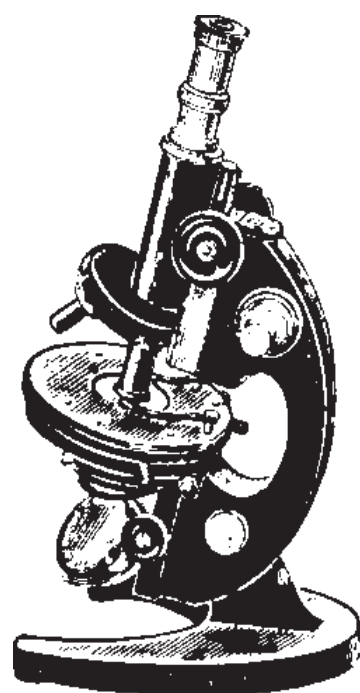


ISSN 1812-3171 (Print)
ISSN 2686-8741 (Online)

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВЕДОМОСТИ

MORPHOLOGICAL NEWSLETTER



Том (Vol) 31

№ 3

2023

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ВЕДОМОСТИ
MORPHOLOGICAL
NEWSLETTER
MORFOLOGICHESKIE
VEDOMOSTI**

Журнал включен в итоговую категорию К2 действующего Перечня рецензируемых научных изданий Высшей аттестационной комиссии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований

The Journal included in the current List of Periodicals recommended by the Higher Attestation Commission of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for publication of the main results of Theses

WWW.MORPHOLETTER.COM

**Том (Vol) 31 № 3
САНКТ – ПЕТЕРБУРГ
SAINT – PETERSBURG
2023**



РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ АНАТОМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

профессор, академик РАН И.Н. Боголепова

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

профессор И.И. Марков

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

профессор В.Н. Николенко

ОТВЕТСТВЕННЫЙ РЕДАКТОР

профессор, действительный член РАЕН Р.М. Хайруллин

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

профессор Н.Т. Алексеева (Воронеж);
профессор В.П. Балашов (Саранск);
профессор Д. Бобинац (Риека, Хорватия);
профессор, член-корр. РАН Т.Г. Боровая (Москва);
профессор И. Варга (Братислава, Словакия);
профессор З.А. Воронцова (Воронеж);
профессор Д.К. Гармаева (Якутск);
профессор И.В. Гайворонский (Санкт-Петербург);
профессор Х. Дуке Парра (Манисалес, Колумбия);
профессор С.В. Ключкова (Москва);
профессор В.И. Козлов (Москва);
профессор Е.Н. Комиссарова (Санкт-Петербург);
профессор Б. Крамер (Йоханнесбург, ЮАР);
профессор Н.А. Лысов (Самара);
профессор, академик РАН Д.Б. Никитюк (Москва);
профессор И.А. Одинцова (Санкт-Петербург);
профессор Ф. Паульсен (Эрланген, Германия);
профессор Н. дэ Пратэс (Сан-Пауло, Бразилия);
профессор И.Н. Путалова (Омск);
профессор Е.В. Слесарева (Ульяновск);
профессор М. дель Соль (Темуко, Чили);
профессор Д.А. Старчик (Санкт-Петербург);
профессор Г. Теофиловски-Парапид (Белград, Сербия);
профессор Т.А. Цехмистренко (Москва);
профессор, академик РАН В.А. Черешнев (Екатеринбург);
профессор И.Н. Чаиркин (Москва);
профессор Е.Ю. Шаповалова (Симферополь);
профессор С.Е. Шемяков (Москва)

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций РФ (Роскомнадзор РФ) ПИ № ФС 77-68555 от 31.01.2017 г.

ISSN: 1812-3171 (Print)

ISSN: 2686-8741 (Online)

АДРЕС РЕДАКЦИИ ЖУРНАЛА

198099, Россия, г. Санкт-Петербург,
ул. Калинина, дом 8, корпус 2 литер А
редакция журнала
«Морфологические ведомости»
телефон: + 7 812 612-99-50
факс: +7 812 612-99-50
e-mail: morpholetter@gmail.com,
mail@spbreaviz.ru

УЧРЕДИТЕЛЬ ЖУРНАЛА

Медицинский университет РЕАВИЗ
443001, Россия, г. Самара,
ул. Чапаевская, дом 227,
телефон: + 7 846 333-54-51
факс: +7 846 270-49-47
e-mail: mail@reaviz.ru

ИЗДАТЕЛЬ

Медицинский университет РЕАВИЗ
443001, Россия, г. Самара,
ул. Чапаевская, дом 227,
телефон: + 7 846 333-54-51
факс: +7 846 270-49-47
e-mail: mail@reaviz.ru

Исполнительный директор

ректор Медицинского университета
РЕАВИЗ, профессор И.О. Прохоренко

Редакционно-издательский отдел

Руководитель отдела:
доцент С.Н. Юхимец
Оригинал-макет и верстка:
В.И. Маркова и Е.А. Самсонова
Перевод с английского:
профессор Р.М. Хайруллин
и доцент Т.В. Толстова

ПЕРИОДИЧНОСТЬ

Ежеквартальный журнал

ПОДПИСКА

Подписной индекс по каталогу Роспечать
«Газеты. Журналы» - 83223

Научные и информационные материалы
журнала рецензированы.

© Авторские права: копирование, распространение и использование материалов журнала с уведомлением редакции по свободной лицензии Creative Commons с указанием авторства, некоммерческой, с сохранением условий - CC BY-NC-SA.

Тираж 600 экз.



RUSSIAN NATIONAL SCIENTIFIC ANATOMICAL JOURNAL

EDITOR IN CHIEF

Professor, Academician of RAS **Irina Bogolepova**

DEPUTY EDITOR IN CHIEF

Professor **Igor Markov**

SCIENTIFIC EDITOR

Professor **Vladimir Nikolenko**

MANAGING EDITOR

Professor, Full Member of RANS **Radik Khayrullin**

EDITORIAL BOARD:

Professor **Nataliya Alekseeva** (Voronezh);
Professor **Vladimir Balashov** (Saransk);
Professor **Dragica Bobinac** (Rijeka, Croatia);
Professor, Corresponding Member of RAS
Tat'yana Borovaya (Moscow);
Professor **Ivan Chairkin** (Moscow);
Professor, Academician of RAS **Vladimir Chereshev**
(Ekaterinburg);
Professor **Jorge Duque Parra** (Manizales, Colombia);
Professor **Ivan Guyvoronsky** (Saint-Petersburg);
Professor **Darima Garmaeva** (Yakutsk);
Professor **Svetlana Klochko** (Moscow);
Professor **Elena Komissarova** (Saint-Petersburg);
Professor **Valentin Kozlov** (Moscow);
Professor **Beverley Kramer** (Johannesburg, South Africa);
Professor **Nikolay Lysov** (Samara);
Professor, Academician of RAS **Dmitry Nikityuk** (Moscow);
Professor **Irina Odintsova** (Saint-Petersburg);
Professor **Friedrich Paulsen** (Erlangen, Germany);
Professor **Nadir de Prates** (São Paulo, Brazil);
Professor **Irina Putalova** (Omsk);
Professor **Elena Shapovalova** (Simferopol');
Professor **Sergey Shemyakov** (Moscow);
Professor **Elena Slesareva** (Ulyanovsk);
Professor **Mariano del Sol** (Temuco, Chile);
Professor **Dmitry Starchik** (Saint-Petersburg);
Professor **Gordana Teofilovski-Parapid** (Belgrade, Serbia);
Professor **Tat'yana Tsekhmistrenko** (Moscow);
Professor **Ivan Varga** (Bratislava, Slovakia);
Professor **Zoya Vorontsova** (Voronezh)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications of the Russian Federation (Roskomnadzor of Russia)
PI No. FS 77-68555 of January 31, 2017
ISSN: 1812-3171 (Print)
ISSN: 2686-8741 (Online)

JOURNAL EDITORIAL BOARD ADDRESS

Editorial Board of the journal
«Morphological Newsletter»
Leater A bldg. 2
8 Kalinin Street
Saint-Petersburg, Russia RU 198099
phone: +7 812 612-99-50
fax: +7 812 612-99-50
e-mail: morpholetter@gmail.com,
mail@spbreviz.ru

FOUNDER OF THE JOURNAL

Medical University REAVIZ
227 Chapaevskaya street
Samara, Russia RU 443001
phone: +7 846 333-54-51
fax: +7 846 270-49-47
e-mail: mail@reaviz.ru

PUBLISHER

Medical University REAVIZ
227 Chapaevskaya street
Samara, Russia RU 443001
phone: +7 846 333-54-51
fax: +7 846 270-49-47
e-mail: mail@reaviz.ru

Executive Director -

Rector of Medical University REAVIZ
Professor Inga Prokhorenko

Publishing Department

Head of Department:
Associate Professor
Sergey Yukhimets

Original-layout and
typesetting: Valeriya Markova
and Ekaterina Samsonova
Translation to English:
Professor Radik Khayrullin
and Docent Tat'yana Tolstova

PERIODICITY

Quarterly journal

SUBSCRIPTION

Subscription index on the Catalogue «Newspapers. Journals» of the «Rospechat' Company» - 83223
Scientific and informational materials of the journal are peer-reviewed.

©Copyright: copying, distribution and use of journal materials only with notification of the editors under a free **Creative Commons** license with attribution, non-profit, subject to conditions - CC BY-NC-SA.
Circulation - 600 copies

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

«МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВЕДОМОСТИ - MORPHOLOGICAL NEWSLETTER»

публикует научные статьи по следующим шифрам научных специальностей
Номенклатуры научных специальностей, утвержденной Министерством науки и высшего
образования Российской Федерации, по которым присуждаются ученые степени по
состоянию на 24 октября 2023 года:

область науки

1 - естественные науки,

группа научных специальностей

1.5 - биологические,

научные специальности:

1.5.22 - клеточная биология (медицинские науки),

1.5.23 - биология развития, эмбриология (медицинские науки),

1.5.24 - нейробиология (медицинские науки),

1.5.24 - нейробиология (биологические науки);

область науки

3 - медицинские науки,

группа научных специальностей

3.3 - медико-биологические науки,

научные специальности:

3.3.1 - анатомия и антропология (медицинские науки),

3.3.2 - патологическая анатомия (медицинские науки),

3.3.2 - патологическая анатомия (биологические науки)

Область результатов научных исследований, публикуемых в журнале, соответствует
шифрам международной Универсальной десятичной классификации (УДК):

611 - анатомия и сравнительная анатомия,

572.5 - соматология,

572.7 - морфология;

кодам рубрикатора Государственного рубрикатора научно-технической информации
(ГРНТИ) Российской Федерации:

34.21.00 - эмбриология,

34.19.00 - цитология,

34.37.15 - морфологическая антропология,

34.41.00 - морфология человека и животных

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

«МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВЕДОМОСТИ - MORPHOLOGICAL NEWSLETTER»

ИНДЕКСИРУЕТСЯ И ДЕПОНИРУЕТСЯ РОССИЙСКИМИ И МЕЖДУНАРОДНЫМИ
НАУКОМЕТРИЧЕСКИМИ, ИНФОРМАЦИОННЫМИ И БИБЛИОГРАФИЧЕСКИМИ
БАЗАМИ ДАННЫХ И НАУЧНЫМИ БИБЛИОТЕКАМИ

THE SCIENTIFIC JOURNAL

**«MORPHOLOGICHESKIE VEDOMOSTI - MORPHOLOGICAL NEWSLETTER» IS
INDEXED AND DEPOSITED AT THE RUSSIAN AND INTERNATIONAL
SCIENTOMETRIC, INFORMATION AND BIBLIOGRAPHIC DATABASE
AND SCIENTIFIC LIBRARIES**

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Давлетбаева А.Р., Федорова А.М., Хисматуллина З.Р.
**СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АСТРОЦИТОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЯДРА
МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА КРЫС ЛИНИИ DAT-НЕТ** 7-13
- Лебедева Е.И.
**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА FAP+ И α -SMA+-КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫЕ
СРОКИ ТОКСИЧЕСКОГО ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ У КРЫС** 14-22
- Шаповалова Е.Ю., Марукян А.Х., Вадюхин М.А., Демяшкин Г.А.
**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА
КЕРАТИНОЦИТОВ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ФРАКЦИОННОГО
ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ** 23-29
- Каныгин В.В., Колдышева Е.В., Завьялов Е.Л., Разумов И.А., Соловьева О.И., Кичигин
А.И., Бутикова Е.А., Капустина В.И.
**СТРУКТУРНЫЕ РЕАКЦИИ СЕРДЦА И ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ CD-1 НА ОДНОКРАТНОЕ
ВВЕДЕНИЕ БОРКАПТАТА НАТРИЯ** 30-37
- Гальчин А.В.
**ЛИНЕЙНАЯ ДЛИНА ФАЛАНГ КИСТИ СОВРЕМЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ МОЛОДЫХ
ЛЮДЕЙ ПО ДАННЫМ РЕНТГЕНОВСКОЙ ОСТЕОМЕТРИИ И ИХ КОРРЕЛЯЦИИ** 38-44
- Саакян С.В., Каракаева Э.Б., Шаповалова Е.Ю., Зорин И.А., Демяшкин Г.А.
**ОМОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ТОЛСТОЙ
КИШКИ КРЫС ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ В ДОЗЕ 8 ГР** 45-50
- Фомина В.С., Гармаева Д.К.
**ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОМЕТРИИ ПЛАЦЕНТЫ ЖИТЕЛЬНИЦ РЕСПУБЛИКИ САХА
(ЯКУТИЯ) ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ** 51-58

ДИСКУССИИ

- Хомякова Н.В., Колоскова Э.Л., Сидоров И.И.
**СТРУКТУРА ПЕРЕДНЕГО ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ SUS SCROFA DOMESTICUS ПРИ
КРИОФИКСАЦИИ** 59-66

ИСТОРИЯ МОРФОЛОГИИ

- Пашенко П.С., Гайворонский И.В., Фандеева О.М., Хрусталева Ю.А., Соловьев К.В.
**ЭКСПОЗИЦИЯ АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ОГНЕСТРЕЛЬНЫХ РАНЕНИЙ
ВЕЛИКОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВОЙНЫ КАК УЧЕБНО-МАТЕРИАЛЬНАЯ БАЗА
ОБУЧЕНИЯ ВОЕННЫХ ВРАЧЕЙ** 67-73

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

- Романова Д.Г., Актемиров А.С., Бургомистрова В.М., Жариков Ю.О., Жарикова Т.С.
**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КОРРОЗИОННЫХ
АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ** 74-79
- Николенко В.Н., Кудрявцева В.А., Оганесян М.В., Ризаева Н.А., Болотская А.А.,
Жарикова Т.С.
**СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АНАТОМИИ ОПАСНОГО ТРЕУГОЛЬНИКА
ЛИЦА** 80-86

TABLE OF CONTENTS



RESEARCH ARTICLES

- Davletbaeva AR, Fedorova AM, Khismatullina ZR
**THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF ASTROCYTES OF THE AMYGDALA
COMPLEX CENTRAL NUCLEUS OF THE DAT-HET LINE RATS** 7-13
- Lebedeva EI
**THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL ASSESSMENT OF FAP+ AND
α-SMA+-CELLS IN DIFFERENT TIMES OF RAT TOXIC LIVER FIBROSIS** 14-22
- Shapovalova EYu, Marukyan AK, Vadyukhin MA, Demyashkin GA
**IMMUNOHISTOCHEMICAL ASSESSMENT OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS OF
KERATINOCYTES AFTER A SINGLE FRACTIONAL IONIZING IRRADIATION** 23-29
- Kanygin VV, Koldysheva EV, Zav'yalov EL, Razumov IA, Solovyova OI, Kichigin AI,
Butikova EA, Kapustina VI
**STRUCTURAL REACTIONS OF CD-1 MICE HEART AND LIVER TO A SINGLE
INJECTION OF BOROCAPTATE SODIUM** 30-37
- Gal'chin AV
**THE LINEAR LENGTH OF MODERN POPULATION'S YOUNG PEOPLE HANDS
PHALANGES ACCORDING TO X-RAY OSTEOLOGY AND THEIR CORRELATIONS** 38-44
- Saakyan SV, Karakaeva EB, Shapovalova EYu, Zorin IA, Demyashkin GA
**FEATURES OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS OF COLONIC EPITHELIOCYTES
AFTER ELECTRON IRRADIATION AT A DOSE OF 8 GY** 45-50
- Fomina VS, Garmaeva DK
**INDICATORS OF PLACENTAL MORPHOMETRY OF THE REPUBLIC SAKHA
(YAKUTIA) INDIGENOUS WOMEN AT PHYSIOLOGICAL PREGNANCY** 51-58

DISCUSSIONS

- Khomyakova NV, Koloskova EL, Sidorov II
**THE STRUCTURE OF THE ANTERIOR CORNEA EPITHELIUM OF THE SUS SCROFA
DOMESTICUS AT THE CRYOPHIXATION** 59-66

HISTORY OF MORPHOLOGY

- Pashchenko PS, Guyvoronsky IV, Fandeeva OM, Khrustalyova YuA, Solovyov KV
**THE EXPOSITION OF THE GREAT FATHERLAND WAR GUNSHOT WOUNDS ANA-
TOMICAL PREPARATIONS AS A LEARNING AND MATERIAL BASE FOR MILITARY
DOCTORS TRAINING** 67-73

SCIENTIFIC REVIEWS

- Romanova DG, Aktemirov AS, Burgomistrova VM, Zharikov YuO
**MODERN METHODS OF THE PRODUCING OF CORROSIVE ANATOMICAL
PREPARATIONS** 74-79
- Nikolenko VN, Kudryavtseva VA, Oganessian MV, Rizaeva NA, Bolotskaya AA, Zharikova TS
**THE MODERN DATA ABOUT THE ANATOMY OF A DANGEROUS TRIANGLE OF THE
FACE** 80-86

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АСТРОЦИТОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЯДРА МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА КРЫС ЛИНИИ DAT-HET

Давлетбаева А.Р., Федорова А.М., Хисматуллина З.Р.

Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия, e-mail: khabudinva@rambler.ru

Для цитирования:

Давлетбаева А.Р., Федорова А.М., Хисматуллина З.Р. Структурная организация астроцитов центрального ядра миндалевидного комплекса крыс линии DAT-HET. Морфологические ведомости. 2023;31(3):809. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).809](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).809)

Резюме. Центральное ядро миндалевидного комплекса является интегративным центром и основным каналом связи с остальным мозгом. Показано, что оно связано с важнейшими гипоталамическими и висцеральными центрами. Изучение морфологии его нейронов и их ответной реакции необходимо для понимания того, как эта структура регулирует различные аспекты поведения в норме и при психических расстройствах. Цель настоящего исследования состояла в изучении морфологической организации астроцитов центрального ядра миндалевидного комплекса крыс линии DAT-HET. Крысы линии DAT-HET являются гетерозиготами (HET) по нокауту гена белка - дофаминавого транспортера (DAT), имеют ряд поведенческих особенностей, повышенную двигательную и исследовательскую активность и одновременно повышенную поведенческую тревожность. Исследование выполнено на лабораторных крысах-самцах двух линий: линии Wistar (n=8), линии DAT-HET (n=7) с массой тела от 200 г до 265 г в возрасте 5-6 месяцев. Центральное ядро миндалевидного комплекса было изучено на серии фронтальных срезов головного мозга крыс. В структуре центрального ядра миндалевидного комплекса у изучаемых групп животных хорошо дифференцируются медиальное и латеральное субъядра и объединяющая их промежуточная часть. Исследование морфометрических показателей площади субъядер центрального ядра миндалевидного комплекса показало, что у крыс линии Вистар площадь латерального субъядра достоверно выше при сравнении с аналогичным показателем крыс линии DAT-HET и эта разница составляет 29%. Сравнение степени экспрессии иммунопозитивных клеток к маркеру глиального фибриллярного кислого белка - белка промежуточных филаментов III типа, который экспрессируется многочисленными типами клеток центральной нервной системы, включая астроциты и эпендимальные клетки выявило, что у крыс линии DAT-HET площадь, занимаемая иммунопозитивными клетками также достоверно больше. Полученные результаты свидетельствуют о возможных процессах ремоделирования формы и размеров астроцитов, которые возникают в ответ на изменения дофаминергической трансмиссии, вызванные нокаутом соответствующего гена.

Ключевые слова: миндалевидный комплекс, центральное ядро, астроциты, дофамин, крысы линии DAT-HET

Статья поступила в редакцию 31 мая 2023
Статья принята к публикации 6 августа 2023

THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF ASTROCYTES OF THE AMYGDALA COMPLEX CENTRAL NUCLEUS OF THE DAT-HET LINE RATS

Davletbaeva AR, Fedorova AM, Khismatullina ZR

Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, e-mail: khabudinva@rambler.ru

For the citation:

Davletbaeva AR, Fedorova AM, Khismatullina ZR. The structural organization of astrocytes of the amygdala complex central nucleus of the DAT-HET line rats. Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):809. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).809](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).809)

Summary. The central nucleus of the amygdala complex is the integrative center and the main channel of communication with the rest of the brain. It has been shown that it is associated with the most important hypothalamic and visceral centers. Studying the morphology of its neurons and their response is necessary to understand how this structure regulates various aspects of behavior in normal conditions and in mental disorders. The purpose of this study was the morphological organization of astrocytes in the central nucleus of the amygdala complex in DAT-HET rats. DAT-HET rats are heterozygotes (HET) for knockout of the dopamine transporter (DAT) protein gene and have a number of behavioral characteristics, increased motor and exploratory activity, and at the same time increased behavioral anxiety. The study was carried out on male laboratory rats of two lines: Wistar line (n=8), DAT-HET line (n=7) with body weight from 200 g to 265 g at the age of 5-6 months. The central nucleus of the amygdala complex was studied in a series of frontal sections of the rat brain. In the structure of the central nucleus of the amygdala complex in the studied groups of animals, the medial and lateral sub-nuclei and the intermediate part that unites them are well differentiated. A study of morphometric indicators of the area of the sub-nuclei of the central nucleus of the amygdala complex showed that in Wistar rats the area of the lateral sub-nucleus is significantly higher when compared with the same indicator in DAT-HET rats, and this difference is 29%. Comparison of the degree of expression of immune-positive cells for the marker of glial fibrillary acidic protein - type III intermediate filament protein, which is expressed by numerous types of cells of the central nervous system, including astrocytes and ependymal cells, revealed that in DAT-HET rats the area occupied by immune-positive cells is also significantly larger. The results obtained indicate possible processes of remodeling the shape and size of astrocytes that occur in response to changes in dopaminergic transmission caused by knockout of the corresponding gene.

Key words: amygdala complex, central nucleus, astrocytes, dopamine, DAT-HET rats

Article received 31 May 2023
Article accepted 6 August 2023

Введение. Миндалевидный комплекс (далее - МК) мозга - важнейший компонент лимбической системы, играет важную роль в разнообразных сложных поведенческих реакциях, включая эмоциональные реакции, мотивацию, обучение, память и питание [1]. Центральное ядро (далее - СЕ) является интегративным центром МК и основным каналом связи с остальным мозгом. Показано, что оно связано с важнейшими гипоталамическими и висцеральными центрами [2]. Центральное ядро имеет гетерогенную структуру и содержит многочисленные субпопуляции ГАМК-эргических и глутаматэргических нейронов. Изучение морфологии нейронов и их ответной реакции необходимо для понимания того, как эта структура регулирует различные аспекты социального поведения в норме и при различных психических расстройствах [3]. Источники дофаминергических проекций мезолимбической дофаминергической субсистемы расположены в области вентральной покрышки мозга, в компактной части черной субстанции. Их отростки идут в поясную извилину, энториальную кору, миндалевидный комплекс, гиппокамп, перегородку и другие структуры лимбической системы мозга [4]. Нейротрансмиссия дофамина связана с двигательной функцией, эмоциональным поведением и реакцией на стресс [5-6]. Нарушения уровня дофамина у человека способствуют развитию различных неврологических состояний, включая синдром дефицита внимания и гиперактивности (далее - СДВГ), болезнь Паркинсона (далее - БП) и шизофрению [7], а также сердечно-сосудистую недостаточность и почечную недостаточность [8]. По завершении нейротрансмиссии передача сигналов дофамина прекращается поглощением внеклеточного дофамина через переносчика дофамина (далее - DAT), являющегося трансмембранным белком. Было показано, что передача сигналов от дофаминовых рецепторов и вторичных мессенджеров изменяет активность DAT и выраженность его наличия в мембране. Модели генетического дефицита переносчика дофамина крысы DAT характеризуются повышением концентрации внеклеточного дофамина в

синапсах головного мозга, что приводит к фенотипу, сходному с фенотипами нейродегенеративных заболеваний, такими как синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрения и биполярное расстройство.

В последние годы все большее внимание привлекает роль астроцитов центральной нервной системы (далее - ЦНС) в функционировании мозга и неврологических заболеваниях. Реагируя на сигналы в своем микроокружении, астроциты могут стимулировать или останавливать воспаление и нейродегенерацию, играя активную роль при множественных неврологических заболеваниях, включая рассеянный склероз (далее - РС) [9-11], болезнь Альцгеймера (далее - БА) [12-14], БП [15-16], и поведенческие нейропсихические расстройства [17-18]. Астроциты становятся реактивными в ответ на травму или другие патологические процессы. Активация глиального фибриллярного кислого белка (далее - GFAP), основного компонента промежуточных филаментов астроцитов, считается отличительной чертой реактивных астроцитов у приматов и грызунов [19-21]. Увеличение числа и активности GFAP-позитивных процессов, выявляемых иммунным окрашиванием на GFAP, было обнаружено при различных патологических состояниях и часто использовалось для определения морфологических изменений астроцитов, таких как явление их гипертрофии [22].

Цель исследования: изучение морфологической организации астроцитов центрального ядра миндалевидного комплекса крыс линии DAT-HET.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на лабораторных крысах-самцах двух линий: линии Wistar (n=8), линии DAT-HET (n=7) с массой тела от 200 г до 265 г в возрасте 5-6 месяцев. Крысы содержались в виварии кафедры физиологии и общей биологии Уфимского университета науки и технологий при температуре 20-22°C в стандартных клетках по 3-4 животных без ограничения подвижности, освещенности и доступа к воде и пище, на сбалансированном рационе.

Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами, и рекомендациями по гуманной работе с лабораторными животными, отраженными в приказе № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» Минздрава СССР. Проведенное исследование согласовано с локальным этическим комитетом Уфимского университета науки и технологий.

Образцы головного мозга фиксировали в растворе 10% забуференного формалина по Лилли и заливали в парафин. Срезы толщиной 8-10 мкм изготавливались на микротоме LEICA 4RM 2145 (LEICA, Германия). После депарафинизации срезы окрашивали крезильовым фиолетовым по Нисслю. На окрашенных срезах проводили изучение citoархитектонических особенностей центрального отдела МК, цитологию нейронов центрального отдела, особенности хромотофильной субстанции в них. Подсчитывали площадь субъядер центрального ядра.

Иммуногистохимическим методом выявляли GFAP, характерный для промежуточных филаментов астроцитов. Оценку экспрессии проводили на парафиновых срезах толщиной 5-8 мкм. Непрямым иммунопероксидазным методом производили выявление белка на автоматизированном гистостейнере для иммуногистохимии и гибридизации in situ Leica Microsystems Bond™ (Германия) с применением первичных поликлональных антител (2E1; 1:300; Santa Cruz Biotechnology, USA). Использовали поликлональную непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия). Оценку специфичности реакции проводили при окрашивании срезов без первичных антител. Для изучения препаратов использовали микроскоп AxioImager Z1, оснащенный фотонасадкой ProgRes C3 и программой анализа изображений AxioVision (Zeiss, Германия).

Статистические данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. Оценку различий показателей двух независимых выборок проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия

считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Центральное ядро МК было изучено на серии фронтальных срезов головного мозга крысы, окрашенных крезильом фиолетовым на уровне центрального отдела МК (рис. 1-а, 1-б). На данном уровне площадь СЕ увеличивается по сравнению с передним отделом МК, где начинают визуализироваться нейроны, формирующие данное ядро. На уровне центрального отдела у крыс изучаемых групп можно увидеть СЕ, которое разграничено волокнами оптического тракта и продольной ассоциативной связкой. Верхней границей СЕ является скорлупа, а нижней границей служат вставочные массы, благодаря наличию таких структур границы СЕ достаточно четко определяются. Большинство нейронов, которые формируют СЕ имеют размер от малого до среднего, но встречаются и более крупные нейроны (рис. 1-б). На участках, параллельных оптическому тракту, многие нейроны имеют веретенообразную форму. В структуре СЕ МК у изучаемых групп животных хорошо дифференцируются медиальное и латеральное субъядра СЕ МК и объединяющая их промежуточная часть (рис. 1-а). Медиальное субъядро сформировано у крыс линии Вистар мелкими и средними по размеру нейронами, которые имеют овальную, веретенообразную форму. В центре нейрона хорошо визуализируется ядро, цитоплазма клеток имеет выраженную зернистость, благодаря развитой хромотофильной субстанции. Вытянутая форма клетки определяется отходящими от ее тела начальными сегментами дендритов, в которых также можно рассмотреть хромотофильную субстанцию (цитохромные нейроны). Часть клеток, которые формируют данное субъядро являются кариохромными. Латеральное субъядро СЕ сформировано более крупными по размеру нейронами, полигональной формы, среди них преобладают кариохромные нейроны. Между нейронами и на нейронах можно рассмотреть клетки глии, где отмечаются просветы. У крыс линии DAT-НЕТ хорошо визуализируются латеральное и медиаль-

ное субъядра СЕ МК. Необходимо отметить, что нейроны, входящие в состав СЕ МК у крыс линии DAT-NET в основном имеют вытянутую форму перикариона, хроматофильная субстанция слабо выражена, клетки преимущественно карิโอхромные, между нейронами практически отсутствуют просветы (рис. 1-б).

Исследование морфометрических показателей площади субъядер СЕ показало, что у крыс линии Вистар площадь латерального субъядра СЕ МК достоверно выше при сравнении с крысами линии DAT-NET, разница составляет 29% ($p < 0,05$), (табл. 1).

Таблица 1
Сравнительная характеристика
площади СЕ МК мозга крыс в мкм²

Структура	Крысы линии Вистар (n=8)	Крысы линии DAT-NET (n=7)
Латеральное субъядро СЕ	216,26±13,16	153,04±8,32*
Медиальное субъядро СЕ	183,34±6,62	161,78±14,57

Примечание: * – различия значимы с соответствующим показателем, $p < 0,05$

Была проведена оценка интенсивности окрашивания маркера экспрессии астроцитов, GFAP в области центрального ядра крыс линии Вистар и крыс линии DAT-NET. Сравнение степени экспрессии иммунопозитивных клеток к GFAP выявило, что у крыс линии DAT-NET относительная площадь, занимаемая иммунопозитивными клетками, достоверно больше ($p < 0,05$), (табл. 2).

Таблица 2
Оценка экспрессии GFAP+ - астроцит-
ной глии в СЕ МК мозга крыс
в % иммунопозитивных клеток

Экспрессия GFAP+ - клеток	Крысы линии Вистар (n=8)	Крысы линии DAT-NET (n=7)
	14,20±3,56	38,20±4,79*

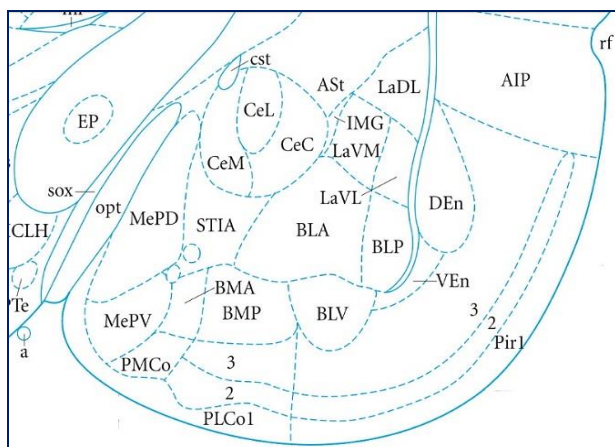
Примечание: * – различия значимы с соответствующим показателем, $p < 0,05$

На препаратах, окрашенных иммуногистохимическим методом к GFAP можно увидеть, что у крыс линии DAT-NET архитектура астроцитов является наиболее выраженной, они плотно заполняют промежутки между нейронами, формируя своеобразную сеть, при этом у

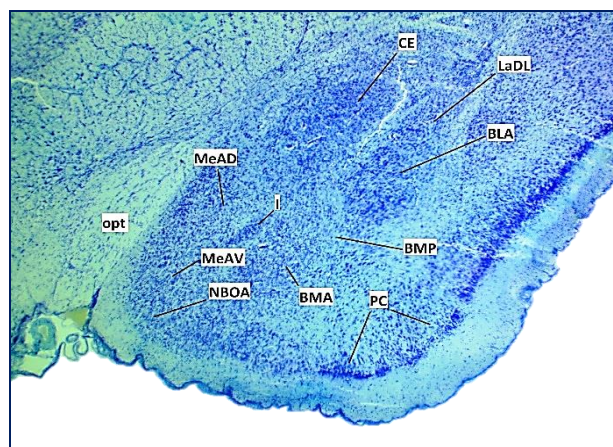
крыс линии Вистар, астроциты располагаются немного разрозненно (рис. 2).

Патологические процессы в ЦНС (например, воспаление, нейродегенерация или повреждения, вызванные травмами), обычно связаны с астроглиозом, ответом астроцитов, характеризующимся функциональным, морфологическим и молекулярным ремоделированием [24]. Реактивные астроциты очень гетерогенны и вносят собственный вклад в патологию нейродегенеративных и нейропсихиатрических заболеваний, а также в восстановление ЦНС. Был описан ген Ndr2, который относится к семейству Ndr, члены которого контролируют множество функций в клеточной пролиферации, дифференцировке и реакциях на стресс. Ndr2 широко распространен в ЦНС и экспрессируется астроцитами. Мыши с нокаутом Ndr2 (Ndr2-/-) проявляли симптомы, подобные СДВГ, характеризующиеся дефицитом внимания, гиперактивностью, импульсивностью и нарушением памяти. Кроме того, уровни интерстициального глутамата и возбуждающая передача были заметно повышены в мозге мышей Ndr2-/- из-за сниженного астроглиального клиренса глутамата [25].

Глутамат является наиболее распространенным возбуждающим нейротрансмиттером в ЦНС, однако чрезмерные уровни глутамата могут вызывать гибель нейронов, этот процесс называется эксайтотоксичностью [26-27]. В этом контексте астроциты удаляют внеклеточный глутамат из синаптической щели с помощью высокоаффинных транспортеров глутамата, возбуждающих аминокислотный транспортер 1 (EAAT1) и EAAT2, которые играют ключевую роль в гомеостазе глутамата, синаптической пластичности и выживании нейронов [28]. Следовательно, нарушение захвата глутамата астроцитами может привести к нейрональной эксайтотоксичности, которая обычно связана с нейродегенерацией. Кроме того, астроциты в экспериментальных моделях на животных демонстрируют пониженную экспрессию EAAT2, связанную с дисфункцией нейронов [29-30]. Астроциты человека, полученные от пациентов с БА, демон-

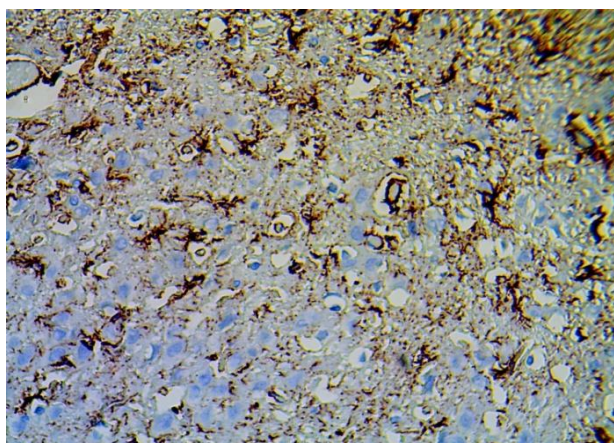


А

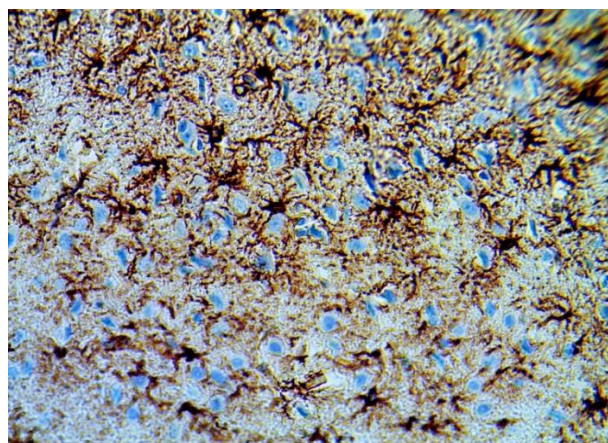


Б

Рис. 1. Структурная организация центрального ядра миндалевидного комплекса крыс линии DAT-NET. А - схематическое изображение миндалевидного тела согласно атласу мозга крысы [23]; Б - микрофото гистологического препарата миндалевидного комплекса мозга крыс линии DAT-NET. Окр.: крезидовым фиолетовым по Нисслю. Ув. x200. Обозначения: CE – центральное ядро; LaDL – латеральное ядро, дорсолатеральная часть; BLA – базолатеральное ядро; BMA, BMP – базомедиальное ядро; MeAD, MeAV – медиальное ядро; NBOA – ядро добавочной обонятельной луковицы; I – вставочные массы; opt – оптический тракт; PC – пириформная кора



А



Б

Рис. 2. Микрофото гистологического препарата миндалевидного комплекса мозга крыс линии Вистар (А) и крыс линии DAT-NET (Б). Окр.: иммуногистохимическая на экспрессию кислого фибриллярного белка астроцитов. Ув.: x400

стрируют снижение поглощения глутамата, сопровождающееся снижением экспрессии EAAT2 и EAAT1 [31]. Астроциты проявляют структурную пластичность в ответ на синаптическую активность и поведение, что, в свою очередь, способствует ремоделированию окружающих синапсов.

Таким образом, полученные нами результаты о более выраженной экспрессии GFAP на срезах CE МК у крыс линии DAT-NET и меньшие размеры латерального субъядра МК вероятно связаны с реактивными изменениями астроцитов у крыс

линии DAT-NET, которые являются нокаутными по переносчику дофамина. Изменения дофаминергической трансмиссии вероятно вызвала ремоделирование астроцитарной глии у крыс линии DAT-NET. Это согласуется с литературными данными, изучение экспрессии GFAP у мышей нокаутных по гену *Ndr2*^{-/-}, выявило повышение экспрессии GFAP, что свидетельствует об активации астроцитов [32].

Астроциты могут реагировать посредством продукции иммунорегуляторных молекул, которые в свою очередь мо-

гут способствовать или ограничивать воспаление в ответ на множественные сигналы в микроокружении ЦНС [33-34], что подчеркивает функциональную гетерогенность реактивных астроцитов в контексте их роли в нейровоспалении и повреждении ЦНС.

Заключение. Изучение морфологической организации астроцитов центрального ядра миндалевидного комплекса крыс линии DAT-НЕТ, гетерозиготных по нокаутному гену мембранного белка

переносчика дофамина, выявило достоверные различия, выражающихся в меньшей площади латерального субъядра центрального ядра миндалевидного комплекса, сложной организации сети астроцитов и выраженной экспрессии иммунопозитивных клеток к GFAP. Полученные результаты свидетельствуют о возможных процессах ремоделирования астроцитов, которые возникают в ответ на изменения дофаминергической трансмиссии, вызванные нокаутом гена DAT.

Литература References

1. Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev.* 2002;26(3):321–352. DOI: 10.1016/S0149-7634(02)00007-6
2. Ahmadeev AV, Kalimullina LB. Central'noe yadro mindalevidnogo kompleksa mozga: struktura, neyrohimiya, soyazi i funktsii. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk.* 2020;51(3):69–86. DOI: 10.31857/S0301179820030030. In Russian
3. Morales L, Castro-Robles B, Abellán A, Desfilis E. A novel telencephalon-opto-hypothalamic morphogenetic domain coexpressing Foxg1 and Otp produces most of the glutamatergic neurons of the medial extended amygdala. *J Comp Neurol.* 2021;529:2418–2449. DOI: 10.1002/cne.25103
4. Kolotilova OI, Korenyuk II, Khusainov DR, Cheretaev IV. Dofaminergicheskaya sistema mozga. *Vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2014;(4):97–106. In Russian
5. Giros B, Caron MG. Molecular characterization of the dopamine transporter. *Trends Pharmacol Sci.* 1993;14(2):43–49. DOI: 10.1016/0165-6147(93)90029-j
6. Hyman SE. Addiction to cocaine and amphetamine. *Neuron.* 1996;16(5):901–904. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80111-7
7. Mehler-Wex C, Riederer P, Gerlach M. Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of Parkinson's disease, schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder. *Neurotox res.* 2006;10(3–4):167–179. DOI: 10.1007/BF03033354
8. Doggrell SA. The therapeutic potential of dopamine modulators on the cardiovascular and renal systems. *Expert Opin Investig Drugs.* 2002;11(5):631–644. DOI: 10.1517/13543784.11.5.631
9. Wheeler MA, Clark IC, Tjon EC et al. MAFG-driven astrocytes promote CNS inflammation. *Nature.* 2020;578(7796):593–599. DOI: 10.1038/s41586-020-1999-0
10. Linnerbauer M, Wheeler MA, Quintana FJ. Astrocyte crosstalk in CNS inflammation. *Neuron.* 2020;108(4):608–622. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.08.012
11. Wheeler MA, Quintana FJ. Regulation of astrocyte functions in multiple sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2019;9(1):a029009. DOI: 10.1101/cshperspect.a029009
12. Habib N, McCabe C, Medina S, et al. Disease-associated astrocytes in Alzheimer's disease and aging. *Nat Neurosci.* 2020;23(6):701–706. DOI: 10.1038/s41593-020-0624-8
13. Mathys H, Davila-Velderrain J, Peng Z, et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature.* 2019;570(7761):332–337. DOI: 10.1038/s41586-019-1195-2
14. Zhou Y, Song WM, Andhey PS, et al. Human and mouse single-nucleus transcriptomics reveal TREM2-dependent and TREM2-independent cellular responses in Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2020;26(1):131–142. DOI: 10.1038/s41591-019-0695-9
15. Yun SP, Kam TI, Panicker N, et al. Block of A1 astrocyte conversion by microglia is neuroprotective in models of Parkinson's disease. *Nat Med.* 2018;24(7):931–938. DOI: 10.1038/s41591-018-0051-5
16. Booth HDE, Hirst WD, Wade-Martins R. The role of astrocyte dysfunction in Parkinson's disease pathogenesis. *Trends Neurosci.* 2017;40(6):358–370. DOI: 10.1016/j.tins.2017.04.001
17. Yu X, Taylor AMW, Nagai J, et al. Reducing astrocyte calcium signaling in vivo alters striatal microcircuits and causes repetitive behavior. *Neuron.* 2018;99(6):1170–1187.e9. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.08.015
18. Nagai J, Yu X, Papouin T, et al. Behaviorally consequential astrocytic regulation of neural circuits. *Neuron.* 2021;109(4):576–596. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.12.008
19. Perez-Alvarez A, Navarrete M, Covelo A, et al. Structural and functional plasticity of astrocyte processes and dendritic spine interactions. *J Neurosci.* 2014;34(38):12738–12744. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2401-14.2014
20. Molofsky AV, Krenick R, Ullian EM, et al. Astrocytes and disease: a neurodevelopmental perspective. *Genes Dev.* 2012;26(9):891–907. DOI: 10.1101/gad.188326.112
21. Burda JE, Sofroniew MV. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. *Neuron.* 2014;81(2):229–248. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.12.034
22. Pekny M, Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits. *Physiol Rev.* 2014;94(4):1077–1098. DOI: 10.1152/physrev.00041.2013
23. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Sydney: Academic, 1998. 300 pp
24. Anderson MA, Ao Y, Sofroniew MV. Heterogeneity of reactive astrocytes. *Neurosci Lett.* 2014;565:23–29. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.12.030
25. Li Y, Yin A, Sun X, et al. Deficiency of tumor suppressor NDRG2 leads to attention deficit and hyperactive behavior. *J Clin Invest.* 2017;127(12):4270–4284. DOI: 10.1172/JCI94455
26. Dong XX, Wang Y, Qin ZH. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin.* 2009; 30(4):379–387. DOI: 10.1038/aps.2009.24
27. Meldrum BS. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J Nutr.* 2000;130(4S Suppl):1007–1015. DOI: 10.1093/jn/130.4.1007S
28. Anderson CM, Swanson RA. Astrocyte glutamate transport: review of properties, regulation, and physiological functions. *Glia.* 2000;32(1):1–14

29. Hefendehl JK, LeDue J, Ko RW, et al. Mapping synaptic glutamate transporter dysfunction in vivo to regions surrounding A β plaques by iGluSnFR two-photon imaging. *Nat Commun*. 2016;7:13441. DOI: 10.1038/ncomms13441
30. Chung EK, Chen LW, Chan YS, Yung KK. Downregulation of glial glutamate transporters after dopamine denervation in the striatum of 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *J Comp Neurol*. 2008;511(4):421-437. DOI: 10.1002/cne.21852
31. Liang Z, Valla J, Sefidvash-Hockley S, et al. Effects of estrogen treatment on glutamate uptake in cultured human astrocytes derived from cortex of Alzheimer's disease patients. *J Neurochem*. 2002;80(5):807-814. DOI: 10.1046/j.0022-3042.2002.00779.x
32. Wang J, Liu M, Hou W, et al. N-myc Downstream-Regulated Gene 2 (Ndr2): A Critical Mediator of Estrogen-Induced Neuroprotection Against Cerebral Ischemic Injury. *Mol Neurobiol*. 2022;59(8):4793-4804. DOI: 10.1007/s12035-022-02877-5
33. Safieh-Garabedian B, Mayasi Y, Saadé NE. Targeting neuroinflammation for therapeutic intervention in neurodegenerative pathologies: a role for the peptide analogue of thymulin (PAT). *Expert Opin Ther Targets*. 2012;16(11):1065-1073. DOI: 10.1517/14728222.2012.714773
34. Colombo E, Farina C. Astrocytes: Key Regulators of Neuroinflammation. *Trends Immunol*. 2016;37(9):608-620. DOI: 10.1016/j.it.2016.06.006

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Давлетбаева Айгуль Рамилевна, ассистент кафедры физиологии и общей биологии, Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия;
e-mail: khabudinva@rambler.ru

Федорова Альбина Мубаракновна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и общей биологии, Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия;
-mail: albinamfedorova@mail.ru

Хисматуллина Зухра Рашидовна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физиологии и общей биологии, Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия;
e-mail: hismatullinazr@mail.ru

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Aigul' R. Davletbaeva, Assistant of the Department of Physiology and General Biology, Ufa University of Science and Technologies, Ufa, Russia;
e-mail: khabudinva@rambler.ru

Al'bina M. Fedorova, Candidate of Biological Sciences, Docent, Associate Professor of the Department of Physiology and General Biology, Ufa University of Science and Technologies, Ufa, Russia;
e-mail: albinamfedorova@mail.ru

Zukhra R. Khismatullina, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Physiology and General Biology, Ufa University of Science and Technologies, Ufa, Russia;
e-mail: hismatullinazr@mail.ru

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА FAP⁺ И α -SMA⁺-КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ТОКСИЧЕСКОГО ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ КРЫС

Лебедева Е.И.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь, e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

Для цитирования:

Лебедева Е.И. Морфофункциональная оценка FAP⁺ и α -SMA⁺-клеток в различные сроки токсического фиброза печени крыс. Морфологические ведомости. 2023;31(3):794. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).794](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).794)

Резюме. Углубленное изучение источника фиброгенной популяции клеток применительно к этиологии и стадии фиброза, а также понимание молекулярных механизмов, регулирующих изменение фенотипа печеночных фибробластов, имеют первостепенное значение при разработке фармакологических препаратов. Цель исследования – морфофункциональная оценка активированных портальных фибробластов (FAP⁺) и жир-накапливающих клеток (α -SMA⁺) печени в различные сроки токсического фиброза печени крыс. Фиброз и цирроз печени у крыс-самцов Wistar индуцировали раствором тиаоацетамида в течение 17 недель. Морфологическое исследование печени проводили на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, методом Маллори, иммуногистохимическое исследование производили с помощью поликлональных кроличьих антител к антигену портальных фибробластов FAP и с помощью моноклональных мышиных антител к антигену α -SMA⁺ клеток. До наступления стадии фиброза печени F3/F4 с 3 по 7 неделю количество FAP⁺ и α -SMA⁺-клеток увеличивалось попеременно. На этапах трансформации фиброза в цирроз с 7 по 11 неделю повышение их количества происходило незначительно. На стадии неполного (F5) и до наступления достоверного цирроза (F6) с 11 по 15 неделю количество FAP⁺ и α -SMA⁺-клеток было непостоянным и происходило попеременное увеличение и уменьшение их количества. α -SMA⁺-клетки до начала процесса трансформации фиброза в цирроз (F4/F5) наблюдали в синусоидах и очагах некроза. Затем они выявлялись как в синусоидах, так и в соединительнотканых трабекулах. FAP⁺-клетки на стадии портального фиброза (F1) локализовались около междольковых сосудов и междольковых желчных протоков портальных зон, а с периода F2/F3 их выявляли в соединительнотканых трабекулах и синусоидах. В количественном отношении на всех стадиях фиброза преобладали α -SMA⁺-клетки. На основании полученных результатов можно предположить, что FAP⁺-клетки вносят основной вклад в развитие портального и начального этапа мостовидного фиброза. Их следует рассматривать как одну из популяций миофибробластов при тиаоацетамид-индуцированном фиброгенезе печени.

