомы, как и другие ВВ в репродуктивном тракте мужчины, отличаются высокой гетерогенностью и важны для развития и созревания сперматозоидов [25]. Показано, что секретируемые в придатке яичка ВВ переносят в сперматозоиды некоторые молекулы (CD52, GliPr1L1, MIF, P25b, P34h, ATP2B4, SPAM1, AKR1B1, SLC27A2, EDDM3B, KRT19 и WFDC8), которые участвуют в созревании сперматозоидов [26–28]. Груз в эпидидимосоме также защищает сперматозоиды от окислительного стресса (ELSPBP1, BLVRA, GPX5 и глутатион-S-трансфераза) и регулирует морфологию сперматозоидов и подвижность (ADAM7 и ATP2B4) [29, 30]. Эпидидимосомный груз (малые некодирующие РНК) также модулирует экспрессию генов в сперматозоидах и, таким образом,

влияет на эпигенетическую наследственность по отцовской линии [31].

В СП у человека был идентифицирован белок ELSPBP1, связывающийся со сперматозоидами и происходящий из эпидидимиса [25]. По своей структуре он сходен с семейством SBPs, содержащим четыре tandemно расположенные молекулы фибронектина 2-го типа. SBPs связываются со сперматозоидами после эякуляции и способствуют выполнению многочисленных функций, включая капацитацию и подвижность. Точная функция ELSPBP1 неясна, его присутствие в сперме является характеристикой сперматозоидов, погибших до эякуляции. ELSPBP1 также был обнаружен у быков с низкой фертильностью, а дальнейший анализ показал, что он присутствует только в нежизнеспособной фракции гамет. Экспрессия ELSPBP1 может быть использована для характеристики нежизнеспособных сперматозоидов в придатке яичка: его присутствие идентифицировано лишь в подгруппе мертвых сперматозоидов в проксимальном придатке яичка и во всех мертвых гаметах в его дистальном придатке. Это открытие позволяет предположить, что придаток яичка секретирует ELSPBP1, который затем поглощается сперматозоидами во время их прохождения через придаток. Считается, что наличие этого белка в мертвых гаметах может выполнять защитную функцию для живых сперматозоидов. FGL2 – другой эпидидимальный белок, связанный с гибнущими сперматозоидами, образует оболочку вокруг нежизнеспособных сперматозоидов, защищая жизнеспособные сперматозоиды от высвобождения вредных ферментов [25].

Молекулы, которые передаются между эпидидимосомой и сперматозоидами, включают такие важные компоненты, как связанный с патогенезом глиомы 1-подобный белок 1 (GliPr1L1), молекулу адгезии сперматозоидов 1 (SPAM1) и металлопротеазы. Все они играют важную роль в процессе оплодотворения. Кроме того, эпидидимосомы переносят к сперматозоидам другие белки, такие как протоонкогенная тирозин-протеинкиназа Src (cSrc) и фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF), которые критически важны для капацитации и подвижности сперматозоидов. Некоторые из молекул, переносимых эпидидимосомой, хорошо изучены, но функции многих других до сих пор остаются не до конца определенными [32].

Доказательства, подтверждающие роль эпидидимосом в созревании сперматозоидов, можно получить, анализируя изменения морфологии и состава ВВ, которые выделяются из различных сегментов просвета придатка яичка, а также наблюдая за изменениями внутри самих сперматозоидов [33]. Эти изменения коррелируют с приобретением сперматозоидами ключевых функций, таких как подвижность и способность к оплодотворению яйцеклетки. Исследования показали, что в зависимости от области эпидидимиса ВВ связываются с разными частями сперматозоидов [10, 14].

Например, ВВ, которые препятствуют преждевременной миграции сперматозоидов, прикрепляются к их жгутику. В то же время молекулы, регулирующие связывание с блестящей оболочкой ооцита (например, белки P26h/P25b), транспортируются к плазматической мембране головки сперматозоида, покрытой акросомой.

Модификация РНК в сперматозоидах под воздействием внешних стимулов может изменять унаследованные от отца характеристики у потомства, такие как чувствительность к инсулину. В исследовании [34] определено, что отцовские экологические стрессоры передаются развивающимся сперматозоидам эпидидимальными ВВ, опосредуя посттестикулярные модификации мужских половых клеток. Это было дополнительно изучено на *in vitro* модели с использованием кортикостерона для имитации физиологического стресса, который изменил состав малых некодирующих РНК и белковые грузы ВВ. Инкубация этих ВВ со сперматозоидами и последующее оплодотворение методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида привели к транскриптомным изменениям как в ткани плаценты, так и в ткани мозга у развивающихся эмбрионов мыши.

Кроме ВВ эпидидимиса на стабилизацию функций мужских половых клеток существенно влияют ВВ предстательной железы (простасомы) – самого крупного из вспомогательных органов мужской репродуктивной системы, расположенного у основания мочевого пузыря. Жидкость, секретируемая клетками предстательной железы, составляет до одной шестой части эякулята, который затем смешивается с секретом семявыносящих протоков. Как и другие популяции ВВ, простасомы гетерогенны, их размер варьируется от 40 до 500 нм [35]. Их характеристика привела к идентификации на основе морфологии двух разных подгрупп; одна большая группа и одна меньшая, с более высокой электронной плотностью. Образование простасом, по-видимому, отличается от образования эпидидимосом. Их сборка была визуализирована в апикальной области клеток предстательной железы, где аппарат Гольджи наиболее распространен. Профиль размеров простасом очень похож на запасующие пузырьки в эпителии предстательной железы, что приводит к предположению, что эти пузырьки могут быть простасомами, которые еще предстоит высвободить. Дальнейшая визуализация выявила сходство между образованием пузырьков-накопителей в предстательной железе и мультивезикулярных телец, места образования ВВ в клетках [36]. Поверхностные маркеры простасом, хотя и полученные из клеточной линии рака предстательной железы (PC-3), обогащены мультивезикулярными тельцами и маркерами ВВ, включая субстрат тирозинкиназы, регулируемый фактор роста гепатоцитов (HGS), лизосомально-ассоциированный мембранный белок 1 и 2 (LAMP1 и LAMP2) и белок восприимчивости к опухоли (TSG101) [37]. Несмотря

на сходство между простасомами и запасующими пузырьками предстательной железы, до сих пор не показано, что накопительные пузырьки, наблюдаемые в предстательной железе, являются предшественниками простасом, высвобождающихся во внеклеточную среду [38].

Установлено, что простасомы при культивировании со сперматозоидами могут увеличивать подвижность мужских гамет (рецепторы прогестерона, компоненты сигнального каскада Ca^{2+} и аминопептидаза N) и защищать сперматозоиды от окислительного стресса (NOSs и ATP2B4) [39], а также от собственного иммунитета мужского организма, бактерий и агрессивной кислой среды в репродуктивном тракте женщины (РН, LGALS3 и CD48) [40, 41]. Груз в простасомах также может предотвращать преждевременную капацитацию и акросомную реакцию (холестерин) [42] и участвует в последующей индукции капацитации, гиперактивации сперматозоидов и акросомной реакции в момент оплодотворения (цАМФ, рецепторы прогестерона, гидролазы и липоксигеназы) [43].

Взаимодействие ВВ со сперматозоидами после эякуляции и перенос Ca^{2+} подчеркивают одну из ролей этих клеток в посттестикулярной модификации сперматозоидов. Мужские половые клетки, попавшие в женский репродуктивный тракт, хотя и являются морфологически зрелыми, все же должны пройти дальнейшую модификацию, чтобы приобрести потенциал для оплодотворения, то есть созреть функционально. Эти процессы в совокупности называются капацитацией. Неудивительно, что было выявлено несколько функций ВВ семенной плазмы, наиболее значимой из которых является их способность непосредственно сливаться со сперматозоидами.

Анализ состава ВВ семенной жидкости при сравнении пациентов с астенozoоспермией и нормozoоспермией выявил дифференциальную экспрессию белка TRPV6 [44]. TRPV6 является эпителиальным Ca^{2+} -каналом, регулирующим внутренний Ca^{2+} , и было показано, что нокаут гена *TRPV6* нарушает поглощение Ca^{2+} в эпидидимальном эпителии, что приводит к повышению внутреннего Ca^{2+} . В дополнение к нарушению регуляции Ca^{2+} падение уровня белка TRPV6 в ВВ семенной жидкости и сперматозоидах было связано с астенozoоспермией и снижением способности к оплодотворению. Учитывая понимание важности регуляции Ca^{2+} для подвижности сперматозоидов, снижение уровня белка TRPV6 в ВВ и уменьшение ВВ-опосредованного переноса TRPV6 может играть важную роль в обеспечении подвижности развивающихся сперматозоидов.

Таким образом, можно говорить о важности изучения ВВ СП для лучшего понимания процессов созревания гамет, происходящих в репродуктивном тракте мужчины, и формирования условий *in vitro*, которые бы способствовали улучшению мужской фертильности в случаях бесплодия.

Взаимодействие внеклеточных везикул семенной плазмы со сперматозоидами в женском репродуктивном тракте

Взаимодействие сперматозоидов и ВВ семенной жидкости начинается только после эякуляции, поэтому большая часть их объединения и переноса веществ в сперматозоиды происходит в нижнем отделе женского репродуктивного тракта (влагалище, шейка матки). Эти взаимодействия зависят от pH: в кислой среде ВВ связываются со средней частью сперматозоида, а в нейтральной с его головкой [45]. Этот механизм связан с увеличением выживаемости сперматозоидов в нижнем отделе женских половых путей и позволяет им пройти через цервикальную слизь и преодолеть большое расстояние до фаллопиевых труб для оплодотворения яйцеклетки. Сперматозоиды в эякуляте еще не полностью функциональны и сначала должны пройти капацитацию. Большое количество протаминов в сперматозоидах, которые заменяют гистоны в процессе спермиогенеза, означает, что они не способны синтезировать белки и полагаются на взаимодействие с внешней средой для дальнейшей модификации, например с ВВ [45]. Капацитация сперматозоидов происходит под действием протеинкиназы С и зависит от цАМФ. Доставка цАМФ с помощью простасом приводит к повышению его уровня в сперматозоидах. Помимо цАМФ и грузов, необходимых для капацитации, ВВ транспортируют к сперматозоидам различные важные вещества, включая циклическую аденозиндифосфорибозу и компоненты, участвующие в регуляции кальциевых каналов [46]. Помимо этого в научной литературе описано взаимодействие сперматозоидов с ВВ из женского репродуктивного тракта [14]. Флуоресцентно меченные ВВ, полученные из культивируемых клеток эндометрия в фазе пролиферации, продемонстрировали повышенное поглощение сперматозоидами по сравнению с их аналогами в фазе секреции. Также показано, что поглощение ВВ эндометрия секреторной фазы приводит к увеличению потенциала капацитации в сперматозоидах и, вероятно, отражает одно из многих динамических взаимодействий между мужской гаметой и женским репродуктивным трактом при подготовке к оплодотворению и последующей имплантации эмбриона [47].

Таким образом, можно с уверенностью говорить о том, что ВВ как СП, так и женского репродуктивного тракта существенно влияют на функции мужских половых клеток, приводя к модификациям мембраны, что отражается на основной функции сперматозоидов — участии в оплодотворении и последующем развитии эмбриона.

Влияние внеклеточных везикул семенной плазмы на криотолерантность сперматозоидов

Изучалось влияние экзосом и ВВ на криоконсервацию сперматозоидов, изменение функциональных

параметров, а также влияние концентрации белка в экзосомах и ВВ на жизнеспособность, морфологию и параметры подвижности гамет после размораживания [48]. Показатели жизнеспособности и морфологии сперматозоидов были значительно улучшены по сравнению с контрольным образцом при любых концентрациях внеклеточных везикул, а также увеличилась концентрация прогрессивно подвижных сперматозоидов. Обнаружено и влияние сокультивирования ВВ с мужскими гаметами на выработку активных форм кислорода, окисление липидов, улучшение мембранного потенциала митохондрий, уменьшение фрагментации ДНК [48].

В другом исследовании выявлено, что экзосомы, полученные из семенной плазмы человека, имели круглую морфологию с размерами, в основном варьирующими от 43 до 144 нм [49]. Электронная микроскопия экзосом показала, что протокол последовательного ультрацентрифугирования был эффективным для выделения ВВ из семенной плазмы человека, при этом посторонние белки не мешали визуализировать ВВ. Важно понимать, что при проведении экспериментальных работ крайне необходимо оценивать присутствие белковых агрегатов, поскольку они могут содержать белки, влияющие на ВВ при криоконсервации спермы. Было выявлено наличие экспрессии экзосомных маркеров тетраспанинов, таких как CD63, CD81 и CD9, тогда как экспрессия калнексина в экзосомах отсутствовала, что соответствует результатам вестерн-блоттинга, полученным в других исследованиях [50]. Предполагается, что экзосомы и внеклеточные везикулы могут служить так называемыми криопротекторами при добавлении в среды для замораживания сперматозоидов в лабораториях вспомогательных репродуктивных технологий. Однако механизм, с помощью которого они предотвращают повреждение спермы, связанное с понижением температуры и образованием ледяных кристаллов, остается неясным. Особенно актуальна тема добавления принципиально новых криопротекторов к половым клеткам для разработки технологий замораживания единичных сперматозоидов (выраженный фактор мужского бесплодия), когда выживание каждой гаметы крайне важно для дальнейшей реализации репродуктивной функции.

Заключение

Распознавание ключевого состава внеклеточных везикул и его влияния на функциональные характеристики сперматозоидов важно для понимания участия таких везикул в процессах капацитации, формирования фертильных сперматозоидов, акросомной реакции, оплодотворения и развития эмбриона. Это поможет не только понять фундаментальные механизмы формирования фертильной мужской половой клетки, но и разработать новые технологии, сохраняющие репродуктивный потенциал человека в программах лечения

бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Ovčar A, Kovačič B. Biogenesis of extracellular vesicles (EVs) and the potential use of embryo-derived EVs in medically assisted reproduction. *Int J Mol Sci.* 2024;26(1):42. DOI: 10.3390/ijms26010042.
2. Barranco I, Spinaci M, Nesci S, Mateo-Otero Y, Baldassarro VA, Algieri C et al. Seminal extracellular vesicles alter porcine in vitro fertilization outcome by modulating sperm metabolism. *Theriogenology.* 2024;219:167–79. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2024.02.024.
3. Zhang X, Liang M, Song D, Huang R, Chen C, Liu X et al. Both protein and non-protein components in extracellular vesicles of human seminal plasma improve human sperm function via CatSper-mediated calcium signaling. *Hum Reprod.* 2024;39(4):658–73. DOI: 10.1093/humrep/deae018.
4. Parra A, Padilla L, Lucas X, Rodriguez-Martinez H, Barranco I, Roca J. Seminal extracellular vesicles and their involvement in male (in)fertility: a systematic review. *Int J Mol Sci.* 2023;24(5):4818. DOI: 10.3390/ijms24054818.
5. Roca J, Rodriguez-Martinez H, Padilla L, Lucas X, Barranco I. Extracellular vesicles in seminal fluid and effects on male reproduction. An overview in farm animals and pets. *Anim Reprod Sci.* 2022;246:106853. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2021.106853.
6. Martínez-Díaz P, Parra A, Montesdeoca M, Barranco I, Roca J. Updating research on extracellular vesicles of the male reproductive tract in farm animals: a systematic review. *Animals (Basel).* 2024;14(21):3135. DOI: 10.3390/ani14213135.
7. Yáñez-Mó M, Siljander PR, Andreu Z, Zavec AB, Borràs FE, Buzas EI et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles.* 2015;4:27066. DOI: 10.3402/jev.v4.27066.
8. Candenas L, Chianese R. Exosome composition and seminal plasma proteome: a promising source of biomarkers of male infertility. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7022. DOI: 10.3390/ijms21197022.
9. Saez F, Frenette G, Sullivan R. Epididymosomes and prostasomes: their roles in posttesticular maturation of the sperm cells. *J Androl.* 2003;24(2):149–54. DOI: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02653.x.
10. Trigg NA, Eamens AL, Nixon B. The contribution of epididymosomes to the sperm small RNA profile. *Reproduction.* 2019;157(6):R209–23. DOI: 10.1530/REP-18-0480.
11. Rimmer MP, Gregory CD, Mitchell RT. The transformative impact of extracellular vesicles on developing sperm. *Reprod Fertil.* 2021;2(3):R51–66. DOI: 10.1530/RAF-20-0076.
12. van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018;19(4):213–28. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.
13. Park KH, Kim BJ, Kang J, Nam TS, Lim JM, Kim HT et al. Ca²⁺ signaling tools acquired from prostasomes are required for progesterone-induced sperm motility. *Sci Signal.* 2011;4(173):ra31. DOI: 10.1126/scisignal.2001595.
14. Sysoeva AP, Makarova NP, Silachev DN, Lobanova NN, Shevtsova YA, Bragina EE et al. Influence of extracellular vesicles of the follicular fluid on morphofunctional characteristics of human sperm. *Bull Exp Biol Med.* 2021;172(2):254–62. DOI: 10.1007/s10517-021-05372-4.
15. Gervasi MG, Visconti PE. Molecular changes and signaling events occurring in spermatozoa during epididymal maturation. *Andrology.* 2017;5(2):204–18. DOI: 10.1111/andr.12320.
16. Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavieu G, Théry C. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nat Cell Biol.* 2019;21(1):9–17. DOI: 10.1038/s41556-018-0250-9.
17. Raposo G, Stahl PD. Extracellular vesicles: a new communication paradigm? *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(9):509–10. DOI: 10.1038/s41580-019-0158-7.
18. Zhang G, Huang X, Xiu H, Sun Y, Chen J, Cheng G et al. Extracellular vesicles: natural liver-accumulating drug delivery vehicles for the treatment of liver diseases. *J Extracell Vesicles.* 2020;10(2):e12030. DOI: 10.1002/jev2.12030.
19. Poh QH, Rai A, Salamonsen LA, Greening DW. Omics insights into extracellular vesicles in embryo implantation and their therapeutic utility. *Proteomics.* 2023;23(6):e2200107. DOI: 10.1002/pmic.202200107.
20. Murdica V, Giacomini E, Alteri A, Bartolacci A, Cermisani GC, Zarovni N et al. Seminal plasma of men with severe asthenozoospermia contain exosomes that affect spermatozoa motility and capacitation. *Fertil Steril.* 2019;111(5):897–908.e2. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.01.030.
21. Mao B, Bu T, Mruk D, Li C, Sun F, Cheng CY. Modulating the blood-testis barrier towards increasing drug delivery. *Trends Pharmacol Sci.* 2020;41(10):690–700. DOI: 10.1016/j.tips.2020.07.002.
22. Potter SJ, DeFalco T. Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function. *Reproduction.* 2017;153(4):R151–62. DOI: 10.1530/REP-16-0588.
23. Mruk DD, Cheng CY. The mammalian blood-testis barrier: its biology and regulation. *Endocr Rev.* 2015;36(5):564–91. DOI: 10.1210/er.2014-1101.
24. Caballero J, Frenette G, Sullivan R. Post testicular sperm maturational changes in the bull: important role of the epididymosomes and prostasomes. *Vet Med Int.* 2010;2011:757194. DOI: 10.4061/2011/757194.
25. D'Amours O, Frenette G, Bordeleau LJ, Allard N, Leclerc P, Blondin P et al. Epididymosomes transfer epididymal sperm binding protein 1 (ELSPBP1) to dead spermatozoa during epididymal transit in bovine. *Biol Reprod.* 2012;87(4):94. DOI: 10.1095/biolreprod.112.100990.
26. Weigel Muñoz M, Cohen DJ, Da Ros VG, González SN, Rebagliati Cid A, Sulzyk V et al. Physiological and pathological aspects of epididymal sperm maturation. *Mol Aspects Med.* 2024;100:101321. DOI: 10.1016/j.mam.2024.101321.
27. Frenette G, Sullivan R. Prostate-like particles are involved in the transfer of P25b from the bovine epididymal fluid to the sperm surface. *Mol Reprod Dev.* 2001;59(1):115–21. DOI: 10.1002/mrd.1013.

28. Baskaran S, Panner Selvam MK, Agarwal A. Exosomes of male reproduction. *Adv Clin Chem.* 2020;95:149–63. DOI: 10.1016/bs.acc.2019.08.004.
29. Oh JS, Han C, Cho C. ADAM7 is associated with epididymosomes and integrated into sperm plasma membrane. *Mol Cells.* 2009;28(5):441–6. DOI: 10.1007/s10059-009-0140-x.
30. Choi H, Han C, Jin S, Kwon JT, Kim J, Jeong J et al. Reduced fertility and altered epididymal and sperm integrity in mice lacking ADAM7. *Biol Reprod.* 2015;93(3):70. DOI: 10.1095/biolreprod.115.130252.
31. Peng H, Shi J, Zhang Y, Zhang H, Liao S, Li W et al. A novel class of tRNA-derived small RNAs extremely enriched in mature mouse sperm. *Cell Res.* 2012;22(11):1609–12. DOI: 10.1038/cr.2012.141.
32. Plante G, Prud'homme B, Fan J, Lafleur M, Manjunath P. Evolution and function of mammalian binder of sperm proteins. *Cell Tissue Res.* 2016;363(1):105–27. DOI: 10.1007/s00441-015-2289-2.
33. Nixon B, De Iuliis GN, Hart HM, Zhou W, Mathe A, Bernstein IR et al. Proteomic profiling of mouse epididymosomes reveals their contributions to post-testicular sperm maturation. *Mol Cell Proteomics.* 2019;18(Suppl 1):S91–108. DOI: 10.1074/mcp.RA118.000946.
34. Chan JC, Morgan CP, Adrian Leu N, Shetty A, Cisse YM, Nugent BM et al. Reproductive tract extracellular vesicles are sufficient to transmit intergenerational stress and program neurodevelopment. *Nat Commun.* 2020;11(1):1499. DOI: 10.1038/s41467-020-15305-w.
35. Sheibak N, Zandieh Z, Amjadi F, Aflatoonian R. How sperm protects itself: a journey in the female reproductive system. *J Reprod Immunol.* 2024;163:104222. DOI: 10.1016/j.jri.2024.104222.
36. Sahlén GE, Egevad L, Ahlander A, Norlén BJ, Ronquist G, Nilsson BO. Ultrastructure of the secretion of prostasomes from benign and malignant epithelial cells in the prostate. *Prostate.* 2002;53(3):192–9. DOI: 10.1002/pros.10126.
37. Llorente A, van Deurs B, Sandvig K. Cholesterol regulates prostasome release from secretory lysosomes in PC-3 human prostate cancer cells. *Eur J Cell Biol.* 2007;86(7):405–15. DOI: 10.1016/j.ejcb.2007.05.001.
38. Tarazona R, Delgado E, Guarnizo MC, Roncero RG, Morgado S, Sánchez-Correa B et al. Human prostasomes express CD48 and interfere with NK cell function. *Immunobiology.* 2011;216(1-2):41–6. DOI: 10.1016/j.imbio.2010.03.002.
39. Murdica V, Giacomini E, Makieva S, Zarovni N, Candiani M, Salonia A et al. In vitro cultured human endometrial cells release extracellular vesicles that can be uptaken by spermatozoa. *Sci Rep.* 2020;10(1):8856. DOI: 10.1038/s41598-020-65517-9.
40. Bailey JL. Factors regulating sperm capacitation. *Syst Biol Reprod Med.* 2010;56(5):334–48. DOI: 10.3109/19396368.2010.512377.
41. Aalberts M, Sostaric E, Wubbolts R, Wauben MW, Nolte-’t Hoen EN, Gadella BM et al. Spermatozoa recruit prostasomes in response to capacitation induction. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1834(11):2326–35. DOI: 10.1016/j.bbapap.2012.08.008.
42. Méar LO, Tsai PS, Tamessar CT, Schjenken JE, Nixon B. Epididymosomes: composition and functions for sperm maturation. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2024 Sep 24. Online ahead of print. DOI: 10.1007/102_2024_7.
43. Lin Y, Liang A, He Y, Li Z, Li Z, Wang G et al. Proteomic analysis of seminal extracellular vesicle proteins involved in asthenozoospermia by iTRAQ. *Mol Reprod Dev.* 2019;86(9):1094–105. DOI: 10.1002/mrd.23224.
44. Weissgerber P, Kriebs U, Tsvilovskyy V, Olausson J, Kretz O, Stoerger C et al. Excision of Trpv6 gene leads to severe defects in epididymal Ca²⁺ absorption and male fertility much like single D541A pore mutation. *J Biol Chem.* 2012;287(22):17930–41. DOI: 10.1074/jbc.M111.328286.
45. Samanta L, Swain N, Ayaz A, Venugopal V, Agarwal A. Post-translational modifications in sperm proteome: the chemistry of proteome diversifications in the pathophysiology of male factor infertility. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1860(7):1450–65. DOI: 10.1016/j.bbagen.2016.04.001.
46. Pons-Rejraji H, Artonne C, Sion B, Brugnion F, Canis M, Janny L et al. Prostasomes: inhibitors of capacitation and modulators of cellular signalling in human sperm. *Int J Androl.* 2011;34(6 Pt 1):568–80. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2010.01116.x.
47. Tkach M, Théry C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell.* 2016;164(6):1226–32. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.043.
48. Mahdaviniezhad F, Gilani MAS, Gharaei R, Ashrafnezhad Z, Valipour J, Nashtaei MS et al. Protective roles of seminal plasma exosomes and microvesicles during human sperm cryopreservation. *Reprod Biomed Online.* 2022;45(2):341–53. DOI: 10.1016/j.rbmo.2022.03.033.
49. Simon C, Greening DW, Bolumar D, Balaguer N, Salamonsen LA, Vilella F. Extracellular vesicles in human reproduction in health and disease. *Endocr Rev.* 2018;39(3):292–332. DOI: 10.1210/er.2017-00229.
50. Andrews RE, Galileo DS, Martin-DeLeon PA. Plasma membrane Ca²⁺-ATPase 4: interaction with constitutive nitric oxide synthases in human sperm and prostasomes which carry Ca²⁺/CaM-dependent serine kinase. *Mol Hum Reprod.* 2015;21(11):832–43. DOI: 10.1093/molehr/gav049.

Информация об авторах

Максим Юрьевич Гаврилов – младший научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Наталья Петровна Макарова – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Александра Сергеевна Якимова – магистр 2-го курса медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Андрей Павлович Калинин – студент 4-го курса лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Елена Владимировна Кулакова – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. профессора Б.В. Леонова НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Authors information

Maxim Yu. Gavrilov – Junior Researcher, B.V. Leonov Department of Assistive Technologies in Infertility Treatment, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

<https://orcid.org/0000-0001-6189-0287>

Natalya P. Makarova – Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, B.V. Leonov Department of Assistive Technologies in Infertility Treatment, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

<https://orcid.org/0000-0003-1396-7272>

Alexandra S. Yakimova – 2nd-year Master's Student, Faculty of Biomedical Sciences, Pirogov Russian National Research Medical University.

<https://orcid.org/0009-0001-5913-2660>

Andrey P. Kalinin – 4th-year Student, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University.

<https://orcid.org/0009-0007-4828-8962>

Elena V. Kulakova – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, B.V. Leonov Department of Assistive Technologies in Infertility Treatment, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.

<https://orcid.org/0000-0002-4433-4163>

Клинико-морфологические методы исследования ретинального пигментного эпителия

С.А. Борзенок^{1,2}, Л.В. Кактурский³, А.А. Чурилов¹, Д.С. Островский¹, З.М. Исмаилова¹

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Российский университет медицины Минздрава России, Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Резюме. Представлен анализ современной тематической литературы, посвященной основополагающим морфологическим методам исследования ретинального пигментного эпителия. Для диагностики патологии ретинального пигментного эпителия используются гистологические и иммуногистохимические методы, оптическая когерентная томография, метод сегментации проекции изображения сетчатки, а также полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией и морфологическая оценка ретинального пигментного эпителия при аутофлюоресценции. Современные методы направлены на своевременное выявление специфики патологии сетчатки и создание эффективных диагностических протоколов с модернизацией существующих вариантов исследования. В частности, в настоящее время прицельного дополнительного исследования требует малоинвазивная диагностика патологий ретинального пигментного эпителия.

Ключевые слова: ретинальный пигментный эпителий, возрастная макулярная дегенерация, морфологическое исследование ретинального пигментного эпителия

Для корреспонденции: Алексей Александрович Чурилов. E-mail: churilov_aa@mail.ru

Для цитирования: Борзенок С.А., Кактурский Л.В., Чурилов А.А., Островский Д.С., Исмаилова З.М. Клинико-морфологические методы исследования ретинального пигментного эпителия. Клин. эксп. морфология. 2025;14(4):14–21. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.14-21.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 05.11.2024. Получена после рецензирования 05.02.2025. Принята в печать 17.02.2025.

Clinical and morphological methods for studying retinal pigment epithelium

S.A. Borzenok^{1,2}, L.V. Kakturskiy³, A.A. Churilov¹, D.S. Ostrovskiy¹, Z.M. Ismailova¹

¹ S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”, Moscow, Russia

² Russian University of Medicine, Moscow, Russia

³ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Moscow, Russia

Abstract. The paper analyzes modern literature on the main morphological methods to study retinal pigment epithelium in cell cultures. To diagnose retinal pigment epithelium pathologies, the following approaches are used: histological and histochemical methods, optical coherence tomography, RPS-Net, RT-PCR test, and morphological evaluation of retinal pigment epithelium with autofluorescence. These tools allow us to determine the main structural and cytogenetic features of the retinal pigment epithelium based on its qualitative and quantitative characteristics. Modern diagnostic techniques focus on early detection of retinal pathology and the development of effective diagnostic protocols, including advancements in existing techniques. In particular, minimally invasive diagnostic tools for assessing retinal pigment epithelium pathology warrant further targeted research.

Keywords: retinal pigment epithelium, age-related macular degeneration, morphological study of retinal pigment epithelium

Corresponding author: Alexey A. Churilov. E-mail: churilov_aa@mail.ru

For citation: Borzenok S.A., Kakturskiy L.V., Churilov A.A., Ostrovskiy D.S., Ismailova Z.M. Clinical and morphological methods for studying retinal pigment epithelium. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):14–21 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.14-21.

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

Received 05.11.2024. **Received in revised form** 05.02.2025. **Accepted** 17.02.2025.

Введение

Строение глазного яблока, в частности глазного дна, имеет ряд отличительных структурно-функциональных особенностей, о которых широкий круг патоморфологов осведомлен недостаточно.

Известно, что ретинальный пигментный эпителий (РПЭ) как структура представлен неоднородным монослоем, включающим 4–6 млн гексагональных клеток с выраженной пигментацией, находящихся между нейросенсорным апикальным слоем сетчатки и базально расположенной сосудистой оболочкой. Слои соединены между собой плотными контактами [1–6]. Основания клеток РПЭ размещаются на базальной мембране, граничащей с мембраной Бруха сосудистой оболочки [5]. Клетки РПЭ взрослого человека располагаются в пределах сетчатки неоднородно. Они различаются размерами (в среднем около 10 мкм), содержанием пигмента, формой апикальных отростков и синтезом ряда белков (RPE65, Vimentin, CRALBP, PAX6 и др.). Кроме того, важно отметить, что клетки РПЭ обладают низким уровнем митотической активности [7].

Одной из наиболее часто встречающихся патологий РПЭ является возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – хроническое заболевание центральной зоны сетчатки, характеризующееся тенденцией к медленно прогрессирующему снижению зрения [6, 8].

Об актуальности вопросов диагностики и терапии патологии РПЭ свидетельствуют статистические данные, согласно которым в Российской Федерации более 14% населения старше 40 лет страдает от ВМД. В США в данной возрастной категории у 11,64% населения выявлена ранняя стадия ВМД, у 0,94% – поздняя [9]. В близкой возрастной категории, старше 45 лет, среди населения Китая распространенность ВМД составляет 5,88%, а среди людей старше 65 лет 16,83% [10]. В условиях интенсивного развития современных методов исследования РПЭ и совершенствования протоколов лечения наблюдается стремительное увеличение числа выявленных случаев патологии РПЭ.

Патогенез ВМД в настоящее время по-прежнему остается предметом дискуссий в научном сообществе. Известно, что ВМД характеризуется комплексным мультифакторным патогенезом, связанным с возрастными дегенеративными процессами, экологическим риском и генетической восприимчивостью [11].

Оптимальной тактикой терапии патологии сетчатки, в частности ВМД, является трансплантация культуры клеток РПЭ в форме суспензии или клеточного монослоя на мембране Бруха через трансцилиарный либо трансклеральный доступ [12–17]. Тем не менее в рам-

ках достижения наиболее благоприятных результатов трансплантации необходимо сформировать целостное представление о РПЭ, а именно охарактеризовать культуру клеток и определить присутствие специфических маркеров, подтверждающих наличие истинного функционально активного РПЭ. Представляются значимыми ранняя диагностика заболеваний РПЭ и, как следствие, своевременное начало патогенетически ориентированного лечения.

В связи с интенсивным развитием современных диагностических технологий заболевания пигментного слоя сетчатки диагностируются существенно чаще, что обуславливает высокий научный интерес к данному направлению и требует его активного изучения [8].

Строение РПЭ обладает специфическими характеристиками. РПЭ контактирует с дистальной частью наружных сегментов нейросенсорных клеток. Одна клетка соприкасается с 30–45 наружными сегментами фоторецепторов. Наружный сегмент каждой из палочек окружен отростками пигментных клеток (3–7 штук), содержащими органеллы общего назначения, меланосомы и фагосомы. Наружный сегмент колбочки, в свою очередь, окружен более длинными отростками (30–40 штук), содержащими меланосомы.

На апикальной поверхности клеток РПЭ расположены микроворсинки следующих типов:

- длинные – находятся между наружными сегментами нейросенсорных клеток;
- короткие – соединены с концами наружных сегментов нейросенсорных клеток [7].

РПЭ обладает депонирующими свойствами. Так, в его клетках осуществляется накопление меланосом, а также липофусцина и меланолипидов, обладающих свойством аутофлюоресценции, что имеет большое диагностическое значение при исследовании глазного дна [9, 18]. Также диагностически значима высокая отражающая способность внешней ограничивающей мембраны и митохондрий внутреннего сегмента описанных клеток, что определяется при спектральной доменной оптической когерентной томографии (spectral-domain optical coherence tomography, SD-OCT) [19].

Кроме того, даже в условиях однослойного строения РПЭ структурно-функциональные особенности клеток варьируют в зависимости от положения объекта относительно макулы [20]. К таким особенностям можно отнести следующие:

- клетки РПЭ, расположенные рядом с центральной ямкой (fovea centralis), характеризуются меньшим диаметром и обладают большим количеством гранул липофусцина [20, 21];

- зачастую клетки РПЭ имеют несколько ядер, что наиболее выражено в области, прилежащей к центральной ямке [22];
- непосредственно в центральной ямке количество клеток РПЭ крайне мало – данная группа практически отсутствует [22].

С целью исследования структурно-функциональных особенностей РПЭ сегодня применяются различные морфологические методы исследования.

Гистологический метод характеризует структурные особенности РПЭ в виде неоднородного однослойного образования, представленного гексагональными поляризованными пигментированными клетками с низкой митотической активностью, кубической или цилиндрической формы, с низким уровнем пролиферативной активности и неодинаковой степенью дифференцировки (более дифференцированными чаще являются клетки центральной области сетчатки) [5].

Флюоресцентный иммуноцитохимический анализ в срезах РПЭ, полученных от плодов человека и взрослых людей, а также в клеточных культурах дедифференцированных клеток РПЭ осуществляли с использованием антител к маркерам ряда белков. Срезы РПЭ берут с заднего сегмента глазного яблока после предварительной фиксации в 10% растворе формалина.

А) Маркеры РПЭ

- CRALBP – клеточный ретинальдегидсвязывающий белок, характерный маркер РПЭ. При анализе РПЭ плодов человека обнаружен в большинстве клеток эпителиальной морфологии, а при анализе РПЭ взрослых людей наблюдался в единичных клетках первичных и пассируемых культур. Предполагается, что данный белок принимает непосредственное участие в осуществлении сетчаткой фоторецепторной функции, а именно в работе палочек и колбочек [23]. Значимой также представляется связь между экспрессией белка и процессами клеточного глиоза [24].
- RPE65 – маркерный белок для РПЭ, участвующий в регенерации светочувствительного пигмента. В первичной культуре синтез RPE65 практически прекращался [5]. Отсутствие реакции на этот белок демонстрирует утрату клеткой свойств, характерных для эпителиальной группы [25].

Б) Маркеры нейронов и нейроглии

- ВПП-тубулин – маркер ранних нейронов. Реакция на этот белок отмечалась в единичных клетках фибробластоподобной морфологии распластанной и биполярной формы, в некоторых из них были сохранены единичные меланиновые гранулы [5, 26].
- Нейрональный кадгерин (N-cadherin) – кальцийзависимый белок клеточной адгезии. Наблюдалось

позитивное окрашивание в эпителиоподобных клетках культуры, в области межклеточных контактов, цитоплазме фибробластоподобных клеток [5, 27].

- Нестин (Nestin) – белок-маркер нейроэпителиальных и нейральных стволовых клеток. Отмечается позитивное окрашивание многочисленных вытянутых, биполярных клеток во всех случаях. Кроме того, по результатам двойного окрашивания антителами к Ki67 и нестину отмечалась активная пролиферация именно среди нестинпозитивных клеток [5, 28].
- Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) – маркер повреждения глиальных клеток, клеточного глиоза. Отмечены немногочисленные популяции позитивно окрашенных глиальных клеток в каждом из образцов культивируемых клеток РПЭ [5, 29].

В) Маркеры пролиферации и регенерации

- Ki67 – белок клеточной пролиферации. Явная положительная реакция с последующим снижением числа окрашенных клеток по мере пассирования. В связи с более интенсивной пролиферацией в группе фибробластоподобных клеток окрашивание более интенсивное в сравнении с эпителиальными [5, 30].
- BDNF (нейротрофический фактор мозга) является регулятором для нейральных стволовых клеток и их дифференцировки в нейральном направлении. В эксперименте было показано, что BDNF значительно увеличивает экспрессию ВПП-тубулина в эпителиоподобных клетках в среде без сыворотки, а с 1% сывороткой FBS клетки приобретают фибробластную структуру [31].
- CNTF (цилиарный нейротрофический фактор) определяет процесс дифференцировки клеток главным образом в глиальном направлении. Не выявлено влияние CNTF на изменение числа ранее описанных GFAP+ клеток, однако отмечено усиление дифференцировки эпителиоподобных клеток в нейроны (вероятно, амакриновые дофаминергические) [32].

Г) Маркеры клеточной адгезии и межклеточных взаимодействий

- Фибронектин (Fibronectin) – маркер клеточной дифференцировки, белок, регулирующий клеточную пролиферацию. Определяется немногочисленная популяция позитивно окрашенных клеток, синтезирующих указанный белок [5, 33].
- Connexin 43 (Cx43) – белок щелевых контактов. При анализе РПЭ у плодов человека этот белок обнаружен в эпителиальных клетках (по всему их контуру), тогда как при анализе РПЭ у взрослых людей его продуцировали лишь единичные фибробластоподобные клетки [5, 34].

Д) Маркеры цитоскелета и клеточной структуры

- Виментин (Vimentin) – белок промежуточных филаментов тканей мезодермального происхождения. Практически все клетки окрашивались позитивно [5, 26]. Фиксировалась тенденция к наиболее высокой экспрессии в клетках Мюллера [35]. Значимым также представляется участие виментина в прогрессировании патологического процесса фибротического ремоделирования [26].

Е) Другие маркеры

- Рах6 (транскрипционный фактор) – в норме участвует в поддержании мультипотентного состояния пролиферирующих клеток-предшественников сетчатки. При анализе РПЭ у плодов человека антитела к Рах6 не окрашивали клетки ни в одной из исследованных культур, тогда как в анализе РПЭ у взрослых людей отмечались единичные случаи окрашивания, чаще всего в клетках фибробластоподобной морфологии, реже в клетках с эпителиальным фенотипом [5, 36, 37].
- Рековерин (RCVRN) – фоторецепторный маркер, при двойном окрашивании в некоторых культурах клеток обнаружены ВПП-тубулин+ клетки, которые окрашивались также антителами на рековерин [5, 33]. В культуре клеток имели место активная пролиферация и утрата пигментации, что приводило к практически полной депигментации клеток с эпителио- и фибробластоподобной морфологией. Реакция на ВПП-тубулин свидетельствует о способности клеток к дифференцировке в нейрональном направлении, а на рековерин – о способности к дифференцировке в фоторецепторы.
- Регулирование процесса дифференцировки осуществляется bFGF – основным фактором роста фибробластов, ингибирующим дифференцировку и стимулирующим пролиферацию.