Ключевые слова: печень, крысы, фиброз, FAP⁺ клетки, α -SMA⁺ клетки

Статья поступила в редакцию 13 марта 2023

Статья принята к публикации 5 августа 2023

THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL ASSESSMENT OF FAP⁺ AND α -SMA⁺-CELLS IN DIFFERENT TIMES OF RAT TOXIC LIVER FIBROSIS

Lebedeva EI

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus, e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

For the citation:

Lebedeva EI. The morphological and functional assessment of FAP⁺ and α -SMA⁺-cells in different times of rat toxic liver fibrosis. Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):794. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).794](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).794)

Summary. Qualitative study of the source of the fibro-genic cell population in relation to the etiology and stage of fibrosis, as well as an understanding of the molecular mechanisms that regulate changes in the phenotype of hepatic fibroblasts, are of paramount importance in the development of pharmacological drugs. The purpose of the study was a morphological and functional assessment of activated portal fibroblasts (FAP⁺) and fat-accumulating cells (α -SMA⁺) of the liver at various stages of toxic liver fibrosis in rats. Liver fibrosis and cirrhosis in male Wistar rats were induced with thioacetamide solution for 17 weeks. Morphological examination of the liver was carried out on paraffin sections stained with hematoxylin and eosin using the Mallory method; immunohistochemical examination was carried out using polyclonal rabbit antibodies to the portal fibroblast antigen FAP and using monoclonal mouse antibodies to the α -SMA⁺ cell antigen. Before the onset of liver fibrosis stage F3/F4, from weeks 3 to 7, the number of FAP⁺ and α -SMA⁺ cells increased alternately. During the stages of transformation of fibrosis into cirrhosis from 7 to 11 weeks, their number increased slightly. At the stage of incomplete (F5) and before the onset of significant cirrhosis (F6) from weeks 11 to 15, the number of FAP⁺ and α -SMA⁺ cells were inconsistent and there was an alternating increase and decrease in their number. α -SMA⁺ cells before the start of the process of transformation of fibrosis into cirrhosis (F4/F5) were observed in sinusoids and foci of necrosis. Then they were detected both in sinusoids and in connective tissue trabeculae. FAP⁺ cells at the stage of portal fibrosis (F1) were localized near the interlobular vessels and interlobular bile ducts of the portal zones, and from the F2/F3 period they were detected in connective tissue trabeculae and sinusoids. In quantitative terms, α -SMA⁺ cells predominated at all stages of fibrosis. Based on the results obtained, it can be assumed that FAP⁺ cells make a major contribution to the development of the portal and initial stages of bridging fibrosis. They should be considered as one of the myofibroblast populations in thioacetamide-induced liver fibrogenesis.

Keywords: liver, rats, fibrosis, FAP⁺ cells, α -SMA⁺ cells

Article received 13 March 2023

Article accepted 5 August 2023

Введение. При хронических заболеваниях печени разрастание фиброзной соединительной ткани связано с их этиологией, стадией фиброза и обусловлено гетерогенностью популяцией миофибробластов, вовлеченных в процесс, жиронакапливающих клеток, портальных фибробластов, циркулирующих фиброцитов, гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга [1-4]. Жиронакапливающие клетки (далее - ЖК) считают основной клеточной популяцией, синтезирующей межклеточное вещество [4]. В литературе они имеют разные названия: клетки Ито, липоциты печени, перисинусоидные клетки, перициты и звездчатые клетки. Эмбриональное происхождение ЖК не установлено, но известно, что они экспрессируют белки энтодермы и мезодермы. В здоровой печени ЖК располагаются в перисинусоидном пространстве, контактируя с гепатоцитами, звездчатыми макрофагами и эндотелиоцитами, проявляя не активированный фенотип [5]. В норме ЖК неправильной формы, с округлым ядром, накапливают витамин А и жиры, синтезируют цитокины, матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы; они практически не экспрессируют гладкомышечный альфа-актин (α -SMA). ЖК регулируют кровоток в синусоидах, функционируя как перициты, обладают низкой пролиферативной активностью и способностью к секреции коллагенов [4-5]. Токсические и вирусные поражения печени стимулируют активацию и трансдифференцировку ЖК в миофибробластический фенотип [6-7]. Этот процесс сопровождается гиперплазией и гипертрофией шероховатой эндоплазматической сети, исчезновением в цитоплазме липидных капель, изменением организации цитоскелета, избыточной экспрессией α -SMA, коллагенов и цитокинов. Механизмы активации ЖК, особенно в фазу ее инициации, весьма сложны и не до конца изучены. Предполагается, что пул покоящихся и активированных ЖК пополняется также за счет клеток костного мозга [4, 8].

Портальные фибробласты (далее – ПФ) или перидуктулярные мезенхимальные клетки, являются второй популяцией клеток, вырабатывающих межклеточное вещество при фиброзе печени [1]. Сведений о функциях ПФ в норме недостаточно. Расположены они в соединительной ткани портальных зон,

преимущественно вокруг междольковых желчных протоков. Происхождение и роль ПФ в развитии холестатического фиброза до сих пор остаются дискуссионными. Окончательно не установлено, являются ли ПФ основной популяцией миофибробластов и на каких этапах фиброгенеза их вклад наиболее значителен, синтезируют ли ПФ фибриллярные коллагены, типичные для фиброза или они выполняют другие роли в фиброгенезе [9-10]. Одни авторы предполагают, что активированные ПФ принимают участие в секреции межклеточного вещества только при хронических холестатических заболеваниях печени [1]. В экспериментальных работах с использованием репортерных Col-GFP и Mdr2-/- мышей на начальных стадиях холестатического фиброгенеза источником миофибробластов выступали активированные ПФ. При этом дальнейшее прогрессирование фиброза приводило к трансдифференцировке ЖК в фиброгенный фенотип [10]. Научные работы последних лет указывают, что при холестатическом фиброзе одновременно идентифицировались две разные популяции миофибробластов, происходящие из ПФ и ЖК [9-10]. Вероятно, эти противоречивые данные являются результатом различий используемых экспериментальных моделей, методов исследований и как следствие отличий в интерпретации полученных результатов. Изучение фиброгенной популяции клеток применительно к этиологии и стадии фиброза печени может иметь существенное значение в разработке антифибротических препаратов [11].

Цель исследования: морфофункциональная оценка активированных портальных фибробластов (FAP⁺) и жиронакапливающих клеток (α -SMA⁺) печени в различные сроки токсического фиброза печени крыс.

Материалы и методы исследования. В настоящей публикации использованы международные термины по цитологии и гистологии [12]. В экспериментах использовались крысы-самцы породы Вистар массой 190-210 г. Протокол исследования одобрен комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными Витебского государственного медицинского университета (протокол № 6 от 03.01.2019 г.). Животных содержали в

пластико-металлических клетках по 6 особей при естественном освещении и со свободным доступом к корму и воде. Температура в помещении вивария поддерживалась на уровне 21-23°C, влажность воздуха составляла около 50%. Фиброз и цирроз печени моделировали путем хронической интоксикации тиацетамидом (далее - ТАА), (Acros Organics). Свежеприготовленный раствор ТАА вводили интрагастралью через зонд в дозе 200 мг/кг массы тела 2 раза в неделю в течение 17 недель. Крысы контрольной группы (n=12) получали воду без ТАА в аналогичном объеме. Животных рандомизировали на 8 групп по 12 животных в каждой в зависимости от длительности воздействия ТАА: 3 недели (1-я группа), 5 недель (2-я группа), 7 недель (3-я группа), 9 недель (4-я группа), 11 недель (5-я группа), 13 недель (6-я группа), 15 недель (7-я группа), 17 недель (8-я группа).

После декапитации под кратковременным эфирным наркозом из большой левой доли печени крыс забирали образцы печени диаметром 5-10 мм, которые помещали в 10% раствор нейтрального формалина на фосфатном буфере и фиксировали в течение 24 ч. Затем проводили обработку фиксированного материала с последующей заливкой в парафин с использованием автомата для гистологической обработки ткани STP-120 (Thermo Fisher Scientific) и станции для заливки ткани парафином EC350 (Thermo Fisher Scientific). От каждого животного получали по одному блоку для каждого метода окрашивания и с помощью ротационного микротомы HM340E (MICROM, Laborgerate GmbH) готовили по 3-4 среза толщиной 4 мкм и помещали их на предметные стекла. Для получения обзорных гистологических препаратов срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином, а для выявления соединительной ткани – по Маллори с помощью автомата для окраски HMS70 (Thermo Fisher Scientific). Степень фиброза определяли с помощью полуколичественной шкалы K.G. Ishak [13].

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах [14]. В качестве маркера активированных портальных фибробластов применяли по-

ликлональные кроличьи антитела FAP (FAP-alpha, пролилэндопептидаза FAP, в разведении 1:100), активированных ЖК – моноклональные мышинные антитела к α -SMA (α -SMA, ACTA2, в разведении 1:1000). Использовались антитела производства Wuman Elabscience Biotechnology Incorporated Company, набор 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System/with DAB Solution; Retrieve-All Antigen (Unmasking System Basic), буфер для разведения антител (BioLegend), Твин-20 (Glenthams Life Sciences), PBS (Melford). Для лучшей ориентации в препарате и правильной идентификации клеток, содержащих искомый антиген, срезы докрашивали гематоксилином Майера в течение 1 мин. Для объективной интерпретации результатов для каждой исследуемой серии (группы животных) включали положительный и отрицательный контроли. Иммуногистохимическую окраску оценивали, как положительную, только при отсутствии окрашивания в отрицательном контроле и, наоборот, как отрицательную при окрашивании в положительном контроле.

Гистологические препараты микроскопировали с применением компьютерных программ анализа изображений ImageScope Color и cellSens Standard. Количество FAP-позитивных клеток (FAP⁺-клетки) и α -SMA-позитивных клеток (α -SMA⁺-клетки) подсчитывали в трех полях зрения каждого гистологического среза на базе микроскопа Olympus BX51 при увеличении объектива 40 \times .

Полученные результаты обрабатывались статистически. Для каждой выборки определяли нормальность частотного распределения каждого признака. Выборки не являлись малыми (n=60>50), поэтому проверку осуществляли по критерию Лиллиефорса. Получали описательные статистики и описывали количественные экспериментальные данные в виде средних и их соответствующих доверительных интервалов (M (95% ДИ: j-q)), медианы и значения 15-го – 85-го процентилей (Me (15%;85%)). Об уровне статистической значимости различий судили по t-критерию Стьюдента; в случае отличия выборок от нормального частотного распределения использовали U-критерий Манна-Уитни.

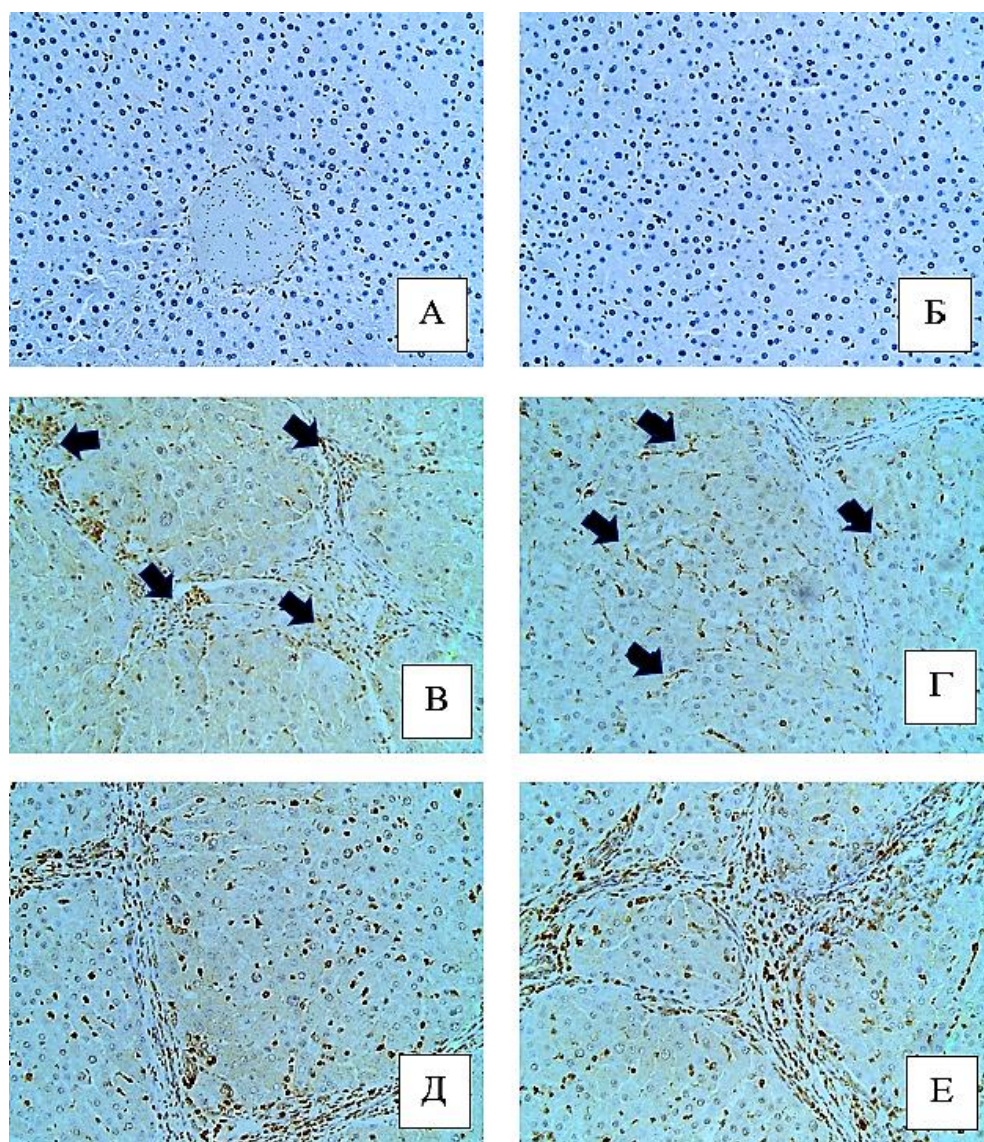


Рис. 1. Микрофото гистологических препаратов печени крыс. Окр.: иммуногистохимическое окрашивание на FAP⁺ (А, В, Д), на α-SMA⁺ (Б, Г, Е), докраска гематоксилином Майера. Ув.: x400. Обозначения: А – печень крысы контрольной группы; Б – печень крысы контрольной группы; В – печень крысы с индуцированным циррозом через 9 недель после начала эксперимента; Г – печень крысы с индуцированным циррозом через 9 недель после начала эксперимента; Д – печень крысы с индуцированным циррозом через 15 недель после начала эксперимента; Е – печень крысы с индуцированным циррозом через 15 недель после начала эксперимента

Результаты исследования и обсуждение. Углубленное изучение источника миофиibroбластов и понимание молекулярных механизмов, регулирующих изменение фенотипа клеток печени в фиброгенную линию, имеют фундаментальное значение для разработки антифибротических препаратов [1-4, 11, 15]. При фиброзе органов миофиibroбласты преимущественно идентифицируют с помощью маркеров α-SMA (активированные ЖК) и FAP (активированные ПФ) [16-18]. В

большинстве органов в условиях нормы уровни мРНК и белка FAP были низкими, за исключением молочной железы, эндометрия матки, поджелудочной железы, плаценты и кожи. В здоровой печени ЖК практически не экспрессируют маркер α-SMA [2, 4-5, 15]. Полученные в рамках настоящего исследования результаты согласуются с литературными данными. В печени контрольных крыс FAP⁺-клетки не определяли (рис. 1-А). В синусоидах отсутствовали α-SMA⁺-клетки (рис. 1-Б), однако

в отдельных случаях их выявляли в стенках междольковых артерий, междольковых и поддольковых вен.

При наступлении портального фиброза печени (F1, 3 недели интоксикации) в портальных зонах наблюдали FAP⁺-клетки, а в синусоидах – α -SMA⁺-клетки. Обе популяции клеток имели округлую форму. Спустя 5 недель с появлением портального, мостовидного, местами центролобулярного и диффузного перицел-

люлярного фиброза (F2/F3) количество FAP⁺-клеток достоверно увеличилось ($p=0,0213$), а α -SMA⁺-клеток – не изменилось ($p=0,3075$) по сравнению с 3 неделями. На всех последующих стадиях эксперимента установлены достоверные различия как для FAP⁺-клеток ($p=0,00001$), так и для α -SMA⁺-клеток ($p=0,00001$) по сравнению с 3 неделями эксперимента. В таблице 1 представлена динамика числа FAP⁺- и α -SMA⁺-клеток на всех этапах эксперимента.

Таблица 1

Относительная величина площади соединительной ткани и количества FAP⁺- и α -SMA⁺- клеток в различные сроки фиброза и цирроза печени крыс при интоксикации тиацетамидом

Недели эксперимента/ стадии фиброза	Площадь соединительной ткани в %, Me (15%;85%)	Количество клеток, М (95% ДИ: j-q)	
		FAP ⁺	α -SMA ⁺
контроль	1,50 (1,000;3,000)	-	-
3 недели/F1	3,00 (2,000;5,000)	5,416 (4,814;6,018)	7,722 (6,426;9,01)
5 недель/F2/F3	4,00 (2,000;6,500)	9,194 (8,080;10,308)	11,777 (10,480;13,074)
7 недель/F3/F4	5,00 (2,000;8,000)	11,972 (10,361;13,582)	18,888 (17,283;20,493)
9 недель/F4/F5	7,00 (4,000;10,000)	14,694 (13,083;16,305)	20,861 (18,958;22,763)
11 недель/F5	9,00 (6,000;11,000)	17,222 (15,979;18,465)	25,250 (23,064;27,435)
13 недель/F6	11,00 (7,500;14,500)	21,944 (20,251;23,637)	31,500 (28,381;34,618)
15 недель/F6	16,00 (9,000;21,500)	24,888 (22,483;27,294)	52,722 (48,076;57,377)
17 недель/F6	21,00 (13,000;29,000)	29,222 (27,143;31,301)	58,944 (54,318;63,570)

Следует отметить, что по мере прогрессирования фиброза печени скорость разрастания соединительной ткани была не одинаковой (табл. 1). К 3-й неделе эксперимента отмечали умеренное формирование соединительной ткани в портальных зонах (рис. 2-А, рис. 2-Б). Однако, на 5-й неделе образование фиброзной соединительной ткани замедлялось, при этом ее одновременно определяли, как в портальных зонах, так и в паренхиме. К 7-й неделе эксперимента интенсивность синтеза соединительной ткани сохранилась практически на прежнем уровне по сравнению с 5-й неделей (рис. 2-В). На этапе перестройки паренхимы печени и перехода от фиброза к циррозу вновь наблюдалось усиленное формирование соединительной ткани аналогичное началу эксперимента (3 неделя). На 9-й неделе происходило образование ложных печеночных долек у портальных зон (рис. 2-Г),

что являлось морфологическим критерием начальной трансформации фиброза в цирроз. В период с 11-й по 17-ю неделю разрастание соединительной ткани достигало максимального значения (рис. 2-Д, рис. 2-Е). При попарном сравнении на разных стадиях эксперимента применительно к площади соединительной ткани, количеству FAP⁺ и α -SMA⁺-клеток получены отличительные результаты (табл. 2).

При анализе таблицы 2 следует, что до наступления стадии фиброза печени F3/F4 (3-й по 7-ю неделю) количество FAP⁺ и α -SMA⁺-клеток увеличивалось попеременно. На этапах трансформации фиброза в цирроз (с 7-й по 11-ю неделю) повышение их количества происходило незначительно. На стадии неполного (F5) и до наступления достоверного цирроза (F6, с 11-й по 15-ю неделю) количество FAP⁺ и α -SMA⁺-клеток было непостоянным: происходило попеременное увеличе-

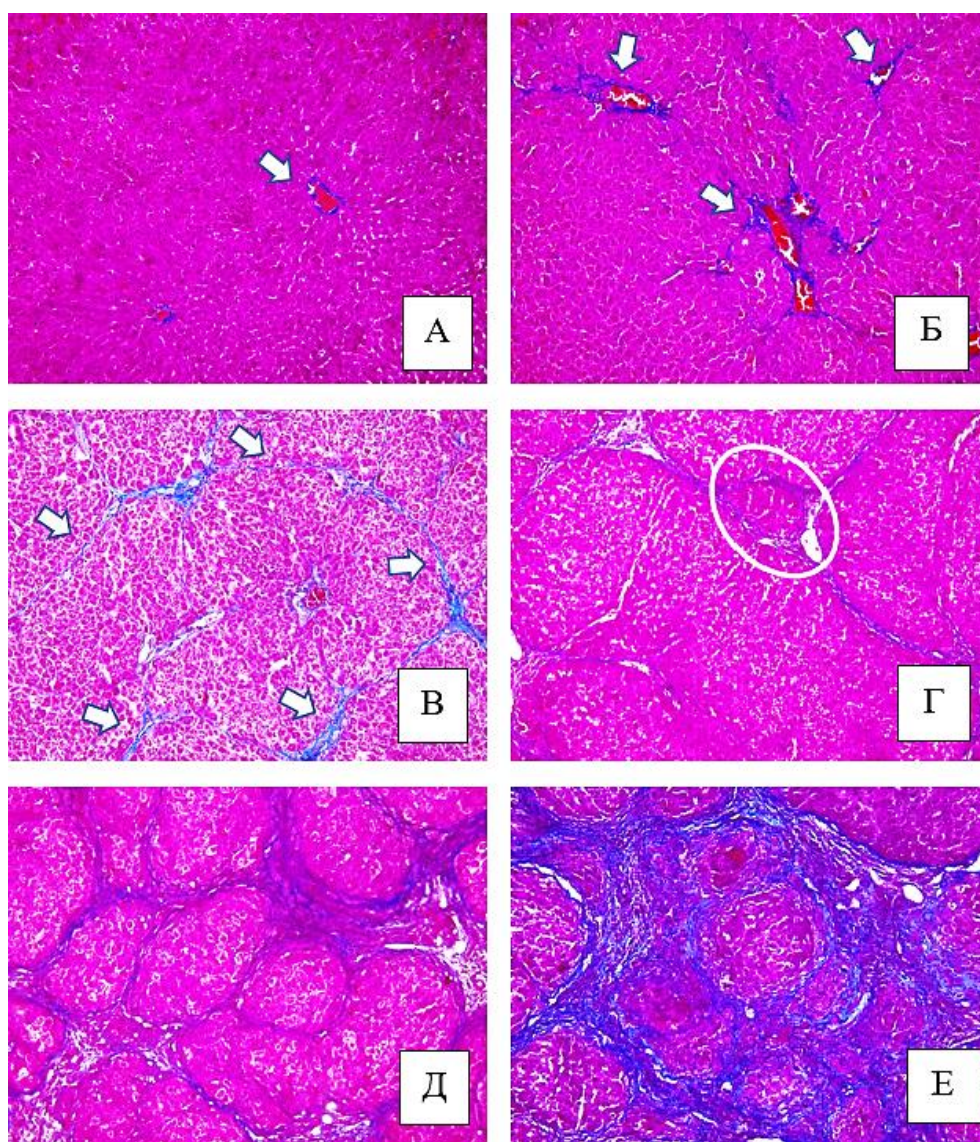


Рис. 2. Микрофото гистологических препаратов печени крыс. Окр.: по Маллори. Ув.: x200. Обозначения: А – печень крысы контрольной группы, стрелками отмечена соединительная ткань; Б – печень крысы с индуцированным циррозом через 3 недели после начала эксперимента, стрелками отмечена соединительная ткань; В – печень крысы с индуцированным циррозом через 7 недель после начала эксперимента, стрелками отмечена соединительная ткань; Г – печень крысы с индуцированным циррозом через 9 недель после начала эксперимента; Д – печень крысы с индуцированным циррозом через 13 недель; Е – печень крысы с индуцированным циррозом через 17 недель после начала эксперимента

ние и уменьшение их количества. В настоящее время объяснить такие количественные вариации не представляется возможным. Предположительно, это связано с компенсаторно-приспособительными механизмами, происходящими в печени, индуцированием/ингибированием молекулярных сигналов, регулирующих пролиферацию этих клеток или другими процессами. С помощью иммуногистохимических методов было установлено, что две морфологически неоднород-

Таблица 2
Показатели значимости попарных различий площади соединительной ткани и числа FAP^+ и $\alpha\text{-SMA}^+$ -клеток

Недели эксперимента	Уровень значимости		
	Площадь соединительной ткани	FAP^+ -клетки	$\alpha\text{-SMA}^+$ -клетки
3-5	$p=0,9560$	$p=0,0000$	$p=0,3075$
5-7	$p=0,9936$	$p=0,2497$	$p=0,0000$
7-9	$p=0,1981$	$p=0,2757$	$p=0,9604$
9-11	$p=0,7912$	$p=0,3775$	$p=0,2073$
11-13	$p=0,0000$	$p=0,0000$	$p=0,7229$
13-15	$p=0,0000$	$p=0,6449$	$p=0,0000$
15-17	$p=0,0000$	$p=0,1406$	$p=0,2045$

ные популяции миофибробластов, экспрессирующих различные типы маркеров, имели отличительную локализацию на ранних сроках исследований. α -SMA⁺-клетки округлой формы до начала процесса трансформации фиброза печени в цирроз (F4/F5, 9 недель) определяли в синусоидах печени и очагах некроза (рис. 1-Г). На поздних сроках эксперимента (с 11-й по 17-ю недели) α -SMA⁺-клетки находились как в синусоидах, так и в соединительнотканых септах (рис. 1-Е). Полученные результаты согласуются с данными других исследователей [16-19]. До наступления верифицированного цирроза (13-я неделя) количество α -SMA⁺-клеток и площадь соединительной ткани нарастали линейно, а затем происходило резкое скачкообразное повышение этих показателей (табл. 1).

FAP⁺-клетки округлой формы через 3 недели эксперимента располагались вокруг междольковых сосудов и вблизи междольковых желчных протоков портальных зон, а со стадии F2/F3 их выявляли в соединительнотканых септах и синусоидах (рис. 1-В, рис. 10-Д). На данном этапе рядом с желчными протоками концентрировались крупные СК19⁺-клетки. По морфологическим признакам они соответствуют печеночным стволовым/овальным клеткам. С 5-й недели эксперимента отмечали увеличение числа междольковых желчных протоков и к его концу вокруг одной портальной зоны можно было обнаружить более 30 их поперечных сечений (протоковая реакция) [20]. Установлено, что эпителиальные клетки протоковой реакции экспрессируют профиброгенные факторы (TGF- β , PDGF) и могут активировать ПФ [21]. На гистологических препаратах отмечалось направленное разрастание волокон соединительной ткани с FAP⁺-клетками от двух портальных зон через паренхиму печени навстречу друг другу, таким образом, предопределяя путь для фиброзной соединительной ткани и формирования соединительнотканых мостов – мостовидный фиброз. Важно отметить, что образование ложных печеночных долек происходило у портальных зон. Предположительно, FAP⁺-клетки первыми синтезируют межклеточное вещество в пор-

тальных зонах и, возможно, регулируют его секрецию, участвуют в формировании соединительнотканых септ (мостов). α -SMA⁺-клетки выступают в роли миофибробластов позже. Вероятно, этап активации и трансдифференцировки ЖК более продолжительный или молекулярные сигналы, регулирующие смену фенотипа клеток, индуцируются с опозданием, или до определенного момента ингибируются. Не следует исключать тот факт, что на ранних стадиях фиброгенеза ЖК выполняют другие функции. На 5-й неделе количество α -SMA⁺-клеток не изменилось ($p=0,3075$) по сравнению с 3-й неделей эксперимента. При этом отмечалось повышение числа FAP⁺-клеток (табл. 1 и 2). Для объективной интерпретации того, какая из клеточных популяций доминирует в синтезе межклеточного вещества на ранних этапах фиброза требуются более детальные исследования.

FAP – это многофункциональный белок. Он принимает участие в регуляции энергетического и липидного обменов, стимулирует воспаление и выполняет профиброгенную функцию. Роль белка FAP в фиброзе печени остается до конца не изученной и его фармакологическое ингибирование в качестве варианта потенциальной терапии фиброза печени до сих пор не проводилось [2, 11, 22-24]. В печени крыс при тиацетамид-индуцированном фиброзе и циррозе жировая дистрофия не диагностировалась. Лимфоидно-гистиоцитарный инфильтрат до 9-й недели был выражен незначительно, а к концу эксперимента определялись очаги с лимфоидно-гистиоцитарным инфильтратом в соединительной ткани портальных зон и соединительнотканых септ. На основании этого можно заключить, что функции белка FAP обусловлены состоянием плотности соединительной ткани, клеточным составом, активностью генов и эпигенетическими механизмами.

Заключение. Таким образом, при экспериментальном токсическом фиброзе и циррозе в печени крыс иммуногистохимическим методом одновременно были выявлены две морфологически неоднородные популяции миофибробластов, которые экспрессировали различные типы

маркеров. α -SMA⁺-клетки на ранних стадиях фиброза не располагались совместно с FAP⁺-клетками. До начала процесса трансформации фиброза печени в цирроз (F4/F5) α -SMA⁺-клетки отмечали в синусоидах печени и очагах некроза, а затем они локализовались как в синусоидах, так и в соединительнотканых септах, вокруг ложных печеночных долек. FAP⁺-клетки на стадии портального фиброза располагались около междольковых сосудов и междольковых желчных протоков портальных зон, а со стадии F2/F3 их выявляли в соединительнотканых септах и синусоидах. В количественном отношении

на всех стадиях фиброза преобладали α -SMA⁺-клетки.

На основании полученных результатов можно предположить, что FAP⁺-клетки играют главную роль в развитии портального и начального этапа мостовидного фиброза. Их следует рассматривать как одну из разновидностей популяции миофибробластов при тиоацетамид-индуцированном фиброгенезе печени. FAP⁺-клетки могут быть использованы в качестве мишени для антифибротической терапии.

Литература

References

1. Baglieri J, Brenner DA, Kisseleva T. The Role of Fibrosis and Liver-Associated Fibroblasts in the Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7):1723. DOI:10.3390/ijms20071723
2. Lay AJ, Zhang HE, McCaughan GW et al. Fibroblast activation protein in liver fibrosis. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2019;24(1):1-17. DOI:10.2741/4706
3. Dhar D, Baglieri J, Kisseleva T et al. Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer. *Exp Biol Med (Maywood).* 2020;245(2):96-108. DOI:10.1177/1535370219898141
4. Luo N, Li J, Wei Y et al. Hepatic Stellate Cell: A Double-Edged Sword in the Liver. *Physiol Res.* 2021;70(6):821-829. DOI: 10.33549/physiolres.934755
5. Sufletel RT, Melincovici CS, Gheban BA et al. Hepatic stellate cells - from past till present: morphology, human markers, human cell lines, behavior in normal and liver pathology. *Rom J Morphol Embryol.* 2020;61(3):615-642. DOI:10.47162/RJME.61.3.01
6. Sørensen MD, Thiele M, Krag A et al. Stage-dependent expression of fibrogenic markers in alcohol-related liver disease. *Pathol Res Pract.* 2022;231:153798. DOI: 10.1016/j.prp.2022.153798
7. Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;121:27-42. DOI: 10.1016/j.addr.2017.05.007
8. Sun Y, Liu B, Xie J et al. Aspirin attenuates liver fibrosis by suppressing TGF β 1/Smad signaling. *Mol Med Rep.* 2022;25(5):181. DOI:10.3892/mmr.2022.12697
9. Wells RG. Portal Fibroblasts in Biliary Fibrosis. *Curr Pathobiol Rep.* 2014;2(4):185-190. DOI: 10.1007/s40139-014-0054-y
10. Fuji H, Miller G, Nishio T et al. The role of mesothelin signaling in portal fibroblasts in the pathogenesis of cholestatic liver fibrosis. *Front Mol Biosci.* 2021;8:790032. DOI: 10.3389/fmolb.2021.790032
11. Yang AT, Kim YO, Yan XZ et al. Fibroblast Activation Protein Activates Macrophages and Promotes Parenchymal Liver Inflammation and Fibrosis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2022:S2352-345X(22)00253-3. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2022.12.005
12. Banin VV, Belousova TA, Bykov VL i dr. Terminologia Histologica. Mezhdunarodnye terminy po tsitologii i gistologii cheloveka s ofitsial'nym spiskom russkikh ekvivalentov: spravochnoe posobie. M.: GEOTAR-Media, 2009.- 272s. In Russian
13. Everhart JE, Wright EC, Goodman ZD et al. HALT-C Trial Group. Prognostic value of Ishak fibrosis stage: findings from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial // *Hepatology.* 2010. Vol. 51, N 2. P. 585-594. DOI: 10.1002/hep.23315
14. Kirik OV, Karpenko MN, Korzhevskiy DE. Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primeneniye metodov immunogistokhimii. *Rukovodstvo.* S-Pb.: SpetsLit, 2014.- 119s. In Russian
15. Avery D, Govindaraju P, Jacob M et al. Extracellular matrix directs phenotypic heterogeneity of activated fibroblasts. *Matrix Biol.* 2018;67:90-106. DOI: 10.1016/j.matbio.2017.12.003
16. Younis NS, Ghanim AMH, Elmorsy MA et al. Taurine ameliorates thioacetamide induced liver fibrosis in rats via modulation of toll like receptor 4/nuclear factor kappa B signaling pathway. *Sci Rep.* 2021 Jun 10;11(1):12296. DOI: 10.1038/s41598-021-91666-6
17. Voutilainen SH, Kosola SK, Lohi J et al. Expression of 6 Biomarkers in Liver Grafts After Pediatric Liver Transplantation: Correlations with Histology, Biochemistry, and Outcome. *Ann Transplant.* 2020;25:e925980. DOI: 10.12659/AOT.925980
18. Fitzgerald AA, Weiner LM. The role of fibroblast activation protein in health and malignancy. *Cancer Metastasis Rev.* 2020;39(3):783-803. DOI: 10.1007/s10555-020-09909-3
19. Wu Y, Li Z, Xiu AY et al. Carvedilol attenuates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis and hepatic sinusoidal capillarization in mice *Drug Des Devel Ther.* 2019;13:2667-2676. DOI: 10.2147/DDDT.S210797
20. Lebedeva EI. The Role of CK19-Positive Portal Zone Cells in Thioacetamide Induced Rat Liver Cirrhosis. *Cell and Tissue Biology.* 2021;15(6):568-576. DOI: 10.1134/S1990519X21060067
21. Lemoine S, Thabut D, Housset C. Portal myofibroblasts connect angiogenesis and fibrosis in liver. *Cell Tissue Res.* 2016;365(3):583-589. DOI: 10.1007/s00441-016-2443-5
22. Dendl K, Koerber SA, Kratochwil C et al. FAP and FAPI-PET/CT in Malignant and Non-Malignant Diseases: A Perfect Symbiosis? *Cancers (Basel).* 2021;13(19):4946. DOI: 10.3390/cancers13194946
23. Fitzgerald AA, Weiner LM. The role of fibroblast activation protein in health and malignancy. *Cancer Metastasis Rev.* 2020;39(3):783-803. DOI: 10.1007/s10555-020-09909-3
24. Hamson EJ, Keane FM, Tholen S et al. Understanding fibroblast activation protein (FAP): substrates, activities, expression and targeting for cancer therapy. *Proteomics Clin Appl.* 2014;8(5-6):454-463. DOI: 10.1002/prca.201300095

Автор заявляет об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Лебедева Елена Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь;
e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

The author declares that have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

INFORMATION ABOUT AUTHOR

Elena I. Lebedeva, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus;
e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru



ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА КЕРАТИНОЦИТОВ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО И ФРАКЦИОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ ¹Шаповалова Е.Ю., ¹Марукян А.Х., ²Вадюхин М.А., ^{2,3}Демяшкин Г.А.

¹Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, ²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, ³Национальный медицинский исследовательский центр радиологии, Москва, Россия, e-mail: shapovalova_l@mail.ru

Для цитирования:

Шаповалова Е.Ю., Марукян А.Х., Вадюхин М.А., Демяшкин Г.А. Иммуногистохимическая оценка пролиферации и апоптоза кератиноцитов после однократного и фракционного облучения электронами. Морфологические ведомости. 2023;31(3):775. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).775](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).775)

Резюме. Лучевую терапию не-меланомных видов рака кожи онкодерматологи и радиобиологи используют при неэффективном хирургическом лечении и в качестве адъювантной или паллиативной терапии. Создание экспериментальных моделей для изучения пролиферативно-апоптотического баланса кератиноцитов дает возможность оценить степень и глубину постлучевого повреждения кожи после воздействия электронами для подбора оптимальных доз в клинике. Цель исследования: иммуногистохимическая оценка пролиферации и апоптоза кератиноцитов после локального облучения электронами кожи. В эксперименте использованы крысы-самцы породы Вистар (n=50), которые были поделены на группы: I – контрольная (n=20), которым вводили физиологический раствор и опытные – которым было произведено локальное облучение электронами кожи наружной поверхности бедра: II – 8 Гр (n=10, однократное), III – 40 Гр (n=10, однократное), IV – фракционное по 13 Гр в течение 6 суток суммарной очаговой дозой 78 Гр (n=10). После завершения эксперимента осуществляли биопсию кожи наружной поверхности бедра и производили иммуногистохимическое исследование гистологических препаратов с антителами к антигенам Ki-67, каспазе-3 и p53. Анализ фрагментов кожи после облучения показал смещение пролиферативно-апоптотического баланса в сторону апоптоза кератиноцитов: уменьшение уровня экспрессии Ki-67 и увеличение количества p53-позитивных клеток. После однократного облучения электронами в дозах 8 Гр и 40 Гр обнаружили увеличение кератиноцитов, позитивно окрашенных с антителами к каспазе-3, – в 3,4 и в 6,6 раз соответственно, а при фракционном режиме облучения в суммарной дозе 78 Грей – в 11,6 раз по сравнению с контрольной группой. Таким образом, локальное облучение электронами в разовых дозах 8 Гр и 40 Гр приводит к смещению пролиферативно-апоптотического баланса кератиноцитов в сторону их апоптоза, активность которого прямо пропорциональна дозе ионизирующего излучения, а фракционный режим (суммарная очаговая доза 78 Гр) приводит к частичной десквамации эпителия и воспалительной инфильтрации.

Ключевые слова: эпидермис, ионизирующее облучение, кератиноциты, апоптоз, пролиферация, иммуногистохимия

Статья поступила в редакцию 22 января 2023

Статья принята к публикации 4 августа 2023

IMMUNOHISTOCHEMICAL ASSESSMENT OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS OF KERATINOCYTES AFTER A SINGLE FRACTIONAL IONIZING IRRADIATION

¹Shapovalova EYu, ¹Marukyan AKh, ²Vadyukhin MA, ^{2,3}Demyashkin GA

¹Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, ²Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, ³National Medical Research Centre of Radiology, Moscow, Russia, e-mail: shapovalova_l@mail.ru

For the citation:

Shapovalova EYu, Marukyan AKh, Vadyukhin MA, Demyashkin GA. Immunohistochemical assessment of proliferation and apoptosis of keratinocytes after a single fractional ionizing irradiation. Morfologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):775. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).775](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).775)

Summary. Radiation therapy for non-melanoma skin cancers is used by oncologists and radiologists in cases of ineffective surgical treatment and as adjuvant or palliative therapy. The creation of experimental models to study the proliferative-apoptotic balance of keratinocytes makes it possible to assess the degree and depth of post-radiation skin damage after exposure to electrons in order to select optimal doses in the clinic. The purpose of the study: immunohistochemical assessment of proliferation and apoptosis of keratinocytes after local electron irradiation of the skin. The experiment used male Wistar rats (n=50), which were divided into groups: I – control (n=20), which were injected with saline solution, and experimental rats, which received local electron irradiation of the skin of the outer surface of the thigh: II – 8 Gy (n=10, single), III – 40 Gy (n=10, single), IV – fractional 13 Gy for 6 days with a total focal dose of 78 Gy (n=10). After completion of the experiment, a skin biopsy of the outer surface of the thigh was performed and an immunohistochemical study of histological preparations with antibodies to the Ki-67, caspase-3 and p53 antigens was performed. Analysis of skin fragments after irradiation showed a shift in the proliferative-apoptotic balance towards keratinocyte apoptosis: a decrease in the level of Ki-67 expression and an increase in the number of p53-positive cells. After a single irradiation with electrons at doses of 8 Gy and 40 Gy, increase in keratinocytes stained positively with antibodies to caspase-3 was found – by 3.4 and 6.6 times, respectively, and with a fractional irradiation mode at a total dose of 78 Gy – by 11.6 times compared to the control group. Thus, local irradiation with electrons in single doses of 8 Gy and 40 Gy leads to a shift in the proliferative-apoptotic balance of keratinocytes towards their apoptosis, the activity of which is directly proportional to the dose of ionizing radiation, and the fractional mode (total focal dose of 78 Gy) leads to partial desquamation of the epithelium and inflammatory infiltration.

Keywords: epidermis, ionizing radiation, keratinocytes, apoptosis, proliferation, immunohistochemistry

Article received 22 January 2023

Article accepted 4 August 2023

Введение. Рак кожи является наиболее часто диагностируемым видом рака среди всех злокачественных новообразований [1]. Развитие и распространение онкологического процесса, прогноз и морфологические признаки позволяют делить не-меланомный рак кожи на базальноклеточный и плоскоклеточный [2]. Лучевую терапию не-меланомного рака кожи онкодерматологи и радиобиологи применяют при неэффективном хирургическом лечении, а также в качестве адъювантной или паллиативной терапии [3]. При этом используют брахитерапию, гипофракционированное и традиционно фракционированное контактное или поверхностное облучение фотонами или Х-лучами, причем доза подбирается индивидуально и составляет в среднем у молодых людей фракции в дозах 2 – 2,5 Гр, а у пожилых – в дозах 3 – 5 Гр и более [4]. Несмотря на относительно щадящие дозы и режимы фракционирования у молодых людей, часто отмечают повреждение около-опухолевых тканей в виде десквамации эпителия, некроза мягких тканей, хрящевой и костной ткани, пигментные изменения, телеангиоэктазии, фиброз и атрофия кожи [5-6].

Лучевая терапия основана на концепции, что активно пролиферирующие атипичные клетки более чувствительны к ионизирующему излучению и не могут восстанавливаться так же эффективно, как здоровые. В течение нескольких часов после облучения инициируется ряд сигнальных и воспалительных цитокиновых каскадов, образуются ионы, проходящие через ткани и вызывающие двуцепочечные разрывы ДНК (прямой эффект) [7]. Энергия ионизирующего излучения также воздействует на молекулы воды с образованием активных форм кислорода (АФК) – супероксида, перекиси водорода и гидроксильного радикала, которые косвенно вызывают дальнейшее повреждение ДНК и других клеточных компонентов (например, клеточных мембран, белков и липидов; косвенный эффект) [8-9]. Гибель клеток происходит путем апоптоза, некроза, включая высвобождение молекул, ассоциированных с повреждением: белков теплового шока, амфотерина, фрагментов ги-

луронана и других [10-11]. Это активирует иммунную систему, обеспечивая дополнительные противоопухолевые реакции [12-13]. Наименьшие побочные эффекты описаны в единичных работах с применением фракционного локального облучения электронами в суммарных дозах 44 Гр и 54 Гр [14]. Тем не менее, механизмы постлучевых повреждений окончательно не раскрыты, а исследования жизненного цикла кератиноцитов немногочисленны, в связи с чем проблема по-прежнему остается актуальной. Жизненный цикл кератиноцитов регулируются белками Ki-67, обеспечивающими пролиферацию, и каспазами, ответственными за апоптоз. Постоянно обновляющийся эпителий обладает высокой чувствительностью к радиоактивному излучению, что проявляется снижением митотического деления и гибелью кератиноцитов. Активация апоптоза происходит по внешнему и внутреннему путям, а за терминальную фазу ответственна каспаза-3. Другим регулятором клеточного цикла является проапоптотический белок p53 [15]. Создание экспериментальных моделей для изучения пролиферативно-апоптотического баланса кератиноцитов может предоставить возможность оценить степень и глубину постлучевого повреждения кожи после воздействия электронами для подбора оптимальных доз.

Цель исследования: иммуногистохимическая оценка пролиферации и апоптоза кератиноцитов после локального облучения кожи электронами ионизирующего излучения.

Материалы и методы исследования. В эксперименте использованы крысы-самцы породы Вистар (n=50), которые были поделены на группы: I – контрольная (n=20), которым вводили физиологический раствор и опытные - которым было произведено локальное облучение электронами кожи наружной поверхности бедра: II – 8 Гр (n=10; однократное), III – 40 Гр (n=10, однократно), IV – фракционное по 13 Гр в течение 6 суток суммарной очаговой дозой 78 Гр (n=10). Животных подвергали локальному облучению кожи наружной поверхности бедра (мощность дозы 1 Гр/мин, энергия 10 МэВ и частота 9

Гц, размер поля – Ø 100 мм) с использованием линейного акселератора «NOVAC-11». Все манипуляции осуществляли в соответствии с Международными рекомендациями (ЕЭС, Страсбург, 1985), Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (ЕЭС, Страсбург, 1986), Руководствами по проведению медико-биологических исследований по уходу и использованию лабораторных животных (ILAR, DELS), Правилами лабораторной практики и приказом Минздрава России № 199-н от 01.04.2016 «Об утверждении правил лабораторной практики». Фрагменты кожи после фиксации в забуференном растворе формалина готовили по стандартному протоколу, окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические микропрепараты анализировали в 10 полях зрения светового микроскопа.

Для иммуногистохимического исследования фрагменты кожи после фиксации в растворе Буэна готовили по стандартному протоколу. В качестве первичных использовали моноклональные антитела к Ki-67 (ThermoFisher, Clone MM1), p53 (ThermoFisher, Clone DO-7) и Caspase 3 (ThermoFisher, Clone 74T2), а вторичные – универсальные антитела (HiDef Detection™ HRP Polymer system, «Cell Marque», США). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера. Подсчет количества иммунопозитивных клеток проводили в 10 случайно отобранных полях зрения при увеличении $\times 400$ в % к общему числу клеток в поле зрения. Микроскопический анализ выполнялся с помощью системы видео-микроскопии микроскопа (Leica DM2000, Германия; камера Leica ICC50 HD). Полученные в результате подсчета данные обрабатывали с использованием компьютерной программы и данные были выражены как «среднее значение доли \pm ошибка средней доли». Сравнения производились с использованием непараметрического дисперсионного анализа. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты исследования и обсуждение. При микроскопическом исследовании у животных контрольной группы кожа состояла из эпидермиса, сосочкового

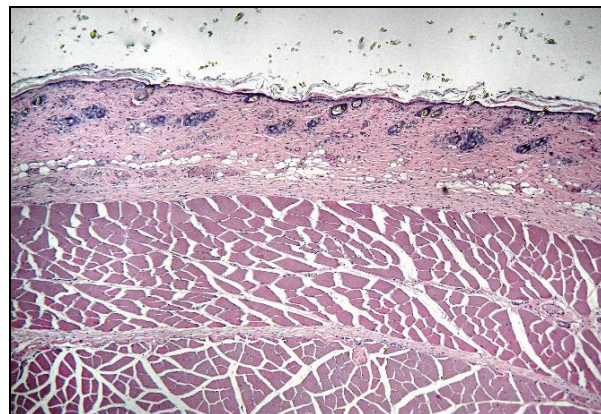
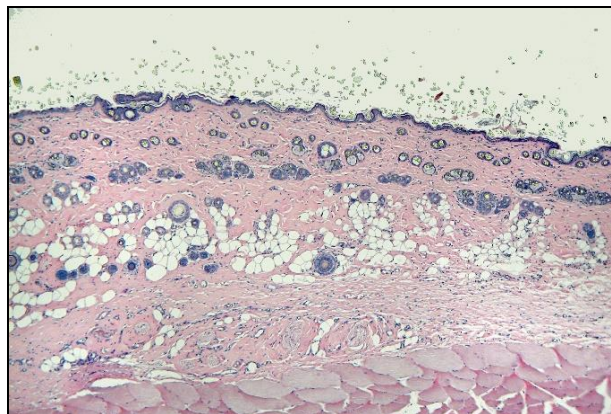
и сетчатого слоев дермы и гиподермы, отчетливо визуализировались придатки кожи и обильные волосные фолликулы (рис. 1-А). В опытных группах (II–IV) наблюдали повреждения кожи разной степени, коррелирующие с дозой облучения. Во II группе отмечали утолщение базального слоя эпидермиса в области волосных луковиц с незначительным расслоением рогового слоя и интактными придатками. В сосочковом слое дермы наблюдалась очаговая лейкоцитарная инфильтрация, периваскулярный отек, расширенные кровеносные сосуды со сладжем эритроцитов в их просвете (рис. 1-Б). В III группе (доза облучения электронами 40 Гр) выявлены уплощение и частичное отсутствие базального слоя эпидермиса, сглаженный сосочковый слой дермы, расширенные кровеносные сосуды со сладжем эритроцитов в их просвете, отсутствие саленных желез, сохранные волосные фолликулы и подкожно-жировая клетчатка. Обнаружены микрополости эпидермально-дермального перехода, заполненные слущенными клетками эпидермиса и полиморфно-ядерными лейкоцитами (рис. 1-В). После фракционного облучения электронами (суммарная доза 78 Гр) в препаратах кожи эпителий частично отсутствует, видны сглаженный и интенсивно инфильтрированный полиморфно-ядерными лейкоцитами сосочковый слой дермы, отек сетчатого слоя дермы и гиподермы, коллагеновые волокна разрыхлены, расширенные кровеносные сосуды с отслойкой эндотелия, агрегацией и сладжем эритроцитов, саленные железы и волосные фолликулы деструктурированы (рис. 1-Г).

При иммуногистохимическом исследовании наблюдали окрашивание ядер антителами к Ki-67 в кератиноцитах базального слоя эпидермиса и интерфолликулярных эпителиоцитах, окрашивания меланоцитов и клеток Лангерганса не обнаружили. При анализе распределения окраски на Ki-67 отмечали уменьшение позитивно окрашенных кератиноцитов после однократного облучения дозой 8 Гр (II группа) в 1,2 раза, и дозой 40 Гр – в 2,6 раза, а также фракционно суммарной до-

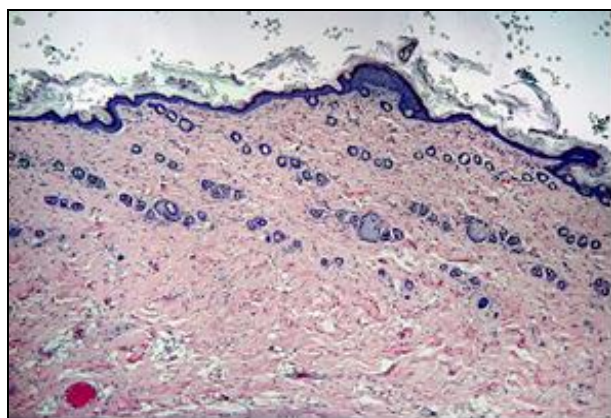
зой 78 Гр – в 5,9 раз по сравнению с контрольной группой (табл. 1, рис. 2).

После однократного облучения электронами в дозах 8 Гр и 40 Гр обнаружили увеличение кератиноцитов позитивно окрашенных с антителами к каспа-

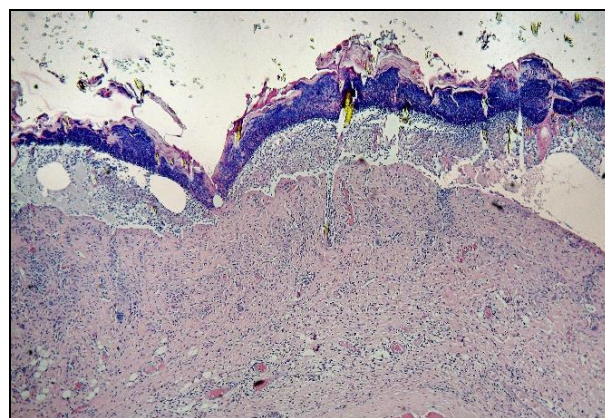
зе-3, – в 3,4 и в 6,6 раз соответственно, а при фракционном режиме облучения в суммарной дозе 78 Грей – в 11,6 раз по сравнению с контрольной группой (табл. 1, рис. 2).



Б



В



Г

Рис. 1. Микрофото гистологических препаратов кожи крыс I-III групп (на 10 сутки) и IV группы (на 15 сутки). Обозначения: А – контроль; Б – после однократного облучения электронами в дозе 8 Гр; В – после однократного облучения электронами в дозе 40 Гр; Г – после фракционного облучения электронами в суммарной дозе 78 Гр. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув.: $\times 100$

Количество p53⁺ клеток после однократного облучения электронами в дозах 8 Гр и 40 Гр увеличилось в 3,0 раза и в 5,3 раз, соответственно, а после фракционного облучения электронами в суммарной дозе 78 Гр – в 7,3 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 1, рис. 2). На основании результатов иммуногистохимического исследования наблюдается увеличение интенсивности апоптоза кератиноцитов, коррелирующее с дозой облучения, фракционный режим является наиболее повреждающим для окружающих тканей.

Таблица 1
Доля позитивно окрашенных к антигенам кератиноцитов в гистологических препаратах кожи контрольной и опытных групп крыс в % ($P \pm p_m$)

Группы	Ki-67	Cas 3	p53
Контроль	37,2 \pm 1,8	5,4 \pm 0,2	7,8 \pm 0,3
8 Гр	31,8 \pm 1,6	18,6 \pm 0,9	23,5 \pm 1,1
40 Гр	14,5 \pm 0,7	35,5 \pm 1,7 ^a	41,2 \pm 2,0 ^a
78 Гр	6,3 \pm 0,3 ^b	62,4 \pm 3,1 ^b	57,2 \pm 2,8 ^b

Примечание: ^a - $p < 0,05$ (контроль и 40 Гр), ^b - $p < 0,05$ (контроль и 78 Гр)

Иммуногистохимические маркеры

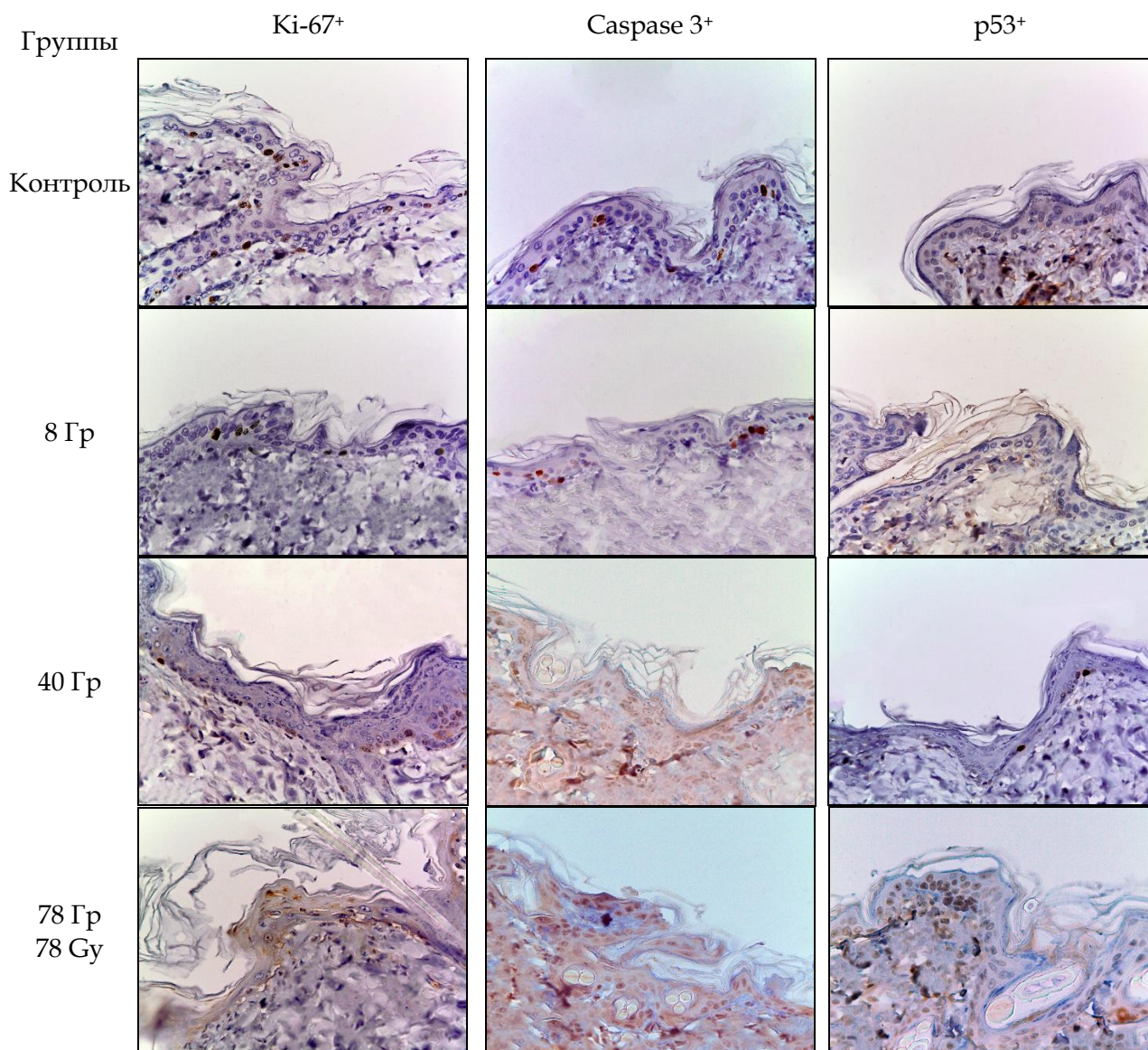


Рис. 2. Микрофото гистологических препаратов кожи крыс I-III групп на 10 сутки и IV группы на 15 сутки. Окр.: иммуногистохимическая (см. в тексте) с докраской ядер гематоксилином. Ув.: $\times 400$

Настоящее исследование посвящено иммуногистохимической оценке нарушения пролиферации кератиноцитов, возникшего после однократного (8 Гр и 40 Гр) и фракционного (суммарная доза 78 Гр) локального облучения кожи наружной поверхности бедра у крыс электронами ионизирующего излучения. В современной онкологии радиологии наиболее часто применяют следующие виды ионизирующего излучения: фотоны, рентгеновское излучение, электроны. Данные об использовании этих видов терапии и их побочных эффектах при лечении преимущественно не-меланомного рака кожи не-

многочисленны и противоречивы. При однократном облучении γ -лучами в невысоких дозах (3–5 Гр) ряд авторов отмечали гибель кератиноцитов базального слоя эпидермиса [16-17]. Однако, в проведенном нами исследовании, однократное облучение электронами в дозе 8 Гр привело к слабым патологическим изменениям эпидермиса. В другом исследовании, после воздействия рентгеновского излучения в дозе 25 Гр было обнаружено уменьшение плотности микрососудов в коже, приводящее к ишемии тканей и, тем самым, значительно снижающее скорость заживления ран. Кроме того, авторы отмечали

увеличение экспрессии провоспалительных факторов (TNF- α , IL-1 и IL-6) высвобождение молекул клеточной адгезии, что ускоряло миграцию, адгезию и экссудацию лейкоцитов и индуцировало миграцию макрофагов, нейтрофилов и моноцитов, как клеточного субстрата местной воспалительной реакции в ответ на лучевое поражение [18]. Вероятно, обнаруженная полиморфно-клеточная инфильтрация кожи при различных дозах облучения электронами может быть объяснена механизмом развития воспаления. Некоторые авторы отмечали поражение сальных и потовых желез, а также волосяных фолликулов после воздействия фотонов в дозе 45 Гр. Это приводило к некрозу, патогенетически связанному с ишемией вследствие разрушения стенки кровеносных сосудов [19-20]. Напротив, в нашем исследовании после однократного облучения электронами в дозе 40 Гр волосяные фолликулы сохранялись на всех уровнях среза, а сальные железы погибали из-за их большей радиочувствительности. Наиболее выраженное повреждение кожи наблюдали после фракционного облучения электронами с незначительным поражением сосудистой стенки, в то время как другие виды облучения (например, фотоны) приводят к ее полному разрушению [6].

Молекулярные механизмы радиационно-индуцированной гибели клеток до сих пор мало изучены. Дисбаланс между пролиферацией и апоптозом кератиноцитов, в том числе вызванным облучением, сопровождается уменьшением клеточного пула за счет модуляции GSK3-, ERK- и Ras/Raf/MEK-1 сигнальных путей, который ведет к деактивации Bcl-2 и индукции p53-антигена [21-22]. После однократного облучения электронами в дозах 8 Гр и 40 Гр наблюдали снижение числа Ki-67-позитивных кератиноцитов, которое связано с прямым токсическим действием ионизирующего излучения на активно пролиферирующие клетки и в которых происходит разрушение клеточных мембран и структуры макромолекул (ДНК, РНК, белков, липидов и других), а также модуляция MAPK-, PI3K- и NF κ B-сигнальных путей, белков семейства ErbB

и нарушение клеточного дыхания на уровне цепи переноса электронов в митохондриях, что приводит к дисбалансу антиоксидантной и прооксидантной систем [23]. Кроме того, обнаруженное угнетение дифференцировки кератиноцитов связано с повреждением таких сигнальных путей как PI3-киназы/Akt и Ras/Raf/MEK-1, а также гликогенсинтазы, киназы-3 (GSK-3) и киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK) [21]. Модуляция активности вышеперечисленных каскадов приводит к конденсации хроматина и фрагментации ДНК, то есть к апоптозу, подтвержденному увеличением доли caspase-3- и p53-позитивных клеток. После однократного облучения электронами наблюдались снижение количества митотически делящихся генераций клеток. При физиологическом жизненном цикле кератиноцитов преимущественно уменьшается пул делящихся клеток вследствие их активной селекции [24-25] и происходит смещение пролиферативно-апоптотического баланса в сторону апоптоза [23]. Согласно результатам нашего исследования, смещение пролиферативно-апоптотического баланса, обнаруженное во II и III группах в сторону апоптоза кератиноцитов после фракционного облучения электронами оказалось значительно выше, чем при однократном.

Заключение. Локальное облучение электронами в разовых дозах 8 Гр и 40 Гр приводит к смещению пролиферативно-апоптотического баланса кератиноцитов в сторону их апоптоза, активность которого прямо пропорциональна дозе ионизирующего излучения, а фракционный режим облучения в суммарной дозе 78 Гр приводит к частичной десквамации эпителия и воспалительной инфильтрации. Полученные в настоящем исследовании экспериментальные данные могут быть использованы в разработке различных видов лучевой терапии и определения оптимальных доз облучения в экспериментальной и ветеринарной медицине.

Литература References

- Perez M, Abisaad JA, Rojas KD, et al. Skin cancer: Primary, secondary, and tertiary prevention. Part I. J Am Acad Dermatol. 2022;87(2):255-268. DOI:10.1016/j.jaad.2021.12.066
- Cives M, Mannavola F, Lospalluti L, et al. Non-Melanoma Skin Cancers: Biological and Clinical Features. Int J Mol Sci. 2020;21(15):5394. DOI:10.3390/ijms21155394
- Pashazadeh A, Boese A, Friebe M. Radiation therapy techniques in the treatment of skin cancer: an overview of the current status and outlook. J Dermatolog Treat. 2019;30(8):831-839. DOI:10.1080/09546634.2019.1573310
- Chua B, Jackson JE, Lin C, Veness MJ. Radiotherapy for early non-melanoma skin cancer. Oral Oncol. 2019;98:96-101. DOI:10.1016/j.oraloncology.2019.09.018
- Locke J, Karimpour S, Young G, et al. Radiotherapy for epithelial skin cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2001;51(3):748-755. DOI:10.1016/S0360-3016(01)01656-X
- Olschewski T, Bajor K, Lang B, et al. Radiotherapie des Basalzellkarzinoms im Gesichts-/Kopfbereich: Bedeutung einer niedrigen Einzeldosis für das Langzeitergebnis [Radiotherapy of basal cell carcinoma of the face and head: Importance of low dose per fraction on long-term outcome]. J Dtsch Dermatol Ges. 2006;4(2):124-130. DOI:10.1111/j.1610-0387.2006.05880.x
- Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. Nature. 2009;461(7267):1071-1078. DOI:10.1038/nature08467
- Mehta SR, Suhag V, Semwal M, Sharma N. Radiotherapy: Basic Concepts and Recent Advances. Med J Armed Forces India. 2010;66(2):158-162. DOI:10.1016/S0377-1237(10)80132-7
- Yoshimura M, Itasaka S, Harada H, Hiraoka M. Microenvironment and radiation therapy. Biomed Res Int. 2013;2013:685308. DOI:10.1155/2013/685308
- Lumniczky K, Sáfrány G. The impact of radiation therapy on the antitumor immunity: local effects and systemic consequences. Cancer Lett. 2015;356(1):114-125. DOI:10.1016/j.canlet.2013.08.024
- Brix N, Tiefenthaler A, Anders H, et al. Abscopal, immunological effects of radiotherapy: Narrowing the gap between clinical and preclinical experiences. Immunol Rev. 2017;280(1):249-279. DOI:10.1111/imr.12573
- Jeong H, Bok S, Hong BJ, et al. Radiation-induced immune responses: mechanisms and therapeutic perspectives. Blood Res. 2016;51(3):157-163. DOI:10.5045/br.2016.51.3.157
- Formenti SC, Demaria S. Systemic effects of local radiotherapy. Lancet Oncol. 2009;10(7):718-726. DOI:10.1016/S1470-2045(09)70082-8
- van Hezewijk M, Creutzberg CL, Putter H, et al. Efficacy of a hypofractionated schedule in electron beam radiotherapy for epithelial skin cancer: Analysis of 434 cases. Radiother Oncol. 2010;95(2):245-249. DOI:10.1016/j.radonc.2010.02.024
- Guo M, Hay BA. Cell proliferation and apoptosis. Curr Opin Cell Biol. 1999;11(6):745-752. DOI:10.1016/S0955-0674(99)00046-0
- Ward WF, Molteni A, Ts'ao C, Hinz JM. The effect of Captopril on benign and malignant reactions in irradiated rat skin. Br J Radiol. 1990;63(749):349-354. DOI:10.1259/0007-1285-63-749-349
- Ran X, Cheng T, Shi C, Xu H, et al. The effects of total-body irradiation on the survival and skin wound healing of rats with combined radiation-injury. J Trauma. 2004;57(5):1087-1093. DOI:10.1097/01.ta.0000141885.72033.c7
- Li Z, Gan H, Liang A, Wang X, et al. Promoting repair of highly purified stromal vascular fraction gel combined with advanced platelet-rich fibrin extract for irradiated skin and soft tissue injury. Ann Transl Med. 2022;10(17):933. DOI:10.21037/atm-22-3956
- McPartlin AJ, Slevin NJ, Sykes AJ, Rembielak A. Radiotherapy treatment of non-melanoma skin cancer: a survey of current UK practice and commentary. Br J Radiol. 2014;87(1043):20140501. DOI:10.1259/bjr.20140501
- Wang XJ, Lin S, Kang HF, et al. The effect of RHIZOMA COPTIDIS and COPTIS CHINENSIS aqueous extract on radiation-induced skin injury in a rat model. BMC Complement Altern Med. 2013;13:105. DOI:10.1186/1472-6882-13-105
- Wang Q, Zhou Y, Wang X, Evers BM. Glycogen synthase kinase-3 is a negative regulator of extracellular signal-regulated kinase. Oncogene. 2006;25(1):43-50. DOI:10.1038/sj.onc.1209004
- Morel C, Carlson SM, White FM, Davis RJ. Mcl-1 integrates the opposing actions of signaling pathways that mediate survival and apoptosis. Mol Cell Biol. 2009;29(14):3845-3852. DOI:10.1128/MCB.00279-09
- Reisz JA, Bansal N, Qian J, et al. Effects of ionizing radiation on biological molecules--mechanisms of damage and emerging methods of detection. Antioxid Redox Signal. 2014;21(2):260-292. DOI:10.1089/ars.2013.5489
- Khavkin J, Ellis DA. Aging skin: histology, physiology, and pathology. Facial Plast Surg Clin North Am. 2011;19(2):229-234. DOI:10.1016/j.fsc.2011.04.003
- Martincorena I, Roshan A, Gerstung M, et al. Tumor evolution. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. Science. 2015;348(6237):880-886. DOI:10.1126/science.aaa6806

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

Authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Шаповалова Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гистологии и эмбриологии, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия; e-mail: shapovalova_1@mail.ru

Elena Yu. Shapovalova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Histology and Embryology, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia; e-mail: shapovalova_1@mail.ru

Марукян Анна Хачиковна, аспирант кафедры гистологии и эмбриологии, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия; e-mail: marukyan87@mail.ru

Anna Kh. Marukyan, Aspirant of the Department of Histology and Embryology, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia; e-mail: marukyan87@mail.ru

Вадюхин Матвей Анатольевич, студент, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия; e-mail: vma20@mail.ru

Matvey A. Vadyukhin, Student, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; e-mail: vma20@mail.ru

Демяшкин Григорий Александрович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гистологии и иммуногистохимии Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, заведующий отделом патоморфологии Национального медицинского исследовательского центра радиологии, Москва, Россия; e-mail: dr.dga@mail.ru

Grigory A. Demyashkin, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Histology and Immunohistochemistry of the Sechenov First Moscow State Medical University, Head of the Department of Pathomorphology of the National Medical Research Radiological Centre, Moscow, Russia; e-mail: dr.dga@mail.ru

СТРУКТУРНЫЕ РЕАКЦИИ СЕРДЦА И ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ CD-1
НА ОДНОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ БОРКАПТАТА НАТРИЯ1,2Каныгин В.В., 2,4Колдышева Е.В., 2,3Завьялов Е.Л., 2,3Разумов И.А.,
2,3Соловьева О.И., 1Кичигин А.И., 2Бутикова Е.А., 4Капустина В.И.¹Институт ядерной физики имени Г.И. Будкера Сибирского отделения РАН, ²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, ³Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, ⁴Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия, e-mail: kanigin@mail.ru

Для цитирования:

Каныгин В.В., Колдышева Е.В., Завьялов Е.Л., Разумов И.А., Соловьева О.И., Кичигин А.И., Бутикова Е.А., Капустина В.И. Структурные реакции сердца и печени мышей CD-1 на однократное введение боркаптата натрия. Морфологические ведомости. 2023;31(3):812. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).812](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).812)

Резюме. Бор-нейтронозахватная терапия рассматривается как перспективный метод лечения злокачественных опухолей головы и шеи. Считается, что для повышения эффективности этого вида терапии требуется использование больших доз препарата бора, что может повлечь за собой нежелательное воздействие на здоровые ткани. Одним из веществ, применяемых в клинической практике бор-нейтронозахватной терапии, является обогащенный изотопом бора ¹⁰B боркапнат натрия Na₂B₁₂H₁₁SH (BSH). Цель исследования – изучение структурных реакций миокарда и печени мышей линии CD-1 после введения BSH. Проведено светооптическое и поляризационно-микроскопическое исследование миокарда и печени мышей-самцов линии CD-1 (n=56) после введения борсодержащего вещества в дозах 100 и 1000 мг/кг, однократно, внутривенно. Оценка структурных изменений в миокарде и печени проводилась через 1, 3 и 7 суток после введения BSH. Однократное введение BSH в дозе 100 мг/кг не приводило к гибели животных, тогда как через 3 часа после введения BSH в дозе 1000 мг/кг погибло 1 животное. Масса тела животных в течение эксперимента менялась незначительно. Анализ массы сердца показал снижение этого показателя к 3 и 7 суткам по сравнению с показателями в тех же группах на 1 сутки эксперимента. При анализе динамики изменений массы печени достоверные ее изменения на протяжении эксперимента не выявлены. К основным структурным изменениям миокарда относились литические и контрактурные повреждения кардиомиоцитов, гемодинамические нарушения в виде выраженного венозного и капиллярного полнокровия. Повреждения печени проявлялись в дистрофических изменениях гепатоцитов, появлении через 3 суток моноцеллюлярных некрозов гепатоцитов и периферических мононуклеарных инфильтратов. Полученные данные свидетельствуют о том, что использованные дозы BSH 100 и 1000 мг/кг при однократном введении вызывают структурные изменения миокарда и печени различной степени выраженности, которые сохраняются в течение 7 суток наблюдения.

Ключевые слова: миокард, печень, радиотерапия опухолей, боркапнат натрия, мыши CD-1Статья поступила в редакцию 19 июня 2023
Статья принята к публикации 18 августа 2023STRUCTURAL REACTIONS OF CD-1 MICE HEART AND LIVER
TO A SINGLE INJECTION OF BOROCAPTATE SODIUM1,2Kanygin VV, 2,4Koldysheva EV, 2,3Zav'yalov EL, 2,3Razumov IA, 2,3Solovyova OI,
1Kichigin AI, 2Butikova EA, 4Kapustina VI¹Budker Institute of Nuclear Physics of the Siberian Branch of RAS, ²Novosibirsk National Research State University, ³Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of RAS, ⁴Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia, e-mail: kanigin@mail.ru

For the citation:

Kanygin VV, Koldysheva EV, Zav'yalov EL, Razumov IA, Solovyova OI, Kichigin AI, Butikova EA, Kapustina VI. Structural reactions of CD-1 mice heart and liver to a single injection of borocaptate sodium. Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):812. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).812](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).812)

Summary. Boron neutron capture therapy is considered a promising method for the treatment of malignant tumors of the head and neck. It is believed that to increase the effectiveness of this type of therapy, the use of large doses of boron is required, which may entail damaging effects on healthy tissue. One of the substances used in the clinical practice of boron neutron capture therapy is sodium borocaptate Na₂B₁₂H₁₁SH (BSH), enriched with the ¹⁰B boron isotope. The purpose of the study was to study the structural reactions of the myocardium and liver of CD-1 mice after administration of BSH. A light-optical and polarization-microscopic study of the myocardium and liver of male CD-1 mice (n=56) was carried out after injection of a boron-containing substance in doses of 100 and 1000 mg/kg, once, intraperitoneally. Assessment of structural changes in the myocardium and liver was carried out 1, 3 and 7 days after BSH administration. A single injection of BSH at a dose of 100 mg/kg did not lead to the death of animals, whereas 3 hours after the injection of BSH at a dose of 1000 mg/kg, 1 animal died. The body weight of the animals changed slightly during the experiment. Analysis of heart weight showed a decrease in this indicator on days 3 and 7 compared with indicators in the same groups on day 1 of the experiment. When analyzing the dynamics of changes in liver mass, no significant changes were revealed during the experiment. The main structural changes in the myocardium included lytic and contractural damage to cardiomyocytes, hemodynamic disturbances in the form of pronounced venous and capillary congestion. Liver damage was manifested in dystrophic changes in hepatocytes, the appearance after 3 days of monocellular necrosis of hepatocytes and pericentral mononuclear infiltrates. The data obtained indicate that the used doses of BSH 100 and 1000 mg/kg with a single injection cause structural changes in the myocardium and liver of varying severity, which persist for 7 days of observation.

Keywords: myocardium; liver; tumor radiotherapy; sodium borocaptate; CD-1 miceArticle received 19 June 2023
Article accepted 18 August 2023

Введение. Важнейшей медико-биологической задачей остается разработка новых подходов к лечению особо агрессивных злокачественных новообразований, к которым относятся опухоли мозга с высокой пролиферативной активностью, выраженным метастатическим потенциалом, коротким периодом ремиссии и низким уровнем выживаемости пациентов. Одним из таких подходов является бор-нейтронозахватная терапия (далее - БНЗТ), которая относится к разряду лучевой терапии злокачественных опухолей [1-3]. Считается, что эта технология позволяет объединить принцип органа-мишени, используемый в химиотерапии и принцип анатомической локализации традиционной радиотерапии [4]. Принцип БНЗТ основан на реакции захвата изотопом ^{10}B теплового нейтрона и образованием нестабильного изотопа ^{11}B , который распадается на альфа-частицу и ион лития, что обеспечивает повреждение ДНК и гибель опухолевой клетки, в которой селективно накапливается ^{10}B [5]. Для проведения БНЗТ необходим малотоксичный агент, обогащенный ^{10}B . Одним из таких соединений является боркаптат натрия $\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ (BSH). Хотя BSH был впервые использован в клинической практике БНЗТ еще в 1975 году, использование его до сих пор актуально как в экспериментальных исследованиях, так и в клинической практике [6-8]. Однако кардио- и гепатотоксичность этого вещества и его роль в структурных перестройках жизненно важных органов, уровень цитотоксичности для опухолевых и неопухолевых клеток изучена до сих пор недостаточно. Есть данные, свидетельствующие о низкой токсичности BSH применяемом в терапевтической дозе 100 мг/кг [9-11], но, как известно, для подавления опухолевого роста лимитирующим фактором нередко является доза препарата, как, например, это происходит с широко применяемыми антрациклиновыми антибиотиками [12]. В экспериментальных исследованиях использовались дозы препарата до 1000 мг/кг, которые показали LD_{50} исследуемых лабораторных мышей [13]. Однако такая высокая летальность была связана с недостаточной чистотой синтезированного препарата, а дополнительные морфологические исследования не проводились. В связи с этим актуальность приобретает вопрос дозировки и способа доставки применяемого ве-

щества, а также понимание путей взаимодействия борсодержащих препаратов с опухолевой клеткой и организмом в целом. Особое значение имеет исследование возможной структурной реорганизации здоровых тканей в ответ на введение этого вещества [14-15].

Цель исследования: изучение структурных реакций миокарда и печени мышей CD-1 после введения боркаптата натрия, обогащенного изотопом ^{10}B .

Материалы и методы исследования. В эксперименте использованы мыши-самцы линии CD-1 в возрасте 12 недель, массой 38-45 г ($n=56$), которых содержали в Центре генетических ресурсов лабораторных животных на базе ЦКП «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН в клетках Tecniplast в контролируемых условиях. Животные были разделены на 3 группы. Группа 1 ($n=27$) получала 0,9% раствор NaCl, который вводили в том же объеме, что и борсодержащее вещество. Группы 2 ($n=15$) и 3 ($n=14$) получали боркаптат натрия (BSH) в дозе 100 и 1000 мг/кг, соответственно. Был использован BSH производства Katchem spol. s. r. o. (Чехия) [CAS 12448-24-7], обогащенный изотопом ^{10}B ($>99.5\%$), который растворяли в 0,9% растворе NaCl с учетом максимально допустимого объема для инъекции. Инъекции проводили однократно, внутривенно. Все манипуляции проводили с соблюдением принципов гуманного отношения к животным (Директивой Европейского сообщества 86/609/ЕЕС).

Из эксперимента животных выводили декапитацией через 1, 3 и 7 суток после введения BSH. После вскрытия животного визуально оценивали состояние внутренних органов, проводили взвешивание внутренних органов. Сердце помещали в холодовую камеру до полной остановки, извлекали печень. Образцы стенки левого желудочка сердца и фрагменты печени фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина (Biovitrum, Россия). Проводку осуществляли в аппарате STP120 (Microm GmbH, Walldorf, Germany). Парафиновые срезы толщиной 2-3 мкм получали на ротационном микротоме HM325 (Thermo Fisher Scientific, Runcorn, UK). После стандартной процедуры депарафинации окрашивали ге-

матоксилином и эозином с постановкой реакции Перльса. Светооптическое и поляризационно-микроскопическое исследование препаратов проводили с использованием универсального микроскопа Leica DM 4000B. Для получения снимков с препаратов применяли цифровую фотокамеру Leica DFC230 и компьютерную программу Leica QWin3 (Leica Microsystem, Cambridge, UK). При статистической обработке результатов определяли средние значения параметров, вычисляли дисперсию и стандартную ошибку среднего. Для сравнения нормально распределенных количественных данных использовали непарный t-критерий Стьюдента. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Однократное введение BSH в дозе 100 мг/кг не приводило к гибели животных, тогда как через 3 часа после вве-

дения BSH в дозе 1000 мг/кг погибло 1 животное (7%). Масса тела животных в течение эксперимента менялась незначительно. Анализ массы сердца показал снижение этого показателя к 3 и 7 суткам: у животных 2-й группы на 45 и 55% ($p < 0,05$), а у животных 3 группы на 30 и 20% по сравнению с показателями в тех же группах на 1 сутки. Относительная масса сердца у животных 2 группы к 7 суткам эксперимента снижалась по сравнению с контролем (на 42%; $p < 0,05$) и показателем той же группы на 1 сутки эксперимента (на 55%; $p < 0,05$). В 3 группе к 7 суткам наблюдалась сходная тенденция, снижение составляло 12% по сравнению с контролем и 31% по сравнению с показателями той же группы на 1 сутки эксперимента. При анализе динамики массы печени достоверные изменения не выявлены (табл. 1).

Таблица 1

Масса тела, сердца и печени мышей CD-1 при введении BSH в дозах 100 и 1000 мг/кг, ($M \pm m$)

Показатель	1 группа (кон- троль)	2 группа			3 группа		
		Время после введения BSH					
		1 сутки	3 сутки	7 сутки	1 сутки	3 сутки	7 сутки
Масса тела, г	41,30±0,96	40,7±0,8	39,3±0,5	41,1±0,6	39,2±2,2	38,3±0,9	45,0±0,4
Масса сердца, г	0,17±0,02	0,22±0,0	0,12±0,0 [#]	0,10±0,0 [#]	0,20±0,0	0,14±0,0	0,16±0,0
Относительная масса сердца, мг/г	4,19±0,43	5,37±0,4	3,06±0,5	2,43±0,0 ^{*#}	5,15±0,4	3,66±0,7	3,55±0,5
Масса печени, г	2,08±0,08	2,04±0,1	1,86±0,0	2,10±0,0	2,13±0,1	2,0±0,1	2,4±0,1
Относительная масса печени, мг/г	50,18±1,24	50,0±1,5	47,3±0,8	51,1±0,8	54,4±1,8	52,2±1,9	53,3±1,7

Примечание: [#] - $p < 0,05$ по сравнению с показателем той же группы на 1 сутки; ^{*} - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

Светооптическое исследование печени выявило, что общее строение органа во всех группах было сохранено. У контрольных животных цитоплазма гепатоцитов равномерно окрашивалась эозином. Ядра содержали преимущественно эухроматин, гетерохроматин располагался некрупными глыбками в околоядрышковой зоне или по периметру кариолеммы. Центральные и портальные вены и синусоидные капилляры иногда были расширены, полнокровны.

Через 1 сутки после введения BSH во 2-й и 3-й группах отмечались сходные изменения строения печени. Одно и двухядерные гепатоциты существенно варьировали по размеру, их цитоплазма окра-

шивалась преимущественно равномерно. В то же время следует отметить, что у животных 3-й группы отмечался выраженный полиморфизм ядер и дистрофические изменения, проявляющиеся в вакуолизации цитоплазмы гепатоцитов (рис. 1-Б). В обеих группах гемодинамические изменения выражались в более выраженном расширении центральных и портальных вен и синусоидных капилляров по сравнению с 1-й группой (рис. 1-А).

Через 3 суток после введения BSH у животных 2-й группы цитоплазма гепатоцитов окрашивалась в основном равномерно, но одновременно встречались небольшие участки дольки, в которых гепатоциты были более эозинофильными. Такие участ-

ки располагались чаще всего перипортально (рис. 1-А). Наблюдались очаги некроза гепатоцитов из 2-3 клеток, инфильтрированные мононуклеарами. У мышей 3-й группы отмечались более выраженные, чем в предыдущий срок, дистрофические изменения гепатоцитов, заключавшиеся в выраженных просветлениях цитоплазмы, ее очаговом лизисе. У мышей этой группы

наблюдалось формирование массивных муфтообразных перипортальных мононуклеарных инфильтратов (рис. 2-Б). В обеих группах центральные и портальные вены и синусоидные капилляры были расширены, полнокровны; во многих венах наблюдалось эозинофильное пенистое содержимое (плазмостаз, см. рис. 2-А).