Таким образом, по данным иммуногистохимической оценки фенотипических характеристик, в РПЭ человека были отмечены признаки нейральной и глиальной дифференцировки в связи с позитивным диагностическим окрашиванием на глиальный маркер GFAP, нейрональный маркер ВПП-тубулин, а также специфические маркеры различных постмитотических ретинальных нейронов и рековерин [5, 8].

Оптическая когерентная томография (ОКТ). ОКТ-ангиография, выполненная в режиме En Face, предполагающем угловую визуализацию сосудистой структуры сетчатки, позволяет определить специфику морфологической структуры РПЭ в условиях неинвазивного доступа, с четкой топографической локализацией относительно ретинальной сосудистой сети. В РПЭ при помощи указанного метода с использованием флюоресцентной ангиографии определялись точки фильтрации и зоны диффузного просачивания красителя. Следовательно, данный метод позволяет

определить локализацию дефектов и отслоения пигментного эпителия, визуализированных в качестве гипорефлективных участков [34–37].

Морфологическая оценка РПЭ при аутофлюоресценции является одним из значимых методов в диагностике его заболеваний. При помощи аутофлюоресценции через середину центральной ямки сетчатки может быть осуществлена оценка горизонтального и вертикального размера атрофического очага на ретинальном пигментном эпителии. В рамках данного способа исследования дистрофические очаги представляются в виде зон абсолютной гипофлюоресценции. В случае наличия зон частичной атрофии вокруг очага измеряют наибольший размер повреждения. Метод считается существенно более объективным и достоверным в сравнении с офтальмоскопией [1, 37, 38].

Метод RPS-Net – нейронная сеть, предназначенная для субъективной оценки размера, локализации и количественных характеристик ретинального пигментного эпителия. Исследования структурных особенностей сетчатки проводят посредством сегментации изображений при помощи цветовых параметров [39–41].

Метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) может быть использован в рамках диагностических исследований для оценки экспрессии генов в тканях глаза живых организмов (например, гена, кодирующего белок VEGF-A) [42, 43]. В основу подхода к изучению механизмов репрограммирования РПЭ и регенерации сетчатки легла гипотеза сходства регуляторных механизмов, контролирующих процессы развития и регенерации одноименных тканей. Впервые с использованием метода ОТ-ПЦР и гибридизации *in situ* в регенерирующей сетчатке взрослых идентифицировали гены *Pax6*, *Prox1* и *Six3*, принадлежащие регуляторной сети, контролирующей процессы развития тканей глаза. С внедрением в исследование методов полимеразной цепной реакции удалось получить более полную картину динамики экспрессии изучаемых генов на последовательных стадиях регенерации, начиная с ранних. Так, с помощью ОТ-ПЦР было показано, что активация генов *Pax6*, *Six3*, *FGF2* происходит на фоне подавления уровня экспрессии мРНК-регуляторного гена *Otx2*, контролирующего исходную меланогенную дифференцировку клеток РПЭ, а также гена-маркера дифференцировки РПЭ – *RPE65* [38, 44–46].

Заключение

Современные способы исследования ретинального пигментного эпителия включают в себя помимо традиционных гистологических методик флюоресцентный цитохимический анализ, оптическую когерентную томографию, изучение аутофлюоресценции ретинального пигментного эпителия, сегментацию проекции изображения сетчатки и полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией. Методы оптической когерентной томографии и сегментации проекции изображения сетчатки считаются высокотехнологичными

и наименее инвазивными среди других перечисленных подходов. В то же время иммуногистохимические методы предлагают широкий выбор антител, подходящих под различные задачи, и могут использоваться в комбинации с культивированием тканей. Новые методические подходы к изучению ретинального пигментного эпителия позволяют наряду с раскрытием структурно-функциональных особенностей успешно диагностировать варианты его заболеваний, а также ориентировать клиницистов на поиск наиболее адекватных методов лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Нероева Н.В., Нероев В.В., Илюхин П.А., Кармокова А.Г., Лосанова О.А., Рябина М.В. и др.* Моделирование атрофии ретинального пигментного эпителия. Российский офтальмологический журнал. 2020;13(4):58–63. DOI: 10.21516/2072-0076-2020-13-4-58-63.
Neroeva NV, Neroev VV, Ilyukhin PA, Karmokova AG, Losanova OA, Ryabina MV et al. Modeling the atrophy of retinal pigment epithelium. Russian Ophthalmological Journal. 2020;13(4):58–63 (In Russ.). DOI: 10.21516/2072-0076-2020-13-4-58-63.
2. *Харитонов А.Е., Сурдина А.В., Лебедева О.С., Богомазова А.Н., Лагарькова М.А.* Возможности использования плюрипотентных стволовых клеток для восстановления поврежденного пигментного эпителия сетчатки глаза. Acta Naturae. 2018;10(3):30–39. DOI: 10.32607/20758251-2018-10-3-30-39.
Kharitonov AE, Surдина AV, Lebedeva OS, Bogomazova AN, Lagarkova MA. Possibilities for using pluripotent stem cells for restoring damaged eye retinal pigment epithelium. Acta Naturae. 2018;10(3):30–39 (In Russ.). DOI: 10.32607/20758251-2018-10-3-30-39.
3. *Bharti K, den Hollander AI, Lakkaraju A, Sinha D, Williams DS, Finnemann SC et al.* Cell culture models to study retinal pigment epithelium-related pathogenesis in age-related macular degeneration. Exp Eye Res. 2022;222:109170. DOI: 10.1016/j.exer.2022.109170.
4. *Grierson I, Hiscott P, Hogg P, Robey H, Mazure A, Larkin G.* Development, repair and regeneration of the retinal pigment epithelium. Eye (London). 1994;8(Pt. 2):255–62. DOI: 10.1038/eye.1994.54.
5. *Габдрахманова А.Ф., Каюмов Ф.А., Авхадеева С.Р.* Значение строения и функции органа зрения в клинической практике: Учебное пособие. Уфа: Издательство Башкирского государственного медицинского университета, 2015. 70 с. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30760245> (получено 01.11.2024).
Gabdrakhmanova AF, Kayumov FA, Avkhadeeva SR. Structure and function of the eye in clinical practice: Textbook. Ufa: Bashkir State Medical University Publ., 2015. 70 p. (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30760245> (accessed 01.11.2024).
6. *Гндоян И.А., Петраевский А.В., Дятчина А.И.* Аутофлюоресценция глазного дна в диагностике возрастной макулярной дегенерации. Вестник офтальмологии. 2020;136(5):136–141. DOI: 10.17116/oftalma2020136051136.
Gndoyan IA, Petrayevskiy AV, Dyatchina AI. Fundus autofluorescence in the diagnosis of age-related macular degeneration. Russian Annals of Ophthalmology. 2020;136(5):136–141 (In Russ.). DOI: 10.17116/oftalma2020136051136.
7. *Milyushina LA, Poltavtseva RA, Marei MV, Podgornyi OV, Sukhikh GT, Aleksandrova MA.* In vitro phenotypic modification of pigmented epithelium cells from human eye at early stages of development. Bull Exp Biol Med. 2009;148(1):113–119. DOI: 10.1007/s10517-009-0657-1.
8. *Yannuzzi LA, Friedman R, Fine SL, Gass JD, Gitter KA, Orth DH et al.* Symposium on age-related macular degeneration. Bull N Y Acad Med. 1988;64(9):955–1013. PMID: 3077076.
9. *Rein DB, Wittenborn JS, Burke-Conte Z, Gulia R, Robalik T, Ehrlich JR et al.* Prevalence of age-related macular degeneration in the US in 2019. JAMA Ophthalmol. 2022;140(12):1202–8. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2022.4401.
10. *Huang Y, Luo Y, Chen J, Liu H, Li L.* Effects of Leizumab combined with compound Thrombus capsules on hemorheology and serum VEGF and PDGF in patients with age-related macular degeneration. Progress in Modern Biomedicine. 2022;22 (In Chinese). DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.08.038.
11. *Fleckenstein M, Keenan TDL, Guymer RH, Chakravarthy U, Schmitz-Valckenberg S, Klaver CC et al.* Age-related macular degeneration. Nat Rev Dis Primers. 2021;7(1):31. DOI: 10.1038/s41572-021-00265-2.
12. *Sugita S, Makabe K, Fujii S, Iwasaki Y, Kamao H, Shiina T et al.* Detection of retinal pigment epithelium-specific antibody in iPSC-derived retinal pigment epithelium transplantation models. Stem Cell Reports. 2017;9(5):1501–15. DOI: 10.1016/j.stemcr.2017.10.003.
13. *Лагарькова М.А., Катаргина Л.А., Измайлова Н.С., Илюхин П.А., Харитонов А.Е., Уткина О.А. и др.* Анализ результатов трансплантации пигментного эпителия сетчатки в эксперименте. Гены и Клетки. 2023;18(2):123–132. DOI: 10.23868/gc346688.
Lagarkova MA, Katargina LA, Izmailova NS, Ilyukhin PA, Kharitonov AE, Utkina OA et al. Analysis of the results of transplantation of the retinal pigment epithelium in the experiment. Genes & Cells. 2023;18(2):123–132 (In Russ.). DOI: 10.23868/gc346688.
14. *Kashani AH.* Stem cell-derived retinal pigment epithelium transplantation in age-related macular degeneration: recent advances and challenges. Curr Opin Ophthalmol. 2022;33(3):211–8. DOI: 10.1097/ICU.0000000000000838.
15. *Wu A, Lu R, Lee E.* Tissue engineering in age-related macular degeneration: a mini-review. J Biol Eng. 2022;16(1):11. DOI: 10.1186/s13036-022-00291-y.
16. *Bindewald A, Roth F, van Meurs J, Holz FG.* Transplantation of retinal pigment epithelium (RPE) following CNV removal in patients with AMD. Techniques, results, outlook. Ophthalmologie. 2004;101(9):886–94 (In German). DOI: 10.1007/s00347-004-1077-2.
17. *Zhao C, Boles NC, Miller JD, Kawola S, Temple S, Davis RJ et al.* Development of a refined protocol for trans-scleral subretinal

- transplantation of human retinal pigment epithelial cells into rat eyes. *J Vis Exp*. 2017;(126):55220. DOI: 10.3791/55220.
18. AK Klettner, S Dithmar (eds.). *Retinal pigment epithelium in health and disease*. Springer Cham, 2020. 357 p. DOI: 10.1007/978-3-030-28384-1.
 19. Wang H, van Patten Y, Sugino IK, Zarbin MA. Migration and proliferation of retinal pigment epithelium on extracellular matrix ligands. *J Rehabil Res Dev*. 2006;43(6):713–22. DOI: 10.1682/jrrd.2005.06.0114.
 20. Pollreisz A, Messinger JD, Sloan KR, Mittermueller TJ, Weinhandl AS, Benson EK et al. Visualizing melanosomes, lipofuscin, and melanolipofuscin in human retinal pigment epithelium using serial block face scanning electron microscopy. *Exp Eye Res*. 2018;166:131–9. DOI: 10.1016/j.exer.2017.10.018.
 21. Litts KM, Messinger JD, Dellatorre K, Yannuzzi LA, Freund KB, Curcio CA. Clinicopathological correlation of outer retinal tubulation in age-related macular degeneration. *JAMA Ophthalmol*. 2015;133(5):609–12. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2015.126.
 22. Starnes AC, Huisinigh C, McGwin G Jr, Sloan KR, Ablonczy Z, Smith RT et al. Multi-nucleate retinal pigment epithelium cells of the human macula exhibit a characteristic and highly specific distribution. *Vis Neurosci*. 2016;33:E001. DOI: 10.1017/S0952523815000310.
 23. Bassetto M, Kolesnikov AV, Lewandowski D, Kiser JZ, Halabi M, Einstein DE et al. Dominant role for pigment epithelial CRALBP in supplying visual chromophore to photoreceptors. *Cell Rep*. 2024;43(5):114143. DOI: 10.1016/j.celrep.2024.114143.
 24. Kohno RI, Hata Y, Kawahara S, Kita T, Arita R, Mochizuki Y et al. Possible contribution hyalocytes to idiopathic epiretinal membrane formation and its contraction. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(8):1020–6. DOI: 10.1136/bjo.2008.155069.
 25. Нероев В.В., Катаргина Л.А., Кадышев В.В., Зольникова И.В., Куцев С.И. Перспективы диагностики и генной терапии наследственных дистрофий сетчатки, вызванных биаллельными мутациями в гене *RPE65*. *Российский офтальмологический журнал*. 2021;14(3):78–82. DOI: 10.21516/2072-0076-2021-14-3-78-82.
Neroev VV, Katargina LA, Kadyshchev VV, Zolnikova IV, Kutsev SI. Prospects for the diagnosis and gene therapy of inherited retinal dystrophies caused by biallelic mutations in the *RPE65* gene. *Russian Ophthalmological Journal*. 2021;14(3):78–82 (In Russ.). DOI: 10.21516/2072-0076-2021-14-3-78-82.
 26. Винер М.Е., Атаршичиков Д.С., Кадышев В.В., Зольникова И.В., Демчинский А.М., Барх Д. и др. Особенности патофизиологии зрительного цикла, каскада и метаболических путей при пигментном ретините. *Российский офтальмологический журнал*. 2021;14(1):80–88. DOI: 10.21516/2072-0076-2021-14-1-80-88.
Weener ME, Atarshchikov DS, Kadyshchev VV, Zolnikova IV, Demchinsky AM, Barh D et al. Pathophysiological features of the visual cycle, cascade and metabolic pathways in retinitis pigmentosa. *Russian Ophthalmological Journal*. 2021;14(1):80–88 (In Russ.). DOI: 10.21516/2072-0076-2021-14-1-80-88.
 27. Reid RA, Hemperly JJ. Human N-cadherin: nucleotide and deduced amino acid sequence. *Nucleic Acids Res*. 1990;18(19):5896. DOI: 10.1093/nar/18.19.5896.
 28. Кузнецова А.В., Куринов А.М., Ржанова Л.А., Александрова М.А. Механизмы дедифференцировки клеток ретинального пигментного эпителия глаза взрослого человека *in vitro*. Морфологический и молекулярно-генетический анализ. *Цитология*. 2018;60(12):996–1007. DOI: 10.1134/S0041377118120064.
Kuznetsova AV, Kurinov AM, Rzhanova LA, Aleksandrova MA. Mechanisms of dedifferentiation of the adult human retinal pigment epithelial cells *in vitro*. Morphological and molecular-genetic analysis. *Tsitologiya = Cytology*. 2018;60(12):996–1007 (In Russ.). DOI: 10.1134/S0041377118120064.
 29. Кузнецова А.В., Григорян Э.Н., Александрова М.А. Ретинальный пигментный эпителий глаза взрослого человека – потенциальный источник клеток для восстановления сетчатки. *Цитология*. 2011;53(6):505–512. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16449438> (получено 01.11.2024).
Kuznetsova AV, Grigoryan EN, Alexandrova MA. Adult human retinal pigment epithelial cells – a potential source of cells for regeneration retina. *Tsitologiya = Cytology*. 2011;53(6):505–512 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16449438> (accessed 01.11.2024).
 30. Sales Gil R, Vagnarelli P. Ki-67: more hidden behind a “classic proliferation marker”. *Trends Biochem Sci*. 2018;43(10):747–8. DOI: 10.1016/j.tibs.2018.08.004.
 31. Mattern L, Otten K, Miskey C, Fuest M, Izsvák Z, Ivics Z et al. Molecular and functional characterization of BDNF-overexpressing human retinal pigment epithelial cells established by Sleeping Beauty transposon-mediated gene transfer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(21):12982. DOI: 10.3390/ijms232112982.
 32. Wen R, Tao W, Li Y, Sieving PA. CNTF and retina. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31(2):136–51. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2011.11.005.
 33. Тахчиди Х.П., Гаврилова Н.А., Комова О.Ю., Ланевская Н.И., Иванова З.Г., Сабурова И.Н. и др. Экспериментальное изучение эффективности клеточной трансплантации при наследственной пигментной дегенерации сетчатки. *Dental Forum*. 2010;1-2(34):56–62. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15561658> (получено 01.11.2024).
Tahchidi ChP, Gavrilova NA, Komova OYu, Lanevskaya NI, Ivanova ZG, Saburina IN et al. Effectiveness of stem cells transplantation in inherited pigmented retinal degeneration. Experimental study. *Dental Forum*. 2010;1-2(34):56–62 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15561658> (accessed 01.11.2024).
 34. Казайкин В.Н., Пономарев В.О., Лизунов А.В., Жданов А.Е., Долганов А.Ю., Борисов В.И. Современная роль и перспективы электрофизиологических методов исследования в офтальмологии. *Обзор литературы. Офтальмология*. 2020;17(4):669–675. DOI: 10.18008/1816-5095-2020-4-669-675.
Kazaykin VN, Ponomarev VO, Lizunov AV, Zhdanov AE, Dolganov AYU, Borisov VI. The current role and prospects of electrophysiological research methods in ophthalmology. Literature review. *Ophthalmology in Russia*. 2020;17(4):669–675 (In Russ.). DOI: 10.18008/1816-5095-2020-4-669-675.
 35. Володин П.Л., Иванова Е.В., Фомин А.В., Полякова Е.Ю. Спектральная ОКТ-ангиография в режиме En Face в выяв-

- лении морфологических изменений ретинального пигментного эпителия до и после селективного микроимпульсного лазерного воздействия у пациентов с центральной серозной хориоретинопатией. Офтальмология. 2019;16(2):192–201. DOI: 10.18008/1816-5095-2019-2-192-201.
- Volodin PL, Ivanova EV, Fomin AV, Polyakova ELu.* Spectral OCT-angiography in En Face mode for detection of morphological changes in retinal pigment epithelium before and after selective micro-pulse laser exposure in patients with central serous chorioretinopathy. Ophthalmology in Russia. 2019;16(2):192–201 (In Russ.). DOI: 10.18008/1816-5095-2019-2-192-201.
36. *Shirazi MF, Brunner E, Laslandes M, Pollreisz A, Hitznerberger CK, Pircher M.* Visualizing human photoreceptor and retinal pigment epithelium cell mosaics in a single volume scan over an extended field of view with adaptive optics optical coherence tomography. Biomed Opt Express. 2020;11(8):4520–35. DOI: 10.1364/BOE.393906.
 37. *Шеремет Н.Л., Ронзина И.А., Микаелян А.А., Жоржоладзе Н.В., Плюхова А.А., Киселев С.Л.* Морфофункциональные показатели ретинального пигментного эпителия и фоторецепторного аппарата при наследственных заболеваниях сетчатки. Вестник офтальмологии. 2020;136(4):183–192. DOI: 10.17116/ofalma2020136042183.
 - Sheremet NL, Ronzina IA, Mikaelyan AA, Zhorzholadze NV, Plyukhova AA, Kiselev SL.* Morphological and functional indicators of retinal pigment epithelium and photoreceptor apparatus in inherited retinal diseases. The Russian Annals of Ophthalmology = Vestnik oftalmologii. 2020;136(4):183–192. (In Russ.). DOI: 10.17116/ofalma2020136042183.
 38. *Григорян Э.Н., Маркитантова Ю.В.* Молекулярные стратегии трансдифференцировки клеток ретинального пигментного эпителия у амфибий и млекопитающих *in vivo*. Онтогенез. 2021;52(4):260–286. DOI: 10.31857/S0475145021040030.
 - Grigoryan EN, Markitantova YuV.* Molecular strategies for transdifferentiation of retinal pigment epithelial cells in amphibians and mammals *in vivo*. Ontogenez = Russian Journal of Developmental Biology. 2021;52(4):260–286 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0475145021040030.
 39. *Эфендиева М.Х., Будзинская М.В.* Сопоставление характеристик патологических изменений при сухой форме возрастной макулярной дегенерации по данным оптической когерентной томографии и аутофлюоресценции глазного дна. Практическая медицина. 2017;3(104):108–110. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30037726> (получено 01.11.2024).
 - Efendieva MKh, Budzinskaya MV.* Comparison of the characteristics of pathological features of dry age-related macular degeneration according to optical coherence tomography and fundus autofluorescence. Practical Medicine. 2017;3(104):108–110 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30037726> (accessed 01.11.2024).
 40. *Борзенко С.А., Колесник С.В., Миридонова А.В., Островский Д.С., Арбуханова П.М., Соболева М.А.* Механизм прогрессирования фиброзного процесса на примере ретинального пигментного эпителия. Современные технологии в офтальмологии. 2020;1:115–118. DOI: 10.25276/2312-4911-2020-2-115-118.
 - Borzenok SA, Kolesnik SV, Miridonova AV, Ostrovsky DS, Arbukhanova PM, Soboleva MA.* The mechanism of progression of the fibrous process on the example of retinal pigment epithelium. Modern technologies in ophthalmology. 2020;1:115–118 (In Russ.). DOI: 10.25276/2312-4911-2020-2-115-118.
 41. *Li W, Zhang H, Li F, Wang L.* RPS-Net: an effective retinal image projection segmentation network for retinal vessels and foveal avascular zone based on OCTA data. Med Phys. 2022;49(6):3830–44. DOI: 10.1002/mp.15608.
 42. Н.В. Нероева, Н.Б. Чеснокова, Л.А. Катаргина, Т.А. Павленко, О.В. Безнос, П.А. Илюхин, О.А. Уткина. Способ выявления активного деструктивного процесса в сетчатке в эксперименте. Патент Российской Федерации 2768588. Заявитель и патентообладатель ФГБУ НМИЦ ГБ им. Гельмгольца Минздрава России – № 2021138308. Заявлено 22.12.2021; опубликовано 24.03.2022. Бюллетень № 9. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48376608> (получено 01.11.2024).
 - NV Neroeva, NB Chesnokova, LA Katargina, TA Pavlenko, OV Beznos, PA Ilyukhin, OA Utkina.* Method of detection of active destructive process in the retina in experiment. Patent No. 2768588 Russian Federation. Applicant and patent holder is FGBU “NMITS GB im. Gelmgoltsa” Minzdrava Rossii – No. 2021138308. Application 22.12.2021; publ. 24.03.2022, Bul. No. 9. Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48376608> (accessed 01.11.2024).
 43. *Arsalan M, Baek NR, Owais M, Mahmood T, Park KR.* Deep learning-based detection of pigment signs for analysis and diagnosis of retinitis pigmentosa. Sensors (Basel). 2020;20(12):3454. DOI: 10.3390/s20123454.
 44. *Kuo C, Green CR, Rupenthal ID, Mugisho OO.* Connexin43 hemichannel block protects against retinal pigment epithelial cell barrier breakdown. Acta Diabetol. 2020;57(1):13–22. DOI: 10.1007/s00592-019-01352-3.
 45. *Buckingham M, Relaix F.* The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions Annu Rev Cell Dev Biol. 2007;23:645–73. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123438.
 46. *Hynes RO.* Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. Cell. 1992;69(1):11–25. DOI: 10.1016/0092-8674(92)90115-s.

Информация об авторах

Сергей Анатольевич Борзенко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова», профессор кафедры офтальмологии Российского университета медицины.

Лев Владимирович Кактурский – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Алексей Александрович Чурилов – младший научный сотрудник лаборатории трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Дмитрий Сергеевич Островский – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Зури Муслимовна Исмаилова – ординатор 2-го года кафедры офтальмологии НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Author information

Sergey A. Borzenok – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”; Professor, Ophthalmology Department, Russian University of Medicine.

<https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Lev V. Kakturskiy – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-7896-2080>

Alexey A. Churilov – Junior Researcher, Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-1018-8257>

Dmitriy S. Ostrovskiy – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-2817-7102>

Zuri M. Ismailova – 2nd-year Resident, Department of Ophthalmology, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0009-0007-7503-2444>

Клинико-морфологические и молекулярно-генетические особенности пограничных серозных опухолей яичника

А.С. Бадлаева^{1,2}, А.В. Трегубова¹, А.В. Асатурова^{1,2}

¹ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

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

Резюме. Введение. Пограничная серозная опухоль яичников является индолентным новообразованием, требующим длительного периода наблюдения для определения клинических исходов. Следовательно, прогнозирование течения заболевания представляет собой значительную проблему, для решения которой помимо анализа компонентов митогенактивируемого протеинкиназного сигнального пути в настоящее время ведется поиск иммуногистохимических антител для использования в повседневной патологоанатомической практике. Цель исследования – определить клинико-морфологические, иммунофенотипические и молекулярно-генетические особенности пограничных серозных опухолей яичника.

Материалы и методы. На операционном материале 63 пациенток с пограничной серозной опухолью яичников методами иммуногистохимии и световой микроскопии определяли уровень экспрессии стероидных половых гормонов, пролиферативную активность и наличие эозинофильных клеток, патогномоничных для мутации *BRAF*. Для выявления мутаций митогенактивируемого протеинкиназного сигнального пути применяли таргетное секвенирование нового поколения.

Результаты. Установлено, что более чем в половине пограничных серозных опухолей определялись мутации митогенактивируемого протеинкиназного сигнального пути. Сенесцентные клетки с обильной эозинофильной цитоплазмой были ассоциированы с *BRAF*-мутированными опухолями, и их определение в пограничных опухолях продемонстрировало значительную чувствительность и специфичность для прогнозирования указанной выше мутации. Кроме того, пациентки с мутацией *BRAF* реже имели неинвазивные импланты в сальнике и брюшине. Статистически значимые различия при оценке безрецидивной выживаемости в зависимости от мутационного статуса опухоли, уровня экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов получены не были. Вероятность возникновения рецидива в зависимости от индекса пролиферативной активности оказалась статистически значимо выше при значении $Ki67 \geq 7\%$.

Заключение. Эозинофильные клетки в серозных пограничных опухолях яичников могут в достаточной мере отражать мутацию *BRAF*, что позволяет выделить группы пациенток для проведения генетического тестирования и терапевтической стратификации. Прогностическая ценность рецепторов эстрогена и прогестерона при анализе безрецидивной выживаемости не выявлена. Тем не менее индекс $Ki67$ более 7% был ассоциирован с повышенной вероятностью рецидива, что подчеркивает важность оценки пролиферативной активности для прогнозирования исходов заболевания.

Ключевые слова: пограничная серозная опухоль, эозинофильные клетки, онкогениндуцированная сенесценция

Для корреспонденции: Алина Станиславовна Бадлаева. E-mail: alinamagnaeva03@gmail.com

Для цитирования: Бадлаева А.С., Трегубова А.В., Асатурова А.В. Клинико-морфологические и молекулярно-генетические особенности пограничных серозных опухолей яичника. Клин. эксп. морфология. 2025;14(4):22–31. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.22-31.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке премии Международного общества гинекологических патологов молодым ученым.

Статья поступила 22.01.2025. Получена после рецензирования 06.02.2025. Принята в печать 12.05.2025.

Clinical, morphological, and molecular-genetic features of ovarian serous borderline tumors

A.S. Badlaeva^{1,2}, A.V. Tregubova¹, A.V. Asaturova^{1,2}

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

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Abstract. Introduction. Ovarian serous borderline tumor is an indolent neoplasm that requires long-term follow-up to determine clinical outcomes. Consequently, predicting the course of the disease is a significant problem. To solve it, the components of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway are analyzed and immunohistochemical antibodies to be used in routine pathology practice are being actively studied. The aim of the paper was to determine clinical, morphological, immunophenotypic, and molecular-genetic features of ovarian serous borderline tumors.

Materials and methods. We analyzed surgical specimens of 63 patients with ovarian serous borderline tumor using immunohistochemistry and light microscopy to determine the expression levels of sex steroid hormones, proliferative activity, and the presence of eosinophilic cells, which are pathognomonic for a *BRAF* mutation. Targeted NGS sequencing was used to detect mutations in the MAPK-signaling pathway.

Results. We detected mutations of the MAPK-signaling pathway in more than half of serous borderline tumors. Senescent cells with abundant eosinophilic cytoplasm were associated with *BRAF*-mutated tumors and demonstrated significant sensitivity and specificity for predicting the mutation. Additionally, patients with the *BRAF* mutation were less likely to have noninvasive implants in the omentum and peritoneum. There were no statistically significant differences in the assessment of disease-free survival depending on the mutation status of the tumor and the level of expression of sex steroid hormone receptors. The probability of recurrence, depending on the index of proliferative activity, was statistically significantly higher at Ki-67 $\geq$ 7%.

Conclusion. Eosinophilic cells in ovarian serous borderline tumors can sufficiently reflect the *BRAF* mutation, which makes it possible to identify groups of patients for genetic testing and therapeutic stratification. The prognostic value of estrogen and progesterone receptors was not revealed in the analysis of disease-free survival. However, the value of Ki-67 $\geq$ 7% was associated with an increased risk of recurrence, which underscores the importance of assessing proliferative activity for predicting disease outcomes.

Keywords: serous borderline tumor, eosinophilic cells, oncogene-induced senescence

Corresponding author: Alina S. Badlaeva. E-mail: alinamagnaeva03@gmail.com

For citation: Badlaeva A.S., Tregubova A.V., Asaturova A.V. Clinical, morphological, and molecular-genetic features of ovarian serous borderline tumors. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):22–31 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.22-31.

Funding. The study was supported by International Society of Gynecological Pathologists Young Member Award.

Received 22.01.2025. **Received in revised form** 06.02.2025. **Accepted** 12.05.2025.

Введение

Пограничная серозная опухоль яичника в настоящее время считается неинвазивным новообразованием с низким потенциалом злокачественности, индолентным течением и высокой выживаемостью [1]. Частота встречаемости пограничной серозной опухоли составляет 9–15% среди всех серозных новообразований яичников и чаще всего выявляется на ранней стадии заболевания [1, 2].

Тем не менее у пациенток с пограничной серозной опухолью отмечен более высокий риск прогрессирования в серозную карциному низкой степени злокачественности по сравнению с общей популяцией [3–5]. Проведен ряд продольных исследований, в которых сообщалось о факторах риска развития последующего серозного рака низкой степени злокачественности [5–7]. Среди них – наличие опухоли на поверхности яичника, двусторонняя локализация новообразования, стадия >I по классификации Международной федерации гине-

кологии и акушерства (International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO), наличие резидуальной опухоли, а также микропапиллярный паттерн роста. Тем не менее серозная карцинома низкой степени злокачественности может возникнуть через несколько лет после пограничной серозной опухоли, несмотря на отсутствие признаков, увеличивающих риск прогрессирования [5].

В последнее время некоторые исследователи пытались описать роль молекулярных событий, ответственных за возникновение и прогрессирование пограничной серозной опухоли [8, 9]. Большинство опухолей содержит мутации в сигнальном пути митоген-активируемой протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase, MAPK) (например, *BRAF* или *KRAS*). Тогда как опухоли с мутацией *KRAS*, как правило, связаны с рецидивом и прогрессированием в карциному, мутация *BRAF* является значимым прогностическим фактором благоприятного течения заболевания [8, 9].

Уже показано, что существует взаимосвязь между мутацией *BRAF* и специфическим гистологическим признаком – эозинофильными клетками (ЭК) [10]. ЭК можно охарактеризовать как стареющие клетки с обильной эозинофильной цитоплазмой, которые возникают в результате активации онкогена и развития онкогениндуцированной сенесценции [10].

На основании сказанного выше можно предположить, что мутация *BRAF* препятствует последующему прогрессированию пограничной серозной опухоли в серозную карциному низкой степени злокачественности, а ЭК могут быть потенциальным маркером этого генетического драйвера.

Таким образом, целью настоящего исследования было определение клинко-морфологических, иммунофенотипических и молекулярно-генетических особенностей пограничных серозных опухолей яичника.

Материалы и методы

В исследование было включено 63 случая пограничной серозной опухоли яичников, верифицированных патологоанатомами 1-го патологоанатомического отделения НМИЦ АГП имени В.И. Кулакова на основании критериев, предложенных в классификации опухолей женской репродуктивной системы Всемирной организацией здравоохранения в 2020 году [2], от пациенток в возрасте от 15 до 79 лет, которым выполнено оперативное лечение в период с 2018 по 2023 год. Средний возраст пациенток составил $39,7 \pm 14,7$ года (95% ДИ 35,9–43,4). Исследование одобрено комиссией по этике НМИЦ АГП имени В.И. Кулакова (протокол № 3 от 21.03.2024).

Для микроскопического исследования фрагменты опухолевой ткани фиксировались в 10% растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 часов. Затем образцы были обезвожены в автоматическом режиме при помощи гистологического процессора замкнутого цикла с вакуумом TissueTek VIP

5 (Sakura, Япония), залиты в парафин «Гистомикс Экстра» («БиоВитрум», Россия). Из парафиновых блоков получены срезы толщиной 5 мкм, которые нанесены на предметные стекла. С помощью аппарата для автоматического окрашивания Leica Autostainer XL ST5010 (Leica, Германия) стекла были окрашены гематоксилином и эозином. Анализ микропрепаратов проводили с помощью световых микроскопов Leica DM 2500 (Leica, Германия) при $\times 10$ –400.

Иммуногистохимическое исследование с антителами к рецепторам эстрогена (клон SP1, Ventana, Roche Diagnostic, Швейцария), прогестерона (клон 1E2, Ventana, Roche, Швейцария), маркера пролиферативной активности Ki67 (клон 30-9, Ventana, Roche Diagnostic, Швейцария) и p16 (CINtec, Ventana, Roche Diagnostic, Швейцария) выполнено при помощи иммуногистохимического комплекса BenchMark XT (Ventana, Roche Diagnostic, Швейцария) с использованием стандартных протоколов (температура инкубации $+37^\circ$, время инкубации от 16 до 24 минут), панели детекции ultraView Universal DAB (Ventana, Roche Diagnostic, Швейцария).

Для иммуногистохимических маркеров рецепторов эстрогена и прогестерона был определен показатель H-score (Histoscore) по формуле:

$$HS = 1a + 2b + 3c,$$

где *a* – процент слабо окрашенных клеток, *b* – процент умеренно окрашенных клеток, *c* – процент сильно окрашенных клеток, 1, 2, 3 – интенсивность окрашивания в баллах.

Ki67-позитивную пролиферирующую фракцию клеток опухоли определяли усредненным методом.

Все микропрепараты, окрашенные гематоксилином и эозином, были проанализированы на предмет наличия ЭК. Для верификации истинных эозинофильных клеток использовали иммуногистохимический метод с маркером p16 (рис. 1).

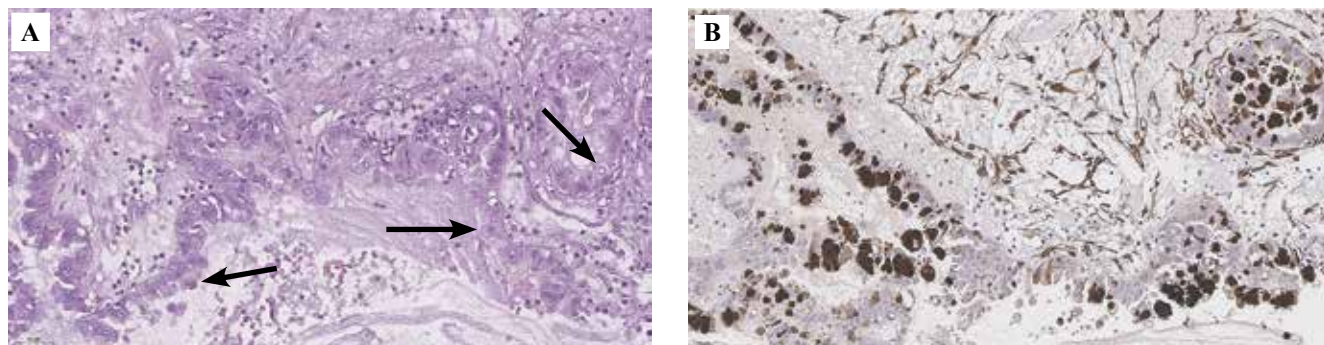


Рис. 1. Морфологические (А) и иммунофенотипические (В) характеристики эозинофильных клеток.

А – сенесцентные клетки округлой формы с обильной эозинофильной цитоплазмой (стрелки). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$. В – ядерно-цитоплазматическое окрашивание в сенесцентных клетках опухоли. ИГХ окрашивание с антителом к p16, докрасивание гематоксилином, $\times 200$

Fig. 1. Morphological (A) and immunohistochemical (B) characteristics of eosinophilic cells.

А – senescent round-shaped cells senescent with abundant eosinophilic cytoplasm (arrows). H&E stain, $\times 400$.

В – nuclear-cytoplasmic staining in senescent tumor cells. IHC study with antibody to p16, hematoxylin stain, $\times 200$

Анализ мутаций проводился методом таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS) ампликонов на секвенаторе FASTASeq 300 (GeneMind Bioscience, Китай). Для генетического анализа использовали специфичные праймеры для *KRAS* (экзоны 2, 3 и 4), *NRAS* (экзоны 2, 3 и 4) и *BRAF* (экзон 15), подобранные с помощью программ PrimerPlus и PrimerSelect (пакет программ DNASTAR).

Для статистической обработки данных использовали программы GraphPad Prism 9.3.1 (Dotmatics, США) и StatTech v3.0.6 («Статтех», Россия). Исследуемые количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий). Сравнение групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела–Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных и многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью F-критерия Фишера и χ^2 Пирсона, соответственно. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применялся метод анализа ROC-кривых. Оценку функции выживаемости пациенток проводили по методу Каплана–Мейера. С целью оценки внутренней согласованности результатов теста для выявления ЭК использовалась каппа Флейсса (κ).

Результаты

По результатам генетического тестирования выявлено, что более чем в половине пограничных серозных опухолей (63,5%) определялись мутации MAPK-сигнального пути (рис. 2).

В кодирующей ДНК (кДНК) чаще всего встречались мутации *BRAF*, состоящие из нуклеотидной замены с.1799T>A (преимущественно) и нуклеотидной замены с.1781A>G (табл. 1). В девяти случаях обнаружены мутации *KRAS*, представленные нуклеотидными заменами с.35G>C, с.35G>T, с.35G>A, с.183A>C и с.34G>T. В одной пограничной серозной опухоли яичника обнаружена *NRAS*-мутация, представленная нуклеотидной заменой с.182A>G.

Пациентки с мутациями *BRAF* на момент выполнения им операции были моложе, чем пациентки с опухолями дикого типа и опухолями, имеющими мутации *KRAS*, *NRAS*, однако эти различия не были статистически значимы ($p=0,16$).

Для восьми случаев информация о стадии FIGO была недоступна из-за неполного объема оперативного вмешательства в связи с отсутствием срочного гистологического исследования замороженных срезов опухоли. Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что из 55 пограничных серозных опухолей стадия по FIGO >I выявлялась в 11%

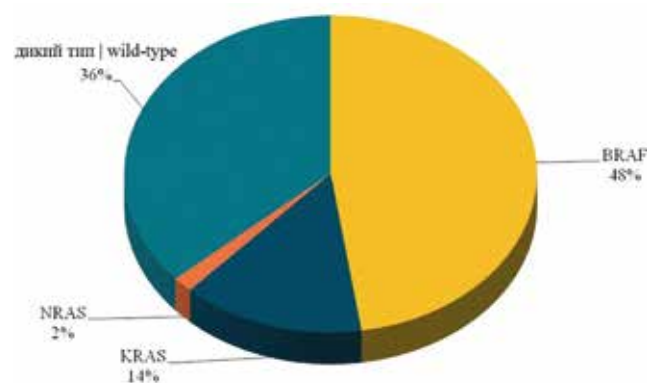


Рис. 2. Результаты молекулярно-генетического исследования пограничных серозных опухолей

Fig. 2. Results of a molecular-genetic study of serous borderline tumors

Таблица 1 | Table 1

Варианты мутаций, обнаруженные в пограничных серозных опухолях | Mutations found in serous borderline tumors

Мутации Mutations	Замена кДНК cDNA replacement	Замена аминокислоты Amino acid replacement	n (%)
<i>BRAF</i>	с.1799T>A	p.V600E	27 (67,5)
	с.1781A>G	p.Asp594Gly	3 (7,5)
<i>KRAS</i>	с.35G>T	p.Gly12Val	4 (10)
	с.35G>A	p.Gly12Asp	2 (5)
	с.183A>C	p.Gln61His	1 (2,5)
	с.34G>T	p.Gly12Cys	1 (2,5)
	с.35G>C	p.Gly12Ala	1 (2,5)
<i>NRAS</i>	с.182A>G	p.Gln61Arg	1 (2,5)

BRAF-мутантных (две – V600E и одна – Asp594Gly), 66,7% *KRAS*-мутированных опухолей и 50,0% опухолей дикого типа. Следовательно, пограничные серозные опухоли с мутацией *BRAF* реже имели неинвазивные импланты в сальнике и брюшине по сравнению с другими опухолями ($p=0,04$).

При анализе экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и Ki67 в зависимости от мутационного ста-

туса опухоли нам не удалось установить статистически значимые различия (табл. 2).

Для оценки значимости H-score для рецепторов эстрогена, прогестерона и Ki67 при прогнозировании рецидива заболевания применялся метод анализа ROC-кривых (табл. 3).