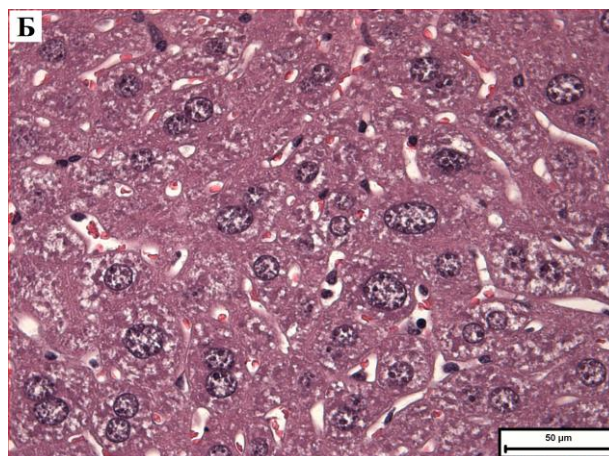
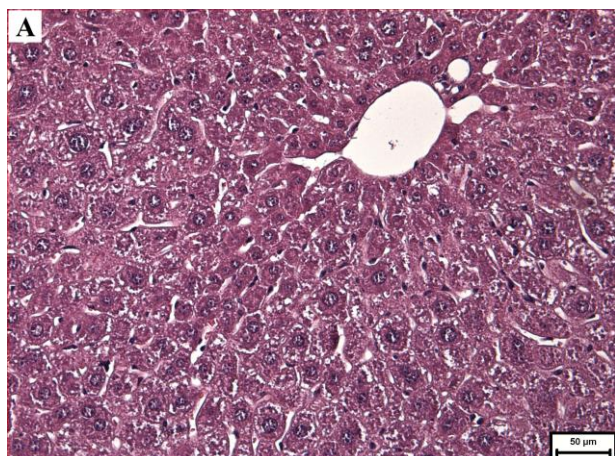


Рис. 1. Микрофото гистологического препарата печени мышей CD-1 через 1 сутки после введения BSH. Окр.: гематоксилином и эозином. А - доза препарата 100 мг/кг, ув.: x200. Б - доза препарата 1000 мг/кг, ув.: x400

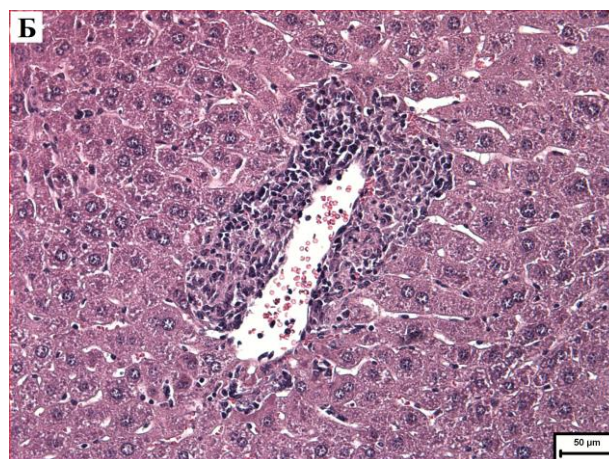
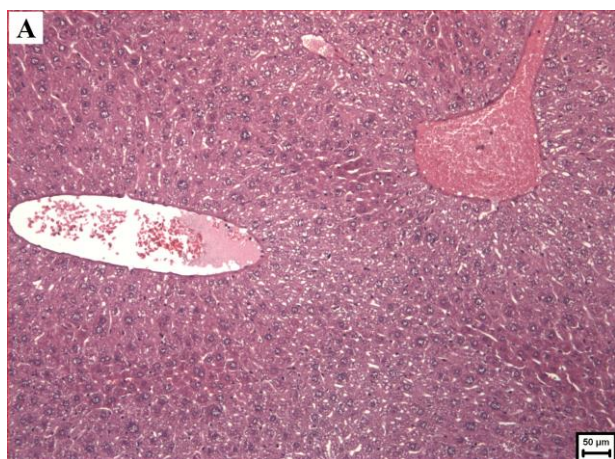


Рис. 2. Микрофото гистологического препарата печени мышей CD-1 через 3 суток после введения BSH. Окр.: гематоксилином и эозином. А - доза препарата 100 мг/кг, ув.: x100. Б - доза препарата 1000 мг/кг, ув.: x200

Через 7 суток выраженность структурных изменений печени в каждой группе существенно не менялась по сравнению с предыдущим сроком. Однако следует отметить появление моноцеллюлярных некрозов гепатоцитов (рис. 3-А) в печени мышей обеих групп. У мышей 3-й группы сохранялись более выраженные дистро-

фические изменения гепатоцитов по сравнению с мышами 2-й группы (рис. 3, Б). В обеих группах манифестировали выраженные нарушения гемодинамики в виде венозного и синусоидного полнокровия.

Миокард животных контрольной группы не претерпевал заметных изменений. Через сутки после введения BSH в

кардиомиоцитах животных 2-й и 3-й групп наблюдались умеренные литические изменения, венозное и капиллярное полнокровие, в остальном миокард этих

животных не отличался от контрольного. Следует отметить, что в 3-й группе изменения были более выраженными (рис. 4А-Б).

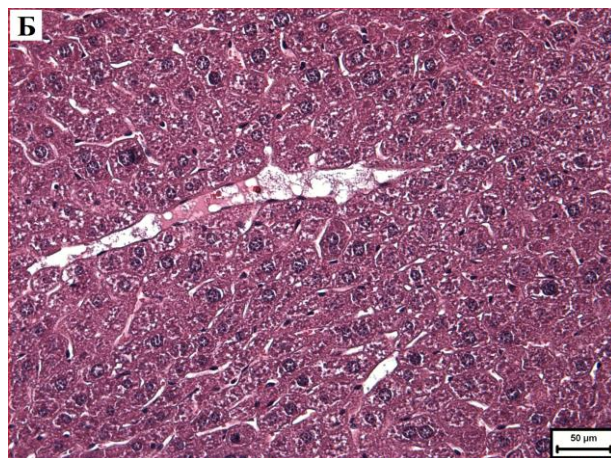
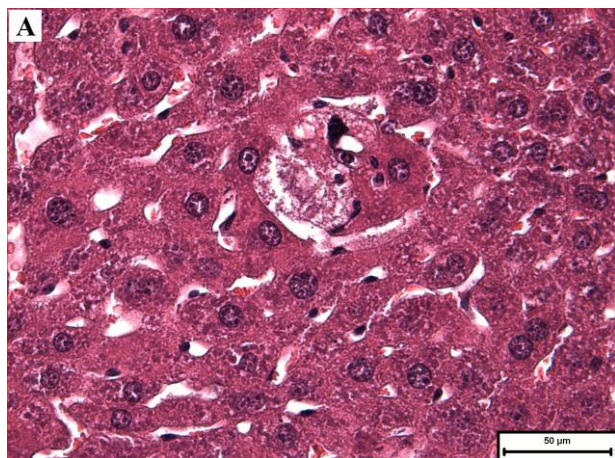


Рис. 3. Микрофото гистологического препарата печени мышей CD-1 через 7 суток после введения BSH. Окр.: гематоксилином и эозином. А - доза препарата 100 мг/кг, ув.: $\times 400$. Б - доза препарата 1000 мг/кг, ув.: $\times 200$

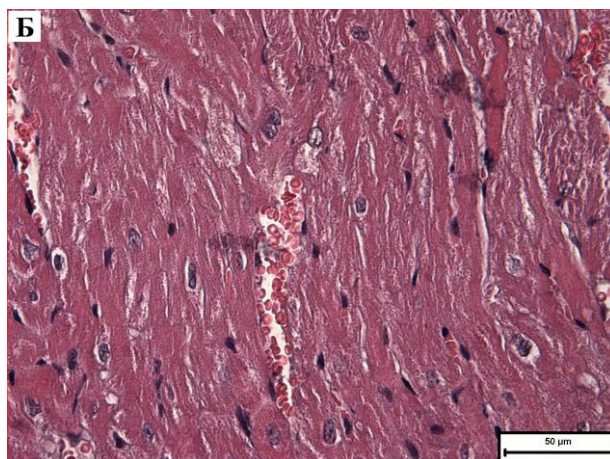
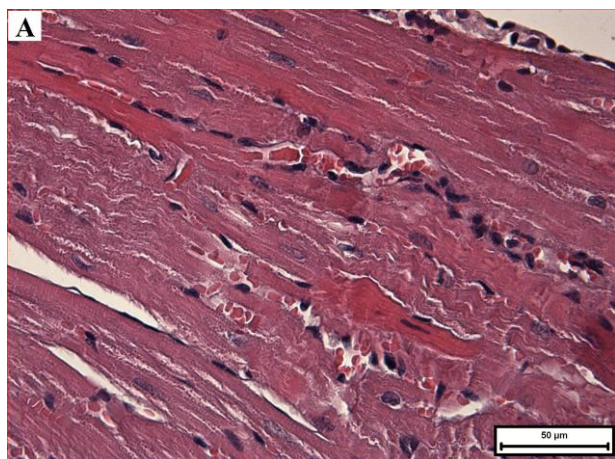


Рис. 4. Микрофото гистологического препарата сердца мышей CD-1 через 1 сутки после введения BSH. Окр.: гематоксилином и эозином. А - доза препарата 100 мг/кг, ув.: $\times 400$. Б - доза препарата 1000 мг/кг, ув.: $\times 400$

Через 3 суток после введения BSH литические изменения в кардиомиоцитах усиливались по сравнению с 1 сутками, иногда появлялись околядерные «опустошения». К этому сроку у исследованных мышей были выявлены контрактурные изменения миофибрилл. Гемодинамические нарушения выражались в неравномерном венозном полнокровии. В некоторых сосудах наблюдалось «пенистое» содержимое фибриноидной природы (рис. 5-А). Сосудистая стенка у животных 3-й группы выглядела более рыхлой и

утолщенной (рис. 5-Б). Содержимое крупных сосудов часто разделялось на плазму и форменные элементы. При исследовании образцов миокарда с помощью поляризационной микроскопии выяснилось, что в обеих группах появлялись миофибриллы подверженные контрактурным изменениям. Следует отметить, что все вышеуказанные изменения миокарда были более выраженными у животных 3-й группы по сравнению со 2-й.

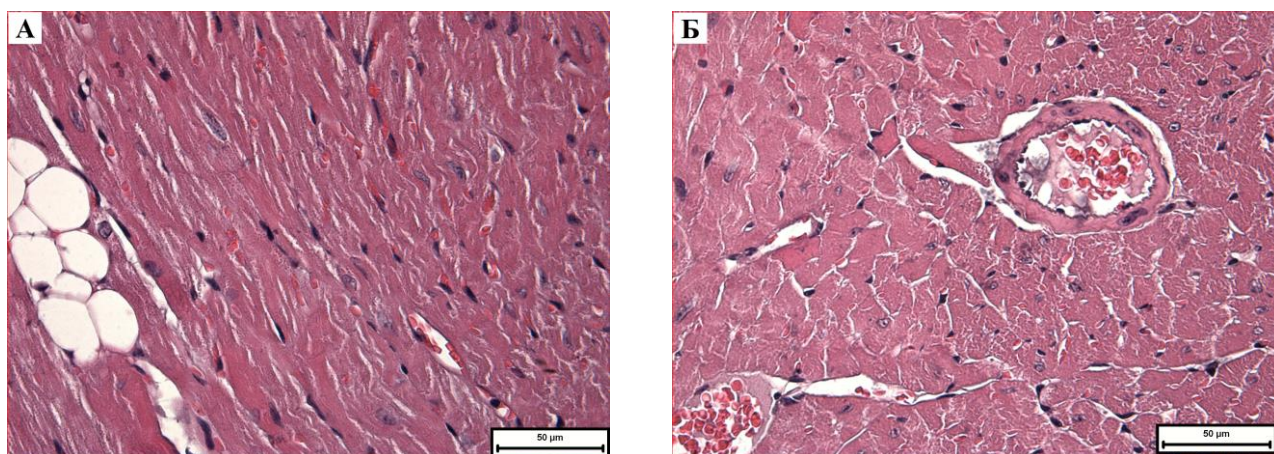


Рис. 5. Микрофото гистологического препарата сердца мышей CD-1 через 3 суток после введения BSH. Окр.: гематоксилином и эозином. А - доза препарата 100 мг/кг, ув.: x200. Б - доза препарата 1000 мг/кг, ув.: x400

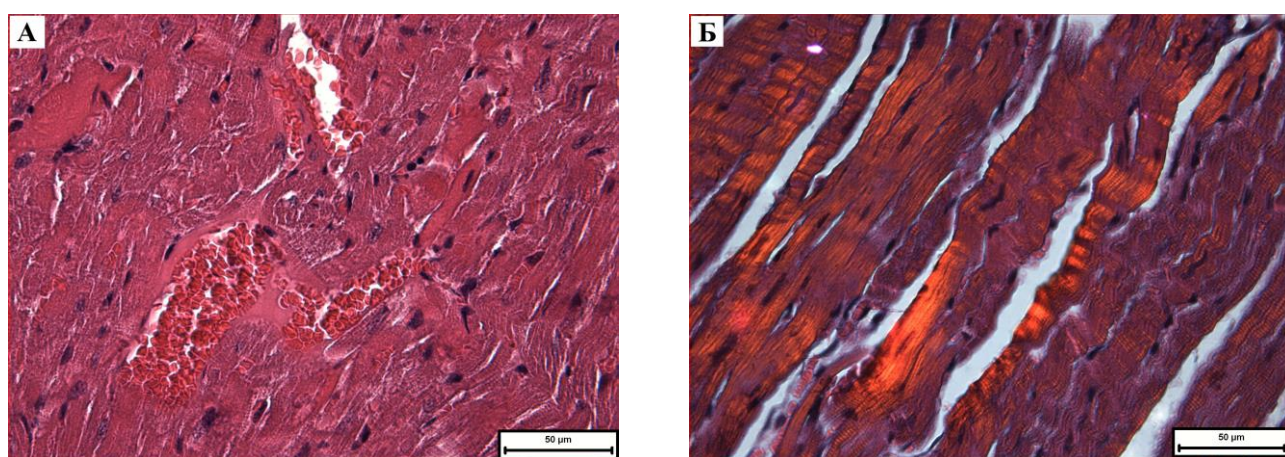


Рис. 6. Микрофото гистологического препарата сердца мышей CD-1 через 7 суток после введения BSH в дозе 100 мг/кг. А - световая микроскопия, Б - поляризационная микроскопия. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув. x400

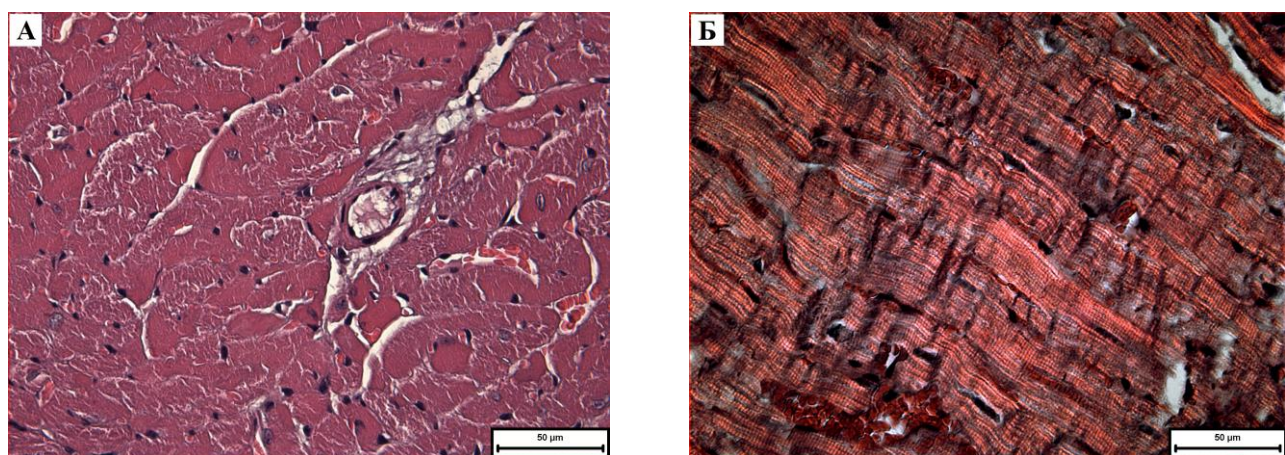


Рис. 7. Микрофото гистологического препарата сердца мышей CD-1 через 7 суток после введения BSH в дозе 1000 мг/кг. А - световая микроскопия, Б - поляризационная микроскопия. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув. x400

Через 7 суток после инъекции BSH сохранялись литические и контрактурные изменения кардиомиоцитов, при этом миокард животных, получавших различные дозы вещества в этот срок эксперимента, незначительно различался по степени выраженности повреждений. Вне зависимости от дозы полученного вещества манифестировали гемодинамические нарушения в виде венозного и капиллярного полнокровия, нередко со сладжированием эритроцитов и диapedезными явлениями (рис. 6-7).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о сходных структурных реакциях миокарда и печени экспериментальных животных на BSH с реакциями на противоопухолевые препараты таких групп как антрациклиновые антибиотики, алкилирующие агенты, ингибиторы топоизомеразы и некоторые другие. Механизмы, лежащие в основе цитотоксического действия этих агентов, продолжают изучаться, несмотря на длительный период исследования [16-20]. Что касается степени токсичности BSH для неопухолевых клеток этот вопрос остается недостаточно изученным, особенно в аспекте воздействия вещества в виде моно-

агента *in vivo* без последующего облучения.

Заключение. Однократное внутрибрюшинное введение боркаптата натрия в разных дозах мышам линии CD-1 вызывало однотипные изменения в миокарде и печени, их выраженность зависела от дозы препарата и времени после введения. Характер структурных изменений миокарда определялся развитием значительных литических изменений кардиомиоцитов, проявлявшимся в разрежении саркоплазмы и появлении зон окологядерного «опустошения». Наблюдались контрактурные повреждения отдельных кардиомиоцитов как через 3, так и через 7 суток. Структурные изменения печени характеризовались дистрофическими изменениями гепатоцитов, появлением через 3 суток моноцеллюлярных некрозов после введения BSH в дозах 100 и 1000 мг/кг. Выраженность изменений усиливалась к концу эксперимента. В миокарде и печени мышей после введения BSH на протяжении всего эксперимента манифестировали гемодинамические нарушения, выражавшиеся в венозном и капиллярном полнокровии.

Литература References

1. Hatanaka H. Boron-neutron capture therapy for tumors. *Glioma*. 1986;1-28. DOI:10.1007/978-3-642-84127-9_18
2. Wang S, Zhang Z, Miao L, Li Y. Boron Neutron Capture Therapy: Status and Challenges. *Front Oncol*. 2022;12:788770. DOI: 10.3389/fonc.2022.788770
3. Miyatake SI, Wanibuchi M, Hu N, Ono K. Boron neutron capture therapy for malignant brain tumors. *J Neurooncol*. 2020;149:1-11. DOI: 10.1007/s11060-020-03586-6
4. Farhood B, Samadian H, Ghorbani M, et al. Physical, dosimetric and clinical aspects and delivery systems in neutron capture therapy. *Reports of Practical Oncology&Radiotherapy*. 2018;23(5):462-473. DOI:10.1016/j.rpor.2018.07.002
5. Locher GL. Biological effects and therapeutic possibilities of neutrons. *Am J Roentgenol Radium Ther*. 1936;36:1-13
6. Barth RF, Mi P, Yang W. Boron delivery agents for neutron capture therapy of cancer. *Cancer Commun (London)*. 2018;38(1):35. DOI:10.1186/s40880-018-0299-7
7. Fukuda H, Sauerwein W, Masutani M, Hopewell J. Response of Normal Tissues to Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) with 10B-Borocaptate Sodium (BSH) and 10B-Paraboronophenylalanine (BPA). *Cells*. 2021;10(11):2883. DOI:10.3390/cells10112883
8. Suzuki M, Masunaga S, Kinashi Y, et al. Intra-arterial administration of sodium borocaptate bsh/lipiodol emulsion delivers B-10 to liver tumors highly selectively for boron neutron capture therapy: experimental studies in the rat liver model. *Int J Radiation oncology biol Phys*. 2004;59(1):260-266. DOI:10.1016/j.ijrobp.2003.12.018
9. Capala J, Stenstam BH, Sköld K, et al. Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme: clinical studies in Sweden. *J Neuro-Oncol*. 2003;62:135-144. DOI:10.1007/BF02699940
10. Wittig A, Moss RLM, Sauerwein WAG. Glioblastoma, brain metastases and soft tissue sarcoma of extremities: Candidate tumors for BNCT. *Applied Radiation and Isotopes*. 2014;88:46-49. DOI:10.1016/j.apradiso.2013.11.038
11. Bendel P, Wittig A, Basilico F, et al. Metabolism of bo-rono-phenylalanine-fructose complex (BPA-fr) and borocaptate sodium (BSH) in cancer patients--results from EORTC trial 11001. *J Pharm Biomed Anal*. 2010;51(1):284-287. DOI:10.1016/j.jpba.2009.08.018
12. Wittig A, Stecher-Rasmussen F, Hilger RA, et al. Sodium mercaptoundecahydro-closo-dodecaborate (BSH), a boron carrier that merits more attention. *Applied Radiation and Isotopes*. 2011;69(12):1760-1764. DOI:10.1016/j.jpba.2009.08.018
13. Lushnikova EL, Klimnikova MG, Molodykh OP, Nepomnyashchikh LM. Morfologicheskie proyavleniya remodelirovaniya serdtsa pri dilyatsionnoy kardiomiopatii antratsiklinovogo geneza. *Byull Eksp Biol*. 2004;138(12):684-689 In Russian
14. Larionova VB, Snegovoy AV. Correction possibilities of drug-induced liver toxicity in the treatment of patients with blood system tumors. *Oncohematology*. 2020;15(4):65-81. DOI:10.17650/1818-8346-2020-15-4-65-81
15. Tan W. Cardiotoxicity. *Drug Induced Cardiotoxicity: Mechanism, Prevention and Management*. 2018:7. DOI:10.5772/intechopen.79611
16. Lushnikova EL, Nepomnyashchikh LM, Tolstikova TG. Patomorfologiya myshechnykh kletok serdtsa pri deystvii tsiklofosfamida i triterpenoidov. Moskva: Izd-vo RAMN, 2009.- 272 s. In Russian

17. Lushnikova EL, Molodykh OP, Nikityuk DB, et al. Strukturny analiz miokarda pri eksperimental' noy antratsiklinovoy kardiomiopatii i adrenalino-vykh vozdeystviyakh. Bull Expr Biol i Med. 2018;166(11):641-647. In Russian
18. Nepomnyashchikh LM, Molodykh OP, Lushnikova EL, Sorokina YUA. Morfogenez i gistostereologichesky analiz gepatopatii, indutsirovannoy tsiklofosfomidom. Bull Exp Biol i Med. 2010;149(1):113-119. In Russian
19. Vatutin NT, Sklyannaya EV, El'-Hatib MA i dr. Gepatotoksichnost' protivopukhkovykh preparatov: sovremennoe sostoyanie problemy. Rossiyskiy zhurnal onkologii. 2016;21(6):325-333. DOI:10.18821/1028-9984-2016-21-6-325-333 In Russian
20. Hung Y-H, Lin Y-C, Lin Y-T, et al. Therapeutic Efficacy and Radiobiological Effects of Boric Acid-mediated BNCT in a VX2 Multifocal Liver Tumor-bearing Rabbit Model. Anticancer research. 2019;39:5495-5504. DOI:10.21873/anticancerres.13742

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Каныгин Владимир Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник Института ядерной физики имени Г.И. Будкера Сибирского отделения РАН; заведующий лабораторией ядерной и инновационной медицины, доцент кафедры физики элементарных частиц Новосибирского национального исследовательского государственного университета, Новосибирск, Россия;

e-mail: kanigin@mail.ru

Колдышева Елена Владимировна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов Института молекулярной патологии и патоморфологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины; старший научный сотрудник лаборатории ядерной и инновационной медицины Новосибирского национального исследовательского государственного университета, Новосибирск, Россия; **e-mail:** 130066@mail.ru

Завьялов Евгений Леонидович, кандидат биологических наук, заведующий Центром доклинических испытаний SPF-виварий Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН; научный сотрудник лаборатории ядерной и инновационной медицины Новосибирского национального исследовательского государственного университета, Новосибирск, Россия; **e-mail:** zavjalov@bionet.nsc.ru

Разумов Иван Алексеевич, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики лабораторных животных Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН; старший научный сотрудник лаборатории ядерной и инновационной медицины Новосибирского национального исследовательского государственного университета, Новосибирск, Россия; **e-mail:** razumov@bionet.nsc.ru

Соловьева Ольга Игоревна, магистр биологии, младший научный сотрудник Центра доклинических испытаний SPF-виварий Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН; научный сотрудник лаборатории ядерной и инновационной медицины Новосибирского национального исследовательского государственного университета, Новосибирск, Россия; **e-mail:** solovieva@bionet.nsc.ru

Кичигин Александр Иванович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник, Институт ядерной физики имени Г.И. Будкера Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия; **e-mail:** sam@211.ru

Бутикова Екатерина Алексеевна, студентка, Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия; **e-mail:** e.butikova@gs.nsu.ru

Капустина Валентина Ильинична, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии важнейших заболеваний Института молекулярной патологии и патоморфологии, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия; **e-mail:** kapustina_val@mail.ru

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Vladimir V. Kanygin, Candidate of Medical Sciences, Docent, Senior Researcher of the Budker Institute of Nuclear Physics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Head of the Laboratory of Nuclear and Innovative Medicine and Associate Professor of the Department of Elementary Particle Physics of the Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

e-mail: kanigin@mail.ru

Elena V. Koldysheva, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Molecular Mechanisms of Pathological Processes of the Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine; Senior Researcher of the Laboratory of Nuclear and Innovative Medicine of the Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

e-mail: 130066@mail.ru

Evgeny L. Zav'yalov, Candidate of Biological Sciences, Head of the SPF-Vivarium of the Center for Preclinical Trials of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Researcher of the Laboratory of Nuclear and Innovative Medicine of the Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

e-mail: zavjalov@bionet.nsc.ru

Ivan A. Razumov, Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Genetics of Laboratory Animals of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Senior Researcher of the Laboratory of Nuclear and Innovative Medicine of the Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

e-mail: razumov@bionet.nsc.ru

Ol'ga I. Solovyova, Master of Biology, Junior Researcher of the SPF-Vivariums of the Center for Preclinical Trials of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Researcher of the Laboratory of Nuclear and Innovative Medicine of the Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

e-mail: solovieva@bionet.nsc.ru

Aleksandr I. Kichigin, Candidate of Medical Sciences, Researcher of the Budker Institute of Nuclear Physics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia; **e-mail:** sam@211.ru

Ekaterina A. Butikova, Studentin, Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

e-mail: e.butikova@gs.nsu.ru

Valentina I. Kapustina, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Clinical Morphology of the Most Important Diseases of the Institute of Molecular and General Pathology of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia;

e-mail: kapustina_val@mail.ru



ЛИНЕЙНАЯ ДЛИНА ФАЛАНГ КИСТИ СОВРЕМЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ ПО ДАННЫМ РЕНТГЕНОВСКОЙ ОСТЕОМЕТРИИ И ИХ КОРРЕЛЯЦИИ Гальчин А.В.

Областной клинический онкологический диспансер, Ульяновск, Россия, e-mail: galchin.andrei.2000@mail.ru

Для цитирования:

Давлетбаева А.Р., Федорова А.М., Хисматуллина З.Р. Линейная длина фаланг кисти современной популяции молодых людей по данным рентгеновской остеометрии и их корреляции. Морфологические ведомости. 2023;31(3):809. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).822](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).822)

Резюме. Рентгенологическим исследованиям костей кисти, ее фаланг посвящено значительное количество работ, а вопросам взаимосвязи их параметров в контексте общих закономерностей организации структурных элементов аутоподия лишь единичные. Данные последних не создают целостного представления о закономерностях корреляционных отношений метрических параметров костей, образующих скелет кисти человека, тогда как изучение этого вопроса имеет важное теоретическое и практическое значение. Цель исследования – изучить изменчивость рентгеновских остеометрических показателей линейной длины фаланг пальцев юношей 17-21 и девушек 16-20 лет. Материалом исследования послужили 146 рентгенограмм правых и левых кистей юношей и девушек, полученных с диагностической целью при обращении за травматологической помощью. Рентгенография обеих кистей пациентов с захватом лучезапястных суставов на передвижном рентгеновском аппарате MobileDaRt (Shimadzu, Япония). Расстояние от источника рентгеновского излучения до объекта исследования соответствовало общепринятым в рентгеновской остеометрии рекомендациям. Проведенное исследование автоматически сохранялось в памяти компьютера в стандартном формате DICOM, после чего на изображении снимка, выведенного на печать, производили соответствующие измерения. Установлено, что средние кистевые значения рентгенологических линейных длин фаланг пальцев и общий средний показатель у юношей статистически значимо превышали аналогичные показатели у девушек. Попальцевое сравнение показателей между двумя различными по полу популяциями также показало высоко значимые их различия на всех без исключения фалангах. Среди исследованных остеометрических параметров, согласно полученным результатам, наименьшая изменчивость присуща длине проксимальных фаланг у девушек. Установленная при помощи метода непрямого рентгеновской остеометрии картина значений корреляций длины фаланг I-V пальцев кисти показала их различия с немногочисленными данными других авторов. Сделано заключение о том, что анализ пределов анатомической изменчивости, обусловленных не только различными внешними и внутренними факторами, но и методическими подходами, их сравнение, имеют не меньшее научное значение, чем анализ влияния только условий и биологических особенностей анализируемых популяций.

Ключевые слова: кисть, пальцы кисти, костные фаланги, рентгеновская остеометрия, юношеский возраст

Статья поступила в редакцию 31 мая 2023
Статья принята к публикации 24 августа 2023

THE LINEAR LENGTH OF MODERN POPULATION'S YOUNG PEOPLE HANDS PHALANGES ACCORDING TO X-RAY OSTEOMETRY AND THEIR CORRELATIONS Gal'chin AV

Regional Clinical Oncology Dispensary, Ulyanovsk, Russia, e-mail: galchin.andrei.2000@mail.ru

For the citation:

Gal'chin AV. The linear length of modern population's young people hands phalanges according to x-ray osteometry and their correlations. Morfologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):809. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).822](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).822)

Summary. More than a sufficient number of works are devoted to X-ray studies of the bones of the hand, its phalanges, and only a few works are devoted to the issues of the relationship of their parameters in the context of the general patterns of organization of the structural elements of the autopodia. The data of these studies do not create a unified idea of the correlation patterns of the metric parameters of the bones that form the human hand skeleton, while the study of this issue is of great theoretical and practical importance. The purpose of the study is the establish of the variability of X-ray steometric indicators of the length of the phalanxes of boys aged 17-21 and girls aged 16-20. The material of the study was 146 radiographs of the right and left hands of boys and girls obtained for diagnostic purposes when applying for trauma care. X-rays of both hands of patients with scanning also of the wrist joints were performed under conventional radiation protection conditions on a mobile X-ray unit MobileDaRt (Shimadzu, Japan). The distance from the X-ray source to the object of study corresponded to the generally accepted recommendations in X-ray osteometry. The images were automatically saved in the computer memory in the standard DICOM format. It was established that the average values of the radiographic linear lengths of the phalanges of the fingers and the overall average in boys were statistically significantly higher than those in girls. Finger-wise comparison of indicators between two sex-different populations also showed their highly significant differences in all phalanges without exception. Among the studied osteometric parameters, according to the results obtained, the smallest variability is inherent in the length of the proximal phalanges in girls. The general image established using the method of indirect X-ray osteometry of the I-V fingers phalanges length correlation values, showed their differences with the few data of other authors. It was concluded that the analysis of the limits of anatomical variability, due not only to various external and internal factors, but also methodological approaches and their comparison are of no less scientific importance than the analysis of the influence of only the different conditions and biological characteristics of the analyzed populations.

Key words: hand, phalanges, x-ray osteometry, young age, sex differences

Article received 31 May 2023
Article accepted 24 August 2023

Введение. Рентгеновская остеометрия и морфометрия костных структур в двумерной плоскости координат линейной длины и ширины, несмотря на появление новых, в том числе ультразвуковых и 3D-компьютерных методов анализа, остается одним из главных методов, как в прикладных анатомо-антропологических, так и в смежных с ними, судебно-медицинских и клинических, исследованиях [1]. В анатомии и антропологии на протяжении многих десятилетий со времени разработки научно-методических основ и главных направлений отечественных рентгеноанатомических исследований ее основоположниками и разработчиками (анатомами П.Ф. Лесгафтом, В.Н. Тонковым, Б.Я. Зельдовичем, Привесом М.Г., рентгенологом Рохлиным Д.Г., антропологами Павловским О.М., Пурунджаном А.Л., Васильевым С.В. и другими) [2-5], они служат источником многократно проверенных достоверных анатомических данных о структуре тела человека. Более того, благодаря новым концептуальным подходам и использованию сложных методов математического анализа именно двумерные рентгеновские, а не трехмерные виртуальные изображения, стали источниками новых представлений о структурной организации некоторых органов и частей тела человека [6-8].

Являясь сложным по строению и наиболее тонко специализированным звеном опорно-двигательного аппарата кисть несет значительную специализированную функциональную нагрузку. Кости кисти – один из наиболее изученных в рентгеновской анатомии объектов. В ней отражаются закономерные процессы роста и развития всего скелета [9-10], независимо от этно-территориальной принадлежности людей [11-12]. Кости кисти служат непревзойденным до сих пор источником достоверных и объективных данных половой принадлежности человека и его возраста [13-23]. Рентгенологическим исследованиям костей кисти, ее фаланг посвящено более чем достаточное количество работ, а вопросам взаимосвязи их параметров в контексте общих закономерностей организации структурных элементов аутоподия – единичные [25-27]. Имеющиеся в

научной литературе данные не создают целостного представления о закономерностях корреляционных отношений метрических параметров костей, образующих скелет кисти человека, тогда как изучение данного вопроса имеет важное теоретическое и практическое значение [1]. Поэтому изучение изменчивости и корреляционных взаимосвязей параметров длины проксимальных, средних и дистальных фаланг с размерами фаланг одноименных пальцев кисти представляется достаточно актуальным.

Цель исследования – изучить изменчивость рентген-остеометрических показателей длины фаланг пальцев правой и левой кисти юношей 17-21 и девушек 16-20 лет.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили 146 рентгенограмм правых и левых кистей юношей и девушек, полученных с диагностической целью исключения переломов кисти при обращении за травматологической помощью (рис.1). Рентгенография обеих кистей пациентов с захватом лучезапястных суставов проводилась в общепринятых условиях радиационной защиты на передвижном рентгеновском аппарате Mobile Azt (Shimadzu, Япония) при следующем режиме: напряжение 56 кВ, сила тока 3,2 мАс, экспозиция 0,05 с. Кисти испытуемых располагались над переносным статическим детектором Canon/WiFi 35*43 см, с размером пикселя 125 мкм., в нейтральном положении с ладонью, обращенной книзу (дорсо-волярная укладка). Ось каждой кисти находилась под прямым углом с осью предплечья, пальцы помещались в разведенном положении. Расстояние от источника рентгеновского излучения до объекта исследования соответствовало общепринятым в рентгеновской остеометрии рекомендациям – 90 см. Проведенное исследование автоматически сохранялось в памяти компьютера на рентгеновском аппарате Mobile Azt (Shimadzu, Япония) в стандартном формате DICOM. Исследование фаланг проводилось по методу В.П. Алексеева [28]. Рентгенологическая длина проксимальной, средней и дистальной фаланг пальцев кисти (далее – РДФП,

РДФС, РДФД, соответственно) на полученных рентгенограммах измеряли с помощью электронного штангенциркуля типа ШЦЦ-1-150 с точностью до 0,01 мм. Рентгенологическая длина фаланги – это расстояние между наиболее удаленными точками, расположенными на дистальном и проксимальном концах кости или между

тали что $r < 0,3$ – слабая степень связи; $0,3 < r < 0,6$ – умеренная степень связи; $0,6 < r < 0,8$ – сильная степень связи; $0,8 < r < 1,0$ – тесная связь.

Результаты исследования и обсуждение. У юношей РДФП снижается от III пальца к I с 49,7 мм (максимальная величина) до 25,4 мм (минимальная величина).

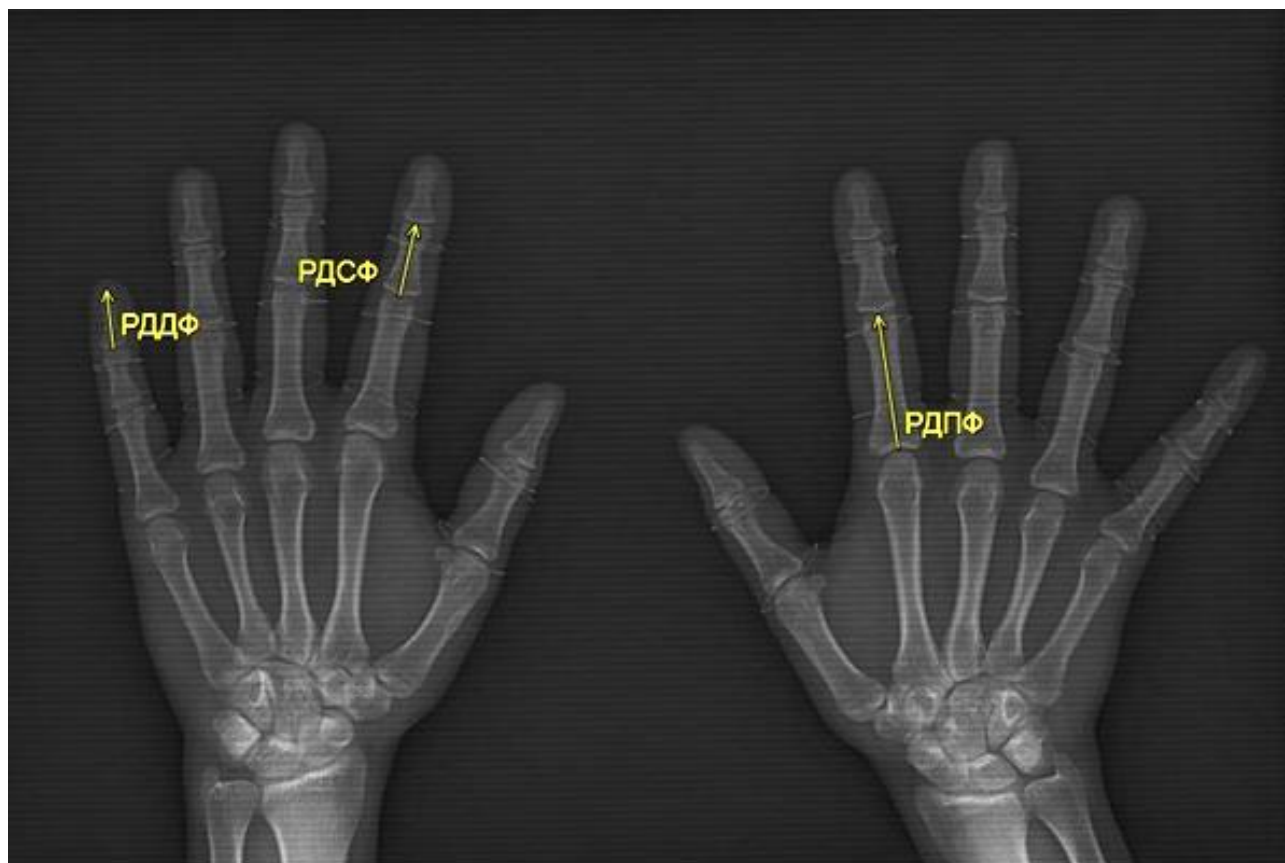


Рис. 1. Цифровая рентгенограмма правой левой женской кисти, пациентки 18 лет. Обозначения: стрелками показаны проекции соответствующих измерений

наиболее удаленной в центральной продольной оси точкой основания и точкой головки (эпифиза) фаланг пальцев. Формирование рядов переменных и обработку полученных количественных данных проводили вариационно-статистическим методом для данных имеющих нормальное или близкое к нему распределение. Для определения достоверности различий средних величин использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при 99% и 95% пороге вероятности. Оценка тесноты связи между параметрами фаланг проводилась по величине параметрического коэффициента корреляции Пирсона и ее направлению, при этом счи-

тали, у девушек от 47,5 до 23,8 мм, соответственно. Максимальное среднее значение у юношей имеет показатель РДФП III пальца $44,3 \pm 3,1$ мм, минимальное – РДФП I пальца – $31,7 \pm 2,6$ мм, у девушек аналогичные показатели имеют значения $41,8 \pm 2,3$ мм, минимальное – $28,3 \pm 2,1$ мм. Средние кистевые значения РДФП и общий средний показатель у юношей статистически значимо превышали аналогичные показатели у девушек. Попальцевое сравнение РДФП между двумя различными по полу популяциями также показало высоко значимые различия этого показателя на всех без исключения фалангах ($t = 5,1 \div 8,9$, $p < 0,001$). Получены следующие

значения критерия Фишера данного параметра, у юношей на левой кисти $F=284$, на правой $F=298$, $p<0,001$; у девушек на левой кисти $F=577$, на правой $F=544$, $p<0,00$). Дисперсионный анализ и проведенное «post-hoc» сравнение по критерию Бонферони значений РДФП отдельных пальцев выявил высоко значимые различия этого показателя от пальца к пальцу на обеих кистях у девушек, независимо от стороны, общая пальцевая формула выглядит следующим образом: III>IV>II>V>I. У юношей пальцевая формула выглядит следующим образом: на правой кисти – III>IV>II>V=I, и немного иначе на левой кисти – III>IV>II>V=I.

Максимальное среднее значение у юношей имеет РДФС III пальца $28,4\pm2,2$ мм, минимальное – РДФС V пальца – $18,9\pm1,2$ мм, у девушек аналогичные показатели имеют значения $26,3\pm2,0$ мм, минимальное – $17,3\pm1,5$ мм). Средние кистевые значения РДФС и общий средний показа-

тель у юношей статистически значимо превышали аналогичные показатели у девушек. Попальцевое сравнение РДФС между двумя популяциями юношей и девушек также показало высоко значимые различия этого показателя на всех без исключения фалангах ($t=5,6\div8,7$, $p<0,001$). Получены следующие значения критерия Фишера данного параметра, у юношей на левой кисти $F=284$, на правой $F=363$, $p<0,00$; у девушек на левой кисти $F=297$, на правой $F=318$, $p<0,00$). Дисперсионный анализ и проведенное «post-hoc» апостериорное сравнение значений РДФС отдельных пальцев выявили высоко значимые различия этого показателя от пальца к пальцу на обеих кистях независимо от пола и общая пальцевая формула выглядит следующим образом: III>IV>II>V. В отличие от РДФП, показатели дисперсионного анализа РДФС не выявили половых различий.

Таблица 1

Значения рентгеновской остеометрической длины проксимальных (РДФП), средних (РДФС) и дистальных (РДФД) фаланг пальцев кисти юношей (n=73) и девушек (n=73) в мм

Луч	Параметр	М±σ юноши	М±σ девушки	Параметр	М±σ юноши	М±σ девушки	Параметр	М±σ юноши	М±σ девушки
I Л	РДФП	31,8±2,5	28,3±2,1	РДФС	-	-	РДФД	22,0±1,9	19,7±1,8
II Л	РДФП	40,1±2,7	37,7±2,0	РДФС	24,2±2,0	22,4±1,6	РДФД	17,4±1,3	15,8±1,1
III Л	РДФП	44,3±3,1	41,8±2,2	РДФС	28,2±2,4	26,0±2,3	РДФД	18,4±1,7	16,4±1,4
IV Л	РДФП	41,3±2,9	38,9±1,9	РДФС	26,9±2,3	24,4±2,0	РДФД	18,9±1,6	16,9±1,5
V Л	РДФП	32,0±2,9	30,0±1,8	РДФС	19,2±1,3	17,3±1,5	РДФД	17,1±1,3	15,4±1,0
I П	РДФП	31,7±2,6	28,4±2,1	РДФС	-	-	РДФД	22,3±1,8	19,9±1,9
II П	РДФП	40,2±2,6	37,9±2,1	РДФС	24,4±1,9	22,2±1,8	РДФД	17,5±1,3	15,7±1,1
III П	РДФП	44,5±2,9	41,8±2,3	РДФС	28,4±2,2	26,3±2,0	РДФД	18,5±1,8	16,4±1,3
IV П	РДФП	41,8±3,0	39,1±2,0	РДФС	27,3±2,1	24,3±2,0	РДФД	18,9±1,6	16,9±1,4
V П	РДФП	32,2±2,9	30,1±1,8	РДФС	18,9±1,2	17,3±1,5	РДФД	17,1±1,4	15,4±1,1

У юношей РДФД снижается от I пальца к V с 25,7 мм (максимальная величина) до 13,5 мм (минимальная величина), у девушек от 23,35 до 12,85 мм, соответственно. Максимальное среднее значение у юношей имеет РДФД III пальца $22,3\pm1,8$ мм, минимальное – РДФД V пальца – $17,1\pm1,4$ мм, у девушек аналогичные показатели имеют значения $19,9\pm1,9$ мм, минимальное – $15,4\pm1,1$ мм. Средние кистевые значения РДФД и общий средний показа-

тель у юношей статистически значимо превышали аналогичные показатели у девушек. Попальцевое сравнение РДФД между двумя популяциями также показало высоко значимые половые различия этого показателя на всех без исключения фалангах ($t=7,5\div8,7$, $p<0,001$). Получены следующие значения критерия Фишера данного параметра (у юношей на левой кисти $F=108$, на правой $F=119$, $p<0,00$; у девушек на левой кисти $F=124$, на правой

$F=136$, $p<0,00$). Дисперсионный анализ и проведенное «post-hoc» апостериорное сравнение значений РДФД отдельных пальцев выявил высоко значимые различия этого показателя от пальца к пальцу на обеих кистях, независимо от пола, и общая пальцевая формула выглядит следующим образом: $I>IV\geq III>II=V$.