Так, для рецепторов эстрогена пороговое значение в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее

Таблица 2 | Table 2

Результаты иммуногистохимического исследования с антителами к эстрогену, прогестерону и Ki-67 в мутантных опухолях и опухолях дикого типа | Results of immunohistochemical staining with antibodies to estrogen, progesterone, and Ki-67 in mutant and wild-type tumors

Показатель Indicator	Группа Group	H-score		p
		Me	Q1–Q3	
Рецепторы эстрогена Estrogen receptors	<i>BRAF</i>	285	245–300	0,180
	<i>KRAS</i>	250	170–272	
	<i>NRAS</i>	240	240–240	
	Дикий тип Wild-type	275	200–290	
Рецепторы прогестерона Progesterone receptors	<i>BRAF</i>	245	172,5–297,5	0,852
	<i>KRAS</i>	240	240–290	
	<i>NRAS</i>	285	285–285	
	Дикий тип Wild-type	282,5	216,25–300	
Ki-67	<i>BRAF</i>	5	5–9,5	0,437
	<i>KRAS</i>	5	3–7	
	<i>NRAS</i>	5	5–5	
	Дикий тип Wild-type	5	3–6	

Использован критерий Краскела–Уоллиса с пост-хок тестом Данна | Kruskal–Wallis test with Dunn’s post-hoc test

Таблица 3 | Table 3

Результаты оценки диагностической значимости уровня экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и Ki67 при прогнозировании безрецидивной выживаемости | Results of assessing the diagnostic significance of expression of estrogen and progesterone receptors and Ki-67 in predicting disease-free survival

Показатель Indicator	Площадь под ROC-кривой Area under ROC curve		p
	M±SD	95% ДИ 95% CI	
Рецепторы эстрогена Estrogen receptors	0,562±0,145	0,278–0,847	0,679
Рецепторы прогестерона Progesterone receptors	0,696±0,119	0,463 – 0,929	0,188
Ki-67	0,661±0,154	0,360–0,962	0,269

Использован метод анализа ROC-кривых | ROC curve analysis

значение индекса Юдена, составило 290 (чувствительность 100% и специфичность 35,4%), для рецепторов прогестерона – 110 (чувствительность 50% и специфичность 87,9%), для маркера пролиферативной активности – 7 (чувствительность 75% и специфичность 71,2%).

Данные по безрецидивной выживаемости были получены для 25 пациенток (рис. 3). При анализе безрецидивной выживаемости с краткосрочным периодом наблюдения (до 30 месяцев) у трех пациенток в группе с мутацией *BRAF* был выявлен рецидив опухоли. При анализе безрецидивной 5-летней выживаемости из 10 случаев обнаружен один рецидив у пациентки с *KRAS*-мутированной опухолью. Статистически значимые различия при оценке вероятности возникновения рецидива в зависимости от мутационного статуса опухоли получены не были ($p=0,56$).

Вероятность возникновения рецидива при расчете с помощью метода Каплана–Мейера в зависимости от уровня экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов была выше при значении H-score менее 110 для прогестерона и менее 290 для эстрогена

(рис. 3), однако эти результаты не были статистически значимы ($p=0,23$ и $p=0,21$, соответственно). При анализе вероятности возникновения рецидива в зависимости от Ki67 обнаружены статистически значимые различия ($p=0,04$). Так, вероятность возникновения рецидива в зависимости от индекса пролиферативной активности была выше при значении Ki-67 $\geq 7\%$ (рис. 3).

В микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, сенесцентные клетки идентифицированы всеми (3/3) или большинством патологоанатомов (2/3) в 74% *BRAF*^{V600E}-мутированных опухолях (рис. 4) и в 96% случаев при их верификации с помощью иммуногистохимического метода и антитела к p16. В одном случае опухоли с мутацией *BRAF*^{V600E} ЭК не были обнаружены. Таким образом, чувствительность и специфичность прогнозирования мутации *BRAF* для ЭК составила 96,3 и 88,9%, соответственно. Положительная прогностическая значимость ЭК составила 86,7%, отрицательная прогностическая значимость 97%. В трех образцах с мутацией *BRAF*^{p.Asp594Gly} истинные ЭК не обнаружены.

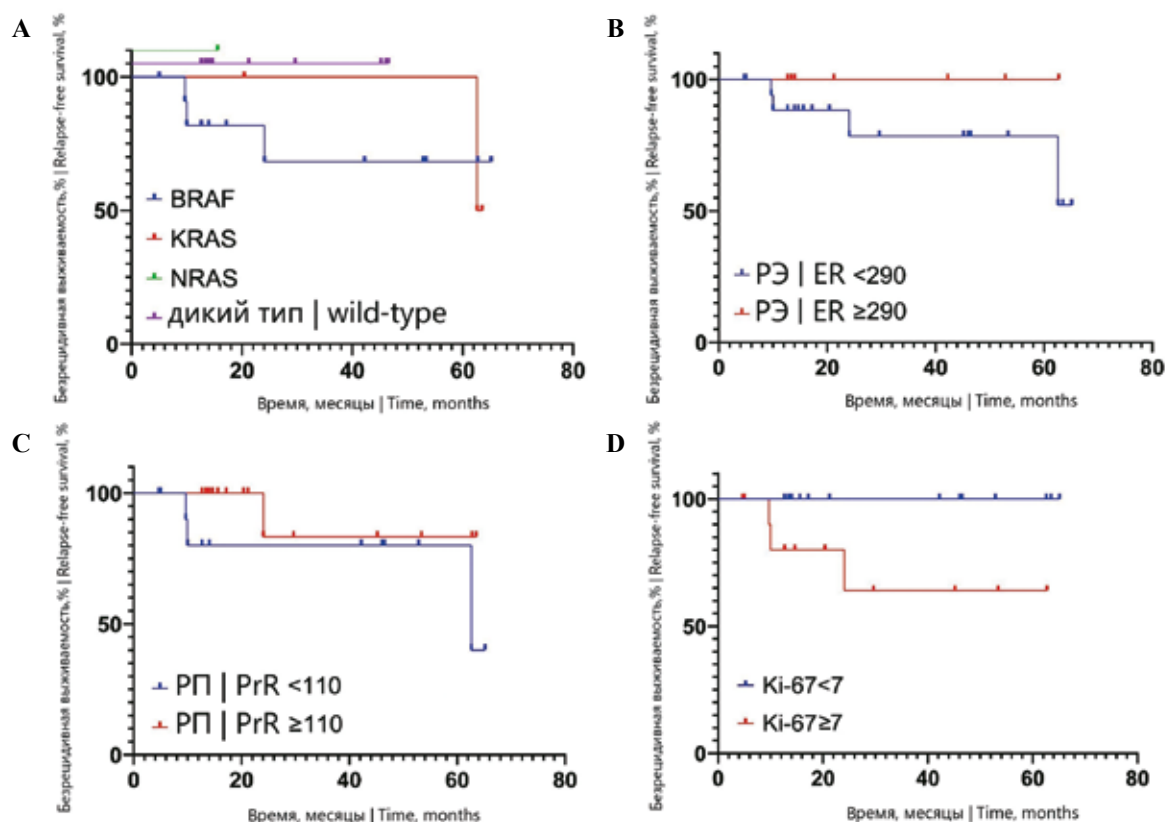


Рис. 3. Кривые Каплана–Мейера безрецидивной выживаемости пациенток с пограничными серозными опухолями яичников в зависимости от молекулярно-генетического статуса (А), а также с различной экспрессией рецепторов эстрогена (В), прогестерона (С) и Ki-67 (D)

РЭ – рецепторы эстрогена, РП – рецепторы прогестерона

Fig. 3. Kaplan–Meier relapse-free survival curves of patients with ovarian serous borderline tumors due to molecular-genetic characteristics (A) and different expression of estrogen receptor (B), progesterone receptor (C), and Ki-67 (D)

ER – estrogen receptor, PrR – progesterone receptor

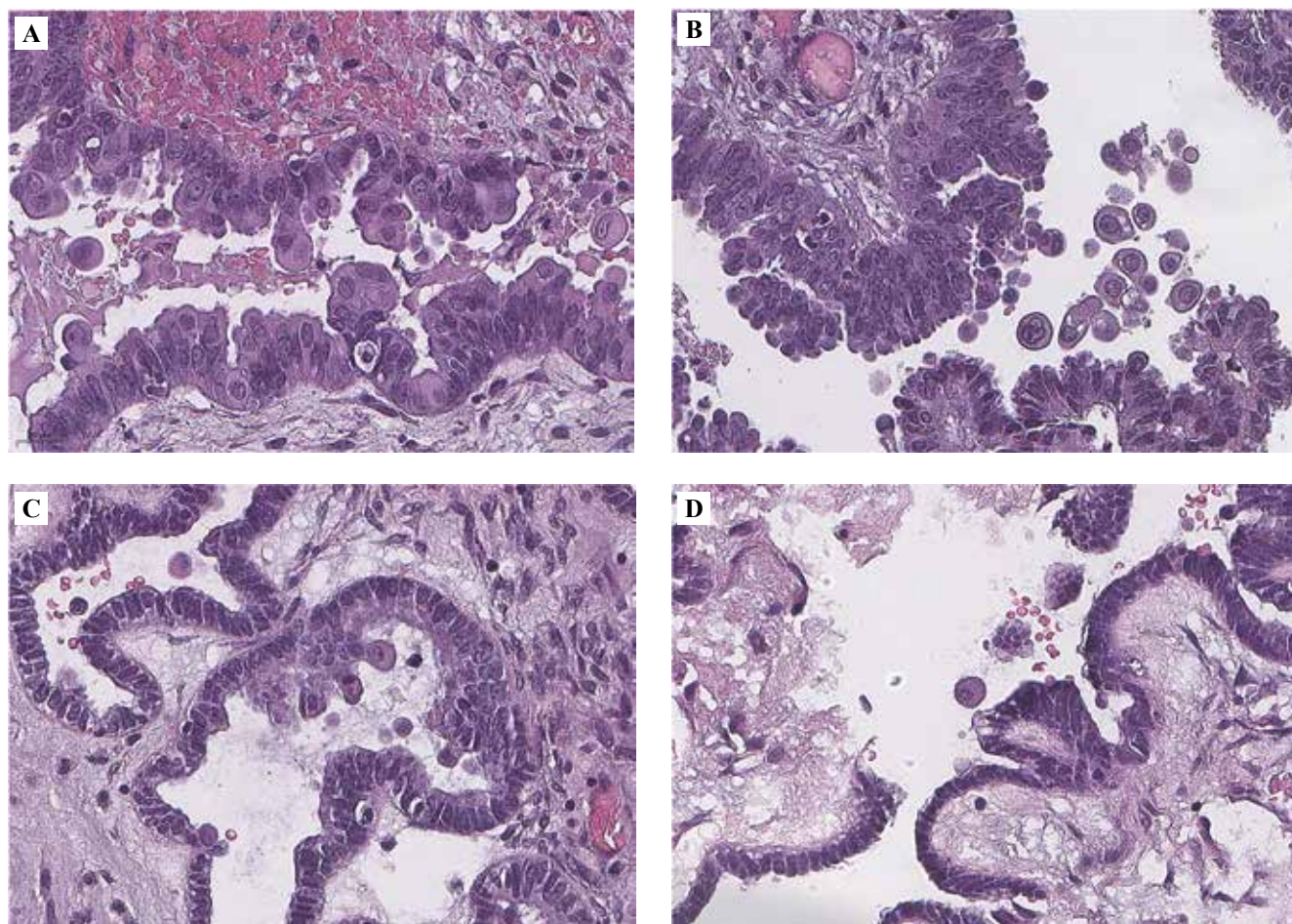


Рис. 4. Эозинофильные клетки в пограничных серозных опухолях с мутацией *BRAF*^{V600E} (А–Д), расположенные интраэпителиально и десквамированные с поверхности эпителия. Окраска гематоксилином и эозином, ×400

Fig. 4. Eosinophilic cells in serous borderline tumors with the *BRAF*^{V600E} mutation (A–D), located within the epithelium and desquamated from the epithelial surface. H&E stain, ×400

Обсуждение

В настоящее время известно, что мутации *BRAF* и *KRAS* являются важными драйверами онкогенеза пограничных серозных опухолей и связаны с сигнальным путем митогенактивируемой протеинкиназы и неконтролируемой пролиферацией [1, 8, 9]. Так, например, пограничные серозные опухоли с мутацией *KRAS* чаще прогрессируют в серозную карциному яичника низкой степени злокачественности [9]. С другой стороны, было показано, что наличие в пограничных серозных опухолях мутации *BRAF* ассоциировано с благоприятным прогнозом и невысоким риском прогрессии в серозную карциному низкой степени злокачественности посредством активации генов-супрессоров опухоли и формирования онкогениндуцированной сенесценции [8, 11]. Следствием последнего является появление ЭК с сенесцентным фенотипом [12].

ЭК были впервые описаны при серозных пограничных опухолях в качестве одного из паттернов стромальной микроинвазии, а также в лимфатических узлах, пораженных клетками серозной пограничной

опухоли [13, 14]. Поскольку микроинвазия и поражение лимфатических узлов не были связаны с неблагоприятными клиническими исходами, К. Maniar et al. предположили, что эти ЭК являются стареющими, окончательно дифференцированными клетками [15]. Впоследствии F. Zerpernick et al. пришли к выводу, что эти специфические по своим морфологическим свойствам клетки преимущественно обнаруживаются в серозных пограничных опухолях с мутацией *BRAF*, хотя в редких случаях могут встречаться и в серозных пограничных опухолях дикого типа [10].

Остается не до конца изученным, как именно ЭК приобретают свой форм-фактор. Увеличение размеров клеток и обильная эозинофильная цитоплазма, связанные со старением, вероятно, вызваны несколькими механизмами. Во-первых, это может быть ассоциировано со снижением активности протеасомальных пептидаз и нарушением работы убиквитин-протеасомной системы деградации белков [16, 17]. В результате происходит избыточное накопление окисленных и убиквитинированных дисфункциональных белков

в цитоплазме клетки. Во-вторых, нарастание биоэнергетического дефицита может привести к сдвигу динамики митохондрий в сторону слияния и образования мегамитохондрий [18].

Кроме того, неизвестно, как пограничные серозные опухоли с мутацией *BRAF* и онкогениндуцированной сенесценцией преодолевают старение, остановку клеточного цикла и продолжают прогрессировать до серозной карциномы. Высказано предположение, что наличие дополнительных мутаций-«модификаторов» может способствовать прогрессированию новообразования. В 2014 году F. Zepernick et al. провели углубленный анализ этого парадокса и показали потенциальную роль делеций *ch1p36* и *ch9p21* в морфогенезе от пограничной серозной опухоли к серозной карциноме низкой степени злокачественности, так как эти участки кодируют белки-супрессоры опухолей [10].

Прогрессирование опухоли может быть также связано с изменением в метаболизме глюкозы. Опираясь на эту концепцию, K. Aird et al. смогли показать, что добавления избыточного количества экзогенных нуклеозидов достаточно, чтобы преодолеть остановку роста клеток, связанную с онкогениндуцированной сенесценцией [19]. Также известно, что мутация *BRAF* вызывает активацию транспортера глюкозы-1 (*GLUT1*), которая приводит к увеличению метаболизма глюкозы, необходимого для преодоления клеточного старения и, следовательно, прогрессирования опухоли [16].

В нашей работе показано, что сенесцентные клетки с обильной эозинофильной цитоплазмой и выраженной ядерно-цитоплазматической экспрессией p16 были ассоциированы с пограничными серозными опухолями с мутацией *BRAF* и их определение в ткани пограничных опухолей продемонстрировало значительную чувствительность и специфичность (96,3 и 88,9%, соответственно) для прогнозирования указанной мутации. Полученные нами данные согласуются с исследованием M.H. Chui et al., в котором чувствительность и специфичность данного метода оценки эозинофильных клеток составили 67 и 95%, соответственно [20].

Основное клиническое значение мутационного статуса *BRAF* и, следовательно, эозинофильных клеток заключается в прогностической ценности для наблюдения за пациентками с пограничными серозными опухолями. В проведенных ранее исследованиях статус мутации *BRAF* был успешно протестирован в качестве прогностического фактора [21, 22]. Кроме того, определение мутации *KRAS* также продемонстрировало прогностическую ценность, поскольку ее наличие в опухолях тесно связано с развитием рецидивов и повышенным риском трансформации в серозную карциному низкой степени злокачественности [9].

Для прогнозирования течения заболевания помимо анализа компонентов сигнального пути MAPK в настоящее время ведется поиск иммуногистохимических ан-

тител, которые можно было бы использовать в повседневной патологоанатомической практике. Обнаружено увеличение пролиферативной активности от доброкачественных серозных цистаденом до пограничных серозных опухолей и серозных карцином низкой степени злокачественности [23]. Однако окончательно установить пороговое значение для Ki67, которое обладало бы высокой чувствительностью и специфичностью для прогнозирования течения заболевания, не удалось [24, 25]. Несмотря на возможность иммуногистохимического анализа уровней экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, современные данные об их использовании для определения прогноза и течения заболевания также остаются неполными и противоречивыми. В то время как некоторые исследователи утверждают, что статус рецепторов стероидных половых гормонов может служить прогностическим фактором, другие не смогли подтвердить их прогностическую ценность, или же только один из маркеров продемонстрировал положительный прогностический потенциал [25–28]. Таким образом, пороговые значения для рецепторов эстрогена и прогестерона на данный момент окончательно не установлены.

Заключение

Показано, что эозинофильные клетки в серозных пограничных опухолях яичников могут в достаточной мере отражать мутацию *BRAF*, что позволяет выделить группы пациенток для проведения генетического тестирования. Наличие взаимосвязи между гистологическими особенностями и определенными мутациями может лечь в основу будущей терапевтической стратификации, не требующей молекулярного профилирования опухоли. Прогностическая ценность рецепторов эстрогена и прогестерона при анализе безрецидивной выживаемости не обнаружена, однако индекс Ki67 более 7% был ассоциирован с повышенной вероятностью рецидива, что подчеркивает важность оценки пролиферативной активности для прогнозирования исходов заболевания.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.С. Бадлаева, А.В. Асатурова.

Сбор и обработка материала – А.С. Бадлаева.

Анализ данных – А.С. Бадлаева, А.В. Трегубова, А.В. Асатурова.

Написание текста – А.С. Бадлаева.

Редактирование – А.В. Трегубова, А.В. Асатурова.

Author contribution

Conceptualisation – A.S. Badlaeva, A.V. Asaturova.

Data collection – A.S. Badlaeva.

Data analysis – A.S. Badlaeva, A.V. Tregubova, A.V. Asaturova.

Wrote the paper – A.S. Badlaeva.

Edited the manuscript – A.V. Tregubova, A.V. Asaturova.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

- Kelliher L, Yoeli-Bik R, Schweizer L, Lengyel E. Molecular changes driving low-grade serous ovarian cancer and implications for treatment. *Int J Gynecol Cancer*. 2024;34(10):1630–8. DOI: 10.1136/ijgc-2024-005305.
- The WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds.). WHO classification of Female Genital Tumors. V. 4. 5th ed. Lyon: IARC, 2021. 632 p.
- Sun Y, Xu J, Jia X. The diagnosis, treatment, prognosis and molecular pathology of borderline ovarian tumors: current status and perspectives. *Cancer Manag Res*. 2020;12:3651–9. DOI: 10.2147/CMAR.S250394.
- Longacre TA, McKenney JK, Tazelaar HD, Kempson RL, Hendrickson MR. Ovarian serous tumors of low malignant potential (borderline tumors): outcome-based study of 276 patients with long-term (≥ 5 -year) follow-up. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(6):707–23. DOI: 10.1097/01.pas.0000164030.82810.db.
- Chui MH, Xing D, Zeppernick F, Wang ZQ, Hannibal CG, Frederiksen K et al. Clinicopathologic and molecular features of paired cases of metachronous ovarian serous borderline tumor and subsequent serous carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(11):1462–72. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001325.
- Hannibal CG, Vang R, Junge J, Frederiksen K, Kurman RJ, Kjaer SK. A nationwide study of ovarian serous borderline tumors in Denmark 1978–2002. Risk of recurrence, and development of ovarian serous carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2017;144(1):174–80. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.11.007.
- Vang R, Hannibal CG, Junge J, Frederiksen K, Kjaer SK, Kurman RJ. Long-term behavior of serous borderline tumors subdivided into atypical proliferative tumors and noninvasive low-grade carcinomas: a population-based clinicopathologic study of 942 cases. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(6):725–37. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000824.
- Chui MH, Kjaer SK, Frederiksen K, Hannibal CG, Wang TL, Vang R et al. *BRAF*^{V600E}-mutated ovarian serous borderline tumors are at relatively low risk for progression to serous carcinoma. *Oncotarget*. 2019;10(64):6870–8. DOI: 10.18632/oncotarget.27326.
- McHenry A, Rottmann DA, Buza N, Hui P. *KRAS* mutation in primary ovarian serous borderline tumors correlates with tumor recurrence. *Virchows Arch*. 2023;483(1):71–9. DOI: 10.1007/s00428-023-03564-z.
- Zeppernick F, Ardighieri L, Hannibal CG, Vang R, Junge J, Kjaer SK et al. *BRAF* mutation is associated with a specific cell type with features suggestive of senescence in ovarian serous borderline (atypical proliferative) tumors. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(12):1603–11. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000313.
- Turashvili G, Grisham RN, Chiang S, DeLair DF, Park KJ, Soslowsky RA et al. *BRAF*^{V600E} mutations and immunohistochemical expression of VE1 protein in low-grade serous neoplasms of the ovary. *Histopathology*. 2018;73(3):438–43. DOI: 10.1111/his.13651.
- Malpica A, Wong KK. The molecular pathology of ovarian serous borderline tumors. *Ann Oncol*. 2016;Suppl 1(Suppl 1):i16–9. DOI: 10.1093/annonc/mdw089.
- Bell DA, Scully RE. Ovarian serous borderline tumors with stromal microinvasion: a report of 21 cases. *Hum Pathol*. 1990;21(4):397–403. DOI: 10.1016/0046-8177(90)90201-f.
- McKenney JK, Balzer BL, Longacre TA. Lymph node involvement in ovarian serous tumors of low malignant potential (borderline tumors): pathology, prognosis, and proposed classification. *Am J Surg Pathol*. 2006;30(5):614–24. DOI: 10.1097/01.pas.0000194743.33540.e6.
- Maniar KP, Wang Y, Visvanathan K, Shih IeM, Kurman RJ. Evaluation of microinvasion and lymph node involvement in ovarian serous borderline/atypical proliferative serous tumors: a morphologic and immunohistochemical analysis of 37 cases. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(6):743–55. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000155.
- Li Y, Li S, Wu H. Ubiquitination-proteasome system (UPS) and autophagy two main protein degradation machineries in response to cell stress. *Cells*. 2022;11(5):851. DOI: 10.3390/cells11050851.
- Mikula-Pietrasik J, Niklas A, Uruski P, Tykarski A, Księżek K. Mechanisms and significance of therapy-induced and spontaneous senescence of cancer cells. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77(2):213–29. DOI: 10.1007/s00018-019-03261-8.
- Wiley CD, Velarde MC, Lecot P, Liu S, Sarnoski EA, Freund A et al. Mitochondrial dysfunction induces senescence with a distinct secretory phenotype. *Cell Metab*. 2016;23(2):303–14. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.11.011.
- Aird KM, Zhang R. Nucleotide metabolism, oncogene-induced senescence and cancer. *Cancer Lett*. 2015;356(2 Pt A):204–10. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.01.017.
- Chui MH, Murali R, Soslow RA, Matrai C, Xing D, Vang R. Interobserver reproducibility in assessing eosinophilic cells in ovarian serous borderline tumors to predict *BRAF* mutational status. *Int J Gynecol Pathol*. 2023;42(5):472–81. DOI: 10.1097/PGP.0000000000000933.
- Grisham RN, Iyer G, Garg K, Delair D, Hyman DM, Zhou Q et al. *BRAF* mutation is associated with early stage disease and improved outcome in patients with low-grade serous ovarian cancer. *Cancer*. 2013;119(3):548–54. DOI: 10.1002/cncr.27782.
- Moujaber T, Etemadmoghadam D, Kennedy CJ, Chiew YE, Balleine RL, Saunders C et al. *BRAF* mutations in low-grade serous ovarian cancer and response to *BRAF* inhibition. *JCO Precis Oncol*. 2018;2:1–14. DOI: 10.1200/PO.17.00221.
- Naik PS, Deshmukh S, Khandeparkar SG, Joshi A, Babanagare S, Potdar J et al. Epithelial ovarian tumors: clinicopathological correlation and immunohistochemical study. *J Midlife Health*. 2015;6(4):178–83. DOI: 10.4103/0976-7800.172349.
- Виноградов И.И., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Ахидова Е.В., Вольпина О.М., Волкова Т.Д. и др. Значение маркеров пролиферации и апоптоза для пограничных опухолей яичника. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2013;21(3):130–136. DOI: 10.17816/PAVLOVJ20133130-136.
- Vinogradov II, Zavalishina LE, Andreeva YY, Akhidova EV, Volpina OM, Volkova TD et al. Importance of markers of the proliferation and apoptosis for ovarian borderline tumors. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2013;21(3):130–136 (In Russ.). DOI: 10.17816/PAVLOVJ20133130-136.
- Priyadarshini P, Patro MK, Dash A, Pradhan SP, Senapati SR, Mohanty SR. Evaluation of estrogen receptor, progesterone

- receptor, and Ki 67 immunoexpression in epithelial ovarian tumors with histopathological correlation. *MGM Journal of Medical Sciences*. 2023;10(4):602–9. DOI: 10.4103/mgmj.mgmj_99_23.
26. *Arias-Pulido H, Smith HO, Joste NE, Bocklage T, Qualls CR, Chavez A et al.* Estrogen and progesterone receptor status and outcome in epithelial ovarian cancers and low malignant potential tumors. *Gynecol Oncol*. 2009;114(3):480–5. DOI: 10.1016/j.ygyno.2009.05.045.
27. *Sallum LF, Sarian LO, Lucci De Angelo Andrade L, Vassallo J, Soares FA, Pinto GA et al.* Survival of women with ovarian carcinomas and borderline tumors is not affected by estrogen and progesterone receptor status. *J Gynecol Oncol*. 2013;24(2):167–76. DOI: 10.3802/jgo.2013.24.2.167.
28. *Němejcová K, Šafanda A, Bárta MK, Michálková R, Droženová J, Fabian P et al.* A comprehensive immunohistochemical analysis of 26 markers in 250 cases of serous ovarian tumors. *Diagn Pathol*. 2023;18(1):32. DOI: 10.1186/s13000-023-01317-9.

Информация об авторах

Алина Станиславовна Бадлаева – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, врач-патологоанатом 1-го патологоанатомического отделения НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова, доцент кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Анна Васильевна Трегубова – научный сотрудник, врач-патологоанатом 1-го патологоанатомического отделения НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

Александра Вячеславовна Асатурова – доктор медицинских наук, заведующая 1-м патологоанатомическим отделением НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова, доцент кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Author information

Alina S. Badlaeva – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Pathologist, Pathology Department No. 1, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology; Associate Professor, Department of Anatomic Pathology and Clinical Anatomic Pathology, Pirogov Russian National Research Medical University
<https://orcid.org/0000-0001-5223-9767>

Anna V. Tregubova – Researcher, Pathologist, Pathology Department No. 1, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology.
<https://orcid.org/0000-0003-4601-1330>

Aleksandra V. Asaturova – Dr. Sci. (Med.), Head of Pathology Department No. 1, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology; Associate Professor, Department of Anatomic Pathology and Clinical Anatomic Pathology, Pirogov Russian National Research Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-8739-5209>

Гистопатология ушек сердца, удаленных при кардиохирургических операциях у пациентов с фибрилляцией предсердий

Н.А. Гутырчик^{1,2}, Л.В. Кактурский¹, Л.М. Михалева¹, З.В. Гюева¹,
А.В. Стоногин³, С.Е. Соловьева³, В.Ю. Савина³

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

² ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

³ Научно-клинический центр № 1 ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Резюме. Введение. Фибрилляция предсердий – одна из частых форм аритмий, опасная развитием тромбоэмболических осложнений. Хирургическое удаление ушек сердца предупреждает тромбообразование в нем и, как следствие, возможную тромбоэмболию и устраняет необходимость перманентной антикоагулянтной терапии. Цель исследования – гистоморфологическая характеристика послеоперационной фибрилляции предсердий на материале операционных кардиобиопсий.

Материалы и методы. Гистологическими и морфометрическими методами исследованы биоптаты левого ушка предсердий, полученные от 32 пациентов с фибрилляцией предсердий, оперированных по поводу заболеваний сердца и сосудов (группа сравнения – 21 пациент без фибрилляции предсердий).

Результаты. На фоне хронических изменений (кардиосклероз, липоматоз) в группе с фибрилляцией предсердий сильнее выражены и имеют более высокий показатель информативности острые повреждения кардиомиоцитов в виде миоцитолизиса, контрактур, волнообразной деформации в сочетании с отеком стромы и повышением сосудистой проницаемости. В эндокарде на фоне склероза отмечены очаги мукоидного отека с пристеночным тромбозом.

Заключение. Гистопатологические изменения в ушках сердца при фибрилляции предсердий характеризуются острыми и хроническими нарушениями неспецифического характера, но выраженными сильнее, чем в группе без фибрилляции предсердий. Наиболее высокий показатель информативности при фибрилляции предсердий имели острые повреждения кардиомиоцитов на фоне повышения сосудистой проницаемости и отека стромы.

Ключевые слова: сердце, фибрилляция предсердий, кардиохирургические операции, гистопатология

Для корреспонденции: Никита Андреевич Гутырчик. E-mail: gyt94@yandex.ru

Для цитирования: Гутырчик Н.А., Кактурский Л.В., Михалева Л.М., Гюева З.В., Стоногин А.В., Соловьева С.Е., Савина В.Ю. Гистопатология ушек сердца, удаленных при кардиохирургических операциях у пациентов с фибрилляцией предсердий. Клини. эксп. морфология. 2025;14(4):32–39. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.32-39.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 31.03.2025. **Получена после рецензирования** 09.04.2025. **Принята в печать** 12.05.2025.

Histopathological evaluation of heart appendages resected during cardiac surgery in patients with atrial fibrillation

N.A. Gutyrchik^{1,2}, L.V. Kakturskiy¹, L.M. Mikhaleva¹, Z.V. Gioeva¹,
A.V. Stonogin³, S.E. Solovyova³, V.Yu. Savina³

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

² Patrice Lumumba Peoples’ Friendship University of Russia, Moscow, Russia

³ Scientific and Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Moscow, Russia

Abstract. Introduction. Atrial fibrillation is among the most common forms of cardiac arrhythmias, which poses a significant risk for thromboembolic complications. Surgical excision of the atrial appendages

prevents atrial fibrillation recurrence and eliminates the need for lifelong thrombolytic therapy. The study aimed to analyze histomorphological features of postoperative atrial fibrillation using surgical cardiac biopsies.

Materials and methods. We used histological and morphometric methods to study biopsies of the left appendages from 32 patients with atrial fibrillation who underwent surgery for cardiovascular diseases. The comparison group included biopsies from 21 patients without atrial fibrillation.

Results. In atrial fibrillation, acute cardiomyocyte injuries (myocytolysis, contractures, and wave-like deformity accompanied by stromal edema and increased vascular permeability) were more pronounced and more informative on the background of cardiosclerosis and lipomatosis. Foci of mucoid edema with parietal thrombosis were detected in endocardial sclerosis areas.

Conclusion. In atrial fibrillation, histopathological changes in the heart appendages are characterized by acute and chronic nonspecific changes and are more pronounced than in the group without atrial fibrillation. Acute cardiomyocyte damage accompanied by increased vascular permeability and stroma edema is the most informative indicator in atrial fibrillation.

Keywords: heart, atrial fibrillation, cardiac surgery, histopathology

Corresponding author: Nikita A. Gutyrchik. E-mail: gyt94@yandex.ru

For citation: Gutyrchik N.A., Kakturskiy L.V., Mikhaleva L.M., Gioeva Z.V., Stonogin A.V., Solovyova S.E., Savina V.Yu. Histopathological evaluation of heart appendages resected during cardiac surgery in patients with atrial fibrillation. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):32–39 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.32-39.

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

Received 31.03.2025. **Received in revised form** 09.04.2025. **Accepted** 12.05.2025.

Введение

Фибрилляция предсердий (ФП) – одна из наиболее распространенных форм аритмий в клинической практике, опасная эмболическими осложнениями и развитием инсульта. Во всем мире отмечается рост частоты ФП у людей пожилого возраста, и сохранение данной тенденции прогнозируют на ближайшие десятилетия [1]. При этом пароксизмальная форма ФП трансформируется в персистирующую, а та, в свою очередь, переходит в постоянную форму [2]. В клиническом отношении не достигнуты оптимальные результаты профилактики и эффективного лечения ФП [3]. Кроме того, недостаточно изучены морфологические проявления ФП, хотя структурная перестройка ткани предсердий во многом определяет развитие этого осложнения. В частности, установлена связь возникновения пристеночного тромбоза с ремоделированием конфигурации ушек предсердий [4]. Одним из эффективных способов профилактики тромбообразования является хирургическое удаление ушек (как правило, левого ушка), что устраняет необходимость перманентной антикоагулянтной терапии [5]. В Российском научном центре хирургии имени академика Б.В. Петровского проводится удаление ушек левого предсердия при кардиохирургических операциях пациентам с разными формами ФП. Данный материал представляет интерес в плане морфологического изучения для уточнения структурных основ, лежащих в основе развития ФП.

Целью нашего исследования стала гистоморфологическая характеристика послеоперационной фибрилляции предсердий на материале операционных кардиобиопсий.

Материалы и методы

Исследованы операционные биоптаты левого ушка предсердий, полученные от пациентов, оперированных по поводу разных заболеваний: пороков клапанов сердца, последствий перенесенного инфекционного эндокардита, ишемической болезни сердца, ревматической болезни сердца, аневризмы дуги аорты. Материал разделен на две основные группы: с ФП и без ФП.

В первую группу включены пациенты, у которых клинически до операции регистрировалась постоянная форма ФП. Возраст пациентов колебался от 62 до 80 лет. Распределение пациентов по полу представлено в таблице 1. Биоптаты для световой микроскопии фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, обезживали в спиртовой батарее, заливали в парафин и окрашивали депарафинированные срезы гематоксилином и эозином, по ван Гизону, Маллори, методу Ли (трехцветное окрашивание гематоксилином – основным фуксином – пикиновой кислотой) [6]. Гистостереометрически методом точечного счета по Г.Г. Автандилову определяли объемную плотность основных гистоструктурных изменений ткани ушек [7].

Статистическую обработку морфометрических данных проводили путем расчета статистической ошибки средних величин с оценкой относительных процентных показателей с помощью критерия Пирсона – метод χ^2 [8]. Для ранжирования усредненных показателей по степени их значимости определяли критерий информативности Кульбака [9].

Результаты

У пациентов с ФП в послеоперационном периоде на первый план выступал резко выраженный миоцито-

Распределение пациентов по полу | Distribution of patients by sex

Пол Sex	С фибрилляцией предсердий With atrial fibrillation	Без фибрилляции предсердий Without atrial fibrillation	Всего Total
Мужчин Male	22	14	36
Женщин Female	10	7	17
Всего Total	32	21	53

лизис кардиомиоцитов, проявлявшийся сильнее в суб-эндокардиальных отделах. Он затрагивал довольно обширные участки миокарда ушек и характеризовался резким просветлением саркоплазмы кардиомиоцитов с сохранением контуров сарколеммы (рис. 1 А). Миоцитоллизис не следует путать с миолизом – полным колликативным разрушением кардиомиоцитов. В классических работах Ю.Г. Целлариуса и соавторов миоцитоллизис описан как обратимое на ранних стадиях повреждение миокардиальных клеток с возможностью их обратного восстановления [10]. При миоцитоллизисе сарколемма кардиомиоцитов остается сохранной. Наряду с миоцитоллизисом отмечались контрактурные повреждения миокарда, выраженные в умеренной степени. Они определялись резкой эозинофилией саркоплазмы кардиомиоцитов и давали положительную реакцию при окрашивании по методу Ли (рис. 1 В, С). На рисунке 1 В видно сочетание контрактурного повреждения с миоцитоллизисом в соседней мышечной клетке. Отмечена также еще одна форма острого повреждения кардиомиоцитов – волнообразная деформация мышечных волокон, выраженная неравномерно и сопровождавшаяся отеком стромы миокарда (рис. 1 D). Острые повреждения кардиомиоцитов наблюдались на фоне диффузно-мелкоочагового кардиосклероза, сочетавшегося с выраженным фиброзом эндокарда (рис. 1 E). В строме миокарда обнаруживались единичные очаговые лимфоидные инфильтраты (рис. 1 F), а также встречались участки липоматоза, локализованные периваскулярно (рис. 1 G). Также было выражено субэпикардальное разрастание жировой клетчатки.

Миоцитоллизис наблюдался на фоне диффузно-мелкоочагового кардиосклероза и склероза стенок интрамуральных артерий (рис. 2 А). В сосудах микроциркуляции отмечены признаки повышения проницаемости в виде плазморрагии, периваскулярного отека, набухания и пролиферации эндотелия (рис. 2 В). В группе с ФП в эндокарде на фоне склероза отмечены очаги отека с признаками мукоидизации, иногда с наличием мелких пристеночных тромбов (рис. 2 С, D).

Большинство перечисленных изменений носит неспецифический характер и имело место в обеих группах, хотя сильнее выражено в группе с ФП. Очаговый отек эндокарда с мукоидизацией и пристеночным тром-

бозом, а также повышенная проницаемость микрососудов с плазморрагией и пролиферацией эндотелия отмечены только в группе с ФП.

Была проведена количественная гистостереометрическая оценка изменений с расчетом достоверности средних показателей объемной плотности изученных структур и подсчетом показателя информативности. Последний в дополнение к статистической значимости различий в наибольшей степени характеризует специфичность межгрупповых изменений. Результаты представлены в таблице 2. Судя по этим данным, в группе с ФП статистически значимо преобладали изученные показатели: миоцитоллизис, контрактурные повреждения, волнообразная деформация мышечных волокон, относительный объем интерстиция, кардиосклероза и липоматоз. При ранжировании этих показателей по степени их информационной значимости с помощью критерия Кульбака наиболее информативными оказались признаки острого повреждения кардиомиоцитов – миоцитоллизис, контрактуры, волнообразная деформация мышечных волокон, а также объем интерстиция, отражающий степень отека стромы миокарда. Диффузный кардиосклероз и липоматоз стромы, хотя статистически значимо преобладали в группе с ФП, оказались малоинформативными.