Важное значение в понимании закономерностей структурной организации кисти имеют корреляции между соответствующими костными структурами одних и тех же лучей или разными фалангами одного и того же пальца и одних и тех же костных структур разных лучей или одинаковыми фалангами разных пальцев. В настоящем исследовании определялась общая картина корреляций фаланг пальцев кисти. При анализе взаимосвязей значений РДФП I-V-го пальцев левой кисти между собой, определена положительная тесная зависимость величины РДФП IV-го с величиной РДФП III-го пальца ($r=0,89$) и значением РДФП II-го пальца ($r=0,84$); зависимость величины РДФП III-го с величиной РДФП II-го пальца ($r=0,87$) и значением РДФП V-го ($r=0,84$). Также выявлена положительная сильная зависимость значения РДФП I-го пальца с величиной РДФП II-го, III-го и V-го и пальца ($r=0,66$). Умеренная положительная связь установлена между значениями РДФП I-го пальца и РДФП IV-го пальца ($r=0,51$). При анализе взаимосвязей значений РДФС II-V-го пальцев левой кисти между собой определена положительная сильная зависимость значения РДФС IV-го пальца со значением РДФС III-го ($r=0,74$) и РДФС V-го ($r=0,66$) пальцев; зависимость величины РДФС II-го с величинами РДФС III-го ($r=0,66$) и РДФС V-го ($r=0,60$) пальцев. Умеренная положительная связь установлена между величиной РДФС III-го пальца и РДФС V-го ($r=0,57$) пальца и между величинами РДФС II-го пальца и РДФС IV-го ($r=0,46$) пальцев.

При анализе взаимосвязей значений РДФД I-V-го пальцев кисти между собой определена положительная тесная зависимость величины РДФД IV-го с величинами РДФД III-го пальца ($r=0,85$) и РДФД V-го пальца ($r=0,80$). Также выявлена положительная сильная зависимость значе-

ния РДФД V-го пальца со значениями РДФД I-го и III-го пальцев ($r=0,72$) и РДФД II-го ($r=0,68$) пальца; зависимость значений РДФД II-го со значениями РДФД IV-го ($r=0,75$) и РДФД III-го ($r=0,72$) пальцев; между значениями РДФД I-го пальца и РДФД IV-го пальца ($r=0,62$). Умеренная положительная связь выявлена между величиной РДФД I-го пальца с величинами РДФД II-го пальца ($r=0,59$) и РДФД II-го пальцев ($r=0,53$).

Среди исследованных остеометрических параметров, согласно полученным результатам, наименьшая изменчивость присуща длине проксимальных фаланг у девушек. Наши результаты согласуются с работой авторов, в которой проводилось исследование анатомической изменчивости костей кисти человека по данным рентгеноостеометрии [29]. Взаимосвязь показателей кисти с возрастом и ростом испытуемых отражены в немногочисленных исследованиях [9-12, 30-31]. Среди них встречаются единичные исследования, посвященные изучению взаимосвязей длин проксимальных костных фаланг II-V пальцев кисти между собой, проведенных при использовании метода прямой остеометрии [30-31]. Полученные нами значения корреляций длины проксимальных фаланг I-V пальцев кисти, при помощи метода непрямой рентгеновской остеометрии, имеют несколько иной характер, чем результаты вышеупомянутой работы. Так, нами выявлена положительная сильная зависимость значения РДФП II-го пальца со значением РДФП IV-го ($r=0,78$) и значением РДФП V-го пальца ($r=0,78$), а при прямой остеометрии установлена слабая положительная степень связи значений длин проксимальных фаланги II-го и IV-го пальца [30-31]. Также нами, в отличие от результатов указанных выше исследований получена положительная сильная зависимость значения РДФП III-го со значениями РДФП I-го ($r=0,61$) и РДФП V-го ($r=0,78$). Умеренная положительная связь установлена между значениями РДФП I-го пальца и РДФП II-го ($r=0,56$), IV-го ($r=0,49$) и V-го ($r=0,42$) пальцев. Обобщая сравнительный анализ проведенной нами работы с полученными результатами авторов других работ, мы считаем, что причиной

более сильной корреляционной взаимосвязи указанных значений является применение метода непрямой остеометрии [30-31]. Возможно также, что различия были обусловлены тем, что нами проводился анализ рентгенограмм кисти юношей и девушек 16-21 лет, а в сравниваемой работе материалом исследования послужили скелетированные кисти случаев первого зрелого возраста. Из чего следует, что различие данных, полученных различными методами может быть обусловлено не только истинными популяционными различиями (возраст, рост, этно-территориальная принадлежность) но используемыми методами и, следовательно, должны быть сравнены на предмет различий величины параметров и структуры корреляционных параметров, полученных разными методами. Однако такие исследования практически не предпринимались. Это, по-видимому, обусловлено большим интересом исследователей не к методическим, а фактологическим аспектам анатомической изменчивости. Между тем разделение и анализ пределов анатомической изменчивости, обусловленных не только различными внешними и внутренними факторами, но и методическими подходами, их сравнение и значение, имеют не меньшее научное значение, чем анализ влияния условий и биологических особенностей анализируемых популяций.

Нами при сравнительном анализе корреляционных взаимосвязей значений линейных длин одноименных фаланг пальцев установлено, что наибольшей связью между собой обладают параметры дистальных фаланг. По результатам анализа сопряженности рентгенологических длин различных фаланг различных пальцев выявлено наличие положительных по направлению и различных по силе связей.

Заключение. Таким образом анализ показателей линейной длины фаланг кисти современной популяции молодых людей по данным рентгеновской остеометрии и их корреляций показал, что они обусловлены их топографией в составе скелета кисти и половой принадлежностью исследуемых. Данные по индивидуальной и возрастной изменчивости длин фаланг пальцев кисти и их взаимосвязей между собой могут быть использованы при построении компьютерных моделей скелета кисти человека, конструирования в робототехнике, диагностике пола, возраста и этно-территориальной принадлежности, диагностике заболеваний костно-суставного аппарата дистальных отделов верхней конечности человека, а также в сравнительно-анатомических исследованиях.

Литература References

1. Rösing FW, Graw M, Marré B, et al. Recommendations for the forensic diagnosis of sex and age from skeletons. *HOMO – Journal of Comparative Human Biology*. 2007;58(1):75–89
2. Rokhlin DG. Skelet kisti i distal'nogo otdela predplech'ya. *Rentgenoosteologiya i rentgenoantropologiya*. – M.: Biomedgiz, 1936.– Ch. 1.– 385s. In Russian
3. Prives MG, Palamarchuk VP. Novye metody rentgenoanatomicheskogo issledovaniya: (k 80-letiyu rentgenoanatomi). *Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii*. 1976;71(2):5–15. In Russian
4. Mednikova MB. Radiologicheskie metody v paleoantropologii i arkeologii. In Russian. URL: <https://www.archaeolog.ru/ru/tskp/napravleniya-issledovaniy/radiologicheskie-metody-v-paleoantropologii-i-arkheologii>
5. Batsevich VA. Tempy vozrastnoy izmenchivosti skeleta v sovremennykh populyatsiyakh cheloveka (antropoekologicheskie aspekty). Diss. na soisk. uch. st. d-ra biol. nauk. – M.: MGU, 2022.– 218s. In Russian
6. Ermolenko AS, Khairullin RM. Classification and regression tree analysis for predicting of morphological hands types based on radiography data. *Int. J. Morphol.* 2021;39(6):1727–1730
7. Ermolenko AS. Patterns of variability of the shape of the human hand. *Eur. J. Anat.* 2023;27(3):347–354. DOI: 10.52083/EJRV7551
8. Ermolenko AS. Morphological integration and modularity of the human hand. *Eur. J. Anat.* 2023;27(5):581–585
9. Matyushechkin SV, Khayrullin RM, Tishkov AV. Sootnoshenie dliny tela u detey i podrostkov Tadzhikistana s nekotorymi lineynymi parametrami trubchatykh kostey kisti. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2021;10(4):43–47. In Russian
10. Matyushechkin SV, Khayrullin RM, Komissarova EN. Rost i sinostozirovanie kostey distal'nogo otdela verkhney konechnosti u tadzhikskikh detey i podrostkov. Sankt-Peterburg: Izd-vo S-PbGEU «LETI» im. V.I. Ul'yanova (Lenina), 2022.– 152s. In Russian
11. Matyushechkin S, Khairullin R. Age estimation from osteometry parameters of tubular bones of the hand in children and adolescents from Tajikistan. *Journal of Anatomy*. 2022;240(4):79P45. <https://doi.org/10.1111/joa.13592>

12. Matyushechkin SV. Etno-territorial'nye osobennosti nekotorykh osteometricheskikh parametrov proksimal'nykh falang kisti detey i podrostkov muzhskogo pola Tadzhikistana i Zapadnoy Indii. *Morfologicheskie vedomosti*. 2020;28(4):38-45. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2020.28\(4\):536](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2020.28(4):536). In Russian
13. Darmawan MF, Yusuf SM, Kadir MR, et al. Comparison on three classification techniques for sex estimation from the bone length of Asian children below 19 years old: an analysis using different group of ages. *Forensic Sci Int*. 2015;247:130.e1-11
14. Remy F, Saliba-Serre B, Chaumoitre K, et. al. Age estimation from the biometric information of hand bones: Development of new formulas. *Forensic Sci Int*. 2021;322:110777. doi: 10.1016/j.forsciint.2021.110777
15. DeSilva R, Flavel A, Franklin D. Estimation of sex from the metric assessment of digital hand radiographs in a Western Australian population. *Forensic Sci Int*. 2014;244:314.e1-7
16. Krishan K, Kanchan T, Sharma A. Sex determination from hand and foot dimensions in a North Indian population. *J Forensic Sci*. 2011;56:453-459
17. Case DT, Ross AH. Sex determination from hand and foot bone lengths. *J Forensic Sci*. 2007;52:264-270
18. El Morsi DA, Al Hawary AA. Sex determination by the length of metacarpals and phalanges: X-ray study on Egyptian population. *J Forensic Leg Med*. 2013;20:6-13
19. Eshak GA, Ahmed HM, Abdel Gawad EA. Gender determination from hand bones length and volume using multidetector computed tomography: a study in Egyptian people. *J Forensic Leg Med*. 2011;18:246-252
20. Manolis SK, Eliopoulos C, Koiliias CG, et al. Sex determination using metacarpal biometric data from the Athens Collection. *Forensic Sci Int*. 2009;193:130.e1-6
21. Mastrangelo P, De Luca S, Alemán I, et al. Sex assessment from the carpals bones: discriminant function analysis in a 20th century Spanish sample. *Forensic Sci Int*. 2011;206:216.e1-10
22. Kanchan T, Pradeep Kumar G. Index and ring finger ratio--a morphologic sex determinant in South-Indian children. *Forensic Sci Med Pathol*. 2010;6:255-260
23. Ozsoy T, Oner Z, Oner S. An attempt to gender determine with phalanx length and the ratio of phalanxes to whole phalanx length in direct hand radiography. *Medicine Science*. 2019;8(3):692-697
24. Takai Sh. Metacarpal and Phalangeal Lengths Are Influenced by Row-related Factor. *Human Biology*. 1978;50(1):51-56
25. Khayrullin RM. Morfologicheskie tipy kisti v yunosheskom periode individual'nogo razvitiya. *Morfologicheskie vedomosti*. 2001;1-2:103-105. In Russian
26. Filippova EN, Khayrullin RM. Individual'naya izmenchivost' morfometricheskikh parametrov pal'tsevykh dermatoglifov kisti. *Morfologiya*. 2001;120(4):87-88. In Russian
27. Khayrullin RM, Fomina AV, Aynullova NK. Variabel'nost' znacheniy 2d:4d pal'tseвого индекса u dikikh i laboratornykh zhivotnykh. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013;6-3:611-618. In Russian
28. Alekseev VP. Osteometriya. Metodika antropologicheskikh issledovaniy. – M.: Nauka, 1966. – 250s. In Russian
29. Ermolenko AS, Khayrullin RM. Kist' sovremennogo cheloveka po dannym rentgenoosteometrii. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2011. – 152s. In Russian
30. Bikbaeva TS, Aleshkina OYu, Nikolenko VN, Fomkina OA. Polovaya izmenchivost' dlin proksimal'nykh falang 2–5 pal'tsev kisti i ikh vzaimosvyazi u lyudey 2 perioda zrelogo vozrasta. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2015;(1-10): 2015-2018. In Russian
31. Bikbaeva TS. Izmenchivost' i polovoy dimorfizm falang II-V pal'tsev kisti vzroslykh lyudey. Diss. na soisk. uch. st. kand. med. nauk. – Saratov, SGMU imeni V.I. Razumovskogo, 2009. – 118s. In Russian

Автор заявляет об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Гальчин Андрей Викторович, врач-радиотерапевт, Областной клинический онкологический диспансер, Ульяновск, Россия; e-mail: galchin.andrei.2000@mail.ru

The author declares that have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

INFORMATION ABOUT AUTHOR

Andrey V. Gal'chin, Radiotherapist, Regional Clinical Oncology Dispensary, Ulyanovsk, Russia; e-mail: galchin.andrei.2000@mail.ru



ОСОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ В ДОЗЕ 8 ГР

¹Саакян С.В., ¹Каракаева Э.Б.-Г., ¹Шаповалова Е.Ю., ²Зорин И.А., ^{2,3}Демьяшкин Г.А.

¹Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, ²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, ³Национальный медицинский исследовательский центр радиологии, Обнинск, Россия, e-mail: drsaakyan@icloud.com

Для цитирования:

Саакян С.В., Каракаева Э.Б.-Г., Шаповалова Е.Ю., Зорин И.А., Демьяшкин Г.А. Особенности пролиферации и апоптоз эпителиоцитов толстой кишки после облучения электронами в дозе 8 Гр. Морфологические ведомости. 2023;31(3):790. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).790](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).790)

Резюме. Эпителиальные клетки кишечника характеризуются высокой митотической активностью и обладают высокой радиочувствительностью ко всем видам ионизирующего облучения, которые вызывают их повреждение. В современной морфологии и радиологии отсутствуют данные о воздействии активных электронов на слизистую оболочку кишечника, несмотря на перспективность и активное внедрение этого вида излучения для терапевтических целей в онкологии. Цель исследования: иммуногистохимическая оценка пролиферации и апоптоза клеток эпителия толстой кишки самцов крыс линии Вистар после локального облучения электронами в дозе 8 Гр. Облучение животных производили на линейном ускорителе NOVAC-11, при мощности дозы 1 Гр/мин, энергии 10 МэВ и частоте 9 Гц, диаметр поля облучения тазово-абдоминальной области составил 100 мм. Животных из каждой группы выводили из эксперимента на первые и третьи сутки. Гистологические препараты ободочной кишки (n=30) двух групп, первой – контрольной (n=10) и второй, опытной группы (n=20) исследовали иммуногистохимическим методом с антителами к Ki-67 и Cas3. В препаратах крыс, выведенных через сутки после облучения, выявили преобладание апоптотических процессов. Количество позитивных клеток на окраску с антителами к каспазе 3 было увеличено в 1,5 раза в опытной группе по сравнению с контрольной, а количество Ki-67-позитивных клеток, напротив, было снижено, в 1,5 раза. На 3 сутки после облучения электронами в эпителии толстой кишки количество иммунопозитивных клеток не отличалось от контрольных значений. Таким образом, при локальном однократном облучении электронами тазово-абдоминальной области крыс в дозе 8 Гр через сутки отмечается снижение количества стволовых эпителиальных клеток кишечных крипт ободочной кишки, что подтверждено сдвигом пролиферативно-апоптотического баланса в сторону гибели клеток. В динамике наблюдения на третьи сутки эксперимента наблюдается увеличение пула пролиферирующих клеток с последующим восстановлением кишечных крипт.

Ключевые слова: слизистая оболочка толстой кишки, ионизирующее облучение, энтероциты, апоптоз, пролиферация, иммуногистохимия

Статья поступила в редакцию 03 марта 2023
Статья принята к публикации 6 августа 2023

FEATURES OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS OF COLONIC EPITHELIOCYTES AFTER ELECTRON IRRADIATION AT A DOSE OF 8 GY

¹Saakyan SV, ¹Karakaeva EB-G, ¹Shapovalova EY, ²Zorin IA, ^{2,3}Demyashkin GA

¹Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, ²Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, ³National Medical Research Centre of Radiology, Obninsk, Russia, e-mail: drsaakyan@icloud.com

For the citation:

Saakyan SV, Karakaeva EB-G, Shapovalova EY, Zorin IA, Demyashkin GA. Features of proliferation and apoptosis of colonic epithelial cells after electron irradiation at a dose of 8 Gy. Morphological Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):790. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).790](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).790)

Summary. Intestinal epithelial cells are characterized by high mitotic activity and have high radiosensitivity to all types of ionizing radiation that cause their damage. In modern morphology and radiology, there is no data on the effect of active electrons on the intestinal mucosa, despite the promise and active implementation of this type of radiation for therapeutic purposes in oncology. Purpose of the study: immunohistochemical assessment of proliferation and apoptosis of colon epithelial cells in male Wistar rats after local irradiation with electrons at a dose of 8 Gy. Animals were irradiated using a linear accelerator NOVAC-11, at a dose rate of 1 Gy/min, energy of 10 MeV and frequency of 9 Hz, the diameter of the irradiation field of the pelvic-abdominal region was 100 mm. Animals from each group were removed from the experiment on the first and third days. Histological preparations of the colon (n=30) from two groups, the first control group (n=10) and the second experimental group (n=20), were examined by immunohistochemical method with antibodies to Ki-67 and Cas3. In preparations of rats bred one day after irradiation, a predominance of apoptotic processes was revealed. The number of positive cells stained with antibodies to caspase 3 was increased by 1.5 times in the experimental group compared to the control group, and the number of Ki-67-positive cells, on the contrary, was reduced by 1.5 times. On day 3 after electron irradiation in the epithelium of the colon, the number of immunopositive cells did not differ from control values. Thus, with local single irradiation of the pelvic-abdominal region of rats with electrons at a dose of 8 Gy, a decrease in the number of stem epithelial cells of the intestinal crypts of the colon is observed every other day, which is confirmed by a shift in the proliferative-apoptotic balance towards cell death. In the dynamics of observation on the third day of the experiment, an increase in the pool of proliferating cells is observed, followed by restoration of intestinal crypts.

Keywords: colon mucosa, ionizing radiation, enterocytes, apoptosis, proliferation, immunohistochemistry

Article received 03 March 2023
Article accepted 6 August 2023

Введение. Эпителиальные клетки толстой кишки характеризуются высокой митотической активностью. Считается, что они обладают повышенной радиочувствительностью ко всем видам излучения, причем не только к локальному (тазово-абдоминальному), но и к общему облучению [1-2]. Влияние радиоизлучения на эпителиальные стволовые клетки кишечных крипт было подробно изучено в предыдущих работах других авторов. Известно, что инициация постлучевого гастроинтестинального синдрома происходит вследствие повреждения клеток кишечных крипт и сопровождается отеком, гиперемией, слущиванием эпителия, изъязвлениями, стриктурами и некрозом стенки кишки [3]. Ионизирующее излучение вызывает повреждение клеток и субклеточных структур. Аберрации ДНК приводят к нарушению сигнальных внутриклеточных путей, ответственных за нормальное функционирование жизненного цикла, инициацию апоптоза и репарацию молекул генетической информации [4-5].

Активация апоптоза происходит, как в условиях клеточного и тканевого гомеостаза, так и при разных патологических состояниях, таких как ишемия, неврологические нарушения, неоплазии и различные инфекции, а также при повреждениях ДНК [4]. В настоящий момент известны два механизма, которые активируют апоптоз в клетках. Внутренний путь, регулируемый митохондриями и внешний, индуцированный лигандами клеточной гибели. Эти лиганды способны индуцировать инициаторные протеазы, такие как каспаза-9, что приводит к активации терминальной протеазы – каспазы-3 [6]. В немногочисленных исследованиях было показано, что каспаза-3 является ключевой молекулой при активации апоптоза в эпителиоцитах толстой кишки после воздействия облучения. После повреждения ДНК запускается внутренний путь апоптоза, приводящий к высвобождению проапоптотических молекул и увеличению проницаемости митохондрий, что в свою очередь запускает активность терминальных молекул, таких как каспаза-7 и -3 [7-8].

В современной морфологии и радиологии отсутствует информация о воздействии электронов на слизистую оболочку толстой кишки, несмотря на перспективность и активное внедрение этого вида излучения для терапевтической практики в онкологии. Данные о воздействии других видов облучения на толстую кишку, в основном используемых в лучевой терапии, – противоречивы [2, 9-10]. В этом смысле морфологическое и молекулярно-биологическое исследования эффектов облучения электронами является актуальным, так как установлено, что оно обладает меньшим повреждающим эффектом на ткани [11]. В то же время при изучении влияния облучения электронами на эпителий толстой кишки важно оценить не только степень и глубину повреждений, но и пролиферативную активность эпителиоцитов, то есть их регенеративный потенциал.

Цель исследования: иммуногистохимическая оценка пролиферации и апоптоза эпителия толстой кишки после локального облучения электронами в дозе 8 Гр в эксперименте.

Материалы и методы исследования. В эксперименте использованы половозрелые крысы-самцы линии Вистар (n=30), которые были поделены на две группы: I – контрольная (n=10); II – опытная группа (n=20). Локальное однократное облучение электронами в дозе 2 Гр тазово-абдоминальной области производили на линейном ускорителе NOVAC-11 при мощности дозы 1 Гр/мин, энергии 10 МэВ и частоте 9 Гц, с диаметром поля облучения 100 мм. Животных каждой группы выводили из эксперимента на 1 и 3 сутки. Все манипуляции выполняли согласно «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ЕЭС, Страсбург, 1985) и Хельсинской декларации (1985).

Фрагменты толстой (ободочной) кишки фиксировали в забуференном формалине, заливали в парафиновые блоки, гистологические срезы нарезали на микротоме толщиной 3 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопический анализ выполняли с помощью систе-

мы видеомикроскопии микроскопа Leica DM2000 (Германия), видеокамерой Leica ICC50 HD. Ключевые периоды жизненного цикла эпителия толстой кишки изучены с помощью маркеров терминации апоптоза (каспазы-3) и пролиферации (Ki-67). Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартному протоколу в автоматическом режиме в иммуногистостейнере Bond-Max («Leica», Германия). Первичные антитела: к каспазе-3 (Invitrogen/Thermo Fisher Scientific; 74T2, 1:50) и Ki-67 (Abcam; ab15580, 1:100); вторичные – универсальные антитела (HiDef Detection™ HRP Polymer system, «Cell Marque», США). Количество иммунопозитивных клеток подсчитывали в 10 полях зрения, при увеличении $\times 400$. Полученные данные были представлены в виде относительного числа позитивных клеток в %, как среднее значение доли (P) и ошибки средней доли (p_m). Значимыми считали различия между показателями при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Во всех гистологических препаратах толстой кишки животных через сутки после локального облучения электронами в дозе 8 Гр наблюдали типичную морфологическую картину постлучевого колита, которая проявлялась в дезорганизации однослойного цилиндрического эпителия с апоптотическими тельцами и воспалительной инфильтрации в подслизистой основе, слабом интерстициальном отеке. Количество бокаловидных клеток было снижено, а сами кишечные крипты расширены. На 3-и сутки эксперимента отмечали восстановление гистоархитектоники эпителия слизистой оболочки толстой кишки, расположение и строение кишечных крипт, количество бокаловидных клеток приблизилось к контрольным значениям. При иммуногистохимическом исследовании через сутки после локального облучения электронами выявили преобладание апоптотических процессов. Количество каспаза-3-позитивных клеток было увеличено в 1,56 раза в опытной группе по сравнению с контрольной с до 33,5% до 52,5% (табл. 1). Количество Ki-67-позитивных клеток, напротив, было после облучения снижено в 1,54 раза с 49% до 31,2%. На 3-и сутки после облучения электронами в эпителии толстой кишки количество иммунопозитивных клеток статистически не отличалось от контрольных значений (табл. 1, рис. 1).

тронами в эпителии толстой кишки количество иммунопозитивных клеток статистически не отличалось от контрольных значений (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1
Доля позитивно окрашенных к антигенам энтероцитов в гистологических препаратах толстой кишки контрольной и опытных групп крыс в % ($P \pm p_m$)

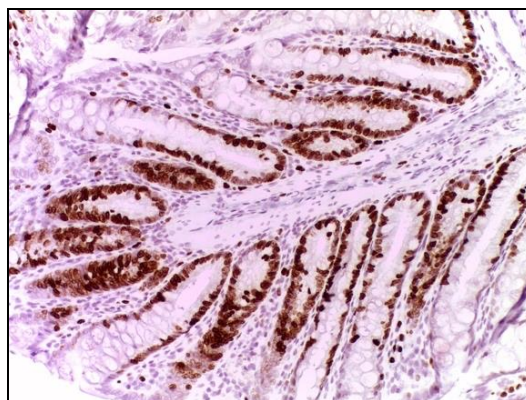
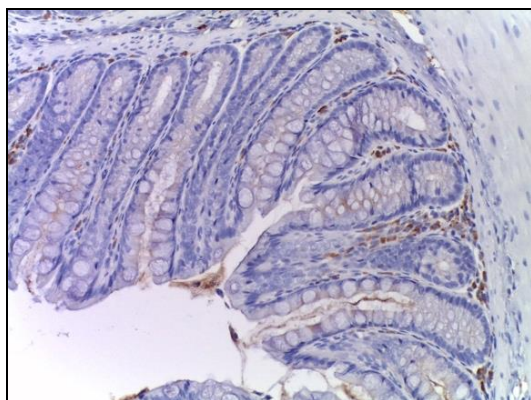
Маркер	Группа II (облучение)		Группа I (контроль)
	1 сутки	3 сутки	
Caspase-3	52,47 \pm 5,13 \uparrow	39,61 \pm 3,27	33,48 \pm 2,35
Ki-67	31,2 \pm 2,97 \downarrow	43,62 \pm 4,73	49,27 \pm 4,53

Примечание: \uparrow - статистически значимое увеличение и \downarrow - уменьшение по сравнению с контрольной группой

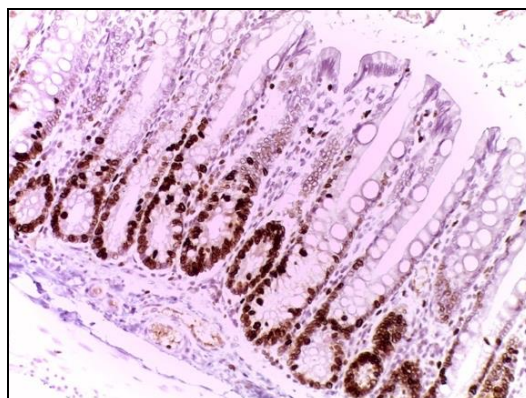
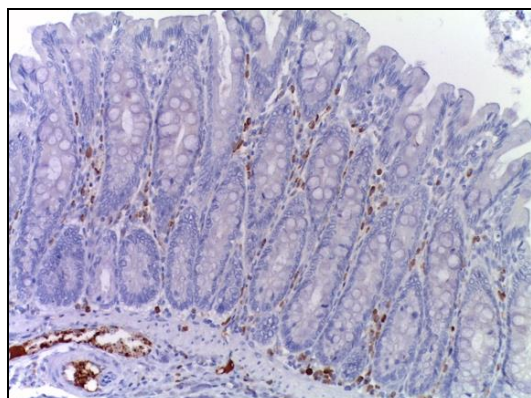
Электронотерапия является перспективным методом, обладающим терапевтическим эффектом при кратковременном облучении в высоких дозах, что значительно сокращает число осложнений по сравнению с лечением традиционными видами излучения. Значительная частота заболеваемости колоректальным раком и отсутствие данных об эффективности его лечения электронным излучением, как потенциальной альтернативы другим видам радиотерапии, стимулируют его экспериментальные исследования [11-12]. В проведенном эксперименте установлено, что эпителий толстой кишки обладает высокой радиочувствительностью, о чем свидетельствует морфологическая картина постлучевого колита, обнаруженная уже на первые сутки после облучения тазово-абдоминальной зоны крыс. Это явление подтверждает ранее проведенные исследования по аналогичным эффектам других видов ионизирующего излучения [13-15]. В эксперименте было обнаружено, что уже на первые сутки после облучения электронами в эпителии значительно возрастает количество каспаза-3-позитивных клеток. Можно полагать, что результатом прямого воздействия электронов на энтероциты толстой кишки является фрагментация ДНК и клеточных мембран, запуск апоптоза, завершающийся активацией каспазы-3 [7, 16]. Увеличение количества активированной каспазы-3 приводит к прекращению жизненного цикла энтероцитов. Наиболее интенсивно окрашенными на каспазу-3 были клетки, располагающиеся в области дна крипт, являющиеся стволовыми для кишечного эпителия и обладающие, как известно, высокой митотической активностью (рис. 1).

Иммуногистохимические маркеры
Caspase-3 Ki-67

8 Гр
1-е сутки



8 Гр
3-и сутки



контроль

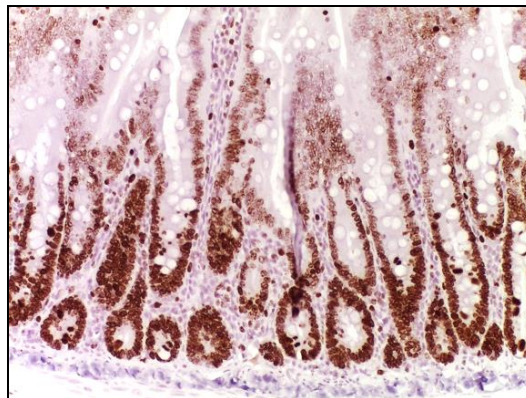
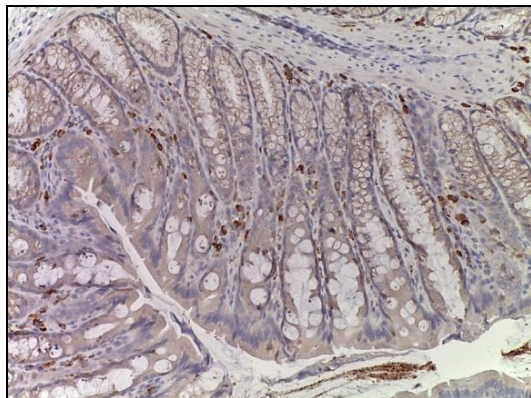


Рис. 1. Микрофото гистологических препаратов толстой кишки крыс после локального однократного облучения электронами в дозе 8 Гр. Окр.: иммуногистохимическая (см. в тексте) с докраской ядер гематоксилином. Ув.: $\times 200$

Известно, что при вступлении в апоптоз энтероциты толстой кишки способны выделять молекулы, которые стимулируют сохраненные стволовые клетки к ускоренной пролиферации [17-18]. Поэтому, наряду с указанным выше на первые сутки эксперимента эффектом облучения электронами, отмечали снижение количества Ki-67-позитивно окрашенных клеток в области дна кишечных крипт.

Однако уже на 3 сутки показатели пролиферации в опытной группе приблизились к значениям контрольной группы. Для восстановления пула эпителиоцитов кишечных крипт в такие кратчайшие сроки, очевидно вполне достаточно сохранившегося количества интактных стволовых клеток.

Закключение. Таким образом, при локальном однократном облучении элек-

тронами тазово-абдоминальной области крыс Вистар в дозе 8 Гр через сутки отмечается снижение количества стволовых эпителиальных клеток кишечных крипт в толстой (ободочной) кишке, что подтверждается сдвигом пролиферативно-апоптотического баланса в сторону гибели клеток, оцененного соотношением каспа-

зы-3 и Ki-67. В динамике, на третьи сутки эксперимента, наблюдается увеличение пула стволовых клеток с последующим восстановлением кишечных крипт.

Литература References

1. Zhang L, Yu J. Role of apoptosis in colon cancer biology, therapy, and prevention. *Curr Colorectal Cancer Rep.* 2013;9(4):10.1007/s11888-013-0188-z. DOI:10.1007/s11888-013-0188-z
2. Booth C, Tudor G, Tudor J, et al. The Acute Gastrointestinal Syndrome in High-Dose Irradiated Mice. *Health Phys* 2012;103:383–399
3. Akpolat M, Oz ZS, Gulle K, et al. X irradiation induced colonic mucosal injury and the detection of apoptosis through PARP-1/p53 regulatory pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2020;127:110134. DOI:10.1016/j.biopha.2020.110134
4. Hauer-Jensen M, Denham JW, Andreyev HJN. Radiation enteropathy – pathogenesis, treatment and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:470–479. DOI:10.1038/nrgastro.2014.46
5. Araujo IK, Muñoz-Guglielmetti D, Mollà M. Radiation-induced damage in the lower gastrointestinal tract: Clinical presentation, diagnostic tests and treatment options. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2020;48–49:101707. DOI:10.1016/j.bpg.2020.101707.
6. Negróni A, Cucchiara S, Stronati L. Apoptosis, Necrosis, and Necroptosis in the Gut and Intestinal Homeostasis. *Mediators Inflamm* 2015;2015:250762. DOI:10.1155/2015/250762
7. McIntosh A, Meikle LM, Ormsby MJ, et al. SipA Activation of Caspase-3 Is a Decisive Mediator of Host Cell Survival at Early Stages of *Salmonella enterica* Seroovar Typhimurium Infection. *Infection and Immunity* 2017;85:e00393-17. DOI: 10.1128/IAI.00393-17
8. Beroske L, Van den Wyngaert T, Stroobants S, et al. Molecular Imaging of Apoptosis: The Case of Caspase-3 Radiotracers. *IJMS* 2021;22:3948. DOI:10.3390/ijms22083948
9. Rubio CA, Jalnäs M. Dose-time-dependent histological changes following irradiation of the small intestine of rats. *Digest Dis Sci* 1996;41:392–401. DOI:10.1007/BF02093834
10. Otsuka K, Suzuki K. Differences in Radiation Dose Response between Small and Large Intestinal Crypts. *Radiation Research* 2016;186:302–314. DOI:10.1667/RR14455.1
11. Schüler E, Acharya M, Montay-Gruel P, et al. Ultra-high dose rate electron beams and the FLASH effect: From preclinical evidence to a new radiotherapy paradigm. *Medical Physics* 2022;49:2082–2095. DOI:10.1002/mp.15442
12. Tam SY, Wu VWC. A Review on the Special Radiotherapy Techniques of Colorectal Cancer. *Frontiers in Oncology* 2019;9:208. DOI: 10.3389/fonc.2019.00208
13. Muschel RJ, Hammond EM, Dewhirst MW. A New Assay to Measure Intestinal Crypt Survival after Irradiation: Challenges and Opportunities. *Cancer Research* 2020;80:927–928. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-19-4045
14. Moussa L, Usunier B, Demarquay C, et al. Bowel Radiation Injury: Complexity of the Pathophysiology and Promises of Cell and Tissue Engineering. *Cell Transplant* 2016;25:1723–1746. DOI:10.3727/096368916X691664
15. Weiber S, Bjelkengren Gör, et al. Radiation Effects in the Colon: An Experimental Study in the Rat. *Acta Oncologica* 1993;32:565–569. DOI:10.3109/02841869309096119
16. Pejchal J, Novotný J, Mařák V, et al. Activation of p38 MAPK and expression of TGF- β 1 in rat colon enterocytes after whole body γ -irradiation. *International Journal of Radiation Biology* 2012;88:348–358. DOI:10.3109/09553002.2012.654044
17. Karmakar S, Deng L, He XC, Li L. Intestinal epithelial regeneration: active versus reserve stem cells and plasticity mechanisms. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2020;318:G796–802. DOI:10.1152/ajpgi.00126.2019
18. Rees WD, Tandun R, Yau E, et al. Regenerative Intestinal Stem Cells Induced by Acute and Chronic Injury: The Saving Grace of the Epithelium? *Front. Cell Dev. Biol.* 2020;8:583919. DOI:10.3389/fcell.2020.583919

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Саакян Сюзанна Вачагановна, аспирантка, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия; e-mail: drsaakyan@icloud.com

Каракаева Эльза Бахты-Гереевна, аспирантка, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия; e-mail: kchr09@mail.ru

Шаповалова Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гистологии и эмбриологии, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия; e-mail: shapovalova_l@mail.ru

Зорин Илья Алексеевич, студент, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия; e-mail: ilyazorin99@yandex.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Syuzanna V. Saakyan, Aspirantin, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia; e-mail: drsaakyan@icloud.com

El'za B. Karakaeva, Aspirantin, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia; e-mail: kchr09@mail.ru

Elena Yu. Shapovalova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Histology and Embryology, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia; e-mail: shapovalova_l@mail.ru

Il'ya A. Zorin, Student, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; e-mail: ilyazorin99@yandex.ru

Демяшкин Григорий Александрович, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией гистологии и иммуногистохимии Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, Москва; заведующий отделом патоморфологии, Национального медицинского исследовательского центра радиологии, Обнинск, Россия; **e-mail: dr.dga@mail.ru**

Grigory A. Demyashkin, Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Histology and Immunohistochemistry of the Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow; Head of the Department of Pathology of the National Medical Research Radiological Centre, Moscow and Obninsk, Russia; **e-mail: dr.dga@mail.ru**



ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОМЕТРИИ ПЛАЦЕНТЫ ЖИТЕЛЬНИЦ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ) ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Фомина В.С., Гармаева Д.К.

Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Якутск, Россия, e-mail: fomina.valeria.89@mail.ru

Для цитирования:

Фомина В.С., Гармаева Д.К. Показатели морфометрии плаценты жительниц республики Саха (Якутия) при физиологической беременности. Морфологические ведомости. 2023;31(3):814. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).814](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).814)

Резюме. Республика Саха (Якутия) располагается в суровых климатических условиях, что отражается на структурных компенсаторно-приспособительных изменениях в плаценте у жительниц региона, однако они остаются малоизученными. Целью было исследование морфологии плацент жительниц Республики Саха (Якутия) в условиях физиологической беременности. Все плаценты соответствовали сроку 36–41 недели беременности, роды происходили с рождением здоровых детей. I группу наблюдения составили плаценты женщин коренного населения - якуток, эвенков, эвенов и других малочисленных народов Севера, родившихся и постоянно проживающие в условиях Республики Саха (79 случаев); II группу – плаценты от женщин - некоренных жителей (русских, украинок, татарок и других), проживающих в условиях Республики Саха более 10 лет (70 наблюдений) первого и второго зрелого периодов. В работе исследования проведены на органном, тканевом уровнях структурной организации с применением комплекса морфологических, клинических и инструментальных методов. Было установлено, что у коренных жительниц чаще наблюдается парацентральное прикрепление пуповины (65,8%), а в группе некоренных жительниц в 3,3 раза чаще наблюдалось центральное прикрепление пуповины (30%). Линейные параметры плаценты характеризуются отсутствием статистически достоверного различия между исследуемыми группами. Гистологические исследования показали, что у некоренных жительниц республики, по сравнению с группой коренных жительниц, площадь терминальных ворсин была достоверно больше аналогичного показателя у некоренных в 1,8 раза ($p=0,016$). При тождественных показателях количества сосудов в терминальных ворсинках был определен низкий показатель сосулисто-стромального коэффициента терминальных ворсин ($p=0,019$) за счет увеличения стромального компонента ($p=0,03$), что свидетельствует о наличии относительной гиповаскуляризации. Выявлено увеличение показателя площади терминальных ворсин в 1,8 раза в плацентах группы коренных жительниц ($p=0,016$), что достоверно больше аналогичного показателя в группе у некоренных. Выявленные данные можно рассматривать как свидетельство адаптивной перестройки в плодной части гемато-плацентарного барьера плаценты на специфические эколого-территориальные условия проживания.

Ключевые слова: плацента, морфометрия, ангиоархитектоника, коренные и некоренные жители, Республика Саха (Якутия)

Статья поступила в редакцию 07 июля 2023
Статья принята к публикации 30 сентября 2023

INDICATORS OF PLACENTAL MORPHOMETRY OF THE REPUBLIC SAKHA (YAKUTIA) INDIGENOUS WOMEN AT PHYSIOLOGICAL PREGNANCY

Fomina VS, Garmaeva DK

Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia, e-mail: fomina.valeria.89@mail.ru

For the citation:

Fomina VS, Garmaeva DK. Indicators of placental morphometry of the Republic Sakha (Yakutia) indigenous women at physiological pregnancy. Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):814. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).814](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).814)

Summary. The Republic of Sakha (Yakutia) is located in harsh climatic conditions, which is reflected in structural compensatory-adaptive changes in the placenta among residents of the region, but they remain poorly studied. The goal was to study the morphology of placentas of residents of the Republic of Sakha (Yakutia) under conditions of physiological pregnancy. All placentas corresponded to 36–41 weeks of gestation and delivered healthy children. The first observation group consisted of placentas of women of the indigenous population - Yakuts, Evenks, Evens and other small peoples of the North, born and permanently residing in the Republic of Sakha (79 cases); Group II – placentas from non-indigenous women (Russians, Ukrainians, Tatars and others) living in the Republic of Sakha for more than 10 years (70 observations) of the first and second mature periods. In this work, research was carried out at the organ and tissue levels of structural organization using a complex of morphological, clinical and instrumental methods. It was found that indigenous women were more likely to have paracentral umbilical cord attachment (65.8%), and in the group of non-indigenous women, central umbilical cord attachment was 3.3 times more likely to be observed (30%). Linear parameters of the placenta are characterized by the absence of statistically significant differences between the study groups. Histological studies showed that in non-indigenous women of the republic, compared with the group of indigenous women, the area of terminal villi was significantly greater than that in non-indigenous women by 1.8 times ($p=0.016$). With identical indicators of the number of vessels in the terminal villi, a low vascular-stromal coefficient of terminal villi was determined ($p=0.019$) due to an increase in the stromal component ($p=0.03$), which indicates the presence of relative hypovascularization. An increase in the area of terminal villi was revealed by 1.8 times in the placentas of the group of indigenous women ($p=0.016$), which is significantly greater than the same indicator in the group of non-indigenous women. The identified data can be considered as evidence of adaptive restructuring in the fetal part of the blood-placental barrier of the placenta to specific ecological and territorial living conditions.

Keywords: placenta, morphometry, blood vessels architectonics, indigenous and non-indigenous residents, Republic of Sakha (Yakutia)

Article received 07 July 2023
Article accepted 30 September 2023

Введение. Одной из задач экологической репродуктологии является исследование репродуктивной функции женщин, являющейся наиболее чувствительной к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды [1-4]. Чувствительность репродуктивной системы женщины к неблагоприятным факторам среды может проявляться различными симптомами, клиническими, патофизиологическими, гормональными, биохимическими, иммунологическими, в том числе при воздействии природных и антропогенных факторов [5-8]. Основным и наиболее постоянно действующим стрессовым фактором, которому подвергается население Крайнего Севера, является гипоксия [9-11]. Доставка кислорода к плоду, как известно, обеспечивается плацентой, при этом крайне важно, чтобы плод получал достаточное количество кислорода. Следовательно, вполне вероятно, что региональные, этнические и половые различия в массе тела плода при рождении могут сопровождаться изменениями в морфологии плаценты, особенно в тех тканевых компартментах, которые связаны с трансплацентарным переносом кислорода [12-15]. У женщин Крайнего Севера дефицит репродуктивного гомеостаза центрального типа обусловлен повышенной чувствительностью гипоталамуса к регулирующим климатическим факторам, что является следствием адаптации к суровым условиям окружающей среды. Показано, что, в качестве компенсаторной реакции, плаценты женщин коренных народов Республики Коми и Архангельской области претерпевают адаптивные изменения, в результате чего значительно увеличивается плацентарно-плодное соотношение. Такое увеличение органомерических показателей плаценты происходит на фоне снижения массы тела новорожденных также и в условиях Крайнего Севера [16, 6, 17-20]. Несмотря на то, что Республика Саха (Якутия) располагается в суровых климатических условиях, компенсаторно-приспособительные изменения в плацентах жительниц данного региона остаются малоизученным.