Обсуждение

Представленные результаты показали широкий спектр гистопатологических изменений в стенке предсердий у пациентов с постоянной формой ФП. Большая часть этих изменений носила неспецифический характер, так как они встречались как в группе с ФП, так и без нее, однако в количественном отношении они преобладали в группе с ФП, причем статистически значимо. Наиболее информативными оказались острые повреждения кардиомиоцитов (миоцитоллизис, контрактуры, волнообразная деформация) на фоне интерстициального отека, связанного с повышенной сосудистой проницаемостью. В опытах *in vitro* на клеточной модели с использованием монослоя кардиомиоцитов крыс показано, что именно межклеточный отек, сопровождающийся снижением осмолярности среды, является фактором, способствующим развитию аритмий сердца [11]. Выявленная нами высокая информативность интерстициального отека ушек предсердий

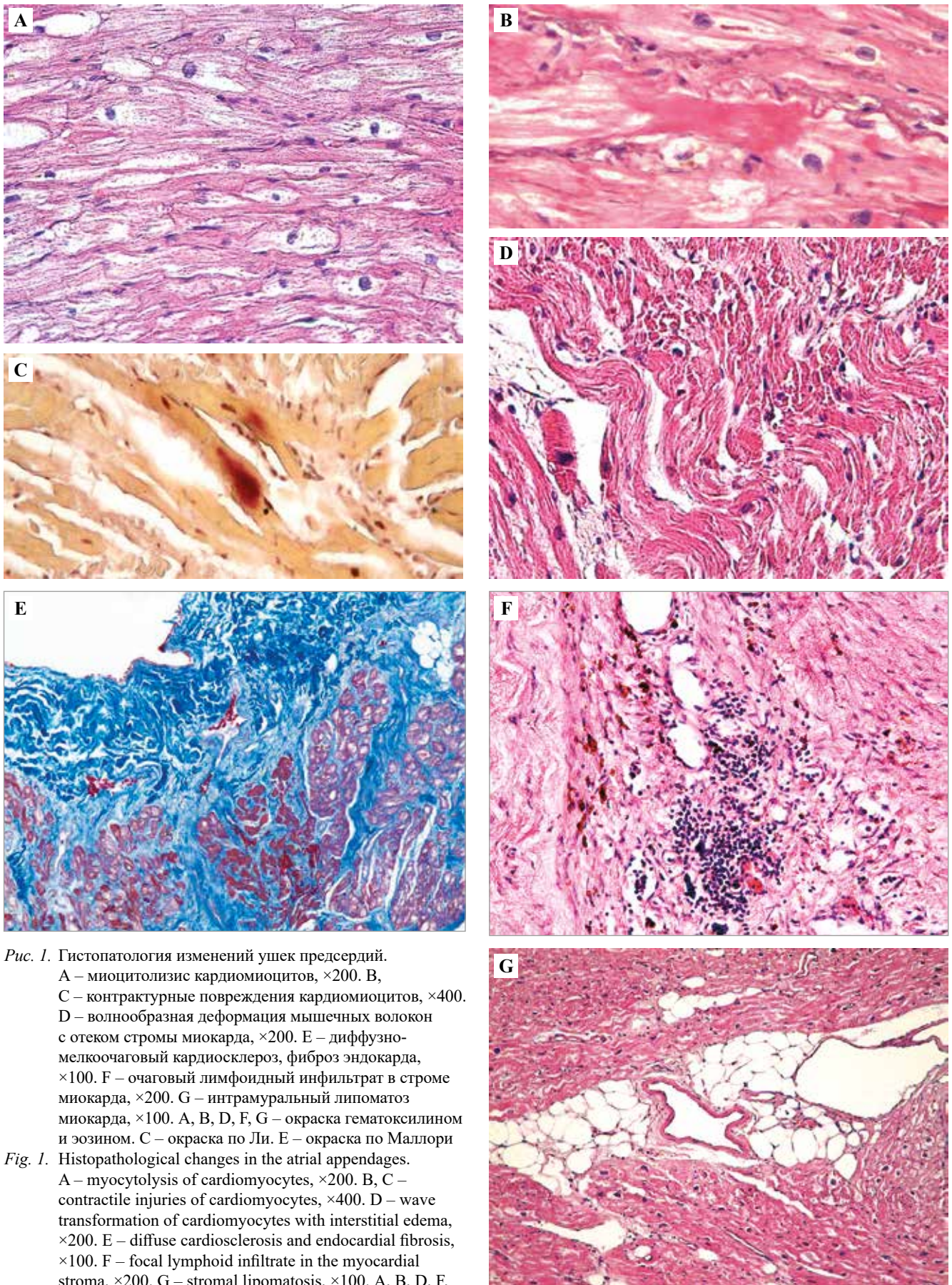


Рис. 1. Гистопатология изменений ушек предсердий.
 А – миоцитоллиз кардиомиоцитов, $\times 200$. В, С – контрактурные повреждения кардиомиоцитов, $\times 400$.
 D – волнообразная деформация мышечных волокон с отеком стромы миокарда, $\times 200$. E – диффузно-мелкоочаговый кардиосклероз, фиброз эндокарда, $\times 100$. F – очаговый лимфоидный инфильтрат в строме миокарда, $\times 200$. G – интрамуральный липоматоз миокарда, $\times 100$. A, B, D, F, G – окраска гематоксилином и эозином. C – окраска по Ли. E – окраска по Маллори

Fig. 1. Histopathological changes in the atrial appendages.
 A – myocytolysis of cardiomyocytes, $\times 200$. B, C – contractile injuries of cardiomyocytes, $\times 400$. D – wave transformation of cardiomyocytes with interstitial edema, $\times 200$. E – diffuse cardiosclerosis and endocardial fibrosis, $\times 100$. F – focal lymphoid infiltrate in the myocardial stroma, $\times 200$. G – stromal lipomatosis, $\times 100$. A, B, D, F, G – H&E stain. C – Lie stain. E – Mallory stain

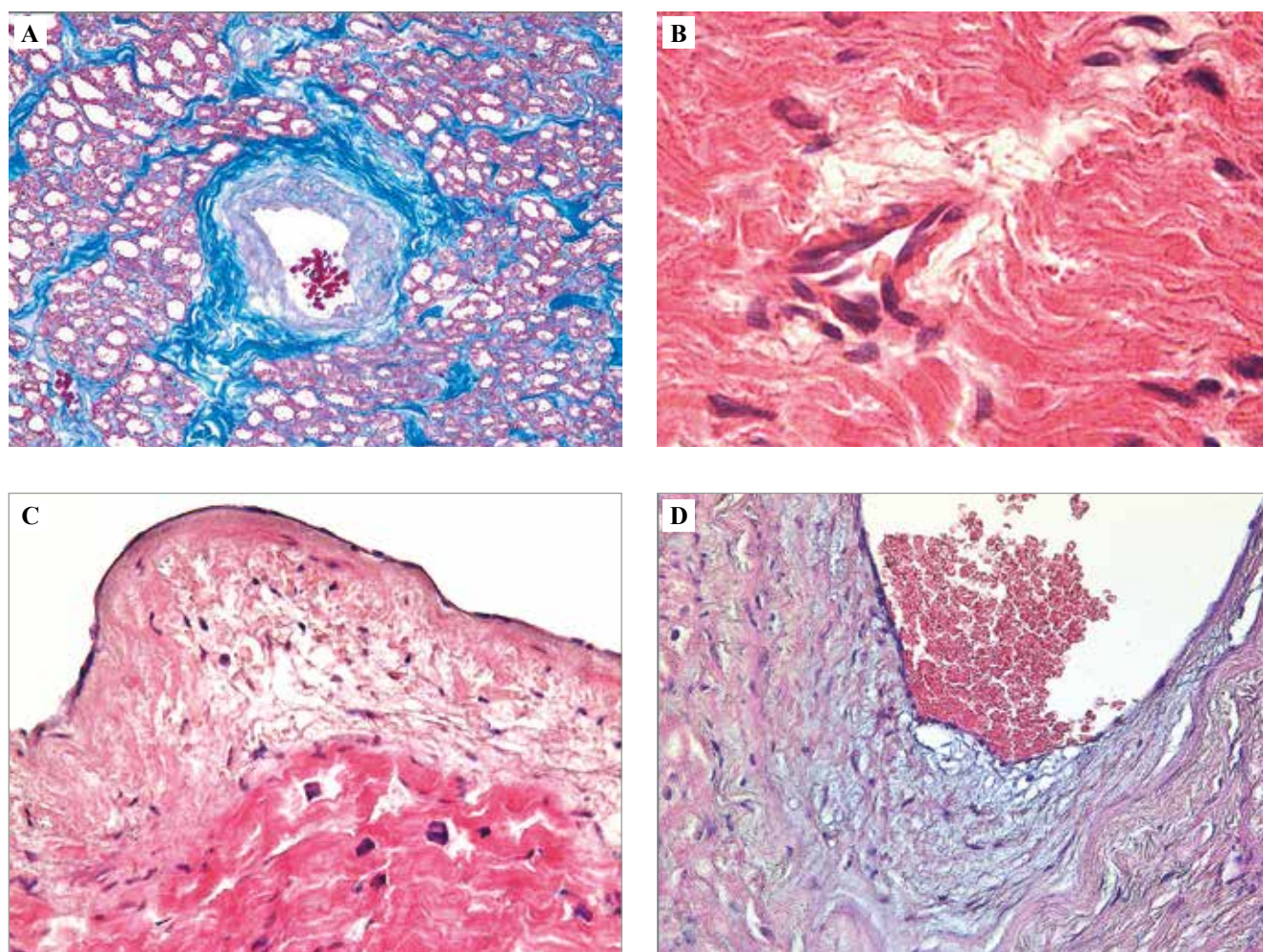


Рис. 2. Гистопатология изменений ушек предсердий.

А – склероз интрамуральной артерии на фоне диффузно-мелкоочагового кардиосклероза, миоцитоллиз кардиомиоцитов, ×200. В – набухание и пролиферация эндотелия микрососуда, плазморрагия, периваскулярный отек, ×400. С – очаговый отек в склерозированном эндокарде, ×100. D – участок мукоидного отека склерозированного эндокарда с формирующимся пристеночным тромбом, ×50. А – окраска по Маллори, В–D – окраска гематоксилином и эозином

Fig. 2. Histopathological changes in the atrial appendages.

А – arteriosclerosis in the background of diffuse cardiomyosclerosis, myocytolysis of cardiomyocytes, ×200. B – swelling and proliferation of microvascular endothelium, plasma extravasation, perivascular edema, ×400. C – focal edema in the endocardial sclerosis, ×100. D – mucoid edema of the endocardial sclerosis with a parietal clot, ×50. A – Mallory stain, B–D – H&E stain

соответствует этим данным и коррелирует с ФП у пациентов. Миоцитоллизис в ушках сердца отмечен нашими коллегами при разных вариантах ФП – пароксизмальной, персистирующей и постоянной [12]. Авторы обозначают его термином «миолиз», но термин «миоцитоллизис», предложенный Ю.Г. Целлариусом [10], мы считаем в данной ситуации более корректным, так как здесь речь идет не о полной гибели кардиомиоцитов вследствие колликативного некроза, а об их обратимом повреждении с сохранностью сарколеммального футляра.

Хронический фон в виде диффузного кардиосклероза и липоматоза стромы миокарда также преобладал в группе с ФП, хотя и с невысокой информативностью.

На роль фиброза, способствующего ФП, указывали японские и канадские исследователи, показавшие, что обусловленное фиброзом ремоделирование формы ушек предсердий предрасполагает к ФП и тромбообразованию [13]. М. Osranek et al. расценили ремоделирование с увеличением объема левого предсердия как прогностический фактор риска послеоперационной ФП у пациентов, подвергшихся хирургическому вмешательству на сердце [14]. Неблагоприятным фоном для развития ФП следует считать и липоматоз. Так, отмечена существенная связь ФП с ожирением межпредсердной перегородки [15].

Таким образом, выявленные нами гистопатологические изменения ушек предсердий при их фибрилляции

Таблица 2 | Table 2

Объемная плотность и информативность изменений ушек предсердий | Volumetric density and information index of changes in the atrial appendages

Изменения Changes	С фибрилляцией предсердий, % With atrial fibrillation, %	Без фибрилляции предсердий, % Without atrial fibrillation, %	P	I
Миоцитоллизис Myocytolysis	27,75±0,76	14,56±0,49	<0,001	6,02
Контрактурные повреждения Contractile injuries	15,45±2,13	6,02±1,14	<0,001	6,38
Волнообразная трансформация кардиомиоцитов Wave transformation of cardiomyocytes	10,84±1,35	5,03±1,63	<0,05	9,02
Отек интерстиция Interstitial edema	28,44±2,19	17,27±3,60	<0,05	7,45
Диффузный кардиосклероз Diffuse cardiosclerosis	19,0±1,33	3,13±0,71	<0,001	0,13
Липоматоз стромы Stromal lipomatosis	27,60±3,46	6,94±0,75	<0,001	0,76

P – порог доверительной вероятности | probability value, *I* – показатель информативности | Information index

у пациентов, перенесших кардиохирургические операции, характеризуют морфологический субстрат ФП, на основе которого развивается тромбообразование. Интересно, что существенным фактором, способствующим тромбообразованию в ушках, является изменение фенотипа эндотелиоцитов эндокарда в сторону фибробластов, что подтверждено методом секвенирования РНК изолированных эндотелиоцитов нокаутных мышей с ФП [16].

Заключение

На материале ушек левого предсердия, удаленных у пациентов кардиохирургического профиля с постоянной формой фибрилляции предсердий, охарактеризован спектр гистопатологических изменений. Характер изменений в основном неспецифический, так как они встречались и в группе сравнения без фибрилляции предсердий, но степень выраженности большинства изменений преобладала в группе с фибрилляцией предсердий. При этом наиболее информативными оказались острые повреждения кардиомиоцитов по типу миоцитоллизиса, контрактур и волнообразной деформации на фоне интерстициального отека и повышенной сосудистой проницаемости. Хронические изменения в виде кардиосклероза и липоматоза стромы также преобладали в группе с фибрилляцией предсердий, но были менее информативными. Указанные изменения ткани ушек отражают морфологический субстрат ремоделирования предсердий, способствующего фибрилляции и тромбообразованию.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.В. Кактурский, Л.М. Михалева.
Сбор и обработка материала – Н.А. Гутырчик, А.В. Стоногин, С.Е. Соловьева, В.Ю. Савина.
Написание текста – З.В. Гюева, Н.А. Гутырчик.
Редактирование – Л.В. Кактурский, Л.М. Михалева.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.V. Kakturskiy, L.M. Mikhaleva.
Collected the data and performed the analysis – N.A. Gutyrchik, A.V. Stonogin, S.E. Solovyova, V.Yu. Savina.
Wrote the paper – Z.V. Gioeva, N.A. Gutyrchik.
Edited the manuscript – L.V. Kakturskiy, L.M. Mikhaleva.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. van Gelder IC, Rienstra M, Bunting KV, Casado-Arroyo R, Caso V, Crijns HJGM et al. 2024 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Eur Heart J. 2024;45(36):3314–414. DOI: 10.1093/eurheartj/ehae176.
2. Тарзиманова А.И. Фибрилляция предсердий: дискуссионные вопросы современной классификации, новые возможности диагностики и лечения. Терапия. 2024;10(6):156–161. DOI: 10.18565/therapy.2024.6.156-161.
Tarzimanova AI. Atrial fibrillation: controversial issues of modern classification, new possibilities of diagnostics and treatment.

- Therapy. 2024;10(6): 156–161 (In Russ.). DOI: 10.18565/therapy.2024.6.156-161.
3. Brundel BJJM, Ai X, Hills MT, Kuipers MF, Lip GYH, de Groot NMS. Atrial fibrillation. Nat Rev Dis Primers. 2022;8(1):21. DOI: 10.1038/s41572-022-00347-9.
 4. Di Biase L, Santangeli P, Anselmino M, Mohanty P, Salvetti I, Gili S et al. Does the left atrial appendage morphology correlate with the risk of stroke in patients with atrial fibrillation? Results from a multicenter study. J Am Coll Cardiol. 2012;60(6):531–8. DOI: 10.1016/j.jacc.2012.04.032.
 5. Hara H, Virmani R, Holmes DR Jr, Buchbinder M, Lesser JR, van Tassel RA et al. Is the left atrial appendage more than a simple appendage? Catheter Cardiovasc Interv. 2009;74(2):234–42. DOI: 10.1002/ccd.21983.
 6. Lie JT. Detection of early myocardial infarction by the acid fuchsin staining technic. Am J Clin Pathol. 1968;50(3):317–9. DOI: 10.1093/ajcp/50.3.317.
 7. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство. Москва: Медицина, 1990. 382 с.
Avtandilov GG. Medical morphometry: A guide. Moscow: Meditsina, 1990. 382 p. (In Russ.)
 8. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебное пособие. 4-е издание. Москва: Высшая школа, 1990. 352 с.
Lakin GF. Biometry: Textbook. 4th ed. Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 352 p. (In Russ.)
 9. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Ленинград: Медицина, 1973. 141 с.
Gubler EV, Genkin AA. Use of nonparametric statistical methods in biomedical research. Leningrad: Meditsina, 1973. 141 p. (In Russ.)
 10. Целлариус Ю.Г., Семенова Л.А., Непомнящих Л.М. Патологоанатомическая диагностика преднекротических изменений инфаркта миокарда методом поляризационной микроскопии: Методические рекомендации. Москва, 1979. 24 с.
Tsellarius YuG, Semenova LA, Nepomnyashchikh LM. Pathological diagnosis of pre-necrotic changes in myocardial infarction using polarization microscopy: methodological guidelines. Moscow, 1979. 24 p. (In Russ.)
 11. Kiseleva DG, Dzhabrailov VD, Aitova AA, Turchaninova EA, Tsvelaya VA, Kazakova MA et al. Arrhythmogenic potential of myocardial edema: the interstitial osmolality induces spiral waves and multiple excitation wavelets. Biomedicines. 2024;12(8):1770. DOI: 10.3390/biomedicines12081770.
 12. Sukhacheva TV, Nizyaeva NV, Samsonova MV, Cherniaev AL, Burov AA, Iurova MV et al. Morpho-functional changes of cardiac telocytes in isolated atrial amyloidosis in patients with atrial fibrillation. Sci Rep. 2021;11(1):3563. DOI: 10.1038/s41598-021-82554-0.
 13. Harada M, Nattel S. Implications of inflammation and fibrosis in atrial fibrillation pathophysiology. Card Electrophysiol Clin. 2021;13(1):25–35. DOI: 10.1016/j.ccep.2020.11.002.
 14. Osraneck M, Fatema K, Qaddoura F, Al-Saileek A, Barnes ME, Bailey KR et al. Left atrial volume predicts the risk of atrial fibrillation after cardiac surgery: a prospective study. J Am Coll Cardiol. 2006;48(4):779–86. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.03.054.
 15. Batta A, Singhal M, Gawalkar AA, Otaal PS. Unusual cause of mediastinal widening and atrial fibrillation: mediastinal lipomatosis with infiltration into the interatrial septum. BMJ Case Rep. 2021;14(11):e246980. DOI: 10.1136/bcr-2021-246980.
 16. Yang J, Tan H, Sun M, Chen R, Jian Z, Song Y et al. Single-cell RNA sequencing reveals a mechanism underlying the susceptibility of the left atrial appendage to intracardiac thrombogenesis during atrial fibrillation. Clin Transl Med. 2023;13(6):e1297. DOI: 10.1002/ctm2.1297.

Информация об авторах

Никита Андреевич Гутырчик – научный сотрудник центральной патологоанатомической лаборатории НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии РУДН имени Патриса Лумумбы.

Лев Владимирович Кактурский – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

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.

Зарина Владиславовна Гиоева – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая центральной патологоанатомической лабораторией НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Алексей Васильевич Стоногин – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник НКЦ-1 РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Светлана Евгеньевна Соловьева – кандидат медицинских наук, заведующая патологоанатомическим отделением НКЦ-1 РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Виктория Юрьевна Савина – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения НКЦ-1 РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Author information

Nikita A. Gutyrchik – Researcher, Central Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Assistant, Department of Histology, Cytology, and Embryology, Patrice Lumumba Peoples’ Friendship University of Russia.
<https://orcid.org/0000-0002-2352-278X>

Lev V. Kakturskiy – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0001-7896-2080>

Liudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

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

Zarina V. Gioeva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Central Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-5456-8692>

Alexey V. Stonogin – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Scientific and Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-3628-9403>

Svetlana E. Solovyeva – Cand. Sci. (Med.), Head of the Pathology Department, Scientific and Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-8655-3340>

Victoria Yu. Savina – Pathologist, Pathology Department, Scientific and Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-3494-2867>

Роль воспаления в развитии митрального стеноза на фоне ревматической болезни сердца: результаты генетического и гистологического анализа

А.В. Сеницкая, М.В. Хуторная, О.Н. Хрячкова, А.А. Ключева,
А.О. Поддубняк, М.А. Асанов, М.Ю. Сеницкий

ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, Россия

Резюме. Введение. Ревматическая болезнь сердца – приобретенный порок сердца, развивающийся вследствие аутоиммунной реакции на грамположительную бактерию *Streptococcus pyogenes* у генетически предрасположенного хозяина. Несмотря на то, что в последние годы среди приобретенных пороков сердца преобладает дегенеративное поражение клапанов с кальцинозом, около 33 миллионов человек имеют установленный диагноз «ревматическая болезнь сердца». Цель исследования – изучение особенностей локальной экспрессии цитокинов и маркеров иммунных клеток в створках нативных митральных клапанов сердца со стенозом на фоне ревматической болезни сердца.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использованы створки нативных митральных клапанов сердца со стенозом, развившимся на фоне ревматической болезни сердца (n=19), и аортальных клапанов с кальцинирующим аортальным стенозом (n=21). Иммуногистохимическое окрашивание проводили на маркеры CD45, CD68, CD3, CD19, миелопероксидазу (myeloperoxidase, МРО) нейтрофилов, а также маркер эндотелия сосудов CD31. Измерение экспрессии генов осуществляли методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. Нативные створки клапанов сердца характеризовались наличием воспалительных инфильтратов, которые были представлены CD68+ CD45+, CD3+ и CD31+ клетками, а также очагами интенсивной неоваскуляризации. В митральных клапанах наблюдалась более высокая инфильтрация МРО+ и CD19+ клетками. Анализ экспрессии генов продемонстрировал гиперэкспрессию *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *TNFA* и вместе с тем снижение уровня мРНК *IL33*, *CCL4*, *CXCL1* в нативных клапанах сердца у пациентов с митральным стенозом на фоне ревматической болезни сердца.

Заключение. Проведенное исследование показало, что створки нативных митральных клапанов сердца со стенозом характеризуются локальным воспалительным ответом, очагами неоваскуляризации, агрессивной инфильтрацией нейтрофилами и В-лимфоцитами в противоположность аортальным клапанам с кальцинирующим аортальным стенозом.

Ключевые слова: ревматическая болезнь сердца, митральный стеноз, аортальный стеноз, экспрессия генов, иммунные клетки, воспаление

Для корреспонденции: Анна Викторовна Сеницкая. E-mail: seroav1991@gmail.com

Для цитирования: Сеницкая А.В., Хуторная М.В., Хрячкова О.Н., Ключева А.А., Поддубняк А.О., Асанов М.А., Сеницкий М.Ю. Роль воспаления в развитии митрального стеноза на фоне ревматической болезни сердца: результаты генетического и гистологического анализа. Клини. эксп. морфология. 2025;14(4):40–48. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.40-48.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках фундаментальной научной темы Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (№ 0419-2022-0001).

Статья поступила 03.06.2025. Получена после рецензирования 16.06.2025. Принята в печать 27.06.2025.

Inflammation in mitral stenosis due to rheumatic heart disease: a genetic and histological study

A.V. Sinitskaya, M.V. Khutornaya, O.N. Hryachkova, A.A. Klyueva,
A.O. Poddubnyak, M.A. Asanov, M.Yu. Sinitsky

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

Abstract. Introduction. Rheumatic heart disease is an acquired heart condition resulting from an autoimmune reaction to gram-positive *Streptococcus pyogenes* in a genetically predisposed host. Although in recent years degenerative valve diseases (such as aortic valve calcification) have become more common among acquired

heart defects, rheumatic heart disease remains a significant heart issue diagnosed in about 33 million people worldwide. We aimed to analyze local expression of cytokines and immune cell markers in the native mitral heart valves affected by stenosis caused by rheumatic heart disease.

Materials and methods. We studied native mitral valves affected by stenosis caused by rheumatic heart disease (n=19) and native aortic valves affected by calcific aortic stenosis (n=21). Immunohistochemical staining to the following markers was performed: CD45, CD68, CD3, CD19, myeloperoxidase (MPO), and CD31. Gene expression was analyzed with real-time quantitative polymerase chain reaction.

Results. In native valve leaflets, we detected inflammatory infiltrates represented by CD68+, CD45+, CD3+, and CD31+ cells. Moreover, the studied valves were characterized by intense neovascularization. Furthermore, a high infiltration of MPO+ and CD19+ cells was observed in the mitral valves. Gene expression analysis demonstrated the upregulation of *IL1B*, *IL6*, *IL8*, and *TNFA* and the downregulation of *IL33*, *CCL4*, and *CXCL1* in the native valves of patients with mitral stenosis caused by rheumatic heart disease.

Conclusion. The native mitral valves affected by stenosis are characterized by a local inflammatory response, foci of neovascularization, and aggressive infiltration of neutrophils and B-lymphocytes compared to the aortic native valves affected by calcific aortic stenosis.

Keywords: rheumatic heart disease, mitral stenosis, aortic stenosis, gene expression, immune cells, inflammation

Corresponding author: Anna V. Sinitskaya. E-mail: cepoav1991@gmail.com

For citation: Sinitskaya A.V., Khutornaya M.V., Hryachkova O.N., Klyueva A.A., Poddubnyak A.O., Asanov M.A., Sinitsky M.Yu. Inflammation in mitral stenosis due to rheumatic heart disease: a genetic and histological study. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):40–48 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.40-48.

Funding. The study was carried out within the framework of to the fundamental project of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (No. 0419-2022-0001).

Received 03.06.2025. **Received in revised form** 16.06.2025. **Accepted** 27.06.2025.

Введение

Ревматическая болезнь сердца (РБС) – приобретенный порок сердца, развивающийся в результате аутоиммунной реакции на грамположительную бактерию *Streptococcus pyogenes* у генетически предрасположенного хозяина [1]. Несмотря на то, что в последние годы среди приобретенных пороков сердца преобладает дегенеративное поражение клапанов с кальцинозом, около 33 миллионов человек имеют установленный диагноз «ревматическая болезнь сердца». Следствием РБС чаще всего является поражение митрального клапана сердца, в 80% случаев представленное его стенозом [2, 3], поражение аортального и трикуспидального клапана также встречается в практике, но намного реже [4]. Хроническое асептическое воспаление, сопровождающее течение РБС, имеет большое значение в предрасположенности и прогрессировании данного патологического состояния [5]. Активация Т- и В-лимфоцитов антигенами β-гемолитического стрептококка инициирует выработку антител против эпитопа бактерии, которые взаимодействуют с эндотелиальными белками, что в свою очередь приводит к увеличению экспрессии молекул адгезии сосудистых клеток (VCAM-1) и молекул внутриклеточной адгезии (ICAM-1) [6]. Гиперэкспрессия VCAM-1 способствует инфильтрации эндотелия клапана сердца Т-клетками. Показано, что белки М, пептидогликаны и нуклеиновые кислоты, связанные с β-гемолитическим стрептококком группы А, способны стимулировать макрофаги экспрессировать такие провоспалительные цитокины как (IL)-1β и фактор некроза опухоли (TNF) [7], а сывороточные уровни

IL-6 и TNF-α напрямую коррелируют с тяжестью порока клапана сердца [8]. Наряду с этим у пациентов с РБС отмечено преобладание Т-хелперов (CD4+) над цитотоксическими Т-лимфоцитами (CD8+) [9]. Кроме сывороточных уровней цитокинов, коррелирующих с прогрессированием РБС, продемонстрированы ассоциации с полиморфными вариантами генов, кодирующих цитокины. Так, проведенные нами исследования выявили ассоциации аллельных вариантов генов *IL10* и *IL12RB1*, а также молекул врожденного иммунного ответа (*TLRs*) с повышенным риском развития РБС [10].

Неоваскуляризация может выступать неспецифическим воспалительным маркером в ряде патологических состояний, таких как инфекционный эндокардит, атеросклероз, сахарный диабет, некоторые виды онкологических заболеваний [11].

Важно отметить, что большинство исследований выполнено с использованием периферической крови пациентов с РБС и лишь небольшая часть из них посвящена изучению локальных воспалительных процессов непосредственно в тканях клапанного аппарата сердца. В связи с этим была сформулирована цель исследования, которая заключалась в изучении особенностей локальной экспрессии цитокинов и маркеров иммунных клеток в створках нативных митральных клапанов сердца со стенозом на фоне РБС.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили иссеченные во время кардиохирургического вмешательства створки нативных митральных и аортальных клапанов

сердца пациентов с РБС (n=21), а также кальцинирующим аортальным стенозом (КАС) (n=19). Диагноз установлен на основании комплексного клинического и инструментального обследования пациентов. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (протокол № 1 от 26.01.2016), добровольное информированное согласие подписывали все участники.

Полученный в ходе оперативного вмешательства биопсийный материал погружали в 0,9% раствор NaCl. Для выделения РНК фрагменты створок помещали в лизирующий реагент тризол (Invitrogen, США) с дальнейшей гомогенизацией образцов на приборе FastPrep-24 5G с лизирующим матриксом D (MP Biomedicals, США). Концентрацию и чистоту выделенной РНК определяли на флуориметре Qubit 4 (Invitrogen, США) с измерением индекса RIQ (RNA Integrity and Quality), используя набор реагентов Qubit RNA IQ Assay Kit (Invitrogen, США).

Уровень мРНК измеряли методом количественной полимеразной цепной реакции. Обратную транскрипцию осуществляли с помощью коммерческого набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo

Fisher Scientific, США). Количественную полимеразную цепную реакцию с геноспецифическими праймерами (табл. 1) проводили на приборе CFX96 Touch (Bio-Rad, США). Относительный уровень экспрессии генов был нормирован на гены «домашнего хозяйства» (*ACTB*, *GAPDH*, *B2M*).

Для проведения иммуногистохимического анализа использовали фрагменты створок нативных клапанов сердца, зафиксированных в среде для замораживания тканей Neg-50 (6502, Thermo Fisher Scientific, США). Срезы толщиной 6 мкм подготавливали на микротоме HM525 NX (Thermo Fisher Scientific, США), после чего последовательно располагали на предметных стеклах с адгезивным покрытием. Для подготовки срезов использовали центральную часть створки клапана сердца от основания до свободного края с поражением. В качестве первичных антител для проведения анализа были использованы следующие маркеры: панлейкоцитарный маркер CD45 (ab10558, Abcam, 1:4000, Великобритания), маркер макрофагов CD68 (ab227458, Abcam, 1:1000, Великобритания), маркер Т-лимфоцитов CD3 (ab16669, Abcam, 1:1500, Великобритания), маркер В-лимфоцитов CD19 (MA5-32544, Invitrogen, 1:1500, США), миелопе-

Таблица 1 | Table 1

Панель праймеров, используемых в исследовании для проведения количественной полимеразной цепной реакции |
Primer panel used to perform quantitative polymerase chain reaction

Ген Gene	Прямой праймер (5'-3') Forward primer (5'-3')	Обратный праймер (5'-3') Reverse primer (5'-3')
<i>VCAM</i>	CGTCTTGGTCAGCCCTTCCT'	ACATTCATATACTCCCGCATCCTTC
<i>ICAM</i>	TTGGGCATAGAGACCCCGTT	GCACATTGCTCAGTTCATACACC
<i>PECAM</i>	AAGGAACAGGAGGGAGAGTATTA	GTATTTTGCTTCTGGGGACACT
<i>IL1B</i>	TGGCTTATTACAGTGGCAATG	GTGGTGGTCGGAGATTCTG
<i>IL6</i>	GGCACTGGCAGAAAACAACC	GCAAGTCTCCTCATTGAATCC
<i>CXCL8</i>	CAGAGACAGCAGAGCACA	AGTTCTTTAGCACTCCTTGGC
<i>IL12A</i>	GCCTTCACCACTCCCAAAAC	TGTCTGGCCTTCTGGAGCAT
<i>IL18</i>	TCGGGAAGAGGAAAGGAACCTC	CTACTGGTTTCAGCAGCCATCT
<i>IL33</i>	Hs00369209_g1	
<i>IL1R1</i>	GGCTGAAAAGCATAGAGGGAAC	CTGGGCTCACAATCACAGG
<i>TNF</i>	ATGAGCACTGAAAGCATGATCC	GAGGCTGATTAGAGAGAGGTC-
<i>CCL2</i>	TTCTGTGCCCTGCTGCTCATAG	AGGTGACTGGGGCATTGATTG
<i>CCL4</i>	ACCGCCTGCTGCTTTTCTTAC	GGATTCACTGGGATCAGCACA
<i>MIF1</i>	GGTGTCCGAGAAGTCAGGCA	GGGGCACGTTGGTGTTTACG
<i>CXCL1</i>	GCTTGCCTCAATCCTGCATCC	ACAATCCAGGTGGCCTCTGC
<i>ACTB</i>	CATCGAGCACGGCATCGTCA	TAGCACAGCCTGGACAGCAAC
<i>GAPDH</i>	AGCCACATCGCTCAGACAC	GCCCAATACGACCAAATCC
<i>B2M</i>	TCCATCCGACATTGAAGTTG	CGGCAGGCATACTCATCTT

роксидаза нейтрофилов (ab208670, Abscam, 1:4000, Великобритания), маркер эндотелия сосудов CD31 (ab9498, Abscam, 1:500, Великобритания) применялся для оценки интенсивности неоваскуляризации. Для визуализации использовали коммерческий набор Novolink Polymer Detection Systems (Leica Biosystems, Германия) с докрашиванием гематоксилином. Исследуемые антитела разводили в 1% солевом растворе бычьего сывороточного альбумина. Окрашенные срезы заключали под покровное стекло с использованием монтирующей среды «Витрогель» (НМ-VI-A250, «БиоВитрум», Россия). Сканирование осуществляли на автоматизированном лабораторном биологическом микроскопе MT5300L (Meiji Techno, США). Обработку гистологических слайдов и подготовку изображений проводили в программе QuPath v.0.4.1.

Статистический анализ полученных результатов выполняли в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad

Software, США). Нормальность распределения оценивали критерием Колмогорова–Смирнова. Сравнение между двумя независимыми группами осуществляли с помощью U-критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Среди пациентов, включенных в исследование, в обеих группах наблюдалось преобладание женщин с медианой возраста 66 лет (60; 73) для пациентов с митральным стенозом и 68 лет (60; 71) для пациентов с КАС. Следует отметить, что обе группы не различались по основным клиническим характеристикам, однако среди пациентов с митральным стенозом наблюдался более высокий процент встречаемости фибрилляции предсердий (60%) по сравнению с пациентами с КАС (25%), но он не достигал статистической значимости (табл. 2).

Таблица 2 | Table 2

Клиническая характеристика пациентов | Clinical characteristics of patients

Показатель Index		Пациенты с митральным стенозом (n=20) Patients with mitral stenosis	Пациенты с кальцинирующим аортальным стенозом (n=19) Patients with calcific aortic stenosis	p-value
Средний возраст, Ме (Q1; Q3) Average age, Ме (Q1; Q3)		64,50 (59,00; 71,75)	67 (60,50; 70,50)	0,363
Пол Sex	мужской, n (%) male, n (%)	4 (20)	8 (40)	0,300
	женский, n (%) female, n (%)	16 (80)	12 (60)	
Индекс массы тела, Ме (Q1; Q3) BMI, Ме (Q1; Q3)		28,00 (25,78; 33,10)	26,50 (24, 55; 29, 33)	0,308
Ожирение, n (%) Obesity, N (%)		6 (30)	3 (15)	0,225
Фракция выброса, Ме (Q1; Q3) Ejection fraction, М (Q1; Q3)		66,00 (60,50; 69,00)	64,00 (60; 67,75)	0,608
Пораженный клапан Affected valve		Митральный клапан Mitral valve	Аортальный клапан Aortic valve	–
Легочная гипертензия, n (%) Pulmonary hypertension, n (%)		7 (35)	6 (30)	0,499
Гипертоническая болезнь, n (%) Arterial hypertension, n (%)		14 (70)	17 (85)	0,225
Коронарный атеросклероз, n (%) Coronary artery disease, n (%)		5 (25)	8 (40)	0,250
Хроническая сердечная недостаточность, n (%) Chronic heart failure, n (%)		20 (10)	19 (95)	0,499
Функциональный класс хронической сердечной недостаточности NYHA Class	II	7 (35)	11 (55)	0,170
	III	13 (65)	9 (45)	
Фибрилляция предсердий, n (%) Atrial fibrillation, n (%)		12 (60)	5 (25)	0,055
Острое нарушение мозгового кровообращения, n (%) Acute ischemic stroke, n (%)		5 (25)	0	–
Сахарный диабет 2-го типа, n (%) Type 2 diabetes, n (%)		6 (30)	4 (20)	0,358

Иммунофенотипирование продемонстрировало наличие воспалительных инфильтратов во всех изучаемых нативных створках митральных, а также аортальных клапанов, которые были представлены макрофагами (CD68+), клетками лейкоцитарного ряда (CD45+) и единичными Т-клетками (CD3+). Кроме того, кальцинированные аортальные клапаны характеризовались отсутствием нейтрофилов и В-лимфоцитов, в то время как в митральных клапанах наблюдалась более высокая инфильтрация МРО+ и CD19+ клетками. Следует отметить, что во всех створках в фиброзном слое отмечено наличие CD31+ клеток, а вместе с тем очагов интенсивной неоваскуляризации (рис.).

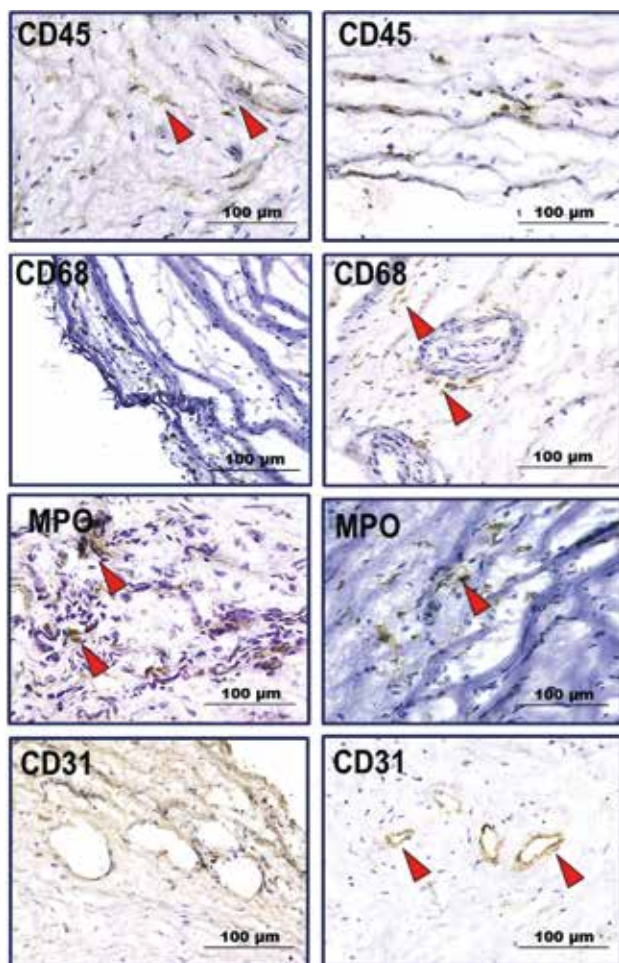
Анализ экспрессии генов, кодирующих основные провоспалительные и противовоспалительные цитокины, а также некоторые хемокины, продемонстрировал

гиперэкспрессию генов *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *TNFa*, а также снижение уровня мРНК *IL33*, *CCL4*, *CXCL1* в нативных клапанах сердца у пациентов с митральным стенозом на фоне РБС по сравнению с аортальными клапанами, пораженными КАС (табл. 3). Показано увеличение экспрессии гена *PECAM1* в 8 раз и снижение экспрессии *VCAM1* в митральных клапанах сердца по сравнению с аортальными.

Обсуждение

Ревматическая болезнь сердца – патологическое состояние, ассоциированное с поражением его клапанных структур и развивающееся вследствие аномальной аутоиммунной реакции на β -гемолитический стрептококк группы А (*Streptococcus pyogenes*) [12]. На поверхности β -гемолитического стрептококка группы А

Фрагменты створок клапанов сердца
с ревматической болезнью сердца |
Fragments of heart valve leaflets
with rheumatic heart diseases



Фрагменты створок клапанов сердца
с кальцинирующим аортальным стенозом |
Fragments of heart valve leaflets with calcific
aortic stenosis

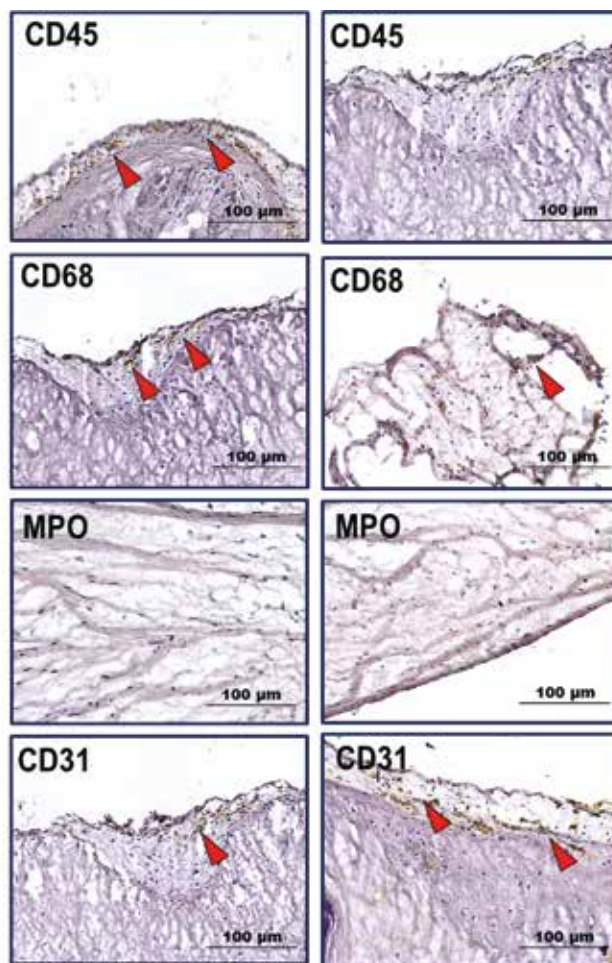


Рис. Результаты иммунофенотипирования клеток в исследуемых створках нативных клапанов сердца с ревматической болезнью сердца и кальцинирующим аортальным стенозом на маркеры CD45, CD68, MPO, CD31. Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 100$. Положительное окрашивание на исследуемые маркеры обозначено стрелками

Fig. Immunophenotyping of cells in the native valves affected by rheumatic heart disease and calcific aortic stenosis for markers CD45, CD68, MPO, and CD31. IHC, $\times 100$. The arrows indicate positive staining for the markers

Таблица 3 | Table 3

Уровень мРНК в нативных створках клапанов сердца | mRNA levels in native heart valve

Ген Gene	Пациенты с кальцинирующим аортальным стенозом Patients with calcific aortic stenosis	Пациенты с митральным стенозом Patients with mitral stenosis	p-value	Кратность изменения Fold change
<i>VCAM1</i>	0,09030	0,003335	0,0252	0,03
<i>ICAM1</i>	0,8659	0,06472	0,0758	0,74
<i>PECAM1</i>	0,1236	0,9945	0,0345	8,04
<i>IL1B</i>	0,001070	0,004046	0,0074	3,78
<i>IL6</i>	0,01722	0,05126	0,0069	2,97
<i>IL8</i>	0,04596	0,1473	0,030	3,20
<i>IL12A</i>	0,02078	0,001650	0,5973	0,07
<i>IL18</i>	0,1361	0,1985	0,8095	1,45
<i>IL33</i>	2,814	0,02761	0,0170	0,009
<i>IL1R1</i>	0,1393	0,1273	0,444	0,93
<i>TNF</i>	0,001695	0,01435	0,0385	8,46
<i>CCL2</i>	0,8225	1,358	0,99	1,65
<i>CCL4</i>	1,121	0,009455	0,0003	0,08
<i>MIF1</i>	0,8696	0,4964	0,069	0,57
<i>CXCL1</i>	0,4125	0,006564	0,0010	0,015

присутствуют три типа белковых антигенов: белки М, Т и R. Белок М имеет наибольшее структурное сходство с некоторыми белками хозяина, например сердечным миозином, ламинином, виментином и тропомиозином [13]. Патолофизиологические механизмы осложнений, которые развиваются после инфицирования гемолитическим стрептококком, остаются не до конца изученными, но стоит отметить, что одной из причин, запускающих аутоиммунную реакцию, может служить антигенная мимикрия между антигенами стрептококка и белками хозяина [14]. Аутореактивные антитела ответственны за активацию белков комплемента, развитие воспаления и последующее повреждение клапанов у генетически предрасположенных людей [9]. Продemonстрировано, что в очагах воспаления и активной неоваскуляризации с повышенной экспрессией фактора роста эндотелия сосудов происходит процесс минерализации клапана [15]. Иммуногистохимическое окрашивание, проведенное в нашем исследовании, показало очаги интенсивной неоваскуляризации (присутствие CD31+) в нативных митральных створках клапанов сердца со стенозом.

Кроме того, также отмечена гиперэкспрессия гена *PECAM1*, кодирующего белок CD31, что может указывать на локальный воспалительный ответ, так как неоваскуляризация рассматривается как вероятный неспецифический маркер воспаления. Данные литературы свидетельствуют о том, что воспаление, а также гемодинамическое повреждение створок вносят свой вклад в прогрессирование РБС [16].

Важным звеном при инфицировании β -гемолитическим стрептококком группы А является запуск врожденного иммунного ответа (с участием дендритных клеток, нейтрофилов, а также макрофагов) [12]. Нейтрофилы способны разрушать бактерии посредством нейтрофильных ловушек, а также путем фагоцитоза и дегрануляции антимикробного пептида [17]. В проведенном нами исследовании отмечена более сильная инфильтрация МРО+ клетками, являющимися маркером нейтрофилов, створок митрального клапана, в то время как в аортальном клапане данные клетки отсутствовали. Наряду с этим еще одной отличительной чертой стенозированных митральных клапанов стало присутствие В-лимфоцитов (CD19+),

при том, что в аортальных клапанах, пораженных КАС и инфекционным эндокардитом, они не детектировались [18]. По результатам оценки экспрессии генов в нативных клапанах сердца нами продемонстрировано увеличение уровня мРНК *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *TNFA*, кодирующих основные противовоспалительные цитокины, что свидетельствует о развитии локального воспаления. Согласно исследованиям, воспалительные инфильтраты в митральном клапане сердца при РБС у пациентов с терминальной стадией заболевания в основном представлены мононуклеарными клетками (Т-лимфоцитами (CD4, CD8), макрофагами и В-клетками) [9].

Эффекторная функция данных клеток и как следствие их вклад в патогенез РБС ассоциированы с профилем секретируемых цитокинов и других медиаторов, которые способствуют дифференцировке интерстициальных клеток в коллагенпродуцирующие миофибробласты [19]. Продemonстрировано, что лимфоциты вносят свой вклад в патогенез РБС посредством выработки антител на начальных этапах заболевания, однако некоторые исследователи предполагают, что они могут выполнять роль эффекторных клеток, которые участвуют в развитии хронического поражения [20]. Показана роль IL-1 в аутоиммунных заболеваниях, особенно при острой ревматической лихорадке [21]. В одном из популяционных исследований представлена ассоциация аллельных вариантов генов *IL-1Ra* и *IL-6* с предрасположенностью к развитию РБС [22]. Инфильтрация тканей клапанов сердца макрофагами также имеет большое патогенетическое значение и принимает участие в развитии стеноза как митральных, так и аортальных клапанов сердца. Известно, что провоспалительные макрофаги (M1) способны проявлять свой эффекторный потенциал, активируя инфламасому NLRP3 [23, 24], результатом чего является увеличение экспрессии IL-1 β и IL-18, важных молекул, вовлеченных в патогенез ревматических заболеваний [25]. В нашем исследовании продемонстрировано увеличение экспрессии *IL-1 β* в 3 раза, а для *IL-18* уровень мРНК не изменялся в створках митральных клапанов, полученных от пациентов с РБС, по сравнению с аортальными клапанами. Показано, что IL-1 β способствует высвобождению матриксных металлопротеиназ, рекрутингу и пролиферации резидентных фибробластов, а также секреции TGF- β и IL-6, вследствие чего может развиваться фиброз тканей [26].

Заключение

Проведенное исследование показало, что створки нативных митральных клапанов сердца со стенозом характеризуются локальным воспалительным ответом, очагами неоваскуляризации, а также агрессивной инфильтрацией нейтрофилами и В-лимфоцитами в противоположность аортальным клапанам с кальцинирующим аортальным стенозом.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.В. Синицкая, М.В. Хуторная, М.Ю. Синицкий.
Сбор и обработка материала – О.Н. Хрячкова, А.О. Поддубняк, М.В. Хуторная, М.А. Асанов, А.А. Ключева.
Написание текста – А.В. Синицкая, М.В. Хуторная.
Редактирование – М.Ю. Синицкий.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.V. Sinitskaya, M.V. Khutornaya, M.Yu. Sinitsky.
Collected the data and performed the analysis – O.N. Hryachkova, A.O. Poddubnyak, M.V. Khutornaya, M.A. Asanov, A.A. Klyueva.
Wrote the paper – A.V. Sinitskaya, M.V. Khutornaya.
Edited the manuscript – A.V. Sinitskaya.

Литература/References

1. Fishbein GA, Fishbein MC. Mitral valve pathology. *Curr Cardiol Rep.* 2019;21(7):61. DOI: 10.1007/s11886-019-1145-5.
2. Дрень Е.В., Ляпина И.Н., Печерина Т.Б., Барбараш О.Л. Фенотип современного пациента с приобретенными пороками клапанов сердца: обзор литературы. *CardioСоматика.* 2023;14(4):269–282. DOI: 10.17816/CS601825.
Dren EV, Lyapina IN, Pecherina TB, Barbarash OL. Phenotype of a modern patient with valvular heart disease: literature review. *CardioSomatics.* 2023;14(4):269–282 (In Russ.). DOI: 10.17816/CS601825.
3. Harb SC, Griffin BP. Mitral valve disease: a comprehensive review. *Curr Cardiol Rep.* 2017;19(8):73. DOI: 10.1007/s11886-017-0883-5.
4. Lambova S. Cardiac manifestations in systemic sclerosis. *World J Cardiol.* 2014;6(9):993–1005. DOI: 10.4330/wjc.v6.i9.993.
5. Coffey S, Roberts-Thomson R, Brown A, Carapetis J, Chen M, Enriquez-Sarano M et al. Global epidemiology of valvular heart disease. *Nat Rev Cardiol.* 2021;18(12):853–64. DOI: 10.1038/s41569-021-00570-z.
6. Lumngwena EN, Skatulla S, Blackburn JM, Ntusi NAB. Mechanistic implications of altered protein expression in rheumatic heart disease. *Heart Fail Rev.* 2022;27(1):357–68. DOI: 10.1007/s10741-020-09993-1.
7. Valderrama JA, Riestra AM, Gao NJ, LaRock CN, Gupta N, Ali SR et al. Group A streptococcal M protein activates the NLRP3 inflammasome. *Nat Microbiol.* 2017;2(10):1425–34. DOI: 10.1038/s41564-017-0005-6.
8. Diamantino Soares AC, Araújo Passos LS, Sable C, Beaton A, Ribeiro VT, Gollob KJ et al. Circulating cytokines predict severity of rheumatic heart disease. *Int J Cardiol.* 2019;289:107–9. DOI: 10.1016/j.ijcard.2019.04.063.
9. Franczyk B, Gluba-Brzóška A, Rysz-Górzynska M, Rysz J. The role of inflammation and oxidative stress in rheumatic heart disease. *Int J Mol Sci.* 2022;23(24):15812. DOI: 10.3390/ijms232415812.
10. Sinitskaya AV, Khutornaya MV, Hryachkova ON, Asanov MA, Poddubnyak AO, Ponasenkov AV et al. Inflammatory response genes' polymorphism associated with risk of rheumatic heart disease. *J Pers Med.* 2024;14(7):753. DOI: 10.3390/jpm14070753.
11. Wallby L, Steffensen T, Jonasson L, Broqvist M. Inflammatory characteristics of stenotic aortic valves: a comparison between

- rheumatic and nonrheumatic aortic stenosis. *Cardiol Res Pract.* 2013;2013:895215. DOI: 10.1155/2013/895215.
12. *Ambari AM, Setianto B, Santoso A, Radi B, Dwiputra B, Susilowati E et al.* Angiotensin converting enzyme Inhibitors (ACEIs) decrease the progression of cardiac fibrosis in rheumatic heart disease through the inhibition of IL-33/sST2. *Front Cardiovasc Med.* 2020;7:115. DOI: 10.3389/fcvm.2020.00115.
 13. *Toor D, Sharma N.* T cell subsets: an integral component in pathogenesis of rheumatic heart disease. *Immunol Res.* 2018;66(1):18–30. DOI: 10.1007/s12026-017-8978-z.
 14. *Rafeek RAM, Sikder S, Hamlin AS, Andronicos NM, McMillan DJ, Sriprakash KS et al.* Requirements for a robust animal model to investigate the disease mechanism of autoimmune complications associated with ARF/RHD. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:675339. DOI: 10.3389/fcvm.2021.675339.
 15. *Rajamannan NM, Nealis TB, Subramaniam M, Pandya S, Stock SR, Ignatiev CI et al.* Calcified rheumatic valve neoangiogenesis is associated with vascular endothelial growth factor expression and osteoblast-like bone formation. *Circulation.* 2005;111(24):3296–301. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.473165.
 16. *Kanagasingam A, Francis GR, Komagarajah B, Ladchumanan D, Sivapramyan A, Packiyarajah P et al.* Pattern of rheumatic valvular involvement and its contribution towards valvular malfunction in young adults. *Ceylon Med J.* 2019;64(3):91–7. DOI: 10.4038/cmj.v64i3.8951.
 17. *Döhrmann S, Cole JN, Nizet V.* Conquering neutrophils. *PLoS Pathog.* 2016;12(7):e1005682. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005682.
 18. *Синицкая А.В., Костюнин А.Е., Асанов М.А., Хуторная М.В., Поддубняк А.О., Понасенко А.В.* Гистопатологические параллели в нативных створках аортальных клапанов и биопроте-зах митральных клапанов при инфекционном эндокардите и приобретенных пороках развития. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2024;39(2):166–174. DOI: 10.29001/2073-8552-2024-39-2-166-174.
 - Siniitskaya AV, Kostunin AE, Asanov MA, Khutornaya MV, Poddubnyak AO, Ponasenko AV.* Histopathological parallels in infective endocarditis and degenerative defects of native heart valves and their bioprostheses. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2024;39(2):166–174 (In Russ.). DOI: 10.29001/2073-8552-2024-39-2-166-174.
 19. *Passos LSA, Nunes MCP, Aikawa E.* Rheumatic heart valve disease pathophysiology and underlying mechanisms. *Front Cardiovasc Med.* 2021;7:612716. DOI: 10.3389/fcvm.2020.612716.
 20. *Guilherme L, Cury P, Demarchi LM, Coelho V, Abel L, Lopez AP et al.* Rheumatic heart disease: proinflammatory cytokines play a role in the progression and maintenance of valvular lesions. *Am J Pathol.* 2004;165(5):1583–91. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63415-3.
 21. *Dinareello CA.* Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011;117(14):3720–32. DOI: 10.1182/blood-2010-07-273417.
 22. *Azevedo PM, Merriman TR, Topless RK, Wilson NJ, Crengle S, Lennon DR.* Association study involving polymorphisms in IL-6, IL-1RA, and CTLA4 genes and rheumatic heart disease in New Zealand population of Māori and Pacific ancestry. *Cytokine.* 2016;85:201–6. DOI: 10.1016/j.cyto.2016.06.029.
 23. *He Y, Hara H, Núñez G.* Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. *Trends Biochem Sci.* 2016;41(12):1012–21. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.09.002.
 24. *Котова Е.О., Моисеева А.Ю., Кобалава Ж.Д., Лохонина А.В., Писарюк А.С., Гусарова Т.А. и др.* Провоспалительные цито-кины ИЛ-6, ИЛ-1β, ФНО-α при инфекционном эндокардите. *Терапевтический архив.* 2024;96(4):342–348. DOI: 10.26442/00403660.2024.04.202711.
 - Kotova EO, Moiseeva AY, Kobalava ZhD, Lokhonina AV, Pi-saryuk AS, Gusarova TA et al.* Proinflammatory cytokines IL-6, IL-1β, TNF-α in infective endocarditis. *Therapeutic archive.* 2024;96(4):342–348 (In Russ.). DOI: 10.26442/00403660.2024.04.202711.
 25. *Yi YS.* Role of inflammasomes in inflammatory autoimmune rheumatic diseases. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2018;22(1):1–15. DOI: 10.4196/kjpp.2018.22.1.1.
 26. *Gasse P, Riteau N, Vacher R, Michel ML, Fautrel A, di Padova F et al.* IL-1 and IL-23 mediate early IL-17A production in pulmonary inflammation leading to late fibrosis. *PLoS One.* 2011;6(8):e23185. DOI: 10.1371/journal.pone.0023185.

Информация об авторах

Анна Викторовна Синицкая – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Мария Владимировна Хуторная – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Оксана Николаевна Хрячкова – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Анастасия Александровна Ключева – младший научный сотрудник, лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Алена Олеговна Поддубняк – лаборант-исследователь лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Максим Айдарович Асанов – младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Максим Юрьевич Синицкий – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной медицины НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Author information

Anna V. Sinitskaya – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
<https://orcid.org/0000-0002-4467-8732>

Maria V. Khutornaya – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
<https://orcid.org/0000-0002-9714-4080>

Oksana N. Hryachkova – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
<https://orcid.org/0000-0002-6620-5960>

Anastasia A. Klyueva – Junior Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
<https://orcid.org/0009-0008-8957-5041>

Alena O. Poddubnyak – Laboratory Assistant, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
<https://orcid.org/0000-0001-7388-356X>

Maxim A. Asanov – Junior Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
<https://orcid.org/0000-0002-0747-2495>

Maxim Yu. Sinitsky – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Genome Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
<https://orcid.org/0000-0002-4824-2418>

Показатели транспорта глюкозы и пролиферативной активности в различных клеточных компонентах мукоэпидермоидной карциномы слюнной железы

Д.Р. Фамилья Фриас¹, З.Ю. Висаитова², Ю.О. Тигай¹, А.А. Ивина¹, И.И. Бабиченко^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

² ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Введение. Мукоэпидермоидная карцинома – это злокачественная опухоль слюнных желез железисто-эпителиального происхождения. Основными компонентами мукоэпидермоидной карциномы являются эпидермоидные, промежуточные и слизистые клетки. Участие этих компонентов при развитии опухоли на сегодняшний день не изучено. Цель исследования – изучить пролиферацию клеток и метаболизм глюкозы в эпидермоидных, промежуточных и слизистых клетках мукоэпидермоидной карциномы.

Материалы и методы. В работе проанализированы образцы, полученные от 31 пациента с диагнозом «мукоэпидермоидная карцинома». Пролиферацию клеток изучали иммуногистохимическим методом при помощи антител к белку Ki67, а метаболизм глюкозы исследовали по иммуноположительной реакции на белок GLUT-1. Изучение Ki67+ клеток рассматривали непосредственно в ядрах, а подсчет GLUT-1+ клеток оценивался по реакции в цитоплазме и на клеточной мембране.

Результаты. При сравнении клеточных компонентов выявлено, что эпидермоидные и промежуточные клетки демонстрируют наибольшую пролиферативную активность и иммуноположительную реакцию к GLUT-1, что указывает на их ключевую роль в росте и метаболизме.

Закключение. Эпидермоидные и промежуточные клетки являются основными факторами роста мукоэпидермоидной карциномы, тогда как слизистые клетки демонстрируют низкую пролиферативную активность и слабый метаболизм глюкозы.

Ключевые слова: мукоэпидермоидная карцинома, GLUT-1, пролиферативная активность

Для корреспонденции: Диана Росина Фамилья Фриас. E-mail: drff26@gmail.com

Для цитирования: Фамилья Фриас Д.Р., Висаитова З.Ю., Тигай Ю.О., Ивина А.А., Бабиченко И.И. Показатели транспорта глюкозы и пролиферативной активности в различных клеточных компонентах мукоэпидермоидной карциномы слюнной железы. Клини. эксп. морфология. 2025;14(4):49–54. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.49-54.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 26.11.2024. Получена после рецензирования 26.12.2024. Принята в печать 17.02.2025.

Indicators of glucose transport and proliferative activity across cellular components in salivary gland mucoepidermoid carcinoma

D.R. Familia Frias¹, Z.Yu. Visaitova², Yu.O. Tigay¹, A.A. Ivina¹, I.I. Babichenko^{1,2}

¹ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

² National Medical Research Center "Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery", Moscow, Russia

Abstract. Introduction. Mucoepidermoid carcinoma is a malignant tumor of the salivary glands that originates from glandular epithelial cells. Its main components are epidermoid, intermediate, and mucous cells, whose role in tumor development remains poorly understood. The aim of this study was to investigate cell proliferation and glucose metabolism in epidermoid, intermediate, and mucous cells of mucoepidermoid carcinoma.

Materials and methods. We analyzed samples from 31 patients diagnosed with mucoepidermoid carcinoma. Cell proliferation was assessed using the Ki-67 protein via immunohistochemistry, while glucose metabolism was studied with the immunopositive reaction of the GLUT-1 protein. Immunopositive cells for the Ki-67 protein were evaluated in the nuclei, whereas GLUT-1-positive cells were assessed based on cytoplasmic and membrane staining.

Results. The comparison of the cellular components revealed that epidermoid and intermediate cells exhibited the highest proliferative activity and a strong immunopositive reaction to GLUT-1, indicating their key role in tumor growth and metabolic activity.

Conclusion. Epidermoid and intermediate cells are the primary drivers of growth in mucoepidermoid carcinoma, whereas mucous cells show low proliferative activity and weak glucose metabolism.

Keywords: mucoepidermoid carcinoma, GLUT-1, proliferative activity

Corresponding author: Diana R. Familia Frias. E-mail: drff26@gmail.com

For citation: Familia Frias D.R., Visaitova Z.Yu., Tigay Yu.O., Ivina A.A., Babichenko I.I. Indicators of glucose transport and proliferative activity across cellular components in salivary gland mucoepidermoid carcinoma. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):49–54 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.49-54.

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

Received 26.11.2024. **Received in revised form** 26.12.2024. **Accepted** 17.02.2025.

Введение

Мукоэпидермоидная карцинома (МЭК) составляет около 25–26% от всех злокачественных новообразований слюнных желез [1, 2]. В 2017 году Всемирная организация здравоохранения на основании клинико-гистологических признаков классифицировала МЭК как железисто-эпителиальную злокачественную опухоль [3, 4].

Основные клеточные компоненты МЭК включают мукоциты, промежуточные и эпидермоидные клетки, а также реже встречающиеся столбчатые, онкоциты и светлые клетки, что может затруднять диагностику для патологов [5, 6]. Эти клеточные элементы формируют разные гистологические структуры, от кистозной, наиболее часто встречающейся и хорошо дифференцированной, до солидной, характеризующейся некрозами, выраженной клеточной атипией, инвазивным ростом и метастазированием [7].

Несмотря на то, что диагноз «мукоэпидермоидная карцинома» в основном ставят на основании рутинного гистологического исследования для определения степени злокачественности опухолей слюнных желез, при более детальном анализе отдельных клеточных компонентов и изучении процессов метаболизма клетки важно использовать дополнительные методы исследования. Иммуногистохимические (ИГХ) и молекулярно-генетические методы позволяют оценить клеточную пролиферацию и метаболизм глюкозы при использовании антител к белкам Ki67 и GLUT-1 [8]. Для определения степени дифференцированности МЭК используют разные классификационные системы, среди которых наиболее распространены системы Эллиса (AFIP) и Брандвейна. Они основаны на гистологических характеристиках и позволяют разделить опухоли по степени злокачественности: G1 – низкая, G2 – средняя и G3 – высокая, что отражено в классификации ВОЗ опухолей головы и шеи 2017 года [4, 5, 9].

Злокачественные новообразования характеризуются инвазивным и быстрым ростом за счет высокой пролиферативной активности. Основным источником энергии для этого процесса является глюкоза, удовлетворяющая биоэнергетические и биосинтетические потребности раковых клеток [10–13]. Транспорт глюкозы

в клетки осуществляется с помощью белков-транспортёров, таких как GLUT [10, 12]. Эти белки, ответственные за перемещение глюкозы из внеклеточной среды в клетку, локализуются на клеточной мембране и в цитоплазме. На сегодняшний день к самым значимым из изученных транспортеров глюкозы (GLUT-1–GLUT-12) относят GLUT-1 [14].

Пролиферация, дифференцировка и скорость митоза раковых клеток напрямую зависят от повышенного потребления глюкозы и эффективности ее транспортировки [14]. Активный транспорт глюкозы может быть обнаружен не только в злокачественных клетках, но и в здоровых, например эритроцитах, эндотелиальных клетках, клетках гематоэнцефалического барьера, а также в предраковых и доброкачественных опухолях эпителия [15].

Цель исследования – изучить пролиферацию и метаболизм глюкозы в эпидермоидных, промежуточных и слизистых клетках МЭК.

Материалы и методы

В исследование был отобран операционный и архивный биопсийный материал из лаборатории патологической анатомии Национального медицинского исследовательского центра «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии». В исследование включены образцы от 31 пациента с диагнозом «мукоэпидермоидная карцинома», собранные в период с 2014 по 2024 год. Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации и одобрено этическим комитетом Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы (протокол № 1 от 14.01.2025).

Были проанализированы клинические данные, включая пол и возраст. Взаимосвязь пола и возраста с развитием МЭК не обнаружена.

Стандартный протокол гистологического и ИГХ исследования проводили в автоматическом режиме методом Quanto с системой UltraVision Quanto Detection System HRP DAB (Thermo Fisher Scientific, США) для ИГХ исследований. Для оценки клеточной пролиферации применяли моноклональные кроличьи антитела –

клон SP6 к белку Ki67 в разведении 1:100 и поликлональные кроличьи антитела к GLUT-1 в разведении 1:200 (Thermo Fisher Scientific, США).

В результате рутинного гистологического исследования в группу G1 (опухоли низкой степени злокачественности) были отобраны 10 случаев, в группу G2 (опухоли средней степени злокачественности) – восемь случаев и в группу G3 (опухоли высокой степени злокачественности) – 13 случаев.

Пролиферацию клеточных компонентов МЭК оценивали как отношение Ki67+ ядер к общему числу ядер. Уровень метаболизма глюкозы устанавливали при помощи оценки интенсивности окрашивания GLUT-1 в цитоплазме и цитоплазматической мембране. Иммуноположительные клетки различали по интенсивности реакции: 0 – отсутствие окрашивания,

1+ – слабое окрашивание, 2+ – умеренное окрашивание и 3+ – интенсивное окрашивание. Исследование выполняли с помощью микроскопа AxioPlan 2 Imaging (Karl Zeiss, Германия), а фотофиксацию при помощи камеры AxioCam ERc5s (Karl Zeiss, Германия), $\times 400$.

Статистическое исследование проводилось на платформе Windows 10 (IBM Corporation, США) с применением программы SPSS Statistics версии 23. Сравнение между группами проводили при помощи критерия Манна–Уитни.

Результаты

При гистологическом окрашивании МЭК гематоксилином и эозином были выявлены основные клеточные компоненты: мукоциты, промежуточные и эпидермоидные клетки (рис. 1 А).

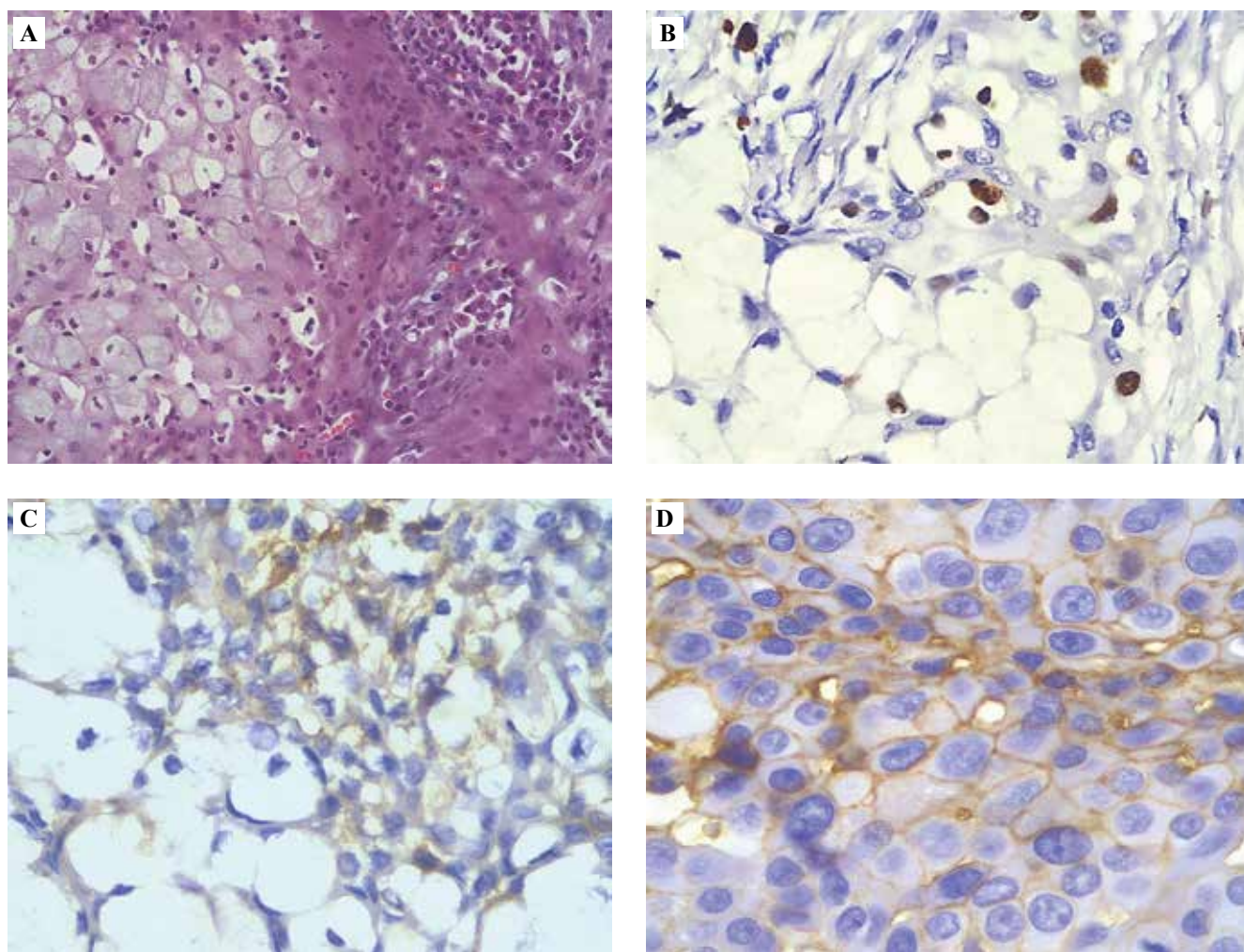


Рис 1. Мукоэпидермоидная карцинома

А – окрашивание гематоксилином и эозином, В – иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki67, С – окрашивание цитоплазмы GLUT-1 в эпидермоидных и промежуточных клетках и отсутствие реакции в мукоцитах, D – интенсивное окрашивание цитоплазматической мембраны GLUT-1 в эпидермоидных клетках, $\times 400$

Fig. 1. Mucocystic carcinoma

А – H&E staining, В – IHC staining with anti-Ki-67 antibodies, С – cytoplasmic GLUT-1 staining in epidermoid and intermediate cells, with no reaction in mucous cells, D – intense staining of the cytoplasmic membrane for GLUT-1 in epidermoid cells, $\times 400$

Сравнительный анализ пролиферативной активности Ki67 в исследуемых клеточных компонентах с помощью критерия Манна–Уитни | Comparative analysis of Ki-67 proliferative activity cellular components by the Mann–Whitney U test

Клеточные компоненты Cellular components	Пролиферативная активность Me (Q1; Q3) Proliferative activity, Me (Q1; Q3)	Парные сравнения Paired comparisons (p)		
		М–ЭК М–ЕС	М–ПК М–ИС	ЭК–ПК ЕС–ИС
ЭК ЕС	4,00 (2,00; 8,00)	<0,001	<0,001	0,043
ПК ИС	2,00 (1,2; 3,2)			
М М	0 (0; 0,4)			

ЭК | ЕС – эпидермоидные клетки | epidermoid cells, ПК | ИС – промежуточные клетки | intermediate cells,
М | М – мукоциты | mucin-producing cells

ИГХ исследование показало, что Ki67+ клетки выявлены в ядрах всех типов клеток МЭК (рис. 1 В). Между клеточными компонентами обнаружены статистически значимые различия в уровне пролиферации ($p < 0,001$). Установлено, что эпидермоидные клетки ($Me = 4,00$ [2,00; 8,00]) имеют значительно более высокую пролиферативную активность, чем мукоциты ($Me = 0$ [0; 0,4]) при уровне значимости $p < 0,001$, а также чем промежуточные клетки ($Me = 2,00$ [1,2; 3,2]) при $p = 0,043$. Мукоциты тоже отличались от промежуточных клеток по уровню пролиферации ($p < 0,001$) (табл.).

GLUT-1+ клетки были выявлены во всех трех компонентах МЭК, но в разной локализации. При этом самое слабое окрашивание цитоплазмы выявлено в мукоцитах, в промежуточных клетках отмечалось слабое окрашивание цитоплазмы и клеточных мембран (рис. 1 С), а в эпидермоидных клетках наблюдалось интенсивное окрашивание цитоплазматической мембраны (рис. 1 D).

Иммуноположительная реакция к GLUT-1 показала статистически значимые различия между клеточными компонентами ($p < 0,001$). Мукоциты ($Me = 0$ [0; 1]) отличались по уровню реакции GLUT-1 от эпидермоидных клеток ($Me = 2$ [1; 3]) и промежуточных клеток ($Me = 1$ [1; 3]) при уровне значимости $p < 0,001$. Однако различия между эпидермоидными и промежуточными клетками по экспрессии GLUT-1 не выявлены ($p = 1,0$).

Обсуждение

МЭК состоит из мукоцитов, эпидермоидных и промежуточных клеток [3, 5, 6]. Опухоли с низкой степенью злокачественности обычно характеризуются более выраженной кистозной структурой, что связано с преобладанием мукоцитов, минимальной клеточной атипией, небольшим количеством митозов и отсутствием периневральной инвазии. В опухолях с высокой степенью злокачественности, наоборот, наблюдаются инфильтративный рост, солидная структура, выраженная клеточная атипия, некрозы и периневральные инвазии [3].

В рамках данного исследования были изучены метаболическая и пролиферативная активность различных клеточных компонентов МЭК. Маркеры GLUT-1 и Ki67 оказались наиболее перспективными для оценки злокачественности МЭК, поскольку они выявлялись во всех типах клеток опухоли. Результаты показали, что наибольшее количество иммуноположительных клеток при использовании этих маркеров наблюдается в эпидермоидных и промежуточных клетках, что свидетельствует о высокой пролиферативной и метаболической активности глюкозы, обуславливающей рост и агрессивность опухоли, в этих компонентах.

Исследование L.B. de Sousa et al. [16] также показало, что GLUT-1 интенсивно проявляется в эпидермоидных клетках МЭК, и это согласуется с нашими результатами, где иммуноположительная реакция к GLUT-1 была выше в эпидермоидных и промежуточных клетках. Повышенное потребление глюкозы через GLUT-1 связано с активной пролиферацией и злокачественной трансформацией клеток [10–14, 17–19].

Иммуногистохимический метод оказался полезным дополнением к традиционному гистологическому анализу, при этом маркер пролиферации Ki67 стал наиболее надежным индикатором для оценки клеточного цикла. Использование Ki67 позволило определить уровень пролиферативной активности клеток, а для изучения метаболизма использовался глюкозный транспортер GLUT-1.

Заключение

В ходе исследования проанализирована пролиферация клеток и изучена активность GLUT-1 в различных клеточных компонентах мукоэпидермоидной карциномы. Морфометрический анализ показал: эпидермоидные и промежуточные клетки обладают наибольшей пролиферативной активностью и метаболизмом глюкозы, что делает их основными источниками опухолевого роста. В то же время мукоциты характеризуются минимальной пролиферативной и метаболической активностью, связанной с транспортом глюкозы.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – И.И. Бабиченко.
Сбор и обработка материала – Д.Р. Фамилья Фриас, Ю.О. Тигай,
З.Ю. Висайтова.

Написание текста – Д.Р. Фамилья Фриас.

Редактирование – И.И. Бабиченко, А.А. Ивина.

Authors contributions

Conceived the study and designed the experiment – I.I. Babichenko.

Collected the data and performed the analysis – D.R. Familia Frias,
Y.O. Tigay, Z.Yu. Visaitova.

Wrote the paper – D.R. Familia Frias.

Edited the manuscript – I.I. Babichenko, A.A. Ivina.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Meyer MT, Watermann C, Dreyer T, Ergün S, Karnati S. Update on diagnostic markers and translocation in salivary gland tumors. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):6771. DOI: 10.3390/ijms22136771.
2. Cunha JL, Coimbra AC, Silva JV, Nascimento IS, Andrade ME, Oliveira CR et al. Epidemiologic analysis of salivary gland tumors over a 10-years period diagnosed in a northeast Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020;25(4):e516–22. DOI: 10.4317/medoral.23532.
3. Peraza A, Gómez R, Beltrán J, Amarista FJ. Mucoepidermoid carcinoma. An update and review of the literature. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2020;121(6):713–20. DOI: 10.1016/j.jormas.2020.06.003.
4. Robinson L, van Heerden MB, Ker-Fox JG, Hunter KD, van Heerden WFP. Expression of mucins in salivary gland mucoepidermoid carcinoma. *Head Neck Pathol.* 2021;15(2):491–502. DOI: 10.1007/s12105-020-01226-z.
5. The WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds.). WHO classification of tumours. Head and neck tumours. V. 9. 5th ed. Lyon: IARC, 2022. 1146 p.
6. Donempudi P, Bhayya H, Venkateswarlu M, Avinash Tejasvi ML, Paramkusam G. Mucoepidermoid carcinoma of the minor salivary gland: presenting as ranula. *J Cancer Res Ther.* 2018;14(6):1418–21. DOI: 10.4103/0973-1482.204884.
7. Fehr A, Werenicz S, Trocchi P, Falk M, Friedrich RE, Stammli A et al. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands revisited with special reference to histologic grading and CRTC1/3-MAML2 genotyping. *Virchows Arch.* 2021;479(5):975–85. DOI: 10.1007/s00428-021-03146-x.
8. Pardis S, Zare R, Jaafari-Ashkavandi Z, Ashraf MJ, Khademi B. Twist expression in pleomorphic adenoma, adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. *Turk Patoloji Derg.* 2016;32(1):15–21. DOI: 10.5146/tjpath.2015.01343.
9. Qannam A, Bello IO. Comparison of histological grading methods in mucoepidermoid carcinoma of minor salivary glands. *Indian J Pathol Microbiol.* 2016;59(4):457–62. DOI: 10.4103/0377-4929.191765.
10. Sampedro-Núñez M, Bouthelier A, Serrano-Somavilla A, Martínez-Hernández R, Adrados M, Martín-Pérez E et al. LAT-1 and GLUT-1 carrier expression and Its prognostic value in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancers (Basel).* 2020;12(10):2968. DOI: 10.3390/cancers12102968.
11. Yin C, Gao B, Yang J, Wu J. Glucose transporter-1 (GLUT-1) expression is associated with tumor size and poor prognosis in locally advanced gastric cancer. *Med Sci Monit Basic Res.* 2020;26:e920778. DOI: 10.12659/MSMBR.920778.
12. Yang H, Zhong JT, Zhou SH, Han HM. Roles of GLUT-1 and HK-II expression in the biological behavior of head and neck cancer. *Oncotarget.* 2019;10(32):3066–83. DOI: 10.18632/oncotarget.24684.
13. Karageorgis G, Reckzeh ES, Ceballos J, Schwalfenberg M, Sievers S, Ostermann C et al. Chromopyrones are pseudo natural product glucose uptake inhibitors targeting glucose transporters GLUT-1 and -3. *Nat Chem.* 2018;10(11):1103–11. DOI: 10.1038/s41557-018-0132-6.
14. Pezzuto A, D'Ascanio M, Ricci A, Pagliuca A, Carico E. Expression and role of p16 and GLUT1 in malignant diseases and lung cancer: a review. *Thorac Cancer.* 2020;11(11):3060–70. DOI: 10.1111/1759-7714.13651.
15. Dura M, Němcová K, Jakša R, Bárta M, Kodet O, Tichá I et al. Expression of Glut-1 in malignant melanoma and melanocytic nevi: an immunohistochemical study of 400 cases. *Pathol Oncol Res.* 2017;25(1):361–8. DOI: 10.1007/s12253-017-0363-7.
16. de Souza LB, de Oliveira LC, Nonaka CFW, Lopes MLDS, Pinto LP, Queiroz LMG. Immunoeexpression of GLUT-1 and angiogenic index in pleomorphic adenomas, adenoid cystic carcinomas, and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2017;274(6):2549–56. DOI: 10.1007/s00405-017-4530-y.
17. Demasi AP, Costa AF, Altemani A, Furuse C, Araújo NS, Araújo VC. Glucose transporter protein 1 expression in mucoepidermoid carcinoma of salivary gland: correlation with grade of malignancy. *Int J Exp Pathol.* 2010;91(2):107–13. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2009.00702.x.
18. Sánchez-Romero C, Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Paes de Almeida O. Immunohistochemical expression of GLUT-1 and HIF-1 α in tooth germ, ameloblastoma, and ameloblastic carcinoma. *Int J Surg Pathol.* 2016;24(5):410–8. DOI: 10.1177/1066896916640359.
19. Almahmoud S, Wang X, Vennerstrom JL, Zhong HA. Conformational studies of glucose transporter 1 (GLUT1) as an anti-cancer drug target. *Molecules.* 2019;24(11):2159. DOI: 10.3390/molecules24112159.

Информация об авторах

Диана Росина Фамилья Фриас – ассистент кафедры патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Зулихан Юсуповна Висайтова – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела высокотехнологичных методов челюстно-лицевой хирургии НМИЦ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии».

Юлия Олеговна Тигай – ассистент кафедры патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Анастасия Анатольевна Ивина – доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Игорь Иванович Бабиченко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы, заведующий лабораторией патологической анатомии НМИЦ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии».

Author information

Diana R. Familia Frias – Assistant, Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0001-7878-2901>

Zulikhan Yu. Visaitova – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Advanced Maxillofacial Surgery Methods, National Medical Research Center "Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery".

<https://orcid.org/0000-0002-6029-4691>

Yuliya O. Tigay – Assistant, Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-6500-9220>

Anastasia A. Ivina – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0001-8387-4413>

Igor I. Babichenko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia; Head of the Laboratory of Anatomic Pathology, National Medical Research Center "Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery".