Цель исследования: изучить морфологию плацент жительниц Республики

Саха (Якутия) в условиях физиологической беременности.

Материалы и методы исследования. Препараты плацент отобраны на базе патологоанатомического отделения Республиканской больницы № 1 – Национального центра медицины имени М.Е. Николаева Республика Саха (Якутия). Все плаценты соответствовали сроку 36–41 недели беременности, роды происходили с рождением здоровых детей с оценкой здоровья по шкале Апгар более 8 баллов. В работе проведены исследования структурной организации плацент на органном, тканевом уровнях, полученных после срочных родов от жительниц Якутии, с применением комплекса морфологических, клинических и инструментальных методов. Критериями включения были принадлежность плацент женщинам-жительницам Республики Саха (Якутия), доношенная беременность в сроке гестации 36–41 недель, завершившаяся живорождением, наличие данных клинико-инструментальных методов исследования беременных и новорожденных в пределах физиологической референтной нормы. Критериями исключения были соматическая патология в стадии декомпенсации, многоплодная беременность, возраст роженицы менее 16 и старше 40 лет, беременность в результате применения технологии экстракорпорального оплодотворения, острая и хроническая почечная недостаточность, наличие отягощающих факторов курения, наркомании, алкоголизма. Всего было отобрано 149 плацент. Исследуемый материал был распределен по этнической принадлежности и возрасту, согласно возрастной периодизации онтогенеза человека, принятой на VII Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии АПН СССР в Москве (1965). I группа – плаценты от женщин коренной национальности Республики Саха (Якутия) первого и второго зрелого возрастных периодов. К данной категории отнесены женщины коренного населения - якутки, эвенки, эвены и других малочисленных народов Севера, родившихся и постоянно проживающие в условиях Республики Саха (Якутия) - 79 случаев; II группа – пла-

центры от женщин некоренной национальности (русских, украинок, татарок и других), проживающие в условиях Республики Саха (Якутия) более 10 лет (70 наблюдений). Исследование плацент проводилось в течение первых 2 суток после родов в нефиксированном состоянии по единому протоколу [19] с измерением основных характеристик: массы, длины, ширины, высоты, консистенции, цвета, очаговых включений, также длины пуповины, ее диаметра, количества ее сосудов, прикрепления к плаценте. Для гистологического исследования готовились серийные срезы толщиной 3–5 мкм, препараты окрашивали гематоксилином-эозином. Микро-морфометрические исследования изображений гистологических срезов плаценты проводили в программе ImageJ. Нами были определены показатели площади просвета сосудов (Sc) и площади следующих структур плаценты: площади терминальных ворсин (Ств), площади стромы ворсин (СтрТВ), площади всех сосудов ворсин (Summary), сосудисто-стромального коэффициента (SCo/Стр), площади межворсинчатого пространства (МВП), площади материнского фибриноида (ФМ). Микропрепараты исследовались на микроскопе Leica с цифровой фотокамерой при увеличении x100.

Результаты исследования и обсуждение. Макроскопическая характеристика плацент при физиологической беременности в разных возрастных группах коренной и некоренной национальности показала, что линейные размеры плаценты у группы коренных жительниц первого зрелого периода в среднем составили 18x12x2,5 см, плацента имела дискообразную форму. Во втором зрелом периоде коренной группы жительниц были выявлены более крупные размеры плаценты 19,5x16x2,8 см по сравнению с первым зрелым периодом и по сравнению с группой аналогичного возрастного периода некоренных жительниц. Плаценты была в основном овальной формы. У группы некоренных жительниц первого зрелого периода размеры плаценты составили 17x16x2,5 см, данный показатель оказался достоверно меньше по сравнению с показателями других групп, плацента имела дис-

ковидную форму. Во втором периоде зрелого возраста у группы некоренных жительниц наблюдались более тонкие плаценты с размерами 18x16x2 см овальной формы.

Масса плаценты у коренных жительниц I периода зрелого возраста составила 450 г, что в 1,1 раз достоверно меньше, чем у жительниц II периода. Наоборот, у некоренных жительниц I периода зрелого возраста масса плаценты составила 460 г, что в 1,15 раза достоверно больше, чем у жительниц II периода. При этом в возрастных группах I периода зрелого возраста у коренных и некоренных жительниц выявлен практически одинаковый показатель массы плаценты (450–460 г), а в группе коренных жительниц II возрастного периода масса плаценты была достоверно больше в 1,25 раза, чем у некоренных жительниц.

Толщина плаценты у коренных жительниц I возрастного периода зрелого возраста составила 2,5 см, что меньше, чем у жительниц II возрастного периода в 1,12 раза. В I периоде зрелого возраста как у коренных, так и у некоренных жительниц выявлены одинаковые показатели толщины плаценты. При этом в группах II возрастного периода у коренных жительниц этот показатель был больше, чем у некоренных жительниц в 1,4 раза.

Длина пуповины в плацентах коренных жительниц I возрастного периода зрелого возраста составила 31,88 см, что на 5,5% достоверно больше, чем в плацентах, полученных от жительниц II возрастного периода. У некоренных жительниц I периода зрелого возраста длина пуповины в плацентах составила 30,59 см, что на 10,5% достоверно меньше, чем у жительниц II возрастного периода. При этом в возрастных группах I периода зрелого возраста данный показатель у коренных жительниц на 4,2% больше, чем в плацентах у некоренных жительниц. Во II периоде зрелого возраста прослеживается обратная зависимость, в плацентах у некоренных жительниц пуповина длиннее на 11,9%.

Диаметр пуповины в плацентах у коренных жительниц I периода составил 1,2 см, что на 20% достоверно больше,

чем у жительниц II периода зрелого возраста. У некоренных жительниц I периода зрелого возраста диаметр пуповины плацент оказался таким же, что на 8,3% меньше, чем у жительниц II периода. У некоренных жительниц во II периоде зрелого возраста диаметр пуповины плацент был больше, чем в плацентах у некоренных на 30%.

Прикрепление пуповины в плацентах группы коренных жительниц I зрелого периода чаще всего парацентральное (66%), что реже, чем у жительниц II зрелого периода (70%). У некоренных жительниц I зрелого периода в плацентах чаще

всего наблюдали парацентральное прикрепление пуповины (52,2%), этот показатель в 1,3 раза был больше, чем у жительниц II зрелого периода. У жительниц II зрелого периода некоренной национальности достоверно больше наблюдается центральное прикрепление пуповины в плаценте (60%), что в 2,3 раза чаще, чем у той же группы I зрелого периода и в 6–10 раз чаще, чем в группе коренных жительниц. Другие виды прикрепления пуповины к плаценте (оболочечное, краевое) встречались намного реже.

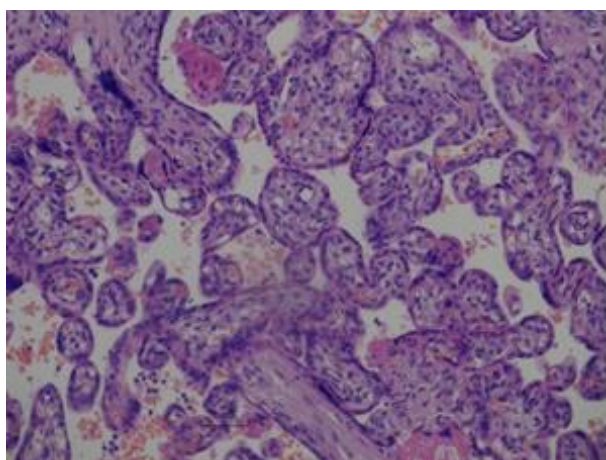


Рис. 1. Микрофото гистологического препарата плаценты жительницы коренного населения. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув.: x100

Гистологическая характеристика препаратов плацент при физиологической беременности в различных этнических группах выявило типичное строение ворсинчатого дерева с опорными ворсинами, отходившими от хориальной пластинки с тремя уровнями ветвления, промежуточными ветвями и многочисленными терминальными ворсинами. Артериолы и венулы опорных ворсин были широкого просвета. Они располагались в плотном коллагеновом футляре, мышечная оболочка различалась по толщине. Под синцитиотрофобластом, покрывающим внешнюю поверхность стромы опорных ворсин, визуализировалась так называемая около-сосудистая капиллярная сеть. В ее

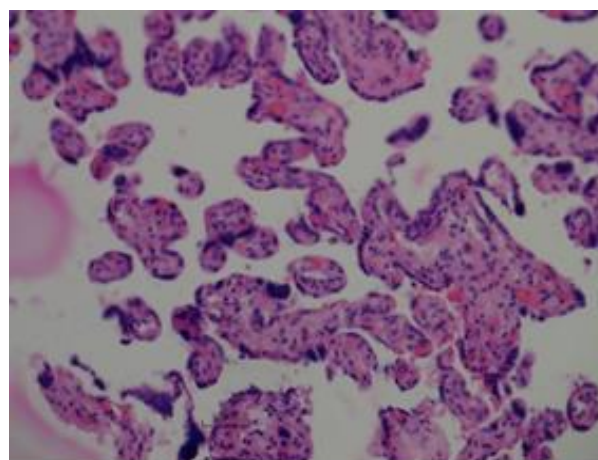


Рис. 2. Микрофото гистологического препарата плаценты жительницы некоренного населения. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув.: x100

составе отдельные капилляры находились непосредственно под эпителием, но не образовывали синцитиокапиллярных мембран.

Анализ микропрепаратов показал преобладание терминальных ворсин в плодной части плаценты, то есть в большинстве случаев был диагностирован вариант соответствия морфологической картине капилляризованного ворсинчатого дерева плаценты с балансом зрелых промежуточных (30–40%) и терминальных ворсин (60–70%). Явления фиброза стромы ворсин не наблюдались в общей массе терминальных ворсин, что структурно подтверждало состояние физиологической беременности.

В межворсинчатом пространстве наблюдали мелкие очаги отложения фибрина. Эпителий ворсин был однорядный, истонченный, воспалительные изменения не определены. Патологические изменения сосудистой плодной сети (васкулопатия), как правило, отсутствовали (рис. 1). Изменения в виде фиброза и склероза стенок сосудов были в пределах явлений физиологической инволюции плаценты. Неявно выраженный хорангиоз терминальных ворсин демонстрировал адекватность приспособительных реакций, возникающих в конце беременности и в процессе физиологических родов (рис. 2).

Нами не выявлено специфических гистологических изменений, которые были бы типичны исключительно для плацент жительниц какой-либо одной этнической принадлежности или возрастной группы при физиологически протекающей беременности. Таким образом, гистологическое исследование плаценты без морфометрических показателей не является значимой характеристикой, которую следовало бы принимать во внимание при исследовании структурных особенностей плаценты у представительниц разных этно-территориальных групп. Можно утверждать, что большее значение в этом имеет оценка состояния ворсинчатого дерева и морфометрическая характеристика структур плаценты.

Известно, что от функционирования гемато-плацентарного барьера напрямую зависит развитие плода. Медианное значение показателя площади терминальных ворсин у коренных жительниц I периода зрелого возраста составил 1663,03 мкм², что в 1,2 раза недостоверно больше, чем у жительниц во II периоде зрелого возраста (табл. 1). У некоренных жительниц I периода зрелого возраста данный показатель составил 1530,88 мкм², что в 1,8 раза больше, чем в плацентах женщин второго периода зрелого возраста. Как выяснилось, достоверных различий в параметре площади терминальных ворсин не существует ($p=0,884$), в том числе и в показателях площади стромы ворсин и площади капилляров (табл. 1).

Медианное значение площади просвета сосудов в плацентах у коренных жи-

тельниц I периода зрелого возраста составило 387,05 мкм², что меньше в 1,2 раза, чем в плацентах у жительниц II периода зрелого возраста. У группы некоренных жительниц I периода зрелого возраста этот показатель плацент составил 234,63 мкм², что достоверно больше в 2,1 раза, по сравнению с показателями плацент женщин II-го периода. Наибольшая площадь просвета сосудов ворсинчатого хориона плацент оказалась у жительниц коренной национальности II периода зрелого возраста (458,75 мкм²), наименьшая площадь сосудов была выявлена у жительниц некоренной группы II зрелого периода (110,68 мкм²).

Сосудисто-стромальный коэффициент в препаратах плацент коренных жительниц I-го и II-го периодов зрелого возраста был одинаковым, и составил 1,36. У группы некоренных жительниц в плацентах он во I-ом периоде зрелого возраста составил 1,15, что оказалось больше на 7,5%, чем у жительниц II-го периода, но меньше, чем в плацентах группы жительниц коренной национальности. Нами было выявлено, что при физиологической беременности в плацентах у жительниц коренной национальности сосудисто-стромальный коэффициент в терминальных ворсинах достоверно больше, чем в плацентах группы некоренных жительниц ($p=0,001$).

Площадь стромы ворсин плацент у коренных жительниц I периода зрелого возраста составил 1303,86 мкм², что было в 1,1 раза больше, чем в плацентах жительниц во II периоде зрелого возраста. У группы некоренных жительниц I периода зрелого возраста площадь стромы ворсин плаценты (1324,90 мкм²) была больше в 1,5 раза, по сравнению со II-ым периодом зрелого возраста. При этом не было достоверной разницы при сравнении показателей площади стромы плацент между исследуемыми группами ($p=0,49$).

Показатель площади межворсинчатого пространства в плацентах у коренных жительниц I-го и II-го периода зрелого возраста был практически одинаковым (1797,89 мкм² и 1712,57 мкм², соответственно). У некоренных жительниц I периода зрелого возраста показатель площади

межворсинчатого пространства плацент составил 1429,95 мкм², что оказалось больше в 1,7 раза, по сравнению со II-ым периодом зрелого возраста. При сравнении показателей площади межворсинчатого пространства наименьший показатель был установлен в плацентах у некоренных жительниц II зрелого возраста, что не являлось достоверным ($p=0,225$). Показатель площади материнского фибриноида плацент у группы коренных жительниц I-го и

II-го периода зрелого возраста также был практически одинаковым (86,27 мкм² и 82,20 мкм², соответственно), у группы некоренных жительниц I периода зрелого возраста данный показатель составил 68,64 мкм², что было больше, чем в группе II-го периода в 1,25 раза. Достоверно значимых различий по данному показателю в возрастном и этническом аспекте также не выявлено ($p=0,062$).

Таблица 1

Микроморфометрические параметры ворсинчатого хориона при физиологической беременности в плацентах разных групп женщин

Показатели ¹	Плаценты коренных жительниц		Плаценты некоренных жительниц		p-value
	I группа зрелого возраста	II группа зрелого возраста	I группа зрелого возраста	II группа зрелого возраста	
Ств	1663,03 [1026,72-2266,71]	1387,32 [1061,81-2296,89]	1530,88 [915,61-2732,29]	915,28 [801,18-753,93]	0,884
Summary	387,05 [238,00-597,96]	458,75 [292,00-634,90]	234,63 [146,53-329,20]	110,68 [60,39-248,05]	<0,001* $p_{1-2}=0,478$; $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{2-3}<0,001^*$; $p_{1-4}=0,023$ $p_{2-4}=0,013^*$; $p_{3-4}=0,656$
СтрТВ	1303,86 [748,54-659,15]	1187,95 [641,14-1684,83]	1324,90 [729,87-2329,15]	885,60 [760,79-505,89]	0,469
SCo-SCтр	1,36 [1,20-1,42]	1,36 [1,26-1,61]	1,15 [1,09-1,23]	1,07 [1,05-1,14]	0,001* $p_{1-2}=0,435$; $p_{1-3}=0,002^*$ $p_{2-3}=0,001^*$; $p_{1-4}=0,027^*$ $p_{2-4}=0,014^*$; $p_{3-4}=0,460$
МВП	1797,29 [1144,52-2826,59]	1712,57 [1203,03-2871,12]	1429,95 [913,14-2316,08]	858,85 [633,101144,09]	0,225
ФМ	86,27 [54,94-135,68]	82,20 [57,75-137,81]	68,64 [43,83-111,17]	54,91 [41,22-69,57]	0,177
ППИ	6,49 [5,18-7,87]	6,43 [4,93-7,93]	7,59 [6,47-8,54]	9,33 [6,13-13,63]	0,062

Примечание: ¹ – обозначения в столбце 1 «Показатели» см. в разделе «Материалы и методы исследования; p-value - уровень значимости различий; * - различия статистически значимы

Таким образом, основные морфометрические параметры гистологического строения исследуемых структур плацент соответствовали сроку гестации, отсутствовали морфологические признаки облитерационной ангиопатии. Выявленные особенности в виде различий в сосудисто-стромальном коэффициенте, площади просвета сосудов нами были расценены как проявление вариантной анатомии плаценты, характерной для физиологической беременности. Эти данные в сравнении с данными других авторов [19-21] свидетельствуют о специфичности компенсаторно-приспособительных реакций, проявляющихся в структурных изменениях плацент коренных и некоренных жительниц Республики Саха (Якутия). По результатам исследования мы констатируем

наличие адаптационной структурной перестройки плацент у коренных жительниц в виде относительной гиперваскуляризации ворсинчатого хориона за счет увеличения удельной площади просвета сосудов ворсин, что способствует дополнительному увеличению ресурсов газообмена через гемато-плацентарный барьер. Данные адаптационные перестройки ангиоархитектоники сосудов плаценты следует рассматривать в аспекте компенсаторной перестройки к условиям окружающей среды.

Заключение. Резюмируя данные, полученные по сравнительной оценке макро-микроскопической морфологической характеристики плацент женщин Республики Саха (Якутия) на современном этапе, следует отметить что в препаратах

плацент у коренных жительниц в большинстве случаев наблюдается парацентральное прикрепление пуповины (65,8%), что чаще чем у пришлых женщин (50%) в 1,3 раза. Центральное прикрепление пуповины у пришлых жительниц (30%) в 3,3 раза чаще, чем у коренных жительниц (8,9%). По нашим данным, показатель длины пуповины у коренных и пришлых женщин Якутии был одинаковым (31 ± 14 и 30 ± 11 см, соответственно). Макроскопическая характеристика плаценты (масса, толщина, размеры плацентарного диска) у жительниц Якутии не выявила достоверно значимых различий с данными, имеющимися в литературе. Вместе с тем, полученные нами средние показатели макроскопии плацент находятся ближе к нижней границе нормативных пределов. Микроскопические изменения в виде фиброза и склероза стенок сосудов, хорангиоз терминальных ворсин были в пределах физиологической инволюции плаценты, возможно эти изменения следует рассматривать в аспекте адаптационного ремоделирования ангиоархитектоники сосудов плаценты под воздействием климатогео-

графических факторов. Выраженность и характер морфологических проявлений полностью соответствуют физиологической беременности. Показатель площади терминальных ворсин был достоверно больше аналогичного показателя у некоренных жительниц в 1,8 раза ($p=0,016$). Выявлен наибольший показатель площади просвета сосудов плаценты у женщин коренной национальности II периода зрелого возраста ($458,75 \text{ мкм}^2$), а наименьший показатель площади сосудов плаценты наблюдался у группы некоренных жительниц II периода зрелого возраста ($110,68 \text{ мкм}^2$). При тождественных показателях количества сосудов в терминальных ворсинках определен низкий показатель сосудисто-стромального коэффициента терминальных ворсин плацент ($p=0,019$) у некоренных жительниц республики за счет увеличения стромального компонента ($p=0,03$), что свидетельствует о наличии относительной гиповаскуляризации. Это явление можно рассматривать как свидетельство адаптивной перестройки в плодном бассейне гемато-плацентарного барьера.

Литература References

1. Aylamazyan EK. Osnovnye problemy i prikladnoye znachenie ekologicheskoy reproduktologii. Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney. 2005;54(1):7-13. In Russian
2. Alekseeva VA, Gur'eva AB, Petrova PG. Antropometricheskaya kharakteristika zhenshchin evropeoidov (21-35 let) Yakutii po Tanneru. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2016;(2):85. In Russian
3. Koynosov PG, Chiryat'eva TV, Orlov SA. i dr. Vliyaniye individual'nykh osobennostey somatotipa na adaptatsionnyye vozmozhnosti organizma zhiteley Severa. Meditsinskaya nauka i obrazovanie Urala. 2014;15(1):64-66. In Russian
4. Gridin LA, Bogomolov AV, Kukshkin YuA. Metodologicheskie osnovy issledovaniya fizicheskoy rabotosposobnosti cheloveka. Aktual'nye problemy fizicheskoy podgotovki silovyykh struktur. 2011;(1):10-19. In Russian
5. Agadzhanian NA, Ermakova NV. Ekologicheskii portret cheloveka na Severe. Moskva: ERUK, 1997. 206s. In Russian
6. Lutsay ED. Razlichiya v raspolozhenii i morfometricheskaya kharakteristika krovenosnykh sosudov pupoviny. Morfologiya. 1999;116(5):68-71. In Russian
7. Khamoshina MB. Reproduktivnoye povedenie i kontratseptionnyy vybor devushek-podrostkov Primorskogo kraya. Akusherstvo i ginekologiya. 2005;(2):46. In Russian
8. Tsirel'nikov NI. Izmeneniya feto-platsentarnoy sistemy v Zapolyar'e. V kn.: Voprosy ekologii cheloveka v usloviyakh Kraynego Severa. Novosibirsk, 1979. S. 61-73. In Russian
9. Chernaya EE, Popov AD, Kasparova AE i dr. Beremennost' i adaptatsiya v usloviyakh subarkticheskogo regiona. Ekologiya cheloveka. 2018;(12):46-54. In Russian
10. Barinova IV. Patogenez i tanatogenez plodovyykh poter' pri antenatal'noy gipoksii. Diss. na soisk. uch. st. dokt. med. nauk. Moskva, 2015. 217s. In Russian
11. Gudkov AB, Popova AN, Lukmanova NB. Ekologo-fiziologicheskaya kharakteristika klimaticheskikh faktorov Severa: obzor literatury. Ekologiya cheloveka. 2012;(1):12-17. In Russian
12. Shumilov OI, Enikeev AV, Kasatkina EA, Khramov AV. O vozmozhnykh vliyaniyakh geliogeomagnitnykh faktorov na sistemu mat'-platsentoplod v polyarnyykh rayonakh. V kn.: Mater. mezhdunar. konf. «Okruzhayushchaya sreda i zdorov'e naseleniya». M., 2003. S. 447-449. In Russian
13. Sukhanov SG. Morfo-fiziologicheskie osobennosti endokrinnoy sistemy u zhiteley Evropeyskogo Severa. Arkhangel'sk: Izd-vo Arkticheskogo federal'nogo universiteta imeni M.V. Lomonosova, 1993. 108s. In Russian
14. Snodgrass JJ, Sorensen MV, Tarskaia LA, Leonard WR. Adaptive dimensions of health research among indigenous (Siberians). Am J Hum Biol. 2007;19(2):165-180
15. Snodgrass JJ, Leonard WR, Tarskaia LA. Basal metabolic rate in the (Yakut) (Sakha) of (Siberia). Am J Hum Biol. 2005;17(2):155-172
16. Salimova ZN, Kamilova MYa, Rakhmatulloeva DM, Gulakova DM. Gistologicheskaya kartina platsent i osobennosti ekspressii CD34+ v kletkakh endoteliiya sosudov khoriona beremennykh s anemiyey. Vestnik Avitsennyy. 2017;19(3):286-291. In Russian

17. Lutsenko MT. Vliyanie ekologicheskikh usloviy severa na reproduktivnyuyu funktsiyu mestnykh zhiteley. Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya. 2008;(29):56-59. In Russian
18. Romanova AA. Morfofunktsional'naya kharakteristika sosudistogo rusla platsent zhitel'nykh Kraynego Severa pri fiziologicheskom i patologicheskom techenii beremennosti. Avtoref. diss. na soisk. uch. st kand. med. nauk. Ekaterinburg, 2020. 144s. IN Russian
19. Milovanov AP, Shvetova YuP. Osobennosti stroeniya platsent pri neoslozhnennoy beremennosti zhenshin korennykh narodnostey Severa (khantry, mansy). V kn.: Tez. dokl. konf. «Morfofunktsional'noe sostoyanie sistemy «mat'-platsenta-plod-novorozhdennoy» v ekstremal'nykh usloviyakh. Frunze, 1987. S. 47-51. In Russian
20. Zakharova TG, Kashiga MA, Zakharov GN. Zavisimost' reproduktivnogo zdorov'ya zhenshin korennykh narodov Kraynego Severa ot uklada zhizni. Zemskiy vrach. 2012;(3):47-50. In Russian
21. Keneshbaev BK, Tulekeev TM, Sulaymanova RT, Khayrullin RM. Morfologiya platsenty kak indikator ekointoksikatsii sur'moy. Pod red. prof. R.M. Khayrullina. S-Pb: Izd-vo S-PbGETU «LETI», 2023. 138s. In Russian

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Фомина Валерия Симоновна, аспирант кафедры анатомии человека, Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Якутск, Россия; **e-mail: fomina.valeria.89@mail.ru**

Гармаева Дарима Кышектовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой анатомии человека, Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Якутск, Россия; **e-mail: dari66@mail.ru**

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Valeriya S. Fomina, Aspirantin of the Department of Human Anatomy, Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia; **e-mail: fomina.valeria.89@mail.ru**

Darima K. Garmaeva, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Human Anatomy, Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia; **e-mail: dari66@mail.ru**

СТРУКТУРА ПЕРЕДНЕГО ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ *SUS SCROFA DOMESTICUS* ПРИ КРИОФИКСАЦИИ

¹Хомякова Н.В., ²Колоскова Э.Л., ²Сидоров И.И.

¹Больница РЖД-Медицина города Брянск, ²Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория, Супонево, Россия, e-mail: khomyakova76@yandex.ru

Для цитирования:

Хомякова Н.В., Колоскова Э.Л., Сидоров И.И. Структура переднего эпителия роговицы *Sus scrofa domestica* при криофиксации. Морфологические ведомости. 2023;31(3):762. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).762](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).762)

Резюме. Классическая гистологическая картина переднего эпителия роговицы, известная по результатам стандартной гистологической техники и световой микроскопии препаратов химически фиксированного материала, описывает наличие трех клеточных слоев: базального – герминативного, среднего и поверхностного. На препаратах криофиксированного материала над клетками третьего слоя определяется еще один гомогенный слой, который принято идентифицировать как прекорнеальную слезную пленку, то есть слой жидкости. Анализ и сопоставление известных данных позволяют обозначить научную проблему, которая заключается в следующем. Структура гомогенного слоя ранее не изучалась, строение его неизвестно, следовательно, идентификация гомогенного слоя с прекорнеальной слезной пленкой не обоснована. Мы предполагаем, что гистологическая картина переднего эпителия на препаратах химически фиксированного материала является неполной, а гомогенный слой является структурным компонентом переднего эпителия. Цель исследования: изучить структуру переднего эпителия и гомогенного слоя на препаратах криофиксированного материала. Материал исследования - кадаверные глаза свиньи домашней (*Sus scrofa domestica*). Методы исследования - световая микроскопия. В результате исследования впервые установлено, что гомогенный слой является структурным компонентом переднего эпителия роговицы. Между гомогенным слоем и слоем плоских клеток переднего эпителия определяется еще один слой в виде микроскопически выявляемой тонкой полоски. С учетом установленного факта следует заключить, что передний эпителий роговицы состоит из пяти слоев. Клетки в слоях находятся в уплотненном состоянии, степень которого увеличивается от базальной мембраны к фронтальной поверхности эпителия, достигая максимума на уровне гомогенного слоя. Клетки поверхностного слоя безъядерные, заполнены оксифильной массой, предположительно кератином, что указывает на процесс ороговения эпителиоцитов. Результаты исследования подтвердили предположение о том, что гистологическая картина на препаратах химически фиксированного материала является неполной. Идентификация гомогенного слоя с прекорнеальной слезной пленкой безосновательна.

Ключевые слова: орган зрения, роговица, передний эпителий роговицы, криофиксация, свинья домашняя

Статья поступила в редакцию 02 декабря 2022

Статья принята к публикации 3 августа 2023

THE STRUCTURE OF THE ANTERIOR CORNEA EPITHELIUM OF THE *SUS SCROFA DOMESTICUS* AT THE CRYOFIXATION

¹Khomyakova NV, ²Koloskova EL, ²Sidorov II

¹Hospital Russian Railways-Medicine of the Bryansk City, Bryansk, ²Bryansk Branch of the Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Suponevo, Russia, e-mail: khomyakova76@yandex.ru

For the citation:

Khomyakova NV, Koloskova EL, Sidorov II. The structure of the anterior cornea epithelium of the *Sus scrofa domestica* at the cryofixation. Morphological Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):762. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).762](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).762)

Summary. The classic histological picture of the anterior corneal epithelium, known from the results of standard histological techniques and light microscopy of preparations of chemically fixed material, describes the presence of three cell layers: basal - germinative, middle and superficial. On preparations of cryofixed material, another homogeneous layer is identified above the cells of the third layer, which is usually identified as the precorneal tear film, that is, a layer of liquid. Analysis and comparison of known data allows us to identify a scientific problem, which is as follows. The structure of the homogeneous layer has not been previously studied, its structure is unknown, therefore, the identification of the homogeneous layer with the precorneal tear film is not justified. We assume that the histological picture of the anterior epithelium on preparations of chemically fixed material is incomplete, and the homogeneous layer is a structural component of the anterior epithelium. Purpose of the study: the structure of the anterior epithelium and homogeneous layer on preparations of cryofixed material. The material for the study was preparations of the eyes of the domestic pig *Sus scrofa domestica*, the research method was light microscopy. As a result of the study, it was established for the first time that the homogeneous layer is a structural component of the anterior corneal epithelium. Between the homogeneous layer and the layer of flat cells of the anterior epithelium, another layer is determined in the form of a microscopically detectable thin strip. Taking into account the established fact, it should be concluded that the anterior epithelium of the cornea consists of five layers. The cells in the layers are in a compacted state, the degree of which increases from the basement membrane to the frontal surface of the epithelium, reaching a maximum at the level of the homogeneous layer. The cells of the surface layer are anucleate, filled with an oxyphilic mass, presumably keratin, which indicates the process of keratinization of epithelial cells. The results of the study confirmed the assumption that the histological picture on preparations of chemically fixed material is incomplete. The identification of a homogeneous layer with the precorneal tear film is unfounded.

Keywords: organ of vision, cornea, anterior corneal epithelium, cryofixation, domestic pig

Article received 12 December 2022

Article accepted 3 August 2023

Введение. Передний эпителий (epithelium anterius) – эпителиальная ткань эктодермального происхождения – один из тканевых компонентов роговицы. Первое наиболее полное гистологическое описание переднего эпителия роговицы было дано Уильямом Боуменом (William Bowman, 1816-1892) в середине XIX века [1]. С этого времени классическая гистологическая картина переднего эпителия предусматривает наличие трех клеточных слоев: базального – герминативного, среднего и поверхностного, и, соответствующих им, трех типов эпителиальных клеток: базальных, полигональных (крыловидных) и плоских. Деление клеток на типы является условным, так как фактически в эпителии присутствует только один тип эпителиоцитов, а внешний вид клеток в слоях обусловлен стадией жизненного цикла [2-3]. Количество клеточных рядов переднего эпителия роговицы человека – 5-7. По данным электронной микроскопии апикальная часть плоских клеток поверхностного ряда покрыта мириадами микроворсин высотой 1-2 мкм [4-7]. Известно, что многослойный плоский эпителий роговицы экспрессирует подгруппу кератинов сходных с таковыми в эпидермальном эпителии, но ороговения клеток третьего слоя не происходит [2-3, 7-9]. На основании известного описания передний эпителий относят к многослойным плоским неороговевающим эпителиям (epithelium stratificatum squamosum noncornificatum).

Доказано морфологическое единообразие переднего эпителия роговицы человека и млекопитающих (обезьяны, свиньи, кошки, коровы, кролика, морской свинки, крысы, мыши, тюленя, кита, кашалота и морской свиньи). Количество рядов эпителиальных клеток варьирует от 3-5 у мыши до 12-18 у голубого кита [2]. Этот факт позволяет использовать глаза животных в качестве модели для клинических и экспериментальных исследований. Анализ научных данных более чем за столетний период позволяет сделать вывод о том, что трехслойная структура переднего эпителия роговицы специфична только для препаратов химически фиксированного материала. На препаратах криофиксированного материала над клетками тре-

тьего слоя определяется еще один – гомогенный слой, который принято идентифицировать как прекорнеальную слезную пленку [10-11]. Гомогенный слой в виде хлопьевидного материала на поверхности эпителия (т.н. the delicate flocculent layer on the surface of the epithelium) ранее был обнаружен и на некоторых препаратах, приготовленных для электронной микроскопии [4].

Важно обратить внимание на то, что представление о прекорнеальной слезной пленке, как слое жидкости, сложилось задолго до микроскопической визуализации гомогенного слоя. Структура прекорнеальной слезной пленки, основанная на наблюдении глазной поверхности и компонентном составе слезной жидкости, всегда рассматривалась во взаимосвязи с трехслойной структурой переднего эпителия роговицы. И в настоящее время прекорнеальной слезной пленкой (precorneal tear film) в научной литературе обозначают слой жидкости на поверхности роговицы, состоящий из трех компонентов: водного, муцинового (слизистого) и липидного. Муциновый компонент вырабатывают бокаловидные клетки конъюнктивы, крипты Генле и железы Манца. Водный компонент, то есть слезу (lacrimam), вырабатывают дополнительные железы конъюнктивы Краузе и Волффринга. Липидный компонент – смесь секретов сальных (мейбомиевых и Цейса) и потовых желез Молля. Формирование прекорнеальной слезной пленки связывают с функцией век. Полностью заполняя капиллярную щель между стенками конъюнктивального мешка, слезная жидкость каждые 7-10 секунд равномерно распределяется веками по поверхности роговицы, после чего начинается ее испарение. С каждым новым миганием цикл повторяется. Полагают, что в отношении переднего эпителия роговицы прекорнеальная слезная пленка выполняет защитную, метаболическую и светопреломляющую функции [12-15].

Следуя существующим представлениям о прекорнеальной слезной пленке Chen с соавт. (1997) поставили цель зафиксировать циклично формирующийся слой жидкости. Для этого они использовали ме-

тод криофиксации *in vivo* с замещением замораживанием (так называемый метод VC-FS, то есть «*in vivo cryofixation with freeze substitution*»). Под инсталляционной анестезией роговицу животного фиксировали смесью изопентана-пропана охлажденную жидким азотом, затем выполняли энуклеацию, помещали глаз в жидкий азот, после чего следовала биотомия и стандартная процедура приготовления препаратов. Методом световой и электронной микроскопии авторы визуализировали гомогенный слой толщиной 2-6 мкм над клетками переднего эпителия роговицы, который идентифицировали как слезную пленку (the tear film as a layer of homogeneous and fine network-like structure on the corneal surface). Гомогенный слой не исследовали, его удалили, применив 10-20% раствор ацетилцистеина [16].

Все приведенные выше данные являются общепризнанными. Они положены в основу концепции об анатомо-физиологическом взаимодействии многослойного плоского неороговевающего эпителия, покрытого мириадами микроворсин, с прекорнеальной слезной пленкой. Тем не менее, анализ и сопоставление известных данных позволяют обозначить дискуссионный вопрос, который заключается в следующем. Структура гомогенного слоя не изучалась, строение его неизвестно, следовательно, идентификация гомогенного слоя с прекорнеальной слезной пленкой не обоснована. Как следствие, существующая концепция содержит в себе множество противоречий, главным из которых является несоответствие структуры переднего эпителия роговицы его основным функциям - оптической и барьерной. Во-первых, рельеф фронтальной поверхности переднего эпителия с мириадами подвижных микроворсин на апикальной части поверхностных клеток не соответствует понятию оптической поверхности. Во-вторых, морфология поверхностных клеток не согласуется с барьерными функциями переднего эпителия [17]. Функцией микроворсин (microvilli) является увеличение площади всасывающей поверхности, а их подвижность за счет актиновых микрофиламентов предполагает наличие системы транспорта, что соотно-

сится с функцией клиренса и характерно для железистых эпителиев, но не покровных, к числу которых относится многослойный плоский эпителий роговицы. В-третьих, слезная пленка, в понимании ее как слоя жидкости на поверхности роговицы, не может быть отнесена ни к одной из известных групп тканей, а, следовательно, не может наделяться функциями тканей - защитной (барьерной) и метаболической (трофической).

Выявленные противоречия существующих представлений, дали нам основание предположить, что гистологическая картина переднего эпителия на препаратах химически фиксированного материала является неполной. Гомогенный слой может быть структурным компонентом переднего эпителия и может быть подробно исследован на препаратах криофиксированного материала.

Цель исследования: определить структуру переднего эпителия роговицы на гистологических препаратах криофиксированного материала.

Материалы и методы исследования. В качестве модели *ex vivo* использованы глаза свиньи домашней (вида свинья домашняя/*Sus domesticus*/ *Sus scrofa domesticus*), на основании анатомического и гистологического сходства ее роговицы с роговицей человека, включая гистологию переднего эпителия (количество рядов клеток 6-9) и анатомию слезных желез [17-20]. При выборе вида животного учитывался тот факт, что именно свиная роговица в настоящее время рассматривается в качестве каркаса для тканевой инженерии роговицы и в качестве ксеногенного субстрата для трансплантации роговицы [21-22]. Следовательно, результаты исследований могут пополнить базу данных по изучаемой проблеме. Глаза *Sus domesticus* получены на ферме крестьянского хозяйства через 30 минут после убоя здоровых животных для мясопереработки, то есть животные не были специально принесены в жертву для исследований. Глаза помещали в контейнер на влажный ватный диск, поверхность роговицы однократно увлажняли препаратом искусственной слезы. В течение двух часов материал транспортировали в гистологическую лабораторию.

Требованием к исследуемому материалу было сохранение его витальных характеристик. На момент криофиксации роговица глаза должна была быть визуально прозрачной, гладкой, зеркальной. В тоже время, условия получения материала исследования исключали возможность образования прекорнеальной слезной пленки.

Для криофиксации и биотомии глазного яблока использовали криостат-микротом CM 2850, Hestion Scientific Pty Ltd (Австралия). Криофиксацию выполняли при температуре $-21-23^{\circ}\text{C}$ до равномерного замораживания глазного яблока. Биотомию толщиной 5-7 мкм проводилась в вертикальной плоскости относительно положения глаза в орбите. Сагиттальные срезы помещали на предметное стекло. Для исследования переднего эпителия роговицы использовали микроскоп Nikon 4550S с цифровой специализированной камерой DS-Fi2 и блоком автономного управления Nikon DS-L3. Выбор и порядок применения отдельных приемов гистотехники преследовал одну цель - минимизировать воздействие на передний эпителий роговицы для максимального сохранения его структуры. В экспериментальных целях применяли 4% раствор натрия гидрокарбоната (NaHCO_3), меняющий кислотность внутриклеточной среды и приводящий к увеличению объема клеток переднего эпителия. Раствор гидроксида натрия (NaOH), способный изменять структуру кератина и растворять его, использовался для проверки предположения о наличии кератина в поверхностных клетках переднего эпителия [23]. Следуя поставленным целям, эмпирическим путем была подобрана 0,04N концентрация раствора NaOH для обработки поверхности роговицы. Окраску срезов проводили путем нанесения нескольких капель красителя на его поверхность с экспозицией 3-5 минут, после чего осторожно смывали краситель физиологическим раствором. Применяли растворы красителя-фиксатора эозина-метиленового синего по Май-Грюнвальду, гематоксилина и эозина. Исследовали свежеекрасшенные (влажные) срезы на временных препаратах. Воздействие на срезы спиртами, ксилолом, толуолом исключалось. В качестве кон-

трольного образца был приготовлен препарат сагиттального среза роговицы *Sus scrofa domestica* в обычной последовательности, фиксацией формалином, заливкой в парафин, окраской гематоксилином и эозином.

Результаты исследования и обсуждение. На контрольном препарате переднего эпителия определено три слоя клеток. Базальный слой – один ряд столбчатых клеток, средний слой – четыре ряда клеток крыловидной формы, поверхностный слой – пять рядов плоских клеток с ядрами палочковидной формы, ориентированными параллельно поверхности клеточного пласта. Общее количество рядов эпителиальных клеток на препарате химически фиксированного материала – десять (рис. 1). Исследование переднего эпителия на препаратах криофиксированного материала начинали с обзорной микроскопии неокрашенного препарата. На препарате сагиттального среза роговицы определяется строма, базальная мембрана и клетки переднего эпителия. Естественную завершенность архитектоники переднего эпителия придает поверхностно расположенный однородный слой с четкими границами в виде оптически плотных линий. Внутренняя граница слоя неровная, внешняя – идеально ровная. Содержимое слоя прозрачно (рис. 2). Мы обозначили оптически однородный слой как гомогенный (по его первоначальному виду).

На препарате сагиттального криостатного среза роговицы, окрашенного красителем-фиксатором эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду, визуализировано три слоя клеток и гомогенный компонент на их поверхности. Первый – базальный слой, состоит из одного ряда клеток, прилежащих основанием к базальной мембране. Второй слой формируют три ряда клеток овальной формы с крупными ядрами и неровными границами. Третий слой формируют четыре ряда плоских по форме клеток с палочковидными ядрами, ориентированными параллельно фронтальной поверхности эпителия. Следующий компонент в виде однородного слоя имеет четкие внешнюю и внутреннюю границы. Внутренняя граница гомогенного слоя определяется как

тонкая полоска ткани, окрашенная в насыщенный синий цвет. На фоне гомогенного слоя с неопределенной регулярностью расположены неравномерно окрашенные объекты овальной формы, что указывает на относительную неоднородность внутри слоя. Таким образом, на

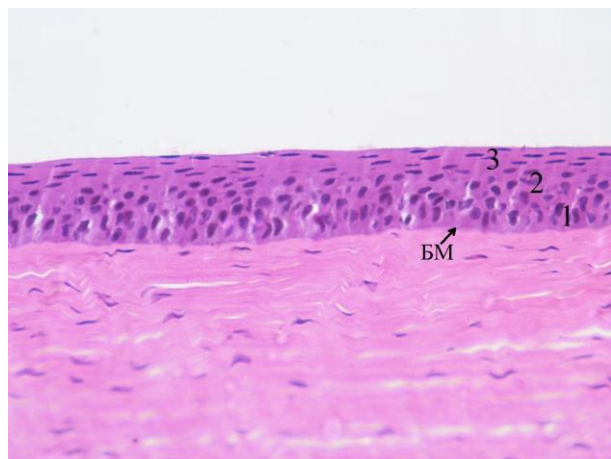


Рис. 1. Микрофото препарата переднего эпителия роговицы глаза домашней свиньи. Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – базальный слой, 2 – средний слой полигональных (крыловидных) клеток, 3 – поверхностный слой плоских неороговевающих клеток. Фиксация формалином. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: x400

После воздействия на срез ткани 4% раствором NaHCO_3 , микроскопическая картина переднего эпителия роговицы изменяется. Толщина переднего эпителия увеличивается, исчезает внутренняя граница гомогенного слоя, он трансформируется в ряды плоских клеток, в структуре переднего эпителия появляются ряды клеток с зернистостью в цитоплазме. Поверхность эпителия остается идеально ровной (рис.4). При микроскопии препарата на большем увеличении (x1000) определяется выраженный вертикальный полиморфизм клеток, отличающихся по форме, состоянию ядра и цитоплазмы, типу межклеточных контактов. Клетки базального ряда имеют столбчатую форму, их ядра ориентированы перпендикулярно базальной мембране и немного смещены в апикальную часть клеток. Над базальными клетками видны четыре ряда клеток овальной формы с равномерно окрашенным ядром

препарате криофиксированного материала можно различить пять слоев: ранее известные три слоя клеток, тонкую полоску ткани, которая интенсивно окрашивается в синий цвет и гомогенный слой над ней (рис. 3).