<https://orcid.org/0000-0001-5512-6813>

© Koniaeva A.D., Varakuta E.Yu., Fedosova M.V., Potapov A.V., Gerasimov A.V., Leiman A.E., Bolbasov E.N., Vorobyev A.O., Chernova U.V., 2025
DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.55-63

Biointegration of barrier membranes with different microstructures in hernia repair: preliminary assessment of morphological aspects

A.D. Koniaeva¹, E.Yu. Varakuta¹, M.V. Fedosova¹, A.V. Potapov¹, A.V. Gerasimov¹,
A.E. Leiman², E.N. Bolbasov³, A.O. Vorobyev³, U.V. Chernova³

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

² Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

³ National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

Abstract. Introduction. It is key to create barrier meshes to prevent adhesive disease and strengthen the anterior abdominal wall during hernioplasty. A promising material for it may be a polymer based on vinylidene fluoride and tetrafluoroethylene (VDF-TeFE). We aimed to do a preliminary assessment of morphological aspects of biointegrating VDF-TeFE meshes with various microstructures during hernioplasty, with the most effective one to be later improved for a full preclinical study.

Materials and methods. The research was performed on 40 Chinchilla rabbits divided into 4 equal groups: group 1 underwent laparotomy without mesh implantation, the animals from groups 2–4 received a VDF-TeFE mesh barrier having different microstructures.

Results. The 1.9-mm pore size (group 2) promoted the formation of dense connective tissue and the growth of adhesions between the organs, the mesh, and the anterior abdominal wall. Pores with a 0.9-mm diameter (group 3) prevented the formation of adhesions, but did not contribute to the strengthening of the anterior abdominal wall. The hybrid mesh structure (group 4) was the most effective because it prevented recurrence of anterior abdominal wall hernia and contributed to a decrease in the formation of adhesions between intestinal loops and the endoprosthesis.

Conclusion. The barrier meshes of a hybrid structure made from VDF-TeFE are promising in hernioplasty to prevent adhesions and hernia recurrence. Further work needs to improve the endoprosthesis by modifying it with drugs that prevent the formation of adhesions. However, this issue requires a more in-depth study.

Keywords: biointegration, biopolymers, chronic inflammation, adhesive disease, hernia repair, copolymer of tetrafluoroethylene with vinylidene fluoride (VDF-TeFE)

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

For citation: Koniaeva A.D., Varakuta E.Yu., Fedosova M.V., Potapov A.V., Gerasimov A.V., Leiman A.E., Bolbasov E.N., Vorobyev A.O., Chernova U.V. Biointegration of barrier membranes with different microstructures in hernia repair: preliminary assessment of morphological aspects. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):55–63 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.55-63.

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

Received 14.02.2025. Received in revised form 24.03.2025. Accepted 12.05.2025.

УДК: 616-018

Морфологические аспекты биоинтеграции барьерных мембран с различными вариантами микроструктуры для целей герниопластики

A.Д. Коняева¹, Е.Ю. Варакута¹, М.В. Федосова¹, А.В. Потанов¹, А.В. Герасимов¹,
А.Е. Лейман², Е.Н. Бولбасов³, А.О. Воробьев³, У.В. Чернова³

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

² ФГБУ Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия

Резюме. Введение. Для профилактики спаечной болезни и укрепления передней брюшной стенки при герниопластике актуально создание барьерных мембран. Перспективным материалом для этого может

стать полимер на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом (vinylidene fluoride and tetrafluoroethylene, VDF-TeFE). Целью исследования являлась предварительная оценка морфологических аспектов биоинтеграции барьерных мембран из VDF-TeFE при герниопластике с различными вариантами микроструктуры для дальнейшего усовершенствования наиболее эффективного образца и проведения полноценного доклинического исследования.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 40 кроликах линии Шиншилла, разделенных на четыре равные группы: группе 1 проводили срединную лапаротомию без имплантации мембраны, животным из групп 2, 3 и 4 имплантировали мембрану из VDF-TeFE с различной микроструктурой.

Результаты. Размер пор 1,9 мм (группа 2) способствовал образованию грубой волокнистой соединительной ткани и росту спаек между органами, мембраной и передней брюшной стенкой. Поры диаметром 0,9 мм (группа 3) препятствовали появлению спаек, однако не содействовали укреплению передней брюшной стенки. Гибридная структура мембраны (группа 4) оказалась наиболее эффективной, так как предотвращала рецидив грыжи передней брюшной стенки и способствовала снижению образования спаек между петлями кишечника и эндопротезом.

Заключение. Использование барьерных мембран гибридной структуры из VDF-TeFE перспективно при герниопластике для профилактики спаечного процесса и рецидивов грыж. Кроме того, дальнейшим направлением совершенствования эндопротеза будет его модификация лекарственными средствами, профилактирующими образование спаек. При этом данный вопрос требует дальнейшего более глубокого изучения.

Ключевые слова: биоинтеграция, биополимеры, хроническое воспаление, спаечная болезнь, герниопластика, сополимер винилиденфторида с тетрафторэтиленом (VDF-TeFE)

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

Для цитирования: Коняева А.Д., Варакута Е.Ю., Федосова М.В., Потапов А.В., Герасимов А.В., Лейман А.Е., Больбасов Е.Н., Воробьев А.О., Чернова У.В. Морфологические аспекты биоинтеграции барьерных мембран с различными вариантами микроструктуры для целей герниопластики. Клин. эксп. морфология. 2025;14(4):55–63. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.55-63.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 14.02.2025. **Получена после рецензирования** 24.03.2025. **Принята в печать** 12.05.2025.

Introduction

The occurrence of adhesive disease following abdominal surgeries, including hernioplasty, represents a significant challenge in modern surgery [1] on a par with the reinforcement of the anterior abdominal wall to prevent relapses [2]. The development of adhesive disease is associated with both trauma during surgical procedure and the subsequent inflammatory response [3]. Adhesive disease can lead to complications and significantly affect the patients' quality of life [4]. Therefore, the search for effective preventive measures against adhesive disease is crucial. These strategies can be categorized into three groups: surgical (intraoperative reduction of peritoneal trauma), pharmacological (the use of anticoagulants to prevent peritoneal ischemia, fibrinolytic therapy, anti-inflammatory medications, and agents aimed at inhibiting collagenogenesis), and mechanical (creating a barrier between the injured surfaces during surgery) [5].

One promising approach in the mechanical prevention of adhesive disease is the development of biocompatible nonresorbable membranes which are preferable to the resorbable ones due to their durability, resistance to biodegradation, capacity to minimize inflammatory responses, and the role in reinforcing the anterior abdominal wall during hernioplasty, thereby reducing recurrence risks [6]. Unlike resorbable membranes, the nonresorbable ones maintain

structural integrity, prevent the ingrowth of fibrous tissue into surrounding organs, and do not release inflammatory-inducing degradation products. Nonresorbable membranes include those made from polypropylene, polyethylene glycol, polylactic acid, chitosan, and other polymers. However, their application in hernioplasty is limited due to a number of drawbacks [7].

A prospective polymer to produce barrier meshes is copolymer of vinylidene fluoride and tetrafluoroethylene (VDF-TeFE). The materials derived from this polymer exhibit mechanical strength, proven biocompatibility, and piezoelectric properties; maintain their physical properties over time; enhance the tissue regeneration; reduce the risk of postoperative scarring; and do not chemically react with biological fluids [8].

This polymer is utilized to produce various biomaterials that are actively employed in different surgical fields at the Center for Additive Technologies of the National Research Tomsk Polytechnic University [9]. 3D printing enables the manufacture of barrier meshes of necessary sizes and with specified microstructures, which will be used in hernioplasty effectively performing anti-adhesive functions and meeting the needs of individual patients.

The aim of this research was to describe morphological aspects of biointegration of VDF-TeFE barrier meshes with various microstructure configurations in hernioplasty

in order to further refine the most effective sample and conduct a comprehensive preclinical study.

Materials and methods

The study was conducted at Siberian State Medical University and approved by the local ethics committee (protocol No. 15-2 dated April 1, 2024). All procedures involving animals were carried out in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

The research was designed as a comparative exploratory investigation of morphological aspects of biointegrating three samples of mesh polymer membranes for hernioplasty, each with different microstructures, pore diameters, and polymer fill percentages. The samples were designed and manufactured at the Shared Access Additive Technology Center of the National Research Tomsk Polytechnic University using an FDM printer (Picaso Designer X Pro, Picaso 3D, Russia). The filament ($\Phi=1.75$ mm) for the samples was prepared from a copolymer of VDF-TeFE (Galopolymer, Russia) with a tetrafluoroethylene content of 9% mol.

The experiment involved 40 male Chinchilla rabbits (2500–3000 g, aged 5–6 months) that were divided into four equal groups with a block randomization method. Group 1 was composed of the animals that underwent sham surgery, i.e., a midline laparotomy without subsequent mesh implantation. Group 2 was given a mesh with a “honeycomb” microstructure, a polymer fill percentage of 40%, and a pore diameter of 1.9 ± 0.1 mm. Group 3 had a mesh with a “honeycomb” microstructure, a fill percentage of 60%, and a pore diameter of 0.9 ± 0.1 mm. Group 4 received a bilayer mesh with a “honeycomb” microstructure, where the side facing the intestine had a polymer fill percentage of 70% and a pore diameter of 0.9 ± 0.1 mm, while the side facing the abdominal wall had a polymer fill percentage of 30% and a pore diameter of 1.9 ± 0.1 mm. In groups 2–4, the meshes were implanted in the anterior abdominal wall.

The animals were provided by the Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (Tomsk, Russia). Prior to the experiment, the rabbits underwent a two-week acclimation period in the vivarium. The animals were kept according to the sanitary and epidemiological rules 2.2.1.3218-14 “On Sanitary and Epidemiological Requirements for the Design, Equipment, and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivariums),” approved by the Russian Federation Chief State Sanitary Doctor Resolution No. 51 of August 29, 2014.

All animals underwent sterile procedures after atropine sulfate premedication (Dalchimpharm, Russia) at a dosage of 0.2 ml/kg subcutaneously. Thirty minutes later, they were anesthetized with Zoletil-100 (Vibrac, France) at a dosage of 10 mg/kg, and then the surgical field was treated with a triple antiseptic.

Afterwards, we performed a midline laparotomy. The meshes were fixed using sterile atraumatic needles and absorbable sutures made of polyglycolic acid of a 4/0 size with knot sutures at mesh corners.

The removal criteria included general deterioration (including lethargy, apathy, food refusal, sleep disturbances, fever) or intra-experimental death. The removal from the experiment was supposed to be followed by euthanasia. No animals were excluded from the study.

During postoperative monitoring, we did a macroscopic assessment of changes in the anterior abdominal wall. The animals were removed from the experiment on day 21 in a CO₂ euthanasia chamber (ZOOONLAB, Germany). Having euthanized the subjects, we performed laparotomy, made macroscopic evaluation of adhesions (diameter, thickness, length, type, and presence of vascularization), and took macroscopic pictures.

We obtained tissue samples for histological analysis from the wound defect area, capturing tissue from the periphery (5 mm). The tissues were fixed in a 10% neutral formalin solution (Biovitrum, Russia), washed under tap water, dehydrated in increasing concentrations of ethanol and isopropanol (Biovitrum, Russia), and subsequently embedded in paraffin (Biovitrum, Russia). We prepared 5- μ m-thick histological sections using a Leica SM 2010R rotary microtome (Leica, Germany). The sections were stained with hematoxylin and eosin (ABRIS+, Russia) and by the Van Gieson method using picric acid fuchsin (Biovitrum, Russia).

Histological preparations were examined with a light microscope (Axioskop 40, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany: objectives $\times 10$, $\times 40$, and $\times 90$, eyepieces $\times 10$). In each group, we studied 100 fields and quantified the specific area of dense fibrous connective tissue, loose fibrous connective tissue, the frequency of adipose tissue (%), and cellular infiltration (%). The last parameter was calculated as the ratio of the studied parameter area to the total visible area within the field of view. Moreover, we qualitatively assessed the condition of the microcirculatory vessels and the cellular composition of tissues.

We analyzed the images using AxioVision 4.8 image processing software (Carl Zeiss, Germany) and ImageJ 1.52u (National Institutes of Health, USA) and performed statistical analysis using Statistica 10.0 software (StatSoft Inc., USA). The Kolmogorov-Smirnov test was employed to assess the distribution characteristics of the variables, and descriptive and nonparametric statistical methods were utilized for data analysis. The parameters were described as median and quartiles, Me (Q1; Q3). The Kruskal–Wallis test was used to compare independent samples. The differences were considered statistically significant at a significance level of $p<0.05$.

Results

All animals resumed their normal activities the next day after surgery; they began to eat and drink and also demonstrated restored intestinal activity. The postoperative wound

in all animals healed by day 7 of the study. By the end of the experiment, the animals lost on average 500 (± 150) g.

On macroscopic examination on day 21, the animals in group 1 had adhesions at puncture sites. In group 2, autopsy revealed a significant adhesive process within the abdominal cavity, with connective tissue fibers infiltrating the mesh, whose parietal layer of the membrane was firmly adhered to the anterior abdominal wall. A loop of the colon, which was pneumatic and tense, was attached to the visceral surface of the mesh via densely vascularized

adhesions; its wall was yellowish (Fig. 1 A). Blunt dissection of the adhesions was unsuccessful.

Macroscopic examination of group 3 revealed that adhesions did not infiltrate the mesh on the parietal side; however, the endoprosthesis was adhered to the anterior abdominal wall peripherally, which is likely to be due to its uneven sharp edges. An adhered loop of the small intestine was visualized on the visceral surface of the mesh (Fig. 1 B), with the adhesions being loose, amenable to blunt dissection, and exhibiting sparse vascularization.

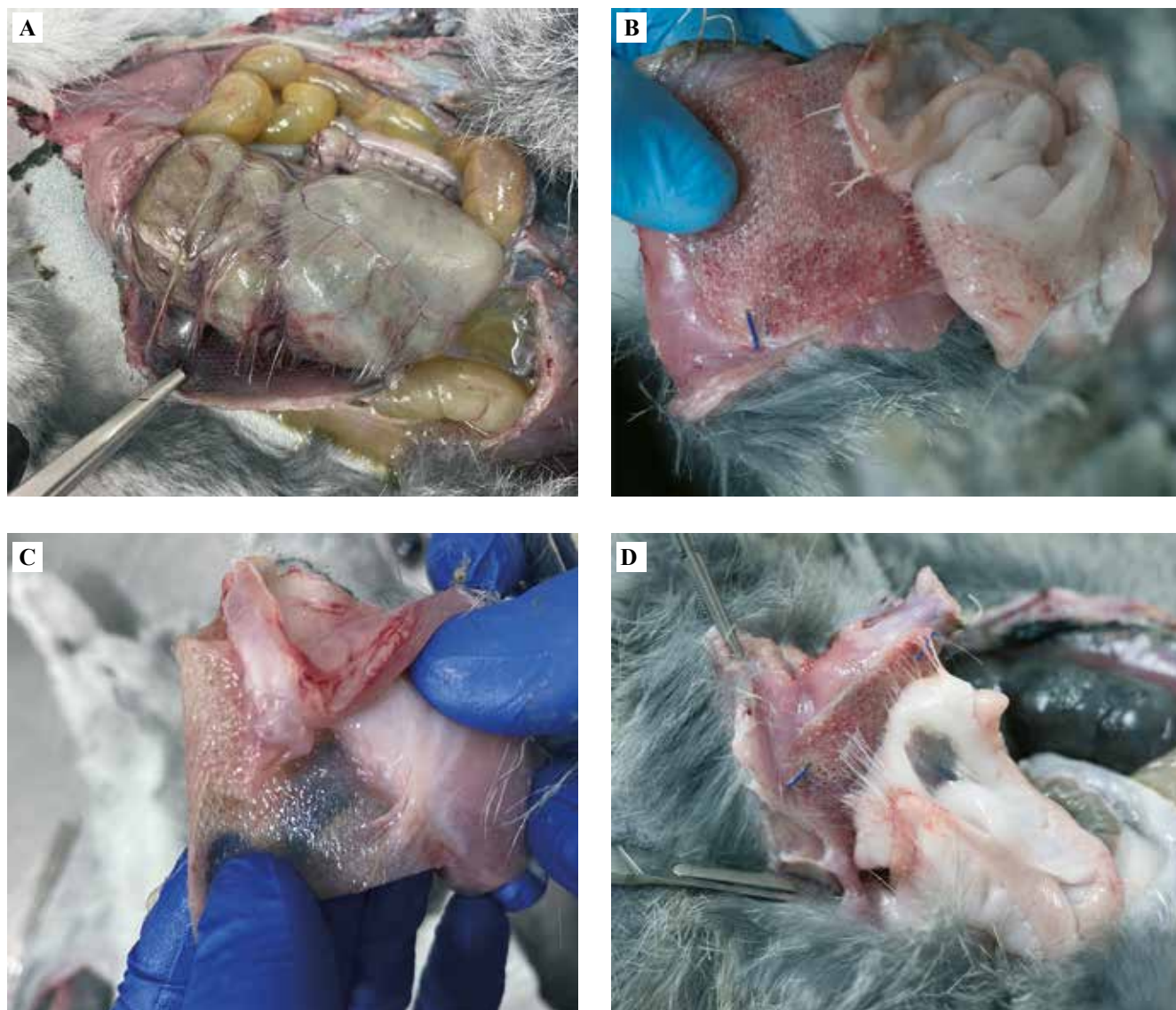


Fig. 1. Macroscopic view in the area of barrier membrane implantation in the anterior abdominal wall. Day 21.

A – a part of the colon adhered to the implant by numerous vascularized adhesions, group 2. B – the visceral surface of the endoprosthesis with a loop of the small intestine adhered to it by a thin adhesion, group 3. C – adhesions growing into the implant from the side of the anterior abdominal wall, group 4. D – spontaneous rupture of thin membranous adhesions when lifting the tissues of the anterior abdominal wall with tweezers, group 4

Рис. 1. Макроскопическая картина области имплантации барьерной мембраны в передней брюшной стенке. 21-й день.

А – участок толстой кишки, адгезированный многочисленными васкуляризованными спайками к импланту, группа 2. В – висцеральная поверхность эндопротеза с адгезированной к ней петлей тонкой кишки посредством слабовыраженной спайки, группа 3. С – прорастание спаек в имплант со стороны передней брюшной стенки, группа 4. D – механический разрыв тонких пленчатых адгезий при подъеме тканей передней брюшной стенки при помощи пинцета, группа 4

In group 4, macroscopic examination indicated that the parietal surface of the mesh was tightly fused with the tissues of the anterior abdominal wall (Fig. 1 C). A loop of the small intestine and its mesentery were adhered to the visceral surface via thin membranous adhesions; however, upon lifting the mesh with forceps, the adhesions spontaneously ruptured at a height of 1–2 cm (Fig. 1 D).

On day 21, the animals in group 2 exhibited an increase in dense fibrous connective tissue on both the visceral and parietal sides, with a specific area reaching 59.7% [53.1; 62.2] (Table). Additionally, there was loose fibrous connective tissue with a specific area that was 5.8 times significantly smaller compared to that of group 1 [$p=0.007$] (Table, Fig. 2 A). Among the connective tissue fibers, we observed small foci of adipose tissue, with a frequency of occurrence being 35.0% [33.1; 37.4] (Table, Fig. 2 B). We also detected extensive cellular infiltration, with a specific area 3.8 times greater compared to that of group 1 [$p=0.013$] (Table). Clusters of foreign-body giant cells and epithelioid cells were identified (Fig. 2 B). The formed connective tissue exhibited thin-walled, hyperemic blood vessels, as well as vessels showing signs of stasis and thrombosis (Fig. 2 C).

In group 3, there was a predominance of loose fibrous connective tissue and an increase in dense fibrous connective tissue at the periphery of the mesh (Fig. 3 A). Areas of dense fibrous connective tissue were found interspersed among the loose connective tissue. The specific area of dense fibrous connective tissue reached 34.3% (31.1; 39.1), which was 1.7 times lower compared to that of group 2 [$p=0.011$] (Table). Cellular infiltration was sparse, with

a specific area being 2 times smaller compared to that of group 2 [$p=0.015$] (Table). Foreign-body giant cells and epithelioid cells were observed in isolated fields of view, primarily at the periphery of the membrane. Adipose tissue associated with fibrosis was also identified at the periphery of the implant (Fig. 3 B), with a frequency of occurrence being 15.1% [11.5; 18.9] (Table). The vascularization of the newly formed vessels was minimal, and we did not observe signs of stasis, sludging, and thrombosis. This morphological characteristic of the implantation area was consistent for both the parietal and visceral sides relative to the mesh.

In group 4, with the hybrid mesh on the abdominal wall side, there was a predominance of poorly vascularized dense fibrous connective tissue with foci of cellular infiltration (Fig. 4 A). The specific area of dense fibrous connective tissue reached 76.2% (71.3; 78.9), which was 1.3 and 2.2 times greater than that in groups 2 and 3, respectively ($p=0.021$). On the side facing the abdominal organs, we visualized the predominance of loose fibrous connective tissue with a large number of blood vessels (Fig. 4 B, 4 C). Isolated foci of cellular infiltration were visualized; however, their specific area did not significantly differ from the values in group 1 ($p=0.083$). The specific area of dense fibrous connective tissue, which was arranged in separate longitudinally oriented bundles and corresponded to thin adhesions upon macroscopic examination, was 5.8 and 3.3 times smaller compared to that of groups 2 and 3, respectively [$p=0.035$] (Table, Fig. 4 D). We detected multinucleated giant cells and epithelioid cells in isolated fields of view and did not find adipose tissue associated with foci of fibrosis.

Table | Таблица

Morphological indicators of tissue changes in the area of mesh implantation in the anterior abdominal wall, Me (Q1; Q3) | Морфологические показатели изменения тканей в области имплантации барьерной мембраны в передней брюшной стенке, Me (Q1; Q3)

	Group 1 Группа 1	Group 2 Группа 2	Group 3 Группа 3	Group 4 (visceral side / parietal side) Группа 4 (висцеральная сторона / париектальная сторона)
Specific area of loose connective tissue, % Удельная площадь рыхлой волокнистой соединительной ткани, %	93.7 (91.3; 95.6)*#&	16.2 (12.5; 17.8)*#&	53.6 (38.1; 45.7)*#	84.3 (79.1; 89.9)*#&/ 12.6 (8.1; 16.6)*#&
Specific area of dense connective tissue, % Удельная площадь грубой волокнистой соединительной ткани, %	—	59.7 (53.1; 62.2)*#&	34.3 (31.1; 39.1)*#	10.2 (7.1; 14.1)*#&/ 76.2 (71.3; 78.9)*#&
Specific area of cell infiltration, % Удельная площадь клеточной инфильтрации, %	6.3 (5.4; 8.1)	24.1 (22.6; 28.3)*#&	12.1 (18.1; 29.1)*	5.5 (3.1; 7.6)*#&/ 11.2 (9.6; 14.5)*#
Frequency of adipose tissue occurrence Частота встречаемости жировой ткани	—	35.0 (33.1; 37.4)*	15.1 (11.5; 18.9)*#	—#

* – significant differences compared to group 1 ($p<0.05$) | достоверные отличия с группой 1 ($p<0,05$)

– significant differences compared to group 2 ($p<0.05$) | достоверные отличия с группой 2 ($p<0,05$)

& – significant differences compared to group 3 ($p<0.05$) | достоверные отличия с группой 3 ($p<0,05$)

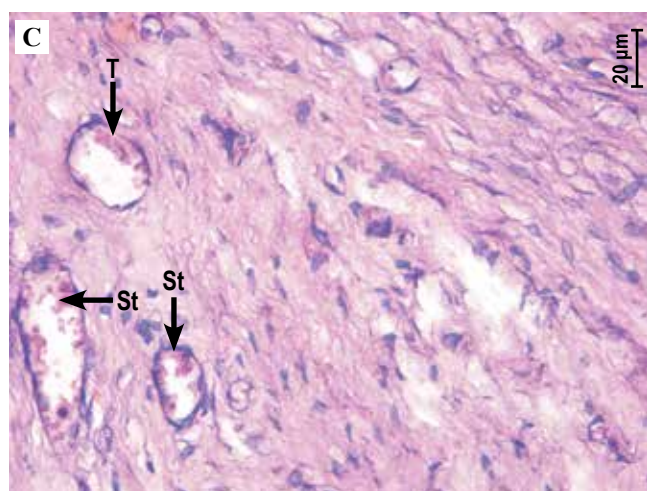
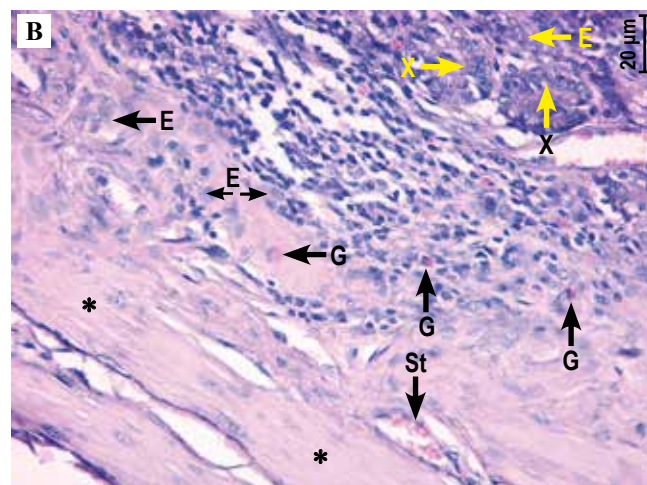
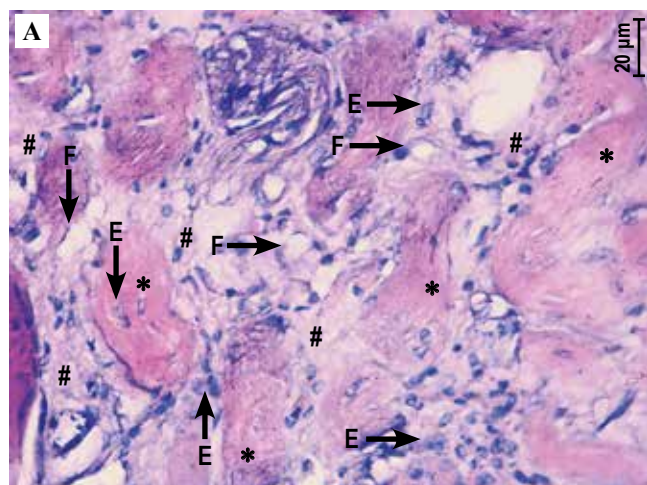


Fig. 2. Microscopic view in the area of barrier membrane implantation on day 21, group 2. H&E stain.

A, B, C – $\times 400$

* – dense connective tissue, # – loose connective tissue, F – adipose tissue, E – epithelioid cells, X – xanthomatous cells, G – foreign-body giant cells, St – stasis, V – venule, T – thrombosis

Рис. 2. Микроскопическая картина в области имплантации барьерной сетки на 21-е сутки исследования, группа 2.

Окраска гематоксилином и эозином. А, В, С – $\times 400$

* – грубоволокнистая соединительная ткань, # – рыхлая волокнистая соединительная ткань, F – жировая ткань, E – эпителиоидные клетки, X – ксантомные клетки, G – гигантские клетки инородных тел, St – стаз, V – венула, T – тромбоз

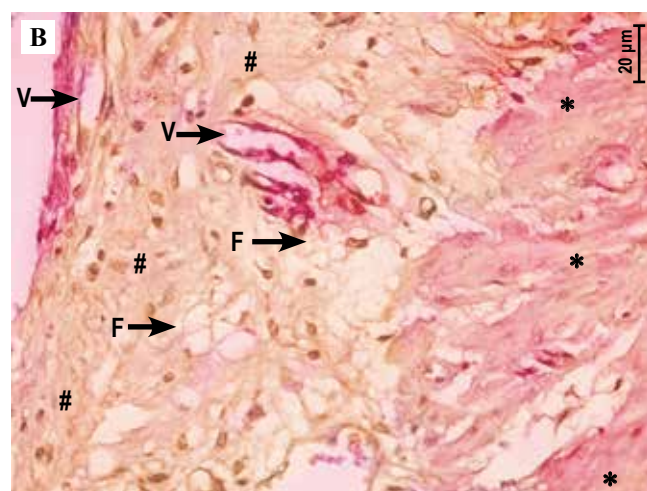
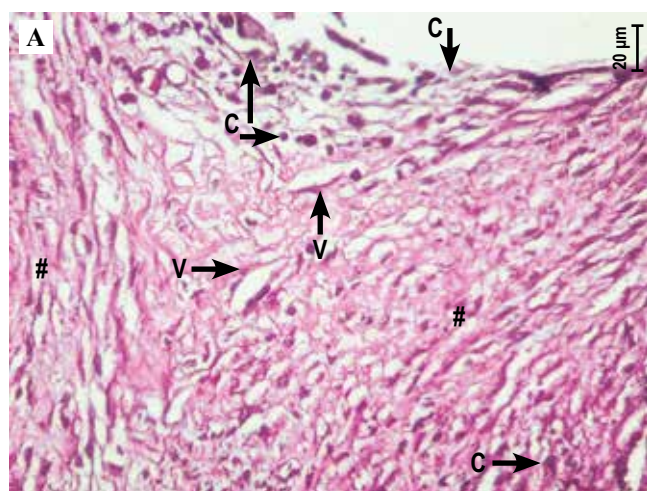


Fig. 3. Microscopic view in the area of barrier membrane implantation on day 21, group 3. Van Gieson's stain. A, B – $\times 400$

C – cell infiltration, V – venule, * – dense connective tissue, # – loose connective tissue, F – adipose tissue, E – epithelioid cells

Рис. 3. Микроскопическая картина в области имплантации барьерной сетки на 21-е сутки исследования, группа 3.

Окраска по ван Гизону. А, В – $\times 400$

С – клеточная инфильтрация, V – венула, # – рыхлая волокнистая соединительная ткань, F – жировая ткань, E – эпителиоидные клетки

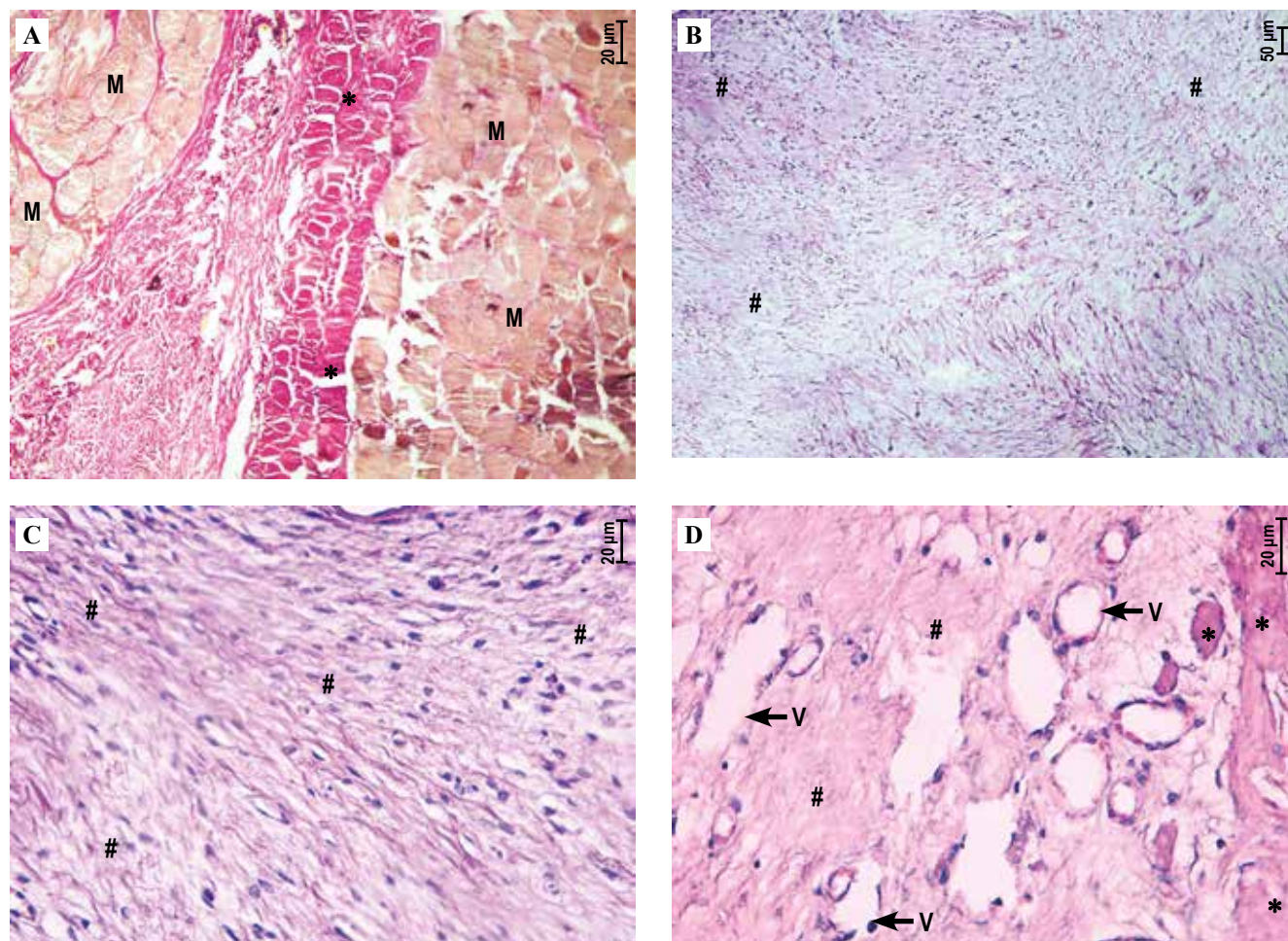


Fig. 4. Microscopic view in the area of barrier membrane implantation on day 21, group 4.

A – $\times 400$, Van Gieson's stain. B – $\times 100$, H&E stain. C, D – $\times 400$, H&E stain

* – dense connective tissue, M – muscle tissue, # – loose connective tissue, V – venule

Рис. 4. Микроскопическая картина в области имплантации барьерной сетки на 21-е сутки исследования, группа 4.

A – окраска по ван Гизону, $\times 400$, B – окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$. C, D – окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

* – плотная соединительная ткань, M – мышечная ткань, грубоволокнистая соединительная ткань, # – рыхлая волокнистая соединительная ткань, V – венула

Discussion

Based on our literature analysis, we may conclude that adhesive disease can lead to numerous complications following hernioplasty [10]. There is a notable dissatisfaction among surgeons regarding the emerging interest of researchers in modifying the Lichtenstein hernioplasty technique. Consequently, the laparoscopic technique known as IPOM (Laparoscopic intraperitoneal onlay mesh) has been recognized as the safest and the most effective approach, which entails the intraperitoneal implantation of a mesh that completely covers the defect [11]. In this context, the development and implementation of effective barrier membranes represent a critical task in contemporary surgery [12].

In this study, we evaluated the preliminary results of using polymeric barrier meshes made from VDF-TeFE with varying microstructures for reinforcing the anterior

abdominal wall and separating organs to prevent adhesive process during hernioplasty.

The use of samples with the largest cell diameter (1.9 mm) in group 2 yielded negative results. We observed extensive ingrowth of richly vascularized adhesions into the mesh and surrounding tissues at the macroscopic level. At the microscopic level, we noted the formation of dense fibrous connective tissue underlying these adhesions on both the parietal and visceral sides.

Conversely, a different scenario was observed in experimental group 3, where the pore diameter was the smallest (0.9 mm). The adhesions were primarily located at the periphery of the mesh, particularly at its edges and suture sites, suggesting the need for modifications to the prosthesis—specifically, the creation of rounded corners and streamlined edges. The adhesions at the macroscopic level appeared whitish, and at the microscopic level, they were

poorly vascularized and predominantly consisted of loose fibrous connective tissue. Thus, we can conclude that a smaller pore diameter prevents the development of adhesions; however, it does not contribute to the reinforcement of the anterior abdominal wall.

Based on the data obtained from the morphological study of tissues in animals from groups 2 and 3, we decided to create a hybrid mesh consisting of a visceral layer with a 0.9-mm cell diameter and a parietal layer with a 1.9-mm cell diameter. This modification aimed to prevent the formation of adhesions between the abdominal organs and secure the membrane to the anterior abdominal wall through the formation of dense fibrous connective tissue. Preliminary morphological investigations indicated that this barrier mesh design aligned with the goals of surgical intervention in hernioplasty.

To further enhance the methods for preventing adhesive disease, it is essential to continue research aimed at the development and optimization of biocompatible materials, improving their physicochemical and biological properties [13]. Pharmacologically active coatings for nonresorbable meshes present new opportunities in preventing adhesive disease. Pharmacological classes of drugs that may potentially be applied in combination with nonresorbable materials include glucocorticoids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, inhibitors of proinflammatory cytokines, statins, antifibrinolytic agents, and antibacterial medications [14, 15].

Thus, this exploratory study has identified the primary characteristics of the barrier mesh, i.e., a hybrid two-layer structure that allows for integration into the anterior abdominal wall, thereby reinforcing it and preventing the formation of adhesions with the gastrointestinal organs and featuring streamlined edges and rounded corners. In future studies, we aim to modify the mesh surfaces with pharmacological agents.

Further comprehensive morphological research will focus on the comparative study of barrier meshes with properties validated during this investigation. The number of control points will be increased in accordance with the stages of tissue regeneration, i.e., alteration, exudation, and proliferation. The comprehensive morphological study will include an increased number of staining techniques for light microscopy, immunohistochemical analysis, and electron microscopy, which will facilitate the examination of all aspects of connective tissue formation, its vascularization and innervation, as well as the release of biologically active substances.

Conclusion

Based on our morphometric analysis, it can be concluded that the hybrid structure of the barrier mesh is preferable due to the following reasons. Firstly, it provides reinforcement of the anterior abdominal wall, which is a crucial aspect in preventing recurrences of anterior abdominal wall hernias. Secondly, it contributes to the reduction in adhesion formation between intestinal loops and the mesh.

Furthermore, we believe that it is promising to enhance the endoprosthesis by modifying its visceral surface with pharmacological agents that inhibit adhesion formation. However, this issue necessitates further in-depth investigation.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.D. Koniaeva, E.Yu. Varakuta, A.V. Gerasimov, A.V. Potapov, E.N. Bolbasov. Collected the data and performed the analysis – A.E. Leiman. M.V. Fedosova, A.O. Vorobyev, U.V. Chernova. Wrote the paper – A.D. Koniaeva, E.Yu. Varakuta, A.V. Gerasimov, A.V. Potapov, U.V. Chernova. Edited the manuscript – E.Yu. Varakuta, E.N. Bolbasov.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, А.В. Герасимов, А.В. Потапов, Е.Н. Больбасов. Сбор и обработка материала – А.Е. Лейман, М.В. Федосова, А.О. Воробьев, У.В. Чернова. Написание текста – А.Д. Коняева, Е.Ю. Варакута, А.В. Герасимов, А.В. Потапов, У.В. Чернова. Редактирование – Е.Ю. Варакута, Е.Н. Больбасов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References/Литература

1. *Saiding Q, Chen Y, Wang J, Pereira CL, Sarmiento B, Cui W et al.* Abdominal wall hernia repair: from prosthetic meshes to smart materials. *Mater Today Bio.* 2023;21:100691. DOI: 10.1016/j.mtbio.2023.100691.
2. *Kalaba S, Gerhard E, Winder JS, Pauli EM, Haluck RS, Yang J.* Design strategies and applications of biomaterials and devices for hernia repair. *Bioact Mater.* 2016;1(1):2–17. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2016.05.002.
3. *Carmichael SP 2nd, Shin J, Vaughan JW, Chandra PK, Holcomb JB, Atala AJ.* Regenerative medicine therapies for prevention of abdominal adhesions: a scoping review. *J Surg Res.* 2022;275:252–64. DOI: 10.1016/j.jss.2022.02.005.
4. *Gholami A, Abdolouosefi HE, Riazimontazer E, Azarpira N, Behnam M, Emami F et al.* Prevention of postsurgical abdominal adhesion using electrospun TPU nanofibers in rat model. *Biomed Res Int.* 2021;2021:9977142. DOI: 10.1155/2021/9977142.
5. *Sirovy M, Odlozilova S, Kotek J, Zajak J, Paral J.* Current options for the prevention of postoperative intra-abdominal adhesions. *Asian J Surg.* 2023; S1015–9584(23)01613–5. DOI: 10.1016/j.asjsur.2023.10.001.
6. *Hatewar A, Mahakalkar C, Kshirsagar S, Ram Sohan P, Dixit S, Bikkumalla S.* From meshes to minimally invasive techniques: a comprehensive review of modern hernia repair approaches. *Cureus.* 2024;16(8):e66206. DOI: 10.7759/cureus.66206.
7. *Serrano-Aroca Á, Pous-Serrano S.* Prosthetic meshes for hernia repair: state of art, classification, biomaterials, antimicrobial approaches, and fabrication methods. *J Biomed Mater Res A.* 2021;109(12):2695–719. DOI: 10.1002/jbm.a.37238.
8. *Koniaeva AD, Varakuta EY, Leiman AE, Bolbasov EN, Stankevich KS.* Changes in the cellular composition of the inflammatory infiltrate and connective tissue of the oral mucosa in rats

- during wound healing using a protective piezoelectric coating. *Clinical and experimental morphology*. 2022;11(1):50–61. DOI: 10.31088/cem2022.11.1.50-61.
9. Lukiev IV, Antipina LS, Goreninskii SI, Tverdokhlebova TS, Vasilchenko DV, Nemoykina AL et al. Antibacterial ferroelectric hybrid membranes fabricated via electrospinning for wound healing. *Membranes (Basel)*. 2021;11(12):986. DOI: 10.3390/membranes11120986.
 10. van Steensel S, Liu H, Vercoulen TF, Hadfoune M, Breukink SO, Stassen LP et al. Prevention of intra-abdominal adhesions by a hyaluronic acid gel; an experimental study in rats. *J Biomater Appl*. 2021;35(7):887–97. DOI: 10.1177/0885328220954188.
 11. Slavu IM, Filipoiu F, Munteanu O, Tulin R, Ursuț B, Dogaru LA et al. Laparoscopic intraperitoneal onlay mesh (IPOM) in the treatment of ventral hernias: technique discussion points. *Cureus*. 2024;16(5):e61199. DOI: 10.7759/cureus.61199.
 12. Nikam SP, Hsu YH, Marks JR, Mateas C, Brigham NC, McDonald SM et al. Anti-adhesive bioresorbable elastomer-coated composite hernia mesh that reduce intraperitoneal adhesions. *Biomaterials*. 2023;292:121940. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121940.
 13. Najm A, Niculescu AG, Gaspar BS, Grumezescu AM, Beuran M. A review of abdominal meshes for hernia repair-current status and emerging solutions. *Materials (Basel)*. 2023;16(22):7124. DOI: 10.3390/ma16227124.
 14. Park J, Kang H, Choi YS, Suh SW, Hong SA, Choi GJ et al. Prevention of intra-abdominal adhesions using the combination of Mediclore® and a statin. *Eur Surg Res*. 2022;63(3):123–31. DOI: 10.1159/000519708.
 15. Baker JJ, Rosenberg J. Coatings for permanent meshes used to enhance healing in abdominal hernia repair: a scoping review. *Surg Innov*. 2024;31(4):424–34. DOI: 10.1177/15533506241255258.

Author information

Anastasiia D. Koniaeva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Human Anatomy Department with a course of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Siberian State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-9708-1948>

Elena Yu. Varakuta – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Human Anatomy Department with a course of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Siberian State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-3173-5336>

Marina V. Fedosova – 4th-year Student, Pediatric Faculty, Siberian State Medical University.

<https://orcid.org/0009-0008-5732-9823>

Alexey V. Potapov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Histology, Embryology, and Cytology Department, Siberian State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-0468-3959>

Aleksander V. Gerasimov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Histology, Embryology, and Cytology Department, Siberian State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-8526-6187>

Arina E. Leiman – 1st-year Postgraduate Student, Pathology Department, Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center.

<https://orcid.org/0000-0002-9959-1546>

Evgeny N. Bolbasov – Cand. Sci. (Tech.), Head of Shared Access Additive Technology Center, National Research Tomsk Polytechnic University.

<https://orcid.org/0000-0002-6113-1835>

Alexander O. Vorobyev – Engineer, Shared Access Additive Technology Center, National Research Tomsk Polytechnic University.

<https://orcid.org/0009-0003-3881-2477>

Ulyana V. Chernova – Engineer, School of Advanced Engineering “Intelligent Energy Systems”, National Research Tomsk Polytechnic University.

<https://orcid.org/0000-0002-6714-8785>

Информация об авторах

Анастасия Денисовна Коняева – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии СибГМУ.

Елена Юрьевна Варакута – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии СибГМУ.

Марина Витальевна Федосова – студентка 4-го курса педиатрического факультета СибГМУ.

Алексей Валерьевич Потапов – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ.

Александр Владимирович Герасимов – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ.

Арина Евгеньевна Лейман – ординатор 1-го года обучения по специальности «патологическая анатомия» ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна.

Евгений Николаевич Больбасов – кандидат технических наук, директор Центра аддитивных технологий общего доступа НИ ТПУ.

Александр Олегович Воробьев – инженер Центра аддитивных технологий общего доступа НИ ТПУ.

Ульяна Вадимовна Чернова – инженер инженерной школы «Интеллектуальный энергетические системы» НИ ТПУ.

Морфометрические показатели формирования структур почек крыс Вистар в различные периоды онтогенеза

Д.А. Арешидзе, А.И. Ануркина, М.А. Козлова, В.П. Черников

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

Резюме. Введение. Изучение почек имеет критически важное значение, так как этот орган является ключевым для мочевой системы и играет центральную роль в поддержании гомеостаза организма. Исследования на животных позволяют моделировать заболевания почек для оценки новых терапевтических подходов, включая применение лекарственных препаратов. Морфометрия почек представляет существенный аспект проведения доклинических исследований. Весьма часто в таких работах используются органы животных стока Вистар. Имеется много сведений о функциональных различиях между почками у этих животных и крыс других линий, в то время как данные о морфологических особенностях немногочисленны. Цель исследования – изучить некоторые микроморфометрические показатели почек у крыс Вистар обоего пола в различные периоды онтогенеза для получения референтных значений нормальных показателей структур органа.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 120 самцах и 120 самках крыс аутбредной линии Вистар в возрасте 3, 6 и 12 месяцев, разделенных на группы по 40 животных. Определялись абсолютная и относительная масса органов, а также ряд микроморфометрических параметров, характеризующих почки. При микроморфометрии использовали программу ImageJ/Fiji (NIH, США) с соответствующими плагинами согласно методам, рекомендованным для анализа почек.

Результаты. Установлено, что большинство морфологических и микроморфометрических параметров претерпевает возрастные изменения: снижение массы органа, уменьшение доли паренхимы почек, количества нефронов, увеличение площади нефронов и канальцев. Для изученных величин выявлены половые различия.

Заключение. Проведенное исследование позволило установить конкретные значения ряда морфометрических параметров почек крыс Вистар обоего пола, обнаружить половые различия и выявить динамику изменения этих величин в изученных возрастных группах. Полученные данные могут быть использованы в научной и практической деятельности.

Ключевые слова: крыса, почка, морфометрия, онтогенез

Для корреспонденции: Давид Александрович Арешидзе. E-mail: labcelpat@mail.ru

Для цитирования: Арешидзе Д.А., Ануркина А.И., Козлова М.А., Черников В.П. Морфометрические показатели формирования структур почек крыс Вистар в различные периоды онтогенеза. Клин. эксп. морфология. 2025;14(4):64–71. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.64-71.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (№ 124021600054-9).

Статья поступила 02.04.2025. Получена после рецензирования 21.04.2025. Принята в печать 12.05.2025.

Morphometric indices of kidney structure formation in Wistar rats during different ontogenetic stages

D.A. Areshidze, A.I. Anurkina, M.A. Kozlova, V.P. Chernikov

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

Abstract. Introduction. Studying kidneys is crucial, since they are key organs of the urinary system and serve a vital function in maintaining homeostasis. Animal studies play an important role in modeling kidney diseases and evaluating new therapeutic approaches, including medicines. In preclinical research, kidney morphometry serves as a key tool. While Wistar rats are commonly used in such studies, existing data primarily focus on the functional differences between strains, with limited information on morphological features.

This research aimed to analyze key micromorphometric parameters of Wistar rats kidneys across different ontogenetic stages and both sexes to establish reference values for normal renal structures.

Materials and methods. The study was performed on 120 male and 120 female outbred Wistar rats aged 3, 6, and 12 months and divided into groups of 40 animals. We recorded absolute and relative organ weights and performed micromorphometric analysis of the kidneys using ImageJ/Fiji software (NIH, USA) with the corresponding plug-ins adhering to the standardized renal morphometry protocols.

Results. Most of the studied morphological and micromorphometric parameters undergo age-related changes: a decrease in organ mass, the proportion of renal parenchyma, and the number of nephrons and an increase in the area of nephrons and tubules. We also revealed sex differences.

Conclusion. We established specific values for a number of morphometric renal parameters of Wistar rats of both sexes, detected sex differences, and identified how these values change over time. The obtained data can be used in further research.

Keywords: rat, kidney, morphometry, ontogenesis

Corresponding author: David A. Areshidze. E-mail: labcelpat@mail.ru

For citation: Areshidze D.A., Anurkina A.I., Kozlova M.A., Chernikov V.P. Morphometric indices of kidney structure formation in Wistar rats during different ontogenetic stages. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):64–71 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.64-71.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery” (No. 124021600054-9).

Received 02.04.2025. **Received in revised form** 21.04.2025. **Accepted** 12.05.2025.

Введение

Изучение почек в доклинических исследованиях имеет критически важное значение, так как этот орган является ключевым для мочевой системы и играет центральную роль в поддержании гомеостаза организма, включая регуляцию водно-электролитного баланса, кислотно-щелочного равновесия, а также выведения токсичных веществ [1–3].

При проведении доклинических исследований необходимость оценки состояния почек обуславливается следующим:

- почки имеют высокий уровень кровотока (20–25% сердечного выброса), что делает их уязвимыми к воздействию токсинов, лекарств и метаболитов;
- эпителий почечных канальцев активно участвует в реабсорбции и секреции веществ, что увеличивает риск его повреждения;
- многие препараты (например, антибиотики, противоопухолевые средства, нестероидные противовоспалительные препараты) могут вызывать повреждение почек;
- потенциальная нефротоксичность может быть выявлена на этапе доклинических исследований [4, 5].

Кроме того, исследования на животных (например, крысах, мышах) позволяют моделировать заболевания почек для оценки новых терапевтических методов, включая применение лекарственных препаратов. Этот подход позволяет изучать также механизмы старения почек и разрабатывать стратегии для замедления данных процессов, выявлять половые особенности при возрастных изменениях органа, что немаловажно для персонализированной медицины [6–8].

Существенным аспектом в проведении исследований является морфометрия почек, так как она позво-

ляет количественно оценить структурные изменения в почках, выявить ранние признаки повреждения и проанализировать эффективность терапевтических вмешательств. Морфометрия обеспечивает объективность, воспроизводимость и комплексный подход к изучению состояния почек, что делает ее незаменимой для разработки новых лекарств и понимания механизмов заболеваний.

Применение морфометрии позволяет:

- точно измерить параметры, такие как толщина коркового и мозгового слоя, размер клубочков, площадь поверхности фильтрации, толщина базальной мембраны и объемная плотность различных структур;
- выявить ранние признаки повреждения почек, которые не всегда заметны при функциональных тестах (например, снижение скорости клубочковой фильтрации);
- количественно оценить степень повреждения почечных канальцев, клубочков и интерстиция, вызванного лекарственными препаратами или токсинами;
- сравнить степень повреждения между группами животных, получавших разные дозы препарата или подвергавшихся разным воздействиям;
- количественно оценить результаты терапии;
- количественно оценить возрастные изменения в почках;
- дополнить функциональные тесты, предоставляя полную картину состояния почек [9–13].

Наиболее распространенным модельным организмом является белая крыса, что обусловлено небольшой массой ее тела, относительной простотой содержания и разведения, непродолжительным периодом внутриутробного и постнатального развития, а также короткой

продолжительностью жизни [14]. Весьма часто в исследованиях используют животных стока Вистар.

В настоящее время имеется много данных о функциональных различиях почек крыс Вистар и других линий (Спрег-Доули, Фишер 344, SHR и т.д.).

В частности, скорость клубочковой фильтрации у этих животных выше, чем у крыс Фишер 344, но ниже, чем у Спрег-Доули и SHR, а экскреция белка выше, чем у Спрег-Доули, но ниже, чем у SHR. Кроме того, крысы Вистар характеризуются низкой базальной экспрессией TGF- β 1, умеренным уровнем антиоксидантных ферментов [14, 15], в то время как данные о морфологических особенностях почек крыс этой линии немногочисленны.

Представлялось актуальным изучение некоторых микроморфометрических показателей почек крыс Вистар обоего пола в различные периоды онтогенеза для получения референтных значений показателей структур органа.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского». Работа выполнена на 120 самцах и 120 самках крыс аутбредной линии Вистар в возрасте 3, 6 и 12 месяцев, разделенных на группы по 40 животных.

При проведении экспериментов руководствовались принципами гуманности, изложенными в директиве совета Европейского Союза (86/609/ЕЭС), а также в ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Исследование одобрено комитетом по биоэтике НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» (протокол № 11 от 22.12.2024).

Крысы получены из питомника Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России «Столбовая». Всех животных содержали в стандартных пластиковых клетках по пять особей в каждой, при естественном освещении, контролируемой температуре воздуха +20–22°C и относительной влажности воздуха 40–50%. Крысы имели свободный доступ к питьевой воде и брикетированному корму ПК-120-1. Длительность периода адаптации к условиям вивария составила 20 суток. Выведение крыс из эксперимента осуществляли в интервале с 09.00 до 10.30 в углекислотной камере, оборудованной устройством для верхней подачи газа (100% CO₂). Извлеченные органы осматривали макроскопически для выявления видимых патологических изменений (в случае обнаружения таковых животное отбраковывали), затем их взвешивали на весах CAS CAUX-220 (CAS Corporation, Республика Корея). Вычисляли относительную массу каждой почки. Фрагменты органов фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине с последующей стандартной проводкой по спиртам возрастающей концентрации (50°, 60°, 70°, 80° и 96°) и ксилолу. После проводки ткани заливали

в гистологическую среду «Гистомикс» («БиоВитрум», Россия). Серийные гистологические срезы толщиной 5–6 мкм изготавливали на санном микротоме Leica SM2010 R (Leica Biosystems, Германия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Маллори по общепринятой методике. Микроскопическое исследование препаратов для обнаружения возможных патологических изменений выполняли на микроскопе Leica DM 2500 (Leica Biosystems, Германия). Анализировали оба парных органа.

Морфометрически определялись следующие параметры [10, 12, 16–20]:

- объемная плотность паренхимы, %;
- объемная плотность стромы, %;
- количество нефронов на 1 мм², штук;
- диаметр почечных клубочков, мкм;
- диаметр проксимальных канальцев, мкм;
- высота эпителиоцита проксимальных канальцев, мкм;
- длина ядра эпителиоцита проксимальных канальцев, мкм;
- ширина ядра эпителиоцита проксимальных канальцев, мкм;
- площадь поперечного сечения ядра эпителиоцита проксимального канальца, мкм²;
- диаметр дистальных канальцев, мкм;
- высота эпителиоцита дистальных канальцев, мкм;
- длина ядра эпителиоцита дистальных канальцев, мкм;
- ширина ядра эпителиоцита дистальных канальцев, мкм;
- площадь поперечного сечения ядра эпителиоцита дистального канальца, мкм².

Для получения репрезентативных данных анализировали не менее четырех срезов из разных частей почки. При микроморфометрии использовали программу ImageJ/Fiji (NIH, США) с соответствующими плагинами согласно методам, рекомендованным для анализа почек [10, 12, 17–20].

Для определения объемной плотности паренхимы и стромы использовался метод Делесса – классический стереологический подход, позволяющий оценить объемную плотность структур по их площади на случайных срезах ткани по формуле: $V = \text{Areal} (\text{паренхима или строма}) \div \text{Area} (\text{общая площадь}) \times 100\%$ [21].

Статистическую обработку результатов выполняли в программе GraphPadPrism v8.41 (GraphPad Software Inc., США). Тип распределения данных оценивали с помощью теста Д'Агостино–Пирсона. При нормальном распределении использовали t-тест Стьюдента для парного сравнения и тест Тьюки для сравнения трех и более групп. Различия между группами исследования оценивали с помощью теста Даннета. В случаях, когда распределение не соответствовало нормальному, использовали тест Манна–Уитни для парного сравнения и тест Данна для сравнения трех и более групп. Значимыми считали различия при уровне статистиче-

ской значимости (α) или вероятности ошибки отклонения от нулевой гипотезы ниже 5% ($p < 0,05$).

Результаты

Проведенный анализ позволил установить, что абсолютная масса почек у самцов больше, чем у самок, во всех исследованных периодах онтогенеза. При этом масса органа у животных обоего пола возрастает к 6 месяцам, но снижается к 12. Относительная масса органа у самок больше, чем у самцов, и этот показатель в течение исследованного периода жизни также изменяется достоверно.

Исследование объемной плотности паренхимы и стромы в почках как у самцов, так и у самок изменяется разнонаправлено: доля паренхимы уменьшается, а доля стромы растет. Во всех исследованных периодах онтогенеза нами обнаружены межполовые различия.

Количество нефронов на единицу площади в течение онтогенеза снижается как у самцов, так и у самок (рис. 1), однако межполовые различия отмечаются только в 12 месяцев, когда плотность нефронов на единицу площади у самок превышает таковую у самцов.

Диаметр клубочков нефронов увеличивается в онтогенезе как у самцов, так и у самок, при этом у самцов

крыс он остается более высоким во всех исследованных возрастных группах (рис. 2).

Морфометрия проксимальных канальцев показала, что с возрастом увеличиваются их диаметр, высота эпителиоцитов, ширина и длина их ядер, а также площадь их поперечного сечения как у самцов, так и у самок. При этом межполовые различия отмечаются для всех параметров, кроме ширины ядра.

Морфометрические параметры дистальных канальцев в исследованные периоды онтогенеза изменяются аналогичным образом, но при этом обнаруживаются достоверные межполовые различия (табл.).

Обсуждение

В результате проведенной работы установлено, что большинство изученных морфологических и микроморфометрических параметров претерпевает возрастные изменения. Для этих величин выявлены половые различия. Полученные данные совпадают с результатами ранее проведенных исследований [22–26].

Возрастные изменения в морфологии почек объясняются снижением уровня половых гормонов, влияющих на структуру и функцию этого органа, накоплением свободных радикалов, что приводит к повреждению

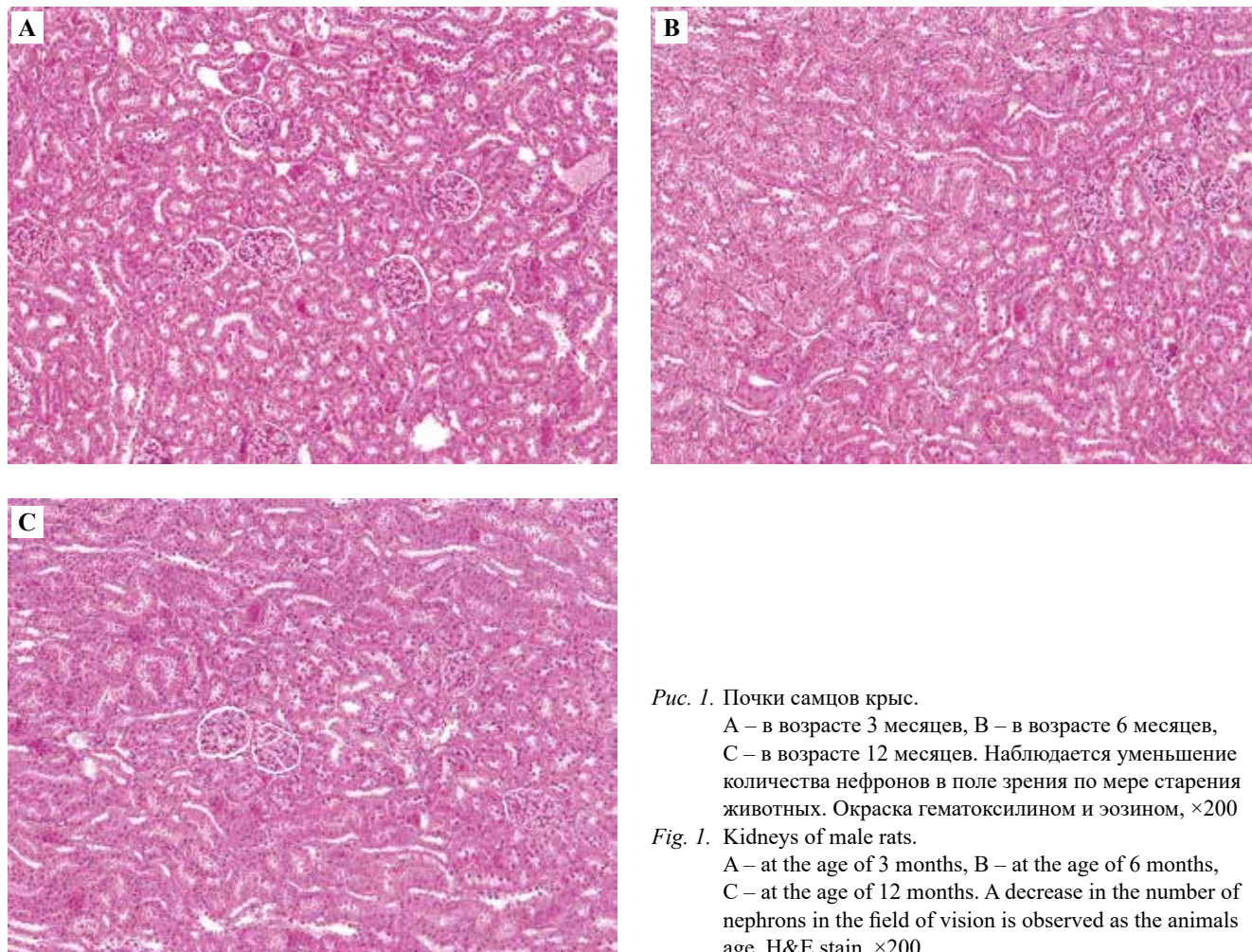


Рис. 1. Почки самцов крыс.

А – в возрасте 3 месяцев, В – в возрасте 6 месяцев, С – в возрасте 12 месяцев. Наблюдается уменьшение количества нефронов в поле зрения по мере старения животных. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 1. Kidneys of male rats.

А – at the age of 3 months, В – at the age of 6 months, С – at the age of 12 months. A decrease in the number of nephrons in the field of vision is observed as the animals age. H&E stain, $\times 200$

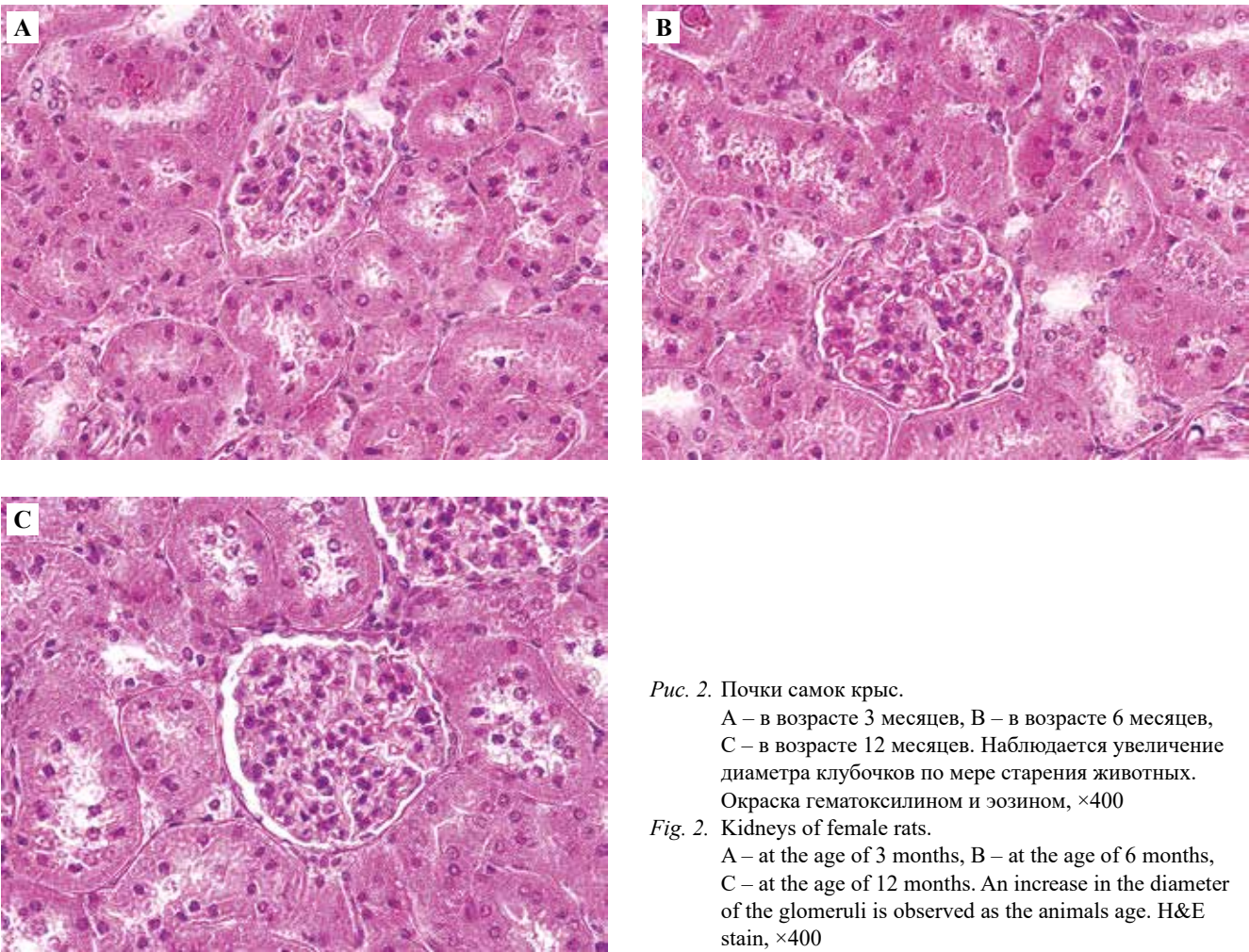


Рис. 2. Почки самок крыс.
А – в возрасте 3 месяцев, В – в возрасте 6 месяцев, С – в возрасте 12 месяцев. Наблюдается увеличение диаметра клубочков по мере старения животных. Окраска гематоксилином и эозином, ×400

Fig. 2. Kidneys of female rats.
А – at the age of 3 months, В – at the age of 6 months, С – at the age of 12 months. An increase in the diameter of the glomeruli is observed as the animals age. H&E stain, ×400

Абсолютная и относительная масса почек и величина их исследованных микроморфометрических параметров |
Absolute and relative mass of kidneys and the value of micromorphometric parameters

Таблица | Table

Показатель Index	Самцы Male			Самки Female		
	3 месяца 3 months	6 месяцев 6 months	12 месяцев 12 months	3 месяца 3 months	6 месяцев 6 months	12 месяцев 12 months
Абсолютная масса почки, г Absolute renal mass, g	1,65±0,09	2,12±0,11 ***	1,44±0,14 ***	1,33±0,08 ***	1,52±0,11 *** ***	1,19±0,10 *** ***
Относительная масса почки Relative renal mass	0,77±0,04	0,63±0,04 ***	0,51±0,05 ***	0,81±0,07 ***	0,74±0,06 *** **	0,60±0,08 *** ***
Объемная плотность паренхимы, % Parenchyma volume density, %	82,41±7,14	79,15±9,16 *	71,17±9,17 ***	79,17±8,19 ■	70,17±7,22 *** **	66,35±7,10 *** **
Объемная плотность стромы, % Stroma volume density, %	8,24±1,12	14,18±1,18 ***	15,66±1,54 **	13,58±1,42 ***	17,84±2,1 ** **	20,38±2,22 *** ***
Количество нефронов на 1 мм², штук Number of nephrons per 1 mm², pcs.	148,59±8,85	139,51±9,16 ***	115,80±10,1 ***	151,1±11,08	136,58±11,26 ***	128,81±10,91 *** ***

Таблица (окончание) | Table (end)

Показатель Index	Самцы Male			Самки Female		
	3 месяца 3 months	6 месяцев 6 months	12 месяцев 12 months	3 месяца 3 months	6 месяцев 6 months	12 месяцев 12 months
Диаметр почечных клубочков, мкм Renal glomeruli diameter, μm	82,41 $\pm$ 6,22	105,29 $\pm$ 11,20 ***	114,90 $\pm$ 10,81 ***	76,20 $\pm$ 6,35 ***	84,92 $\pm$ 7,29 *** ■	103,54 $\pm$ 9,16 *** ■
Диаметр проксимальных канальцев, мкм Proximal tubule diameter, μm	45,80 $\pm$ 4,88	50,11 $\pm$ 5,12 ***	66,20 $\pm$ 4,89 ***	39,19 $\pm$ 4,51 ***	47,61 $\pm$ 5,09 *** ■	58,70 $\pm$ 7,20 *** ■
Высота эпителиоцита проксимальных канальцев, мкм Height of proximal tubule epithelial cell, μm	9,0 $\pm$ 1,20	11,83 $\pm$ 1,55 ***	12,09 $\pm$ 1,61 ***	8,10 $\pm$ 0,92 ***	9,22 $\pm$ 1,15 *** ■	9,98 $\pm$ 0,84 *** ■
Длина ядра эпителиоцита проксимальных канальцев, мкм Nucleus length in proximal tubule epithelial cells, μm	6,15 $\pm$ 0,54	7,05 $\pm$ 0,81 ***	8,39 $\pm$ 0,95 ***	6,08 $\pm$ 0,65 ■	7,10 $\pm$ 0,87 *** ■	8,05 $\pm$ 0,83 *** ■
Ширина ядра эпителиоцита проксимальных канальцев, мкм Nucleus width in proximal tubule epithelial cells, μm	4,11 $\pm$ 0,38	5,10 $\pm$ 0,61 ***	6,0 $\pm$ 0,58 ***	4,03 $\pm$ 0,51	5,09 $\pm$ 0,54 ***	6,19 $\pm$ 0,56 ***
Площадь поперечного сечения ядра эпителиоцита проксимального канальца, мкм ² Nuclear cross-sectional area in proximal tubule epithelial cells, μm^2	19,80 $\pm$ 2,81	29,81 $\pm$ 2,50 ***	36,587 $\pm$ 4,42 ***	19,65 $\pm$ 1,82	28,83 $\pm$ 3,15 ***	39,8 $\pm$ 6,20 ***
Диаметр дистальных канальцев, мкм Distal tubule diameter, μm	26,82 $\pm$ 2,33	38,42 $\pm$ 4,21 ***	44,23 $\pm$ 4,61 ***	21,23 $\pm$ 1,46 ■	30,21 $\pm$ 3,11 *** ■	37,51 $\pm$ 2,88 *** ■
Высота эпителиоцита дистальных канальцев, мкм Height of distal tubule epithelial cell, μm	5,02 $\pm$ 0,42	6,03 $\pm$ 0,72 ***	7,11 $\pm$ 0,65 ***	4,11 $\pm$ 0,21	5,20 $\pm$ 0,48 *** ■	6,0 $\pm$ 0,54 *** ■
Длина ядра эпителиоцита дистальных канальцев, мкм Nucleus length of the epithelial cell of the distal tubules, μm	5,33 $\pm$ 0,54	6,19 $\pm$ 0,52 ***	6,99 $\pm$ 0,41 ***	4,23 $\pm$ 0,31 ■	5,19 $\pm$ 0,51 *** ■	6,11 $\pm$ 0,72 *** ■
Ширина ядра эпителиоцита дистальных канальцев, мкм Nucleus width in distal tubule epithelial cells, μm	4,33 $\pm$ 0,54	5,19 $\pm$ 0,52 ***	6,09 $\pm$ 0,41 ***	3,03 $\pm$ 0,31 ■	4,19 $\pm$ 0,51 *** ■	5,11 $\pm$ 0,72 *** ■
Площадь ядра эпителиоцита дистального канальца, мкм ² Nuclear area in distal tubule epithelial cells, μm^2	15,89 $\pm$ 1,11	19,20 $\pm$ 1,88 ***	22,57 $\pm$ 1,35 ***	13,78 $\pm$ 1,22 ■	16,55 $\pm$ 1,90 *** ■	19,22 $\pm$ 1,57 *** ■

* ($p \leq 0,05$); ** ($p \leq 0,005$); *** ($p \leq 0,0005$) – в сравнении с показателями животных того же пола в 3 месяца. ■ ($p \leq 0,05$); ■■ ($p \leq 0,005$); ■■■ ($p \leq 0,0005$) – в сравнении с показателями самцов в том же возрасте | * ($p \leq 0,05$); ** ($p \leq 0,005$); *** ($p \leq 0,0005$) – in comparison with the indicators of animals of the same sex at 3 months. ■ ($p \leq 0,05$); ■■ ($p \leq 0,005$); ■■■ ($p \leq 0,0005$) – in comparison with the indicators of males of the same age

нефронов, снижением регенеративной способности, ухудшением кровоснабжения почек из-за склерозирования сосудов и другими причинами [27, 28]. В свою очередь, половые различия определяются гормональным фоном животных: эстрогены оказывают нефро-

протективное действие, а андрогены влияют на рост соединительной ткани [29–31]. В частности, снижение объемной доли паренхимы и рост доли стромы вызваны потерей нефронов вследствие снижения регенераторных способностей органа, ишемии, возникающей

из-за гемодинамических нарушений, интенсификации апоптоза и накопления коллагена [32].

Увеличение диаметра почечных клубочков в онтогенезе обусловлено компенсаторным укрупнением оставшихся нефронов при уменьшении их общего числа, накоплением фибрина и коллагена, а также гипертензией [33].

Увеличение размеров эпителиоцитов канальцев, по мнению ряда специалистов, является стандартной возрастной реакцией, обусловленной повышением функциональной нагрузки [34, 35]. Увеличение размеров ядер эпителиоцитов вызвано полиплоидизацией и ядерной фрагментацией в поздних периодах онтогенеза [36, 37].

Заключение

Проведенное исследование позволило установить конкретные значения ряда морфометрических параметров почек крыс Вистар обоего пола, обнаружить половые различия и выявить динамику изменения этих величин в исследованных возрастных группах. Полученные данные могут быть использованы в научной и практической деятельности, в частности при проведении доклинических исследований.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.А. Арешидзе.

Сбор и обработка материала – И.А. Ануркина.

Анализ данных – Д.А. Арешидзе, М.А. Козлова, В.П. Черников, А.И. Ануркина.

Написание текста – Д.А. Арешидзе.

Редактирование – Д.А. Арешидзе, М.А. Козлова.

Author contribution

Conceived the study and designed the experiment – D.A. Areshidze.

Collected the data – A.I. Anurkina.

Performed the analysis – D.A. Areshidze, M.A. Kozlova, V.P. Chernikov, A.I. Anurkina.

Wrote the paper – D.A. Areshidze.

Edited the manuscript – D.A. Areshidze, M.A. Kozlova.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Radi ZA. Kidney pathophysiology, toxicology, and drug-induced injury in drug development. *Int J Toxicol*. 2019;38(3):215–27. DOI: 10.1177/1091581819831701.
2. Connor S, Roberts RA, Tong W. Drug-induced kidney injury: challenges and opportunities. *Toxicol Res (Camb)*. 2024; 13(4):tfae119. DOI: 10.1093/toxres/tfae119.
3. Redahan L, Murray PT. Biomarkers of drug-induced kidney injury. *Curr Opin Crit Care*. 2017;23(6):463–9. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000464.
4. Obert LA, Elmore SA, Ennulat D, Frazier KS. A review of specific biomarkers of chronic renal injury and their potential application in nonclinical safety assessment studies. *Toxicol Pathol*. 2021;49(5):996–1023. DOI: 10.1177/0192623320985045.
5. Huang HJ, Chou CL, Sandar TT, Liu WC, Yang HC, Lin YC et al. Currently used methods to evaluate the efficacy of therapeutic drugs and kidney safety. *Biomolecules*. 2023;13(11):1581. DOI: 10.3390/biom13111581.
6. Liang J, Liu Y. Animal models of kidney disease: challenges and perspectives. *Kidney360*. 2023;4(10):1479–93. DOI: 10.34067/KID.0000000000000227.
7. Packialakshmi B, Stewart IJ, Burmeister DM, Chung KK, Zhou X. Large animal models for translational research in acute kidney injury. *Ren Fail*. 2020;42(1):1042–58. DOI: 10.1080/0886022X.2020.1830108.
8. Hukriede NA, Soranno DE, Sander V, Perreau T, Starr MC, Yuen PST et al. Experimental models of acute kidney injury for translational research. *Nat Rev Nephrol*. 2022;18(5):277–93. DOI: 10.1038/s41581-022-00539-2.
9. Perazella MA, Rosner MH. Drug-induced acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2022;17(8):1220–33. DOI: 10.2215/CJN.11290821.
10. Bertram JF. Counting in the kidney. *Kidney Int*. 2001;59(2):792–6. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2001.059002792.x.
11. Sadeghinezhad J, Lazzarini G, Bojarzadeh H, Gatta A, Rezai S, Pirone A et al. Three-dimensional morphometry of kidney in New Zealand rabbit using unbiased design-based stereology. *Microsc Res Tech*. 2024;87(9):2053–62. DOI: 10.1002/jemt.24578.
12. Sutherland MR, Vojisavljevic D, Black MJ. A practical guide to the stereological assessment of glomerular number, size, and cellular composition. *Anat Rec (Hoboken)*. 2020;303(10):2679–92. DOI: 10.1002/ar.24361.
13. Ortega-Martinez M, Gutierrez-Davila V, Gutierrez-Arenas E, Niderhauser-Garcia A, Cerda-Flores RM, Jaramillo-Rangel G. The convoluted tubules of the nephron must be considered elliptical, and not circular, in stereological studies of the kidney. *Kidney Blood Press Res*. 2021;46(2):229–35. DOI: 10.1159/000515051.
14. Baylis C. Age-dependent glomerular damage in the rat. Dissociation between glomerular injury and both glomerular hypertension and hypertrophy. Male gender as a primary risk factor. *J Clin Invest*. 1994;94(5):1823–9. DOI: 10.1172/JCI117531.
15. Noshahr ZS, Salmani H, Khajavi Rad A, Sahebkar A. Animal models of diabetes-associated renal injury. *J Diabetes Res*. 2020;2020:9416419. DOI: 10.1155/2020/9416419.
16. Kolasa M, Faron-Górecka A. Preclinical models of treatment-resistant depression: challenges and perspectives. *Pharmacol Rep*. 2023;75(6):1326–40. DOI: 10.1007/s43440-023-00542-9.
17. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 2012;9(7):671–5. DOI: 10.1038/nmeth.2089.
18. Stossi F, Singh PK. Basic image analysis and manipulation in ImageJ/Fiji. *Curr Protoc*. 2023;3(7):e849. DOI: 10.1002/cpz1.849.
19. Howard V, Reed M. Unbiased stereology: three-dimensional measurement in microscopy. 2nd ed. London: Garland Science, 2004. 277 p. DOI: 10.4324/9780203006399.
20. Kriz W, Kaissling B. Structural organization of the mammalian kidney. In: RJ Alpern, SC Hebert (eds.). *Seldin and Giebisch's The Kidney: physiology and pathophysiology*. 4th ed. Academic Press, 2008. P. 479–563. DOI: 10.1016/B978-012088488-9.50023-1.