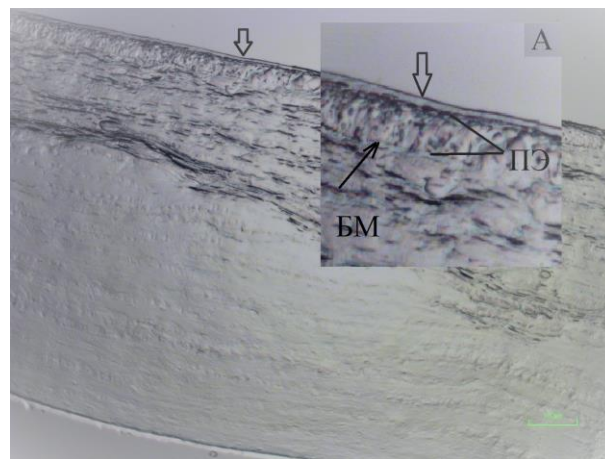


Рис. 2. Микрофото препарата сагиттального среза роговицы глаза домашней свиньи. Обозначения: А - увеличенный фрагмент микроскопического изображения, БМ - базальная мембрана переднего эпителия, ПЭ - клетки переднего эпителия, стрелка указывает на оптически прозрачный гомогенный слой. Криофиксация. Нативный препарат. Ув.: x100

и цитоплазмой, мембраны клеток окрашиваются неравномерно. Над ними определяются три ряда клеток в форме горизонтально ориентированных овалов с пикнотическим ядром и выраженной базофильной зернистостью в цитоплазме. Мембраны клеток прокрашиваются более интенсивно, между клетками видны щелевидные пространства. Непосредственно над слоем клеток с базофильной зернистостью определяется один ряд безъядерных клеток с неокрашенной цитоплазмой. Поверхностные ряды переднего эпителия состоят из уплотненных клеток с плотной плазмолеммой, в большинстве своем безъядерных. Клетки плотно прилегают друг к другу, мембраны соседних клеток сливаются, их общее число рядов на криофиксированных препаратах составляет 19, что на 9(!) рядов больше, чем на препаратах химически фиксированного материала.

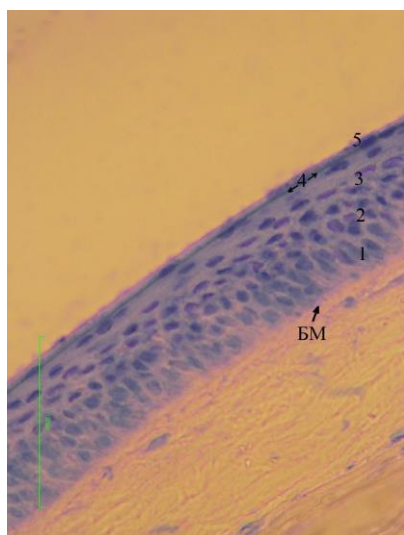


Рис. 3. Микрофото переднего эпителия рога свиньи. Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – базальный слой, 2 – средний слой полигональных клеток, 3 – слой плоских клеток, 4 – полоска ткани, интенсивно окрашенная в синий цвет, 5 – гомогенный слой. Криофиксация. Окр. эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду. Ув.: x400

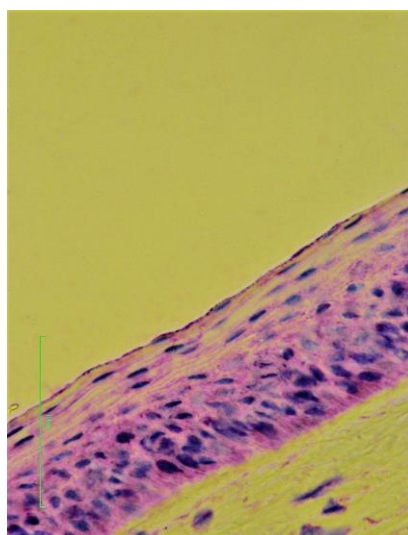


Рис. 4. Микрофото переднего эпителия рога свиньи. Расслоение клеточных слоев рога свиньи 4% раствором натрия гидрокарбоната (NaHCO_3). Криофиксация. Окр. эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду. Ув.: x400

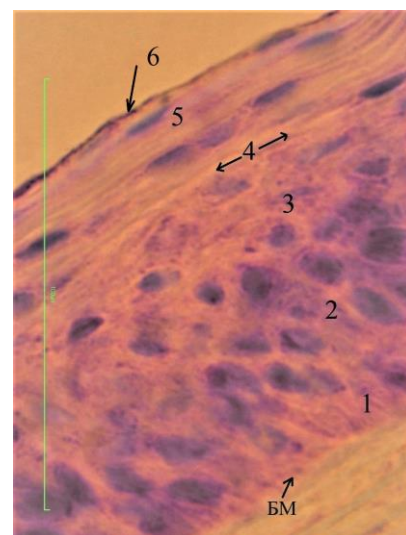


Рис. 5. Микрофото переднего эпителия рога свиньи (то же, что и на рис. 4). Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – ряд базальных клеток, 2 – шиповатые клетки, 3 – зернистые клетки, 4 – ряд неокрашивающихся клеток, 5 – плоские безъядерные клетки, 6 – не клеточный компонент. Криофиксация. Окр. эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду. Ув.: x1000

Над клетками пятого слоя определяется очень тонкий не клеточный компонент, неравномерно поглощающий метиленовый синий (рис. 5).

На препарате сагиттального среза рога свиньи, окрашенного гематоксилином и эозином, также видны пять слоев. Первый – слой базальных клеток, второй – слой полигональных клеток, третий – слой плоских клеток, четвертый слой – интенсивно окрашенная тонкая полоска ткани, пятый – гомогенный слой. Поверхность переднего эпителия идеально ровная (рис. 6). Нанесение 0,04N раствора NaOH касательно к поверхности гомогенного слоя вызывает набухание содержимого поверхностных клеток, изменение контура поверхности, появление выпуклой деформации. В поверхностном слое переднего эпителия визуализируются плотно прилежащие друг к другу безъядерные клетки, заполненные однородной оксифильной массой с мелкими гранулами базофильного вещества в центре (рис. 7). Однородная оксифильная масса, заполняющая клетки пятого слоя, изменяет свой объем под дей-

ствием 0,04N раствора NaOH, что косвенно указывает на присутствие кератина. На препарате с расслоением под рядами безъядерных клеток определяются клетки округлой формы с признаками пикноза, неплотными контактами по типу десмосом. Обобщая полученные результаты можно сделать вывод о том, что передний эпителий рога свиньи *Sus scrofa domestica* состоит из пяти клеточных слоев. Общее количество клеточных рядов на препаратах криофиксированного материала почти вдвое превышает количество рядов на препаратах химически фиксированного материала. Ряды клеток в слоях переднего эпителия находятся в уплотненном (сжатом) состоянии. Степень уплотнения постепенно увеличивается по направлению от базальной мембраны к фронтальной поверхности эпителия, достигая максимума на уровне гомогенного слоя. Клетки в слоях отличаются по форме, состоянию ядра и типу межклеточных контактов. Клетки пятого слоя безъядерные, заполнены оксифильной массой, предположительно кератином. На поверхности перед-

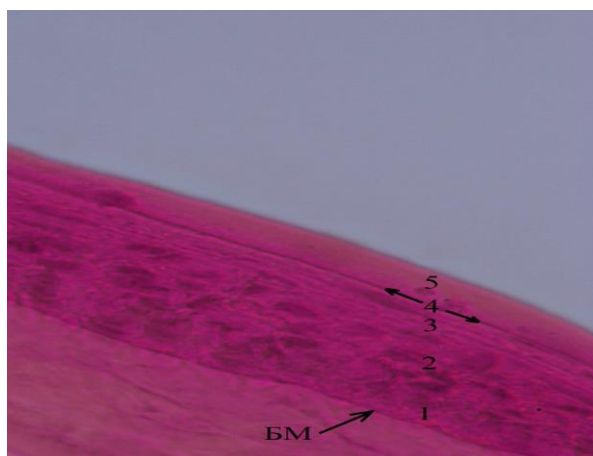


Рис. 6. Микрофото переднего эпителия роговицы домашней свиньи. Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – базальный слой, 2 – средний слой полигональных клеток, 3 – слой плоских клеток, 4 – тонкая полоска ткани, 5 – гомогенный слой. Кривофиксация. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: $\times 400$

него эпителия определяется мембраноподобный неклеточный компонент, интенсивно поглощающий метиленовый синий.

Заключение. Таким образом, согласно существующим представлениям, передний эпителий роговицы человека и животных состоит из трех слоев клеток. Однако эти представления основаны исключительно на данных микроскопии препаратов химически фиксированного материала. На препаратах криофиксированного материала определяется четвертый, гомогенный слой, который принято идентифицировать с прекорнеальной слезной пленкой – метастабильным слоем жидкости, циклично формирующимся на поверхности роговицы каждые 7-10 секунд. Мы исследовали передний эпителий роговицы кадаверных глаз *Sus scrofa domestica*, фиксированных в криостате, как минимум, через 2,5 часа после энуклеации. Эти условия исключают присутствие прекорнеальной слезной пленки. Установлено, что передний эпителий роговицы состоит из пяти слоев. Ряды клеток в слоях находятся в уплотненном (сжатом) состоянии, степень уплотнения постепенно увеличивается по направлению от базальной мембраны к фронтальной поверхности эпителия, достигая максимума на уровне гомогенного слоя. Для визуализации

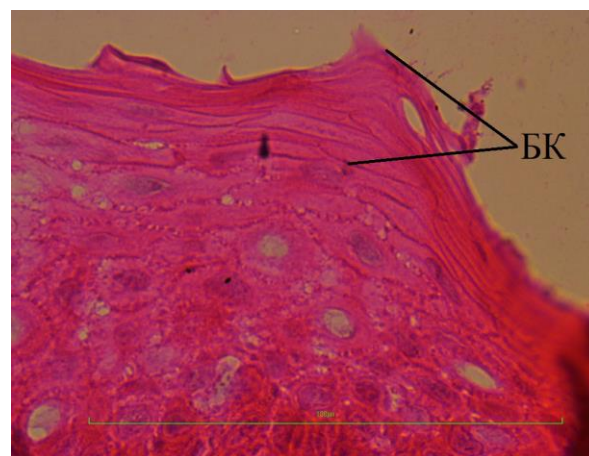


Рис. 7. Микрофото переднего эпителия роговицы домашней свиньи при обработке поверхности роговицы раствором 0,04N NaOH. Обозначения: БК – ряды безъядерных клеток Кривофиксация. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: $\times 1000$

клеточных рядов гомогенного слоя необходимо было создать условия для набухания клеток. Мы использовали раствор NaHCO_3 в физиологической концентрации 4%. Клетки поверхностных рядов увеличивались в объеме, контур поверхности эпителия не изменялся. Над клетками пятого слоя определяется очень тонкий неклеточный компонент, неравномерно поглощающий метиленовый синий. Для проверки предположения о наличии кератина в поверхностных клетках переднего эпителия применяли 0,04N раствор NaOH. Содержимое клеток поверхностных рядов увеличивалось в объеме, контур поверхности эпителия изменялся, появлялись выпуклые деформации и неровности поверхности эпителия. Увеличение объема клеток гомогенного слоя позволило визуализировать их содержимое, эти клетки безъядерные, заполнены оксифильной массой, предположительно кератином. Результаты исследований подтвердили предположение о том, что гистологическая картина на препаратах химически фиксированного материала является неполной и показывают, что идентификация гомогенного слоя над третьим слоем клеток переднего эпителия с прекорнеальной слезной пленкой, то есть со слоем жидкости, безосновательна.

Литература References

1. Metz A. *The Anatomy and Histology of the Human Eye*. Philadelphia, 1868. URL: <https://archive.org/details/anatomyhistology00metzuoft>
2. Ehlers N. Morphology and histochemistry of the corneal epithelium of mammals. *Cells Tissues Organs*. 1970;75(2):161–198. DOI:10.1159/000143448
3. Bülow N, Ehlers N. Morphology and dopa reaction of cultivated corneal epithelial cells. *Acta Ophthalmologica*. 2009;46(4):749–56. DOI:10.1111/j.1755-3768.1968.tb02873.x
4. McTigue JW. The human cornea: a light and electron microscopic study of the normal cornea and its alterations in various dystrophies. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1967;65:591–660. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4170533>
5. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(3):588–598. DOI:10.1016/j.jcrs.2010.12.037
6. Mannis MJ, Holland EJ, et al. *Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management*, 4th ed. New York: Elsevier, 2017. – 2016pp
7. Pfister RR. The normal surface of corneal epithelium: a scanning electron microscopic study. *Invest Ophthalmol*. 1973;12:654–668. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4582462/>
8. Pearton DJ, Ferraris C, Dhauailly D. Transdifferentiation of corneal epithelium: Evidence for a linkage between the segregation of epidermal stem cells and the induction of hair follicles during embryogenesis. *Intern J of Dev Biol*. 2004;48(2-3):197–201. DOI:10.1387/ijdb.1527238510.1387/ijdb.15272385
9. Kao WW. Keratin expression by corneal and limbal stem cells during development. *Exp Eye Res*. 2020;200:108206. DOI:10.1016/j.exer.2020.108206
10. Chen HB, Yamabayashi S, Ou B, et al. Ultrastructural studies on the corneal superficial epithelium of rats by in vivo cryofixation with freeze substitution. *Ophthalmic Res*. 1995;27:286–295. DOI:10.1159/000267738.
11. Chen HB, Ou B, Yamabayashi S, et al. Ultrastructural study on rat precorneal tear film by the quick freezing freeze-substitution method. *J Jpn Ophthalmol Soc*. 1996;100:453–457. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8712077/>
12. Mishima S. Some Physiological Aspects of the Precorneal Tear Film. *Arch of Ophthalmol*. 1965;73(2):233–241. DOI:10.1001/archophth.1965.00970030235017
13. Lemp M. The Precorneal Tear Film. *Archives of Ophthalmology*. 1970;83(1):89. DOI:10.1001/archophth.1970.00990030091017
14. Lemp MA. Perspective Advances in Understanding and Managing Dry Eye Disease. *Am J of Ophthalmol*. 2008;146(3):350–356. DOI:10.1016/j.ajo.2008.05.016
15. Lee WB, Holland EJ, Mannis MJ. *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*. New-York: Elsevier Health Sciences. 2013. 472 pp. DOI:10.1016/B978-1-4557-2876-3.00001-8
16. Chen HB, Yamabayashi S, Ou B, et al. Structure and composition of rat precorneal tear film. A study by an in vivo cryofixation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Scien*. 1997;38:381–387. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9040471/>
17. Camber O, Rehinder C, Nikkila T, et al. Morphology of the pig cornea in normal conditions and after incubation in a perfusion apparatus. *Acta Vet Scand*. 1987;28(2):127–134. DOI: 10.1186/BF03548232
18. Barros RC, Van Kooten TG, Veeregouda DH. Investigation of Friction-induced Damage to the Pig Cornea. *The Ocular Surface*. 2015;13(4):315–320. DOI:10.1016/j.jtos.2015.05.004
19. Abhari S, Eisenback M, Kaplan HJ, et al. Anatomic Studies of the Miniature Swine Cornea. *Anat Rec (Hoboken)*. 2018 Nov;301(11):1955–1967. DOI: 10.1002/ar.23890
20. Hammond GM, Young RD, Muir DD, et al. The microanatomy of Bowman's layer in the cornea of the pig: Changes in collagen fibril architecture at the corneoscleral limbus. *Eur J of Anat*. 2020;24(5):399–406. URL: <http://www.eurjanat.com/web/paper.php?id=200195gh>
21. Oh JY, Kim MK, Lee HJ, et al. Processing porcine cornea for biomedical applications. *Tissue Eng Part C Methods*. 2009 Dec;15(4):635–645. DOI: 10.1089/ten
22. Yoeuruek E, Bayyoud T, Maurus C, et al. Decellularization of porcine corneas and repopulation with human corneal cells for tissue-engineered xenografts. *Acta Ophthalmol*. 2012 Mar;90(2):e125–131. DOI:10.1111/j.1755-3768.2011.02261.x
23. Christophers E, Kligman AM. Visualization of the cell layers of the stratum corneum. *J Invest Dermatol*. 1964;42:407–409

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Хомякова Наталья Васильевна, кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, Частное учреждение здравоохранения Больница РЖД-Медицина города Брянск, Брянск, Россия; e-mail: khomyakova76@yandex.ru

Колоскова Элеонора Леонидовна, кандидат ветеринарных наук, ведущий ветеринарный врач сектора серологии и лептоспироза, Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория, Брянск, Россия; e-mail: eleonora.koloskova@yandex.ru

Сидоров Иван Иванович, кандидат биологических наук, заместитель директора, Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория, Брянск, Россия; e-mail: bmvl32@yandex.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Natal'ya V. Khomyakova, Private healthcare Institution the Hospital Russian Railways-Medicine of the Bryansk City, Bryansk, Russia; e-mail: khomyakova76@yandex.ru

Eleonora L. Koloskova, Candidate of Veterinary Sciences, Leading Veterinarian of the Serology and Leptospirosis Sector Bryansk Branch of the Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Suponevo, Russia; e-mail: eleonora.koloskova@yandex.ru

Ivan I. Sidorov, Candidate of Biological Sciences, Deputy Director, Bryansk Branch of the Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Suponevo, Bryansk, Russia; e-mail: bmvl32@yandex.ru

ЭКСПОЗИЦИЯ АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ОГНЕСТРЕЛЬНЫХ РАНЕНИЙ ВЕЛИКОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВОЙНЫ КАК УЧЕБНО-МАТЕРИАЛЬНАЯ БАЗА ОБУЧЕНИЯ ВОЕННЫХ ВРАЧЕЙ

Пащенко П.С., Гайворонский И.В., Фандеева О.М., Хрусталева Ю.А.,
Соловьев К.В.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: osteolog_oxana@mail.ru

Для цитирования:

Пащенко П.С., Гайворонский И.В., Фандеева О.М., Хрусталева Ю.А., Соловьев К.В. Экспозиция анатомических препаратов огнестрельных ранений Великой отечественной войны как учебно-материальная база обучения военных врачей. Морфологические ведомости. 2023;31(3):840. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).840](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).840)

Резюме. В начальный период Великой отечественной войны одной из причин значительных санитарных потерь была недостаточная укомплектованность подразделений армии опытными военно-медицинскими специалистами. Срочно мобилизованные в первые дни войны гражданские врачи не имели достаточных знаний в области военно-полевой хирургии. Возникла необходимость обобщения опыта, приобретенного войсковыми врачами при оказании помощи на этапах медицинской эвакуации, а также военно-полевыми хирургами, проводившими хирургические вмешательства в медсанбатах и госпиталях. Для изучения морфологии огнестрельных ран различных частей тела и органов необходимо было создать оснащенную учебно-материальную базу, включающую препараты с ранениями всех частей тела и органов. Для их изучения приказом главного военно-санитарного управления армии были созданы передвижные патологоанатомические лаборатории, сотрудники которых собрали и документально оформили большую коллекцию патологоанатомических препаратов, переданную в Военно-медицинский музей в Санкт-Петербурге. После окончания войны в течение нескольких десятилетий значительная часть экспонатов потеряли свои демонстрационные качества, а отдельные экспонаты пришли в негодность. В 1988 году, благодаря усилиям профессора И.В. Гайворонского, эти экспонаты были переданы кафедре нормальной анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, где под руководством профессора П.С. Пащенко отреставрированы по специально разработанному методу. Сущность метода заключалась в нескольких, последовательно проводимых этапах восстановления препаратов. На первом этапе производилось механическое ручное очищение препаратов от плесени, удаление истлевших и оторвавшихся фрагментов и придание им надлежащей для демонстрации формы. На следующем этапе проводилось тщательное отмывание с последующим отбеливанием препаратов в растворах перекиси водорода различных концентраций и специальных растворах. К 1990 г. была создана специальная «Экспозиция огнестрельных ранений», являющаяся частью фундаментального анатомического музея кафедры. В настоящее время материалы этой экспозиции используются как уникальный наглядный материал в процессе обучения и воспитания военных врачей.

Ключевые слова: анатомический музей, история медицины, огнестрельные ранения, Великая отечественная война, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова

Статья поступила в редакцию 17 августа 2023

Статья принята к публикации 17 ноября 2023

THE EXPOSITION OF THE GREAT FATHERLAND WAR GUNSHOT WOUNDS ANATOMICAL PREPARATIONS AS A LEARNING AND MATERIAL BASE FOR MILITARY DOCTORS TRAINING Pashchenko PS, Guyvoronsky IV, Fandeeva OM, Khrustalyova YA, Solovyov KV

Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia, e-mail: osteolog_oxana@mail.ru

For the citation:

Pashchenko PS, Guyvoronsky IV, Fandeeva OM, Khrustalyova YA, Solovyov KV. The exposition of the Great fatherland war gunshot wounds anatomical preparations as a learning and material base for military doctors training. Morfologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):840. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).840](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).840)

Summary. In the initial period of the Great fatherland war, one of the reasons for significant sanitary losses was the insufficient staffing of army units with experienced military medical specialists. Civilian doctors urgently mobilized in the first days of the war did not have sufficient knowledge in the field of military field surgery. There was a need to generalize the experience acquired by military doctors when providing assistance at the stages of medical evacuation, as well as by military field surgeons who performed surgical interventions in medical battalions and hospitals. To study the morphology of gunshot wounds of various parts of the body and organs, it was necessary to create an equipped educational and material base, including preparations with wounds of almost all parts of the body and organs. To study them, by order of the main military sanitary department of the army, mobile pathological anatomical laboratories were created, whose employees collected and documented a large collection of pathological anatomical preparations, which were transferred to the Military Medical Museum in St. Petersburg. After the end of the war, for several decades, a significant part of the exhibits lost their demonstration qualities, and some exhibits fell into disrepair. In 1988, thanks to the efforts of Professor Ivan Guyvoronsky, these exhibits were transferred to the Department of Normal Anatomy of the Kirov Military Medical Academy, where under the guidance of Professor Pavel Pashchenko were restored using a specially developed method. The essence of the method consisted in several sequential stages of drug recovery. At the first stage, mechanical manual cleaning of the preparations from mold was carried out, removing decayed and torn fragments and giving it the proper form for display. At the next stage, thorough washing was carried out, followed by bleaching of the preparations in solutions of hydrogen peroxide of various concentrations and special solutions. By 1990, a special "Exhibition of Gunshot Wounds" was created, which is part of the fundamental anatomical museum of the department. Currently, the materials from this exhibition are used as unique visual material in the process of training and educating military doctors.

Keywords: anatomical museum, history of medicine, gunshot wounds, the Great fatherland war, Kirov Military Medical Academy

Article received 17 August 2023

Article accepted 17 November 2023

Исторически сложившаяся система медицинского образования в России основывается на прочном фундаменте теоретических дисциплин, среди которых особое место отводится анатомии. Изучение анатомии всегда имело практическую направленность и основывалось на приготовлении и демонстрации анатомических препаратов [1]. Так, при Петре I в Москве была сформирована первая госпитальная школа при госпитале, руководителем которой был доктор медицины, друг императора, голландец Николай Бидлоо, закончивший Лейденский университет и приглашенный Петром I в Россию. В школе Николая Бидлоо проводились вскрытия трупов, демонстрировались анатомические препараты, в анатомическом театре самостоятельно отрабатывались методики проведения операций. После 1735 года центр медицинского образования переместился в Санкт-Петербург, где при каждом из трех госпиталей (Адмиралтейском, Сухопутном, а также Кронштадтском-морском) были учреждены госпитальные школы – хирургические училища. В них проводилась подготовка лекарей для армии и флота, способных к самостоятельной хирургической деятельности.

Поскольку подготовка лекарей (а позже врачей) осуществлялась для оказания медицинской помощи раненым, то в анатомических музеях, где учащиеся обучались хирургии, кроме препаратов из неповрежденных органов, демонстрировалось разное количество травмированных частей тела, особенно головы, что давало возможность их использования в учебном процессе. При этом характер ран соответствовал особенностям повреждающих факторов. Наряду с огнестрельными встречались рубленые, колотые повреждения и проломы в костях свода черепа. Как показывает история самыми кровопролитными были войны XIX, и особенно XX века, в которых применялись огнестрельные поражающие средства больших мощностей. Так, например, во вторую мировую войну нашли широкое распространение новейшие или модернизированные виды вооружений, такие как автоматическое оружие, стали применяться новые калибры артиллерийских снарядов боль-

шой разрушающей мощности. Следует отметить, что в период Великой Отечественной войны преобладали пулевые, осколочные, а также сочетанные повреждения. Применение противником необычных средств поражения приводило к образованию сложных по форме и топографии раневых каналов. Это требовало разработки новых подходов к ревизии ран, их первичной хирургической обработке и дальнейшему лечению [5]. Кроме того, нахождение военнослужащих в условиях сырых окопов, а также мокрая обувь и переохлаждение способствовали развитию так называемой «окопной стопы», что было особенно характерным для фронтов, дислоцированных в районах Северо-Западного региона (Карельского, Волховского, Ленинградского). Тяжелые ранения различных частей тела, гангрена нижних конечностей выводили из строя тысячи бойцов и командиров. Одной из причин значительных санитарных потерь была недостаточная укомплектованность подразделений армии опытными военно-медицинскими кадрами. Срочно мобилизованные в первые дни войны гражданские врачи не имели достаточных знаний в области военно-полевой хирургии. Возникла необходимость обобщения опыта, приобретенного войсковыми врачами при оказании помощи на этапах медицинской эвакуации, а также военно-полевыми хирургами, проводившими хирургические вмешательства в медико-санитарных батальонах и госпиталях. Для изучения анатомии огнестрельных ран различных частей тела и органов необходимо было создать мощную учебно-материальную базу, включающую анатомические препараты с ранениями всех частей тела и органов человека.

Для этих целей начальником главного военно-санитарного управления Рабоче-крестьянской Красной армии были изданы директивы № 402 и № 403 от 12 сентября 1942 г. «...о создании патологической коллекции препаратов». Для выполнения этого распоряжения создавались специальные передвижные патологоанатомические лаборатории, которые размещались непосредственно в зоне действий Северо-Западного, Волховского, Ленин-

градского и других фронтов. Особая роль в организации этой работы принадлежала главному патологоанатому Донского фронта профессору Александру Александровичу Васильеву, а также главному патологоанатому Советской армии в период 1941-1945 гг. профессору Михаилу Федоровичу Глазунову.

Сотрудниками этих лабораторий производился отбор патологоанатомического материала, представляющего собой фрагменты различных частей тела и отдельные органы погибших, преимущественно с огнестрельными пулевыми и осколочными ранениями. Из полученного материала были изготовлены влажные препараты, которые помещались в стеклянные банки с бальзамирующим раствором. Отдельная экспозиция была представлена костными препаратами, демонстрирующими последствия огнестрельных повреждений. Все препараты подвергались детальному описанию, а также рентгенографическому и микроскопическому исследованиям. Эта коллекция создавалась на протяжении всей войны и после ее окончания была размещена в Военно-медицинском музее Министерства обороны Советского Союза, где и находилась на протяжении более 40 лет до 1988 г.

Судьба коллекции в Военно-медицинском музее оказалась непростой. К сожалению, особенно в последние годы нахождения в музее, ей уделялось недостаточно внимания для поддержания экспонатов в надлежащем состоянии. В результате этого, значительное число препаратов подверглись разложению, потеряли свои информативные и демонстрационные качества. Сотрудники музея, по мере сил старались исправить положение, однако на сохранение не хватало сил и средств. Необходимо было предпринять срочные меры для спасения коллекции анатомических препаратов огнестрельных ранений периода Великой Отечественной войны.

В ноябре 1988 г. по предложению профессора И.В. Гайворонского, руководство Военно-медицинского музея приняло решение о передаче патологоанатомической коллекции в ведение кафедры нормальной анатомии Военно-медицинской

академии имени С.М. Кирова с целью восстановления препаратов. Следует признать, что выбор именно этой кафедры для производства восстановительных работ был не случайным. На кафедре нормальной анатомии постоянно проводится научная и методическая работа по изготовлению анатомических препаратов, для чего имеется соответствующая материальная база. Также кафедра нормальной анатомии является ведущей экспериментальной площадкой по изучению различных морфофункциональных аспектов огнестрельной раны и воздействия на организм экстремальных факторов военного труда [4]. Кроме того, на кафедре имеется большой опыт в организации музейного дела, консервации, реконсервации и восстановлении раритетных анатомических препаратов [3]. Руководством кафедры преследовалась и перспективная цель, в случае восстановления коллекции препаратов рассматривалась возможность ее использования в учебном процессе для обучения военных врачей. Известно, что на кафедре нормальной анатомии курсанты и студенты получают знания о строении и топографии органов у здорового человека, поэтому с целью развития клинического мышления у будущих военных врачей целесообразно демонстрировать типичные нарушения в строении костей, суставов, мышц, внутренних органов, вызванные боевой травмой. В декабре 1988 г. патологоанатомическая коллекция времен Великой Отечественной войны была доставлена на кафедру нормальной анатомии, что можно было рассматривать как начало создания музея огнестрельных ранений. Разработка рабочей концепции создания музея, отбор и реставрация влажных препаратов, распределение их по видам ранений, а также организация работ были возложены тогда на старшего преподавателя, ныне профессора кафедры нормальной анатомии полковника медицинской службы Пашенко Павла Степановича.

Доставленные влажные препараты в своем большинстве были непригодны для демонстрации. Из-за недостатка или отсутствия фиксирующей жидкости в банках, часть которых была разбита, пре-

параты высохли и почернели. Кроме того, отсутствовали указатели для обозначения раневых отверстий и каналов, поврежденных частей тела и органов. Разработка способов реставрации потребовала скрупулезной методической работы. После всесторонней оценки и анализа состояния коллекции был разработан оригинальный метод реставрации музейных препаратов, утративших свои демонстрационные свойства. Сущность метода заключалась в нескольких, последовательно проводимых этапах восстановления препаратов. На первом этапе производилось механическое ручное очищение препаратов от плесени, удаление истлевших и оторвавшихся фрагментов и придание им надлежащей для демонстрации формы. На следующем этапе проводилось тщательное отмывание с последующим отбеливанием препаратов путем выдерживания их в растворах перекиси водорода различных концентраций, а также в специальных растворах, используемых на кафедре нормальной анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Продолжительность экспозиции в каждом случае подбиралась экспериментально исходя из состояния препарата. Количество смен восстанавлива-

ющей жидкости зависело от степени потемнения препарата, его массы, а также ряда других факторов. После отбеливания препараты становились светлее, исчезали очаги гниения и плесени. Однако для достижения успеха в окончательном отбеливании и дофиксации препаратов уходили недели и месяцы. При этом нередко возникала необходимость в чередовании этапов отбеливания и рефиксации препаратов. На третьем этапе производилось изготовление и закрепление специальных информационных указателей на препаратах с целью обозначения раневых каналов и очагов разрушения тканей, причиненных огнестрельным и холодным оружием, что делало экспонаты музея более наглядными и демонстративными. Четвертый этап заключался в размещении готовых к экспонированию препаратов в банки с 5% раствором формалина и выдерживании в нем на протяжении 10–15 дней. Если препарат не темнел, и фиксирующая жидкость не мутнела, производили закупорку препаратов стеклянными крышками с помощью специального герметика. Готовые для демонстрации экспонаты выставлялись в витрины соответственно определенным разделам. Поскольку музей пла-

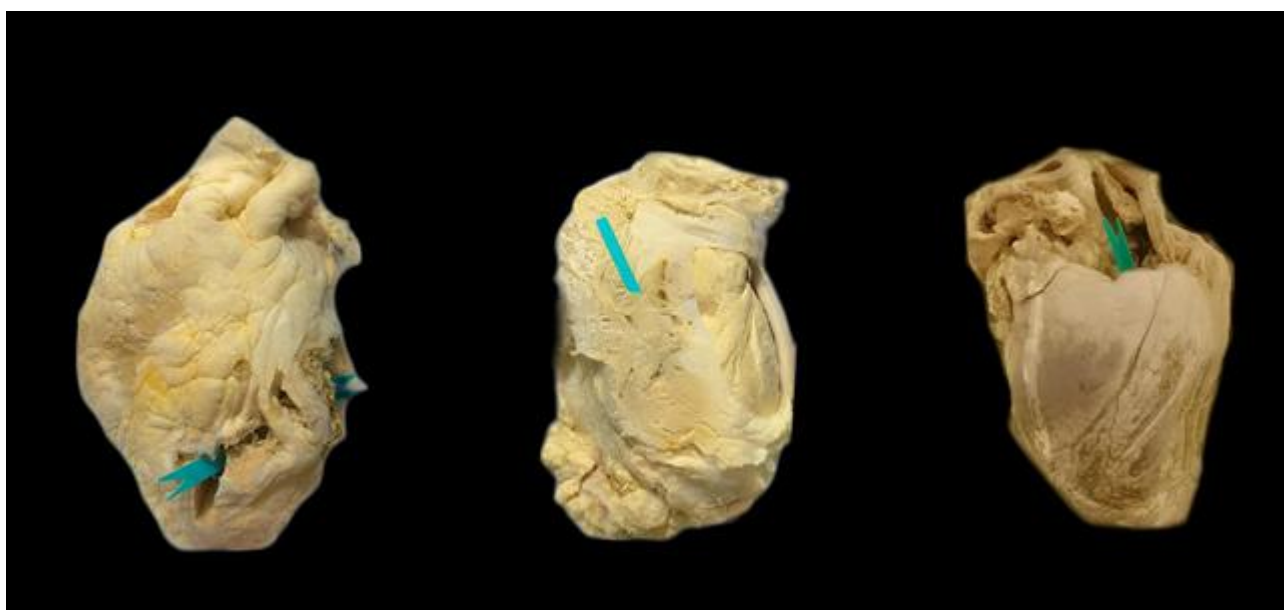


**Огнестрельное ранение
большеберцовой кости**

**Массивное повреждение
тканей области
голеностопного сустава**

**Огнестрельное ранение
плечевой кости**

Рис. 1. Фото анатомических препаратов огнестрельных ранений органов системы опоры и движения



**Сквозное пулевое
ранение сердца**

**Травматическое
повреждение перикарда**

**Огнестрельное ранение
сердца**

Рис. 2. Фото анатомических препаратов огнестрельных ранений сердца



**Осколочное ранение
легкого**

**Проникающее ранение
трахеи**

**Множественное осколочное
ранение легкого**

Рис. 3. Фото анатомических препаратов огнестрельных ранений органов дыхания

нировалось использовать в первую очередь как учебное подразделение кафедры нормальной анатомии, то было предложено создать коллекции препаратов по разделам согласно программе обучения курсантов. Созданный к 1990 г. «Музей огнестрельных ранений» в последующем подвергался неоднократной реконструк-

ции и за годы своего существования обогатился материалами огнестрельных ранений периода как Великой отечественной войны, так и войны в Афганистане, Чеченской компании, техногенных катастроф и террористических актов мирного времени, а также материалами современных методов диагностики и лечения огне-



**Осколочное ранение
левой почки**

**Осколочное ранение
правой почки**

**Минно-взрывное ранение
почек**

Рис. 4. Фото анатомических препаратов огнестрельных ранений почек



**Осколочное ранение
затылочной доли головного
мозга**

**Разрыв тканей головного
мозга**

**Осколочное ранение
островковой и височной
долей головного мозга**

Рис. 5. Фото анатомических препаратов огнестрельных ранений головного мозга

стрельных повреждений [5].

В настоящее время экспозиции огнестрельных ранений периода Великой Отечественной войны являются частью фундаментального анатомического музея кафедры нормальной анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Киро-

ва. Сухие и влажные экспонаты размещены в витринах по отдельным системам органов. Все препараты снабжены табличками с наименованием, снабжены указателем мест повреждений, ведется постоянный контроль за их демонстрационным видом, при необходимости осуществляет-

ся замена или добавление фиксирующей жидкости (рис. 1-5).

На кафедре концептуально разработаны рекомендации по использованию экспонатов, которые изложены в учебно-методическом пособии, предназначенном для курсантов и студентов, а также врачей и лиц, интересующихся военной медициной [4]. В связи с высокой наглядностью экспонатов, они используются при изучении соответствующих разделов анатомии человека, а также с воспитательной целью. Препараты служат наглядной учебно-материальной базой для проведения занятий с врачами, специалистами в области

военно-полевой хирургии, нейрохирургии, травматологии, нервных болезней судебной медицины. Эта экспозиция является наглядным средством при проведении работы с абитуриентами, а также обзорных экскурсий со школьниками. Полученные экспонаты оказались особенно полезными в подготовке начинающих врачей, ординаров, врачей общей практики в плане психологической адаптации к восприятию вида огнестрельных ранений, а также осмысления тактики в оказании помощи раненым на различных этапах медицинской эвакуации.

Литература References

1. Gayvoronskiy IV. Anatomiya - fundamental'naya nauka meditsiny. V kn.: Mater. Vseross. yubil. nauch. konf., posv. 150-letiyu so dnya rozhdeniya akademika V.N. Tonkova. – S-Pb.: izd-vo A.M. Kononov, 2022. – S. 182–185 In Russian
2. Gayvoronskiy IV. Istoricheskiy ocherk kafedry normal'noy anatomii Voenno-Meditsinskoy (Mediko-khirurgicheskoy) akademii (k 220-letiyu osnovaniya kafedry). Pod. red. prof. I.V. Gayvoronskogo. – S-Pb.: SpetsLit, 2018. – 223s. In Russian
3. Gayvoronskiy IV, Teardovskaya MV. Metody bal'zamirovaniya pri I.V. Buyal'skom i v nastoyashchee vremya. V kn.: Mater. obshcheross. nauch. konf. «Anatomiya kak nauka. Proshloe i nastoyashchee». – S-Pb.: VMedA, 2009. – S. 24–28. In Russian
4. Pashchenko PS, Gayvoronskiy IV, Nichiporuk GI. Muzei ognestrel'noy rany perioda Velikoy Otechestvennoy voyny. – S-Pb.: LEMA, 2015. – 88s. In Russian
5. Opyt sovetskoy meditsiny v Velikoy Otechestvennoy voyne 1941–1945 gg. Pod red. E.I. Smirnova: Obshchie voprosy voenno-polevoy khirurgii (rany, otmorozheniya, ozhogi). Otv. red. S.S. Girgolaev. – T. XLII. – M.: Medgiz, 1951. – 432s. In Russian

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Пашенко Павел Степанович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры нормальной анатомии, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: pashenkops@mail.ru

Гайворонский Иван Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова; заведующий кафедрой морфологии Санкт-Петербургского государственного университета; заведующий кафедрой морфологии человека с курсом гистологии, цитологии и эмбриологии Национального медицинского исследовательского центра имени В.А. Алмазова, Россия; e-mail: i.v.gaivoronsky@mail.ru

Фандеева Оксана Маликовна, доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры нормальной анатомии, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: osteolog_oxana@mail.ru

Хрусталева Юлия Александровна, доцент, доктор медицинских наук, доцент кафедры судебной медицины и медицинского права, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: khrustaleva-julia@yandex.ru

Соловьев Кирилл Владимирович, аспирант кафедры нормальной анатомии, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: kirill_solovik@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Pavel S. Pashchenko, Professor, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Normal Anatomy of the Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: pashenkops@mail.ru

Ivan V. Guyvoronsky, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Anatomy of the Kirov Military Medical Academy; Head of the Department of Morphology of the Saint-Petersburg State University; Head of the Department of Human Morphology with a Course of Histology, Cytology and Embryology of the Almazov National Medical Research Center, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: i.v.gaivoronsky@mail.ru

Oksana M. Fandeeva, Doctor of Medical Sciences, Docent, Assistant Professor of the Department of Normal Anatomy of the Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: osteolog_oxana@mail.ru

Yuliya A. Khurstalyova, Doctor of Medical Sciences, Docent, Assistant Professor of the Department of Forensic Medicine and Medical Law of the Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: khrustaleva-julia@yandex.ru

Kirill V. Solovyov, Aspirant of the Department of Normal Anatomy of the Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: kirill_solovik@mail.ru

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КОРРОЗИОННЫХ АНАТОМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

¹Романова Д.Г., ¹Актемиров А.С., ¹Бургомистрова В.М., ¹Жариков Ю.О.,
^{1,2}Жарикова Т.С.

¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, e-mail: romanovad2407@gmail.com

Для цитирования:

Романова Д.Г., Актемиров А.С., Бургомистрова В.М., Жариков Ю.О., Жарикова Т.С. Современные методы изготовления коррозионных анатомических препаратов. Морфологические ведомости. 2023;31(3):769. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).769](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).769)

Резюме. Одна из актуальных современных проблем преподавания морфологии – сделать освоение и преподавание анатомии человека максимально наглядным. Демонстрируемые при изучении этой дисциплины органы должны сохранять естественную форму и размеры. От развития технологий воздействия на биоматериал, его консервации и бальзамирования зависит качество получаемых препаратов. Точный и наглядный препарат является важнейшим инструментом демонстрации нормальных и патологически измененных органов и тканей. Целью настоящего обзора является анализ литературных данных о современных методах изготовления коррозионных анатомических препаратов. Материалами для обзора явились источники отечественной и зарубежной анатомической литературы, посвященной вопросам анатомической техники, консервации и изготовления анатомических препаратов для обучения студентов и музейного дела. В работе освещена история развития методов изготовления анатомических препаратов для использования их в учебных демонстрационных целях. Подробно проведен анализ данных об используемых в настоящее время методах изготовления коррозионных препаратов. Показаны преимущества коррозионных препаратов и полимеризующих составов по сравнению с препаратами, изготовленными с использованием методов влажной фиксации и пластикации. Представлен сравнительный анализ характеристик известных полимеризующих составов. Определены перспективы развития коррозионного метода и его использования для наглядности преподавания в учебных заведениях медицинского и биологического профиля, а также изучения трехмерных конфигураций органов и сосудов при планировании хирургических вмешательств. Основными перспективными направлениями совершенствования коррозионного метода являются подбор рациональных по своим свойствам полимеризующих составов, разработка технических устройств для облегчения заполнения растворами сосудистого русла, а также других трубчатых и полых органов и структур полимерным раствором. С учетом развития клинической анатомии и возрастающего интереса к индивидуальным особенностям органов и их типовой анатомии этот метод может быть использован для наглядного изучения вариантной анатомии, кровоснабжения сложных паренхиматозных органов.

Ключевые слова: анатомия человека, анатомические препараты, анатомические методы, метод коррозии, анатомический музей

Статья поступила в редакцию 29 декабря 2022

Статья принята к публикации 4 августа 2023

MODERN METHODS OF THE PRODUCING OF CORROSIVE ANATOMICAL PREPARATIONS

¹Romanova DG, ¹Aktemirov AS, ¹Burgomistrova VM, ¹Zharikov YuO, ^{1,2}Zharikova TS

¹Sechenov First Moscow State Medical University, ²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, e-mail: romanovad2407@gmail.com

For the citation:

Romanova DG, Aktemirov AS, Burgomistrova VM, Zharikov YuO, Zharikova TS. Corrosion preparations and methods of their production. *Morphologicheskies Vedomosti – Morphological newsletter*. 2023;31(3):769. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).769](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).769)

Summary. One of the pressing modern problems of teaching morphology is to make the development and teaching of human anatomy as visual as possible. The organs demonstrated during the study of this discipline must retain their natural shape and size. The quality of the resulting preparations depends on the development of technologies for influencing biomaterial, its preservation and embalming. An accurate and visual preparation is the most important tool for demonstrating normal and pathologically altered organs and tissues. The purpose of this review is to analyze the literature data on modern methods for manufacturing corrosive anatomical preparations. The materials for the review were sources of anatomical literature devoted to the issues of anatomical technology, conservation and production of anatomical preparations for teaching students and museum affairs. The work highlights the history of the development of methods for manufacturing anatomical preparations for use in educational demonstration purposes. A detailed analysis of data on currently used methods for producing corrosive preparations was carried out. The advantages of corrosive preparations and polymerizing compositions in comparison with preparations made using wet fixation and plastination methods are shown. A comparative analysis of the characteristics of known polymerizing compositions is presented. The prospects for the development of the corrosion method and its use for the clarity of teaching in educational institutions of medical and biological profiles, as well as the study of three-dimensional configurations of organs and vessels when planning surgical interventions, are determined. The main promising directions for improving the corrosion method are the selection of polymerizing compositions that are rational in their properties, the development of technical devices to facilitate the filling of vascular beds with solutions, as well as other tubular and hollow organs and structures with a polymer solution. Taking into account the development of clinical anatomy and the growing interest in the individual characteristics of organs and their typical anatomy, this method can be used to visually study the variant anatomy and blood supply of complex parenchymal organs.

Keywords: human anatomy, anatomical preparations, anatomical methods, corrosion method, anatomical museum

Article received 29 December 2022

Article accepted 4 August 2023

Введение. Одна из актуальных современных проблем преподавания морфологии – сделать освоение и преподавание анатомии человека максимально наглядным. Демонстрируемые при изучении этой дисциплины органы должны сохранять естественную форму, размер и имеющиеся в них патологические изменения вследствие перенесенных заболеваний. Исследованию различных биологических структур зачастую предшествует ряд манипуляций по приготовлению из них анатомических препаратов. Для получения достоверных анатомических данных, наиболее полно отражающих целостность всех изучаемых структур, требуется учитывать ряд морфологических особенностей взятого материала, так как от этого напрямую зависит подбор метода изготовления препарата. При этом перед анатомами стоит задача рационального и бюджетного использования доступного материала для получения качественных и наглядных анатомических препаратов [1-2]. От развития технологий воздействия на биоматериал зависит также качество проводимого исследования. Точный и наглядный препарат является важнейшим инструментом демонстрации нормальных и патологически измененных органов и тканей, необходимым для подготовки высококвалифицированных врачебных кадров [3]. Все это указывает на важность понимания принципа каждого из методов изготовления анатомических препаратов.

В настоящее время используются разнообразные методы изготовления анатомических препаратов, начиная от бальзамирования, изготовления гипсовых и восковых моделей органов и заканчивая их трехмерным компьютерным моделированием с последующим биопринтингом. Например, в урологии применяется 3D-моделирование и текстурный анализ для неинвазивной морфологической верификации образований паренхимы почки [4]. Однако, для изучения конкретного органа или системы органов необходимо использовать специфические средства, методы и материалы. Так, наиболее распространенным способом приготовления анатомических препаратов сосудов кровеносной и лимфатической систем является коррозионный метод [5-6]. Для обучения и развития микрохирургических навыков у резидентов и практикующих нейрохирургов

Шкарубо и соавт. (2018) предлагают изготовление наглядных анатомических препаратов с инъекцией внутренней сонной артерии и внутренней яремной вены цветным силиконом [7]. Выбор узконаправленного коррозионного метода напрямую влияет на качество получаемого образца. Каждый способ является уникальным, подходящим для конкретного органа или системы органов. Следовательно, подбор метода имеет определяющее значение для успешного изготовления препарата.

Цель исследования: сравнительный анализ данных литературы о современных коррозионных методах изготовления анатомических препаратов.

Метод пластинации

Метод пластинации впервые был описан доктором Гюнтером фон Хагенсом в 1970-х годах [8-9]. На сегодняшний день в зависимости от используемого полимеризующего состава различают три основных метода пластинации (рис. 1): пластинация силиконом, позволяющая изготавливать пластинаты органов, анатомических областей и целого тела человека; пластинация с помощью эпоксидной смолы, что дает возможность изготавливать плоские и прозрачные срезы толщиной от 1 до 10 мм, а также распилы органов и частей тела и пластинация полиэфирными смолами, которая позволяет изготавливать плоские и непрозрачные срезы и распилы толщиной от 3 мм до нескольких сантиметров. Этот метод используется преимущественно для изготовления пластинированных срезов головного мозга, так как при этом сохраняются выраженный контраст и границы между белым и серым веществом мозга, базальными ядрами.



Рис. 1. Схема этапов метода пластинации

Таким образом, под этим методом понимают процесс консервации биоматериала, заключающийся в замене воды и липидов в тканях на синтетические смолы и полимеры. При этом наряду с изготовлением учебных анатомических препаратов пластинация широко используется при проведении анатомических и клинических исследований. Благодаря эпоксидной пластикации появилась возможность исследовать микротопографию поверхности полых органов с имплантированным стентом не прибегая к хирургическому вмешательству [10]. Однако изучение трубчатых структур и их вариантной анатомии, особенно, их положения в трехмерном пространстве невозможно без удаления окружающих эту структуру паренхимы органа и прилежащих тканей. Для этих целей подходят инъекционные методы.

Метод инъекции

Этот метод применяется с XVII - XVIII веков [6, 11]. В широком смысле под этим методом подразумевают заполнение полостей, щелевидных пространств, просвета трубчатых структур человеческого тела окрашенной или бесцветной застывающей массой. Исследование осуществляется на трупном материале, путем его препарирования, или же на взятом для исследования сосудов гистологическом препарате. Метод позволяет получить слепок исследуемой полости или сосуда. Также после применения инъекции облегчается отделение этого сосуда от окружающих тканей. В настоящее время метод сыграл прогрессивную роль в развитии анатомических знаний, в частности, позволил изучить ход и распределение внутриорганных кровеносных и лимфатических сосудов, выяснить их вариабельность. На основе этого метода производится эндолимфатическая терапия и диагностика введением антибиотиков или рентгеноконтрастных препаратов. Широко известен в мире случай балъзамирования профессором Московского университета Иваном Матвеевичем Соколовым «волосатой женщины» Джулии Пастраны, родившейся в Мексике (впоследствии ставшей американской гражданкой по браку), и ее сына. Также И.М. Соколову принад-

лежит авторство уникального метода создания коррозионного препарата сосудов всего тела, однако его секрет до сих пор остается нераскрытым [12].

Метод инъекции позволяет контрастно выявлять лишь небольшие участки исследуемого материала. Это может быть область выбранной артерии и сообщаящихся с ней небольших сосудов. Даже при ретроградной перфузии грудного лимфатического протока инъецируется только часть лимфатической системы грудной полости и брюшинного пространства [13].

Метод коррозионных препаратов

Одним из наиболее качественных и достоверных методов визуализации сосудов является техника изготовления коррозионных препаратов, которая позволяет создать нативную пространственную визуализацию сосудистой сети изучаемого органа. Суть коррозионного метода заключается в том, что трудно препарируемые ткани удаляются путем расщепления их кислотами или при постепенном отделении тканей в теплой воде. Предварительно кровеносные сосуды или полость органа наполняют массой определенной вязкости, которая в дальнейшем подвергается затвердеванию. Выбор полимерной массы крайне важен, так как качественный анатомический препарат может быть приготовлен только в том случае, если вязкость вводимого вещества позволит заполнить весь интересующий объект, не повредив его структуру из-за возникающего внутри просвета давления [14]. Следовательно, этот метод тесно связан с методом инъекции. Метод коррозии дает более точные данные о ходе и расположении кровеносных сосудов, чем метод простого препарирования. Недостатком метода является то, что после удаления тканей теряются естественные топографические взаимоотношения между отдельными структурами и частями органа [11].

Анализ литературы показал, что в настоящее время также проводится активный поиск методов изготовления более качественных коррозионных анатомических препаратов, которые обладают выработанной прочностью, эластичностью, анатомической наглядностью [15-16]. Кор-

розионные препараты являются трехмерными моделями, дающими четкое представление о внутриорганном разветвлении сосудов или секреторных элементов органов (мочеточников, мочеиспускательного канала, бронхиальных путей, других органов, и структур). Учитывая вариативность анатомического строения организма, данный метод является весьма



Рис. 2. Фото анатомического коррозионного препарата почки млекопитающего, вид спереди. Препарат изготовлен на кафедре анатомии и гистологии человека Первого МГМУ имени И.М. Сеченова

К сожалению, высокая стоимость полимеризующихся веществ, их характеристики и сложность использования в рутинной практике, особенно в ходе образовательного процесса, способствуют отказу от их широкого применения [17-18]. По данным литературы к достоинствам метода относятся качество получаемых препаратов и их характеристики, которые определяются составом используемой смеси. Овчаренко и соавт. (2016) показано, что использование ксилола как растворителя, препятствует имбибции раствора в ткани и защищает силикон от агрессивного влияния щелочи при растворении органических тканей за счет выраженной гидрофобности ксилола [5]. Кроме того, использование концентрированной щелочи как растворителя органических тканей исключает расслоение коррозионного препарата за счет выраженной ацидофильности силикона – герметика [18].

наглядным и точным в получении точных «отпечатков» органов и систем. Также достоинством коррозионного метода являются долговечность препарата и возможность детализировать на препарате мельчайшие анатомические структуры, как, например, строение элементов почечной доли (рис. 2 и 3).



Рис. 3. Фото анатомического коррозионного препарата почки млекопитающего, вид сзади. Препарат изготовлен на кафедре анатомии и гистологии человека Первого МГМУ имени И.М. Сеченова

Также одним из способов изготовления коррозионных препаратов является метод Акиловой, предложенный в 1944 году, при котором используется растворенная в спирте или ацетоне рентгеновская пленка, предварительно очищенная от эмульсии [19]. К достоинствам этого метода можно отнести возможность переработки рентгеновской пленки из архивов, то есть вторичного использования сырья.

Метод, предложенный специалистами Медицинского университета в Боготе (Колумбия) позволяет получить анатомические препараты высокого качества и разрешения, так как полимеризующий раствор достаточно глубоко проникает в инъецируемые полые структуры органа, обеспечивая их визуализацию до уровня микроскопических структур [20]. Преимуществом этого метода является абсолютная точность состава и качество смол, так как процесс фабричного производства находится под серьезным контролем. Так-

же отсутствует необходимость затрат времени.

При изготовлении коррозионного препарата можно производить промывку исследуемой области. Эта процедура не является обязательной, так как она не влияет на конечный результат. Ранее считалось, что промывание физиологическим раствором увеличивает проницаемость застывающих смол в сосудах. Однако, более поздние исследования показали, что использование инъекции промывающим раствором может отрицательно сказаться на целостности структур мелких сосудов. В то же время, данная процедура способна выступать в качестве проверки системы на герметичность [14].

Современные технологии позволяют обрабатывать модели коррозионных препаратов на электронных устройствах с последующим копированием их при помощи 3D-принтера. Оцифровка препарата осуществляется методом компьютерной томографии. Это позволяет создать обширный цифровой ресурс для изучения топографической анатомии. Также возможна реконструкция точных копий коррозионных препаратов, что в дальнейшем может полностью исключить необходимость использования трупного материала. Трехмерное моделирование может найти широкое применение в различных областях медицины, в частности, в хирургии, оно также способно стать формой учебных занятий для обучающихся. В целом этот еще метод нуждается в доработке, так как он не позволяет моделировать некоторые микроструктуры, имеющиеся на реальных препаратах [17, 20].

Кафаров и соавт. в 2021 году представили новый состав полимерной рентгенконтрастной композиции с помощью которой авторы изготовили коррозионные анатомические препараты артериального русла почки человека [21]. Основными перспективными направлениями совер-

шенствования коррозионного метода являются подбор рациональных по своим свойствам полимеризующихся составов, разработка технических устройств для облегчения насыщения ими сосудистого русла, а также других трубчатых и полых образований анатомических структур полимерным раствором. Внедрение подобных разработок скажется на детализации структур всего препарата, а также поможет получать их. Кроме того, должна проводиться работа по поиску способов ускорения процессов полимеризации пропитывающих жидкостей и растворения окружающей структуры паренхимы. Основные свойства получаемых коррозионных анатомических препаратов должны включать выраженную прочность, четкость структур, абсолютное отсутствие токсичности как при изготовлении, так и при непосредственном использовании в учебном процессе. При этом освоение любого метода необходимо начинать на животных моделях для последующего перехода на получение коррозионных препаратов из трупного анатомического материала.

Заключение. С учетом развития клинической анатомии и возрастающего интереса к индивидуальным особенностям и типологии органов коррозионный метод может быть использован для наглядного изучения вариантной анатомии таких органов как плацента, тонкий кишечник, а также для изучения кровоснабжения сложных паренхиматозных органов, например, печени с внепеченочными желчными протоками. Кроме того, при изготовлении коррозионных препаратов органов возможна нативная визуализация путей кровоснабжения патологических образований органа, оценка которых позволит углубить знания о путях распространения заболевания и, возможно, расширить поиск способов его лечения на различных стадиях его развития.

Литература References

1. Nikolenko VN, Urakov A., Rastegaeva LB, i dr. *Primenenie novogo konserviruyushchego rastvora dlya khraneniya i demonstratsii anatomicheskikh preparatov. Morfoloicheskie vedomosti.* 2019;27(4):61-64. In Russian
2. Nikolenko VN, Dorosevich AE, Romanov NA, Nikityuk DB. *Istoricheskiy aspekt anatomii: Rukovodstvo.*– Smolensk: Rusich, 2015.– 544s. In Russian
3. Nikolenko VN, Oganetsyan MV, Kudryashova VA, i dr. *Chto mozhet priblizit' prepodavanie anatomii k potrebnostyam prakticheskoy meditsiny? Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya.* 2017(3):46. In Russian

4. Sirota ES, Gorduladze DN, Rapoport LM, i dr. Neinvazivnaya morfologicheskaya diagnostika lokalizovannykh obrazovaniy parenkhimy pochki (pilotnoe issledovanie). Russian Electronic Journal of Radiology. 2021;11(4):94-104. DOI:10.21569/2222-7415-2021-11-4-94-104. In Russian
5. Ovcharenko VV, Pikalyuk VS, Malov AE i dr. 3d-rekonstruktsiya, 3d-modelirovaniye i 3d-pechat' kak forma vneauditornoy samostoyatel'noy uchebno-issledovatel'skoy raboty studentov (UIRS na kafedre normal'noy anatomii cheloveka meditsinskoy akademii imeni S.S. Georgievskogo. Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny. 2016;6(3):240-245. In Russian
6. Hendriksen MMA. Casting life, casting death: connections between early modern anatomical corrosive preparations and artistic materials and techniques. Notes Rec R Soc Lond. 2019;73(3):369-397. DOI:10.1098/rsnr.2018.0068
7. Shkarubo MA, Dobrovolsky GF, Polev GA, i dr. Sposob izgotovleniya anatomicheskikh preparatov golovnoy mozga cheloveka s in'ektsiyey sosudov tsetnym silikonom (tehnicheskoe opisaniye). Voprosy neyrokhirurgii im. N.N. Burdenko. 2018;82(2):59-64. In Russian
8. Henry RW, von Hagens G, Seamans G. Cold temperature/Biodur® /S10/von Hagens'-Silicone plastination technique. Anat Histol Embryol 2019;48(6):532-538. DOI:10.1111/ahe.12472
9. Borzjak EI, Putalova IN, fon Hagens G. Anatomiya cheloveka. Fotografichesky atlas. Uchebnoye posobie. V 3-h tomakh. Tom 1.– GEOTAR-Media: M, 2014.– 480s. In Russian
10. Akopov AL, Ivanov VA. Ispol'zovanie biologicheskogo materiala i drugikh naglyadnykh posobiy dlya prepodavaniya normal'noy i klinicheskoy anatomii. Operativnaya khirurgiya i klinicheskaya anatomiya (Pirogovsky nauchnyy zhurnal). 2017;1(2):40-42. In Russian
11. Orlova LN, Shalygin SP. Modelirovaniye korrozionnykh preparatov vnutrennykh organov zhivotnykh s primeneniye akrilovnykh stomatologicheskikh plastmass. Fundamental'nye issledovaniya. 2013;4(3):650-654. In Russian
12. Suslov AV, Nikolenko VN, Chairkin IN, i dr. Ivan Sokolov and his post-mortem studies of the "hairy woman" Julia Pastrana and her son. Endeavour. 2021;45(3):100780. DOI: 10.1016/j.endeavour.2021.100780
13. Kagan II, Kim VI, Grekova NS, i dr. Sposob in'ektsii limfaticheskoy sistemy. Patent na izobretenie RU 2207157 C2, 27.06.2003.– Zayavka № 2001125818/14 ot 20.09.2001. In Russian
14. Cornillie P, Casteleyn C, von Horst C, et al. Corrosion casting in anatomy: Visualizing the architecture of hollow structures and surface details. Anat Histol Embryol. 2019;48(6):591-604. DOI: 10.1111/ahe.12450. In Russian
15. Domagala Z, Domański J, Zimmer A, et al. Methodology of preparation of corrosive specimens from human placenta - A technical note. Ann Anat. 2020;228:151436. DOI:10.1016/j.aanat.2019.151436
16. Li J, Nie L, Li Z, et al. Maximizing modern distribution of complex anatomical spatial information: 3D reconstruction and rapid prototype production of anatomical corrosion casts of human specimens. Anat Sci Educ. 2012;5(6):330-339. DOI: 10.1002/ase.1287
17. Zolotukhin VO, Bessonova VV, Kozarev SA, i dr. Izgotovleniye korrozionnykh preparatov na osnove bystro zatverdevayushchey plastmassy. Molodezhnyy innovatsionnyy vestnik. 2018;7(1):169-170. In Russian
18. Shaduro DV, Pikalyuk VS. Sposob izgotovleniya korrozionnykh anatomicheskikh preparatov. Patent na poleznuyu model' RU 153522 U1, 20.07.2015.– Zayavka № 2014154664/93 ot 29.12.2014. In Russian
19. Akilova AT. Metodika izgotovleniya korrozionnykh preparatov sosudov. Trudy Voenno-Morskoy Meditsinskoy Akademii. 1944;III(2):189-192. In Russian
20. Rueda-Esteban R, López-McCormick J, Martínez D, et al. Corrosion casting, a known technique for the study and teaching of vascular and duct structure in anatomy. Int J Morphol. 2017;35(3):1147-1153
21. Kafarov ES, Dmitriev AV, Zenin OK, i dr. Novaya polimernaya rentgenkontrastnaya kompozitsiya dlya izgotovleniya korrozionnykh anatomicheskikh preparatov. Vestnik novykh medicinskiykh tekhnologiy. Elektronnoye izdanie. 2021;4:121-125. DOI:10.24412/2075-4094-2021-4-3-7. In Russian

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Романова Дарья Геннадиевна, студентка, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия; **e-mail: romanovad2407@gmail.com**

Актемиров Артур Сергеевич, студент, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия; **e-mail: aktemirov@bk.ru**

Бургомистрова Виктория Максимовна, студентка, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия; **e-mail: victory.burg@yandex.ru**

Жариков Юрий Олегович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия; **e-mail: dr_zharikov@mail.ru**

Жарикова Татьяна Сергеевна, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры анатомии и гистологии человека Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова; доцент кафедры нормальной и топографической анатомии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; **e-mail: dr_zharikova@mail.ru**

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Daria G. Romanova, Studentin, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; **e-mail: romanovad2407@gmail.com**

Artur S. Aktemirov, Student, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; **e-mail: aktemirov@bk.ru**

Victoriya M. Burgomistrova, Studentin, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; **e-mail: victory.burg@yandex.ru**

Yury O. Zharikov, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; **e-mail: dr_zharikov@mail.ru**

Tatiana S. Zharikova, Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer of the Department of Human Anatomy and Histology of the Sechenov First Moscow State Medical University and Associate Professor of the Department of Normal and Topographic Anatomy of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; **e-mail: dr_zharikova@mail.ru**

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АНАТОМИИ ОПАСНОГО ТРЕУГОЛЬНИКА ЛИЦА

^{1,2}Николенко В.Н., ¹Кудрявцева В.А., ^{1,2}Оганесян М.В., ^{1,2}Ризаева Н.А.,
¹Болотская А.А., ^{1,2}Жарикова Т.С.

¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

Для цитирования:

Николенко В.Н., Кудрявцева В.А., Оганесян М.В., Ризаева Н.А., Болотская А.А., Жарикова Т.С. Современные представления об анатомии «опасного треугольника» лица. Морфологические ведомости. 2023;31(3):798. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).798](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).798)

Резюме. Анатомические структуры кожи лица подвержены различным повреждениям и могут быть затронуты при нарушении целостности кожного покрова как в бытовых условиях, так и при инвазивных процедурах или оперативных вмешательствах. В подобных случаях существует опасность быстрого распространения инфекции, преимущественно с током крови по бесклапанным сосудам лица и головы, что может привести к поражению головного мозга, органа зрения и других структур. Особенно уязвимы так называемые опасные зоны лица – участки кожи, повреждение которых с большей вероятностью приводит к тяжелым последствиям. Для предотвращения развития осложнений необходимо глубокое понимание особенностей анатомического строения этих зон лица. Цель обзора – обобщение современных представлений о наиболее опасных в аспекте травматических повреждений, различных хирургических и косметических вмешательствах анатомических зон в области лица, их возможного инфицирования, последствий и осложнений. Травматизация сосудов и нервов опасных зон лица, а также инфицирование ран этой области могут стать причиной летальных исходов. Кожа опасных анатомических зон лица (поверхности носовой области, области губ, носогубного треугольника и других областей) тонкая и тесно связана с подлежащими мышцами. В этих зонах находится большое количество кровеносных сосудов, анастомозирующих между собой, а также лимфатические сосуды и нервные сплетения. Анализ частоты заболеваний и травм этих зон показывает, что в настоящее время они обусловлены иными причинами чем это наблюдалось в предшествующие десятилетия, в большей степени связаны с косметическими процедурами бесконтрольных инъекций ботулинического токсина типа А и (или) препаратов гиалуроновой кислоты. Эти методы омоложения внешнего вида и коррекции структур лица становятся все более популярными и более опасными по указанным выше, анатомически обусловленным причинам. Все указанное является актуальным в изучении анатомии лица как студентами, так и специалистами.

Ключевые слова: лицо, носогубный угол, опасный треугольник лица, опасные сосудистые зоны лица, опасные зоны нервов лица

Статья поступила в редакцию 19 марта 2023
Статья принята к публикации 6 августа 2023

THE MODERN DATA ABOUT THE ANATOMY OF A DANGEROUS TRIANGLE OF THE FACE

^{1,2}Nikolenko VN, ¹Kudryavtseva VA, ^{1,2}Oganesyanyan MV, ^{1,2}Risaeva NA, ¹Bolotskaya AA,
^{1,2}Zharikova TS

¹Sechenov First Moscow State Medical University, ²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

For the citation:

Nikolenko VN, Kudryavtseva VA, Oganesyanyan MV, Risaeva NA, Bolotskaya AA, Zharikova TS. The modern data about the anatomy of a dangerous triangle of the face. Morphologicheskies Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(3):798. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).798](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).798)

Summary. The anatomical structures of the facial skin are susceptible to various damage and can be affected when the integrity of the skin is violated, both at home and during invasive procedures or surgical interventions. In such cases, there is a danger of rapid spread of infection, mainly through the blood flow through the valve-less vessels of the face and head, which can lead to damage to the brain, organ of vision and other structures. The so-called danger zones of the face are especially vulnerable - areas of the skin, damage to which is more likely to lead to serious consequences. To prevent the development of complications, a deep understanding of the anatomical structure of these areas of the face is necessary. The purpose of the review is to summarize modern notions about the most dangerous traumatic injuries, various surgical and cosmetic interventions of the anatomical areas in the face, their possible infection, consequences and complications. Traumatization of blood vessels and nerves in dangerous areas of the face, as well as infection of wounds in this area can cause death. The skin of dangerous anatomical areas of the face (the surface of the nasal area, lip area, nasolabial triangle and other areas) is thin and closely connected to the underlying muscles. These areas contain a large number of blood vessels that anastomose with each other, as well as lymphatic vessels and nerve plexuses. An analysis of the frequency of diseases and injuries in these areas shows that currently they are caused by other reasons than what was observed in previous decades, and are more associated with cosmetic procedures of uncontrolled injections of botulinum toxin type A and (or) hyaluronic acid preparations. These methods of rejuvenating the appearance and correcting facial structures are becoming increasingly popular and more dangerous for the anatomically determined reasons mentioned above. All of the above is relevant in the study of facial anatomy by both students and specialists.

Keywords: face, nasolabial angle, danger triangle of face, facial vascular danger zones, facial nerve danger zones

Article received 19 March 2023
Article accepted 6 August 2023

Введение. Область лица человека богато иннервирована и васкуляризована, вследствие чего любые воздействия на кожные покровы могут привести к воспалительным процессам, распространяющимся по ходу сосудов к жизненно важным анатомическим структурам головы. Травматизация сосудов и нервов опасных зон лица, а также инфицирование ран в этой области могут стать причиной летального исхода. Вариантная анатомия элементов опасных зон лица является крайне актуальным вопросом для пластических и челюстно-лицевых хирургов, косметологов, стоматологов и других специалистов, которые проводят инвазивные вмешательства в области лица.

Цель исследования – обобщение современных представлений о наиболее опасных в аспекте травматических повреждений, различных хирургических и косметических вмешательствах анатомических зон в области лица, их возможного инфицирования, последствий и осложнений.

Материалы и методы исследования. Материалы и методы исследования заключались в поиске статей в базах данных РИНЦ, PubMed (MEDLINE) и иных базах данных и источников научной информации по следующим ключевым словам: лицо, носогубный угол, опасный треугольник лица, опасные сосудистые зоны лица, опасные зоны нервов лица, face, nasolabial angle, danger triangle of face, facial vascular danger zones, facial nerve danger zones, согласно MeSH Национальной медицинской библиотеки США. Полученные данные подвергались анализу на предмет формулирования и объяснения существа анатомических особенностей опасных зон лица, их травматических повреждений, возможного инфицирования, последствий и осложнений.

Результаты исследования и обсуждение. Пандемия новой коронавирусной инфекции оказала значимое влияние на мировое сообщество и стала причиной многих изменений в повседневной жизни. Так, например, привычным стало ежедневное ношение масок и перчаток. Помимо применения средств индивидуальной защиты, Всемирная организация здравоохранения рекомендует соблюдать

определенные правила поведения в период пандемии [1]. Одна из таких рекомендаций – как можно реже касаться лица во избежание возможных повреждений кожных структур.

Кожа – комплексный орган, осуществляющий ряд различных функций. Одна из наиболее важных – защитная. Посредством физических (физический барьер), химических (pH поверхности кожи), микробиологических (симбиотические микроорганизмы кожи) кожных барьеров предотвращается инвазия чужеродных патогенных агентов в организм. Кроме того, кожа содержит сложную сеть специализированных иммунных клеток, играющих решающую роль в регенерации тканей и предотвращении проникновения инфекций [2]. Однако осуществление барьерной функции возможно только в случае сохранения целостности кожного покрова. Травмы, повреждения, микротрещины приводят к нарушению кожного барьера и снижению его защитных свойств. В таком случае возможно проникновение в организм инфекции через кожу [3].

Анатомия носогубного треугольника и других опасных зон лица

Носогубный треугольник или так называемый «треугольник смерти» – зона на лице в виде воображаемого равнобедренного треугольника (рис. 1), основание которого расположено по краю верхней губы, а угол между равными сторонами – немногим выше глabella [4]. Кожа в этой области тонкая, тесно связанная с подлежащими мышцами. В этом месте находится большое количество кровеносных сосудов, анастомозирующих между собой, а также лимфатических сосудов и нервных сплетений (ветви тройничного нерва – rr. n. trigemini, ветви лицевого нерва – rr. n. facialis) (рис. 2) [5]. Зона носа характеризуется наличием сосудистой сети мелких артерий. Основными сосудами этой зоны являются лицевая артерия (a. facialis) и ее ветви (например, угловая артерия – a. angularis, латеральная носовая ветвь – r. lateralis nasi), а также дорсальная артерия носа (a. dorsalis nasi), являющаяся конечной ветвью глазной артерии (a. ophtalmica,

системы внутренней сонной артерии – a. carotis interna), и наружная артерия носа (a. externa nasi), ветвь передней решетчатой артерии (a. ethmoidalis anterior, системы внутренней сонной артерии). При этом дорсальная артерия носа анастомо-

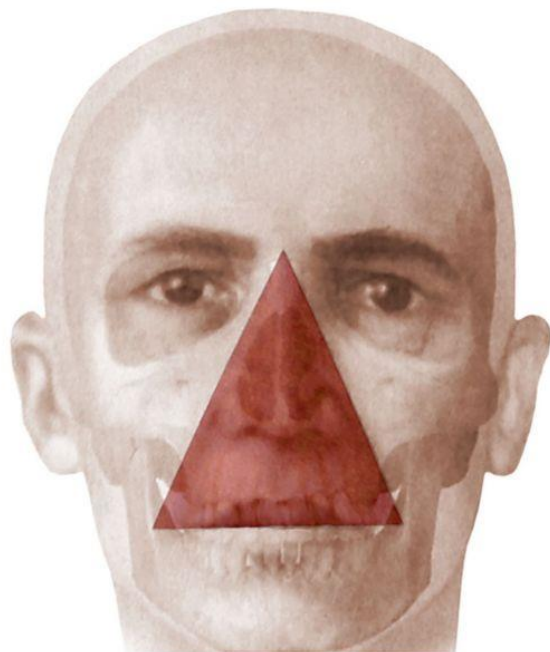


Рис. 1. Границы носогубного треугольника по Pannu A.K. и соавт. [4]

Область верхней губы также интенсивно васкуляризована. Основными сосудами здесь являются верхняя губная артерия (a. labialis superior) – ветвь лицевой артерии, ветви подглазничной артерии (a. infraorbitalis), а также поверхностные артериальные ветви, образующие сплетение. Основными венами являются верхние губные (vv. labiales superiores) – притоки лицевой вены [7-8].

Вены не имеют клапанов и сообщаются непосредственно с пещеристым синусом через крыловидное сплетение, угловые и глазные вены. Такая анатомическая особенность может стать причиной быстрого распространения инфекции в полость черепа и привести к тяжелым осложнениям, таким, как септический тромбоз пещеристого синуса, некроз тканей, инсульт и другим. Наиболее часто встречающиеся патогены – золотистый

стафилококк, другие грамположительные организмы и анаэробы [9].

Вследствие наличия обширной сети сосудистых анастомозов, в частности, анастомоза между дорсальной артерией носа и угловой артерией, возникает риск нарушений зрения, вплоть до слепоты, при распространении воспалительных процессов из области носогубного треугольника [10]. В связи с наличием пути возможного быстрого распространения инфекции, носогубный треугольник считается одной из наиболее опасных зон лица, наряду с височной областью, глабеллой, подглазничной областью, носогубными складками и подбородком [11-12] (рис. 3-4).

Повреждения указанных выше зон лица особенно опасны, поскольку могут привести к тяжелым последствиям. Исследования 164 случаев тяжелых осложнений в результате вмешательства в эти опасные

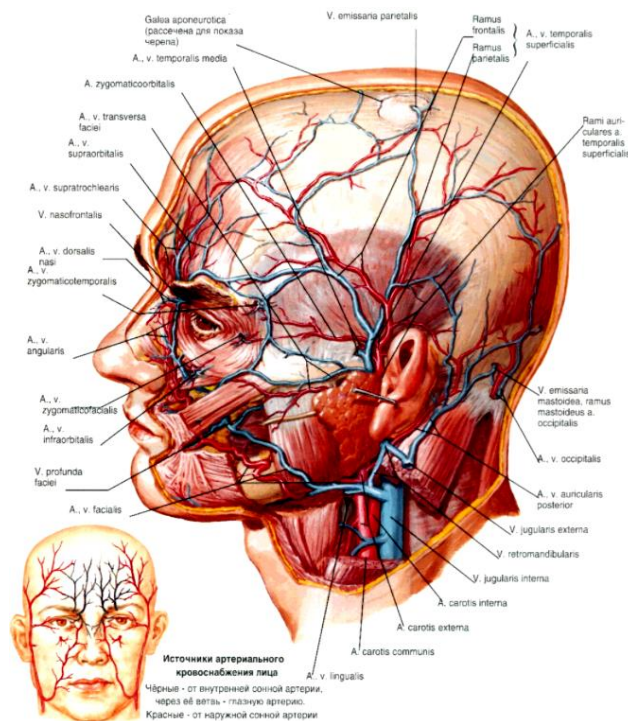


Рис. 2. Поверхностные артерии и вены головы по Netter F. [5]

зоны показывают, что 44,5% их поражений были связаны с повреждениями области носа, 21% - области габеллы, 15% – области носогубной складки, 10% – области лба [13-15]. Таким образом, на область носогубного треугольника приходится около 90% осложнений. Подобная статистика

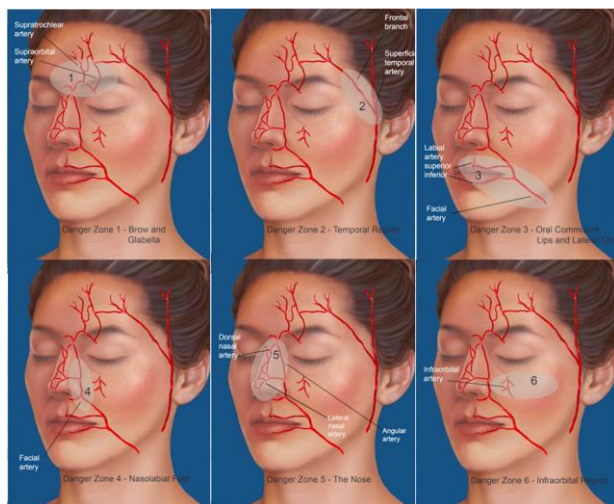


Рис. 3. Опасные зоны лица (выделены освещенными областями) по Wollina U. and Goldman A. [11]

Последствия повреждений опасных зон лица на примере случая композитора А.Н. Скрябина

Даже при надлежащем лечении прогноз неблагоприятен, смертность составляет до 35% [9]. Так, широко известен исторический факт гибели композитора А.Н. Скрябина вследствие появления фурункула на верхней губе и последующего развития процесса до состояния сепсиса. В 1915 году композитор дважды замечал незначительные проявления акне над верхней губой. А.Н. Скрябин не придал должного внимания этой проблеме и случайно повредил рукой место воспаления, что привело к попаданию в рану инфекции. Вследствие заражения в указанной области возник фурункул. Болезнь стремительно прогрессировала, через 4 дня фурункул сменился на карбункул, температура тела повысилась до 40°C. Как отмечает врач В.В. Богородский, друг А.Н. Скрябина: «Цвет, цвет-то был нехороший очень, я никогда таких и не видал даже: он, понимаете, не красный, а почти лиловый, такой как бы с огнем. И температура

дает представление об реальной опасности повреждений «треугольника смерти». Такое название также неслучайно и имеет под собой фактическую основу, поскольку воспалительные патологические процессы в области носогубного треугольника могут привести к летальному исходу.

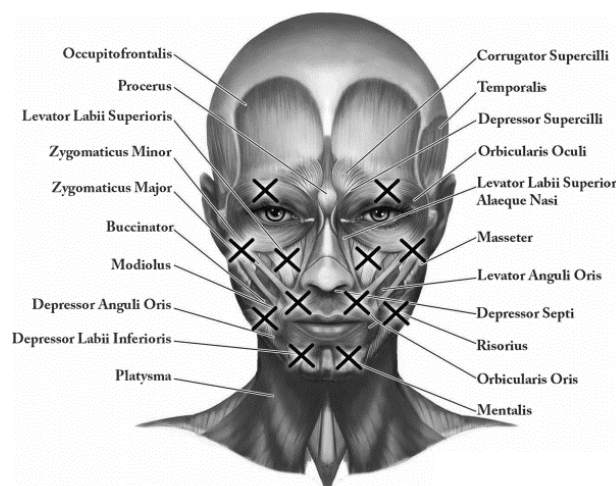


Рис. 4. Опасные зоны лица (обозначены крестиками) по Brennan C. [12]

40...» (цит. по [16]). Созванный консилиум (В. В. Богородский, Н. С. Щелкан и другие) принял решение о хирургическом вмешательстве, однако оно не принесло результата. У А.Н. Скрябина диагностировали гнойный плеврит как проявление сепсиса. Через 20 часов композитор скончался [16].

Опасные зоны лица в контексте технологий современной медицины и косметологии

Итак, уже более 100 лет назад носогубная область считалась опасной зоной лица. Таковой она является и в настоящее время. Однако сейчас повреждения носогубного треугольника, как правило, связаны не столько с угревыми высыпаниями, сколько с косметическими процедурами, например, инъекциями ботулинического токсина типа А или гиалуроновой кислоты. Вследствие быстрого эффекта и меньшей, по сравнению с хирургическим вмешательством, инвазивности эти методы омоложения и коррекции структур лица становятся все более популярными [17]. Упомянутая тенденция сохраняется уже

на протяжении 7 лет. По данным Американского общества хирургов эстетической пластической хирургии (American Society of Aesthetic Plastic Surgeons, ASAP) за 2013 год, наиболее применяемыми нехирургическими косметическими процедурами являлись инъекции ботулинического токсина типа А (3 766 148 процедур, рост на 15,6% по сравнению с 2012 г.) и инъекции дермальных наполнителей гиалуроновой кислоты (1 872 172 процедуры, рост 31,5% по сравнению с 2012 г.) [17].

Однако, несмотря на высокую частоту проведения подобных процедур и длительное изучение техники лицевых инъекций, возможны повреждения важных структур лица – сосудов, нервных волокон – особенно при работе в опасных зонах, в том числе в области носогубного треугольника. Для обеспечения оптимального уровня безопасности и достижения эстетических результатов хирург должен обладать глубоким пониманием сложной ангиоархитектоники кожи и базовых физиологических и биомеханических принципов ее функционирования [18].

Кроме того, необходимо следовать определенным рекомендациям, направленным на минимизацию риска возникновения осложнений. Например, при инъекции в носогубную складку следует рассмотреть возможность использования канюли, учитывая близость к лицевой артерии и ее потенциальное расположение в подкожной клетчатке. Инъекции в глубокую дерму или

поверхностную подкожную клетчатку следует выполнять, применяя линейно-ретроградную технику (введение иглы под кожу под минимальным углом и плавное выведение, при этом препарат вводится под кожу непосредственно при выведении иглы). При инъекции в нижние две трети рекомендуется вводить наполнитель внутрь или медиальнее носогубной складки. Инъекционная игла или канюля должны находиться в постоянном движении, чтобы уменьшить вероятность внутрисосудистой инъекции. Кроме того, непосредственно перед проведением процедуры необходимо оценить толщину кожных покровов пациента и расположение сосудов и нервов в корректируемой области [13]. Представленный перечень рекомендаций не является исчерпывающим, носит ознакомительный характер и дает представление о сложности рассматриваемого вопроса, а также необходимости его глубокого изучения перед непосредственным применением на практике.

Заключение. Таким образом, одна из основных причин возникновения воспалительных и патологических процессов в области головы – травмирование кожных покровов лица в области носогубного треугольника. Высокий риск осложнений при повреждении опасных зон лица диктует необходимость тщательного изучения их анатомии и применения безопасных доступов и методов перед возможными хирургическими и косметическими вмешательствами.

Литература References

1. Rekomendatsii VOZ dlya naseleniya. URL: <https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>. Data obrashcheniya 25.11.2023. In Russian
2. Nguyen AV, Soulika AM. The Dynamics of the Skin's Immune System. *Int J Mol Sci*. 2019;20(8):1811 DOI: 10.3390/ijms20081811
3. Chen YE, Fischbach MA, Belkaid Y. Skin microbiota-host interactions. *Nature*. 2018;553(7689):427–436. DOI: 10.1038/nature25177
4. Pannu AK, Saroch A, Sharma N. Danger Triangle of Face and Septic Cavernous Sinus Thrombosis. *J Emerg Med*. 2017;53(1):137-138. DOI:10.1016/j.jemermed.2017.03.016
5. Mu L. et al. Primary clinical application of microsurgical arterial, venous and supermicrosurgical lymphovenous anastomoses performed using three-dimensional on-screen visualization. *J. Plast. Reconstr. Aesthetic Surg*. 2019;73(2):391–407. DOI: 10.1016/j.bjps.2019.08.013
6. Netter Frenk. Atlas anatomii cheloveka: terminologiya na russkom, latinskom i angliyskom yazykakh. Atlas of Human Anatomy: Russian, Latin and English Terminology. Frenk Netter. Per. s angl. pod red. V.N. Nikolenko.– 7-e izd.– Moskva: GEOTAR-Media, 2021.– 952s. DOI:10.33029/9704-6051-1-AHAFN-2021-1-952. In Russian
7. Von Arx T, Tamura K, Yukiya O. et al. The Face – A Vascular Perspective. A literature review. *Swiss Dent J*. 2018;128(5):382–392 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29734800/>
8. Touré G, Tran de Fremicourt M-K, Randriamanantena T. et al. Vascular and Nerve Relations of the Marginal Mandibular Nerve of the Face: Anatomy and Clinical Relevance. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(3):888–899 DOI: 10.1097/PRS.0000000000005360
9. Pannu AK, Saroch A, Sharma N. Danger Triangle of Face and Septic Cavernous Sinus Thrombosis. *J Emerg Med*. 2017;53(1):137-138. DOI:10.1016/j.jemermed.2017.03.016

10. Taylor GI, Shoukath S, Gascoigne A. et al. The Functional Anatomy of the Ophthalmic Angiosome and Its Implications in Blindness as a Complication of Cosmetic Facial Filler Procedures. *Plast Reconstr Surg*. 2020;146(4):745. DOI:10.1097/PRS.00000000000007155
11. Wollina U and Goldman A. Facial vascular danger zones for filler injections. *Dermatol Ther*. 2020;33(6):e14285. DOI:10.1111/dth.14285
12. Brennan C. Avoiding the «danger zones» when injecting dermal fillers and volume enhancers. *Plast Surg Nurs. Off J AmSoc Plast Reconstr Surg. Nurses*. 2014;34(3):108–111; quiz 112–113. DOI: 10.1097/PSN.0000000000000053
13. Scheuer JF, Sieber DA, Pezeshk RA. et al. Facial Danger Zones: Techniques to Maximize Safety during Soft-Tissue Filler Injections. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139(5):1103–1108. DOI: 10.1097/PRS.0000000000003309
14. Rauso R, Sesenna E, Fragola R. et al. Skin Necrosis and Vision Loss or Impairment After Facial Filler Injection. *J Craniofac Surg*. 2020;31(8):2289–2293. DOI: 10.1097/SCS.00000000000007047
15. Braz A. et al. Lower Face: Clinical Anatomy and Regional Approaches with Injectable Fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5):235S–257S. DOI:10.1097/PRS.0000000000001836
16. Larinsky NE. «Bezumstouyushchiy ellin». 5. «No eto katastrofa!». *Elektronnyy resurs*. URL: http://uzrf.ru/publications/istoriya_i_bolezni/Nikolay-Larinsky-bezumstouyushchiy-ellin/ Data obrashcheniya 25.11.2023. In Russian
17. Brennan C. Avoiding the «danger zones», when injecting neurotoxins. *Plast Surg Nurs. Off J Am Soc Plast Reconstr Surg Nurses*. 2014;34(4):173–176, quiz 177–178. DOI:10.1097/PSN.0000000000000064
18. Lucas JB. The Physiology and Biomechanics of Skin Flaps. *Facial Plast Surg Clin N Am*. 2017;25(3):303–311. DOI:10.1016/j.fsc.2017.03.003

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Николенько Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии и гистологии человека Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова; заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;
e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

Vladimir N. Nikolenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Human Anatomy and Histology of the Sechenov First Moscow State Medical University; Head of the Department of Normal and Topographical Anatomy of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;
e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

Кудрявцева Варвара Алексеевна, студентка, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия;
e-mail: kudryavtseva_v_a@student.sechenov.ru

Varvara A. Kudryavtseva, Studentin, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia;
e-mail: kudryavtseva_v_a@student.sechenov.ru

Оганесян Марине Валиковна, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова; доцент кафедры нормальной и топографической анатомии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;
e-mail: marine-oganesyan@mail.ru

Marine V. Oganessian, Docent, Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Human Anatomy and Histology of the Sechenov First Moscow State Medical University; Assistant Professor of the Department of Normal and Topographical Anatomy of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;
e-mail: marine-oganesyan@mail.ru

Ризаева Негория Алигаевна, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова; доцент кафедры нормальной и топографической анатомии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; **e-mail:** rizaevan@yandex.ru

Negoriya A. Rizaeva, Docent, Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Human Anatomy and Histology of the Sechenov First Moscow State Medical University; Assistant Professor of the Department of Normal and Topographical Anatomy of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;
e-mail: rizaevan@yandex.ru

Болотская Анастасия Александровна, студентка, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия;
e-mail: nastasiabolotskaia@mail.ru

Anastasiya A. Bolotskaya, Studentin, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia;
e-mail: nastasiabolotskaia@mail.ru

Жарикова Татьяна Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова; доцент кафедры нормальной и топографической анатомии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; **e-mail:** dr_zharikova@mail.ru

Tatiana S. Zharikova, Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Human Anatomy and Histology of the Sechenov First Moscow State Medical University; Assistant Professor of the Department of Normal and Topographical Anatomy of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;
e-mail: dr_zharikova@mail.ru

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВЕДОМОСТИ

Учредитель: Частное учреждение образовательная организация высшего образования
Медицинский университет РЕАВИЗ

Главный редактор: профессор, академик РАН
Ирина Николаевна Боголепова

Ответственный редактор: профессор, действительный член РАЕН,
Радик Магзинурович Хайруллин

Номер 3 (том 31) 2023, дата выхода в печать 30.11.2023
Подписной индекс 83223 в объединенном каталоге «Пресса России». Цена свободная

Адрес издателя: 443001, Россия, Самара, ул. Чапаевская, дом 227
Телефон: +7 846 333-54-51, факс +7 846 270-49-47, e-mail: mail@reaviz.ru

Адрес редакции: 198099, Россия, Санкт-Петербург, ул. Калинина, дом 8, корпус 2, литер А
Телефон: +7 812 612-99-50, факс: +7 812 612-99-50, e-mail: morpholetter@gmail.com
Официальный сайт журнала <https://www.morpholetter.com>

Зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций 31 января 2017 г., Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-68555

Подписано в печать 27.11.2023 г. Формат 60х90 1/8. Гарнитура Book Antiqua.
Бумага мелованная. Печать оперативная. Усл. печ. л. 11,4. Тираж 600 экз.
Отпечатано в типографии ИП И.А. Гапонова
443099, Самара, ул. М. Горького, 117/57, тел.: +7 846 271-16-56

© Медицинский университет РЕАВИЗ, 2023