21. Nyengaard JR. Stereologic methods and their application in kidney research. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(5):1100–23. DOI: 10.1681/ASN.V1051100.
22. Valente Gamba C, Zeraib Caraviello A, Matsushita A, Alves GM, Nunes Da Silva L, Nascimento Gomes G et al. Effects of dietary lipids on renal function of aged rats. *Braz J Med Biol Res*. 2001;34(2):265–9. DOI: 10.1590/s0100-879x2001000200016.
23. Fernandez R, Piechnik J, Fabris R, Malnic G, Fernandes LC. Effect of chronic fish oil supplementation on renal function of normal and cachectic rats. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(10):1481–9. DOI: 10.1590/s0100-879x2004001000006.
24. Denic A, Glasscock RJ, Rule AD. Structural and functional changes with the aging kidney. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2016; 23(1):19–28. DOI: 10.1053/j.ackd.2015.08.004.
25. Silva FG. The aging kidney: a review – part I. *Int Urol Nephrol*. 2005;37(1):185–205. DOI: 10.1007/s11255-004-0873-6.
26. Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K. The laboratory rat: age and body weight matter. *EXCLI J*. 2021;20:1431–45. DOI: 10.17179/excli2021-4072.
27. HJ Baker, JR Lindsey, SH Weisbroth (eds.). *The laboratory rat: biology and diseases*. Academic Press, 1979. 435 p. DOI: 10.1016/C2013-0-10325-X.
28. Sobamowo H, Prabhakar SS. The kidney in aging: physiological changes and pathological implications. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017;146:303–40. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2016.12.018.
29. Rex N, Melk A, Schmitt R. Cellular senescence and kidney aging. *Clin Sci (Lond)*. 2023;137(24):1805–21. DOI: 10.1042/CS20230140.
30. Kotob MHA, Hussein A, Abd-Elkareem M. Histopathological changes of kidney tissue during aging. *SVU-Int J Vet Sci*. 2021;4(1):54–65. DOI: 10.21608/svu.2021.55868.1092.
31. Hassawi WW, Al-Sammak MA. Impact of aging on kidneys of male Wistar albino rats: the protective antiaging role of resveratrol. *J Appl Nat Sci*. 2023;15(3):926–36. DOI: 10.31018/jans.v15i3.4663.
32. Kriz W. The pathogenesis of ‘classic’ focal segmental glomerulosclerosis-lessons from rat models. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18 Suppl 6:vi39–44. DOI: 10.1093/ndt/gfg1064.
33. Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man. *Anat Rec*. 1992;232(2):194–201. DOI: 10.1002/ar.1092320205.
34. Márquez MG, Cabrera I, Serrano DJ, Sterin-Speziale N. Cell proliferation and morphometric changes in the rat kidney during postnatal development. *Anat Embryol (Berl)*. 2002;205(5-6): 431–40. DOI: 10.1007/s00429-002-0262-9.
35. Berkenkamp B, Susnik N, Baisantray A, Kuznetsova I, Jacobi C, Sörensen-Zender I et al. In vivo and in vitro analysis of age-associated changes and somatic cellular senescence in renal epithelial cells. *PLoS One*. 2014;9(2):e88071. DOI: 10.1371/journal.pone.0088071.
36. Hoenig MP, Brooks CR, Hoorn EJ, Hall AM. Biology of the proximal tubule in body homeostasis and kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2025;40(2):234–43. DOI: 10.1093/ndt/gfae177.
37. Subramanya AR, Ellison DH. Distal convoluted tubule. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(12):2147–63. DOI: 10.2215/CJN.05920613.

Информация об авторах

Давид Александрович Арешидзе – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Анна Игоревна Ануркина – младший научный сотрудник лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Мария Александровна Козлова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Валерий Петрович Черников – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Author information

David A. Arashidze – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0003-3006-6281>

Anna I. Anurkina – Junior Researcher, Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0009-0003-0011-1114>

Maria A. Kozlova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0001-6251-2560>

Valery P. Chrnnikov – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-3253-6729>

Опухоли оболочек периферических нервов, ассоциированные с нейрофиброматозом 1-го типа

Д.А. Мурзаева^{1,2}, А.А. Сушкевич³, П.П. Гришин⁴,
О.А. Сазонова⁴, А.А. Суфианов², Ю.М. Забродская^{1,4}

¹ Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А.Л. Поленова – филиал ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ Федеральный центр нейрохирургии Минздрава России (Тюмень), Тюмень, Россия

³ ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, Тюмень, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Нейрофиброматоз 1-го типа – наследственное заболевание, характеризующееся кожными и плексиформными нейрофибромами. К плексиформным нейрофибромам относят новообразования, поражающие несколько нервных пучков, покрытых периневрием. На разрезе опухоли имеют характерный вид «мешка червей». Синдромные нейрофибромы, связанные с нейрофиброматозом 1-го типа, составляют 10% от общего числа нейрофибром, отличаясь от спорадических большим размером, количеством опухолевых узлов и 5% риском злокачественной трансформации. Оба вида связаны с молекулярно-генетическими альтерациями в гене *NF1* на 17-й хромосоме.

В описанном клиническом случае в отделение поступил 21-летний мужчина с множественными кожными образованиями и пигментными пятнами типа «кофе с молоком». По данным магнитно-резонансной томографии определялась подкожная нейрофиброма в лобной области. Проведено хирургическое удаление опухоли и при гистологическом исследовании верифицировано наличие атипичской нейрофиброматозной опухоли неопределенного биологического потенциала, которая впервые была введена в классификацию опухолей центральной нервной системы Всемирной организации здравоохранения в 2021 году и может наблюдаться только у пациентов с нейрофиброматозом 1-го типа. Описание клинического случая демонстрирует течение, диагностику, хирургическое лечение и морфологические характеристики опухоли при нейрофиброматозе 1-го типа.

Пациенту рекомендовано наблюдение для контроля и своевременного лечения возможных осложнений, включая риск развития злокачественной опухоли оболочек периферического нерва.

Ключевые слова: наследственные опухолевые синдромы, нейрофиброма, опухоли нервов, предраковые поражения, нейроонкология

Для корреспонденции: Алина Александровна Сушкевич. E-mail: Sushkevich.03@mail.ru

Для цитирования: Мурзаева Д.А., Сушкевич А.А., Гришин П.П., Сазонова О.А., Суфианов А.А., Забродская Ю.М. Опухоли оболочек периферических нервов, ассоциированные с нейрофиброматозом 1-го типа. Клини. эксп. морфология. 2025;14(4):72–78. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.72-78.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 18.04.2025. Получена после рецензирования 07.05.2025. Принята в печать 12.05.2025.

Peripheral nerve sheath tumors associated with neurofibromatosis type 1

Д.А. Мурзаева^{1,2}, А.А. Sushkevich³, P.P. Grishin⁴,
О.А. Sazonova⁴, А.А. Sufianov², Yu.M. Zabrodskaia^{1,4}

¹ Polenov Neurosurgical Institute – a branch of the Almazov National Medical Research Center, Saint Petersburg, Russia

² Federal Center of Neurosurgery (Tyumen), Tyumen, Russia

³ Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

⁴ I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Abstract. Neurofibromatosis type 1 is a hereditary disorder characterized by cutaneous and plexiform neurofibromas. Plexiform neurofibroma is a tumor, involving multiple nerve fascicles, which are surrounded by the perineurium. The tumors look like a bag-of-worms on a cross-section. Syndromic neurofibromas, associated with neurofibromatosis type 1, account for 10% of all neurofibromas. They differ from the sporadic ones by their larger size, increased number, and a 5% risk of malignant transformation. Both types are

linked to alterations in the *NF1* gene on chromosome 17. This paper illustrates clinical course, diagnosis, surgical management, and morphological features of tumors in neurofibromatosis type 1 in a 21-year-old male who presented with multiple cutaneous lesions and café au lait macules. MRI revealed a subcutaneous neurofibroma in the frontal region. Surgical excision was performed, and histopathological examination confirmed the presence of an atypical neurofibromatous neoplasm of uncertain biologic potential that is specific only to patients with neurofibromatosis type 1. The patient was monitored for timely management of potential complications, including the risk of malignant peripheral nerve sheath tumor development. The World Health Organization introduced this type of tumor in the classification of tumours of the central nervous system in 2021.

Keywords: hereditary tumor syndromes, neurofibroma, nerve tumors, premalignant lesions, neuro-oncology

Corresponding author: Alina A. Sushkevich. E-mail: Sushkevich.03@mail.ru

For citation: Murzaeva D.A., Sushkevich A.A., Grishin P.P., Sazonova O.A., Sufianov A.A., Zabrodskaya Yu.M. Peripheral nerve sheath tumors associated with neurofibromatosis type 1. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):72–78 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.72-78.

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

Received 18.04.2025. **Received in revised form** 07.05.2025. **Accepted** 12.05.2025.

Введение

Нейрофибромы – доброкачественные опухоли оболочек периферических нервов, представленные неопластическими шванновскими клетками и фибробластами. Различают спорадические и ассоциированные с нейрофиброматозом 1-го типа (НФ1) нейрофибромы. Несмотря на благоприятный клинический прогноз, новообразования несут в себе потенциал малигнизации и могут иметь склонность к перерождению в злокачественную опухоль оболочек периферических нервов (ЗООПН), особенно у пациентов с нейрофиброматозом 1-го типа [1–3]. Заболевание передается аутосомно-доминантным путем, что подразумевает достаточность наличия мутантного гена только у одного из родителей, а кроме того, могут наблюдаться мозаичные формы патологии [4]. Частота встречаемости НФ1 составляет примерно один случай на 3000–3500 новорожденных. НФ1 относится к группе факоматозов, или семейных опухолевых синдромов, характеризующихся развитием опухолей нервной системы и кожи.

Диагностика НФ1 основана на наличии специфических клинических критериев, среди которых особое значение имеют кожные и плексиформные нейрофибромы (ПН). Кожные нейрофибромы представляют собой мягкие безболезненные узелки телесного или коричневатого цвета, выступающие над поверхностью кожи. Они могут быть единичными либо множественными, варьировать в размерах и локализоваться на любых участках тела [5]. ПН в отличие от кожных растут диффузно, вращаясь в нервные сплетения и окружающие ткани, и имеют более высокий риск малигнизации. ПН обладают особым характером роста, так называемый «мешок с червями», способны поражать разные органы и ткани, в частности множество нервных пучков или целые нервные сплетения, вызывая боль, парестезии и косметические неудобства, что значительно снижает качество жизни пациентов [3, 6, 7]. Такие опухоли обычно врожденные и развиваются у более чем 50% пациентов с НФ1 [4]. L. Messersmith

и K. Krauland в своем исследовании отметили, что одиночные доброкачественные опухоли оболочек периферических нервов без критериев НФ1 относят к спорадическим нейрофибромам, частота возникновения которых составляет около 90%, в то время как ассоциированные с НФ1 (синдромные) лишь 10% [4]. Подвиды нейрофибром отличаются по клинико-анамнестическим характеристикам, молекулярному патогенезу, данным лучевых и морфологических исследований, а также по прогнозу. Тем не менее макроскопически эти подвиды нейрофибром не имеют отличий, за исключением размеров, которые обычно крупнее при НФ1. Нейрофибромы обоих видов – спорадические и синдромные – возникают в результате молекулярно-генетических альтераций в гене нейрофибромина *NF1*, расположенного на длинном плече 17-й хромосомы [3, 5, 7]. Далее представлен клинический случай синдром-ассоциированной нейрофибромы правой лобной области у молодого мужчины с подтвержденным диагнозом «нейрофиброматоз 1-го типа».

Клиническое наблюдение

Пациент, 21-летний мужчина, поступил в нейрохирургическое отделение с жалобами на наличие пятен коричневого цвета по всему телу и множественных безболезненных образований на лице, спине, конечностях, вызывающих дискомфорт, мягкой консистенции при пальпации. При проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) в левой гемисфере мозжечка и перивентрикулярных отделах теменных долей выявлены участки аномального МР-сигнала в режимах T2 и Flair, без четких контуров, без признаков патологического накопления контрастного вещества, также определялась подкожная нейрофиброма правой лобной области (рис. 1); данных за наличие глиом оптического тракта, других новообразований не было. Присутствие соматической патологии пациент отрицал. При офтальмологическом осмотре выявлены множественные пигментные гамарты радужки глаза (узелки Лиша). По данным

объективного осмотра общее состояние было удовлетворительное; аномалии развития костно-суставной системы не выявлены. На кожных покровах туловища отмечены многочисленные коричневые пятна, которые, со слов пациента, были у него с 5 лет, в динамике увеличивались и составляли на момент осмотра более 15 мм в диаметре; также имели место веснушки в подмышечных впадинах, в связи с чем пациент наблюдался у генетика с диагнозом «нейрофиброматоз 1-го типа», поставленным на основании клинической картины.

Проведены клинический осмотр родственников первой линии и сбор анамнеза, однако данные за наличие наследственного опухолевого синдрома не выявлены. Симптомов поражения дыхательной, сердечно-сосудистой, мочеполовой системы, желудочно-кишечного тракта, признаков неврологического дефицита не было. Локально в правой лобной области пальпировалось плотноэластическое образование, размеры которого превышали 5 см. Определены показания к хирургическому лечению и проведено микрохирургическое вмешательство. Интраоперационно выявлена опухоль желто-серого цвета относительно плотной консистенции без четких границ; она прорастала через все слои кожи и надкостницу, имела интенсивное кровоснабжение.

Микроскопически новообразование обладало низкой и умеренной клеточностью, имело преимущественно пучковый тип строения, состояло из веретеновидных биполярных клеток с ассиметричными гиперхромными ядрами с заостренными концами и скудной цито-

плазмой. Отмечен умеренно выраженный клеточно-ядерный полиморфизм, также имел место второй пул клеток – фибробластов с округло-овальными ядрами, с заметными ядрышками, расположенных в выраженной коллагенозной строме (рис. 2 А). Микроокружение опухоли было представлено обильной лимфоплазмочитарной, гистиоцитарной инфильтрацией в очагово миксоидной строме; выявлялись единичные митотические фигуры (1 митоз на 1 мм²). Наблюдалось очаговое нарастание клеточности, клеточно-ядерного полиморфизма с потерей архитектуры рисунка; по краю образования были выявлены фрагменты нервных стволиков с дистрофическими изменениями, поперечно-полосатых мышц, жировой ткани. При окрашивании по ван Гизону выделялась выраженная фибропластика в стромальном компоненте опухоли, очагово с формированием структур типа «тертой моркови».

При иммуногистохимическом окрашивании отмечались ядерная локализация реакции с антителами к SOX10 (Dako, Дания; 1:100) в популяции шванновских клеток, наличие реакции на Collagen IV (Dako, Дания; 1:100), цитоплазматическая реакция на CD34 (Dako, Дания; 1:100) в фибробластическом компоненте; имела место потеря реакции на белок NF1 нейрофибромин (Cell Marque; 1:50) (рис. 2 В–D).

По данным послеоперационного гистологического исследования подтверждено наличие атипической нейрофиброматозной опухоли неопределенного биологического потенциала (АНОНБП, ANNUPB, atypical neurofibromatous neoplasm of uncertain biological potential), которая впервые введена в классификацию опухолей центральной нервной системы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ ЦНС) в 2021 году и наблюдается только при нейрофиброматозе 1-го типа. У пациентов без наследственного опухолевого синдрома новообразование относят к категории «атипическая нейрофиброма». Также стоит подчеркнуть, что степень гистологической анаплазии всех других подтипов нейрофибром относится к grade 1 (ВОЗ ЦНС 2021), в то время как grade АНОНБП не определен, поскольку данный подтип рассматривается как предшественник ЗООПН и имеет более неблагоприятный прогноз.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра имени В.А. Алмазова (протокол № 2502-22 от 21.02.2022).

Обсуждение

Спорадические и синдромные нейрофибромы являются результатом делеции в гене *NF1*, однако в случае спорадических опухолей генетическая мутация наблюдается изолированно в неопластических клетках, в то время как при НФ1 поражается зародышевая линия [4]. А. Вуй и др. в своей работе отмечают, что потеря генов *p53* и *NF1* в сочетании с внешними и внутренними факторами (микроокружение, коллагеновая стром,

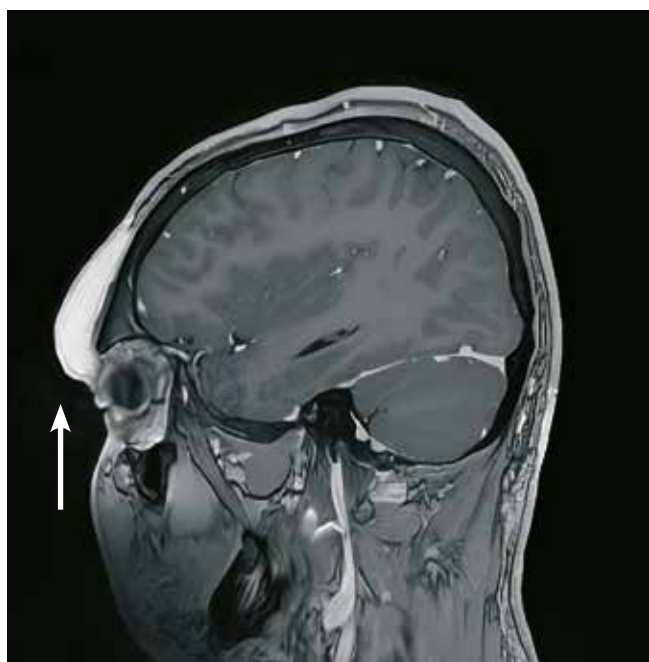


Рис. 1. Клинико-рентгенологические данные. МР картина подкожной нейрофибромы правой лобной области (стрелка)

Fig. 1. Clinical and X-ray data. MRI images of a subcutaneous neurofibroma in the right frontal region (arrow)

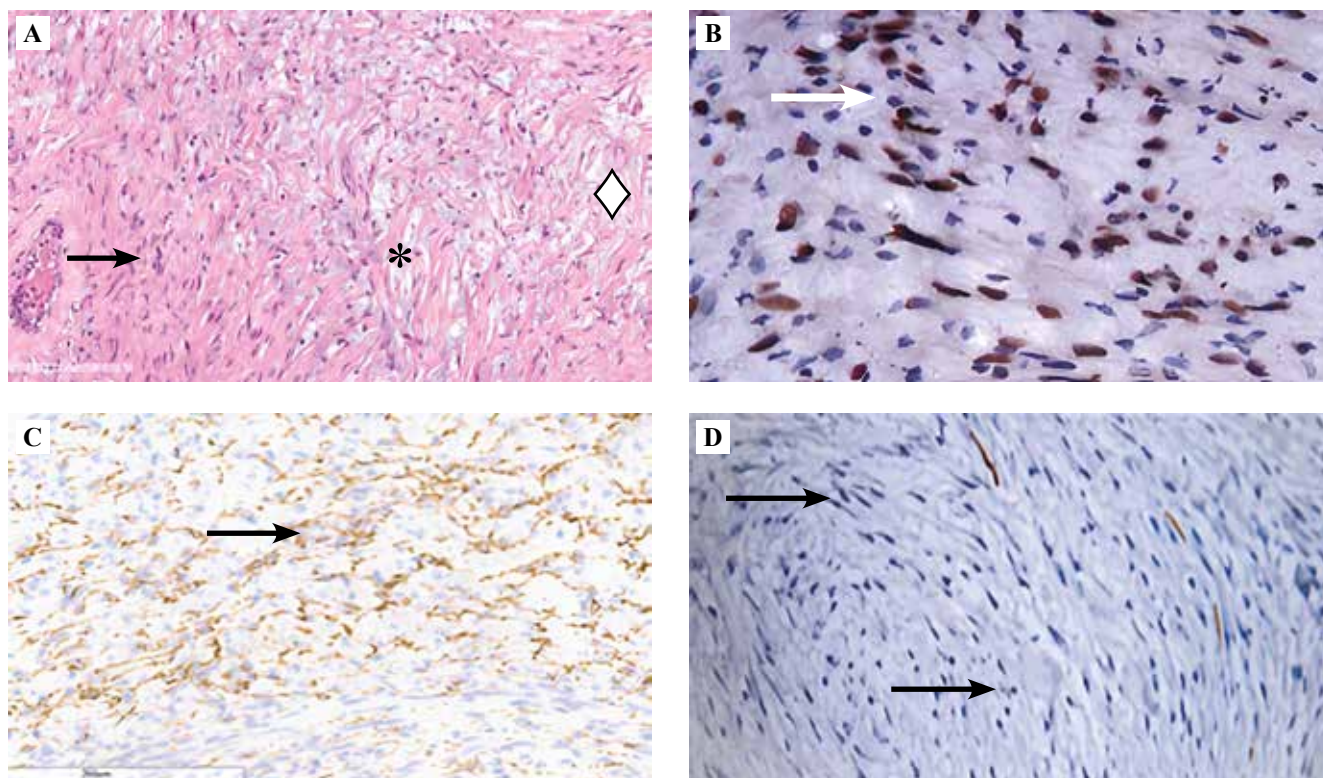


Рис. 2. Результаты морфологического исследования атипичной нейрофиброматозной опухоли неопределенного биологического потенциала.

А – опухоль, представленная веретеновидными клетками с гиперхромными ядрами (черная стрелка), шванновскими клетками и фибробластами, отмечается рисунок «тертой морковки» (черная звездочка), миксоматоз стромы (белый ромб); окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; В – положительная ядерная реакция на SOX10 в неопластических шванновских клетках (белая стрелка), $\times 400$; С – положительная цитоплазматическая реакция на CD34 в фибробластическом компоненте (черная стрелка), $\times 200$; D – потеря реакции на нейрофибрин (NF1) в опухоли (черная стрелка), $\times 200$

Fig. 2. Histological examination of an atypical neurofibromatous neoplasm of uncertain biologic potential.

A – benign tumor consists of spindle cells with hyperchromatic nuclei (black arrow), Schwann cells, and fibroblasts, a “shredded carrot” pattern (black star) and myxoid stroma (white rhomb). H&E stain, $\times 400$; B – positive expression of SOX10 in neoplastic Schwann cells (white arrow), $\times 400$; C – positive expression of CD34 in fibroblastic component (black arrow), $\times 200$; D – negative expression of neurofibromin (NF1) in the tumor (black arrow), $\times 200$

кровеносные сосуды) приводит в активное состояние каскадные пути (например, RAS-сигнальный путь), что потенциально может использоваться в качестве мишени таргетной терапии [8–10].

Дебют синдромных нейрофибром наблюдается еще в детском возрасте, а к 20 годам у пациента имеются все признаки патологии. В описанном нами клиническом случае четко прослеживаются длительный анамнез развития заболевания и появление первых признаков наследственного опухолевого синдрома еще в детстве. По данным литературы, средний возраст пациентов с ЗООПН на 10–15 лет меньше (28 лет), чем средний возраст пациентов со спорадическими новообразованиями (41 год) [11].

Клинические особенности спорадических и синдромных опухолей могут иметь общие черты, поскольку интенсивность проявлений коррелирует с площадью поражения, локализацией очага, иногда с местнодеструктурирующим ростом и может варьировать от бес-

симптомного образования до развития выраженного болевого синдрома, неврологического дефицита [2, 3, 5–8, 10, 12]. Известны широкая вариабельность клинических симптомов у пациентов, а также случаи сочетания с синдромом Нунан, болезнью моямая, расстройствами аутистического спектра, кардиомиопатиями, эпилепсиями; при мозаицизме облигатные признаки заболевания могут отсутствовать. Больше того, при наличии злокачественных глиом у пациентов детского возраста с пятнами коричневого цвета возникает необходимость исключать синдром дефицита репарации ошибочно спаренных нуклеотидов [2, 3, 5–8, 10, 12].

Для постановки диагноза «нейрофиброматоз 1-го типа» необходимо наличие двух и более признаков из следующих: (1) ≥ 6 пятен цвета кофе с молоком диаметром более 5 мм у детей и более 15 мм у взрослых; (2) подмышечные или паховые веснушки (симптом Кроува); (3) ≥ 2 нейрофибром любого типа либо одна плексиформная нейрофиброма; (4) глиома

зрительного тракта (чаще пилоцитарная астроцитома); (5) две или более гамартумы радужной оболочки (узелки Лиша) либо две или более хориоидальные аномалии; (6) характерная костная аномалия (антелатеральное искривление большеберцовой кости, псевдоартроз длинной кости, дисплазия клиновидной кости); (7) гетерозиготная патогенная вариация НФ1 с долей варианта 50% в нормальной ткани; (8) родитель с НФ1 (по перечисленным выше критериям) (Национальные институты здравоохранения США, 1987). По критериям Legius (2021) при наличии родственника первой линии с нейрофиброматозом 1-го типа достаточно одного клинического признака [3, 7, 10, 12–17]. В нашем случае у пациента присутствовали признаки 1, 2, 3 и 5 из перечисленных, что позволяет диагностировать наличие наследственного опухолевого синдрома. В связи с этим в динамическом наблюдении пациента необходима повышенная онкологическая настороженность в обследовании всех систем и органов.

Лучевая диагностика. В исследованиях R. Ferner отмечается, что плексиформные нейрофибромы могут быть как диффузными, так и узловыми, последние составляют около 15% случаев нейрофибром при НФ1 и частота их обнаружения при МРТ в 2–3 раза выше, чем при клиническом осмотре [5]. P. Debs et al., U. Thakur et al. [18, 19] дают следующие МРТ-характеристики нейрофибром: 1) локализованная нейрофиброма – веретенновидное образование с четким контуром, изо- или слабогиперинтенсивным сигналом, симптомом расщепления жировой клетчатки; 2) диффузная нейрофиброма – бляшковидное или инфильтративное образование в подкожной клетчатке с неспецифическими сигнальными характеристиками; 3) плексиформная нейрофиброма – диффузное неравномерное утолщение нервов и их ветвей на большом протяжении, неспецифические сигнальные характеристики, отсутствует узловатость структуры, характерен симптом мишени (гипоинтенсивная зона в центре). В нашем клиническом случае помимо нейрофибром у пациента наблюдались неопухолевые очаги T2-гиперинтенсивного МР-сигнала в веществе головного мозга, которые не требуют лечения и характерны для пациентов с НФ1 [16].

Морфологическая картина. При гистологическом исследовании синдромные и спорадические опухоли состоят из шванновских клеток и фибробластов, могут наблюдаться рисунок «тертой моркови», псевдомейснеровские тельца; в синдромных опухолях отмечается потеря экспрессии белка нейрофибромина NF1; в атипичных формах при наличии альтерации CDKN2A/B будет наблюдаться потеря экспрессии p16 [4]. Для ПН характерно наличие специфического микроокружения, в состав которого входят гистиоциты, Т-лимфоциты и макрофаги, играющие непосредственную роль в прогрессировании опухолей нервов [13]. Диффузные нейрофибромы не имеют капсулы, плохо ограничены, могут захватывать прилежащие мягкие

ткани, часто содержат псевдомейснеровские тельца. S.M. Belakhova и F.J. Rodriguez допускают возможность сосуществования нескольких подтипов нейрофибром в одном очаге [20].

Атипичные нейрофибромы характеризуются наличием как минимум двух из следующих признаков: 1) цитологическая атипия; 2) гиперклеточность; 3) потеря архитектуры нейрофибромы (при окрашивании гематоксилином и эозином и/или CD34); 4) количество митозов $>0,2$ и $<1,5$ на 1 мм^2 . Результаты проведенного нами морфологического исследования в сочетании с клинической картиной и признаками местноинфильтративного роста опухоли свидетельствуют в пользу диагноза «атипичная нейрофиброматозная опухоль с неизвестным биологическим потенциалом». Это считается предраковым или ранним злокачественным изменением, которое не соответствует диагностическим критериям ЗООПН, но связано с повышенным риском прогрессирования в ЗООПН [20].

Злокачественные опухоли и их прогноз. Пациенты с НФ1 на протяжении всей жизни имеют 8–13% вероятность возникновения ЗООПН, что является одной из ведущих причин смерти [20]. Около 25–50% случаев ЗООПН возникает на фоне нейрофиброматоза 1-го типа [13, 15]. В исследовании B.C. Widemann 5-летняя выживаемость пациентов с ЗООПН, ассоциированной с НФ1, составила 16–38%, а при спорадических ЗООПН от 42 до 57% [1]. По другим данным, 5-летняя выживаемость в обоих случаях составляла 47,2–63,4% и 76,8%, соответственно [21]. При этом 3-летняя частота местных рецидивов ЗООПН достигает 42,9%, а отдаленных метастазов 49,3% [22].

Представленный нами клинический случай описывает АНОНБП, ассоциированную с НФ1 у 21-летнего мужчины. У пациента с детства имелись характерные для НФ1 пятна цвета кофе с молоком, веснушки, узелки Лиша и множественные безболезненные подкожные образования по всему телу. Наличие участков аномального сигнала в левой гемисфере мозжечка и перивентрикулярных отделах темных долей по данным МРТ характерно для НФ1. Данные отклонения описаны в литературе как неопухолевые изменения головного мозга и требуют дифференциальной диагностики с новообразованиями. Наличие объемного образования размером более 5 см, снижающего качество жизни пациента, послужило основанием для хирургического вмешательства. Гистологическое исследование позволило провести дифференциальную диагностику с другими опухолями нервов, определить подтип и степень гистологической анаплазии.

Заключение

Описанный клинический случай представляет атипичную нейрофиброматозную опухоль неопределенного биологического потенциала, которая впервые была введена в классификацию опухолей центральной нервной системы, разработанную Всемирной органи-

защитой здравоохранения в 2021 году, и наблюдается у пациентов с нейрофиброматозом 1-го типа. Выявление данной нозологии крайне важно в клинической практике онкопатологов, онкологов, генетиков и нейрохирургов для своевременного лечения данного предракового состояния, что позволяет предотвратить развитие злокачественных опухолей оболочек периферических нервов и улучшить не только качество жизни пациентов, но и прогноз. Необходимы дальнейшие исследования для разработки таргетной терапии с целью лечения нейрофибром у неоперабельных пациентов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.А. Мурзаева.
Сбор и обработка материала – А.А. Сушкевич, П.П. Гришин, О.А. Сазонова.
Написание текста – Д.А. Мурзаева, А.А. Сушкевич.
Редактирование – Д.А. Мурзаева, А.А. Суфианов, Ю.М. Забродская.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – D.A. Murzaeva.
Collected the data and performed the analysis – A.A. Sushkevich, P.P. Grishin, O.A. Sazonova.
Wrote the paper – D.A. Murzaeva, A.A. Sushkevich.
Edited the manuscript – D.A. Murzaeva, A.A. Sufianov, Yu.M. Zabrodskaya.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Widemann BC. Current status of sporadic and neurofibromatosis type 1-associated malignant peripheral nerve sheath tumors. *Curr Oncol Rep.* 2009;11(4):322–8. DOI: 10.1007/s11912-009-0045-z.
2. Шелеско Е.В., Черникова Н.А., Зинкевич Д.Н., Чернов И.В., Белов А.И., Рыжова М.В. и др. Редкий случай синоназальной нейрофибромы с интраорбитальным распространением и разрушением костей основания черепа. *Head and neck. Голова и шея. Российский журнал.* 2023;11(1):37–43. DOI: 10.25792/HN.2023.11.1.37–43.
Shelesko EV, Chernikova NA, Zinkevich DN, Chernov IV, Belov AI, Ryzhova MV et al. A rare case of sinonasal neurofibroma with intraorbital spread and destruction of the skull base bones. *Head and neck. Russian Journal.* 2023;11(1):37–43 (In Russ.). DOI: 10.25792/HN.2023.11.1.37–43.
3. Диникина Ю.В. Нейрофиброматоз 1-го типа и ассоциированные заболевания: педиатрические аспекты диагностики, наблюдения, терапии. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2024;103(6):182–197. DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-6-182-197.
Dinikina YuV. Neurofibromatosis type 1 and associated diseases – pediatric aspects of diagnosis, monitoring and therapy: a bibliographical review. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky.* 2024;103(6):182–197 (In Russ.). DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-6-182-197.
4. Messersmith L, Krauland K. Neurofibroma. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2023. PMID: 30969529.
5. Ferner RE, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1 (NF1): diagnosis and management. *Handb Clin Neurol.* 2013;115:939–55. DOI: 10.1016/B978-0-444-52902-2.00053-9.
6. Kresak JL, Walsh M. Neurofibromatosis: a review of NF1, NF2, and schwannomatosis. *J Pediatr Genet.* 2016;5(2):98–104. DOI: 10.1055/s-0036-1579766.
7. Михайлова С.Н., Козлова В.М., Казубская Т.П., Шарпова Е.В., Юрченко М.Ю., Хестанов Д.Б. и др. Злокачественные опухоли у детей с нейрофиброматозом тип 1. *Вопросы онкологии.* 2021;67(3):421–429. DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-3-421-429.
Mikhaylova SN, Kozlova VM, Kazubskaya TP, Sharapova EV, Yurchenko MYu, Khestanov DB et al. Malignant tumors in children with neurofibromatosis Type 1. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology.* 2021;67(3):421–429 (In Russ.). DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-3-421-429.
8. Bui A, Jiang C, McKay RM, Klesse LJ, Le LQ. Insights into the pathogenesis of NF1-associated neoplasms. *JID Innov.* 2021;1(3):100044. DOI: 10.1016/j.xjidi.2021.100044.
9. Borovika A, Deksnis R, Zariņš J, Isajevs S. Rare malignant peripheral nerve sheath tumor of vagus nerve: a case report. *Int J Surg Case Rep.* 2023;104:107940. DOI: 10.1016/j.ijscr.2023.107940.
10. Пивоварова А.М., Дорофеева М.Ю., Забродина А.Р., Боченко С.В., Григорьева А.В., Горчханова З.К. и др. Лекарственная терапия плеksiформных нейрофибром при нейрофиброматозе 1-го типа. Возможные нежелательные явления и их коррекция. *Русский журнал детской неврологии.* 2024;19(2):8–19. DOI: 10.17650/2073-8803-2024-19-2-8-19.
Pivovarova AM, Dorofeeva MYu, Zabrodina AR, Bochenkov SV, Grigoryeva AV, Gorchkhanova ZK et al. Pharmacotherapy of plexiform neurofibromas in patients with neurofibromatosis type 1. Possible adverse events and their management. *Russian Journal of Child Neurology.* 2024;19(2):8–19 (In Russ.). DOI: 10.17650/2073-8803-2024-19-2-8-19.
11. Friedman JM. Neurofibromatosis 1: clinical manifestations and diagnostic criteria. *J Child Neurol.* 2002;17(8):548–54. DOI: 10.1177/088307380201700802.
12. Макашова Е.С., Карандашева К.О., Золотова С.В., Гинзберг М.А., Дорофеева М.Ю., Галкин М.В. и др. Нейрофиброматоз: анализ клинических случаев и новые диагностические критерии. *Нервно-мышечные болезни.* 2022;12(1):39–48. DOI: 10.17650/2222-8721-2022-12-1-39-48.
Makashova ES, Karandasheva KO, Zolotova SV, Ginzberg MA, Dorofeeva MYu, Galkin MV et al. Neurofibromatosis: analysis of clinical cases and new diagnostic criteria. *Neuromuscular Diseases.* 2022;12(1):39–48 (In Russ.). DOI: 10.17650/2222-8721-2022-12-1-39-48.
13. Мустафин Р.Н. Роль мутаций в гене *NF1* в спорадическом канцерогенезе. *Успехи молекулярной онкологии.* 2021;8(3):25–33. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.
Mustafin RN. The role of mutations in *NF1* gene in sporadic carcinogenesis. *Advances in Molecular Oncology.* 2021;8(3):25–33 (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.
14. Carmi D, Shohat M, Metzker A, Dickerman Z. Growth, puberty, and endocrine functions in patients with sporadic or familial neurofibromatosis type 1: a longitudinal study. *Pediatrics.* 1999;103(6 Pt 1):1257–62. DOI: 10.1542/peds.103.6.1257.

15. Мустафин Р.Н., Хуснутдинова Э.К. Роль эпигенетических факторов в патогенезе нейрофиброматоза 1-го типа. Успехи молекулярной онкологии. 2017;4(3):37–49. DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-3-35-49.
Mustafin RN, Khusnutdinova EK. The role of epigenetic factors in the pathogenesis of neurofibromatosis type 1. Advances in Molecular Oncology. 2017;4(3):37–49 (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-3-35-49.
16. Griffith JL, Morris SM, Mahdi J, Goyal MS, Hershey T, Gutmann DH. Increased prevalence of brain tumors classified as T2 hyperintensities in neurofibromatosis 1. Neurol Clin Pract. 2018;8(4):283–91. DOI: 10.1212/CPJ.0000000000000494.
17. Legius E, Messiaen L, Wolkenstein P, Pancza P, Avery RA, Berman Y et al. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. Genet Med. 2021;23(8):1506–13. DOI: 10.1038/s41436-021-01170-5.
18. Debs P, Luna R, Fayad LM, Ahlawat S. MRI features of benign peripheral nerve sheath tumors: how do sporadic and syndromic tumors differ? Skeletal Radiol. 2024;53(4):709–23. DOI: 10.1007/s00256-023-04479-1.
19. Thakur U, Ramachandran S, Mazal AT, Cheng J, Le L, Chhabra A. Multiparametric whole-body MRI of patients with neurofibromatosis type I: spectrum of imaging findings. Skeletal Radiol. 2025;54(3):407–22. DOI: 10.1007/s00256-024-04765-6.
20. Belakhova SM, Rodriguez FJ. Diagnostic pathology of tumors of peripheral nerve. Neurosurgery. 2021;88(3):443–56. DOI: 10.1093/neuros/nyab021.
21. Sharma MR, Puj KS, Salunke AA, Pandya SJ, Gandhi JS, Parikh AR. Malignant peripheral nerve sheath tumor with analysis of various prognostic factors: a single-institutional experience. J Cancer Res Ther. 2021;17(1):106–13. DOI: 10.4103/jert.JCRT_854_19.
22. Yao C, Zhou H, Dong Y, Alhaskawi A, Hasan Abdullah Ezzi S, Wang Z et al. Malignant peripheral nerve sheath tumors: latest concepts in disease pathogenesis and clinical management. Cancers (Basel). 2023;15(4):1077. DOI: 10.3390/cancers15041077.

Информация об авторах

Джамиля Адильхановна Мурзаева – аспирантка 3-го курса кафедры патологической анатомии РНХИ им. проф. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова, врач-патологоанатом Федерального центра нейрохирургии (Тюмень).

Алина Александровна Сушкевич – студентка 4-го курса кафедры патологической анатомии института клинической медицины Тюменского ГМУ.

Платон Платонович Гришин – студент 5-го курса кафедры патологической анатомии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Ольга Анатольевна Сазонова – ассистент кафедры патологической анатомии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Альберт Акрамович Суфианов – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный врач Федерального центра нейрохирургии (Тюмень).

Юлия Михайловна Забродская – доктор медицинских наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией патоморфологии нервной системы РНХИ им. проф. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова, заведующая кафедрой патологической анатомии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Author information

Dzhamilya A. Murzaeva – 3rd-year Postgraduate Student, Department of Pathology, Polenov Neurosurgical Institute – a branch of the Almazov National Medical Research Center; Pathologist, Federal Center of Neurosurgery (Tyumen).
<https://orcid.org/0000-0002-2801-4485>

Alina A. Sushkevich – 4th-year Student, Department of Pathology, Institute of Clinical Medicine, Tyumen State Medical University.
<https://orcid.org/0009-0006-1235-0130>

Platon P. Grishin – 5th-year Student, Department of Pathology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University.
<https://orcid.org/0009-0004-3871-5324>

Olga A. Sazonova – Assistant, Department of Pathology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University.
<https://orcid.org/0009-0002-3742-9786>

Albert A. Sufianov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Medical Officer, Federal Center of Neurosurgery (Tyumen).
<https://orcid.org/0000-0001-7580-0385>

Yulia M. Zabrodskaya – Dr. Sci. (Med.), Head of the Research Laboratory of Pathomorphology of the Nervous System, Polenov Neurosurgical Institute – a branch of the Almazov National Medical Research Center; Head of Department of Pathology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-6206-2133>

XV пленум Российского общества патологоанатомов

XV Conference of the Russian Society of Pathology

6–7 июня 2025 года в Нижнем Новгороде прошел XV пленум Российского общества патологоанатомов (РОП). Пленум был весьма представительным – более 400 участников из разных городов России. Из Института морфологии человека имени академика А.П. Авцына в пленуме приняли участие восемь человек. Основная тематика программы была посвящена инновационным технологиям в практике патологоанатомических исследований. В рамках пленума прошла школа лаборантов-гистологов под названием «Лабораторная диагностика под микроскопом: преаналитические вызовы». Для молодых специалистов на пленуме работали мастер-классы, которые провели ведущие специалисты.

Программа пленума оказалась очень насыщенной и включала в себя вопросы организации патологоанатомической службы, ее нормативного регулирования, подготовки кадров патологоанатомов, совершенствования прижизненной и посмертной морфологической диагностики, внедрения в патологоанатомическую практику новейших достижений науки, инновационных и цифровых технологий. С докладами от Института морфологии человека на пленарных и секционных заседаниях выступили член-корреспондент РАН Л.М. Михалева, член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский, кандидат медицинских наук Р.В. Деев, доктор медицинских наук Н.В. Низяева, кандидат медицинских наук К.Ю. Мидибер, Н.А. Гутырчик, А.А. Тебенкова.

Горячая дискуссия разгорелась на круглом столе по вопросам организации патологоанатомической службы и ее нормативного регулирования. Отмечены были трудности и нерешенные проблемы. Для концентрации усилий по совершенствованию патологоанатомической службы принято решение создать на базе НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» на функциональной основе Федеральный организационно-методический центр патологической анатомии. Этот центр позволит в рамках РОП наладить обмен передовым опытом, содействовать подготовке кадров





патологоанатомов, проведению научно-практических мероприятий, разработке нормативных и методических документов, проводить апробацию и внедрение в патологоанатомическую практику новых методов исследования, а также новых образцов оборудования и приборов. Центр продолжит добрые традиции, заложенные профессорами Г.Г. Автандиловым и И.А. Казанцевой на базе центральной патологоанатомической лаборатории института.

Прошедший пленум РОП внес существенный вклад в объединение патологоанатомов страны, работающих в сфере научной, практической и педагогической деятельности.

*Л.В. Кактурский,
почетный член президиума
Российского общества патологоанатомов,
член-корреспондент РАН*